

Nikolaus-Fiebiger-Zentrum für Molekulare Medizin

Lehrstuhl für Experimentelle Medizin II (Molekulare Tumorforschung)

Adresse

Glückstraße 6
91054 Erlangen
Tel.: +49 9131 8529110
Fax: +49 9131 8529111
www.em2.molmed.uni-erlangen.de

Direktor

Prof. Dr. rer. nat. Jürgen Behrens

Ansprechpartner

Prof. Dr. rer. nat. Jürgen Behrens
Tel.: +49 9131 8529109
Fax: +49 9131 8529111
juergen.behrens@fau.de

Forschungsschwerpunkte

- molekulare Onkologie des Wnt-Signalweges
- Amer-Proteine
- Rolle von Axin und Conductin als negative Regulatoren des Wnt-Signalweges

Struktur des Lehrstuhls

Professur: 1

Beschäftigte: 9

- Wissenschaftler: 3
(davon drittmittelfinanziert: 0)
- Promovierende: 2

Strukturelle Besonderheit

Geschäftsführender Direktor des Nikolaus-Fiebiger-Zentrums (NFZ) im zweijährigen Turnus im Wechsel mit dem Lehrstuhl für Experimentelle Medizin I

Forschung

Der Fokus des Lehrstuhls liegt auf der molekularen Analyse von Signaltransduktionswegen, die ursächlich für Krebserkrankungen sind. Über spezielle Screeningverfahren wurden in den letzten Jahren zentrale Komponenten des onkogenen Wnt Signalweges entdeckt und eingehend molekular analysiert. Diese Arbeiten haben dazu beigetragen, Ansatzpunkte für neue Therapien zu identifizieren, die auf der Hemmung des Signalweges beruhen und gegenwärtig weltweit intensiv verfolgt werden.

Molekulare Onkologie des Wnt-Signalweges

Der Wnt-Signalweg steuert die Stabilität von β -Catenin und reguliert dadurch verschiedene Prozesse während der Embryonalentwicklung und kann zur Tumorentstehung führen. Wnt sind sezernierte Glykoproteine und führen über Bindung an Frizzled- und LRP-Rezeptoren zur Anreicherung von β -Catenin im Zytoplasma und Zellkern, wo es mit TCF-Transkriptionsfaktoren interagiert und Zielgene aktiviert. Der Abbau von β -Catenin wird in einem Multiproteinkomplex aus den Gerüstkomponenten Axin oder Conductin, der Serin/Threonin-Kinase GSK3 β und dem

Tumorsuppressor APC (Adenomatöse Polyposis Coli) durch Phosphorylierung induziert. Das Wnt-Signal inhibiert die Phosphorylierung von β -Catenin und führt somit zu dessen Stabilisierung. In kolorektalen Tumoren führen Mutationen von APC oder Mutationen der Serin/Threonin-Phosphorylierungsstellen im β -Catenin zur Stabilisierung von β -Catenin und lösen dadurch ein konstitutives Signal im Zellkern aus. Solche β -Catenin-Mutationen finden sich auch in einer Vielzahl anderer Tumorarten, so dass die aberrante Aktivierung des Wnt-Signalweges ein Hauptmechanismus der onkogenen Transformation in verschiedenen Tumorarten darstellt. Wir untersuchen die molekulare Rolle zentraler Komponenten des Signalwegs, die hauptsächlich an der Kontrolle des β -Catenin Abbaus beteiligt sind. Dazu gehören Amer1, Axin und Conductin sowie die Phosphatase PGAM5, die die für den β -Catenin-Abbau notwendige Phosphorylierung kontrollieren.

Rolle von Axin und Conductin als negative Regulatoren des Wnt-Signalweges

PI: Dr. D. Bernkopf

Axin und Conductin sind strukturell verwandte Inhibitoren des Wnt/ β -Catenin-Signalweges, die den Abbau von β -Catenin bewirken. Während Axin konstitutiv exprimiert wird, ist Conductin ein Wnt-Zielgen und damit Teil eines negativen Rückkopplungsmechanismus im Wnt-Weg. Wir konnten durch Proteomanalysen eine Interaktion von Axin mit der mitochondrialen Phosphatase PGAM5 zeigen. Bei Schädigung des mitochondrialen Membranpotentials gelangt PGAM5 aus den Mitochondrien ins Cytoplasma und bewirkt die Dephosphorylierung von β -Catenin im Komplex mit Axin, was wiederum zu einer Erhöhung der β -Catenin Menge und zur Aktivierung der β -Catenin-abhängigen Transkription führt. Es ist bekannt, dass Wnt Stimulation die Mitochondrienzahl erhöht. Wir haben deshalb postuliert, dass die Freisetzung von PGAM5 aus geschädigten Mitochondrien über die Aktivierung des Wnt-Signalwegs neue Mitochondrien erzeugt und somit die Verluste kompensiert (Bernkopf et al., 2018).

Im Verlauf dieser Studien bemerkten wir, dass PGAM5 die Verteilung von Axin verändert. Während transient exprimiertes Axin in charakteristischen cytoplasmatischen Punkten vorlag, bewirkte die Koexpression von PGAM5 eine Umlagerung in fibrilläre Strukturen. (Fig. 1, a,b). Auch die chemische Inhibition oder der knockdown von Casein Kinase 1, einer zentralen Kinase im Wnt Signalweg, löste Axin Fibrillenbildung aus (Fig. 1c, d), was zeigt, dass endogene CK1 die Art der Axin Polymerisierung beeinflusst. Von Bedeutung war, dass die Axin Fibrillen mit Mikrotubuli kolokalisiert und durch Depolymerisation von Mikrotubuli mittels Nocodazol-Behandlung zerstört wurden. Wir fanden

auch, dass Axin in Punctaform ebenfalls mit Mikrotubuli assoziiert schien. Diese Daten deuten darauf hin, dass Mikrotubuli eine Plattform für Axin darstellen und an der Regulation der β -Catenin Mengen beteiligt sind, worauf erste Resultate unserer Gruppe hinweisen (Bernkopf, unpublierte Daten). Obwohl Conductin in kolorektalen Karzinomen stark überexprimiert ist, reicht seine Aktivität offenbar nicht aus, um β -Catenin effektiv zu hemmen. Wir bemerkten, dass Conductin weniger aktiv als Axin im β -Catenin Abbau ist und dass es nicht wie Axin in Puncta vorlag, sondern diffus verteilt war. Da der Abbau von β -Catenin von der Polymerisation von Axin in Punkten abhängt, waren diese Befunde von besonderem Interesse. Durch Austausch von Domänen zwischen Axin und Conductin konnten wir zeigen, dass die "regulator of G-protein signaling" (RGS) Domäne die unterschiedliche Verteilung der Proteine bestimmte (Bernkopf et al., 2019). In der RGS Domäne von Conductin, nicht aber in der von Axin, fanden wir eine potentielle Protein-Aggregationsstelle. Wir fanden, dass die RGS-vermittelte Aggregation die Polymerisation von Conductin in Punkten verhinderte. Die Inaktivierung dieses Aggregons durch spezifische Aminosäuremutationen ermöglichte die Polymerisation von Conductin und erhöhte dessen Aktivität im β -Catenin Abbau. Um Wege zu finden, Conductin Polymerisation zu aktivieren, stellten wir ein kurzes Peptid der Aggregon Sequenz her das mit der RGD-RGS Aggregation interferieren könnte. Tatsächlich hemmte das Peptid die Conductin Aggregation und führte zur Ausbildung von Conductin Puncta, einhergehend mit reduzierter Wnt Aktivität und Zellproliferation in kolorektalen Tumorzellen. (Bernkopf et al., 2019).

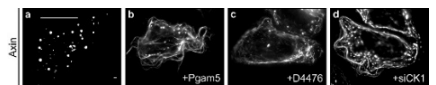


Fig.1: Puncta Axin (a), und Fibrillenbildung nach *Pgam5* Expression (b), *CK1* Inhibition (c), oder *CK1* knockdown (d).

Gegenwärtig arbeiten wir an der Optimierung des Peptids und versuchen durch Bibliotheksscreen, niedermolekulare Substanzen zu finden, die über die Hemmung des Aggregons Conductin Polymerisation induzieren. Diese könnten in der Zukunft als mögliche Chemotherapeutika eingesetzt werden.

Lehre

Die Lehrstühle für Experimentelle Medizin I und II sind hauptverantwortlich für die Ausbildung der Molekularmediziner in den Fächern Zellbiologie und Molekularer Onkologie.

Es werden Bachelor- und Masterarbeiten

sowie naturwissenschaftliche Promotionen betreut.

Ausgewählte Publikationen

Bernkopf DB, Jalal K, Brückner M, Knaup KX, Gentzel M, Schambony A, Behrens J. Pgam5 released from damaged mitochondria induces mitochondrial biogenesis via Wnt signaling. *J Cell Biol* 2018, 217, 1383-1394.

Bernkopf DB, Brückner M, Hadjihannas MV, Behrens J. An aggregon in conductin/axin2 regulates Wnt/ β -catenin signaling and holds potential for cancer therapy. *Nat Commun.* 2019, 18; 4251

Internationale Zusammenarbeit

Prof. V. Katanaev, University Genf, Genf, Schweiz