

Freiburg – Hedgehog-Forschung

Fix im Fett

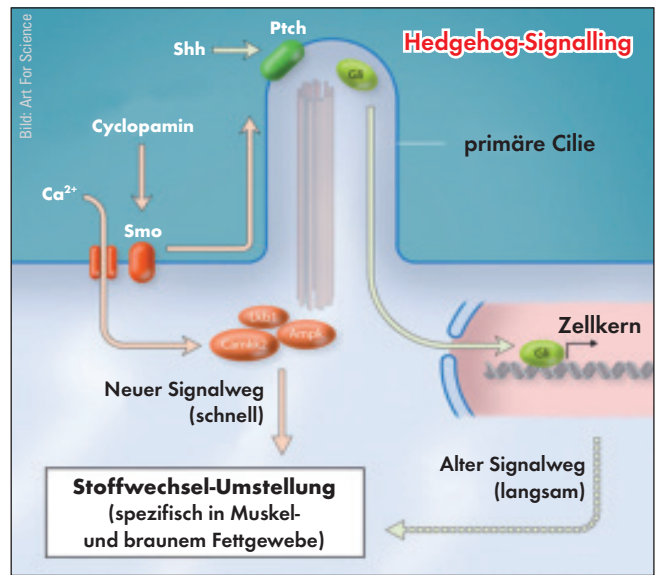
Das Team um Epigenetiker Andrew Pospisilik fand einen Hedgehog-Weg, der zwar nichts mit Epigenetik zu tun hat, dafür aber reichlich Therapie-Potenzial birgt.

Computerspielfans werden sich an den blauen Igel mit der stylischen Frisur erinnern: Sonic the Hedghog, bekannt für seine Schnelligkeit. Die Gruppe um J. Andrew Pospisilik, MPI für Immunbiologie und Epigenetik Freiburg, zeigt: Es geht noch schneller.

Hedgehog spielt als lokales Morphogen bei der Embryonalentwicklung von Tieren eine Rolle. Fehlfunktion dieses Signalwegs führt zu Fehlbildungen und kann bei Erwachsenen Krebs verursachen. Mit Hilfe des klassischen, kanonischen Hedgehog-Signalwegs reagieren Zellen auf äußere Signale: Sonic Hedgehog (Shh) bindet an den Rezeptor Patched (Ptch), worauf dieser das membranständige Protein Smoothened (Smo) freigibt. Smo wandert ans primäre Cilium und verhindert dort den Abbau der Transkriptionsfaktoren Gli 1, 2 und 3, die in den Zellkern wandern. Die Hedgehog-Forschung konzentrierte sich in der Vergangenheit vor allem darauf, den „Gli-Code“ zu entschlüsseln und herauszufinden, welche Proteine betroffen sind.

Die Abkürzung

Nun muss dieser Weg um einen weiteren unbekanntem, nicht-kanonischen Hedgehog-Signalweg ergänzt werden. Pospisilik *et al.* fanden heraus, dass Smo hierbei zwar ebenfalls ans Cilium transloziert wird, anstatt aber die Genexpression zu beeinflussen, aktiviert es eine Reihe anabol/katabol tätiger Enzyme wie die AMP-aktivierte Proteinkinase (AMPK). Die Forscher zeigten, dass Smo-Modulatoren wie Cyclopamin die Smo-AMPK-Signalkette vom kanonischen Signalweg abkoppeln können, indem sie



den kanonischen Hedgehog-Signalweg inhibieren und gleichzeitig den neuen, nicht-kanonischen aktivieren (*Cell* 2012, 151(2):414-26).

Das Resultat ist ein alternativer, Insulin-unabhängiger Weg zur Glukoseaufnahme und ein Warburg-ähnlicher Metabolismus wie in Krebszellen.

Pospisilik ist seit März 2010 Gruppenleiter am Freiburger Max-Planck-Institut, doch Hedgehog begleitet ihn schon wesentlich länger – seit er in Wien zusammen mit Harald Esterbauer entdeckte, dass Zugabe von Hedgehog Adipozyten Milchsäure produzieren ließ. Dies war an sich erst einmal nicht weiter aufregend. Wirklich erstaunlich war die Geschwindigkeit – nur Minuten dauerte es, bis sich der Effekt einstellte, viel zu wenig Zeit für den kanonischen Hedgehog-Signalweg. Das Team vermutete, dass Enzyme dahintersteckten, möglicherweise

Kinasen. Also machten sich die Doktoranden Martina Bayer und Sabine Amann aus Esterbauers Labor daran, mittels zweidimensionaler Gelelektrophorese geeignete Kandidaten ausfindig zu machen. Tatsächlich fanden sie 39 Proteine mit verändertem Laufverhalten, die meisten davon Enzyme des anabolen oder katabolen Stoffwechsels – darunter die in zellulären Stresssituationen angeworfene AMPK.

Knockout von AMPK führte zu verminderter Glukoseaufnahme, ohne den Substratfluss an sich, also die Freisetzung von Laktat, zu beeinflussen.

Faible für Zivilisationskrankheiten

Trotzdem seine wissenschaftliche Wurzeln im Wiener Boden stecken, gründete Pospisilik seine eigene Juniorgruppe in Freiburg, wo er sich von Epigenetikern umgeben wusste – außerdem fand der leidenschaftliche Wanderer die Breisgauer Landschaft so schön.

Seine Gruppe vertritt die Philosophie „Interessant fragen und offen bleiben“, und bearbeitet auch mal Projekte, die nichts mit Epigenetik zu tun haben, wie in dieser Studie. Pospisiliks Grundmotivation ist „alles, was mit menschlichen, komplexen Krankheiten zu tun hat“. „Ich war nie interessiert an monogenetischen Störungen. Mir geht es mehr um Zivilisationskrankheiten, die Millionen betreffen.“

Eine Leidenschaft, die er mit seinem Team teilt, denn aus welcher unterschiedlichen Disziplinen die fünf Postdocs und vier Doktoranden auch kommen mögen, das Interesse an Krankheiten haben sie gemeinsam. So auch Raffaele Teperino, ehemaliger Biotechnologie-Student und Erstautor der *Cell*-Studie. Mit der „seltsamen Postdoc-Stelle“, wie Teperino sie nennt, in Pospisiliks damals noch unbekanntem Labor übernahm er die Aufgabe, die Rolle von AMPK genauer unter die Lupe zu nehmen. Oder besser unters Fluoreszenzmikroskop. Denn es war bereits bekannt, dass AMPK von CamKK2 phosphoryliert und aktiviert wird, einer Calcium-Ionen-abhän-

Andrew Pospisilik (re.) und Raffaele Teperino entdeckten einen Insulin-unabhängigen Signalweg, der nicht nur Adipositas- und Diabetes-Forscher aufhorchen ließ.





Gruppen-Talk in der MPI-Lounge.

gigen Kinase. Folglich nutzte Teperino die von Peiling Tsou *et al.* (*Cell Metab* 2011, 13(4):476-86) designte Sonde AMPKAR für phosphoryliertes AMPK, um die Calciumabhängigkeit im FRET-Experiment zu bestätigen. Zusätzlich zeigte er mit EDTA, dass das zur Aktivierung von AMPK benötigte Calcium von außen in die Zelle kommt.

Zufall im Spiel

Dabei kann der Effekt von AmpK kaum hoch genug geschätzt werden. „Es ist verrückt. Man hat so eine kleine Menge an Zellen und diese riesige Flasche an Medium, und die Zellen saugen all die Glukose daraus auf. Die Tatsache, dass etwa ein Prozent der Zellmembran die gleiche Arbeit erledigt wie sämtliches Insulin-Signalling, ist ein Paradigmenwechsel“, betont Pospisilik.

Spätestens hier horchen Diabetes-Forscher auf, und in ihrem Kielwasser Wissenschaftler, die an Fettleibigkeit arbeiten. Denn der nicht-kanonische Hedgehog-Signalweg ist lediglich aktiv in Muskelzellen und in braunem, nicht jedoch in weißem Fettgewebe, wie Teperino im Mausmodell mit radioaktiv markierter Glukose nachwies. Daher ist es ein Glücksfall, dass sie für ihre Eingangsuntersuchungen in Wien 3T3-L1-Zellen benutzten, denen eher Eigenschaften brauner als weißer Adipozyten zugeordnet werden. „Hätten wir einfach ausdifferenzierte, weiße Adipozyten ge-

nommen, hätten wir gedacht, Hedgehog hat keinen Effekt auf Fettgewebe und hätten woanders weitergemacht. Eigentlich enthielt dieses erste, einfache Experiment schon alle wichtigen Hinweise.“

Nicht ganz alle, denn die Gruppe fand eher unerwartet noch eine weitere Auswirkung des nicht-kanonischen Signalwegs. Ursprünglich wollte Teperino den Einfluss des klassischen Smo-Antagonisten Cyclopamin, einem Modulator, der bereits klinische Studien als Krebsmedikament bestanden hatte, auf seinen neu entdeckten Signalweg prüfen.

Das Ergebnis war jedoch auch für ihn überraschend: „Der Antagonist gab mir den Effekt eines Agonisten und im Kontrollexperiment ergaben Antagonist plus Agonist den doppelten Effekt. Also dachte ich, okay, lass es uns noch mal machen. Nach mehreren Durchläufen mit verschiedenen Chargen haben wir es dann aber doch geglaubt“, erinnert sich Teperino – was alles andere als selbstverständlich ist, wie Pospisilik ergänzt: „Voreingenommene Ideen verlangsamen die Forschung am meisten. Es gab bereits ähnliche Versuche. Wenn man die Paper liest, sieht man, warum es den Leuten entgangen ist. Sie wollten sich nicht damit beschäftigen, sie wollten sehen, dass es immer ein Inhibitor ist, das war es, was sie geglaubt hatten.“ Ein zweiter Paradigmenwechsel also, der dazu führt, dass zumindest einige bestehende Studien uminterpretiert werden müssen.

Zu Risiken und Nebenwirkungen

Doch auch auf die Krebstherapie hat diese Entdeckung Einfluss. Denn erstaunlich viele Patienten mussten die Behandlung mit Hedgehog-Inhibitoren – eine effektive Therapie und oft die letzte Hoffnung – aufgrund gefährlich hohen Gewichtsverlusts und andauernder Muskelkrämpfe abbrechen.

Die Aktivierung des nicht-kanonischen Wegs kann beides erklären: Der Gewichtsverlust entsteht wegen einer Verlagerung des Energiehaushalts in Richtung des weniger ertragreichen Warburg-Effekts und die Muskelkrämpfe durch den vermehrten Calcium-Ionen-Einstrom in die Zellen. Zumindest letzteres kann man recht einfach mit erprobten Calcium-Kanal-Inhibitoren verhindern.

Hinzu kommt, dass Cyclopamin nicht der einzige Modulator für Smo ist. Auf dem Weg ins Cilium, das unbedingt benötigt wird, um Smo an seine *downstream*-Effektoren zu koppeln, gibt es viele Stellen, an denen Modulatoren eingreifen und den Signalweg entweder einfrieren oder befördern können. Die Entdeckungen von Pospisilik *et al.* haben also das Leben der Hedgehog-Forscher um einiges verkompliziert, da es in Zukunft unmöglich sein wird, den kanonischen Signalweg zu erforschen und den nicht-kanonischen zu ignorieren.

ANGELINA SCHECK