

Daniel Weiß

Dr. med.

Auswirkung von Adeno-assoziiertem Virus auf Proliferationsaktivität, chemo- und strahlentherapeutischer Sensitivität und Zellzyklusverhalten maligner Hirntumorzellen

Geboren am 05.04.1977 in Heidelberg

Staatsexamen am 18.05.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: DKFZ

Doktorvater: Prof. Dr. med. J. Schlehofer

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob Adeno-assoziierte Viren Typ 2 (AAV-2) in der Lage sind maligne Gliomzellen in-vitro für eine zytostatische Behandlung mit einem Chemotherapeutikum bzw. einer Bestrahlung mit Gammastrahlen zu sensitivieren. Ein Sensitivierungseffekt von AAV-2 konnte in früheren Untersuchungen an verschiedenen Tumorzellen sowohl in-vitro als auch in-vivo gezeigt werden. Grundvoraussetzung für eine Anwendung von AAV-2 in der Therapie von malignen Gliomen ist die Infizierbarkeit deren Zellen. Die Infizierbarkeit von malignen Gliomzellen konnte hier eindeutig belegt werden. In Anwesenheit eines Helfervirus war AAV-2 in der Lage alle untersuchten Zelllinien zu infizieren und Replikation durchzuführen. Darüber hinaus konnte eine Produktion infektiöser AAV-2-Viruspartikel in Tumorzellen nachgewiesen werden. Bis zu diesem Zeitpunkt konnte lediglich die Infizierbarkeit von neuronalen Zellen und Mikrogliazellen durch AAV-2 gezeigt werden.

In den durchgeführten Proliferationstests führte die alleinige AAV-2-Infektion der malignen Gliomzellen zu einem leichten Rückgang der Proliferationsaktivität im Vergleich zu nicht infizierten Zellen. Diese Proliferationsabnahme konnte in den ebenfalls durchgeführten Zellzyklusanalysen durch einen vorübergehenden Arrest der Zellen am Übergang der G₂-Phase zur Mitose und eine leicht erhöhte Apoptoserate nach AAV-2-Infektion erklärt werden.

Bei kombinierter Anwendung von AAV-2 und Chemotherapeutikum bzw. Strahlentherapie kam es nur in Einzelfällen zu einem deutlichen Unterschied in der Proliferationsaktivität zwischen infizierten und nicht infizierten Zellen, wo eine Sensitivierung der Tumorzellen durch AAV-2 in Frage kommt. Eine generelle Verstärkung des zellschädigenden Effektes einer Chemo- oder Strahlentherapie bei Gliomzellen konnten wir trotz Verwendung verschiedener Chemotherapeutika, verschiedener AAV-2-Titer und verschiedener Aufreinigungstechniken von AAV-2 im Vergleich zu früheren Untersuchungen nicht zeigen. In-vivo Untersuchungen müssten folgen, um zu sehen ob sich für Gliomzellen dort andere Ergebnisse zeigen. Es ist nach den hier erhobenen Ergebnissen jedoch nicht zu erwarten.

Die Daten der Zellzyklusanalysen zeigten weitgehend einheitlich einen vom AAV-2-Titer und der Zeit abhängigen, transienten Arrest der Zellen in der G₂/M-Phase und eine leicht erhöhte Apoptoserate nach AAV-2-Infektion der Zellen.

Beim Vergleich der Ergebnisse aus den Proliferationstests bzw. aus den Zellzyklusanalysen mit den Ergebnissen der p53-Mutationsanalysen konnte kein Zusammenhang zwischen Vorliegen einer p53-Mutation und Einflussnahme von AAV-2 auf das Zellzyklusverhalten bzw. die Proliferationsaktivität von Gliomzellen gesehen werden.

Abschließend betrachtet erscheint wildtyp AAV-2 nach den hier dargestellten Ergebnissen als adjuvante Therapieoption maligner Gliomzellen als nicht geeignet. Da jedoch die Infizierbarkeit der Zellen mit AAV-2 grundsätzlich möglich ist, und AAV-2-gekoppelte Vektoren bereits erfolgreich bei verschiedenen Erkrankungen des Zentralen Nervensystems eingesetzt wurden, sind weitere Experimente mit AAV-2-Vektoren und malignen Gliomen anzustreben.