

Isabel Spier
Dr. med.

Chemoprotektion von humanen hämatopoetischen Stammzellen durch simultane lentivirale Überexpression der Gene O⁶-Methylguanin-DNA-Methyltransferase^{P140K} und *Multidrug Resistance 1*

Geboren am 04.11.1982 in Tettang
Staatsexamen am 27.05.2009 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum) und Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. W.J. Zeller und Prof. Dr. med. S. Frühauf

Myelotoxizität ist ein limitierender Effekt von vielen Chemotherapieschemata. Daher besteht ein großes Interesse am Schutz von humanen hämatopoetischen Stammzellen durch Transfer von Chemoresistenzgenen. Der Schwerpunkt dieser Studie lag auf der gleichzeitigen Expression des MDR1-Gens (*multidrug resistance 1*) und der für O⁶-BG (O⁶-Benzylguanin) resistenten Mutante MGMT^{P140K} (O⁶-Methylguanin-DNA-Methyltransferase^{P140K}) mit einem bicistronischen lentiviralen Vektor (HR'SIN-MDR1-IRES-MGMT^{P140K}). Dieser Kombinationsvektor wurde mit Vektoren, die je eines der beiden Gene exprimieren (HR'SIN-MDR1, HR'SIN-MGMT^{P140K}), in Bezug auf ihre Fähigkeit zur Chemoprotektion verglichen. Hierzu wurden diese Vektoren zunächst in myeloische Leukämie-Zelllinien (HL60 und K562) transduziert. Bei einer Monotherapie mit O⁶-BG/ACNU der mit den verschiedenen Vektoren transduzierten HL60-Zellen zeigte sich eine signifikante Chemoresistenz, und zwar stieg die IC₅₀ bei mit dem MGMT^{P140K}-Einzelvektor transduzierten Zellen um das 34-fache und mit dem Kombinationsvektor um das 9-fache im Vergleich zu untransduzierten Zellen an. Bei einer Monotherapie mit Paclitaxel zeigte sich jeweils ein Anstieg um das 7-fache mit dem MDR1-Einzelvektor sowie dem Kombinationsvektor. Eine Kombinationstherapie mit O⁶-BG/ACNU plus Paclitaxel zeigte einen signifikanten Überlebensvorteil der Zellen, die mit dem Kombinationsvektor transduziert worden sind. Diese Zellen zeigten eine 6-mal höhere Resistenz im Vergleich zu untransduzierten Zellen, sowie eine 3-4-mal höhere Resistenz gegenüber Zellen, die mit den entsprechenden Einzelvektoren transduziert worden waren. Vergleichbare Ergebnisse konnten mit transduzierten K562-Zellen unter Verwendung von O⁶-BG/BCNU und Doxorubicin gezeigt werden. In primären humanen hämatopoetischen Stammzellen ließ sich zeigen, dass der chemoprotektive Effekt des Kombinationsvektors vergleichbar ist mit HR'SIN-MDR1 in der Monotherapie mit Doxorubicin und überlegen in der Kombinationstherapie mit O⁶-BG/BCNU plus Doxorubicin.

Abschließend lässt sich sagen, dass der Kombinationsvektor einen simultanen protektiven Effekt von zwei verschiedenen Chemoresistenzgenen bietet. Dabei wird nur ein Transduktionsprozess benötigt und somit das Risiko der Insertionsmutagenese reduziert. Im Hinblick auf einen klinischen Einsatz bietet die Coexpression von MDR1 und MGMT^{P140K} eine Möglichkeit, den therapeutischen Index von Chemotherapien zu erhöhen, indem die myelotoxischen Nebenwirkungen reduziert werden.