

Benito Campos

Dr.med.

Beeinflussung malignitätsassoziierter Eigenschaften von Hirntumorstammzellen durch Differenzierung mit Retinolsäure

Geboren am 01.01.1980 in Straßburg

Staatsexamen am 06.05.2009 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Neurochirurgie

Betreuerin: P.D. Dr. rer. nat. Christel Herold-Mende

Innerhalb der letzten Jahre konnten sog. Tumorstammzellen (TSZ) in verschiedenen Tumorentitäten nachgewiesen werden. TSZ umfassen eine kleine Untergruppe an langsam wachsenden Tumorzellen, die durch Differenzierung in der Lage sind schneller wachsende Tochterzellen zu erzeugen, die wiederum die Haupttumormasse bilden. TSZ in Gliomen, sog. Hirntumorstammzellen (HTSZ) konnten als eine hoch tumorigene und therapieresistente Tumorsubpopulation charakterisiert und als CD133-positive Zellpopulation *in vitro* angereichert werden. Der TSZ-Theorie zu folge, bestimmen CD133-positive HSTZ in Gliomen den Krankheitsverlauf und beeinflussen somit substantiell das Gesamtüberleben. Ein möglicher Ansatz zur Eradikation von Hirntumorstammzellen könnte die therapeutische Nutzung der Differenzierungsfähigkeit dieser Zellen sein. Durch eine kontrollierte, therapeutische Differenzierung von CD133-positiven HTSZ könnten diese gezielt zu einer Reifung angeregt werden, die wiederum mit einer vermehrten Bildung von gering tumorigenen und therapiesensitiven CD133-negativen

Tochterzellen einhergehen würde. Vitamin A-Derivate wie all-trans Retinolsäure (ATRA) haben einen differenzierenden Effekt auf HSTZ, es ist jedoch unbekannt ob und in wie weit eine Differenzierungstherapie mit ATRA tumorrelevante Eigenschaften dieser Zellen beeinflusst. In der vorliegenden Arbeit konnten aus Glioblastomen isolierte HTSZ erfolgreich durch ATRA differenziert werden. Hierbei wurde mittels FACS-Analyse eine deutliche Abnahme des Stammzellmarkers CD133 nachgewiesen. Quantitative PCR-Untersuchungen zeigten weiterhin eine starke Expressionsabnahme mehrerer Schlüsselkomponenten der NOTCH-Kaskade, einer der wichtigsten Selbsterneuerungskaskaden für normale neurale Stammzellen und TSZ. Unter dem Einfluss von ATRA konnte das invasive Wachstumsverhalten von HSTZ sowohl *in vitro* mit Hilfe eines Kollageninvasions-Assays als auch *in vivo* nach orthotoper Xenotransplantation in NOD-SCID Mäuse signifikant abgeschwächt werden. Mittels ELISA-basierter Untersuchung konnte ergänzend nachgewiesen werden, dass die verminderte Invasivität mit einer herabgesetzten Sekretion der invasionsrelevanten Protease MMP2 einherging. Darüber hinaus war ATRA in der Lage HTSZ für konventionell angewandte Chemo- und Radiotherapie zu sensibilisieren, wie anhand von Western-Blot- und FACS-Analysen nachgewiesen wurde. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass eine kurzzeitige Differenzierung mit ATRA die Tumorigenität von HTSZ nach intrakranieller Applikation in NOD-SCID Mäuse signifikant abschwächte und Versuchstiere, die differenzierte HTSZ erhielten signifikant länger überlebten als Kontrolltiere, denen undifferenzierte HTSZ implantiert worden waren. Post mortem durchgeführte immunhistochemische Untersuchungen zeigten, dass Tumore, die aus ATRA-behandelten Zellen entstanden waren, ein 7fach geringeres Tumolvolumen einnahmen und ein überwiegend umschriebenes und nichtinvasives Wachstum aufwiesen. Eine Analyse der tumorversorgenden Gefäße, zeigte zusätzlich eindrucksvolle antiangiogene

Effekte in diesen Tumoren gepaart mit einer 5fach höheren Zelltodrate. Dieses vielfältige Wirkungsspektrum belegt auf funktioneller Ebene, dass eine ATRA-vermittelte Differenzierung durch lang anhaltende antitumorigene, antiinvasive, antiangiogene, proapoptische und therapiesensibilisierende Effekte das HTSZ-Kompartiment gezielt dezimieren kann und somit einen erfolgversprechenden neuen Therapieansatz in der Bekämpfung von Hirntumoren, wie dem Glioblastom darstellt.