

Autor: André Schuster

Dominant negatives p73 – Molekulare Grundlagen für Onkogenität und Chemoresistenz

Promotionsfach: Innere Medizin, Gastroenterologie
Doktormutter: Frau Prof. Dr. med. M. Müller-Schilling

p73 ist entscheidend während der Entwicklung und Zelldifferenzierung, aber auch in der Einflussnahme auf Tumorentstehung und Chemosensitivität. Dem p73-Gen entstammen durch Aktivierung zweier verschiedener Promotoren zwei in ihrer Struktur ähnliche, aber in ihrer Funktion von Grund auf verschiedene Proteine. Zum einen entsteht die transkriptionell aktive Volllängenversion (TAp73), die eine große funktionelle Ähnlichkeit zum p53 aufweist. Zum anderen wird die N-terminal verkürzte dominant negative Isoform (Δ Np73) gebildet, welche in der Lage ist die proapoptotische Funktion der korrespondierenden Volllängenversion, TAp73, aber auch der anderen p53 Familienmitgliedern, p53 und TAp63, *trans*-dominant zu hemmen.

Histologische Untersuchungen an humanen Tumoren beschreiben für eine Vielzahl maligner Tumore eine verstärkte Expression von Δ Np73 im Vergleich zu normalem Gewebe. Wir konnten zeigen, dass dominant negatives p73 einen unabhängigen prognostischen Marker im hepatozellulären Karzinom darstellt und eine Überexpression negativ mit dem Überleben des Patienten korreliert. Die genauen molekularen Wirkmechanismen des onkogenen Potentials von Δ Np73 sind jedoch bislang unbekannt.

Darüber hinaus ist für viele Chemotherapeutika beschrieben, dass sie ihre antineoplastische Wirkung über p53-vermittelte Apoptosesignalwege auslösen. Wir fragten uns daher, ob Δ Np73 auch Einfluss auf die Chemosensibilität einer Zelle nimmt. Diese vermutete Eigenschaft von Δ Np73 ist insbesondere hinsichtlich der untersuchten Zelllinien des hepatozellulären Karzinoms (HCC) von großem Interesse, da das HCC sich durch eine sehr niedrige Ansprechrate auf konventionelle Chemotherapeutika auszeichnet.

Ziel unserer Forschung war es zum einen die bisher unbekanntes Angriffspunkte von Δ Np73 auf die Signalwege der Apoptose zu charakterisieren, zum anderen zu prüfen, ob dominant negatives p73 zur Entwicklung von Chemoresistenz beim HCC beiträgt.

Wir untersuchten daher den Einfluss von dominant negativem p73 auf allen Ebenen der Apoptose-Signaltransduktionskaskade. Δ Np73 entwickelt sein onkogenes Potential auf allen Ebenen der Apoptosesignalwege, indem es die durch TAp73 induzierten Todesrezeptoren, deren Adaptermoleküle, die Initiator- und Effektorcaspasen hemmt, sowie durch Verminderung des proapoptotischen Bax-Proteins die mitochondriale Apoptose blockiert. Die Hemmung des CD95-Todesrezeptors durch Δ Np73 ist von einer funktionellen intronischen p53-Bindungsstelle im CD95-Gen abhängig.

Den zweiten Teil unserer Fragestellung betreffend konnten wir zeigen, dass dominant negatives p73 maßgeblich an der Entstehung von Chemoresistenz beteiligt ist. Die Zytostatika Bleomycin, Doxorubicin und Mitoxantron sind in der Lage, sowohl über Aktivierung des intrinsischen als auch des extrinsischen Signalweges Apoptose zu induzieren. Zeitgleiche Behandlung der Zellen mit Zytostatika und Δ Np73 bestätigte, dass dominant negatives p73 mit der durch Chemotherapeutika induzierten Apoptose interferiert. Δ Np73 senkt die Chemosensitivität von HCC Zellen, indem es an den zuvor charakterisierten Angriffspunkten die Wirkung der Zytostatika auf Todesrezeptoren, Caspasen und die mitochondriale Apoptose blockiert.

Unsere systematische Untersuchung des Einflusses von dominant negativem p73 auf die Apoptosesignalwege zeigt erstmals einen umfassenden Mechanismus, durch den dominant negatives p73 onkogen wirkt und Chemoresistenz induziert. $\Delta Np73$ greift weitreichend in den zelleigenen Schutzmechanismus vor genetischen Veränderungen, die Apoptose, ein und senkt die Sensibilität der Tumorzellen für exogen durch Zytostatika stimulierten Zelluntergang. Dominant negatives p73 ist onkogen und induziert Chemoresistenz beim hepatozellulären Karzinom.

Wir erwarten aus der Charakterisierung der Interaktion der p53 Familienmitglieder und ihrer ΔN -Isoformen mit den Signalwegen der Apoptose neue Erkenntnisse über die Mechanismen der Hepatokarzinogenese. Wir sind überzeugt, dass die pharmakologische Beeinflussung des Gleichgewichtes von p53, TAp63 und TAp73 und ihrer dominant negativen Isoformen neue Optionen für die Therapie des HCC eröffnen wird.