

Maren Maria Ebert  
Dr. med.

## **Wirkung einer CK2-Inhibition in Kombination mit Photonenbestrahlung auf die DNA-Doppelstrangbruchreparatur und Apoptoseinduktion in humanen in vitro Tumorzellkulturen**

Promotionsfach: Radiologie  
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. K.-J. Weber

Die multifunktionelle Proteinkinase CK2 ist eine ubiquitär vorkommende Serin/Threonin Kinase, die an der Regulation zahlreicher zellulärer Prozesse wie Zellproliferation, Apoptose und DNA-Doppelstrangbruchreparatur beteiligt ist. In der Summe wirkt CK2 antiapoptotisch und proliferationsfördernd. Während CK2 in Normalgewebszellen streng reguliert ist, konnte in allen untersuchten Tumorzelllinien eine CK2-Überexpression festgestellt werden. Die Proteinkinase CK2 wird daher als potentiell therapeutisches Target in der Tumorthherapie diskutiert.

Um die Auswirkungen einer CK2-Inhibition zu untersuchen, wurde der pharmakologische Inhibitor 4,5,6,7-Tetrabromobenzotriazol (TBB) verwendet. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Evaluierung des Einflusses einer pharmakologischen CK2-Inhibition mittels TBB in Kombination mit Photonenbestrahlung auf die DNA- Doppelstrangbruchreparatur und die Apoptoserate in den in vitro Zelllinien WIDR (Kolonkarzinomzelllinie), LN-18 (Glioblastomzelllinie) und MRC-5 (humane Lungenfibroblasten) im Hinblick auf eine mögliche Radiosensibilisierung und Tumorspezifität der Effekte. Es sollte ebenfalls geprüft werden, ob die Wirkung des global im zellulären Netzwerk wirksamen CK2-Inhibitors TBB auf die strahleninduzierte Apoptoserate durch den kombinierten Einsatz mit dem spezifisch wirksamen EGF-Rezeptor-Antikörper Cetuximab weiter gesteigert werden kann.

Mittels Immunfluoreszenzmikroskopie von strahleninduzierten  $\gamma$ -H2AX-Foci wurde der Einfluß der CK2-Inhibition auf die DNA-Reparaturkapazität nach Behandlung der Zellen mit dem Inhibitor TBB oder lediglich dem Lösungsmittel DMSO und anschließender Bestrahlung untersucht. In Zusammenschau mit vorhergehenden Ergebnissen der Arbeitsgruppe (Pulsfeldgelelektrophorese) konnte eindeutig demonstriert werden, dass das DNA-Reparatur-Signaling strahleninduzierter DNA-DSB durch pharmakologische Inhibition der CK2 mittels TBB signifikant verzögert wird (sowohl in Tumor- als auch Normalgewebszellen), ohne dass die Rejoining-Rate beeinflusst wird.

Die Apoptoseinduktion nach CK2-Inhibition und Radiotherapie wurde mithilfe der Durchflusszytometrie (SubG1-Gehalt) sowie durch Quantifizierung anhand morphologischer Kriterien (DAPI-Färbung und Fluoreszenzmikroskopie) analysiert und durch Nachweis der Spaltung der Procaspase-3 im Western Blot ergänzt. Es konnte eine signifikante Erhöhung der Apoptoserate nach Bestrahlung mit 8 Gy durch CK2-Inhibition gezeigt werden, die in den Tumorzelllinien stärker ausgeprägt war. Allerdings zeigten sich diese Effekte erst bei hohen Konzentrationen des CK2-Inhibitors TBB (100  $\mu\text{mol}$ ). Eine Caspase-3-Spaltung fand sich in den WIDR-Kolonkarzinomzellen, nicht aber in den MRC-5-Lungenfibroblasten. Die Zugabe des EGF-Rezeptor-Antikörpers Cetuximab in Kombination mit TBB ergab keinen positiven Effekt und führte zu keiner weiteren Steigerung der strahleninduzierten Apoptoserate.

Schlussfolgernd kann man feststellen, dass zwar die Rejoiningrate von DNA-DSB durch die chemische CK2-Inhibition mit TBB nicht beeinflusst wird, das Signaling der DNA-Schadensantwort aber deutlich verzögert wird. Somit wird durch TBB der Zerfall des Schadenssignals von den Reparaturprozessen entkoppelt und es kommt zu einem Persistieren der „DNA-Damage Response“. Eine Interaktion mit dem EGF-Rezeptor-Antikörper Cetuximab konnte nicht nachgewiesen werden.

Die vorliegenden Ergebnisse liefern einen weiteren Anhalt dafür, dass sich die Proteinkinase CK2 als potentiell Target in der Tumorthherapie eignen könnte. Die präklinischen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit liefern erste Ergebnisse des Zusammenspiels von CK2-Inhibition und ionisierender Strahlung. Die Ergebnisse unterstreichen den potentiellen Nutzen einer CK2-Inhibition zur Radiosensibilisierung in der Strahlentherapie.