

Patrick Naumann  
Dr. med.

## **Zur Rolle der Makroautophagie im humanen Pankreaskarzinom**

Promotionsfach: Chirurgie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Jens Werner

Durch Abbau von Organellen und Makromolekülen trägt die Makroautophagie in Zellen aller Gewebe zur metabolischen Homeostase bei. Unter zellulärem Stress stellt die Degradation intrazellulärer Bestandteile ein unentbehrliches Mittel zur kurzfristigen Bereitstellung von Energie sowie Substraten dar. Somit kann bei Nährstoffmangel das Zellüberleben über einen gewissen Zeitraum hinweg gewährleistet werden. Speziell für den anabolischen Stoffwechsel von Tumorzellen ist die Verfügbarkeit von Nährstoffen von zentraler Bedeutung. Man vermutet deshalb, dass die Makroautophagie auch Krebszellen vor Hypoxie, Hyperthermie, Chemotherapeutika und Radiatio schützen kann. Im Zuge der in den letzten Jahren zunehmenden Erforschung der Autophagie konnten diese Hypothesen bereits teilweise sehr gut bestätigt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde durch Nachweis der Makroautophagie-Markerproteine LC3-II, Beclin-1 und Atg5 im Western Blot sowie in einer Immunfluoreszenz-Lokalisationsstudie zur GFP-LC3-Distribution gezeigt, dass die Makroautophagie in Pankreaskarzinomzellen durch zellulären Stress als Folge eines Serumentzugs, einer Chemotherapie oder einer Behandlung mit dem Broccoli-Extrakt Sulforaphan induziert wird. Folglich ist die Makroautophagie entgegen zu Beginn der vorliegenden Arbeit verfügbarer Publikationen zur Autophagie im Pankreaskarzinom nicht kompromittiert. Aus der Zunahme der autophagischen Aktivität bereits nach Behandlung mit geringen, in Wachstumsassays noch nicht zytostatisch wirkenden Dosierungen der Chemotherapeutika Gemcitabin, Cisplatin und 5'FU ließ sich ableiten, dass die Makroautophagie unter zellulären Stress eine zytoprotektive Rolle einnimmt. Somit könnte sie zur typischerweise ausgeprägten Chemoresistenz des Pankreaskarzinoms beitragen.

Nach einer Sulforaphan-Behandlung wurde neben einer Hochregulation von LC3-II- und Atg5 wider Erwarten eine Supprimierung des für die Initiation der Makroautophagie obligaten Beclin-1 nachgewiesen. Da die Autophagosomenbildung dennoch möglich war, scheinen für die Expansion der Autophagosomenmembran schon geringe Mengen an Beclin-1 auszureichen. Allerdings war der Beclin-1-Abfall im Rahmen des apoptotischen Wirkmechanismus des Sulforaphans zu interpretieren, welcher möglicherweise für die den konventionellen Chemotherapeutika überlegene Wirkung des Sulforaphans ursächlich war.

In weiteren Versuchen wurden zur Modulation der Makroautophagie die beiden bereits als Arzneistoffe zugelassenen Wirkstoffe Chloroquin und Rapamycin als Adjuvantien zu einer autophagie-induzierenden Sulforaphan Behandlung gegeben. Während durch den Zusatz von Chloroquin viele Autophagosomen akkumulierten und die Makroautophagie-Exekution erfolgreich inhibiert werden konnte, waren die Pankreaskarzinomzellen relativ resistent gegen eine Induktion der Makroautophagie durch Rapamycin. Dies ist vermutlich durch die im Pankreaskarzinom häufige AKT-Überexpression bedingt. Beide Adjuvantien hatten jedoch keinen deutlichen Effekt auf das Wachstumsverhalten und konnten die Hypothese, dass die Makroautophagie zytoprotektiv wirkt, nicht weiter untermauern.

Es konnte gezeigt werden, dass die apoptotische Wirkung des Sulforaphans auf der Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies beruht und die Apoptose sowie die Induktion der Makroautophagie durch Zugabe des Antioxidans N-Acetylcystein vollständig inhibierbar ist. Interessanterweise persistierte dabei die sulforaphan-vermittelte Suppression des Beclin-1,

was dessen duale Rolle als Protein der Apoptose und Makroautophagie unterstreicht. Da Chemotherapeutika und die Radiotherapie reaktive Sauerstoffspezies freisetzen, ist aus der Kombination konventioneller Therapieregimes mit einer Sulforaphan-Einnahme oder sulforaphan-reicher Diät ein erhöhter Therapieerfolg zu erwarten.

Die komplexe Interaktion der Signalkaskaden um Apoptose und Autophagie ist noch weitgehend unerforscht und gibt deshalb weiter Anlass bei der Suche nach neuen Medikamanten zur Onkotherapie sich nicht nur auf die Apoptose zu konzentrieren.