

Nathalie Arians
Dr.med.

Regulation von Autophagie durch humane Papillomviren

Promotionsfach: DKFZ

Doktorvater: Prof. Dr. med. F. Hoppe-Seyleyler

Die Infektion mit bestimmten HPV-Typen (sog. „high-risk“ Typen wie HPV16 und HPV18) gilt heutzutage als ursächlich für die Entstehung des Zervixkarzinoms. Weltweit enthalten über 99% aller Gebärmutterhalskarzinome HPV DNA-Sequenzen. Den viralen *E6* und *E7*-Genen kommt eine Schlüsselrolle bei der HPV-induzierten malignen Zelltransformation zu. Sie werden in HPV-positiven Zervixkarzinomen stets exprimiert und sind essentiell sowohl für die Induktion der HPV-assoziierten Zelltransformation als auch für die Aufrechterhaltung des malignen Phänotyps HPV-positiver Karzinomzellen.

Das Verständnis der molekularen und zellulären Prozesse, die der HPV-assoziierten Karzinogenese zugrunde liegen, ist eine wichtige Voraussetzung für die Entwicklung neuer, rationaler Therapiestrategien. Ein Mechanismus, welcher zunehmend im Zusammenhang mit der Krebsentstehung diskutiert wird, ist die Dysregulation von Autophagie. Der Einsatz von Autophagie-Inhibitoren wird derzeit als ein neuer möglicher Ansatz bei der Krebstherapie diskutiert und in ersten klinischen Studien evaluiert. Vor diesem Hintergrund zielte die vorliegende Arbeit darauf ab, den möglichen Einfluss der viralen *E6/E7*-Onkogene auf die Autophagie-Aktivität HPV-positiver Zervixkarzinomzellen zu untersuchen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit liefern erstmals Anhalt dafür, dass die virale *E6/E7*-Expression einen wichtigen Beitrag für die Stimulierung der Autophagie-Aktivität in HPV-positiven Karzinomzellen leistet. Dies konnte durch eine Hemmung der viralen Onkogenexpression mittels RNAi und anschließender Messung des Autophagie-Markerproteins LC3-II in unabhängigen Assays belegt werden. Vergleichende Analysen von siRNAs die nur *E6* oder *E6/E7* gemeinsam hemmen, zeigten, dass eine Hemmung von *E6* alleine ausreicht, die Autophagie-Aktivität zu modulieren. Die LC3-II-Spiegel werden dabei vermutlich primär auf Proteinebene beeinflusst.

Im Rahmen der Untersuchungen wurde auch das p62-Protein analysiert, das als Autophagie-Substrat beschrieben ist. Ihm werden außerdem wichtige Funktionen für die Kontrolle des Zellwachstums und des Zelltods zugeschrieben. Interessanterweise führte eine Hemmung der viralen Onkogenexpression in HeLa-Zellen zu verminderten p62-Spiegeln. Dies deutet darauf hin, dass die viralen *E6/E7*-Onkogene in Zervixkarzinomzellen die intrazellulären p62-Protein-Konzentrationen erhöhen. Analysen der *p62*-Transkripte zeigten, dass die *p62*-Expression in HeLa-Zellen zwar durch den zuvor beschriebenen zellulären p62-Regulator NRF2 stimuliert wird, der aktivierende Effekt durch die viralen *E6/E7*-Onkogene aber primär nicht auf der RNA-Ebene stattfindet.

Das p62-Protein ist an der Aktivierung des NF- κ B-Signaltransduktionsweges beteiligt und könnte dadurch das Tumorwachstum fördern. NF- κ B wird auch durch HPVs aktiviert. Es stellte sich daher die Frage, ob die HPV-vermittelte NF- κ B-Aktivierung p62-abhängig erfolgt. Reporter-Gen-Analysen nach Hemmung der Expression von *E6/E7* bzw. *p62* zeigten, dass HPVs die NF- κ B-Aktivität deutlich stimulieren, ergaben jedoch keinen Anhalt dafür, dass p62 hierfür eine kritische Rolle spielt.

Insgesamt zeigen die hier durchgeführten Untersuchungen, dass onkogene HPVs in Zervixkarzinomzellen die Autophagie-Aktivität stimulieren. Dieser Befund erweitert das Spektrum von Tumoren, die therapeutisch von einer Autophagie-Hemmung profitieren könnten, um das Zervixkarzinom. Auch für andere HPV-positive Tumoren, wie beispielsweise Kopf-Halstumoren, käme ein solcher Therapieansatz prinzipiell in Betracht. Allerdings muss darauf hingewiesen werden, dass eine Autophagie-Hemmung – zumindest unter bestimmten experimentellen Bedingungen – auch tumorfördernde Effekte aufwies. Angesichts dieses Umstands scheinen umfangreiche weitere Untersuchungen über den therapeutischen Nutzen einer Autophagie-Modulation in der Tumorthherapie dringend erforderlich.