

Hande Erdal
Dr. med.

Charakterisierung der TRAIL-Sensitivität und der CD44-positiven Subpopulation im Sphäroidmodell des Pankreaskarzinoms

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Priv. Doz. Dr. med. T. Ganten

In der vorliegenden Arbeit wurde im direkten Vergleich der Zellkulturmodelle Monolayer versus Tumorsphäroidmodell der Pankreaskarzinomzelllinien Colo-357 und Su-8686 präklinisch das therapeutische Potential von rekombinantem TRAIL zur Tumortherapie evaluiert. Es wurden aufgrund der aufgezeigten TRAIL-Resistenz der Tumorzellen Kombinationstherapien entwickelt, welche eine rasche Sensitivierung der Tumorzellen ermöglichen. Die molekularen Mechanismen dieser TRAIL-Sensitivierung wurden in beiden Tumorzellmodellen untersucht. Weiterhin wurde die Rolle des Hyaluronanrezeptors CD44 für die TRAIL-Sensitivität der Pankreaskarzinomzellen charakterisiert und die Expression in primären Tumorsektaten untersucht.

In Monolayer- und Sphäroidkulturen zeigte sich eine primäre TRAIL-Resistenz, welche in Sphäroidkulturen der Colo-357-Zellen ausgeprägter war als in Monolayerkulturen. Diese TRAIL-Resistenz war durch Überführung der Colo-357-Sphäroidkultur in Monolayerkulturen umkehrbar. Beide Zelllinien wiesen als Sphäroidkultur eine geringere TRAIL-R1-Oberflächenexpression sowie eine signifikante Hochregulation der intrazellulären antiapoptotischen Proteine cFLIP, cIAP1, Mcl-1 und XIAP auf. Monolayerkulturen beider Zelllinien ließen sich sehr gut durch subtoxischen Konzentrationen der Chemotherapeutika Bortezomib, Oxaliplatin bzw Cisplatin für TRAIL-induzierte Apoptose sensitivieren. Hingegen waren Sphäroidkulturen weniger ausgeprägt für TRAIL sensitivierbar. Oxaliplatin konnte die Sphäroidkulturen beider Zelllinien, Bortezomib nur die der Colo-357-Zellen und Cisplatin nur die Sphäroidkulturen der Su-8686-Tumorzellen für TRAIL sensitivieren. Diese Sensitivierung korrelierte nicht mit einer Änderung der Oberflächenexpression der TRAIL-Rezeptoren 1- 4. Das gegenseitige Verhalten von BclxL, Noxa und cFLIP war dagegen prädiktiv für die Sensitivierbarkeit der Tumorsphäroide gegenüber TRAIL.

Aufgrund ihres vorbeschriebenen Einflusses auf die Chemosensitivität von Tumorzellen wurde die Expression von CD44 und CD133 auf eine mögliche Korrelation mit der beobachteten TRAIL-Resistenz untersucht. Eine signifikante CD133-Expression konnte in keiner Zelllinie/Kulturform nachgewiesen werden. Die CD44-Expressionshöhe war in beiden Kulturformen vergleichbar und änderte sich in den beschriebenen Sensitivierungsversuchen nicht. Obgleich die CD44-Expression mit einer höheren TRAIL-Resistenz korrelierte, konnte keine genetisch stabile CD44-positive Tumorsubpopulation gefunden werden. Stattdessen wurde die CD44-Expression im zellulären Kontext reguliert und zeigte sich in immunhistochemischen Analysen von primärem Tumorgewebe mit der

Tumorinfiltrationszone assoziiert. Unsere Immunfluoreszenzfärbungen von primärem Pankreaskarzinomgewebe zeigten zudem eine räumliche Korrelation der CD44-Expression mit einem Verlust des Differenzierungsmarkers Panzytokeratin. Trotz primärer TRAIL-Resistenz konnten CD44 positive Tumorzellen mit subtoxischen Konzentrationen der Chemotherapeutika Bortezomib, Oxaliplatin und Cisplatin für TRAIL-induzierte Apoptose sensitiviert werden.