

Seyedeh Sherminah Kerkeni

Dr. med.

Prognose relevante Zielgene der p53-Familie beim Hepatozellulärem Karzinom

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktormutter: Prof. Dr. med. Martina Müller-Schilling

Die p53-Familienmitglieder p53, p63 und p73 spielen eine wichtige Rolle in der Entstehung, Progression und für die Prognose des Hepatozellulären Karzinoms. Die gegenwärtigen klinischen und histopathologischen Diagnostiken und die HCC-Klassifikation sind aufgrund der klinischen Heterogenität des HCC nicht zuverlässig genug, um die Prognose der HCC-Patienten und ihr Ansprechen auf die Therapie vorherzusagen. Dabei ist nicht nur der Status von p53 allein relevant für die Tumorentstehung, Tumorprogression und Prognose, sondern ebenfalls die Interaktionen zwischen den einzelnen p53-Familienmitgliedern p53, p63 und p73. In Illumina Whole Genome Microarray-Analysen konnte unsere Arbeitsgruppe erstmals genomweite Zielgenexpressionsprofile der p53-Familienmitglieder charakterisieren und zeigen, dass ein kombinierter Gentransfer aller drei p53-Familienmitglieder in Hep3B-Zellen distinkte Gene reguliert, die durch die einzelnen p53-Familienmitglieder p53, TAp63 und TAp73 nicht reguliert werden. Dieser synergistische Effekt der p53-Familie hinsichtlich der Apoptoseinduktion im HCC konnte sowohl durch Luciferase-Reporter-Assays, Todesrezeptor- und JC1-FACS-Analysen, als auch durch Caspaseaktivierungs- und Blockade-Assays verifiziert werden. Zudem konnten wir zeigen, dass der kombinierte Gentransfer der p53-Familienmitglieder zusammen mit Chemotherapie zu einer erhöhten Apoptoserate und somit zu einer verbesserten Chemonsensitivität im HCC führt. Unsere Arbeitsgruppe identifizierte durch den Vergleich der *in vitro* generierten p53-familienabhängigen Zielgenexpressionsprofile mit humanen *in vivo* Genexpressionsdatensätzen von HCC-Patienten eine prognostisch relevante gemeinsame 78- bzw. 28-Zielgensignatur der p53-Familie im HCC und bestätigte damit die klinische Relevanz der *in vitro* generierten Zielgenexpressionsprofile der p53-Familie im HCC.

Im Rahmen dieser Arbeit ist es uns gelungen zu zeigen, dass ein kombinierter Gentransfer der p53-Familienmitglieder p53, TAp63 und TAp73 in Hep3B-Zellen auf transkriptioneller Ebene ebenfalls einen kooperativen/ synergistischen Effekt hinsichtlich bekannter extrinsischer und intrinsischer Apoptosezielgene im HCC aufweist sowie zur Transaktivierung distinkter Gene führt. Zudem konnten wir neue p53-familienabhängige Zielgene im HCC identifizieren (COL7A1, GPR109A, C20ORF117, PTGER2), für deren Regulation die simultane Transaktivierung durch alle drei p53-Familienmitglieder p53, p63 und p73 essentiell ist. Ihre tumorbiologische Relevanz sowie ihre Interaktionen mit apoptoserelevanten Molekülen und Signalwegen machen diese vier neuen p53-familienabhängigen Zielgene zu einem vielversprechenden Ansatzpunkt für neue HCC-Therapiestrategien.

Darüber hinaus konnten wir aus der prognostisch relevanten gemeinsamen p53-familienabhängigen 28-Kernzielgensignatur im HCC mittels qRT-PCR in Hep3B-Zellen sieben gemeinsame p53-familienabhängigen Zielgene (ATF3, C3, IGFBP2, IGFBP4, HIF1A, SRI, AFP) identifizieren, deren Regulationsrichtungen auf transkriptioneller Ebene mit denen in unseren Microarray-Ergebnissen sowie unseren humanen HCC-Datensätzen übereinstimmten. Somit konnten wir einen prognostisch relevanten gemeinsamen p53-familienabhängigen sieben-Gene-Datensatz im HCC erstellen, der in Zukunft eventuell in die molekulare HCC-Klassifikation integriert werden kann und eine individualisierte Therapie von HCC-Patienten ermöglichen kann. Demnach ist eine Hochregulierung der Gene ATF3, C3, IGFBP2 und IGFBP4 sowie eine Herunterregulierung der Gene AFP, HIF1A und SRI mit einer besseren Prognose im HCC verbunden. Die funktionelle Analyse dieser sieben gemeinsamen Zielgene der p53-Familie bestätigte ihre bedeutende Rolle in zellproliferations-, tumorgenese- sowie apoptoserelevanten Signalwegen. Innerhalb dieses gemeinsamen p53-familienabhängigen sieben-Gene-Datensatzes identifizierten wir zwei Gene (C3, SRI), deren Regulation durch die p53-Familienmitglieder p53, p63 und p73 bisher noch nicht beschrieben worden ist. Insbesondere durch ihre Regulation des Immunsystems und der Kalziumhomöostase erweitern diese zwei gemeinsamen Zielgene der p53-Familie unser Verständnis über die molekularen Mechanismen des HCC und bieten eine aussichtsreiche Grundlage zur Entwicklung neuer antitumoraler Therapiealternativen beim HCC.