



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Medizinische Fakultät Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Untersuchungen über die Bedeutung der Chemokinrezeptoren  
CXCR4 und CXCR7 für die durch SDF-1 $\alpha$  induzierte Genexpression,  
Proliferation, Migration, Invasion und Chemosensitivität  
kolorektaler Tumorzellen**

Autor: Doreen Heckmann  
Institut / Klinik: Chirurgische Klinik - Experimentelle Chirurgie /  
Klinische Kooperationseinheit Molekulare Onkologie solider  
Tumoren DKFZ Heidelberg  
Doktormutter: Prof. Dr. H. Allgayer

Das kolorektale Karzinom ist die zweithäufigste Krebstodesursache in Deutschland. Obwohl die Heilungsaussichten für früh diagnostizierte Erkrankungen ohne Metastasenbefund günstig sind, versterben bis zu 30 % dieser Patienten dennoch innerhalb von 5 Jahren. Als eines der Schlüsselproteine für die Metastasierung von soliden Tumoren wurde der Chemokinrezeptor CXCR4 identifiziert. In diesem Zusammenhang ist die Interaktion von SDF-1 $\alpha$  mit seinen Rezeptoren CXCR4 und CXCR7 während der Tumorentstehung und dem Fortschreiten der Erkrankung von großer Bedeutung.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung der Chemokinrezeptoren CXCR4 und CXCR7 und ihres gemeinsamen Liganden SDF-1 $\alpha$  für die Regulation der Genexpression, der Proliferation, der Migration, der Invasion und der Chemosensitivität kolorektaler Tumorzellen untersucht. In Tumorgewebe von 52 Patienten mit CRC wurde gezeigt, dass die Expression von CXCR4 und CXCR7 proportional mit der Tumorprogression des CRC zunimmt. In Tumoren fortgeschrittener Stadien war die Expression von CXCR4 und CXCR7 erhöht. CXCR7 wurde darüber hinaus verstärkt in undifferenzierten Tumoren detektiert. Als Modellsystem für dieses Projekt wurden Kolonkarzinomzellen (SW480, SW620, RKO) etabliert, welche den CXCR4-Rezeptor, den CXCR7-Rezeptor oder beide Rezeptoren lentiviral überexprimierten oder den CXCR4-Rezeptor herunterregulierten. Die Stimulation dieser Zelllinien mit SDF-1 $\alpha$  resultierte in einem disparaten und teilweise gegenläufigen Expressionsmuster für Signalkaskaden stromabwärts von CXCR4 oder CXCR7. Microarray-Expressionsanalysen und Transwell-Invasionsexperimente belegten, dass CXCR4 die Rolle eines Schlüsselproteins im Invasionsprozess *in vitro* einnimmt, CXCR7 dagegen vermutlich keine Funktion bei der Invasion hat. Die Microarray-Analysen ergaben zudem, dass der CXCR7-Rezeptor nach Stimulation mit SDF-1 $\alpha$  die Expression von Genen des Lipidmetabolismus aktivierte, während der CXCR4-Rezeptor die Expression von Genen der Proliferation und Migration (EGFR, AXL) anregte. Eine In-silico-Analyse der Microarray-Expressionsdaten postulierte eine mögliche Regulation der microRNAs miR-217 und miR-218 und ihrer potentiellen Ziel-mRNAs (RIN2, EFNB2, DUSP5) via SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 oder SDF-1 $\alpha$ /CXCR7. In rektalen Tumoren wurde eine inverse Korrelation der Expression von RIN2 und miR-217 nachgewiesen.

In Zytotoxizitätsassays wurde gezeigt, dass die Expression von CXCR4 die Chemosensitivität von Kolonkarzinomzellen gegenüber beim Kolonkarzinom etablierten Chemotherapien wie 5-FU signifikant erhöhte. Die Gabe von SDF-1 $\alpha$  mit Chemotherapie konnte diesen Effekt darüber hinaus erhöhen. Zudem war in Zellen mit starker Expression von CXCR4 die Apoptoserate nach Chemotherapie im Vergleich zu den Kontrollzellen signifikant erhöht. Dagegen verminderte die Expression von CXCR7 die Chemosensitivität von Tumorzellen. In Fortführung dieser Experimente wurde nachgewiesen, dass die Vorbehandlung mit Plerixafor, einem CXCR4-Antagonisten, CXCR4-exprimierende Kolonkarzinomzellen aus der Nährschicht mobilisierte und die nachfolgende Behandlung mit Chemotherapie und Plerixafor stärkere zytotoxische und apoptotische Effekte hervorrief als ohne Vorbehandlung mit Plerixafor. Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass Plerixafor nicht nur eine Chemosensibilisierung durch seine mobilisierende Wirkung erzielen kann, sondern auch in der Lage ist, bei bereits mobilisierten Zellen eine signifikante Chemosensibilisierung gegenüber verschiedenen

Zytostatika zu erzielen. Diese Ergebnisse legen einen möglichen Einsatz von Plerixafor in der adjuvanten Tumorthherapie nahe.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse in CXCR4- und/oder CXCR7-exprimierenden Tumorzellen erstmals, welche zellulären Signalwege von welchem Rezeptor aktiviert werden. Jedoch wurde auch gezeigt, dass beide Rezeptoren in den in dieser Arbeit untersuchten 52 primären kolorektalen Tumoren gleichzeitig exprimiert waren. Dies postuliert, dass die in CXCR4/CXCR7-Zellen gewonnenen Resultate das Verhalten von kolorektalen Tumorzellen besser als eine isolierte Betrachtung von CXCR4 beschreiben und eine größere Relevanz für eine Translation in eine In-vivo-Situation haben.