

Sarah Kneller

Dr.med.

Umverteilung Primärer Zilien vom Epithel zum Stroma im Verlauf der Karzinogenese im Pankreas

Promotionsfach: Chirurgie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. O. Strobel

Das duktales Adenokarzinom des Pankreas (PDAC) ist eine Erkrankung mit einer schlechten Prognose. Dies liegt neben einer häufig späten Diagnose und frühen Metastasierung am Fehlen einer effizienten systemischen Therapie, unter anderem weil die Erreichbarkeit der Tumorzellen für Chemotherapeutika durch eine ausgeprägte Stromareaktion stark eingeschränkt ist. Der Hedgehog-(HH)-Signalweg ist als wichtiger Mediator im PDAC hochreguliert. Das Primäre Cilium (PC) ist als Expressionsort des HH-Rezeptors PTCH essenziell für die Übermittlung des ligandenabhängigen HH-Signals. Deshalb war es überraschend, dass vorausgegangene Studien einen Verlust der Primären Zilien im PDAC und seinen Vorläufern beschrieben. In anderen Studien konnte die Ausbildung von Primären Zilien in verschiedenen Pankreaskarzinom-Zelllinien nachgewiesen werden. Es ist bekannt, dass über den HH-Signalweg Signale von Tumorzellen zum umliegenden Stroma vermittelt werden. Der HH-Signalweg und das PC besitzen somit eine zentrale Bedeutung bei der Entstehung sowie der Progression des Pankreaskarzinoms und könnten Ziel eines möglichen therapeutischen Ansatzes sein. Das Vorkommen von PC auf Stromazellen wurde in den verschiedenen Pankreaserkrankungen bis jetzt allerdings noch nicht näher untersucht. Die pankreatische Sternzelle (PSC) spielt eine wichtige Rolle bei der desmoplastischen Stromareaktion. Über das Vorhandensein von PC auf Pankreatischen Sternzellen ist bis jetzt noch nichts bekannt.

Wir entwickelten die Hypothese, dass PC in den Vorläuferläsionen und im PDAC nicht verloren gehen, sondern weiterhin im Bindegewebe ausgebildet werden. Ziel der Arbeit war es folglich das Vorkommen von PC im gesunden Pankreas im Vergleich zu den Stufen der Karzinogenese des PDAC zu charakterisieren. Hier sollte neben der Anzahl zilientragender Zellen auch die Länge der PC untersucht werden. Der Fokus lag im Vergleich zu vorangehenden Arbeiten nicht nur auf dem Epithel, sondern vor allem auf dem Bindegewebe. Zu diesem Zweck wurde eine Doppel-Immunfluoreszenz für PC in gesunden Donor-,

chronische Pankreatitis-, intraduktale papillär-muzinöse Neoplasie- und Adenokarzinom-Gewebe durchgeführt und die Anzahl sowie die Länge von PC ermittelt. Co-Färbungen für den HH-Rezeptor PTCH und SMO als Protein der HH-Signalkaskade wurden ebenfalls durchgeführt. Da pankreatische Sternzellen für die ausgeprägte Stromareaktion im PDAC verantwortlich sind, wurden diese auf PC hin untersucht. Weiterhin wurden funktionelle Untersuchungen zum Einfluss von Sonic Hedgehog als Mediator des HH-Signalweges auf PSC durchgeführt. Die Analyse von PC in Xenografttumoren, in denen der HH-Signalweg inhibiert wurde, sollte Hinweise auf neue therapeutische Ansätze liefern.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass es im Verlauf der Karzinogenese vom gesunden Donorgewebe über die chronische Pankreatitis, die Läsionen der pankreatischen intraepithelialen Neoplasie bis hin zum PDAC nicht zu einem Verlust von PC, sondern zu einer Umverteilung von PC in Anzahl und Länge vom Epithel hin zum Stroma kommt. Färbungen von Pankreaskarzinom-Zelllinien auf PC ergaben, dass die Ausbildung der PC *in vitro* stark von den Kulturbedingungen abhängig ist und *in vitro* gewonnene Ergebnisse daher mit Vorsicht zu interpretieren sind. Die Färbung der PSC zeigte, dass diese PC besitzen. Weitere funktionelle Untersuchungen weisen darauf hin, dass Sonic Hedgehog die pankreatischen Sternzellen im Bindegewebe aktivieren könnte, diese vermehrt PC ausbilden, ortsständig bleiben und zur lokalen Stromareaktion beitragen. Möglicherweise führt die verstärkte Aktivierung des HH-Signalweges im PDAC auf diesem Wege über die PSC im Stroma zu einer gesteigerten Förderung der Proliferation und Invasivität der Tumorzellen. Bei der Inhibierung des HH-Signalweges in den Xenografttumoren kommt es bei den Tumoren, die im Rahmen der Therapie eine Verminderung des Stromas und ein damit einhergehend verringertes Tumolvolumen aufgezeigt hatten, zu einer Reduktion bis hin zu einem Verlust von PC im Stroma.

Zusammenfassend kommt es während der Karzinogenese im Pankreas zu einer Umverteilung der Ausbildung von PC vom Epithel hin zum umliegenden Stroma. Diese Umverteilung liefert eine Erklärung für die im PDAC wichtige Neuausrichtung des HH-Signals vom Epithel hin zum Bindegewebe. Die Ergebnisse betonen die mögliche Bedeutung der Verbindung des HH-Signalweges mit den PC, den pankreatischen Sternzellen und dem Bindegewebe. Wie schon vorausgehende Studien zeigen, kann die Unterbindung der Stromareaktion im Bindegewebe positiven Einfluss auf die Therapie des Pankreaskarzinoms haben. Die Ergebnisse der Untersuchung der Xenografttumoren betonen den möglichen Einfluss des HH-Signals auf die Ziliogenese. Zudem könnte eine direkte Hemmung der Ziliogenese zu einer Reduktion des Stromas führen und hierdurch die Penetration von Chemotherapeutika in das

Pankreaskarzinom verbessern. In der vorliegenden Arbeit wird jedoch aufgezeigt, dass bei der Evaluation des therapeutischen Potentials einer Hemmung der Ziliogenese Epithel und Bindegewebe getrennt voneinander betrachtet werden müssen.