

Andreas Harjung

Dr. med.

Heat Shock Protein 70 – eine neue therapeutische Zielstruktur in neuroendokrinen Pankreasneoplasien

Promotionsfach: Pathologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Hendrik Bläker

Neuroendokrine Pankreasneoplasien (NEPN) sind heterogene Neoplasien, deren Behandlungsoptionen besonders bei inoperablen und metastasierten, biologisch aggressiven Neoplasien begrenzt sind.

Hsp70 hat sich bereits in anderen Tumorentitäten wie kolorektalen Karzinomen und Mammakarzinomen als vielversprechende therapeutische Zielstruktur *in vitro* herausgestellt. Ziel dieser Arbeit war es, die Expression und die therapeutische Relevanz von HSP70 in NEPN zu untersuchen.

Anhand einer Serie von 160 formalin-fixierten und paraffin-eingebetteten NEPN, sowie anhand von 17 kryokonservierten Frischgewebeproben konnte mittels immunhistochemischen Färbungen, semiquantitativer RT-PCR sowie Westernblots gezeigt werden, dass Hsp70 in allen untersuchten Tumorproben exprimiert ist und dass die einzelnen Isoformen von Hsp70 im Vergleich zu normalem Pankreasgewebe signifikant überexprimiert sind.

Mittels *in vitro*-Untersuchungen an der humanen NEPN-Zelllinie BON und der murinen NEPN-Zelllinie β -TC-3 konnte MTT-basiert gezeigt werden, dass eine Hsp70-Inhibition mit VER-155008 und PES zu einer signifikanten, konzentrationsabhängigen Reduktion der Zellvitalität führt. Dies ist von einer Reduktion der S-Phase des Zellzyklus zugunsten eines G1- bzw. G2-Arrestes begleitet. Mittels FACS konnte weiter nachgewiesen werden, dass eine Hsp70-Inhibition zur Verschiebung einer signifikanten Zahl von NEPN-Zellen in die subG1-Phase führt. Die Apoptose trat bei den untersuchten Tumorzellen caspaseunabhängig auf, was Caspaseassays sowie Westernblot-Untersuchungen darlegten. Es konnte nachgewiesen werden, dass es als möglicherweise ursächlich zu einer Cathepsin B- und einer Cytochrom c-Freisetzung ins Cytosol kommt. Ebenso wurde eine intrazelluläre Verschiebung von apoptoseinduzierendem Faktor (AIF) beobachtet.

Eine Hsp70-Inhibition induzierte ferner die Degradation von verschiedenen protumorigenen Proteinen des PI3K-Akt- sowie des Ras-Raf-MEK-Erk-Signalweges. Die Wirkung von Standardchemotherapeutika wurde durch Hsp70-Inhibitoren verstärkt. Diese Befunde belegen, dass Hsp70 eine vielversprechende neue therapeutische Zielstruktur in der Therapie von NEPN darstellt.