

Maximilian Knoll  
Dr. med.

## **Zelltodregulation durch den mTOR Inhibitor Everolimus im Nierenzellkarzinom**

Fach/Einrichtung: Pathologie  
Doktorvater: Prof. Dr. Wilfried Roth

Der mTOR Signalweg ist ein zentraler Regulator der Proteinsynthese, Zellzyklusregulation und der Zellproliferation. Im Nierenzellkarzinom spielt dieser Signalweg eine wichtige Rolle als Zielstruktur neuer, zielgerichteter Therapien. So wird Everolimus in Zweitlinientherapie nach Sunitinib oder Pazopanib im metastasierten Nierenzellkarzinom eingesetzt. Dabei ist der genaue molekulare Mechanismus für die Wirksamkeit von Everolimus bisher nicht bekannt. Da ein grundlegendes klinisches Problem die zeitlich begrenzte Wirksamkeit mit Auftreten eines Progresses des Tumorleides nach Therapie mit Everolimus besteht, ist die Identifikation von Resistenzmechanismen von hoher klinischer Relevanz.

Die Ziele der vorliegenden Arbeit bestanden darin, den Einfluss einer Everolimus basierten Therapie auf die Fähigkeit zur Zelltodinduktion in Tumorzellen zu untersuchen, den Stellenwert einer Kombinationstherapie mit weiteren Substanzen zu evaluieren, eventuell vorhandene Resistenzmechanismen zu untersuchen sowie prognostische und prädiktive Marker zu identifizieren und zu bewerten.

In den untersuchten Tumorzelllinien fand sich keine wesentliche Induktion von Apoptose oder anderen Arten des Zelltodes durch Everolimus. Die Kombination mit anderen Zelltod induzierenden Substanzen führte nicht zu synergistischen Effekten, wobei sich in einigen der untersuchten Zelllinien sogar eine antagonistische Wirkung zeigte. Everolimus war also im hier verwendeten Zellkulturmodell in der Lage, protektiv gegenüber bestimmten proapoptotischen Signalen zu wirken.

Untersuchungen zu Klonogenität, Proliferation und Migration zeigten, dass Everolimus die jeweiligen Parameter im Sinne einer Hemmung beeinflussen konnte. Ebenso wurde die Proteinsynthese durch Everolimus stark gehemmt, wobei in Proben aus Frischgewebe-OP-Präparaten Everolimus im Tumorgewebe eine deutlich stärkere Hemmung der Proteinsynthese zeigte als im korrespondierenden Normalgewebe.

Um den wesentlichen Mediator der Everolimuswirkung zu identifizieren, wurden Komponenten des mTOR Signalwegs, die die Proliferation, Translation und Proteinsynthese kontrollieren, mittels siRNA in ihrer Expression supprimiert. Dabei zeigte sich ein Wirkverlust von Everolimus in Zellen, deren rpS6 Expression vermindert war. Dieser Wirkverlust war sowohl hinsichtlich der Hemmung der Proliferation als auch der Proteinsynthesehemmung zu beobachten.

Diese Versuche erlaubten die Identifikation von rpS6 als potentiellen prädiktiven Marker hinsichtlich des Ansprechens auf eine Everolimus basierte Therapie.

Schließlich wurde ein Tissue Microarray mit Nierenzellkarzinomproben hinsichtlich einer prognostischen Wertigkeit von p-rpS6 und rpS6, bzw. deren kombinierter Expression untersucht. Es zeigte sich, dass eine starke Expression sowohl von p-rpS6 als auch von rpS6 mit einer schlechten Prognose assoziiert ist, wobei insbesondere die Subgruppe von Patienten mit kombinierter starker Expression von p-rpS6 und rpS6 ein substantiell verkürztes Überleben aufwies. Insgesamt konnte die kombinierte Auswertung von rpS6 und p-rpS6 als unabhängiger prognostischer Marker identifiziert werden.