

Marina Engel
Dr. med.

Charakterisierung der Protein-O-Mannosylierung in Brustkrebszelllinien

Fach/Einrichtung: Frauenheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. Florian Schütz

Im Mittelpunkt dieser Arbeit steht die Protein-O-Mannosylierung. Dabei handelt es sich um eine essentielle Proteinmodifikation in Säugern. Wichtige O-mannosylierte Proteine sind α -Dystroglykan, und E-Cadherin. Bei α -Dystroglykan handelt es sich um einen Baustein des Dystrophinglykoproteinkomplexes, der eine Verbindung des Zytoskeletts mit der Basalmembran bildet. E-Cadherin ist ein Bestandteil von *adherence junctions* und ein wichtiger Tumorsuppressor. Zur Untersuchung der Rolle von O-Mannosylglykanen bei der Krebsentstehung wurde mit HEK-Zellen und mehreren Brustkrebszelllinien gearbeitet.

Ziel der Arbeit war es, nachzuweisen, dass ein Defekt der O-Mannosylierung die Adhäsionsfähigkeit von Zellen vermindert und dadurch die Migrationsfähigkeit von Krebszellen befördert, was auf einen Zusammenhang einer Defekten O-Mannosylierung mit Metastasierung hindeuten würde. Hierzu wurde zunächst die Expression von α -Dystroglykan, E-Cadherin sowie der an der O-Mannosylierung beteiligten Glykosyltransferasen charakterisiert, wobei die Zellen deutliche Unterschiede aufwiesen: In T47-D-Zellen sind α -Dystroglykan und E-Cadherin vorhanden und O-mannosyliert. Hingegen wird in MDA-MB-231-LM2-Zellen E-Cadherin vermindert exprimiert und O-mannosyliertes α -Dystroglykan ist nicht nachweisbar. Anders als zunächst vermutete sind die Protein-O-Mannosyltransferasen in allen untersuchten Zelllinien aktiv. Die Defekte der O-Mannosylglykane in MDA-MB231-LM2-Zellen lassen sich auf eine verminderte Expression von LARGE1 und 2 zurückführen.

Folgend wurde in den Zelllinien im gentechnischen Modell einer gehemmten O-Mannosylierung, bzw. durch chemische Inhibition, der Einfluss der O-Mannosylierung auf zelluläre Prozesse untersucht und beobachtet, dass Wachstum, Migration und Aggregation durch Hemmung der O-Mannosylierung vermindert werden. Die Vermutung, dass ein durch Inhibition der O-Mannosylierung verminderter Kontakt der Zellen zur extrazellulären Matrix die Migration von Zellen fördern könnte, wurde nicht bestätigt. Auch das invasive Wachstum der Krebszellen im *in vitro* Modell wird durch Inhibition der O-Mannosylierung verringert. Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass Defekte in der O-Mannosylierung auf alle untersuchten zellulären Prozesse hemmend wirken, lediglich in MDA-MB-231-LM2-Zellen führt eine Hemmung der O-Mannosylierung zu einem verstärkten Zellenstreckungswachstum in einem

dreidimensionalen Zellwachstumsmodell, welches für ein stärkeres lokal invasives Wachstum sprechen könnte.

Eine Überexpression von T-Cadherin in MDA-MB-231-LM2-Zellen führt zu verstärkter Invasivität im Matrigel und im dreidimensionalen Zellwachstumsmodell kommt es bei Überexpression von T-Cadherin zu einem verstärkten Zellstreckungswachstum. Beide Effekte können durch Hemmung der O-Mannosylierung aufgehoben werden. Die über Protein-O-Mannosyltransferasen vermittelte Glykosylierung von T-Cadherin fördert also die Invasivität der Krebszelllinie MDA-MB-231-LM2, eine Hemmung der O-Mannosylierung vermindert auch hier die Invasivität der Krebszellen.

Die Ergebnisse legen nahe, dass eine generelle Hemmung der O-Mannosylierung zu einer verminderten Invasivität führt und die Migrationsfähigkeit der Krebszellen verringert.