



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

**Chemoresistenz beim Pankreaskarzinom: Differenzielle  
Signaltransduktionsanalyse von 5-Fluorouracil sensitiven und 5-  
Fluorouracil resistenten Pankreaskarzinomzellen der Linie Capan-1**

Autor: Marvin Schober  
Institut / Klinik: II. Medizinische Klinik  
Doktorvater: Prof. Dr. M. Löhr

Mit einem Langzeitüberleben von weniger als 5% ist das Adenokarzinom des Pankreas unter den malignen Neoplasien immer noch eines derjenigen, mit der schlechtesten Prognose. Insbesondere der Erwerb von Chemoresistenzmechanismen stellt, auch unter Verwendung aktueller Chemotherapeutika, eines der zentralen Probleme in der Therapie dieses Malignoms dar.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten molekulare Mechanismen und Signaltransduktionswege der Chemoresistenzentwicklung beim Pankreaskarzinom analysiert werden. Als Ausgangspunkt hierfür diente ein von uns etabliertes Chemoresistenzmodell, wodurch native Pankreaskarzinomzellen der Linie Capan-1, ihren resistenten Klonen - Capan-1 5-FU2000 – gegenübergestellt werden konnten. Realisiert wurde dies durch schrittweise Exposition nativer Capan-1 Zellen gegenüber steigenden Dosierungen von 5-FU. Die erfolgreiche Etablierung der Resistenzkultur (Capan-1 5-FU2000 Zellen), wurde mit Hilfe eines ATP-Chemosensitivitätssays verifiziert und unter Verwendung durchflusszytometrischer, proteomischer, wie auch molekularbiologischer Methoden vergleichend analysiert. Durchflusszytometrie und 2D-Gelelektrophorese waren die primären analytischen Methoden zur Beurteilung unterschiedlichen Proliferationsverhaltens der Kulturen, sowie subsequent massenspektrometrischer Identifikation differentiell exprimierter Proteine. Mittels Western Blotting, PCR/QPCR und Sandwich-ELISA erfolgte die Analyse prädefinierter Signaltransduktionswege.

Als Resultat der benannten Untersuchungen war es uns möglich eine verminderte Expression von S100 $\alpha$ 4 auf Proteinebene in den resistent klonierten Zellen zu detektieren. Es zeigte sich zudem eine Verminderung um 82% auf mRNA Ebene der S100 $\alpha$ 4 Expression. Resistente Zellen zeigten eine geringere basale Phosphorylierung von SAPK/JNK und P38. Die Expression der Pro-Apoptotischen Mediatoren Bok und Bad war in Capan-1 5-FU2000 Zellen herunter- bzw. herauf reguliert. Die Behandlung mit 5-FU (2000 ng/ml über 96 h) führte zu einer deutlichen Induktion der Phosphorylierung von Nf $\kappa$ B p65 und I $\kappa$ B-alpha in nativen Capan-1 Zellen. Im Gegensatz hierzu zeigten resistent klonierte Zellen eine verminderte Phosphorylierung von Nf $\kappa$ B p65, ohne jedoch einen Unterschied in der I $\kappa$ B-alpha Phosphorylierung aufzuweisen. Die basale Phosphorylierung von S6-ribosomalem-Protein war in den resistenten Zellklonen deutlich erhöht. Die Behandlung mit 5-FU verminderte diese Phosphorylierung, wohingegen bei nativen Capan-1 Zellen ein gegenteiliger Effekt zu beobachten war.

Es gelang im Rahmen der vorliegenden Dissertation verschiedene Signaltransduktionswege zu identifizieren, die in Zellen mit erworbener Chemoresistenz differenziell reguliert sind. Im Einzelnen schien dabei insbesondere das Phosphorylierungsverhalten bestimmter Zellproteine von gesonderter Bedeutung zu sein. Die gewonnenen Daten legen daher einen Zusammenhang entsprechender Differenzen mit dem Vorgang des Erwerbs chemotherapeutischer Resistenz nahe und stellen zukünftig potentielle Interferenzpunkte zur Revision in einen erneut chemosuszeptiblen Phänotyp dar.