

**Sarah Weber**

Dr. med.

## **Der Einfluss des Notch-Zielgens HEYL auf die Metastasierung primärer kolorektaler Karzinomzellen im Xenotransplantationsmodell**

Fach/Einrichtung: NTC (Nationales Centrum für Tumorerkrankungen)

Doktorvater: Prof. Dr. med. Hanno Glimm

Zu den Hauptursachen für die Letalität von Karzinomen zählen Metastasen und damit assoziierte Erkrankungen. Das Auftreten von Fernmetastasen bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen wirkt sich stark verschlechternd auf die Prognose aus. Ein detailliertes Verständnis der Metastasierungsprozesse stellt somit eine wichtige Voraussetzung für zukünftige Therapieansätze dar.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Metastasierungseigenschaften verschiedener Sphäroidkulturen primärer humaner kolorektaler Karzinomzellen untersucht. Anhand des Metastasierungsverhaltens bei Xenotransplantation unter die Nierenkapsel von NSG-Mäusen ließen sich eine kolorektale Karzinomzellkultur mit diversen Fernmetastasen von zwei nicht-metastasierenden kolorektalen Karzinomzellkulturen abgrenzen. Bei Xenotransplantation in die Milz von NSG-Mäusen, welche in den offenen Blutkreislauf eingeschaltet ist, zeigten sich dagegen Fernmetastasen in allen Kulturen und auch bei Injektion einer der zuvor nicht-metastasierenden Kulturen in die Kaudalvene von NSG-Mäusen fanden sich Metastasen. Daraus lässt sich ableiten, dass der limitierende Schritt der Metastasierung bei Xenotransplantation unter die Nierenkapsel im Erreichen des Gefäßsystems lag, das heißt in einer unzureichenden lokalen Invasion oder Intravasation. Passend hierzu fand sich bei Vergleich der metastasierenden und nicht-metastasierenden Kulturen eine unterschiedliche Expression von Genen, die bei der epithelial-mesenchymalen Transition und der Zellmotilität eine Rolle spielen. Auch zeigten sich unterschiedliche Migrations- und Invasionseigenschaften der Kulturen in vitro.

Zu den Signalwegen, welche sich auf die Metastasierung solider Karzinome auswirken, zählt Notch. Erste Studien lieferten Hinweise, dass auch die Notch-Zielgene HEYL und HEY1 eine Rolle während der Metastasierung spielen könnten. Diese sind bei Prozessen der epithelial-

mesenchymalen Transition während der Embryogenese involviert und wirken sich auch auf Invasion und Vaskularisierung aus.

Für erste explorative Versuche zur Untersuchung der Funktion der Hey-Faktoren wurden in dieser Arbeit Sphäroidkulturen der Zelllinie HEK-293T verwendet. Diese zeigten eine deutliche Expression von HEYL und HEY1. Zudem metastasierten sie nach Xenotransplantation unter die Nierenkapsel oder die Milz von NSG-Mäusen regelmäßig in die Leber. Dabei fand sich bei Xenotransplantation unter die Nierenkapsel nach HEYL- bzw. HEY1-Überexpression entgegen der Erwartung eine deutliche, wenngleich nicht signifikante, Abnahme der Metastasierung bezogen sowohl auf die Anzahl an Mäusen mit Metastasen als auch die mediane Metastasenzahl. Nach HEY1-*Knock-down*, nicht jedoch nach HEYL-*Knock-down*, stieg umgekehrt der Anteil an Mäusen mit Metastasen an, zudem fand sich nach beiden *Knock-downs* eine größere Variabilität in den von Metastasen befallenen Organen. Bei Xenotransplantation in die Milz fanden sich dagegen keine Unterschiede zur Kontrollgruppe.

Um zu überprüfen, ob HEYL ähnliche Auswirkungen auch in kolorektalen Karzinomen zeigt, wurden Xenotransplantationsversuche mit den primären kolorektalen Karzinomzellen unter Überexpression von HEYL durchgeführt. In den hier verwendeten kolorektalen Karzinomkulturen konnte vor Überexpression keine deutliche Expression von HEYL und HEY1 nachgewiesen werden. Bei Xenotransplantation der metastasierenden kolorektalen Karzinomkultur unter die Nierenkapsel zeigte sich nach HEYL-Überexpression erneut entgegen der Erwartung eine tendenzielle Abnahme der Metastasierung. Zudem ließen sich in einer nicht-metastasierenden Kultur nach HEYL-Überexpression bei Xenotransplantation unter die Nierenkapsel in keiner Maus disseminierte Tumorzellen im Knochenmark nachweisen, während in Kontrollen eine Tumorzeldissemination ins Knochenmark stattfand. Diese Ergebnisse deuten auf einen bislang unbekanntem hemmenden Effekt der Hey-Faktoren auf den Eintritt von Tumorzellen ins Gefäßsystem und eine damit verbundene Inhibierung der Metastasierung und Tumorzeldissemination hin.

Genexpressionsprofile nach Überexpression von HEYL ergaben keine allgemeinen Aufschlüsse über Zielgene, welche zu dieser Inhibierung führen könnten. Vielmehr fanden sich für die verschiedenen Kulturen interindividuell unterschiedliche Veränderungen. Dies bestärkt die Annahme anderer Studien, dass Hey-Faktoren eher bereits bestehende Transkriptionsmuster modulieren, anstatt komplett neue Expressionsmuster zu induzieren.

Diese Arbeit liefert somit neue Erkenntnisse über Metastasierungsprozesse von kolorektalen Karzinomen und deckt bislang unbekannte Hinweise auf eine mögliche hemmende Rolle von HEYL in der Metastasierung von kolorektalen Karzinomen auf.