

Katja Elisabeth Odening  
Dr. med.

## **Komplementresistenz P-gp exprimierender Multidrug-resistenter Ovarialkarzinomzelllinien**

Geboren am 01.06.1978 in Mainz  
Reifeprüfung am 24.06.1997 in Bad Dürkheim  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1997/1998 bis SS2004  
Physikum am 16.09.1999 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg und Lyon, Frankreich (WS2001/2002-SS2002)  
Praktisches Jahr in Heidelberg (Innere Medizin, Neurologie) und Genf, Schweiz (Chirurgie)  
Staatsexamen am 21.06.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Immunologie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. vet. Michael Kirschfink

Verschiedene zelluläre Schutzmechanismen, wie das Multidrug-Resistenz-vermittelnde P-glycoprotein (P-gp) und verschiedene Komplementresistenz-vermittelnde Regulatoren, vermindern die Effizienz einer Antitumorthherapie.

Bezüglich eines möglichen Zusammenhangs zwischen MDR und Komplement-resistenz maligner Zellen gibt es widersprüchliche Auffassungen. Sowohl eine Zunahme der Komplementresistenz (Weisburg et al. 1996, 1999) als auch eine vermehrte Komplementempfindlichkeit (Bomstein und Fishelson 1997) P-gp positiver MDR-Zellen wird beschrieben. Eine dritte Arbeitsgruppe (Johnstone et al. 2001) schließlich postuliert, dass Komplementresistenz und durch P-gp vermittelte MDR zwei völlig voneinander unabhängige Schutzmechanismen der Zelle darstellen.

Fraglich ist, ob es sich bei den beobachteten Zusammenhängen um eine Korrelation zweier voneinander unabhängiger Phänomene handelt oder ob ein kausaler Zusammenhang zwischen MDR und Komplementresistenz besteht.

In der vorliegenden Arbeit kann gezeigt werden, dass die durch den Einsatz von Zytostatika generierten P-gp positiven Varianten OAW-Dox und OAW-Tax signifikant komplementresistenter sind als die P-gp negative, chemosensible Ursprungszelle OAW42 und auch die mit dem MDR1-Gen transfizierten und danach mit Chemo-therapeutika selektionierten Varianten A2780MDR und SKOV-MDR/2 sich durch eine signifikante Zunahme der Komplementresistenz auszeichnen. In beiden Fällen geht also eine P-gp vermittelte MDR mit einer erhöhten Komplementresistenz einher.

Diese scheint jedoch nicht ursächlich mit der Funktion der P-gp Effluxpumpe verknüpft zu sein, denn weder führt die Blockade des P-gp-Transporters durch Verapamil, Cyclosporin A oder den Anti-P-gp-Antikörper MRK16 zu einer parallelen Abnahme der Komplementresistenz, noch zeichnet sich die mit dem MDR-1-Gen transfizierte, am Zytofluorometer sortierte MDR-Variante A2780MDR/2 durch eine veränderte Komplementresistenz aus. Besonders wichtig ist diese Beobachtung für die Beurteilung der Relevanz des Transporters P-gp für die Vermittlung eines komplementresistenten Phänotypus, denn nur durch die isolierte Transfektion des MDR1-Gens kann auf den nunmehr MDR P-gp exprimierenden Varianten A2780MDR/2 P-gp unabhängig, ohne weitere MDR-vermittelnde oder Komplement-resistenz-vermittelnde Faktoren untersucht werden.

Die alleinige Expression des Transporters P-gp hat offensichtlich keinen Einfluss auf die Empfindlichkeit gegenüber Komplement-vermittelter Lyse. Vielmehr korreliert die Zunahme

der Komplementresistenz der P-gp positiven Varianten OAW-Dox, OAW-Tax, A2780MDR und SKOV-MDR/2 mit der Zunahme der Expression membrangebundener Komplementregulatoren. Die Blockade dieser Regulatoren durch nicht Komplement-aktivierende Antikörper vermag zudem, im Gegensatz zur Blockade der P-gp-Funktion, die komplementresistenten Varianten wieder empfindlicher gegenüber Komplement-vermittelter Lyse zu machen.

Nur auf der Oberfläche mit Chemotherapeutika inkubierter MDR-Zellen wird eine Überexpression membrangebundener Komplementregulatoren beobachtet, so dass die Behandlung mit Zytostatika und die durch diesen auf die Zelle wirkenden Selektionsdruck bedingte Mutationen der Zellen ursächlich für die vermehrte Komplementresistenz in Frage kommt. Neben einer zunehmenden Expression des die „klassische“ MDR vermittelnden Transporters P-gp werden durch den Einsatz von Chemotherapeutika auch andere MDR-vermittelnde Mechanismen induziert.

Die Effluxpumpe P-gp scheint nicht der entscheidende, die vermehrte Komplementresistenz vermittelnde Mechanismus zu sein. Doch ist eine Interaktion zwischen MDR- und Komplementresistenz-vermittelnden Faktoren auf intrazellulärer Ebene durchaus zu überlegen, da in beide Schutzsysteme ähnlich intrazelluläre Signaltransduktionskaskadewege involviert sind.

Unter Laborbedingungen können zwar einzelne MDR-vermittelnde Faktoren isoliert durch Gentransfer induziert werden, in vivo werden in Tumorzellen jedoch im Laufe einer medikamentösen Antitumortherapie eine Reihe verschiedener sowohl MDR-vermittelnder als auch Komplementresistenz-vermittelnder Mechanismen generiert. Die Beobachtung einer positiven Korrelation zwischen MDR und Komplementresistenz bei mit Chemotherapeutika behandelten Zellen hat demnach, unabhängig vom in diese Koinzidenz involvierten Mechanismus, eine wichtige klinische Bedeutung.

Tumoren, die parallel zur MDR zunehmend auch eine Komplementresistenz entwickeln, sind besonders schwer therapeutisch anzugehen, da neben der verminderten Effizienz einer zytostatischen Antitumortherapie durch die MDR auch der alternative Einsatz einer Antikörper-Immuntherapie durch die bestehende Komplementresistenz in ihrer Wirksamkeit limitiert wird.

Eine mögliche Interaktion verschiedener, in die Vermittlung von MDR und Komplementresistenz involvierter, intrazellulärer Signaltransduktionskaskadewege als auch die mögliche Relevanz anderer MDR-vermittelnder Mechanismen als das P-gp für eine Zunahme der Komplementresistenz sollte weiter verfolgt werden, um hier möglicherweise in Zukunft therapeutisch intervenieren zu können.