

Ilaria Marta Herrmann

Dr.med.

Eradikation von CD133-positiven Hirntumorstammzellen mittels Bone Morphogenetic Protein- und All-Trans Retinolsäure-induzierter Differenzierung

Promotionsfach: Neurochirurgie

Doktormutter: Prof. Dr. rer. nat. Christel Herold-Mende

Das Glioblastom ist der aggressivste Hirntumor und derzeit trotz maximaler Therapie (Resektion, adjuvante Radio- und Chemotherapie) nicht heilbar. Es wird angenommen, dass die infauste Prognose von Glioblastom-Patienten durch das Nichterfassen von sogenannten Hirntumorstammzellen (HTSZ) bestimmt wird, die eine besonders unreife und therapieresistente Tumorsubpopulation auszumachen scheinen. Differenzierungstherapien sind eine neue Möglichkeit, Sensibilisierung gegenüber herkömmlichen Behandlungsmaßnahmen zu erzielen. Ziel ist es, unreife HTSZ zur Reifung anzuregen und hierbei einen Verlust charakteristischer Stammzell-Eigenschaften zu erzwingen und u.a. die hiermit assoziierte Therapieresistenz zu verringern. Erste Studien konnten eine erfolgreiche Differenzierung von HTSZ durch eine Behandlung mit körpereigenen Differenzierungsagenzien, den sogenannten Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) oder dem Vitamin A-Derivat All-Trans Retinolsäure (ATRA) induzieren. Obwohl die Zusammenwirkung von BMP und ATRA bereits in verschiedenen Nicht-Tumor-Geweben untersucht wurde, analysiert diese Arbeit zum ersten Mal die Effektivität einer kombinierten Behandlung mit BMP4 und ATRA hinsichtlich der Differenzierung von HTSZ.

Etablierte humane Hirntumorstammzellkulturen mit hoher Selbsterneuerungsrate und starker Expression des tumorstammzellassoziierten Markers CD133 wurden zuerst mit verschiedenen BMP4- oder BMP7-Konzentrationen behandelt. Untersucht wurde deren Differenzierungswirkung auf Morphologie, Tumorstammzellgehalt (CD133-Marker), astrogliale Differenzierung (GFAP-Marker), Proliferationsrate (Einbau von Bromodesoxyuridin in die DNA und Bestimmung der Zellanzahl) und Apoptoserate (Färbung von apoptotischen Zellkernen). Innerhalb der getesteten BMPs zeigte BMP4 die stärkste Differenzierungsinduktion und wurde daher für weitere

Experimente herangezogen. Im Rahmen von Kombinationsversuchen wurde anschließend die Wirkung einer kombinierten Behandlung mit BMP4 und ATRA mit der Wirkung der Einzelsubstanzen verglichen.

In der vorliegenden Arbeit konnte erstmalig an HTSZ gezeigt werden, dass eine kombinierte Differenzierungstherapie mit BMP4 und ATRA die Effekte der Einzelbehandlungen signifikant verstärkt. Lichtmikroskopisch konnte nach kombinierter Behandlung neben dem Rückgang der für Stammzellen charakteristischen Sphäroide die Entstehung von differenzierteren Zellen beobachtet werden, die morphologische Merkmale beider Einzelbehandlungen vereinten. Durch die kombinierte Behandlung konnte in der Durchflusszytometrie eine zusätzliche signifikante Herunterregulation des Gehalts an CD133-positiven HTSZ zugunsten einer astroglialen Differenzierung verzeichnet werden. Ebenso erzielte die kombinierte Behandlung eine signifikant verstärkte Abnahme der Zellproliferationsrate.

Die in der vorliegenden Arbeit gezeigte Potenzierung der Differenzierung von HTSZ durch eine Kombinationsbehandlung mit BMP4 und ATRA stellt eine vielversprechende Grundlage für eine weiterführende Testung in vivo dar. So könnte eine kombinierte Differenzierungstherapie zukünftig dazu beitragen, die Malignität von Hirntumorstammzellen zu verringern und damit deren Empfänglichkeit gegenüber Chemo- und Radiotherapien zu erhöhen.