

Miriam Maria Schenk

Dr. sc. hum.

Experimentelle Untersuchungen des duktales Pankreasadenokarzinoms mit dem Polyether Salinomycin

Fach/ Einrichtung: Chirurgie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Thilo Welsch

Das duktales Adenokarzinom des Pankreas (PDAC) ist für sein aggressives Wachstum, eine frühe Metastasierung und einer hohen Resistenz gegenüber gängigen Chemotherapeutika bekannt. Das Antibiotikum Salinomycin hat sich in verschiedenen Tumorentitäten als wirksam zur Eliminierung von Krebsstammzellen und der Inhibierung der Zellmigration gezeigt.

In dieser Arbeit wurde der Effekt von Salinomycin auf das PDAC *in vivo* mittels eines syngenens, orthotopen Mausmodells, sowie *in vitro* analysiert. Im Vergleich zur Kontrollgruppe konnte eine signifikante Reduktion des Tumorwachstums in mit Salinomycin behandelten Mäusen festgestellt werden, ohne dass Nebenwirkungen der Behandlung zu beobachten waren. Außerdem konnte eine verminderte Metastasierungstendenz des Tumors in die Leber und das parietale Peritoneum aufgezeigt werden.

Die molekularen Hintergründe der beobachteten Wachstumsreduktion der Tumore wurden *in vitro* an verschiedenen konventionellen PDAC-Zelllinien untersucht, indem die Wirkung von Salinomycin auf Apoptose, Proliferation und Migrationsverhalten ausgewertet wurden. Das für die Zellmigration essenzielle Aktin-Zytoskelett sowie Zytoskelett-assoziierte Proteine wurden durch Immunfluoreszenzanalyse visualisiert und mit Hilfe konfokaler Mikroskopie analysiert. *In vitro* zeigte Salinomycin lediglich eine geringe Induktion der Apoptose und eine kaum reduzierte Proliferation, während die Zellmigration signifikant inhibiert wurde, welcher mit einem nahezu vollständigen Verlust von Aktin-Stressfasern einherging.

Um die Ursachen für den Stressfaser-Verlust zu erklären, wurde das für die Stressfaser Induktion bedeutende Rho-GTPase Protein RhoA untersucht. Die RhoA-Aktivität und die Relevanz der RhoA-Aktivität für die Auswirkungen von Salinomycin auf die Zelle wurden mit einem GTP-RhoA-Pulldown Assay, mit spezifischen RhoA Aktivatoren und Inhibitoren sowie einem konstitutiv aktiven RhoA-Konstrukt untersucht. Die GTPase RhoA wurde von

Salinomycin wenigstens partiell inaktiviert. Die Reaktivierung von RhoA hatte wiederum die Regeneration der Stressfasern zur Folge. Zudem konnte in Tumorzellen mit konstitutiv aktiver Expression von RhoA-GFP kein sichtbarer Einfluss von Salinomycin auf die Integrität der Stressfasern des Aktin-Zytoskeletts beobachtet werden.

Filopodien und zirkuläre dorsale Ruffle gehören, wie die Stressfasern, zu den von den Rho GTPasen regulierten Aktin-Zytoskelettstrukturen. Das Hauptbündelungsprotein von F-Aktin in Filopodien ist Fascin. Die Behandlung mit Salinomycin führte neben einem Verlust der Aktin-Stressfasern zu einer Umverteilung des Proteins Fascin von den Filopodien ins Zytoplasma und stimulierte darüber hinaus die Rac-abhängige Ausbildung zirkulärer dorsaler Ruffles.

In der vorliegenden Arbeit konnte somit gezeigt werden, dass Salinomycin ein vielversprechendes Agens für die Behandlung von PDAC ist, da es neben seinen bekannten zytotoxischen Effekt auf Krebsstammzellen die Zellmigration der Tumorzellen inhibieren kann. Dies geschieht durch eine weitreichende Reorganisation des Aktin-Zytoskeletts, indem das Zusammenspiel der für die Regulation der Zytoskelett-Strukturen zuständigen Proteine der Rho-GTPasen durch die Inaktivierung von RhoA aus dem Gleichgewicht gebracht wird.