

Anna Lisa Thomas  
Dr.med.

## **Über Multikinase-Inhibition hinaus – Identifizierung p53-Familien-abhängiger Apoptose als zentralem Wirkmechanismus von Sorafenib im hepatozellulären Karzinom**

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktormutter: Prof. Dr. med. M. Müller-Schilling

Das rasch zunehmende Wissen um die Details der Signaltransduktion in Tumoren wie dem hepatozellulären Karzinom (HCC) hat in der letzten Dekade eine molekulare Revolution der Onkologie eingeläutet. Statt unspezifischer Zytostatika werden zielgerichtete Therapien wie Sorafenib entwickelt, welche auf Grund der Onkogen-Abhängigkeit von Tumoren selektiv wirken. In dieser Arbeit entwickelten wir ein neues Modell für den Wirkmechanismus des Multikinase-Inhibitors Sorafenib via die p53-Familie (s. Abbildung 24, Seite 90). Unterdrückung der Funktion von p53, p63 und p73 mittels siRNA senkte die Sorafenib-induzierten Apoptoseraten in HCC- und Hepatom-Zelllinien um 67 % (HepG2-Zellen) bzw. 79 % (Hep3B-Zellen). Ausgehend von diesem Beleg für die Schlüsselrolle der p53-Familie im Wirkmechanismus von Sorafenib analysierten wir die Effekte des Multikinase-Inhibitors auf klassische p53-Familien-abhängige Signalkaskaden. Neben direkten Protein-Protein-Interaktionen wirken p53, p63 und p73 vor Allem als Transkriptionsfaktoren. Dies beinhaltet erstens die Induktion der mRNA der Todesrezeptoren TRAIL-R2 und CD95, sowie die Aktivierung des extrinsischen Apoptose-Signalwegs. Zweitens führte Sorafenib zur Induktion der mRNA von p53-Familien-Zielgenen wie Bax, Puma und Noxa sowie zur Suppression des anti-apoptotischen Proteins Mcl-1. Dies resultierte in der Aktivierung des intrinsischen Apoptose-Signalwegs mit Verlust des mitochondrialen Membranpotentials, in der Spaltung von Caspasen und schließlich in Apoptose.

Zusätzlich zu seiner Fähigkeit zur direkten Auslösung von Apoptose hat Sorafenib laut unseren Daten ein beträchtliches Potential bzgl. der Sensitivierung von Tumorzellen für andere apoptotische Stimuli. So fanden wir synergistische Effekte der Kombination von Sorafenib mit Aktivierung des Todesrezeptors TRAIL-R2. Während bisherige Erklärungsversuche dafür sich auf Mcl-1 beschränkten, beschreibt diese Arbeit erstmals die Induktion von TRAIL-R2-RNA durch Sorafenib. Ausgehend von unseren Daten können wir die Hypothese formulieren, dass die TRAIL-Sensitivierung von Tumorzellen für Sorafenib über Transaktivierung des TRAIL-R2-Gens sowie Hemmung des Mcl-1-Promotors via die p53-Familie vermittelt wird (s. Abbildung 25, Seite 96). Zusätzlich beschreiben wir erstmals eine Induktion von CD95-mRNA mit konsekutiver Sensitivierung für CD95-induzierte Apoptose durch Sorafenib. Neben Zytokinen fanden wir auch eine Sensitivierung von HCC- und Hepatom-Zelllinien für die Zytostatika Doxorubicin und Bleomycin, was Sorafenib zum idealen Kombinationspartner in der Behandlung des HCC macht. Dies wird bestärkt von unseren Experimenten mit primären humanen Hepatozyten, in denen Sorafenib keine Apoptose auslöste. Damit öffnet sich ein therapeutisches Fenster, was gerade in Anbetracht der eingeschränkten Leberfunktion der meisten Patienten mit HCC von besonderer klinischer Bedeutung ist.

Die Stärke des Wirkprofils von Sorafenib liegt in der Ausnutzung der Onkogen-Abhängigkeit des HCC, in der Blockade mehrerer, auch mutierter Zielstrukturen im gleichen Signalweg sowie in der Wirkung über mehrere unterschiedliche Signalwege wie dem Ras-Raf-MEK-ERK-Signalweg und der p53-Familie. So gehen von Sorafenib verschiedenste pro-apoptotische Stimuli aus, welche sich schließlich in ein starkes Apoptose-Signal bündeln. Neben der Auslösung von Apoptose umfasst das breite Wirkspektrum von Sorafenib auch die

Hemmung von Proliferation und Angiogenese, was ebenfalls über p53 vermittelt werden kann. Diese Vielzahl an Mechanismen macht Sorafenib zur ersten systemischen Therapie, welche einen Überlebensvorteil beim fortgeschrittenen HCC bietet. Der Multikinase-Inhibitor ist somit ein ausgezeichnetes Beispiel für die Translation von Erkenntnissen zur molekularen Signaltransduktion in Tumoren in die Klinik. In Fortführung dieses Erfolgs charakterisiert die vorliegende Arbeit erstmalig die p53-Familien-vermittelte Auslösung von Apoptose durch Sorafenib. Damit bietet sie die Grundlage für ein besseres Verständnis der Hepatokarzinogenese sowie für die Entwicklung noch effektiverer zielgerichteter Therapien des hepatozellulären Karzinoms.