

Tobias Forster
Dr. med.

Hemmung der Aggressivität des Pankreaskarzinoms durch Sulforaphan über die Wiederherstellung einer durch Connexin 43 vermittelten interzellulären Kommunikation über Gap Junctions

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. Markus Wolfgang Büchler

Das Adenokarzinom des Pankreas ist eine der aggressivsten Krebsentitäten und hat mit circa 4 % unter allen Krebserkrankungen die geringste 5-Jahres-Überlebensrate. Darüber hinaus ist das Pankreaskarzinom in Deutschland unter den zehn häufigsten Krebsentitäten aufgeführt. Die extreme Aggressivität des duktales Pankreaskarzinoms wird allgemein mit einer gestörten interzellulären Kommunikation über Gap Junctions (GJIC) und der Ausbildung von Krebsstammzellen assoziiert, die für das Tumorwachstum, für Therapieresistenzen und Rezidive sowie für die Metastasierung des Pankreaskarzinoms entscheidend sind. Trotz des herausragenden Einflusses von Krebsstammzellen auf den Verlauf dieser Erkrankung sind noch keine Therapien bekannt, die an diesen ansetzen.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob eine gestörte GJIC für die Ausbildung eines Stammzellcharakters verantwortlich ist. Dazu wurden etablierte und primäre Krebszelllinien und Patientengewebe des duktales Pankreaskarzinoms untersucht, wobei interdisziplinäre Methoden der Physiologie, Zell- und Molekularbiologie, Histologie und Epigenetik zur Anwendung kamen. Im Rahmen des vorliegenden Projektes wurde eine Methode zur Messung des Bystander-Effekts weiterentwickelt, um sie für pankreatische Krebszellen nutzbar zu machen. Darüber hinaus wurde diese Methode erstmalig um eine Annexinfärbung und Durchflusszytometrie ergänzt, wodurch die Messgenauigkeit entscheidend verbessert werden konnte. Weiterhin wurde eine neue Auswertungsmethode für die Mikroinjektion entwickelt, die eine genauere Quantifikation der Ergebnisse zulässt.

Während der Fluss von Gemcitabin und von fluoreszierenden Farbstoffen durch Gap Junctions in weniger aggressiven Zellen intakt war, war er in hochgradig bösartigen Zellen mit morphologisch funktionsunfähigen Gap Junctions gestört. Unter zahlreichen Connexinen wurde nur Connexin 43 auf der Zelloberfläche wenig aggressiver Zellen, die zu GJIC fähig waren, exprimiert. In hochgradig bösartigen Zellen, die weder E-Cadherin exprimierten noch zur GJIC fähig waren, war hingegen keine Oberflächenexpression von Connexin 43 nachweisbar, was für eine entscheidende Rolle von Connexin 43 für die GJIC spricht. Die Spiegel an absolutem Connexin 43 und Connexin 43 in der an Serin 368 oder den Serinen 279 und 282 phosphorylierten Form waren in gesundem Gewebe hoch, in bösartigem Gewebe hingegen niedrig bis nicht nachweisbar. Um den Einfluss von Connexin 43 auf die Bildung von Krebsstammzellen zu demonstrieren, wurde in Zellen, die zu GJIC fähig waren, die Expression von Connexin 43 mittels siRNA gehemmt, was die GJIC verhinderte, die Resistenz gegenüber Gemcitabin verstärkte und das Selbsterneuerungspotential der Krebszellen sowie die Expression von Stammzellfaktoren förderte.

Der Wirkstoff Sulforaphan verstärkte die Expression von Connexin 43 und E-Cadherin, hemmte die Krebsstammzellmarker c-Met und CD133, verbesserte die funktionelle Morphologie der Gap Junctions und verstärkte die GJIC. Sulforaphan veränderte die Phosphorylierung zahlreicher Kinasen und ihrer Substrate, während die Hemmung von GSK3, JNK und PKC die durch Sulforaphan ausgelöste Expression von Connexin 43 verhinderte. Eine erhöhte RNA-Expression, eine verstärkte Bindung acetylierter Histone oder eine Demethylierung des Promoters von Connexin 43 konnten im Zusammenhang mit dieser durch Sulforaphan vermittelten Überexpression nicht beobachtet werden. Diese Ergebnisse legen nahe, dass eine posttranslationale Phosphorylierung der entscheidende Wirkungsmechanismus ist, der zu einer erhöhten Expression von Connexin 43 nach Therapie mit Sulforaphan führt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass der Mangel an Connexin 43 zu einer gestörten GJIC und einer verstärkten Aggressivität des duktales Pankreaskarzinoms führt, verbunden mit der Ausbildung eines Stammzellcharakters der Krebszellen, während Sulforaphan diesem Prozess entgegenwirkt. Die Ergebnisse dieser Arbeit liefern neue Einblicke in die Mechanismen der Entstehung von Krebsstammzellen, indem sie einen Zusammenhang zwischen einer gestörten Expression von Connexin 43 und der Bildung von Krebsstammzellen des Pankreaskarzinoms aufzeigen. Weiterhin verdeutlichen die Ergebnisse der Arbeit den Nutzen von Sulforaphan als neuen Therapieansatz, der direkt auf die Krebsstammzellen abzielt. Eine unterstützende Ernährungstherapie, bestehend aus Gemüse der Familie der Kreuzblütler, die reich an Sulforaphan ist, könnte im duktales Pankreaskarzinom die Wiederherstellung der GJIC fördern, was eine Sensibilisierung des Karzinoms gegenüber den gängigen Zytostatika befördern sollte.