

Andreas Kuhn

Dr. med.

Characterization of glioblastoma stem cells upon triggering of CD95

Fach / Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum DKFZ

Doktormutter: Prof. Dr. med. Ana Martin-Villalba

Das Glioblastoma multiforme (GBM) ist der häufigste bösartige primäre Hirntumor des zentralen Nervensystems bei Erwachsenen. Die Fünfjahresüberlebensrate beträgt durchschnittlich weniger als 5 %, die mittlere Überlebenszeit 14 bis 15 Monate. Trotz der gängigen Therapie bestehend aus Operation und adjuvanter Radiochemotherapie verlängert sich die absolute Lebenszeit nur um wenige Wochen bis Monate.

Im Rahmen dieser Promotionsarbeit konnte das Potential einer Therapie basierend auf der Blockade des CD95/CD95L-Systems aufgezeigt werden. CD95 ist weit mehr als "nur" ein Todesrezeptor. CD95 ist ein wichtiger Aktivator verschiedener nicht-apoptotischer Signalwege unter anderem der PI3K-AKT/PKB-Signalkaskade und steigerte darüber auch bei den hier etablierten apoptoseresistenten Glioblastomstammzellkulturen die Migration *in vitro*. Eine Blockade von CD95 mittels CD95-Fc-Protein wiederum reduzierte im Mausmodell die Migration von Tumorzellen in die kontralaterale Hemisphäre signifikant. Der enorme Stellenwert von Versuchen im Mausmodell konnte hier auf verschiedenen Ebenen unterstrichen werden. GBM-Stammzellkulturen wiesen nach Reinjektion ein aggressiveres Wachstumsmuster auf und benötigen bis zur Tumormanifestation nur noch die Hälfte der Zeit. Als Korrelat zeigte sich in immunhistochemischen Färbungen der Sekundärtumore ein sprunghafter Anstieg von Ki67 und damit des Proliferationsindexes. Zudem waren die sekundären Zellen mit dem Stammzellmarker Nestin angereichert.

Aus Tumormaterial der Neurochirurgien Heidelberg und Mannheim wurden im Rahmen dieser Promotionsarbeit mehrere GBM-Stammzellkulturen etabliert. Mittels Tumorsphären-Assay war eine Identifizierung von Glioblastomstammzellkulturen bereits zu einem frühen Zeitpunkt nach Beginn der Zellkultur möglich.

Um die Effektivität neuer Chemotherapeutika im Mausmodell quantifizieren zu können, muss sicher zwischen Zellen murinen bzw. humanen Ursprungs unterschieden werden können. Mittels FACS-Färbungen gegen den humanen MHC I-Komplex steht hier ein entsprechendes Tool zur Verfügung.

Innerhalb der Promotionslaufzeit wurde zusammen mit der Abteilung Radiologie des DKFZ die sichere und erfolgreiche Applikation des hochintensiv fokussiertem Ultraschalls (HIFU) etabliert, über die eine reversible Öffnung der Bluthirnschranke für mindestens sieben Tage erzielt werden kann. Eine Kombinationstherapie aus HIFU und des CD95-Fc-Proteins reduzierte im Mausmodell das absolute Tumolvolumen. Zudem zeigten die SMA-Tumor nach Behandlung ein weniger invasives Wachstumsmuster.

Die hier erarbeiteten Erkenntnisse über CD95 in GBM-Stammzellkulturen dienten unter anderem zur Vorbereitung der klinischen Erprobung des CD95-Fc-Proteins (APG101). 2013 hat das CD95-Fc-Protein erfolgreich eine Phase II-Wirksamkeitsstudie zur Zweitlinientherapie des GBM abgeschlossen. Nach sechs Monaten erreichten bei guter Verträglichkeit und Sicherheit signifikant mehr Patienten aus der Therapiegruppe den primäre Studienendpunkt in Bezug auf das progressionsfreie Überleben (20,7% in der Gruppe APG101 + Radiatio versus 3,8% in der Gruppe Radiatio) (Bendszus et al. 2012; Wick et al. 2014).