

Daniel Gröner
Dr. med.

Characterization of Dexamethasone-induced Gemcitabine Resistance, Cancer Stem Cell Properties and Epithelial-Mesenchymal Transition in Pancreatic Cancer

Fach: Chirurgie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. Markus Büchler

Das duktales Adenokarzinom des Pankreas ist trotz beträchtlicher Fortschritte in der multimodalen Therapie durch eine schlechte Prognose mit geringem Gesamtüberleben gekennzeichnet. Bedingt durch das weitgehende Fehlen von Frühsymptomen, sind viele Patienten bei Diagnosestellung einer kurativen chirurgischen Tumorresektion nicht mehr zugänglich. Als systemisches Leitlinientherapeutikum steht das Desoxycytidinanalogon Gemcitabin für die adjuvante und palliative Behandlung zur Verfügung.

Das hochpotente Glukokortikoid Dexamethason findet wegen seiner guten antiemetischen Eigenschaften häufig als Co-Medikation zur Chemotherapie Anwendung. Ferner ist Dexamethason dank seiner pro-apoptotischen Wirkung in der Therapie lymphoproliferativer Erkrankungen etabliert.

Gleichzeitig mehrten sich Hinweise darauf, dass Dexamethason in soliden Tumoren auch eine anti-apoptotische Wirkung entfalten kann, die dem Ziel zytoreduktiver Therapien möglicherweise entgegensteht.

In der vorliegenden Dissertation konnte mittels eines In-vitro-Modells in vier etablierten Zelllinien des Pankreaskarzinoms (MIA-PaCa2, AsPC-1, BxPC-3, Capan-2) gezeigt werden, dass eine Vorbehandlung mit Dexamethason eine chemoprotektive Wirkung entfaltet. So führte die Vorbehandlung in allen untersuchten Zelllinien zu einer Verminderung des chemotherapeutischen Effekts von Gemcitabin. Dies konnte anhand von Zellviabilitätsassays und durch Untersuchung des frühen Apoptosemarkers Annexin V mittels Durchflusszytometrie (FACS) demonstriert werden und war für die Zelllinien AsPC-1 und BxPC-3 am stärksten ausgeprägt.

Die Tumorbiologie des Pankreaskarzinoms ist durch eine hohe Chemoresistenz und starkes Metastasierungspotential charakterisiert. Eine wachsende Zahl von Studien bringt dies mit dem Vorhandensein einer stammzahl-ähnlichen Subpopulation innerhalb des heterogenen Tumorzellverbandes in Verbindung. Diese ist besonders chemoresistent und verfügt über Selbsterneuerungspotential.

In den durchgeführten Experimenten zeigte sich, dass die Behandlung mit Dexamethason *in vitro* eine Subpopulation mit Stammzeleigenschaften beförderte. Dies konnte mittels Zellkulturversuchen zu klonogenem Wachstum und anhand der Formation von Spheroïden nachvollzogen werden: Die besonders aggressiven MIA-PaCa2 Zellen zeigten nach Vorbehandlung mit Dexamethason ein intaktes Potenzial zu klonogener Selbsterneuerung und waren in der Lage unter verschärften Wachstumsbedingungen in stammzellspezifischem Kulturmedium Tumorsphären zu bilden.

Für die stammzellspezifischen Oberflächenepitope CD44 und CD 24 zeigte die Durchflusszytometrie (FACS-Analyse) nach Behandlung mit Dexamethason eine Beförderung des CD44⁺CD24⁻ Phänotyps, der von mehreren Autoren mit Tumorinitiation in Verbindung gebracht wird. Dieser Effekt ließ sich nur bei den Zelllinien BxPC-3 und Capan-2 beobachten, die basal einen geringen Anteil an stammzellähnlichen CD44⁺CD24⁻ Zellen aufweisen.

In einem weiteren Schritt wurde untersucht, welche Auswirkung wiederholte Therapiezyklen mit Dexamethason auf die Zellmorphologie und -migration der untersuchten Zelllinien haben. Dabei fanden sich in einer qualitativen Evaluation mittels Wundheilungsassays erste Hinweise

auf ein erhöhtes Migrationspotential von MIA-PaCa2 und BxPC-3 Pankreaskarzinomzellen unter Dexamethason. Ferner zeigten alle Zelllinien unter fortgesetzter Behandlung mit Dexamethason eine Tendenz zu vermehrt spindelförmigem Zellwachstum, vergleichbar mit dem Wachstumsmuster mesenchymaler Zellen. Für die Hypothese, dass unter Dexamethason auch epithelial-mesenchymalen Transition (EMT) induziert wird, fand sich in einer ersten orientierenden Untersuchung keine einheitliche Bestätigung. Capan-2 und BxPC-3 Zellen zeigten in einer ersten Betrachtung mittels Immunzytofluoreszenz nach protrahierter Dexamethason Behandlung Zeichen einer für EMT charakteristischen Proteinexpression: es fand sich eine Induktion des Intermediärfilaments Vimentin und eine verminderte Expression des epithelialen Bindungsproteins E-cadherin. EMT wird als Grundlage für die prognostisch ungünstige Tumorausbreitung und die Bildung von Fernmetastasen angenommen.

Die Ergebnisse sind durchaus von klinischer Relevanz. Sollte sich der anti-apoptische Effekt von Dexamethason in weiterführenden *in vivo* Betrachtungen bestätigen, wäre der weit verbreitete klinische Einsatz von Glukokortikoiden in Begleitung zur Chemotherapie bei soliden Malignomen einer kritischen Überprüfung zu unterziehen.