

Stefan Trefz
Dr. med.

Untersuchung der Salinomycin-Suszeptibilität von primären Zellen kolorektaler Karzinome in vitro und in vivo

Fach/Einrichtung: Chirurgie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Alexis Ulrich

In den westlichen Industrienationen gehören kolorektale Karzinome trotz verbesserter Therapie- und Präventionskonzepte nach wie vor zu den häufigsten malignen Tumorerkrankungen. Bezüglich ihrer Mortalität liegen sie in diesem Vergleich ebenfalls im vorderen Bereich. Insbesondere in fortgeschrittenen Krankheitsstadien ist das Ansprechen der Tumore auf Chemotherapeutika ein zentraler Faktor für die Prognose dieser Erkrankung. Zelluläre Resistenzmechanismen sowie sogenannte Tumorstammzellen stellen in diesem Zusammenhang häufig ein Hindernis für eine erfolgreiche Therapie dar.

Das Ziel dieser Arbeit sollte sein, die Wirkung von Salinomycin in primären humanen Zellen kolorektaler Karzinome genauer zu untersuchen, insbesondere im Hinblick auf die Suszeptibilität der darin enthaltenen Tumorstammzellen. Dafür wurden die beiden Zelllinien HD1960 und HD2787 verwendet, die unter nicht-adhärenenten und serumfreien Bedingungen kultiviert wurden.

Sowohl der Nachweis des Oberflächenmoleküls EpCAM als auch das Vorhandensein einer Zellpopulation mit messbarer Aktivität der Aldehyddehydrogenase (ALDH) qualifizierten die Zellen für die Verwendung in diesem Forschungsprojekt, da diese Eigenschaften im Kontext der Fachliteratur als Marker für Tumorstammzellen beschrieben werden.

Im Rahmen eines WST-1-Assays sowie einer SubG1-Analyse am Durchflusszytometer konnte gezeigt werden, dass Salinomycin in den hier verwendeten Zellen die Vitalität hemmt und Apoptose induziert. Beide Experimente wurden auch mit den beiden in der Therapie etablierten Zytostatika 5-Fluoruracil (5-FU) und Oxaliplatin durchgeführt. Salinomycin war beiden in der Wirksamkeit deutlich überlegen. Eine spezifische Wirkung auf Tumorstammzellen wurde dadurch untermauert, dass sich der Anteil ALDH-positiver Zellen nach Behandlung mit Salinomycin verringerte. Außerdem zeigte sich, dass in vitro die Ausbildung von Zellsphäroiden gehemmt wurde. Letzteres stellt ebenfalls ein Charakteristikum von Tumorstammzellen dar.

Weiterhin wurde die Wirksamkeit von Salinomycin in vivo untersucht, um das Potential für einen möglichen präklinischen Einsatz bei kolorektalen Karzinomen abschätzen zu können.

Dafür wurden Tumorzellen in die Flanke von immundefizienten NOD/SCID-Mäusen injiziert. Nachdem ein Tumorwachstum festzustellen war erfolgte eine Einteilung der Tiere in drei Gruppen. Während die erste Gruppe als Kontrollgruppe diente, wurden die anderen beiden Gruppen entweder mit Salinomycin oder mit einer Kombination aus 5-FU, Oxaliplatin und Folinsäure behandelt. Letzteres entspricht dem in der Therapie etablierten FOLFOX-Schema. Es zeigte sich, dass eine Behandlung mit Salinomycin ein deutlich reduziertes Tumolvolumen zur Folge hatte. Dieser Effekt war vergleichbar mit dem Ergebnis der FOLFOX-Gruppe. Außerdem war im Rahmen eines TUNEL-Assays nach Behandlung mit Salinomycin eine Zunahme der apoptotischen Zellen zu sehen. Damit bestätigt sich die Annahme, dass Salinomycin nicht nur unter in vitro-Bedingungen sondern auch in vivo eine Wirksamkeit bei kolorektalen Tumorzellen aufweist.

Mechanistisch konnte gezeigt werden, dass die Behandlung von Salinomycin zu einer verringerten Expression der Wnt-Zielgene LGR5, Cyclin D1, und Cyclin A2 führte. Gleiches gilt für die Expression des Transkriptionsfaktors LEF1. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, dass es sich bei LGR5 ebenfalls um einen Marker für Tumorstammzellen handelt. Somit bestätigt sich, dass Salinomycin auch bei primären humanen kolorektalen Tumorzellen ein Inhibitor des Wnt-Signalwegs ist.

Zusammenfassend bekräftigt diese Arbeit, insbesondere vor dem Hintergrund der Verwendung primärer humaner Tumorzellen, dass Salinomycin auch aufgrund seiner Tumorstammzell-spezifischen Wirkung weiterhin einen potentiellen Kandidaten für die Therapie des kolorektalen Karzinoms darstellt.