

Claudia Volz
Dr. med.

Untersuchungen zur Wirksamkeit und zum Wirkmechanismus von Salinomycin in CD133-positiven und CD133-negativen humanen kolorektalen Karzinomzellen und einem syngenem Mausmodell zur kolorektalen Lebermetastasierung

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

Das Ziel dieses Forschungsprojekts war es, die Wirksamkeit von Salinomycin in Zellen des humanen kolorektalen Karzinoms zu untersuchen. Dabei sollten insbesondere die Auswirkungen Salinomycins auf Tumorstammzellen und Nicht-Tumorstammzellen analysiert werden. Hierzu wurden die beiden kolorektalen Karzinomzelllinien SW620 und HT29 verwendet. Nach durchflusszytometrischer Trennung in CD133⁺- und CD133⁻-Populationen wurden die Proliferationsaktivität, das Ausmaß der Apoptose und der Einfluss auf den Zellzyklus nach Exposition mit Salinomycin untersucht. Durch Analyse der Expression von Zielgenen und Mediatoren des Wnt-Signalwegs mittels Polymerasekettenreaktion und Western Blot, wurde ein potentieller molekularer Wirkmechanismus von Salinomycin im kolorektalen Karzinom charakterisiert.

Um die Wirksamkeit von Salinomycin *in vivo* zu untersuchen, wurde ein Mausmodell zur kolorektalen Lebermetastasierung etabliert, um nach portalvenöser Tumorinduktion das Ausmaß der Metastasierung unter Behandlung mit Salinomycin zu quantifizieren.

Basierend auf den in dieser Dissertationsarbeit gewonnenen Ergebnissen zeigte sich, dass sowohl Tumorstammzellen als auch Nicht-Tumorstammzellen beider ausgewählten Zelllinien unter Behandlung mit Salinomycin deutliche Einschränkungen der Zellproliferation zeigten.

Ferner konnte nach Exposition mit Salinomycin dosisabhängig Apoptose induziert werden. Diese Ergebnisse konnten durch ausgeprägten Zellzyklusarrest in beiden Zelllinien bestätigt werden.

In CD133-positiven Zellen konnte außerdem ein signifikanter Verlust der CD133-Expression unter Salinomycin-Behandlung beobachtet werden.

Mechanistisch konnte eine Inhibition des Wnt-Signalwegs nachgewiesen werden. Es zeigte sich eine Reduktion der Transkriptionsraten Wnt-abhängiger Gene und konsekutiv eine verminderte Expression zentraler Mediatoren dieser Signalkaskade. Somit konnte der Wnt-Signalweg als möglicher Angriffspunkt für Salinomycin in Zellen des kolorektalen Karzinoms bestätigt werden.

In vivo inhibierte Salinomycin die kolorektale Lebermetastasierung in einem syngenem Mausmodell. In Kombination mit 5-FU konnte der Anteil der Lebermetastasierung um über die Hälfte reduziert werden. Die *in vitro* bereits nachgewiesene Induktion von Apoptose konnte auch *in vivo* mittels Immunfluoreszenz nachgewiesen werden.

Zusammenfassend wurde in diesem Projekt die Wirksamkeit von Salinomycin im kolorektalen Karzinom in vitro und in vivo nachgewiesen. Die Inhibition der CD133-positiven Tumorstammzellen ist hierbei auch klinisch von großer Relevanz und stellt einen potentiellen neuen Angriffspunkt zielgerichteter onkologischer Therapiestrategien dar. Besonders die Wirksamkeit von Salinomycin in vivo war hierfür bedeutend, da für Patienten mit metastasiertem kolorektalen Karzinom in Zukunft mit Salinomycin möglicherweise eine effektive Ergänzung zu herkömmlichen Chemotherapeutika zur Verfügung stehen könnte. Aktuell wird der klinische Einsatz noch durch unzureichende Analysen des Wirkmechanismus sowie durch aufgetretene schwere toxische Nebenwirkungen limitiert, sodass zunächst noch weitere Untersuchungen zu Wirkstoffkonzentrationen und damit verbundenen Nebenwirkungen durchgeführt werden müssen, um die therapeutische Breite genauer zu bestimmen. Alternativ wird an synthetischen Salinomycin-Analoga geforscht, die mit niedrigerer Wirkstoffkonzentration gleiche Anti-Tumor-Effekte aufweisen und somit toxische Nebenwirkungen reduzieren sollen.