

Louisa Stern

Dr. med.

Expression and Function of Bitter Receptor T2R10 in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Klaus Felix

Die Behandlungsmöglichkeiten für Patienten mit duktalem Pankreaskarzinom (PDAC) sind sehr begrenzt, da die Diagnose meist erst in fortgeschrittenen Stadien gestellt wird und ausgeprägte Resistenzen gegenüber den verwendeten Chemotherapeutika bestehen. In zahlreichen Studien konnte gezeigt werden, dass Bitterstoffe die chemotherapeutische Wirkung verstärken können. Die genauen Mechanismen bleiben jedoch noch ungeklärt. Gleichzeitig hat sich in den letzten Jahren herausgestellt, dass Bitterrezeptoren (T2Rs), welche ursprünglich im Mundraum entdeckt wurden, wo sie für die Vermittlung von bitterem Geschmack zuständig sind, auch in extraoralen Geweben einschließlich Tumoren funktionell aktiv sind. Auch im PDAC konnte gezeigt werden, dass der Rezeptor T2R38 exprimiert und die Expression des Multiresistenzproteins ABCB1 über dessen Aktivierung reguliert wird.

In dieser Studie wurde die Expression von T2R10 in humanen Pankreastumorzelllinien und Geweben untersucht. Zudem wurde getestet, ob über die Aktivierung des T2R10 die Chemoresistenz in PDAC beeinflusst werden kann. In PDAC-Gewebe konnte T2R10 sowohl auf mRNA als auch auf Proteinebene nachgewiesen werden, wobei gesundes Pankreasgewebe T2R10-negativ war. Patienten mit T2R10-positiven PDAC wiesen eine signifikant längere Überlebenszeit als Patienten mit T2R10-negativen Tumoren auf. Die funktionellen Tests wurden mit den Pankreastumorzelllinien BxPC-3 und PANC-1 durchgeführt. PANC-1 ist eine relativ chemoresistente Zelllinie, die in unseren Tests eine geringe T2R10 Expression aufwies, und BxPC-3 eine chemosensitivere Zelllinie, bei der wir höhere T2R10 Expressionsspiegel fanden. Coffein, ein häufig konsumierter Bitterstoff und bekannter T2R10 Agonist, wurde genutzt, um T2R10 zu stimulieren. In beiden Zelllinien steigerte Coffein die Chemosensitivität gegenüber den zwei Standard-Chemotherapeutika Gemcitabine und 5-Fluorouracil. Die Chemotherapeutika zeigten hierbei in Kombinationansätzen mit Coffein einen synergistischen zytotoxischen Effekt. Diese Chemosensibilisierung war nur bei BxPC-3 und nicht bei PANC-1 abhängig von T2R10. In beiden Zelllinien zeigte sich, dass durch die Zugabe von Coffein die Phosphorylierung von AKT blockiert sowie dessen Zielprotein ABCG2 herunterreguliert wird. AKT ist eine Proteinkinase, die eine wichtige Rolle in den Chemoresistenzmechanismen der PDAC-Zellen spielt. ABCG2 ist ein Multidrug-Resistenzprotein, welches Stoffe wie z.B. Medikamente aus der Zelle ausschleust und somit deren intrazelluläre Konzentration senkt. Erhöhte ABCG2 Expressionsspiegel sind mit stark ausgeprägter Chemoresistenz und einer schlechten Prognose für PDAC assoziiert. Im Fall von BxPC-3 war die Coffein-induzierte AKT Inhibierung und ABCG2 Herunterregulation in Zellen mit siRNA vermittelten knock-down von T2R10 reduziert. Hingegen war bei PANC-1 nur die ABCG2 Herunterregulation abhängig von T2R10. Auf Grundlage der gesammelten Daten wurde die Hypothese aufgestellt, dass durch die T2R10 Aktivierung mit Coffein die AKT Aktivierung verhindert und somit die ABCG2 Expression herunterreguliert wird. Folglich können weniger Chemotherapeutika ausgeschleust werden, sodass deren intrazelluläre Konzentration und somit auch die zytotoxische Wirksamkeit erhöht wird. Jedoch liefert diese Studie noch keinen kausalen Beweis dieser möglichen Signalkaskade. Zusätzlich zu AKT modulieren auch andere Signalwege, wie z.B. der Hedgehog Signalweg, die ABCG2 Expression. So ließe sich auch erklären, wie in PANC-1 Coffeins Effekt auf ABCG2 von T2R10 abhängig sein kann, während der Effekt auf AKT unabhängig ist.

Abgesehen von ABCG2 gibt es zahlreiche weitere Transporter und metabolischen Enzyme, die die intrazelluläre Aktivität von Chemotherapeutika regulieren und durch Coffein beeinflusst werden könnten. Die Tatsache, dass eine Coffein-Wirkung bei PANC-1 Zellen unabhängig von T2R10 auftrat und auch bei BxPC-3 durch ein T2R10 knockout nicht vollständig aufgehoben wurde, deutet daraufhin, dass auch andere Signalwege beteiligt sind. Da Coffein außer T2R10 auch noch weitere T2Rs aktivieren kann und diese bekanntlich synergistisch wirken, ist davon auszugehen, dass mehrere Rezeptoren gleichzeitig beteiligt sind. Hinzu kommt, dass auch die Chemoresistenz an sich ein multifaktorielles Phänomen ist und Coffein auch andere bekannte Zielwirkungen hat, wie z.B. auf den Zellzyklus. Um die Hypothese unserer Studie zu untermauern, wäre es wichtig, die Experimente auch in vivo durchzuführen. Da PDACs in ein stark desmoplastisches Stroma eingebettet sind, wird es vermutlich schwierig sein, eine ausreichend hohe Coffeinkonzentration in den pankreatischen Zellen zu erreichen. Es wären deutlich höhere Blutkonzentrationen notwendig, bei denen auch die Gefahr zellulärer Toxizität und systemischer Nebenwirkungen durch Coffein zunimmt.

In dieser Studie wurde zum ersten Mal gezeigt, dass T2R10 im humanen PDAC exprimiert und funktionell aktiv ist. Die Tatsache, dass gesundes Pankreasgewebe T2R10-negativ ist und Patienten mit T2R10-positiven PDAC Tumoren länger überleben als solche mit T2R10-negativen Tumoren, deutet bereits auf eine tumorbiologische Relevanz der T2Rs im PDAC hin. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass T2R10 zumindest teilweise an zellulären Signalwegen beteiligt ist, die Chemoresistenz vermitteln. Daher sollten Bitterrezeptoren als neuer Ansatzpunkt bei der Suche nach Möglichkeiten zur Verbesserung des Chemotherapieansprechens im PDAC berücksichtigt und weiter erforscht werden.