

Huiying Huang

Dr.med.

**THE CCR5 CHEMOKINE RECEPTOR ANTAGONIST MARAVIROC EXERTS ANTI-NEOPLASTIC ACTIVITY IN PANCREATIC CANCER CELLS, WHICH MAY BE A NOVEL STRATEGY FOR TREATING METASTATIC PANCREATIC CANCER**

Fach: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Martin R. Berger

This is the first study on the importance of the CCL5 – CCR5 axis in the human pancreatic cancer cell line Suit2-007. It was found that CCL5 - CCR5 interactions can promote the proliferation of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) cells. Then the exploration of the antineoplastic effect of maraviroc (MVC), an FDA-approved antagonist for CCR5, was carried out in PDAC cells in vitro and in vivo. It was found that MVC inhibited the growth of Suit2-007 cells concentration dependently, and induced necrosis, apoptosis and nuclear fragmentation. Initial microArray findings revealed that significant modulation of gene expression was positively related to the increasing concentrations of MVC in treated Suit2-007 cells. Analyzing the ten top diseases and functions related to MVC revealed that the cell cycle process is highly changed by different concentrations of MVC. By heat map analysis of the dynamic changes of cell cycle related genes, it was found that the average expression in genes like Cyclin D1, Cyclin D3, Cyclin E1, Cyclin E2, CDK2, CDK4, CDK6 showed a continuously decreasing tendency as the concentration of MVC increased, and the average expression in genes like CDKN1A/p21 and CDKN1B/p27 showed a positive correlation with increasing MVC concentrations. In addition, cell cycle analysis showed that higher concentrations of MVC (IC50 and IC75) caused G1/S phase arrests in Suit2-007 cells. Further verification studies found that the mRNA and/or protein levels of CDKs (CDK6 and CDK2) and Cyclins (Cyclin D3 and Cyclin E2) were significantly down regulated post MVC exposure, while the protein levels of p27, p18 and especially p21 were highly up-regulated. A pan-cancer analysis showed

that PDAC patients' survival is highly related to expression of CDK6. The in vivo results showed that MVC treatment resulted in liver metastasis retardation by using MVC treatment in a human pancreatic liver metastasis xenograft model, which demonstrated MVC's potential anti- liver metastatic effect.

To summarize, this study is the first to demonstrate the interaction of the CCL5 - CCR5 axis on promoting tumorigenesis of PDAC cells, and CCR5 blockage by MVC can halt or inhibit this process by modulating cell cycle kinase complexes CDK6 - Cyclin D3 and CDK2 – Cyclin E2 during the cell cycle process, especially in the early metastasis stage. In conclusion, MVC could be a potential promising treatment strategy for patients with advanced PDAC in future.

In der vorgestellten Dissertation wurde erstmalig die Bedeutung der CCL5 – CCR5 Chemokin-Ligand Rezeptor-Achse an der menschlichen Pankreaskarzinom Zelllinie Suit2-007 untersucht. Als Resultat wurde gefunden, dass die Interaktion von CCL5 mit CCR5 die Proliferation der PDAC Zellen stimulieren kann. Weiterhin wurde die antineoplastische Wirkung von Maraviroc (MVC), einem von der FDA zugelassenen Antagonisten von CCR5, an den PDAC – Zellen in vitro und in vivo untersucht. Es zeigte sich, dass MVC das Wachstum der Suit2-007 Zellen konzentrationsabhängig hemmt und dabei Nekrose, Apoptose und Fragmentation von Kernen verursacht. Ergebnisse aus einer Micro-Array Analyse zeigten dass die Modulation der Genexpression in behandelten Suit2-007 Zellen positiv mit steigenden Konzentrationen von MVC korreliert war. Bei Betrachtung der zehn wichtigsten Krankheiten / Funktionen, die diesen Genen zuordenbar waren, waren Gene des Zellzyklus im Vordergrund. Eine ‚Heatmap‘ Analyse der zugehörigen Gene zeigte, dass die durchschnittliche Expression von Genen wie Cyclin D1, Cyclin D3, Cyclin E1, Cyclin E2, CDK2, CDK4, CDK6 eine Verminderung aufwies mit steigender MVC Konzentration, während Gene wie CDKN1A/p21 und CDKN1B/p27 eine durchschnittliche Expression zeigten, die mit den MVC Konzentrationen anstieg. In Übereinstimmung damit wurde aus der Zellzyklus Analyse deutlich, dass die höheren Konzentrationen von MVC einen G1 / S Phasen Arrest auslösten. Diese Ergebnisse wurden auf mRNA- und Proteinebenen für CDKs (CDK6 und CDK2) und Cycline (Cyclin D3 und Cyclin E2) bestätigt, die nach MVC Einwirkung signifikant herunter reguliert waren, während p27, p18 und besonders p21 (nur Proteinebene) deutlich hochreguliert waren. Eine Gesamt-Krebs Analyse ergab, dass das Überleben von Patienten mit PDAC signifikant korreliert war mit der Expression von CDK6. Die in vivo Ergebnisse zeigten, dass die MVC Behandlung von Nacktratten, in deren Leber humane Suit2-007 PDAC Zellen wuchsen, zu einer Retardierung des Metastasenwachstums in der Leber führte.

In Zusammenfassung, Ergebnisse, die in dieser Dissertation beschrieben sind, zeigen erstmalig, eine Interaktion der CCL5- CCR5 Achse bei der Progression von PDAC Zellen. Weiter wird gezeigt, dass die Blockade von CCR5 mit dem kompetitiven Antagonisten MVC diesen Prozess inhibieren kann. Dies wird verursacht durch Beeinflussung der Zellzyklus – Kinase Komplexe CDK6 - Cyclin D3 und CDK2 – Cyclin E2, vor allem im Rahmen der frühen Metastasierung. Deshalb hat MVC das Potential, eine mögliche Behandlungsoption für Patienten mit fortgeschrittenem PDAC zu werden.