

Kun Zhao

Dr. med

Tspan8 and Tspan8/CD151 knockout mice unravel the contribution of tumor and host exosomes to tumor progression

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Thilo Hackert

Die Tetraspanine Tspan8 und CD151 sind an Migration, Angiogenese und Tumorprogression beteiligt. Man geht davon aus, daß Exosomen (Exo) maßgeblich an diesen Prozessen, die essentiell von einer interzellulären Kommunikation abhängen, mitwirken. Weder der selektive Beitrag von Tspan8 noch der Beitrag von Exo, die von nicht transformierten oder von Tumorzellen (TEX) bereitgestellt werden, sind hinreichend geklärt. Ich konnte die Beantwortung dieser Fragen, aufbauend auf der Verfügbarkeit von Tspan8-, CD151- und Tspan8/CD151-doppel (dp) Knockout (ko) Mäusen in Angriff nehmen, nachdem ich diese Modellsystem durch die Erstellung von 3-Methylcholanthrene (MCA)-induzierten Tumoren in wildtyp (wt), Tspan8ko und/oder CD151ko Mäusen ergänzt hatte.

Erste Untersuchungen zur Charakterisierung von Tspan8ko und dpko Mäusen, Geweben und Zellen ergaben keine Hinweise auf pathologische Veränderungen. Hingegen war die Fähigkeit von Tspan8ko und/oder CD151ko Mäusen auf Streß zu reagieren deutlich eingeschränkt, wie Untersuchungen zu Wundheilung und Angiogenese ergaben, wobei der Schweregrad fehlender Streßreaktionen in dpko Mäusen den in Tspan8ko und CD151ko Mäusen überstieg und fehlende Reaktionen in Tspan8ko und CD151ko Mäusen sich nur teilweise deckten. Insbesondere zeigten nur CD151ko Mäuse Defekte bei Koagulation und Thrombenbildung. Darüber hinaus belegte eine partielle Korrektur der Defekte durch wt Serum (s)Exo und TEX die Validität des Modellsystems sowohl Unterschiede zwischen Tspan8 und CD151 als auch den Beitrag von Exo an interzellulärer Kommunikation auf zu klären.

Basierend auf diesen Ergebnissen erarbeitete ich den Beitrag von Tspan8 und CD151 zu Tumorinduktion und -progression. Die Induktion von Tumoren durch MCA-Behandlung war in den ko Mäusen nicht eingeschränkt. Dies gilt auch für die Tumorwachstumsrate, wenngleich die ko Mäuse eine verlängerte Latenzzeit aufwiesen. Nachdem signifikante Unterschiede in der Apoptoseresistenz der ko Tumore als zugrundeliegender Mechanismus ausgeschlossen wurden, untersuchte ich *in vivo*, *ex vivo* und in *in vitro* Modellen den Einfluß von Tspan8 und CD151

auf die Angiogenese in Tumor- und Endothelzellen (EZ). Die signifikant beeinträchtigte Angiogenese konnte durch wt sExo und TEX maßgeblich verbessert werden. Dies beruht vornehmlich auf der Kooperation von Tspan8 und CD151 mit RTK und GPCR. Adhäsions-unabhängiges Wachstum, ein weiteres Charakteristikum transformierter Zellen, das auch mit epithelialer-mesenchymaler Transition (EMT) verbunden sein kann, war in den ko Tumoren deutlich reduziert. Wenngleich Adhäsions-unabhängiges Wachstum durch sExo und TEX deutlich verbessert werden konnte, war der Einfluß auf die Expression von EMT Markern und Transkriptionsfaktoren marginal und nicht auf wt sExo und TEX beschränkt. Dies schließt eine zentrale Beteiligung von Tspan8 und CD151 an EMT aus. Hingegen waren Dissemination und Einbettung in Organe von ko Tumoren im autochthonen Wirt stark reduziert, aber im wt Wirt nachhaltig verbessert. Die eingeschränkte Tumorzeldissemination im ko Wirt konnte durch wt sExo und TEX neutralisiert werden. Der starke Einfluß von Tspan8 und CD151 auf die Tumorprogression und die Kompensation durch sExo und TEX beruhen auf der Assoziation von Tspan8 und CD151 mit Adhäsionsmolekülen und Proteasen. Dies impliziert Tetraspanin-assoziierte Adhäsionsmoleküle und Proteasen als die zentralen Effektoren bei Tumorzeldissemination und Metastasierung. Unterschiede zwischen Tspan8 und CD151 ließen sich auf Differenzen in präferentiell assoziierten Molekülen zurückführen.

Diese Untersuchungen bestätigten nachhaltig den Beitrag von Tspan8 und CD151 zu Angiogenese, Tumorzeldissemination und Metastasierung. Die treibenden Motoren sind Tetraspanin-assoziierte Moleküle und der Transfer dieser Tetraspaninkomplexe in Exo/TEX, wobei unterschiedliche Partnermoleküle von Tspan8 und CD151 in wt sExo und TEX bei der Korrektur von Defiziten von ko Zellen und Geweben zusammenwirken. Die wichtigsten Partner in (Lymph)angiogenese sind RTK und GPCR und bei der Metastasierung Adhäsionsmoleküle und Proteasen. In Anbetracht der außerordentlichen Potenz von Exo/TEX in interzellulärer Kommunikation, verweisen diese Untersuchungen auch auf die Möglichkeit einer therapeutischen Intervention mittels einer Antikörperblockade von Tspan8- und CD151-exprimierenden TEX.