

Alexander Rühle

Dr. med.

Auswirkungen von Chemotherapeutika und Photonenbestrahlung auf mesenchymale Stammzellen

Einrichtung: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)

Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Peter Huber

Chemotherapie und Radiotherapie stellen elementare Säulen der modernen Krebstherapie dar und werden in sowohl kurativer als auch palliativer Intention erfolgreich eingesetzt. Aufgrund der steigenden Überlebensraten für Krebserkrankungen in den vergangenen Jahrzehnten wird es zunehmend wichtiger, die Lebensqualität der überlebenden Patienten zu erhöhen, welches unter anderem durch eine Abschwächung der Normalgewebsreaktionen erzielt werden kann. MSCs konnten mittlerweile in einer Vielzahl von präklinischen und zunehmend auch klinischen Forschungsarbeiten zeigen, dass sie Radiotherapie- und Chemotherapie-bedingte Nebenwirkungen reduzieren können. Die Auswirkungen von Chemotherapeutika allein und in Kombination mit ionisierender Strahlung auf MSCs sind bisher jedoch kaum erforscht. Ein tiefgreifendes Verständnis über diese Effekte ist wichtig, um verschiedene Fragen beantworten zu können: Sind allogene oder autologe Zelltherapien zu bevorzugen? Stellt die Mobilisierung von endogenen MSCs eine alternative Möglichkeit dar? Kann die Applikation von MSCs präventiv oder gleichzeitig zur Therapie erfolgen?

In vitro Versuche dienten in der vorliegenden Arbeit zur Erforschung der Auswirkungen verschiedener DNA-Doppelstrangbruch-induzierender Chemotherapeutika sowie der kombinierten Cisplatin-basierten Radiochemotherapie auf das Überleben und die definierenden Stammzeleigenschaften von humanen MSCs. Das Überleben von MSCs nach Behandlung wurde mittels klonogener Überlebensassays, Proliferationsversuchen sowie Viabilitätsassays bestimmt. Ferner wurden die Fähigkeit zur Adhäsion und Migration, die charakteristischen Oberflächenmarker und die Differenzierungskapazität entlang der adipogenen, osteogenen und chondrogenen Linie untersucht. Während Apoptose durchflusszytometrisch anhand verschiedener Endpunkte (subG1 Population, Caspase-3-Aktivierung und Annexin V-Bindung) analysiert wurde, dienten Immunfluoreszenz-Färbungen von γ H2AX, DNA-PK und Rad51 zur Erforschung der DNA-Reparaturmechanismen. Die Auswirkungen von Cisplatin-basierter Chemotherapie auf die Expression von Proteinen, die in der DNA-Reparatur und Zellzykluskontrolle involviert sind, wurden mittels Western Blot Versuchen untersucht. Zur mechanistischen Aufklärung der beobachteten Bleomycin-Sensitivität von MSCs wurde die BLMH-Expression ebenfalls mittels Western Blots analysiert.

MSCs erwiesen sich als relativ resistent gegenüber der Behandlung mit den Topoisomerase-Inhibitoren Irinotecan und Etoposid. Topoisomerase-Inhibition führte zu keinem Verlust der definierenden Stammzeleigenschaften und induzierte äußerst geringe Apoptoseraten in MSCs. Im Gegensatz dazu wiesen MSCs einen Bleomycin-sensitiven Phänotyp auf, der sich

in einer Reduzierung des Überlebens und der Viabilität, einer verminderten adipogenen Differenzierungsfähigkeit und signifikant erhöhten Apoptoseraten äußerte. Die geringere Expression des Bleomycin-inaktivierenden Enzyms BLMH von MSCs verglichen mit der von Fibroblasten kann zumindest teilweise für diese Bleomycin-Sensitivität verantwortlich sein. MSCs zeigten in allen Untersuchungen eine effiziente Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen sowohl über den NHEJ- als auch über den HR-Signalweg.

Erstmals wurde festgestellt, dass Cisplatin eine strahlensensibilisierende Wirkung auf bekanntermaßen strahlenresistente MSCs hat. Trotz dieser radiosensibilisierenden Wirkung führt eine Cisplatin-basierte Radiochemotherapie nicht zum Verlust der definierenden Stammzeleigenschaften. Zellzyklusveränderungen und eine erschwerte Reparatur von bestrahlungsinduzierten DNA-Doppelstrangbrüchen nach Vorbehandlung mit Cisplatin sind gemäß unseren Datensätzen potenzielle Mechanismen für die beobachtete Radiosensibilisierung durch Cisplatin.

Der Topoisomerase-Inhibitor-resistente Phänotyp von MSCs gibt Hinweise darauf, dass die Verwendung von autologen MSCs nach erfolgter Chemotherapie mit Topoisomerase-Hemmern möglich ist. Die erhobenen Daten deuten darauf hin, dass MSCs schon während der Therapie appliziert werden können, um die bei Topoisomerase-Hemmern auftretende Myelotoxizität zu mindern. Aufgrund der beobachteten Bleomycin-Sensitivität erscheint die Mobilisierung von endogenen MSCs oder die Applikation dieser Stammzellen während einer Bleomycin-Therapie zur Abschwächung der pulmonalen Nebenwirkungen wenig vielversprechend. Genetisch modifizierte MSCs mit einer höheren BLMH-Expression sind eine Möglichkeit, um die Bleomycin-Sensitivität abzuschwächen. Die Tatsache, dass Cisplatin die Strahlenempfindlichkeit radioresistenter MSCs erhöht, kann ein Grund für die hohe Toxizität nach Cisplatin-basierter Radiochemotherapie sein. Trotz des reduzierten Überlebens nach Radiochemotherapie mit Cisplatin belegen die erhalten gebliebenen Stammzeleigenschaften und insbesondere die unbeeinflusste Differenzierungsfähigkeit die hohe Resistenz von MSCs gegenüber ionisierender Bestrahlung und Cisplatin-Behandlung.

Diese Erkenntnisse sollten bei der Planung neuer Studien berücksichtigt werden, um das optimale Behandlungskonzept von MSC-basierten Therapien im Kontext von Chemo- und Radiochemotherapie-bedingten Nebenwirkungen zu finden.