

Sandra Schwarz

Dr. med.

Significance of the organic anion transporting polypeptide 1B1 in cellular uptake of ethyl 3, 4-dihydroxybenzoate

Fach: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Martin Schneider

Weltweit zählt das kolorektale Karzinom zu den häufigsten krebsbedingten Todesursachen. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung hat bereits einer von vier Patienten Lebermetastasen entwickelt. Die einzige kurative Option bietet dann lediglich eine chirurgische Metastasenresektion. Nicht immer ist dies jedoch möglich und zudem von verschiedenen Faktoren abhängig, so auch von einer ausreichenden Größe des verbleibenden gesunden Lebergewebes nach chirurgischer Intervention. Zudem können Komplikationen wie ein post-resektionelles Leberversagen die Überlebenszeit entscheidend verringern.

In vorangehenden Untersuchungen, die den Anstoß zu dieser Arbeit gaben, wurden Prolyl-Hydroxylase-Domän (PHD) Enzym-Inhibitoren, wie z.B. der kleinmolekulige pan-PHD Inhibitor Ethyl 3, 4-dihydroxybenzoat (EDHB), als denkbare neue Behandlungsstrategie aufgezeigt. Möglicherweise könnte dieser die Leberregeneration verbessern, wie auch das Auftreten von Leberversagen nach Resektion verringern. Es wäre denkbar, dass so eine größere Anzahl von Patienten der chirurgischen Metastasenresektion zugeführt und kurativ behandelt werden kann. Erste Experimente, die dieser Arbeit vorangingen, konnten den Organo-Anion-Transporter OATP1B1, der für die Aufnahme zahlreicher endo- wie exogener Verbindungen in die Leber verantwortlich ist, als möglichen Transporter von EDHB identifizieren.

Der Schwerpunkt dieser Arbeit bestand daher darin, OATP1B1 als möglichen EDHB Aufnahme-Transporter eingehender zu untersuchen. Zuerst wurden die Expressionslevel von OATP1B1 in Gewebeproben von an kolorektalem Karzinom erkrankten Patienten mit Lebermetastasen analysiert. Vorherige Experimente hatten gezeigt, dass sich EDHB selektiv in murinem Lebergewebe anreichert, jedoch nicht in dem Gewebe der Lebermetastasen. Die in vivo Ergebnisse dieser Arbeit demonstrieren, dass OATP1B1 in humanem Lebergewebe signifikant höher exprimiert wird als in Lebermetastasen. Dies deutet darauf hin, dass die selektive Überexprimierung von OATP1B1 in Hepatozyten zumindest teilweise für die dortige selektive Anreicherung von EDHB verantwortlich sein könnte.

Des Weiteren wurden ein stabiler Knock-in und Knock-down von OATP1B1 in einer humanen Zelllinie angestrebt. Nach Analysen unterschiedlicher Hepatoma- und kolorektaler Zelllinien wurde die humane kolorektale Zelllinie HCT116 ausgewählt, um OATP1B1 ektopisch in Tumorzellen zu exprimieren. Dies gelang auf mRNA Ebene. Es folgten Experimente, die die weitere Funktionalität dieser OATP1B1 modifizierten Zelllinien klären sollten, einschließlich deren Zellviabilität, Proliferation und Fähigkeit zur Koloniebildung. Zumindest in Bezug auf die Zellviabilität und Proliferation hätte man erwarten können, dass die Zellen mit OATP1B1 Knock-in eine höhere Viabilität und Proliferationsneigung unter EDHB Behandlung zeigen als ihre Kontrollzellen ohne OATP1B1 Modifikation. Allerdings zeigte sich kein Unterschied zwischen den Zellen mit OATP1B1 Überexprimierung und den Kontrollen.

Diese Ergebnisse ließen die Frage aufkommen, ob die OATP1B1 Transfektion überhaupt in einem funktionierenden Transportprotein resultiert hatte. Leider war es aufgrund technischer Schwierigkeiten nicht möglich, die OATP1B1 Proteinexpression und EDHB Aufnahmefähigkeit der erstellten modifizierten Zelllinien zu testen. Der möglicherweise erfolglose OATP1B1 Knock-in und Knock-down könnte unterschiedliche Gründe haben, die hier kurz diskutiert wurden, u.a. die Auswahl von HCT116 als Wirtszelllinie oder die Art und Weise der Transfektion sowie die Auswahl des Vektors.

Abschließend konnte leider nicht geklärt werden, ob OATP1B1 in der Tat für den Transport von EDHB verantwortlich ist oder nicht. Aus diesem Grund sind weitere in vitro und in vivo Experimente notwendig, welche auch die Inhibition und die ektopische Expression von OATP1B1 und anderen möglichen Transportproteinen der Leber, wie z.B. dem Natrium-Taurocholat Cotransporter NTCP, dem organischen Kation-Transporter OCT1, dem Organo-Anion Transporter OATP2B1 und dem Organo-Anion Transporter OAT2 beinhalten könnten. Deren mRNA Expression in humanem Leber und Lebermetastasengewebe von an kolorektalem Karzinom erkrankten Patienten wie auch in einer Anzahl von humanen Hepatom- und kolorektalen Zelllinien wurde als Startpunkt für zukünftige weiterführende Analysen durchgeführt.