

Beiping Miao

Dr. sc. hum.

The E-twenty-six Transcription Factor FLI-1 Promotes Cell Cycle Progression in Cancer by Regulating hTERT-CCND1

Einrichtung: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)

Doktorvater: Prof. Dr. med. Christoph Michalski

Krebs ist eine Krankheit, bei der Veränderungen des Genoms eine wesentliche Rolle spielen. Viel Aufwand ging in die Analyse des Teils des Genoms, der für Proteine kodiert und wichtige Faktoren für die Entstehung von Krebs wurden identifiziert. Es wurden jedoch auch somatische Mutationen in Krebsgenomen gefunden, die außerhalb von Regionen liegen, die für ein Protein kodieren. Die meisten liegen in regulatorisch wichtigen Bereichen und häufig sind ihre Auswirkungen nur bedingt verstanden.

Zwei bereits bekannte Mutationen (-146 C>T, -124 C>T), die in der Promotor-Kernregion des Gens für die menschliche Telomerase Reverse Transkriptase (hTERT) liegen, lassen neue Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren (TFs) entstehen. Zum Testen des Bindungsverhaltens von TFs an verschiedene DNA-Sequenzen wurden Protein-Mikroarrays erstellt, auf denen die DNA-Bindedomänen von 667 Transkriptionsfaktoren aufgebracht waren. Mit DNA-Fragmenten, die einen mutierten oder den nicht-mutierten Promoter repräsentierten, wurden zwei Transkriptionsfaktoren gefunden, die besonders stark und spezifisch an den mutierten Promoter binden. Einer davon – „friend leukemia integration 1” (FLI-1), der zur Familie der „E26 transforming-specific” (ETS) Transkriptionsfaktoren gehört,

hatte starke Auswirkungen auf die Regulation der hTERT Expression. Der zweite zeigte diese nicht, obwohl er noch stärker an den mutierten Promotor band. Durch Verwendung von Chromatin-Immunpräzipitation und einen Luziferase Reporter Test konnte die Bindung und regulative Aktivität von FLI-1 nachgewiesen werden. Auch konnte durch weitere Tests gezeigt werden, dass FLI-1 die Aktivität der Telomerase beeinflusst.

Eine Inhibierung der FLI-1 Expression mit siRNA führte zu einer starken Reduzierung der Expression von hTERT, CCND1 and E2F2 und in Folge zu einer Hemmung des G1/S Übergangs des Zellzyklus und damit der Zellteilung. Gleichzeitig hemmt FLI-1 Inhibierung die Expression von CMTM7. Dies deutet auf einen weiteren Signalweg zur Kontrolle der Zellteilung hin. Mittels CRISPR-Cas9 wurde in Zellen das FLI-1 Gen ausgeschaltet und die Effekte in funktionellen Tests analysiert. Zellen mit einer Deletion in FLI-1 verblieben länger in der G0 Phase, wodurch wiederum ihre Zellteilung reduziert wurde. Der Effekt konnte aufgehoben werden, in dem mittels Lentivirus ein überexprimiertes FLI-1 Gen in die Zellen eingebracht wurde.

Zusätzlich wurden die Ergebnisse daraufhin untersucht, inwieweit sie mit Daten aus Expressions-Datenbanken und immunhistochemischen Untersuchungen korrelieren. Ein Anstieg der FLI-1 Expression im Tumorgewebe korrelierte mit erhöhter Expression von CCND1 in Haut- und Hirntumoren. Die Ergebnisse in anderen Tumorentitäten weisen auf eine starke Gewebespezifität hin.

Zusammengefasst dokumentieren die Ergebnisse einen neuen regulatorischen Signalwechselweg für Pankreas und Hirntumore.