

Teresa Lutz

Dr. med.

Expression und kooperative Funktion des *Transcriptional co-activator with PDZ-binding motif* (TAZ) und des *Yes-associated protein* (YAP) im hepatozellulären Karzinom

Fach/Einrichtung: Pathologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Peter Schirmacher

Das hepatozelluläre Karzinom (HCC) ist die zweithäufigste krebsbedingte Todesursache weltweit. Hierfür sind nicht zuletzt die eingeschränkten Therapieoptionen für das bei Erstdiagnose meist schon fortgeschrittene Erkrankungsstadium verantwortlich. Die Behandlung wird dabei besonders durch die Resistenz gegen konventionelle Chemotherapeutika sowie die große Heterogenität des HCCs erschwert.

Ein zentraler tumorrelevanter Mechanismus in der Hepatokarzinogenese ist die Dysregulation des Hippo-Signalwegs mit seinen beiden transkriptionellen Koaktivatoren *Yes-associated protein* (YAP) und *Transcriptional co-activator with PDZ-binding motif* (TAZ). Die Überexpression und nukleäre Anreicherung insbesondere von YAP stellt ein protumorigenes Ereignis in der Hepatokarzinogenese dar. Die Bedeutung des Paralogs TAZ im HCC lässt sich anhand erster Studien ebenfalls erahnen. Jedoch ist bisher nicht bekannt, inwiefern beide Faktoren identische oder exklusive molekulare Effektormechanismen beeinflussen und biologische Funktionen ausüben. Diese Frage ist für die Entwicklung TAZ- und/oder YAP-spezifischer Therapieansätze unabdingbar.

Anhand von Transkriptomdaten von HCC-Patienten konnte gezeigt werden, dass neben YAP auch TAZ im tumorösen Gewebe höher exprimiert wird als im tumorfreien Lebergewebe. Zudem korrelierte dabei die Expression der beiden Kofaktoren miteinander. Immunhistochemische TAZ/YAP-Färbungen von humanen HCC-Geweben verdeutlichen darüber hinaus eine signifikante Korrelation von YAP, nicht jedoch von TAZ mit der Proliferationsrate des Tumorgewebes sowie dessen Differenzierungsgrad.

Die Wirkung der beiden Hippo-Effektoren auf Zellvitalität, -apoptose, -migration und -invasion wurde in hepatischen Tumorzelllinien nach siRNA-vermittelter Einzel- und Doppelinhibierung untersucht. Die Ausschaltung von TAZ oder YAP führte dabei zu reduzierter Zellvitalität, -migration sowie -invasion, zum Teil mit signifikanter Verstärkung dieser Effekte nach Doppelinhibierung. Am deutlichsten waren die biologischen Effekte der TAZ/YAP-Inhibierung auf die HCC-Invasionsfähigkeit.

Auf Proteinebene zeigten sich nach gemeinsamer Inhibierung der Kofaktoren besonders die Mitglieder der Rho-GTPasen-Familie reduziert, was im Einklang mit dem deutlichen Invasionsphänotyp von TAZ/YAP steht.

Basierend auf Genexpressionsanalysen nach Einzel- und Doppelinhibierung der beiden transkriptionellen Kofaktoren in der hepatischen Zelllinie HepG2 wurden schließlich sechs,

zum Teil bisher unbekannte TAZ/YAP-Zielgene selektiert, welche partiell die biologischen Funktionen von TAZ und YAP vermitteln könnten. Die sechs Zielstrukturen umfassen das TAZ-Zielgen ITGAV (Integrin alpha-V), die YAP-Zielgene DLC1 (*Deleted in liver cancer 1*), MCM2 (*Minichromosome maintenance complex component 2*) und SUZ12 (*Suppressor of zeste 12 homolog*) sowie AJUBA und SEPT10 (Septin10) als gemeinsame Zielgene von TAZ und YAP. Die Transkripte der Kandidatengene wurden in humanen HCC-Proben im Vergleich zu nicht-tumorösem Lebergewebe signifikant überexprimiert. Darüber hinaus gingen hohe Level der jeweiligen Zielgene in den Tumoren mit einer schlechteren Patientenprognose einher. Einzige Ausnahme stellte der Tumorsuppressor DLC1 dar, der in den Tumorproben reduziert exprimiert wurde und invers mit der Patientenprognose zusammenhing. Immunhistochemische Färbungen bestätigten die signifikante Korrelation der Zielgene mit TAZ und YAP sowie mit dem Proliferationsmarker Ki67 und der Tumordifferenzierung in humanen HCC-Proben.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass nicht nur eine erhöhte Expression von YAP, sondern auch von TAZ einen Teil der humanen HCCs charakterisiert. Jedoch werden beide Kofaktoren nicht ausschließlich koexprimiert. *In vitro* weisen die beiden Kofaktoren in hepatischen Tumorzellen funktionelle Synergie auf, besonders hinsichtlich der Zellinvasion. Mit den Rho-GTPasen und den identifizierten Zielgenen konnten schließlich mögliche Mediatoren der Effekte von TAZ und YAP auf die Tumorzellmotilität ermittelt werden. Somit könnte eine gegen TAZ/YAP oder deren Zielgene gerichtete Therapie einen Ansatz zur Reduktion des Tumorwachstums und insbesondere der Tumorzell dissemination in einer Subgruppe von HCC-Patienten mit TAZ- und/oder YAP-Überexpression darstellen.