

Anna Steinmann
Dr. med.

The Role of Growth Differentiation Factor 15 in the Progression of Murine Glioma

Einrichtung: Anatomie und Zellbiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Thomas Kuner

Trotz intensiver Forschung konnten die Mechanismen, die der hohen Aggressivität von malignen Hirntumoren, insbesondere dem Glioblastom, zugrunde liegen, noch nicht entschlüsselt werden. Es wird jedoch allgemein ein tumor-fördernder Effekt von Wachstumsfaktoren angenommen. Einer dieser Faktoren, der bisher schon Gegenstand einiger Studien war, ist GDF-15. Erhöhte Werte in Serum und Liquor von Glioblastom-Patienten korrelierten mit kürzerem Überleben. Auch in Zellkultur und in Mausexperimenten wurde ein Einfluss von GDF-15 auf diese Tumore gefunden. Jedoch konnten in bisherigen Untersuchungen noch keine genaue Erklärung für diese Effekte gefunden werden.

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel diese Lücke zu schließen und untersucht anhand muriner Tumormodelle die Auswirkungen von GDF-15 auf das Wachstum von malignen Hirntumoren. Hierzu wurde auf bereits etablierte GDF-15 knock-out Mäuse und die beiden murinen Tumorzelllinien SMA-560 und GL261 zurückgegriffen.

Zunächst wurde mittels ELISA und in-Situ-Hybridisierung die Expression von GDF-15 und seines neu gefundenen Rezeptors GFRAL in den verwendeten Mausmodellen gemessen. Hierbei zeigten GL261 Zellen in vivo und in vitro hohe GDF-15 Level, während dieser Faktor in SMA-560 Zellen nicht nachgewiesen werden konnte. In der Tumorumgebung von wildtyp Mäusen zeigte sich eine erhöhte Expression des Wachstumsfaktors im Vergleich zu gesundem Hirngewebe. GFRAL konnte, wie in der Literatur beschrieben, nur im Hirnstamm von Mäusen beider Genotyps jedoch nicht im Tumorgewebe oder den beiden Zelllinien nachgewiesen werden, was nahelegt, dass es noch andere Signalwege von GDF-15, beispielsweise eine lösliche Form GFRALs oder gar einen bisher noch nicht gefundenen weiteren Rezeptor geben könnte.

Nach orthotoper Implantation der beiden Zelllinien in Mausgehirne zeigte sich zu mehreren Zeitpunkten kein Unterschied im Tumolvolumen zwischen GDF-15 kompetenten und defizienten Mäusen. Niedrige GDF-15 Level durch Expression in der Tumorumgebung scheinen also keinen Einfluss auf das Tumolvolumen zu haben.

Im Gegensatz dazu konnte eine höhere Infiltration von Mikroglia-Zellen in das Tumorgewebe in GDF-15 wt im Vergleich zu ko Mäusen festgestellt werden. Ein stimulierender Effekt von GDF-15 auf diese Immunzellen konnte teilweise auch schon von anderen Gruppen nachgewiesen werden.

Das hohe Vorkommen von GDF-15 in GL261 Zellen gab Anlass, den Faktor in dieser Zelllinie mittels CRISPR/Cas9 System auszuschalten, da in diesem Tumormodell nur geringe Unterschiede im gesamt-GDF-15 durch eine endogene Expression von Zellen der Tumorumgebung angenommen werden konnten. Der knock-out in der GL261 Zelllinie konnte auf Proteinebene verifiziert werden.

Nach Implantation der CRISPR-ko- und -Kontroll- Zellen zeigte sich jedoch, dass die Tumore nach drei Wochen deutlich kleiner im Vergleich zu den unbehandelten Zellen waren. Diese Beobachtung gab Anlass zu der Hypothese, dass die bakterielle Cas9 bei stabiler Expression in Tumorzellen zu einer immunogenen Abstoßungsreaktion im Mausgehirn führt. Gestützt wird diese Annahme durch eine gerade veröffentlichte Arbeit, in der dieser Effekt ebenfalls in einem Nierenzellkarzinom-Modell gezeigt wurde.

Zusammengenommen konnte dieses Projekt die Rolle von GDF-15 in der Progression hochgradiger Glioma nicht vollständig aufklären, aber einige neue Facetten zu diesem komplexen Bild hinzufügen. Das Fehlen von GDF-15 allein in der Tumorumgebung hatte keinen Effekt auf die Größe der Tumore, verminderte jedoch die Infiltration von Mikrogliazellen in GL261 Tumore. Eine CRISPR/Cas9

vermittelte Ausschaltung von GDF-15 in GL261 Zellen änderte die Tumorzellproliferation nicht. Als Nebeneffekt fiel jedoch auf, dass Tumore, die von Zellen gebildet wurden, die stabil Cas9 exprimieren, signifikant kleiner waren als solche, die von unbehandelten Zellen gebildet wurden, was die Möglichkeit von immunogenen Effekten dieses Proteins nahelegt.