

Kai Wei

Dr. sc. Hum.

Glutamine-Dependent de novo Synthetic Asparagine via ATF4/ASNS/eIF4F Complex Axes for Homeostatic Regulation in Hepatocellular Carcinoma responding to Endoplasmic Reticulum (ER) Stress

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktormutter: Prof. (apl.) Dr. med. Katrin Hoffmann

Exogene und endogene Stressstimuli wie z.B. Hypoxie, Nahrungsentzug, Infektionen und Veränderung der Zellmikroumgebung beeinflussen die Proteinfaltungskapazität des endoplasmatischen Retikulums (ER) signifikant. Die Unfolded Protein Response (UPR) stellt eine Stressreaktion des ER dar, bei der Ansammlungen von Proteinen mit fehlerhafter Faltung entstehen, welche jedoch im Normalfall keine Auswirkungen auf ER-Funktionen haben. Scheitert die Kompensation der ER-Stress-Reaktion jedoch führt dies zu Apoptose.

Insbesondere in Tumorzellen wirken eine Vielzahl Stressoren, wenn diese zum eine schnell proliferieren und gleichzeitig die erforderliche metabolische Homöostase aufrechterhalten müssen. Durch die gleichzeitig ablaufenden tumorigenen und pro-apoptotischen Prozesse im Rahmen von ER-Stress entsteht eine zelluläre Vulnerabilität die potentielle selektive Targets für neue therapeutische Optionen auch in hochresistenten Tumoren wie dem HCC bieten könnte.

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass HCC-Zellen auf endogenen Zellstress durch Hypoxie und Glucose und exogenen durch Sorafenib und Regorafenib Behandlung, mit einer schnelle Zellproliferation, vermehrter Proteinsynthese und Resistenz gegen die verwendeten Therapeutika reagieren. Interessanterweise traten diese Effekte jedoch nicht in einer Glutamin-armen Zellkultur auf. Es konnte gezeigt werden, dass unter Stress stehende Tumorzellen die extrazelluläre Glutamin Aufnahme durch Aktivierung des klassischen Glutamin Transporters SLC1A5 erhöhen, und sich an den ER-Stress anpassen. Hierbei wird Glutamin vermehrt für die Nukleotid- und Protein-Synthese verwendet, wobei Glutamin zusätzlich durch die Aktivierung der Glutamin-abhängigen Asparagin Synthetase (ASNS) für Asparagin-de-novo-Synthese sorgt. Daraus lässt sich postulieren, dass der Einfluss von Glutamin auf die zelluläre Homöostase teilweise durch die Glutamin-abhängige Asparagin-

Synthese vermittelt werden kann. Dieser Prozess spielt eine Schlüsselrolle bei der Resistenz von Tumorzellen gegen stressinduzierte ER-Stress-Apoptose.

In dieser Studie wurde nachgewiesen, dass ASNS als Transkriptionsziel von ATF4 in HCC-Zellen aktiviert wird, um intrinsisches Asparagin zu synthetisieren und dadurch eine Resistenz gegen die zelluläre stressinduzierte Apoptose zu entwickeln. Die Aktivierung des ATF4 / ASNS / eIF4F-Komplexes ist erforderlich, um die Homöostase des Zellstoffwechsels aufrechtzuerhalten, wenn sich Tumorzellen auf zellulären Stress reagieren. ATF4-Knockout oder ASNS-Knockout verringern die Expression der Downstream-Targets mTOR, 4EBP1 und eIF4E und induzieren darüber ER-Stress-Apoptose. Die vorliegenden Daten konnten nachweisen, dass die intrazelluläre Reduktion von Asparagin mittels ASNS Knockout bei ausreichender Glutamin Versorgung ebenfalls Apoptose induziert. Analog zu Glutamin induzierte Asparagin die Proteinsynthese mittels eIF4F-Komplex-Aktivierung. Knockdown des eIF4F-Komplexes hemmt die Proteinsynthese und induziert eine stärkere Apoptose als Reaktion auf ER-Stress, welche auch durch Zugabe von exogenem Asparagin oder Glutamin nicht reversibel war. Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen daher die Hypothese, dass Glutamin-abhängiges synthetisches de novo-Asparagin eine Schlüsselrolle bei der zellulären Anpassungsfähigkeit an extrinsischen und intrinsischen Stress bei Tumoren spielt. Die Blockade des SCL1A5-getriggerten Glutamin-Transportes mittels V-9302, sensibilisiert HCC-Zellen für ER-Stress und stellt die Sensitivität für Therapien mit Sorafenib und Regorafenib wiederher. Analog dazu induzierte eine Behandlung mit der L-Asparaginase Spectrila verstärkte antitumorale Effekte. Modulationen des Glutamin- und Asparagin-Stoffwechsel könnten basierend auf den hier präsentierten Erkenntnissen neue potentielle Targets in der onkologischen Therapie hochresistenter Tumore darstellen.