

- Zusammenfassung -

Christopher Luca Heidler

Dr. med.

Der Einfluss von Prexasertib auf primäre und etablierte Osteosarkomzellen

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. med. Andreas. E. Kulozik

Das Osteosarkom ist der häufigste primäre maligne Knochentumor im Kindes-, Jugend- und jungen Erwachsenenalter und wird in Deutschland jedes Jahr bei ca. 200 Patienten diagnostiziert. Die Prognose des Osteosarkoms konnte von einer anfänglichen 5-Jahres-Überlebensrate von ca. 10% mit alleiniger chirurgischer Resektion, mit der Einführung der klassischen Chemotherapeutika in den 1970er Jahren auf 60-75% gesteigert werden (Jaffe *et al.*, 2013). Bedauernswerterweise konnte in den letzten Dekaden trotz systematischer Erprobung neuer Therapiestrategien in randomisierten klinischen Studien keine weitere signifikante Verbesserung der Prognose erreicht werden (Bielack *et al.*, 2016; Isakoff *et al.*, 2015; Luetke *et al.*, 2014). Insbesondere Patienten mit bereits metastasiertem Verlauf weisen eine schlechte Prognose mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von ca. 30% auf (Bielack *et al.*, 2002; Kager *et al.*, 2003; Kempf-Bielack *et al.*, 2005; Smeland *et al.*, 2019) und könnten von einer effizienteren systemischen Therapie profitieren.

Im Rahmen dieser Arbeit habe ich den Einfluss des Chk1-Inhibitors Prexasertib (LY2606368) der Firma „Eli Lilly and Company“ auf etablierte und primäre Osteosarkomzellen untersucht, um einen möglichen neuen Therapieansatz in der Behandlung des Osteosarkoms zu erproben. Chk1 reguliert vor allem intra-S und G2/M Kontrollpunkte der DNA-Schädigung im Zellzyklus und kann durch Aktivierung der an der DNA Reparatur beteiligten Kontrollpunkte ein Voranschreiten des Zellzyklus verhindern, um wertvolle Zeit für die Reparatur aufgetretener Schäden zu generieren. Die Inhibition der Chk1 führt entsprechend zu einem Voranschreiten der Tumorzelle durch den Zellzyklus, trotz vorhandener DNA-Schädigung und kann während der DNA-Replikation oder Zellteilung zur Apoptose der Zelle führen. Hierdurch kann die Wirkung DNA-schädigender Substanzen verstärkt werden. Die Therapie mit Prexasertib führt zusätzlich zur Generierung von DNA-Doppelstrangbrüchen, da Chk1 eine essentielle Rolle in der Stabilisierung der Replikationsgabeln während der DNA Replikation besitzt.

Auf Grundlage der von mir generierten Ergebnisse in der Behandlung primärer und etablierter Osteosarkomzellen, möchte ich zeigen, dass die Inhibition der Checkpoint-1 Kinase eine sinnvolle und wirksame Therapiestrategie in der Behandlung des Osteosarkoms darstellen könnte.

Es lassen sich entsprechend der zuvor aufgestellten Fragestellungen folgende Erkenntnisse aus den Untersuchungen dieser Arbeit ableiten:

1. Die Therapie mit dem Chk1-Inhibitor Prexasertib reduziert das klonogene Überleben im niedrig nanomolaren Konzentrationsbereich sowohl in etablierten als auch in primären Osteosarkomzellen.
2. Prexasertib führt in primären Osteosarkomzellen zu einer deutlichen Alterierung des Zellzyklus und führt dabei insbesondere zu einer Akkumulation von Zellen in der S-Phase.
3. Der primäre Hauptschädigungsmechanismus, die Induktion von DNA-Doppelstrangbrüchen, ist in zwei primären Osteosarkomzellen aktiv und nachweisbar.
4. Die zytotoxische Wirksamkeit von Prexasertib führt zu einer Zunahme der Apoptoseinduktion, die durch eine Zunahme des Anteils an Caspase-3 exprimierenden Zellen sowie der Expression des cleaved-PARP Proteins objektiviert werden kann.
5. Die zytotoxische Wirksamkeit des etablierten Standardtherapeutikums Cisplatin auf primäre Osteosarkomzellen kann durch die Kombinationsbehandlung mit Prexasertib verstärkt werden und führt zu einer synergistischen Interaktion beider Substanzen.
6. Die zytotoxische Wirksamkeit des PARP-Inhibitors Talazoparib auf primäre Osteosarkomzellen kann durch die Kombinationsbehandlung mit Prexasertib verstärkt werden und führt zu einer synergistischen Interaktion beider Substanzen.

Zusammenfassend konnte ich in dieser Arbeit zeigen, dass Prexasertib und die Inhibition von Chk1 in etablierten und primären Osteosarkomzellen zu einer deutlichen Reduktion des klonogenen Überlebens führt. Der zuvor in anderen Tumoren beschriebene Wirkmechanismus ist in primären Osteosarkomzellen aktiv und führt zu einer deutlichen Schädigung der DNA

über die Induktion von DNA-Doppelstrangbrüchen. Darüber hinaus führt die Behandlung mit Prexasertib zu einer deutlichen Zytotoxizität mit vermehrter Einleitung von Apoptose und beeinflusst die Zellzyklus Distribution von Zellen.

Weiterhin konnte ich nachweisen, dass Prexasertib in der Lage ist die Zytotoxizität der beiden DNA schädigenden Substanzen Cisplatin und Talazoparib deutlich zu steigern. Die Kombinationsbehandlung mit diesen Substanzen könnte daher eine wirksame Therapiestrategie für Osteosarkome darstellen. Es könnte erfolgsversprechend sein die Einflüsse von Prexasertib auf Osteosarkome in weiteren präklinischen Tiermodellen und in klinischen Studien weiter zu untersuchen. In den USA wurde bereits eine klinische Phase-I Studie für die Behandlung von soliden Tumoren im Kindesalter geplant, die unter der Bezeichnung „NCT02808650“ aktuell geeignete Patienten rekrutiert und deren Ergebnisse neue Erkenntnisse beinhalten könnte. Es bleibt zu hoffen, dass die Weiterentwicklung und Erprobung derartiger innovativer Therapiestrategien endlich zu einem weiteren Durchbruch in der Behandlung des Osteosarkoms und damit einer ersehnten Verbesserung der Überlebensraten bei dieser onkologischen Erkrankung führen wird.