

Zusammenfassung

Stephanie Frank-Scheinost

Dr. med.

Influence of the Wnt Signalling Pathway on Tumour Initiating Cell Activity in Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma

Fach/ Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Doktorvater: Prof. Dr. med. Hanno Glimm

Das duktales Adenokarzinom des Pankreas (PDAC) hat aufgrund der späten Diagnosestellung, frühen Metastasierung und hohen Rezidivneigung eine schlechte Prognose. Bis heute ist die vollständige chirurgische Resektion die einzige Heilungschance, da durch eine Chemotherapie keine komplette Remission erreicht werden kann. Durch die zunehmende Erforschung von Risikofaktoren und charakterisierenden Mutationen wächst das Verständnis über den Prozess der Karzinogenese. Aktuelle Studien legen nahe, dass auch der Wnt-Signalweg eine wichtige Rolle in der Karzinogenese des PDAC spielt, die genauen Mechanismen bedürfen jedoch weiterer Forschung. In Xenograftmodellen wurden Zellen mit tumorinitiierender Zellaktivität (TIC) identifiziert, die den Beginn des Tumorwachstums, sein Vorschreiten und seine Metastasierung ermöglichen. In diesem Zusammenhang konnte durch die lentivirale Markierung solcher TIC gezeigt werden, dass das langfristige Tumorwachstum im PDAC durch transient aktive TIC getragen wird.

In dieser Studie wurden daher sechs patientenbasierte PDAC-Kulturen mit dem „7TGC“-Vektor transduziert. Dieser kann eine mögliche Wnt-Signalwegaktivität durch eine β -Catenin induzierte Transkription von „enhanced green fluorescent protein“ (eGFP) anzeigen. Die Vektorfunktion wurde mit Zellen der kolorektalen Zelllinie SW480 überprüft, die durch eine APC-Mutation charakterisiert ist. In der Durchflusszytometrie zeigte sich, dass nur ein kleiner Teil der Zellen jeder PDAC-Kultur *in vitro* eine Wnt-Signalwegaktivität aufweist. Dies spiegelte sich auch auf mRNA-Ebene wider, wo verschiedene Wnt-Signalwegkomponenten und -Zielgene in den PDAC-Kulturen niedriger exprimiert wurden als in den SW480 Zellen. Die extrinsische Stimulation des Wnt-Signalwegs mit Wnt-3A unterteilte die PDAC-Kulturen anhand ihrer Empfindlichkeit bzw. Unempfindlichkeit gegenüber der Stimulation in zwei Gruppen. Durch das Sortieren der PDAC-Zellen anhand ihrer Wnt-Signalwegaktivität und der weiteren *in vivo*-Expansion zeigte sich, dass sich unabhängig von der ursprünglichen Herkunft der Zellen aus einer Wnt^{low}- oder einer Wnt^{high}-Gruppe innerhalb von zwei

nachfolgenden Xenograft-Generationen eine umschriebene Wnt-aktive Zellpopulation zurückbildete. Die Anzahl der TIC-Klone, die während dieses Regenerationsprozesses zum Tumorwachstum beitrugen, war dabei begrenzt. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass die Größe der Wnt-aktiven Zellpopulation mit der Expression des TIC-assoziierten Oberflächenmarkers CD133 korreliert, wobei Wnt-aktive Zellen nicht zwangsläufig auch CD133 exprimierten.

Die Behandlung mit Gemcitabin als Chemotherapeutikum *in vitro* und *in vivo* ergab ein heterogenes Antwortmuster der PDAC-Kulturen. Die Anzahl der Wnt-aktiven Zellen innerhalb einer Kultur wurde durch die Chemotherapie nicht beeinflusst. Ungeachtet des klinischen Ansprechens auf die Behandlung, das durch das Tumolvolumen definiert wurde, zeigten einige Kulturen eine verringerte und wiederkehrende TIC-Population der Tumore in den nächsten Xenograft-Generationen, während die klonale Zusammensetzung anderer Kulturen unbeeinflusst blieb. Eine der sechs untersuchten PDAC-Kulturen war eine *KRAS*-Wildtyp-Kultur und zeigte zudem eine *ATP1B1-PRCAKA*-Fusion. In dieser Arbeit zeichnete sich die Kultur durch einen hohen Anteil Wnt-aktiver Zellen und einer hohen Empfindlichkeit gegenüber Gemcitabin aus.

Zusammenfassend zeigen die hier untersuchten patientenbasierten PDAC-Kulturen ein heterogenes Muster bezüglich ihrer Wnt-Signalwegaktivität und ihres Ansprechens auf eine Gemcitabin-Behandlung. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass eine umschriebene Wnt-aktive Zellpopulation notwendig ist, um das Tumorwachstum in Xenograftmodellen voranzutreiben, nicht aber um das Tumorwachstum zu initiieren. Zudem ist das Vorhandensein einer solchen Wnt-aktiven Zellpopulation nicht zwangsläufig von einer extrinsischen Signalwegaktivierung abhängig.