

Adam Jassowicz
Dr. med.

The impact of autophagy and apoptosis on the carcinogenesis and therapy resistance in colorectal cancer

Fach/Einrichtung: Innere Medizin
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Bruno Christian Köhler

Krebs ist nach wie vor eine der häufigsten Todesursachen weltweit. Von allen bösartigen Erkrankungen nimmt das kolorektale Karzinom sowohl in der Epidemiologie als auch in der Molekularbiologie eine Schlüsselrolle ein. Die Prognose für fortgeschrittene Darmkrebsstadien ist nach wie vor schlecht, und ein Teil der Patienten befindet sich in einer palliativen Situation, weil vorhandene Behandlungsmöglichkeiten erschöpft sind oder nicht in Frage kommen.

Als möglicher neuer therapeutischer Ansatz ist der Eingriff in die regulierte Form des Zelltods, die Apoptose, in den wissenschaftlichen Fokus gerückt. Die Apoptose kann in zwei hochkonservierte Pfade unterteilt werden kann: die intrinsische Apoptose, d. h. durch innere Stimuli wie DNA-Schäden ausgelöst, und die extrinsische Apoptose, der Todesrezeptor-Weg, d.h. durch äußere Stimuli über Rezeptor-/Ligandeninteraktion vermittelt.

Einer der Hauptregulatoren des intrinsischen Pfades ist die BCL-2-Proteinfamilie, die anhand ihres Strukturmotivs der BCL-2-Homologiedomänen (BH1-BH4) in drei Gruppen unterteilt werden kann: (I) nur-BH3-Initiatorproteine, (II) pro-apoptotische Multi-Domänen-Effektorproteine und (III) die anti-apoptotischen Multi-Domänen-Proteine (vor allem BCL-2, BCL-xL und MCL-1). Da reine BH3-Proteine die Apoptose durch die Oligomerisierung pro-apoptotischer Multi-Domain-Effektorproteine oder durch Bindung und Antagonisierung anti-apoptotischer Proteine auslösen können, wurde ein translationaler Ansatz in Form von sog. BH3-Mimetika entwickelt.

Die BH3-Domäne ist in einem der Schlüsselproteine der Autophagieregulation, Beclin-1, vorhanden. Beclin-1 hat somit eine doppelte Funktion, da es über seine BH3-Domäne Autophagie und Apoptose miteinander verbindet: es kann Komplexe mit BCL-2 oder BCL-xL bilden, die je nach apoptotischem Kontext zur Induktion oder Hemmung der Autophagie führen können. In Bezug auf Krebs spielt die Autophagie eine Vielzahl von Rollen und ist letztlich ein wichtiger Treiber für das Überleben und Wachstum von Krebszellen - insbesondere unter feindlichen Bedingungen wie Hypoxie, Hunger etc.

Die Wechselwirkungen zwischen dem Autophagie-Signalweg und der Apoptose sind daher zu einem vielversprechenden wissenschaftlichen Ziel in der Krebsforschung geworden. Die Analyse von kombinierten Therapien mit Autophagie-Modulatoren und BH3-Mimetika sowie die Interaktion mit von Apoptose und Autophagie im Kontext der BCL-2-Proteinfamilie bei der Therapie des kolorektalen Karzinoms sind das Ziel dieser Studie.

Als erstes bestätigen meine Daten die Bedeutung der Autophagie (-Hemmung) für das kolorektale Karzinom in vitro, wie die Anfälligkeit der CRC-Zelllinien HT29 und SW480 für Autophagie-induzierende Umgebungen zeigt. Darüber hinaus zeigen meine Daten, dass (i) das Aminochinolin Chloroquin ein wirksamer Inhibitor des autophagischen Flusses in den Zelllinien HT29 und SW480 ist, und (ii), dass ein angemessener autophagischer Fluss für das

Überleben der Zellen erforderlich ist, sowie (iii), dass eine kombinierte Behandlung mit Chloroquin und den bei der Behandlung des kolorektalen Karzinoms üblichen antineoplastischen Mitteln die zytotoxische Wirkung dieser Mittel in-vitro verstärken kann.

Zweitens zeigen meine Daten, dass (i) das BH3-Mimetikum Obatoclax, welches, im Gegensatz zum BH3-Mimetikum, ABT-737 das anti-apoptische Protein MCL-1 inhibiert, zu einem Anstieg der Proteine aus dem Spätstadium des autophagischen Flusses (LC3b und p62) führt und dass (ii) die negativen Auswirkungen von Obatoclax auf das Zellüberleben in einem Autophagie-fördernden Umfeld in den Zelllinien HT29 und SW480 deutlich verstärkt werden. Auf der Grundlage aktueller Literatur kann davon ausgegangen werden, dass Obatoclax seine Wirkung mutmaßlich durch (a) eine Störung der Interaktion von Beclin-1 und BCL-2/BCL-XL/MCL-1 und eine anschließende Induktion des autophagischen Flusses, sowie durch (b) einer Hemmung der Autophagie im Spätstadium aufgrund der Blockade von lysosomalen Funktion, entfaltet. Im Rückblick auf die von mir präsentierten Daten und die aktuelle Literatur sollten jedoch weitere Studien an Zelllinien aus dem kolorektalen Karzinom in Erwägung gezogen werden, um die Wirkungsweise von Obatoclax besser beurteilen zu können.

Drittens zeigen meine Daten, dass eine Herabregulation von ATG-7 Proteinspiegeln in HT29- und SW480-Zellen zu einer deutlichen Verringerung der Viabilität dieser führt. Darüber hinaus zeigen meine Daten, dass ein doppelter Knock-out des Autophagie-Proteins ATG-7 zusammen mit dem Cargo-Rezeptor LC3b die Viabilität von HT29- und SW480-Zellen im Vergleich zur alleinigen Herabregulation der ATG-7 Proteinspiegel wiederherstellen kann. Ein solcher ATG-7/LC3b-Rettungsphänotyp kann möglicherweise durch die in der aktuellen Literatur nachgewiesenen nukleären Effekte von LC3b erklärt werden: Am vielversprechendsten ist, dass möglicherweise die von mir beobachteten Effekte durch eine verringerte Umwandlung von LC3b durch das Fehlen von ATG-7 bedingt sind, was zu einer Anhäufung von LC3b im Zellkern und zum Abbau potenzieller Bindungspartner im Zellkern führt, insbesondere von Sirtuin-1. In der wissenschaftlichen Landschaft der Autophagie-Forschung gewinnt daher der Begriff der nukleären Autophagie zunehmend an Bedeutung.

Letztendlich wurde der beobachtete ATG-7/LC3b-Phänotyp in Zelllinien des kolorektalen Karzinoms bisher nur in den Daten von mir und meinen Kollegen von der AG Köhler beschrieben, und weitere Studien an Zelllinien des kolorektalen Karzinoms sind gerechtfertigt.

Daher könnte der immer noch ungedeckte medizinische Bedarf in fortgeschrittenen Stadien des kolorektalen Karzinoms von einem besseren Verständnis der vielfältigen Rollen der Autophagie auf die Apoptose sowie die Zellzyklusprogression profitieren, was in meiner Studie angesprochen wurde.