

Jan-Peter Linke
Dr. med.

Die Bedeutung von Histondeacetylase 3 und 10 für die Malignität von Neuroblastomzellen

Promotionsfach: Pädiatrie
Doktorvater: Prof. Dr. Olaf Witt

Das Neuroblastom ist mit 8 % aller kindlichen Krebserkrankungen der häufigste extrakranielle, solide Tumor im Kindesalter des Menschen, der im fortgeschrittenen Stadium trotz intensiver Therapie in ca. 70 % der Fälle zum Tod führt. Das Neuroblastom ist durch große klinische Heterogenität gekennzeichnet und verlangt nach neuen, angepassten Therapiekonzepten.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung der Histondeacetylase (HDAC) Enzyme 3 und 10 für die Malignität von Neuroblastomzellen untersucht. Hierzu wurden Tumorzellen der Neuroblastomzelllinie BE(2)-C mit siRNA gegen HDAC3 bzw. gegen HDAC10 transient transfiziert.

Die Ermittlung von Wachstumskurven ergab eine durch den Knockdown der HDAC3- und HDAC10-Expression hervorgerufene signifikant verlängerte Zellpopulationsverdopplungszeit. Eine Analyse des Zellzyklusprofils ergab für den Knockdown von HDAC3 in der aneuploiden Population einen signifikanten Anstieg der G2/M Phase. Die Fähigkeit der Zellen, im Softagar Kolonien bilden zu können, wurde durch den Knockdown der HDAC10-Expression stark eingeschränkt. Weder der Knockdown von HDAC3 noch von HDAC10 hatte die Induktion einer neuronalen Differenzierung der Zellen zur Folge. Vielmehr wurde ein Zelltod nach Knockdown von HDAC3 bzw. von HDAC10 mittels Trypanblaufärbung nachgewiesen. Die Ergebnisse der Caspase-3 Aktivitätsmessung, die Detektion des PARP-Spaltmusters und die Detektion von in den Überstand freigesetztem HMGB-1 mittels Western Blot zeigten klar, dass sich der durch den Knockdown von HDAC3 und HDAC10 hervorgerufene Zelltod weder auf Apoptose noch auf Nekrose zurückführen ließ. Der Knockdown von HDAC10 führte stattdessen zu einer signifikant erhöhten Autophagierate, die durch Acridinorange-Färbung und LC3 Spaltung bestimmt wurde. Eine transiente Überexpression von HDAC10 bewirkte hingegen einen deutlichen Rückgang der Autophagierate. Von den getesteten HDAC Inhibitoren bewirkten nur die unselektiv wirkenden Substanzen TSA und SAHA, die HDAC3 und 10 hemmen, in allen drei Tumorzelllinien eine deutliche Erhöhung der Autophagierate. Daher konnte erstmalig gezeigt

werden, dass der Knockdown von HDAC10 zu einer signifikanten Erhöhung der Autophagierate in einer Neuroblastomzelllinie führt. Der Knockdown von HDAC3 führte zu einem Zellzyklusarrest und möglicherweise zur mitotischen Katastrophe. Nach den Ergebnissen dieser Arbeit scheinen sowohl HDAC3 als auch HDAC10 an essentiellen tumorbiologischen Prozessen in Neuroblastomzellen beteiligt zu sein, die einen Überlebensvorteil der Tumorzelle bewirken. Es wird zudem deutlich, dass unterschiedliche HDAC-Isoenzyme unterschiedliche tumorbiologische Aufgaben wahrnehmen. Selektive HDAC-Inhibitoren könnten daher eine viel versprechende Ergänzung zu der derzeitigen Therapie des Neuroblastoms bilden.