

5 ZUSAMMENFASSUNG

Da die bisherigen Möglichkeiten zur Behandlung fortgeschrittener gastrointestinaler Tumore sehr unbefriedigend sind, ist die Entwicklung und Erforschung neuer innovativer Therapiemöglichkeiten dringend erforderlich.

Der insulinähnliche Wachstumsfaktorrezeptor 1 (IGF-1R) ist ein interessantes neues Zielprotein für neuartige und zielgerichtete Tumorthérapien. In einer Vielzahl von Tumoren, u.a. gastrointestinale Tumore, ist der IGF-1R überexprimiert und/oder besitzt eine unphysiologisch hohe Aktivität, die eine entscheidende Rolle bei der Tumorentstehung und Progression spielt.

Histondeacetylasen (HDAC) gelten ebenfalls als sehr viel versprechende therapeutische Zielstrukturen für die molekulare Tumorthérapie. Im Zusammenspiel mit den antagonistisch wirkenden Histonacetyltransferasen (HAT) kontrollieren sie das dynamische Gleichgewicht von Acetylierung und Deacetylierung von Histonen, welches eine wichtige Rolle bei der Regulation der Genexpression spielt. Bei einer Vielzahl von Tumoren ist eine dysregulierte HDAC- und HAT-Aktivität festzustellen. Derartige Störungen des zellspezifischen Acetylierungsmusters führen u.a. zu veränderter Genexpression und tragen so zu veränderten Proliferationsverhalten und der malignen Entartung der Zelle bei.

Ziel dieser Arbeit war es, die Wirksamkeit von therapeutisch interessanten Interventionen zu testen, bei denen die Aktivität des IGF-1-Rezeptors bzw. von Histondeacetylasen bei verschiedenen gastrointestinalen Tumoren inhibiert wird, da diese bislang noch nicht in diesem Zusammenhang untersucht worden ist.

Im ersten Teil dieser Arbeit sollte die antiproliferative Wirksamkeit der IGF-1-Rezeptor-Inhibition an drei gastrointestinalen Tumorentitäten, den gastrointestinalen neuroendokrinen Tumoren (NET), dem hepatozellulären Karzinom (HCC) und dem kolorektalen Karzinom (CRC) untersucht werden.

Es konnte dabei gezeigt werden, dass die Inhibition des IGF-1R durch den spezifischen IGF-1R-Tyrosinkinaseinhibitor NVP-AEW541 signifikant das Zellwachstum dieser drei Tumorentitäten zeit- und dosisabhängig hemmte. Die antiproliferative Wirkung der IGF-1R-Inhibition ließ sich auch an Primärzellkulturen humaner gastrointestinaler neuroendokriner Tumoren und kolorektalen Karzinomen bestätigen. Primärzellkulturen wurden zusätzlich untersucht, da sie im Vergleich zu Zelllinien ein patientennäheres Untersuchungsmodell darstellen. Außerdem stellen sie eine Möglichkeit der individualisierten Tumorthérapie dar.

Es konnte gezeigt werden, dass die antiproliferative Wirkung der IGF-1R-Inhibition sowohl auf der Induktion von mitochondrienvermittelter Apoptose als auch auf einem Zellzyklusarrest am G1/S-Kontrollpunkt beruhte. Mittels Western Blot Analysen wurden die zugrunde liegenden Expressionsveränderungen apoptose- und zellzyklusrelevanter Proteine dargestellt, die an der antiproliferativen Wirkung beteiligt waren. Das proapoptotische Protein Bax war hochreguliert, während das antiapoptotische Protein Bcl-2 supprimiert wurde. Außerdem waren die beiden Zellzyklusinhibitoren p21^{Waf1/Cip1} und p27^{Kip1} überexprimiert, während die Expression des Zellzykluspromoters Cyclin D1 inhibiert wurde. Weiterhin konnte durch die IGF-1R-Inhibition eine Unterbrechung bzw. Herunterregulierung des Ras-Raf-MAPK- und des PI3-K-Signalwegs demonstriert werden.

Durch die Aufklärung der Wirkmechanismen von IGF-1R-Inhibitoren und der Charakterisierung der beteiligten Signaltransduktionswege konnten wichtige Erkenntnisse für kombinationstherapeutische Ansätze abgeleitet werden. In entsprechenden Kombinationsexperimenten konnte so auch gezeigt werden, dass durch simultane Applikation von IGF-1R-Inhibitoren und konventionellen Zytostatika eine (über-)additive Verstärkung der antiproliferativen Effekte erzielt werden kann.

Auch eine kombinierte Blockade der miteinander interagierenden Wachstumsfaktorrezeptoren, IGF-1R und des epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors (EGFR) wurde evaluiert. Es zeigte sich, dass die simultane Inhibition von IGF-1R und EGFR zu einer synergistischen Wirkungsverstärkung der antiproliferativen Effekte führte.

Der zweite Teil dieser Arbeit befasste sich mit der Wirksamkeit einer Inhibition von Histondeacetylasen (HDAC) auf das Wachstum gastrointestinaler neuroendokriner Tumore und cholangiozellulärer Karzinomzellen. Der Großteil der Anti-HDAC-Untersuchungen wurde mit dem neuen synthetischen Benzamid MS-275 durchgeführt. Zusätzlich wurde ein Teil der Untersuchungen auch mit zwei natürlich vorkommenden Vertretern aus anderen Gruppen von HDAC-Inhibitoren, nämlich Trichostatin A und Natriumbutyrat, durchgeführt.

Es konnte gezeigt werden, dass eine Inhibition der Histondeacetylasen durch die verschiedenen HDAC-Inhibitoren das Wachstum von neuroendokrinen und cholangiozellulären Karzinomzellen signifikant inhibiert, und dass daran Apoptose und Zellzyklusmodulationen beteiligt sind.

Die HDAC-Inhibitor-induzierte Apoptose war durch eine erhöhte Aktivität der Caspase-3 und einer Fragmentierung der DNA charakterisiert. Die Modulationen des Zellzyklus durch HDAC-Inhibitoren führten in allen Zelllinien zu einem signifikanten G1/S-Arrest. Interessanterweise zeigte sich dabei, dass der Wirkungsmechanismus der Histondeacetylase-Inhibitoren zelltypspezifische Unterschiede aufwies, die in einem Teil der untersuchten Zelllinien neben dem Arrest in der G1/S-Phase des Zellzyklus zu einem zusätzlichen G2/M-Arrest führten.

Auch auf der Proteinebene zeigten sich zelltypspezifische Unterschiede bei der Expression von apoptoserelevanten und zellzyklusregulierenden Proteinen. So wurde beispielsweise die Expression von antiapoptotischen Bcl-2 sowohl bei cholangiozellulären Karzinomen (CCC)-Zellen als auch bei neuroendokrinen Tumoren (NET)-Zellen supprimiert, während die Expression von proapoptotischen Bax nur bei CCC-Zellen hochreguliert wurde.

Kombinationstherapeutische Ansätze von HDAC-Inhibitoren mit konventionellen Zytostatika und anderen neuen Antitumormedikamenten führten zu einer additiven Wirkungsverstärkung. Besonders wirkungsvoll waren dabei die Kombinationen des HDAC-Inhibitors MS-275 mit dem Multi-Kinase-Inhibitor Sorafenib oder mit dem Proteasominhibitor Bortezomib, die zu synergistischen Wachstumsinhibitionen führten.

Die vorliegenden Untersuchungen belegen, dass die Inhibition des insulin-ähnlichen Wachstumsfaktorrezeptors 1 (IGF-1R) sowie die Inhibition von Histondeacetylasen (HDAC) neuartige und viel versprechende Ansätze zur zielgerichteten Therapie fortgeschrittener, gastrointestinaler Tumore darstellen. Die mögliche klinische Anwendung der hier vorgestellten Ansätze sollte aufgrund der sehr viel versprechenden *in vitro*-Ergebnisse künftig durch *in vivo*-Untersuchungen und klinische Studien evaluiert werden.