

5. Zusammenfassung

Ein entscheidendes Charakteristikum von Krebszellen ist ihre Apoptosedefizienz, aufgrund von welcher unkontrolliert wachsende Zellen nicht mehr eliminiert werden können. Bei der mitochondrial vermittelten Apoptose stellen die Mitglieder der Bcl-2-Familie wichtige Regulatoren dar. In den hier untersuchten Melanom-Zelllinien zeigte sich im Vergleich zu normalen Melanozyten-Kulturen eine relativ hohe Expression der antiapoptotischen Proteine Bcl-2 und Bcl-X_L, während das proapoptotische Bcl-X_S auf Protein-Ebene nicht zu detektieren war. Melanom-Zelllinien, die sich resistent gegenüber der agonistischen CD95-Stimulation (CH-11) sowie gegenüber Ceramid verhielten, waren durch ein relativ hohes Mengenverhältnis von Bcl-2 zu Bax charakterisiert. Die besondere Bedeutung der Bcl-2-Proteine wurde in zwei für CH-11 und Ceramid sensitiven Melanom-Zelllinien bestätigt, wo stabile Überexpression von Bcl-2 Resistenz gegenüber Apoptose-Stimuli vermittelte.

Zur Untersuchung der Rolle von Bcl-X_S und Bcl-X_L bei der Regulation der Apoptose in Melanom-Zellen wurden beide Gene mittels RT-PCR kloniert und in einem durch Tetrazyklin regulierbarem System zur Expression gebracht. Im Zuge der Klonierung konnte außerdem eine neue Spleissvariante mit einem Molekulargewicht von 18 kDa von bisher ungeklärter Funktion identifiziert werden. Die Induktion von Bcl-X_S in stabil transfizierten Melanomzell-Klonen führte zu einer signifikanten Steigerung der Apoptose, während Überexpression von Bcl-X_L die basale Apoptoserate erniedrigte. Bei der Untersuchung des Mechanismus der durch Bcl-X_S-vermittelten Apoptose zeigte sich nach Bcl-X_S-Überexpression eine deutliche Abnahme des Gehaltes an Cytochrom C in den Mitochondrien, jedoch war keine Erhöhung des cytoplasmatischen Gehalts an Cytochrom C feststellbar. Auch eine Aktivierung der Caspasen-3 und -8 zeigte sich nur schwach und transient. Interessanterweise wurde nach Induktion von Bcl-X_S eine Freisetzung des „apoptosis-inducing factor“ (AIF) detektiert, der seine proapoptotische Wirkung Caspasen-unabhängig entfaltet. Diese Befunde sprechen dafür, dass Bcl-X_S Apoptose ohne Beteiligung von Caspasen auslöst. Die proapoptotischen Effekte verschiedener Zytostatika und anderer proapoptotischer Stimuli konnten durch Bcl-X_S-Überexpression deutlich gesteigert werden. In Überprüfung der Bedeutung der Bcl-X_S-Expression *in vivo* zeigten sich im Nacktmaus-Modell nach Induktion von Bcl-X_S ein drastisch verzögertes Tumorwachstum und als Resultat um den Faktor 4,4 kleinere Tumore.

Die vorliegende Arbeit belegt die Bedeutung des Verhältnisses von proapoptotischen zu antiapoptotischen Proteinen der Bcl-2-Familie für die Apoptose-Sensitivität von Melanom-Zellen. Die vielversprechenden Resultate im Tiermodell legen eine therapeutische Verwendungsmöglichkeit des untersuchten Bcl-X_S nahe.