

4 Durch Liganden des peripheren Benzodiazepinrezeptors aktivierte Signaltransduktionswege

4.1 Einführung

Es wurde bereits gezeigt, dass PBR induzierte Apoptose durch Actinomycin D, Cycloheximid und dem Kinase Inhibitor H7 gehemmt werden kann (Tanimoto et al., 1999). Dies bedeutet, dass PBR Ligand induzierte Apoptose abhängig von Proteinsynthese und -phosphorylierung ist. In dieser Arbeit wurden durch PBR Liganden induzierte transkriptionelle Veränderungen weiterer Signalmoleküle bestimmt und deren funktionelle Beteiligung an der Regulation von Apoptose und Zellzyklusarrest untersucht.

Bei der Reaktion der Zelle auf extrazelluläre Stimuli sind häufig Mitogen-aktivierte Proteinkinasen (MAPKinasen) involviert. Derzeit werden fünf verschiedene MAPKinase-Signalwege in Eukaryonten unterschieden (Roux and Blenis, 2004). Während der p38-MAPKinase Signalweg meist bei der Antwort auf Stressoren aktiviert wird und eher antiproliferative Prozesse auslöst, wird der Signalweg der extrazellulär-regulierten Kinase (ERK) 1/2 durch Wachstumsfaktoren und andere Mitogene aktiviert und induziert Zellproliferation. In dieser Arbeit wird gezeigt, dass der p38 MAPKinase Signalweg durch die spezifischen PBR Liganden aktiviert wird (siehe 4.2.1). Die p38MAPKinase Aktivierung erfolgte Caspase-3 abhängig, da durch eine Caspase-3 Inhibitor die durch PBR Liganden induzierte Phosphorylierung der p38MAPKinase vermindert wurde. Die Aktivierung der p38MAPKinase war mit einer Induktion der Expression der *growth arrest and DNA damage inducible protein* (gadd) 45 and gadd153 assoziiert. Versuche mit einem spezifischen p38MAPKinase Inhibitor haben gezeigt, dass die Aktivierung der p38 MAPKinase eine Voraussetzung der PBR Liganden induzierten Apoptose und des Zellzyklusarrests ist. Der p38MAPKinase Inhibitor SB202190 verminderte sowohl die

durch PBR Liganden ausgelöste DNA Fragmentierung als auch den Zellzyklusarrest (siehe 4.2.1).

Neben dem p38MAPKinase Signalweg wurde auch der ERK1/2 Signalweg durch PBR Liganden moduliert. Die Wirkungsweise und der Zeitverlauf der ERK1/2 Modulation scheinen jedoch zelltypabhängig zu sein. Während bei Ösophaguskarzinomzellen ERK1/2 durch PBR Liganden transient aktiviert wurden (siehe 4.2.2), bewirkten PBR Liganden in kolorektalen Karzinomzellen eine Inaktivierung der ERK1/2 (siehe 4.2.3). Bei beiden Tumorentitäten konnten jedoch unabhängig von der direkten Wirkung der Liganden auf den ERK1/2 Signalweg die antiproliferativen Effekte der PBR Liganden durch zusätzliche Blockierung des ERK1/2 Signalwegs verstärkt werden.

Die Regulation des Zellzyklus erfolgt durch Cyclin-abhängige Kinasen (cdk), die zusammen mit Cyclinen die Transkription der für den weiteren Verlauf des Zellzyklus notwendigen Proteine regulieren. Zellzyklusregulierende Proteine gehören zu den am häufigsten veränderten Molekülen bei neoplastischen Erkrankungen. Für eine erfolgreiche Krebstherapie ist es nötig, diese veränderten Signalwege zu umgehen. So ist bei ca. der Hälfte aller kolorektalen Karzinome das Tumorsuppressorgen P53 mutiert (Greenblatt et al., 1994). Auch Cyclin D1 ist häufig in gastrointestinalen Tumoren verändert, was mit einer schlechteren Prognose der Patienten einhergeht (Arber et al., 1996; Palmqvist et al., 1998). In dieser Arbeit wird gezeigt, dass PBR Liganden unter Umgehung des mutierten P53 den Zellzyklusinhibitor p21^{Cip1} induziert und cyclin D1 herunter reguliert (siehe 4.2.3).

Die Assoziation des PBR mit der *permeability transition pore* in den Mitochondrien lassen auf eine Beteiligung des PBR an der mitochondrien-vermittelten Apoptose schließen. In Kapitel 3.2.2 wurde bereits beschrieben, dass die durch FGIN-1-27 ausgelöste Apoptose von der Öffnung der *permeability transition pore* abhing und mit einem Abfall des mitochondrialen Membranpotentials einher ging. Bei der PK 11195-induzierten Apoptose war jedoch keine Veränderung des mitochondrialen Membranpotentials zu beobachten. in

dieser Arbeit zeige ich, dass auch die PK11195-induzierte Apoptose durch Mitochondrien vermittelt wird und charakterisiere die beteiligten Mechanismen (siehe 4.2.4).

4.2 Ergebnisse in Form von Veröffentlichungen

4.2.1 Sutter, A.P., Maaser, K., Barthel, B., Scherübl, H.

Ligands of the peripheral benzodiazepine receptor induce apoptosis and cell cycle arrest: Involvement of the p38MAPK signaling pathway.

Br. J. Cancer 89(3): 564-572, 2003.

4.2.2 Sutter, A.P., Maaser, K., Gerst, B., Krahn, A., Zeitz, M., Scherübl, H.

Enhancement of peripheral benzodiazepine receptor ligand-induced apoptosis and cell cycle arrest of esophageal cancer cells by simultaneous inhibition of MAPK/ERK kinase.

Biochem Pharmacol. 67(9): 1701-10, 2004.

4.2.3 Maaser K., Sutter A.P., Krahn A., Scherübl H.

Cell cycle-related signaling pathways modulated by peripheral benzodiazepine receptor ligands in colorectal cancer cells.

BBRC 324: 878 – 666, 2004.

4.2.4 Maaser K., Sutter A.P., Scherübl H.

Mechanisms of mitochondrial apoptosis induced by peripheral benzodiazepine receptor ligands in human colorectal cancer cells

BBRC 332: 646-652, 2005.