

Die Rolle von Replikations-assoziierten DNA-Schäden bei der Tumorentstehung

Massimo Lopes, UZH

Achim Weber, USZ

ZUSAMMENFASSUNG

Ein erhöhtes Zellwachstum ist intrinsisch mit früher Tumorgenese verbunden. Zudem hängt gesteigerte Zellteilung mit gestörter Gewebemöostase zusammen, besonders bei persistentem Gewebeschaden und Apoptose. Während der Krebsentstehung, die häufig mit einer Aktivierung von Onkogenen einhergeht, unterliegen die Zellen einer erhöhten DNA-Replikationsrate, was die Wahrscheinlichkeit für replikationsassoziierte DNA-Schäden erhöht.

Diese Abfolge von Ereignissen wird bei der chronischen Lebererkrankung (CLD) und dem hepatozellulären Karzinom (HCC) beobachtet. Mit Hilfe von etablierten Mausmodellen aus dem Labor von Achim Weber und einem Portfolio von Methoden zur Untersuchung von Replikationsstress (einschliesslich Single-Cell Analysen für Replikationszwischenstufen) aus dem Labor von Massimo Lopes soll ermittelt werden, ob die beobachteten DNA-Schäden mit spezifischen Anzeichen von Replikationsstress einhergehen. Diese technologische Plattform beinhaltet auch Zellkulturmodelle für die frühe Tumorentstehung und für hyperproliferierende embryonische Stammzellen. Sie wurde erfolgreich angewendet, um globale Veränderungen in der Progression und der Architektur einzelner Replikationsgabeln unter verschiedenen Bedingungen von Replikationsstress zu untersuchen.

Wir werden nun unsere Kräfte bündeln und diese leistungsstarken Ansätze in verschiedenen Mausmodellen der CLD und des HCC anwenden. Auch werden wir partielle Hepatektomien und Proof-of-Principle Experimente mit der Weber-Forschungsgruppe zur Verfügung stehenden menschlichen Proben von CLD und akuter Regeneration nach einer Leberoperation durchführen. Wir werden untersuchen, ob der unter diesen Bedingungen beobachtete DNA-Schaden mit spezifischen Anzeichen von Replikationsstress einhergeht. Dazu werden wir optimierte Protokolle anwenden, um einzelne, metabolisch aktive Zellen aus relevantem Gewebe zu isolieren und spezifische Färbeverfahren in Verbindung mit FACS und Fluoreszenzmikroskopie nutzen. Die Anwendung von DNA Fibre Spreading Assays und Elektronenmikroskopie wird uns erlauben, die Progression und die Architektur einzelner Replikationsgabeln direkt zu untersuchen und dadurch einen mechanistischen Einblick in den Replikationsstress unter diesen Bedingungen zu bekommen. Zur Überwachung von spezifischen Mutationsmustern, die in hyperproliferativen Zellen akkumulieren und möglicherweise auf spezifische Mechanismen der Genominstabilität und Lebertumorentstehung hindeuten, werden wir Whole Genome Sequencing anwenden. Aufgrund von neuen Berichten und unveröffentlichten Daten aus unseren beiden Labors werden wir untersuchen, ob Mcl-1, ein spezifisches Molekül, das bei der Lebertumorentstehung an der Apoptoseinhibition und der damit verbundenen Hyperproliferation beteiligt ist, auch eine direkte Rolle in der Antwort auf Replikationsstress spielt.

Wir sind zuversichtlich, dass wir durch die Anwendung innovativer Testverfahren in klinisch relevanten Mausmodellen zum Verständnis wichtiger Mechanismen des Replikationsstresses in der frühen Tumorgenese beitragen können.