

Die Rolle des Hippo Signaling Pathway und seiner Effektoren YAP und TAZ in pädiatrischen Hirntumoren bei jungen Erwachsenen im Alter von 15 bis 25 Jahren

Laura Hero, Marco Timmer

Labor für Neuroonkologie und Experimentelle Neurochirurgie, Zentrum für Allgemeine Neurochirurgie, Universitätsklinik Köln

Hintergrund

Die primären Tumoren des zentralen Nervensystems (ZNS) sind nach Leukämien mit 24%¹ die zweithäufigste Ursache für Krebs im Kindesalter.² Als häufigste solide Tumoren stellen sie außerdem die führende Todesursache in der pädiatrischen Onkologie dar.³ Bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen sind ZNS-Tumoren zwar insgesamt seltener zu finden als bei Kindern, sie machen aber trotzdem ein Drittel aller Tumore und ca. 80% aller malignen Neoplasien bei Patienten im Alter von 15 bis 39 Jahren aus. Dabei treten in dieser Altersgruppe sowohl pädiatrische als auch adulte ZNS-Tumore auf.⁴

Yes-associated Protein (YAP) und das homologe Protein Transcriptional Co-Activator With PDZ-Binding Motif (TAZ) sind Transkriptionskoaktivatoren, die vor allem durch die Mechanotransduktion einer Zelle beeinflusst werden. Dies kann sowohl abhängig als auch unabhängig vom sogenannten Hippo Signaling Pathway geschehen.⁵ Der Hippo Pathway ist ausschlaggebend an der Kontrolle von Zellproliferation und Apoptose beteiligt und reguliert so physiologisch vor allem die Größe von Organen und Geweben.^{6,7}

Bei einigen malignen Tumoren konnte bereits eine ungewöhnlich hohe Expression an YAP und TAZ beobachtet werden.⁷ Dabei ist vor allem eine erhöhte Aktivität in den Zellkernen von Krebszellen zu messen. Dies hat eine verstärkte Proliferation, Invasion und Metastasierung der Zellen zur Folge.⁵ YAP und TAZ scheinen also eine entscheidende Rolle bei der Tumorgenese zu spielen. Erhöhte Expressionsmuster konnten unter anderem bei Brustkrebs- und Darmkrebszellen, sowie Lungen- und Lebertumoren gemessen werden. Auch bei adulten Hirntumoren, insbesondere Gliomen, konnte im Vergleich zu normalem Hirngewebe eine deutliche Erhöhung der YAP/TAZ-Aktivität gemessen werden.^{6,7} Die Expression von YAP/TAZ konnte dabei mit dem Tumorstadium in Korrelation gebracht werden. In schlecht differenzierten Gliomen (WHO Grad III und IV) wurde eine höhere Expression gemessen als bei gut differenzierten Tumoren (WHO Grad I und II).⁷ Eine Überexpression von YAP/TAZ ist dabei assoziiert mit verstärkter Metastasierung und einem schlechteren Gesamtüberleben der Patienten.^{7,8}

Es deutet vieles darauf hin, dass die beiden homologen Proteine YAP und TAZ auch bei der Tumorgenese von pädiatrischen Hirntumoren eine entscheidende Rolle spielen. Bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen weisen Hirntumore verschiedene Charakteristiken sowohl von pädiatrischen als auch von adulten Tumoren auf. Dabei unterscheiden sie sich sowohl in ihrer molekularen Struktur als auch im damit verbundenen Outcome deutlich von ihren Vertretern bei jüngeren und älteren Patienten. Bisher wurde jedoch in der entsprechenden Altersgruppe nur bei wenigen Tumorentitäten untersucht, in welcher Weise YAP und TAZ exprimiert werden und welche Auswirkungen dies auf die Diagnostik, Prognose und Therapie der Patienten hat.⁴

Ziele

Ziel des Forschungsprojektes ist es zu identifizieren bei welchen pädiatrischen Hirntumoren eine erhöhte beziehungsweise erniedrigte Expression von YAP und TAZ vorliegt und welche Auswirkungen dies auf die Malignität der Tumore hat. Besonderes Augenmerk liegt dabei auf den pädiatrischen Tumoren, die bei jungen Erwachsenen im Alter von 15 bis 25 Jahren auftreten. Es soll nachfolgend ermittelt werden wie diese Erkenntnisse Diagnostik, Prognose und Therapie der Tumore beeinflussen können.

Quellen

- Lernbecher et al. S1-Leitlinie ZNS-Tumoren im Kindes- und Jugendalter: Leitsymptome und Diagnostik der ZNS Tumoren im Kindes- und Jugendalter. Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (GPOH), Gesellschaft für Neuropädiatrie (GPN) Stand 2016.
- Lake JA et al. Targeted fusion analysis can aid in the classification and treatment of pediatric glioma, ependymoma, and glioneuronal tumors. *Pediatr Blood Cancer* 2020; 67(1).
- Collins KL, Pollack IF. Pediatric Low-Grade Gliomas. *Cancers (Basel)* 2020; 12(5).
- Hafeez U et al. Young adults diagnosed with high grade gliomas: Patterns of care, outcomes, and impact on employment. *J Clin Neurosci* 2019; 68:45–50.

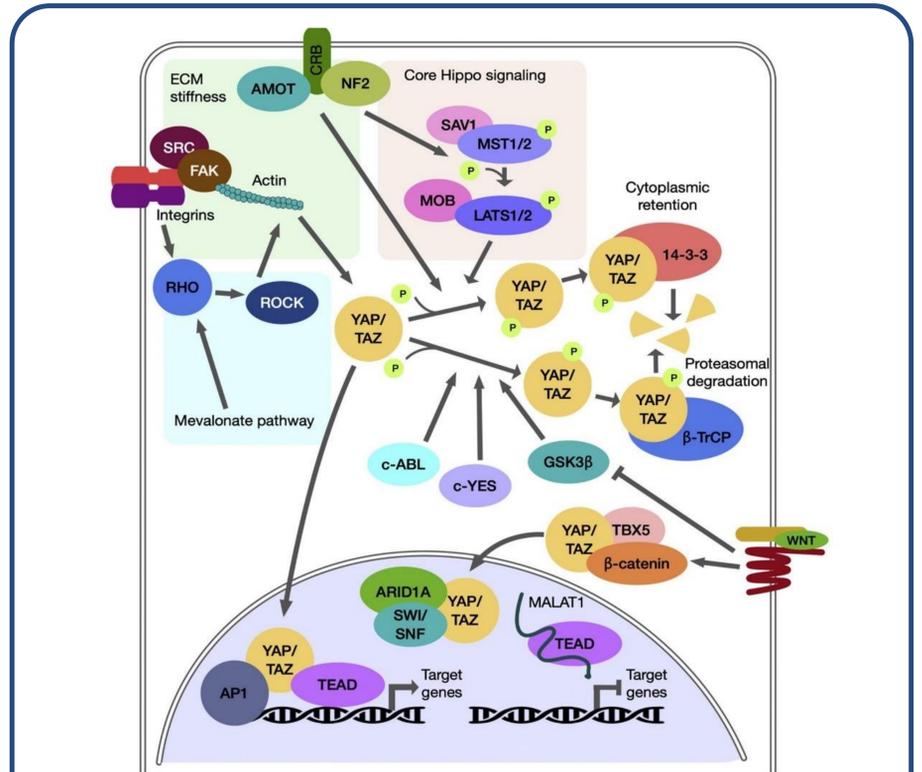


Abb. 1: Zelluläre Signalwege, die an der Regulation von YAP/TAZ beteiligt sind (Reggiani et al⁹)

Methoden

Probengewinnung

Die Gewinnung von Proben für die Untersuchungen erfolgt durch die neurochirurgische Tumordatenbank der Uniklinik Köln. Alle Proben werden nach der chirurgischen Entnahme pathologisch bestätigt.

Expressionsanalysen

Mittels Western Blot werden die verschiedenen Proben hinsichtlich der Proteinexpressionsmuster von YAP/TAZ untersucht. Immunhistochemische Untersuchungen sollen Aufschluss über die Lokalisation von YAP/TAZ bieten. Eine Genexpressionsmusteranalyse erfolgt mittels quantitativer PCR durch Messung der Transkriptionsraten.

In vitro-Untersuchungen

In Zellkulturen wird der Einfluss von YAP/TAZ auf das Proliferations-, Migrations- und Invasionsverhalten der Tumorzellen untersucht. Dafür werden sowohl unbehandelte Zellen untersucht, als auch Zellen, in denen YAP/TAZ hoch- bzw. runterreguliert wurde. Das Verhalten der Zellen wird in Scratch Assays, Boyden Chamber Assays und Cell Titer Blue Assays untersucht. Auf Grundlage der *in vitro*-Ergebnisse erfolgt ein erster Therapieversuch in der Zellkultur.

In vivo-Untersuchungen

Je nach Ergebnislage der *in vitro*-Untersuchungen werden Tumorzellen einzelner Entitäten in immunsupprimierte RNU-Nacktratten implantiert. Während einer Zeitspanne von drei Monaten wird das Wachstum der Tumoren mittels Kleintier-MRT und PET gemessen. Anschließend werden die Tiere durch Perfusion mit 4%igem Paraformaldehyd (PFA) getötet und es folgt eine Entnahme der Gehirne. Die Größe der Gehirne wird gemessen und die Gehirne und Tumore werden immunhistologisch untersucht.

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Versuche erfolgt unter Berücksichtigung der erhobenen klinischen Patientendaten.

- Cobbaut M et al. Dysfunctional Mechanotransduction through the YAP/TAZ/Hippo Pathway as a Feature of Chronic Disease. *Cells* 2020; 9(1).
- Li W et al. The role of transcriptional coactivator TAZ in gliomas. *Oncotarget* 2016; 7(50):82686–99.
- Li P-D et al. Evaluation of TAZ expression and its effect on tumor invasion and metastasis in human glioma. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2014; 7(10):757–60.
- Liu M et al. Phosphorylated mTOR and YAP serve as prognostic markers and therapeutic targets in gliomas. *Lab Invest* 2017; 97(11):1354–63.
- Reggiani et al. Multiple roles and context-specific mechanisms underlying YAP and TAZ-mediated resistance to anti-cancer therapy. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2020; 1873(1):1–11.