

Kerstin Fischer: Die Bedeutung der Zellproliferation und des Redoxstatus für die Regulation der P-Glykoprotein-Expression in multizellulären DU-145-Prostata-Tumor-Sphäroiden. 2001

Der Multi-drug Transporter P-Gp spielt eine bedeutende Rolle bei der Entstehung des MDR Phänotyps. Die Mechanismen die zu einer P-Gp- vermittelten intrinsischen Resistenz führen, sind nur unzureichend geklärt. In Tumor Sphäroiden der Prostata Zelllinie DU-145 konnte eine größenabhängige überexpression von P-Gp beobachtet werden. Diese verstärkte Expression korreliert mit dem Auftreten dormanter Zellareale und dem Absinken der intrazellulären ROI Produktion. Durch den Einsatz der MDR- revertierenden Substanzen Cyclosporin A, Natriumorthovanadat und Chinidin wurde sowohl die endogene Produktion von ROI, als auch die Zellproliferation stimuliert. Gleichzeitig konnte der zelluläre P-Gp Gehalt resistenter MCS signifikant reduziert werden. Die Ko- Applikation von Radikalfängern verhinderte diese Beobachtung vollkommen, was für eine wichtige Rolle von ROI in der Regulation von P-Gp spricht. Die selben Effekte konnten nicht nur mit MDR- revertierenden Substanzen, sondern auch mit den ROI- generierenden Substanzen H_2O_2 , Menadion und Glycerinaldehyd induziert werden. Die Verwendung der Zellzyklus Inhibitoren Mimosin, Mitomycin C, Roscovitin, Serum- freien Medium und Staurosporin an proliferativen MCS verhinderte die Progression des Zellzyklus an definierten Stellen. Auffälligerweise führten Mimosin und Serum- freies Medium beide zu einer Arretierung in der G1- Phase mit gleichzeitigem Anstieg des Cdk Inhibitors $p27^{Kip1}$ und zu einer signifikanten Zunahme des P-Gp. Tyrphostin, ein Inhibitor des EGF-R, bewirkt ebenfalls eine verstärkte Expression von P-Gp. Im Gegensatz dazu, ist mit Hilfe steigenden Konzentrationen von EGF eine immer stärkere Abnahme des Multi- drug Transporters zu beobachten. Eine Regulation der P-Gp Expression kann auch durch den Einsatz von PKA Modulatoren erreicht werden. Sowohl IBMX, als auch Forskolin und 8- Br- cAMP erhöhen den intrazellulären cAMP Spiegel und stimulieren dadurch die PKA. Bei gleichzeitiger Inkubation resistenter MCS mit PKA Stimulatoren und H_2O_2 wird der P- Gp reduzierende Effekt von H_2O_2 alleine aufgehoben. Auf der anderen Seite führt die Verwendung spezifischer PKA Inhibitoren zu einer deutlichen P-Gp Abnahme im Vergleich zu unbehandelten Sphäroiden.

Multicellular DU- 145 prostate tumour spheroids develop intrinsic P- gp- mediated multidrug resistance with the appearance of quiescent cell areas. These tumour spheroids are characterised by a reduced endogenous ROS production compared to drug- sensitive small spheroids consisting predominantly of proliferating cells. The mechanisms leading to the overexpression of the multi- drug transporter are poorly understood. The MDR- reversing agents cyclosporin A, sodiumorthovanadat and quinidine caused an increase in intracellular ROS generation in drug- resistant spheroids as well as a stimulation of cell proliferation. These effects were paralleled by a significant reduction in P- gp expression. Co- administration of MDR- reversing agents and radical scavengers did not alter P- gp levels, indicating that ROS play a major role in P- gp regulation. The same effects could also be achieved using the ROS- generating substances H_2O_2 , menadione or glyceraldehyde. The application of mimosine, mitomycin C, roscovitine, serum- deprived medium and staurosporine blocks the progression of the cell cycle in highly proliferative spheroids at clearly defined sites. Strikingly, mimosine as well as serum- deprived medium induced a cell cycle block at the G1- phase accompanied by an increase of the cdk inhibitor $p27^{Kip1}$ and a significant increase in P- gp levels. Tyrphostin, a selective inhibitor of the EGF- R also leads to an enhanced expression of the multi- drug transporter P- gp. On the other hand, the incubation of drug- resistant spheroids with varying concentrations of EGF caused a significant reduction of P- gp. Furthermore, modulating the activity of PKA can change P- gp expression. Down- regulation of P- gp by H_2O_2 can be abolished when IBMX, forskolin or 8- Br- cAMP, which raise intracellular cAMP levels, are co- administered. In contrast, the use of specific PKA inhibitors leads to a decreased P- gp expression in drug- resistant spheroids, indicating that PKA is involved in P- gp regulation.