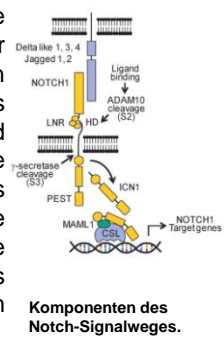


Einleitung und Fragestellung	Methoden
------------------------------	----------

Das Stammzellkonzept der Endometriose postuliert, dass eine Auswanderung endometrialer Stammzellen aus dem Uterus, welche eine hohe Proliferation und Differenzierungsfähigkeit während der Menstruationszyklen ausweisen, die Ausbildung und Persistenz von Endometrioseherden begünstigt. Die erhöhte Expression des Stammzellmarkers Musashi-1 in ektope Endometrioseherden und Endometriumkarzinomgewebe (Götte M. J Pathol 2008) legt eine Rolle des Notch-Msi1-Signalweges bei diesen Erkrankungen nahe. Das RNA-bindende Protein Musashi-1 erfüllt eine regulatorische Funktion in der Notch-Signalkaskade. Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung der Auswirkung einer Hemmung dieses Signalwegs auf die Eigenschaften von Endometriosezellen im Hinblick auf zukünftige therapeutische Ansätze.

In der Endometriose-zelllinie 12Z und in Primärzellkulturen von Endometriosepatientinnen wurde der Msi-Notch-Signalweg mittels siRNA gegen Msi1 und Msi2, sowie mittels gamma-Sekretase-Inhibitoren (GSI), welche die Notch-Aktivierung verhindern, inhibiert. Die Auswirkungen auf das Zellverhalten wurden mittels MTT-Assay, Zellzyklus-analyse und Annexin V-Apoptoseassay untersucht. Auswirkungen der Behandlung auf Notch-assoziierte Signalwege wurden mittels TaqMan low density array (TLDA), qPCR, Durchflusszytometrie und Western-Blotting analysiert.



Komponenten des Notch-Signalweges.

Ergebnisse

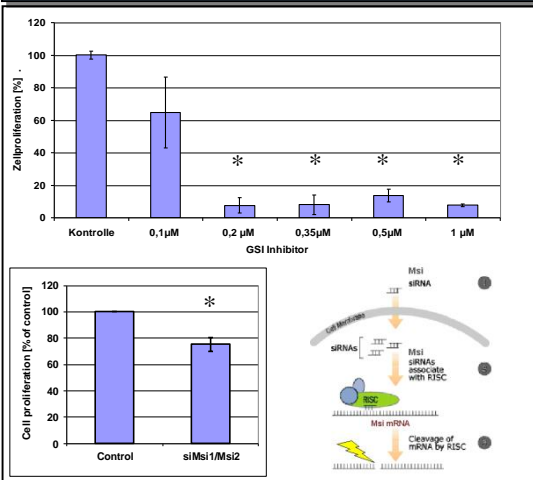


Fig. 1: GSI (oben) und Msi1/Msi2 siRNA knockdown (unten) hemmen die Viabilität von 12Z Endometriosezellen (MTT-assay, *p<0.05)

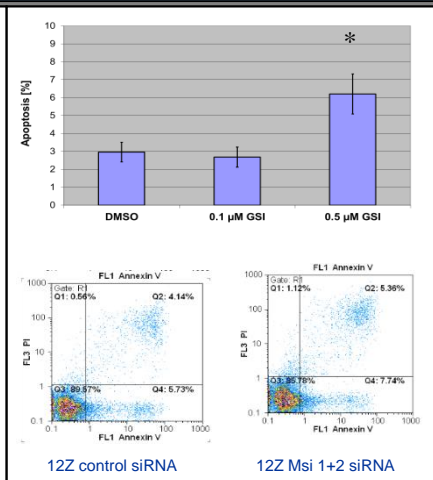


Fig. 2: GSI (oben) und Msi1/Msi2 siRNA knockdown erhöhen die Apoptose von 12Z-Zellen (Annexin V-assay, *p<0.05)

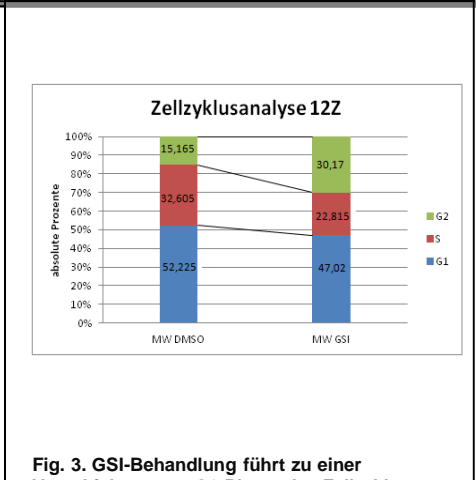


Fig. 3: GSI-Behandlung führt zu einer Verschiebung zur G2-Phase des Zellzyklus von 12Z-Zellen. Durchflusszytometrische Zellzyklusanalyse. Mittelwerte von n=3.

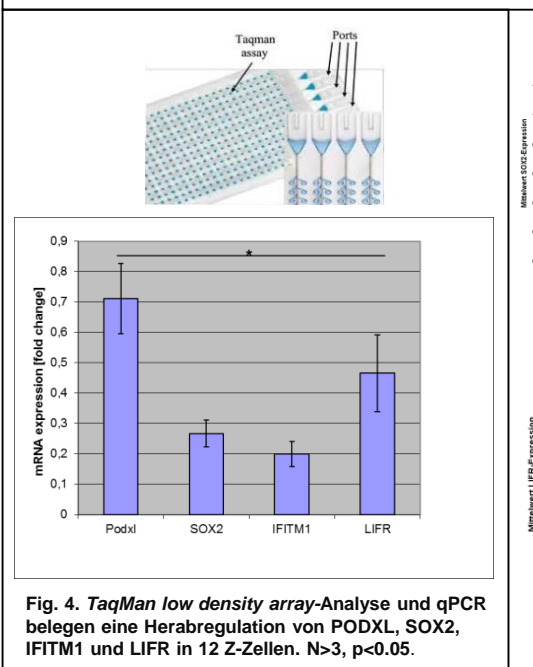


Fig. 4: TaqMan low density array-Analyse und qPCR belegen eine Herabregulation von PODXL, SOX2, IFITM1 und LIFR in 12 Z-Zellen. N>3, p<0.05.

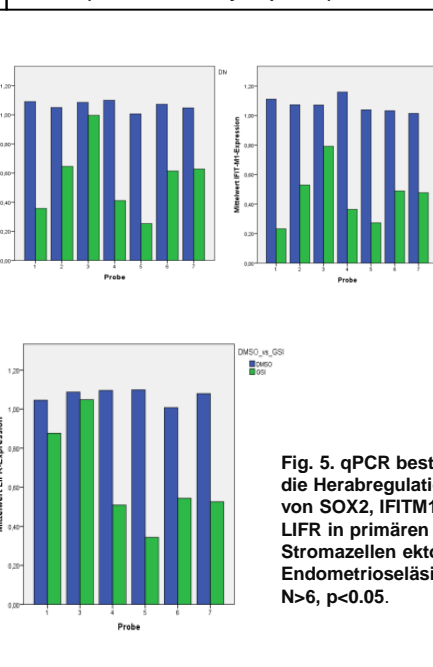


Fig. 5: qPCR bestätigt die Herabregulation von SOX2, IFITM1 und LIFR in primären Stromazellen ektope Endometrioseläsionen. N>6, p<0.05.

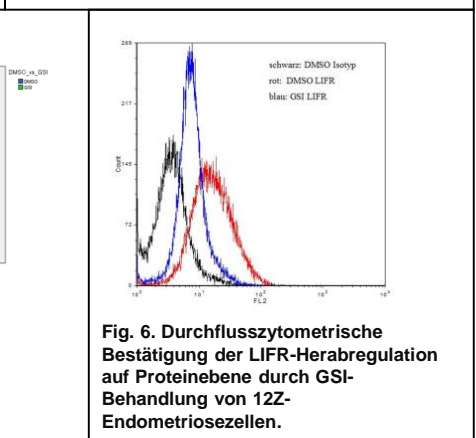


Fig. 6: Durchflusszytometrische Bestätigung der LIFR-Herabregulation auf Proteinebene durch GSI-Behandlung von 12Z-Endometriosezellen.

Schlußfolgerungen

Eine Hemmung des Notch-Msi-Signalwegs führt in Endometriosezellen zu einer Hemmung des Zellwachstums und zu einer vermehrten Apoptose. Die Genexpressionsanalysen weisen auf neue Zusammenhänge zwischen dem Msi-Notch-Signalweg und weiteren Stammzellassoziierten Wegen hin, wobei im Besonderen die Fehlregulation des LIFR die Möglichkeiten zukünftiger therapeutischer Ansätze erweitern könnte.

Förderung

MOMENDO
EU H2020-RISE-2015

Grants for
Targets