

## Chemosensitivierung des Prostatakarzinoms durch gegen Neuropilin 2 gerichtete siRNA-beladene Nanopartikel

Neuropiline (NRPs) sind transmembranöse, multifunktionale Nicht-Tyrosin-Kinase-Rezeptoren. Es liegen zwei Isoformen vor: Neuropilin 1 und Neuropilin 2. Sie dienen als Rezeptoren für verschiedene Wachstumsfaktoren, wie z.B. für die Gruppe der *Vascular Endothelial Growth Factors* (VEGF), und als Ko-Rezeptoren für VEGF-Rezeptoren und Plexine. Sie regulieren u.a. den *Epithelial Growth Factor Receptor* (EGFR). Die Rolle von NRPs wurde in verschiedenen Tumorentitäten untersucht und dabei eine Wirkung auf die Tumorprogression beschrieben. Dabei scheinen NRPs in den meisten untersuchten Tumoren mit einer schlechteren Prognose assoziiert zu sein. Es konnte gezeigt werden, dass NRP2 verstärkt in Prostatakarzinom (PCa)-Geweben exprimiert wird. Zusätzlich konnte NRP2 im PCa als ein wichtiger Faktor bei der Induktion einer Docetaxel-Resistenz und Resistenz gegenüber Sauerstoffradikalen durch Modulation der Autophagie dargestellt werden.

Derzeit gibt es jedoch nur wenige Untersuchungen zu therapeutischen Effekten einer NRP2-Blockade. Präklinisch erfolgten bei verschiedenen Tumorentitäten Versuche, die Funktion von NRPs direkt zu inhibieren. Hierzu zählen die Blockade der NRP-Funktion u.a. mittels *small interfering RNAs* (siRNAs). SiRNAs führen zur Degradierung spezifischer Transkripte und somit zur Verminderung der Expression der entsprechenden Proteine. Voruntersuchungen zeigten, dass die therapeutische Blockade von NRP2 im PCa eine mögliche Therapieoption darstellen könnte. PEI-basierte Nanopartikel erscheinen dabei als eine gute Möglichkeit, siRNAs als spezifische Inhibitoren der Genexpression, in einen Tumor zu transportieren.

In diesem Projekt werden mit gegen NRP2 gerichteten siRNAs (NRP2siRNA) beladene Polymer-Nanopartikel in etablierten PCa-Zellkulturmodellen getestet. In Vorarbeiten zeigte sich eine Wirksamkeit der Blockade von NRP2 mittels konventioneller, liposomaler NRP2siRNA-Transfektion. NRP2siRNAs führten dabei zur Chemosensibilisierung von PCa-Zellen. Das Projekt wird in der Arbeitsgruppe um Herrn PD Muders am Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Dresden durchgeführt. Zunächst soll die Wirksamkeit der neuartigen, NRP2siRNA-beladenen Nanopartikel in verschiedenen PCa-Modellsystemen validiert, optimiert und mit der herkömmlichen Transfektionsmethode verglichen werden. Mit Hilfe von NRP2-spezifischen siRNAs, die in PEI-Nanopartikeln verpackt werden, wird die NRP2-Signalachse *in vitro* gehemmt und der Effekt auf Zellviabilität, Autophagie, Apoptose, Migration und Invasion in verschiedenen Androgen-sensiblen und Androgen-unabhängigen PCa-Zelllinien getestet.

Zudem erfolgen *in vitro*-Untersuchungen zu Effekten von NRP2siRNA-beladenen Nanopartikeln in verschiedenen PCa-Zelllinien mit simultaner EGFR-Blockade. Im PCa hat die Hemmung von EGFR in Phase-2-Studien bisher keinen durchgreifenden Erfolg gezeigt. Deshalb erscheinen sinnvolle Kombinationen von zielgerichteten Therapeutika als mögliche Alternative. Die zugrundeliegende Hypothese geht davon aus, dass die Internalisierung des blockierten EGFR unter NRP2-Hemmung zu einer prolongierten EGFR-Signalreduktion führt. Dies resultiert dann in einer therapeutischen Potenzierung der EGFR-Blockade. In diesem Projekt wird die EGFR-Blockade sowohl mit dem Tyrosinkinaseinhibitor Erlotinib als auch mit dem blockierenden EGFR-Antikörper Cetuximab durchgeführt. Die Effekte der EGFR-Blockade nach Behandlung mit NRP2siRNA-beladenen Nanopartikeln werden zunächst durch Analyse der EGFR-*downstream targets* pAKT und pERK und globaler Zielmoleküle mittels Kinasenaktivitätsprofilung überprüft. Danach werden wiederum Zellkulturuntersuchungen zur Viabilität, Autophagie, Apoptose, Migration und Invasion durchgeführt. Auch hier werden die Versuche an PCa-Zelllinien jeweils mit und ohne Chemotherapie durchgeführt. Perspektivisch sollen die Ergebnisse der Zellkulturexperimente in Primärzellkulturen überprüft werden, welche aus primären PCa- und Metastasengewebe angelegt werden. In einem weiteren Schritt sollen die Ergebnisse in einem orthotopen PCa-Xenograftmodell in immundefizienten Mäusen untersucht werden.