

Rolle von hnRNPK in der DNA Schadensreparatur

Einleitung

Die Strahlenresistenz von Plattenepithelkarzinomen (HNSCC) stellt weiterhin eine große Herausforderung bei der Therapie von Kopf-Halstumoren dar. Das *heterogenous nuclear ribonucleoprotein K* (hnRNPK) konnte als ein durch Bestrahlung reguliertes Protein identifiziert werden, welches an DNA und RNA bindet und mit p53 interagiert. In früheren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass hnRNPK in Plattenepithelkarzinomen überexprimiert wird und durch Bestrahlung induziert wird. Zudem besteht eine Korrelation mit einer schlechteren Prognose beim oralen Plattenepithelkarzinom und Nasopharynxkarzinomen. **Ziel der Untersuchung war es, die hnRNPK Expressionsveränderung durch Bestrahlung zu analysieren und die Rolle von hnRNPK bei der Schadensreparatur zu untersuchen.**

Methoden

- 3 Zelllinien (HNSCCUM-01T, HNSCCUM-02T, A549) mit unterschiedlichem genetischen Background wurden bestrahlt und die hnRNPK Expression wurde bestimmt.
- Die Zelllinien wurden mit 8 und 30 Gy bestrahlt und mittels Western Blot die Expression nach 1 min, 5 min, 10 min, 30 min und 60 min gemessen.
- γ-H2AX Foci Analyse: die Zelllinien wurden mit 2 und 8 Gy bestrahlt und die γ-H2AX Foci wurden zeitabhängig analysiert.
- Die Expression von hnRNPK wurde mittels siRNA in der Zelllinie A549 herabreguliert, um die mögliche Relevanz von hnRNPK für die DNA-Reparatur zu analysieren.

Ergebnisse

Es zeigte sich eine erhöhte hnRNPK Expression 1-5 min sowie 2 h nach Bestrahlung mit 8 Gy (Abb. 1). Die γ-Foci Analyse zeigte eine vermehrte Induktion von Foci bei der höheren Strahlendosis (8Gy) (Abb. 2). Nach knock-down von hnRNPK waren nach einer Stunde signifikant weniger Foci messbar als bei den Lipofectamin (=Kontrollen) behandelten Zellen. Somit konnte exemplarisch an der Zelllinie A549 gezeigt werden, dass die Reduktion des hnRNPK Levels zu einer Reduzierung der bestrahlungsinduzierten Foci führt (Abb. 3).

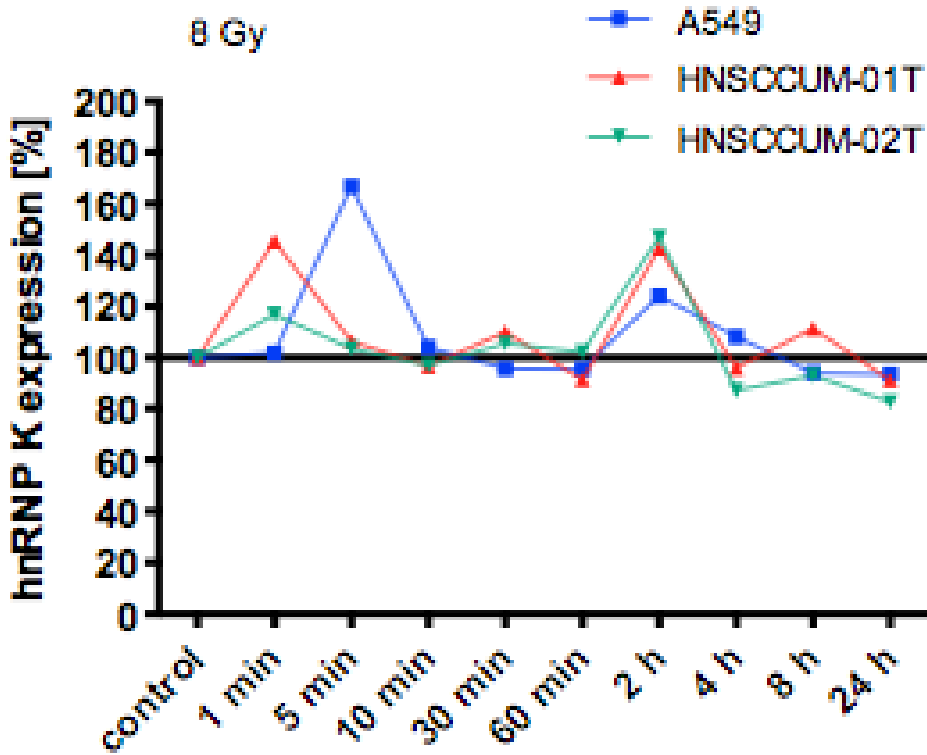


Abb. 1: hnRNPK Expression der 3 Zelllinien nach Bestrahlung mit 8 Gy.

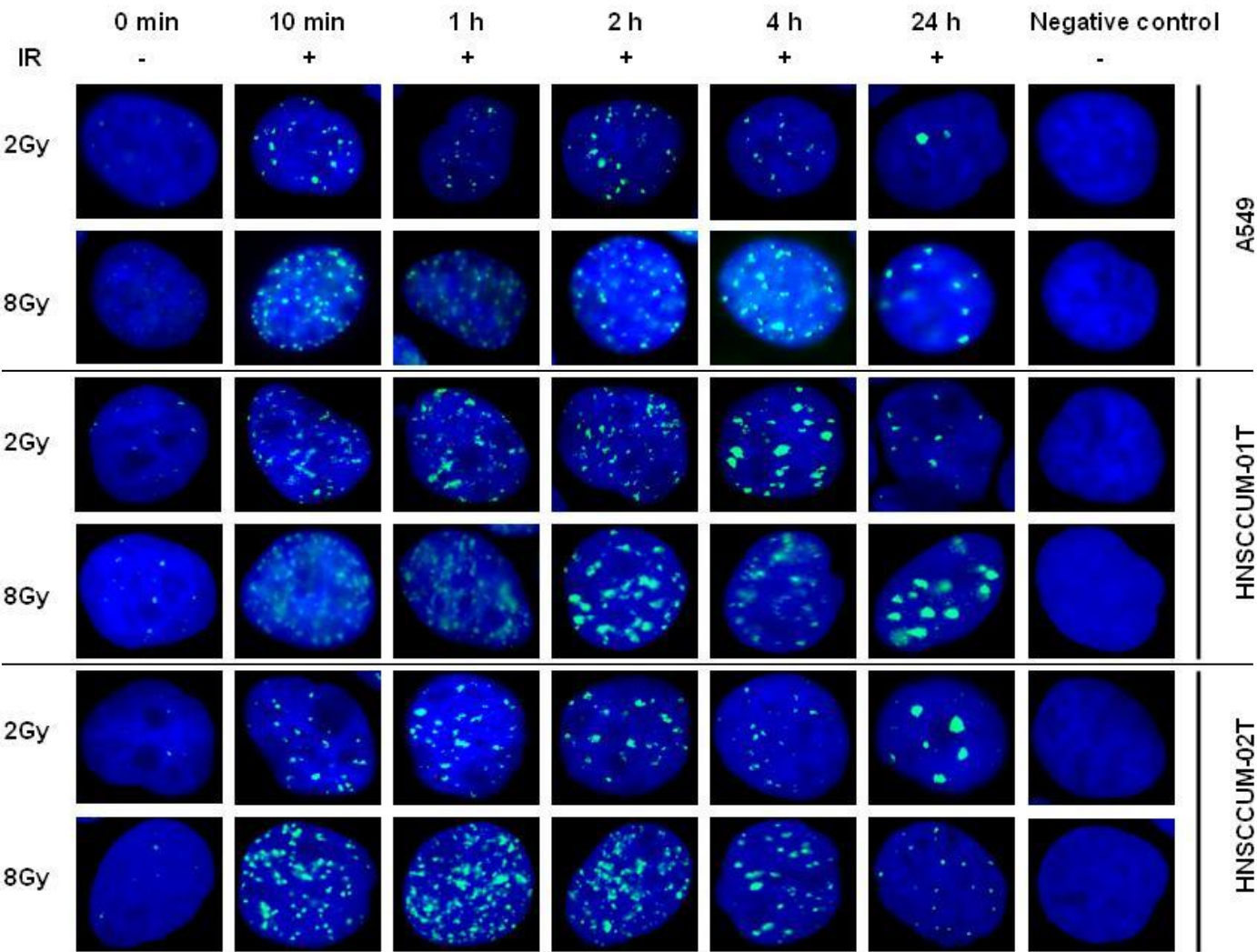


Abb. 2: γ-H2AX Foci nach Bestrahlung mit 2 and 8 Gy. Untersucht wurden 3 Zelllinien. Nach 10 min und 2 h sind maximale Foci zu beobachten.

Schlussfolgerung

hnRNPK liegt bei HNSCC überexprimiert vor. Das Protein kann durch Bestrahlung induziert werden. Des Weiteren konnte eine reduzierte Erkennung von DNA Schäden nach knockdown von hnRNPK gezeigt werden. hnRNPK ist demnach in die DNA Schadensantwort involviert. Da die DNA-Schadensantwort ein Schlüsselmechanismus für den Erfolg der Strahlentherapie ist, könnte hnRNPK künftig eine Rolle als *drug target* spielen. Diese Möglichkeit gilt es nun weiter zu untersuchen.

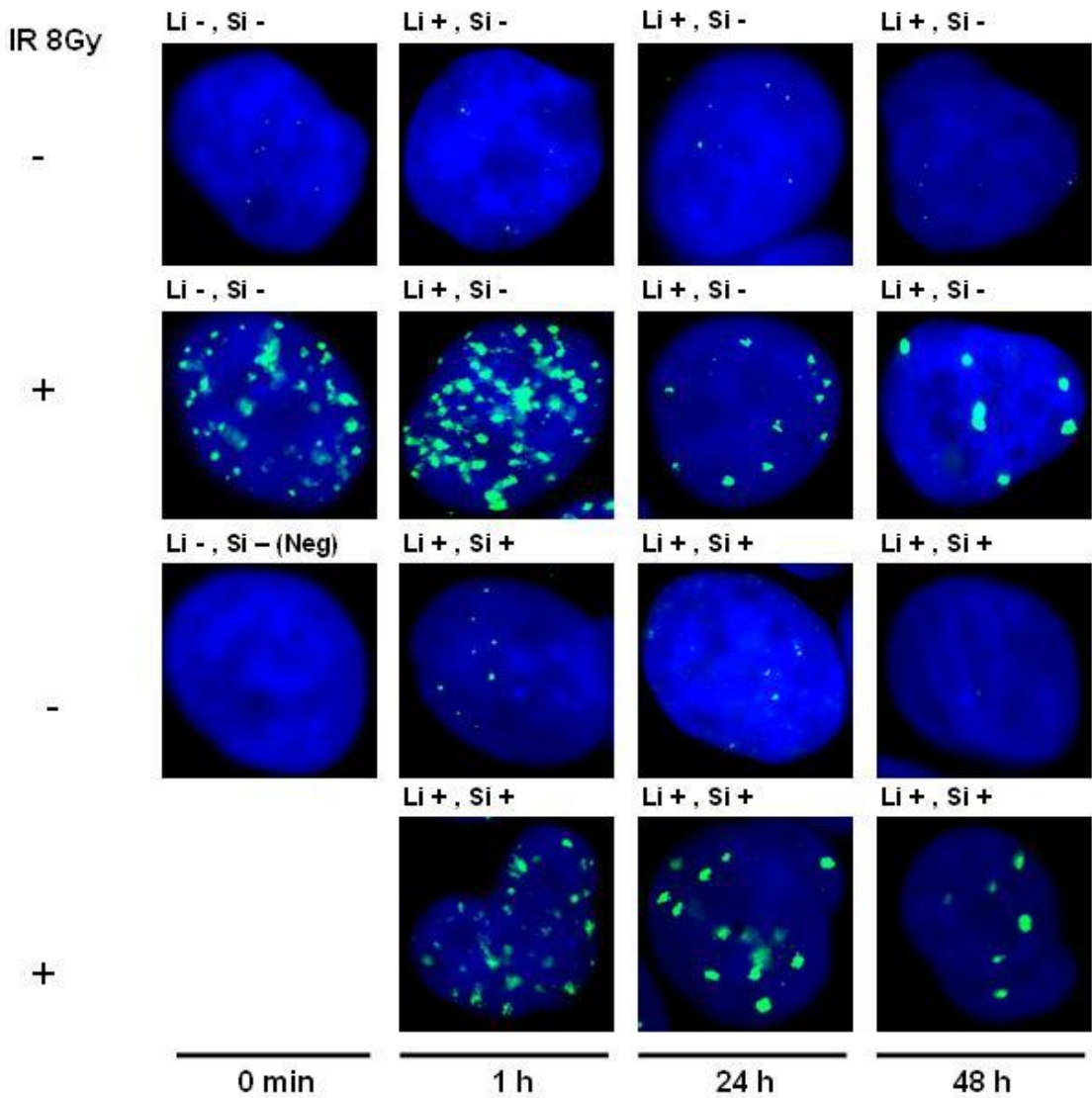


Abb. 3: Charakterisierung der γ-Foci bei A549 Zellen nach hnRNPK knockdown mittels siRNA und Bestrahlung mit 8 Gy. Nach hnRNPK knockdown sind nach 1h signifikant weniger Foci messbar. li=lipofectamine, Si= hnRNPK siRNA, Neg= negativ Kontrolle

Literatur

Matta A, Tripathi SC, DeSouza LV, Grigull J, Kaur J, Chauhan SS, et al. Heterogeneous ribonucleoprotein K is a marker of oral leukoplakia and correlates with poor prognosis of squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*. 2009;125(6):1398-406.  
Strozynski J, Heim J, Bunbanjedsuk S, Wiesmann N, Zografidou L, Becker SK, Meierl AM, Gouveris H, Lüddens H, Grus F, Brieger J. Proteomic identification of the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K as irradiation responsive protein related to migration. *J Proteomics*. 2015 Jan 15;113:154-61.