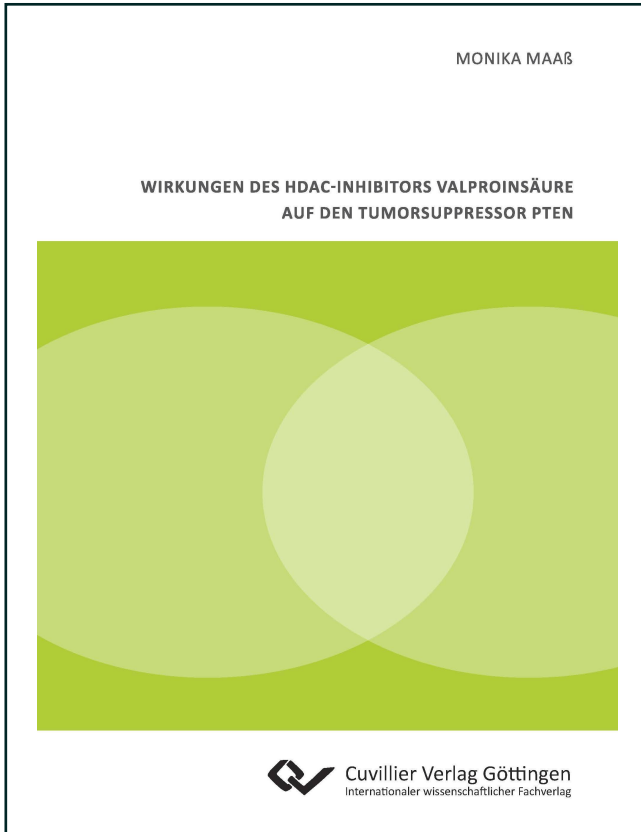




Monika Maaß (Autor)

## Wirkungen des HDAC-Inhibitors Valproinsäure auf den Tumorsuppressor PTEN



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/6466>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,  
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>

## 1. Einleitung

Histondeacetylasen (HDACs), also Enzyme, die den Acetylierungsstatus von Histonen und anderen wichtigen zellulären Proteinen beeinflussen, sind als vielversprechende u.a. anti-tumorigene therapeutische Zielstrukturen identifiziert worden. Erkenntnisse der letzten Jahre belegten, dass einzelne HDACs besonders relevant für die Pathogenese bestimmter Krebsarten sind [1, 2]. In früheren Studien der eigenen Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass HDAC2 im kolorektalen Karzinom vermehrt exprimiert ist. *Hdac2*-defiziente Mäuse sind lebensfähig, weisen jedoch einen Wachstumsdefekt und verringerte intestinale Adenomraten auf [3]. Versuche mit Embryonenfibroblasten aus *Hdac2*-wildtyp (*Hdac2*-WT) und *Hdac2*-defizienten Mäusen zeigten, dass *Hdac2*<sup>-/-</sup>-MEFs (Maus-Embryonenfibroblasten) eine reduzierte Antwort auf Insulin-like growth factor-I (IGF-I)-Stimulation aufwiesen [3]. Biochemische Analysen von Komponenten des IGF-I-Signalweges in *Hdac2*<sup>-/-</sup>-MEFs wiesen dabei erhöhte Proteinspiegel des Tumorsuppressors Pten (Phosphatase and Tensin Homolog Deleted on Chromosome 10) nach (unpublizierte Daten). PTEN ist eine Phosphatase von PIP3 (Phosphatidylinositol-(3,4,5)-triphosphat) [4], somit ein negatives Kontrollelement im IGF-I-Signalweg und die erhöhten Pten-Spiegel demzufolge eine plausible Erklärung für die beobachtete reduzierte Reaktion auf IGF-I Stimulation. In früheren unpublizierten Experimenten der Arbeitsgruppe wurde zudem gezeigt, dass die Induktion von PTEN auch in humanen HT29-Kolonkarzinomzellen durch die Behandlung mit dem HDAC-Inhibitor Valproinsäure (VPA) auslösbar ist. VPA hemmt Klasse I-HDACs und induziert den Abbau von HDAC2 [5]. Wie die VPA-bedingte Induktion von PTEN erfolgt und welche Konsequenzen sie für die Funktion von PTEN hat, ist bislang nicht bekannt. Die in der Einleitung vorgestellten Themen beschreiben, falls nicht anders angegeben, die Sachverhalte beim Menschen.

### 1.1. Histondeacetylasen (HDACs) und HDAC-Inhibitoren

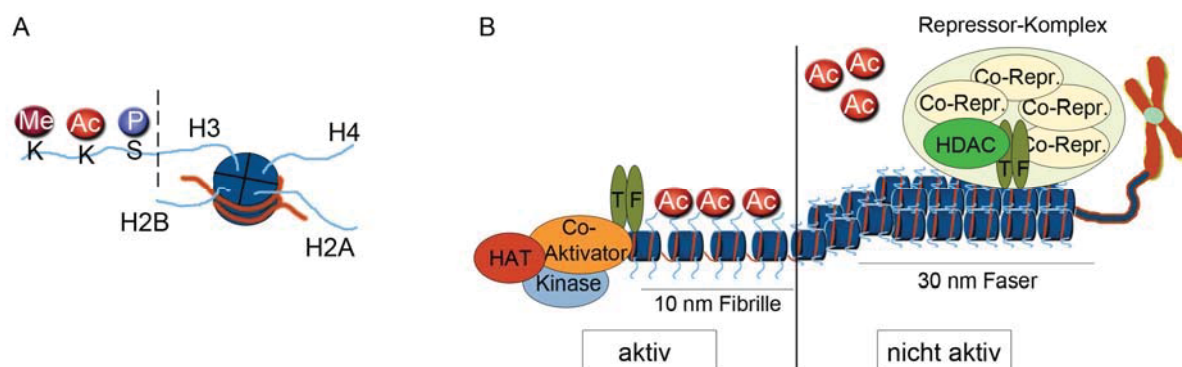
Im Abschnitt 1.1 werden Histondeacetylasen, ihre Wirkungsweise und ihre Bedeutung für diverse physiologische und pathophysiologische Prozesse im Detail vorgestellt. Darüberhinaus, werden HDAC-Inhibitoren als vielversprechende potenzielle Tumorthapeutika näher beleuchtet.

### 1.1.1. Lysin-Acetylierung: Bedeutung für Histon- und Nicht-Histon-Proteine

Histonproteine bilden zusammen mit der DNA die Nukleosomen, die grundlegenden Bausteine eukaryotischen Chromatins [6, 7] (Abbildung 1.1A). Ein Charakteristikum der Histone, vor allem aber ihrer N-terminalen Enden, ist die große Anzahl unterschiedlich modifizierter Aminosäurereste. Bislang sind folgende verschiedene Arten von Modifikationen an Histonen beschrieben worden: Acetylierung, Lysin-Methylierung, Arginin-Methylierung, Phosphorylierung, Ubiquitinierung, Sumoylierung, ADP-Ribosylierung, Deiminierung und Prolin-Isomerisierung [3]. Das zeitliche Auftreten der Modifikationen ist über zelluläre Signale streng reguliert und ihr Muster bildet den sogenannten Histon-Code [8]. Das bedeutet, dass eine posttranslationale Modifikation eines bestimmten Aminosäurerests der Histonen kontextspezifisch wirkt. Das heißt, sie kann je nach Kombination mit anderen Modifikationen in einer definierten genetischen Region oder je nach Lokalisation auf der DNA-Sequenz unterschiedliche funktionelle Konsequenzen haben [9]. So kann beispielsweise die Methylierung an H3K36 zur Aktivierung der Transkription beitragen, wenn sie in der kodierenden Region eines bestimmten Gens auftritt und zur Repression der Transkription führen, wenn sie in der Promotorregion zu finden ist [3]. Das Anhängen und erneute Lösen dieser Modifikationen ist für die Regulation komplexer Prozesse wie der Transkription, Replikation, Rekombination und DNA-Reparatur von Bedeutung. Die Acetylierung von Histonen ist die Modifikation mit der ausgeprägtesten Fähigkeit Chromatin zu entwinden, da sie die positiven Ladungen der Lysinreste in Histonen neutralisiert und dadurch deren Affinität zur negativ geladenen DNA herabsetzt [8]. Die Acetylgruppen werden von Histonacetyltransferasen (HATs) an die  $\epsilon$ -Aminogruppen von Lysinen angehängt. Die lokale Induktion der Acetylierung ist meist mit einer Anschaltung der Genexpression assoziiert. Im Gegensatz zu den HATs führen HDACs zu einer Deacetylierung der Lysinreste, so dass sie vor allem mit einer transkriptionellen Repression der Genexpression in Verbindung gebracht werden (Abbildung 1.1B).

Neben der Unterbrechung der Kontakte zwischen Histonen und DNA können Histon-Modifikationen auch die Trennung der Kontakte zwischen einzelnen Nukleosomen und die Bindung oder Fernhaltung von Nicht-Histon-Proteinen bewirken, die das Chromatin enzymatisch weiter modifizieren und zur Anlagerung zusätzlicher Proteine führen können. Welche chromatinmodifizierenden Enzyme angelagert werden, hängt von Transkriptionsfaktoren ab, die als Antwort auf ein zelluläres Signal an die Promotoren der entsprechenden Gene binden. Als Folge der Bindung wird eine Kaskade von Modifikationsereignissen angeschaltet, die entweder zur Repression oder zur Expression des

entsprechenden Gens führen. Soll das entsprechende Gen abgeschaltet werden, führen die Transkriptionsfaktoren zur Rekrutierung verschiedener Proteine, die zusammen mit HDACs einen Repressor-Komplex bilden [10, 11]. Im Falle einer Aktivierung werden verschiedene HATs zusammen mit weiteren Co-Aktivatoren rekrutiert (Abbildung 1.1B) [6, 8, 12].

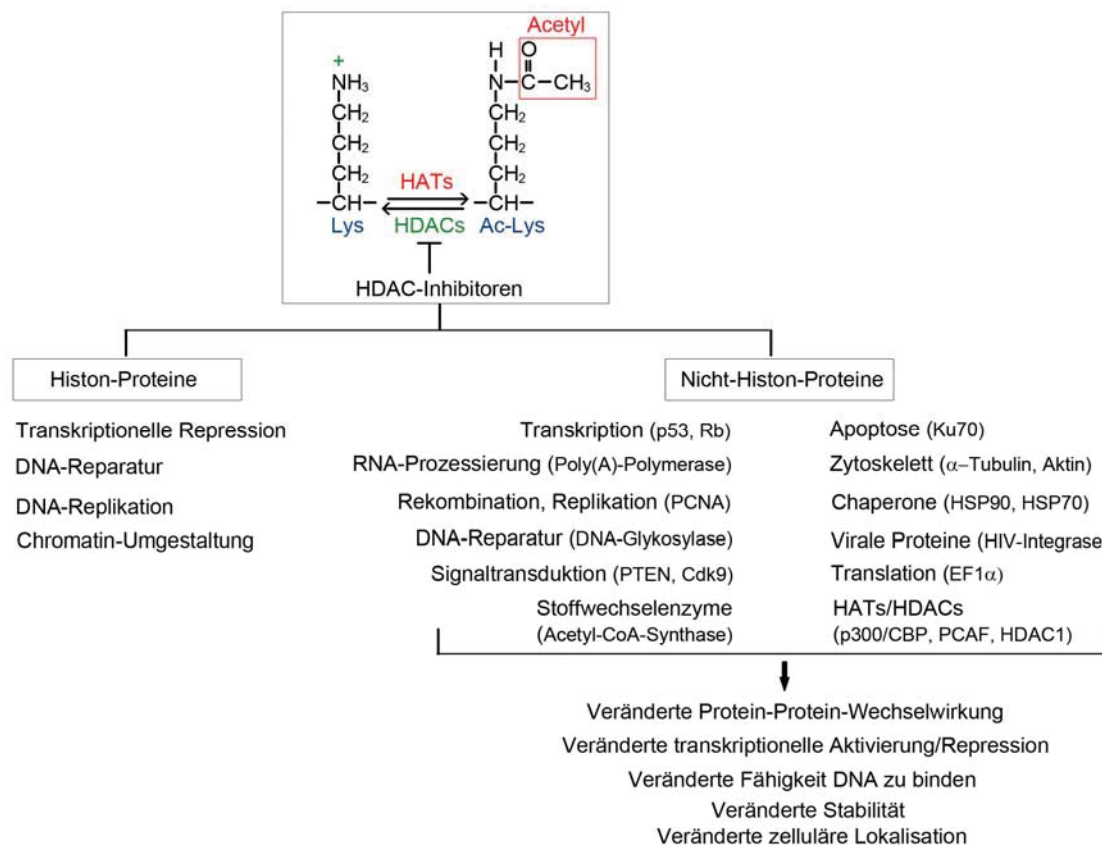


**Abbildung 1. 1: Lysin-Acetylierung von Histon-Proteinen**

**A:** Ein Nucleosomen-Kern-Partikel besteht aus einem Histonoktamer (blauer Zylinder, bestehend aus jeweils zwei Histon-Proteinen H2A, H2B, H3 und H4), um das die DNA (braune Linie) knapp zweimal gewunden ist. Zur Regulation der Genexpression werden Histonenden modifiziert (z.B. methyliert (Me), acetyliert (Ac) oder phosphoryliert (P)). **B:** Nucleosomen, die wie Perlen einer Kette angeordnet sind (10-nm-Fibrille), können zusätzlich durch weitere Verdrillung eine kondensiertere Chromatinstruktur höherer Ordnung (30-nm-Faser) ausbilden. Gezeigt ist exemplarisch auch die Aktivierung (links) bzw. Repression (rechts) der Transkription eines bestimmten Gens. Abkürzungen: Co-Repressorproteine (Co-Repr.), Histonacetyltransferase (HAT), Histondeacetylase (HDAC), Transkriptionsfaktor (TF). Die Abbildung fasst Informationen aus folgenden Literaturstellen zusammen: [6, 8, 11, 13, 14].

Trotz jahrzehntelanger Forschungsarbeit konnte das komplexe räumliche und zeitliche Zusammenspiel zwischen HATs und HDACs und damit auch die Rolle der Histonacetylierung bei der Regulation nukleärer Ereignisse bisher nur teilweise aufgeklärt werden.

Ursprünglich wurden HATs und HDACs nur mit der Acetylierung und Deacetylierung von Histonen und dementsprechend mit einer Regulation der Genexpression in Verbindung gebracht [15, 16]. Spätere Studien zeigten jedoch, dass die Protein-Lysin-Acetylierung auch in die Regulation einer Vielzahl von Nicht-Histon-Proteinen involviert ist [13, 17, 18]. Choudhary et al. [19] identifizierten in einer massenspektrometrischen Proteomanalyse mehr als 3600 Acetylierungsstellen an 1750 Proteinen, die an praktisch allen zellulären Prozessen beteiligt sind, einschließlich Transkription, Translation, DNA-Reparatur, Stoffwechsel, Signaltransduktion und Regulation der Zellstruktur (Abbildung 1.2). Die Anzahl neu identifizierter acetylierter Nicht-Histon-Proteine steigt schnell an, aber das Wissen bezüglich der Bedeutung der Acetylierung bzw. Deacetylierung und des komplexen Zusammenspiels der Acetylierung mit anderen posttranslationalen Modifikationen für die einzelnen Proteine ist derzeit noch sehr begrenzt.



**Abbildung 1. 2: Lysin-Acetylierung von Nicht-Histon-Proteinen**

Schema der reversiblen Lysinacetylierung mit zellulären Konsequenzen. Die Lysinacetylierung spielt nicht nur bei der transkriptionellen Genregulation, sondern auch bei vielen anderen zellulären Prozessen eine Rolle und beeinflusst die Funktion, Stabilität und Lokalisation der entsprechenden Substrate. Die Abbildung fasst Informationen aus folgenden Literaturstellen zusammen: [6, 8, 11, 13, 14].

Aufgrund der neueren Erkenntnisse über die Substratspezifität von HATs und HDACs werden diese Enzyme mittlerweile auch als Lysinacetyltransferasen (KATs) und Lysinacetylidasen (KDACs) bezeichnet [20]. In dieser Arbeit werden jedoch die ursprünglichen Bezeichnungen verwendet.

### 1.1.2. Histondeacetylidasen

Basierend auf ihren Sequenzhomologien zu HDACs der Hefe und ihren Abhängigkeiten von Co-Faktoren werden humane HDACs in vier Klassen und zwei Familien unterteilt. Die HDACs der Klasse I, II und IV gehören der ersten Familie an und sind Zink-abhängige Amidohydrolasen. Die zweite Familie besteht aus den HDACs der Klasse III, den Sirtuinen. Sirtuine sind mit den HDACs der ersten Familie strukturell nicht verwandt und benötigen für die Deacetylierungsreaktion  $NAD^+$  (Abbildung 1.3) [21-24].

Kl.	AS	Isoformen	Struktur	Lokalisation	Phänotyp K.O.-Mäuse	Tumor/Krebsart
I	482	HDAC1		Nuk.	homozygote Deletion: embryonal lethal; Proliferationsdefekte, Entwicklungsverzögerungen	Kolon, Lunge, Brust, Prostata, Magen, Haut, Ösophagus, Ovar, Medulloblastom, CTCL
	488	HDAC2		Nuk.	homozygote Deletion: hohe embryonale Lethalität; Malformationen/Hypertrophie des Herzen, Entwicklungsverzögerung des Cerebellums, verringerte Körpergröße/Gewicht, verstärkte synaptische Aktivität, verbessertes Gedächtnis und Lernverhalten	Kolon, Magen, Prostata, Endometrium, CTCL, Haut, Ovar, ZNS
	428	HDAC3		Nuk./Zyt.	Gastrulationsdefekte, Defekte des Herzen, Defekte des Leberstoffwechsels, Defekte der Knochenbildung, verbessertes Langzeitgedächtnis	Lunge, Prostata, Kolon, Ovar
	377	HDAC8		Nuk.	Gesichtsschädeldefekte	Kolon
IIa	1084	HDAC4		Nuk./Zyt.	ektopische und frühzeitige Verknöcherung von Knorpelzellen	Prostata, Kolon, Brust, Ovar, Haut
	1122	HDAC5		Nuk./Zyt.	verstärkte Hypertrophie des Herzen nach Stressexposition	Kolon, AML, Ovar, ZNS
	912	HDAC7		Nuk./Zyt.	Dysfunktionen des Endothels	Kolon, Lunge, Kolon, Ovar, Brust
	1069	HDAC9		Nuk./Zyt.	verstärkte Hypertrophie des Herzen nach Stressexposition	Medulloblastom, Astrozytom, Kolon, Lunge
IIb	1215	HDAC6		Nuk./Zyt.	verstärkte Tubulin-Acetylierung	Brust, AML, CTCL, Haut, Ovar, Kolon
	669	HDAC10		Nuk./Zyt.	bislang Keine K.O.-Mäuse und keine Mutationen bek.; hohe Expression in: fötalem Gehirn, adultem Thymus und Cerebellum, einer Rhabdomyosarkom-Zelllinie	Hepatozelluläres Karzinom
IV	347	HDAC11		Nuk.	bislang Keine K.O.-Mäuse und keine Mutationen bek.; hohe Expression: im Gehirn, im Skelettmuskel, in der Niere	Ovar, Brust, Kolon
III	310 - 400	SIRT1, SIRT6, SIRT7 SIRT3, SIRT4, SIRT5 SIRT2		Nuk. Mit. Zyt.	gestörte kognitive Fähigkeiten, Defekte der synaptischen Plastizität, verringerte Spermatogenese	Leukämie, Haut, Prostata, Kolon, Glioblastom

■ Katalyt. Dom. Klasse I      ■ Katalyt. Dom. Klasse IIb (inaktiv)      P Phosphorylierungsstellen  
■ Katalyt. Dom. Klasse IIa      ■ Katalyt. Dom. Klasse IV  
■ Katalyt. Dom. Klasse IIb (aktiv)      ■ Zink-Finger

**Abbildung 1. 3: Klassifizierung der humanen Histondeacetylasen**

Die Abbildung zeigt die jeweilige Aminosäurezahl (AS), die Proteindomänen, die subzelluläre Verteilung, die Phänotypen von HDAC-Knock-Out-Mäusen und Krebserkrankungen, für die eine fehlerhafte HDAC-Expression und/oder -Aktivität nachgewiesen wurde(n). Abkürzungen: Klasse (Kl.), Nukleus (Nuk.), Zytoplasma (Zyt.), Mitochondrien (Mit.), knock-out (K.O.), Cutaneous T-Cell Lymphoma (CTCL), Akute Myeloische Leukämie (AML), Zentrales Nervensystem (ZNS). Die Abbildung fasst Informationen aus folgenden Literaturstellen und Datenbanken zusammen: [11, 21, 22, 24, 25, 27, 50, 51].

Die Klasse I besteht aus HDAC1, 2, 3 und 8 und ist homolog zum Enzym „Reduced Potassium Dependency 3“ (RPD 3) der Hefe [25, 26]. Diese HDACs werden ubiquitär exprimiert, sind hauptsächlich nukleär lokalisiert und weisen eine hohe enzymatische Aktivität gegenüber Histonproteinen auf. Sie besitzen relativ einfache Strukturen, bestehend aus der konservierten Deacetylasedomäne mit kurzen amino- und carboxyterminalen Fortsätzen [27]. Die Deletion einzelner Enzyme dieser Klasse führt zu einer limitierten Anzahl unterschiedlicher Phänotypen, woraus geschlossen werden kann, dass die einzelnen Isoenzyme nicht nur redundante, sondern auch spezifische Funktionen ausüben, die nicht von anderen Isoenzymen kompensiert werden können [28-30]. Studien an Zellkulturen und Tiermodellen offenbarten, dass diese HDACs eine wichtige Rolle in verschiedenen Entwicklungsprozessen spielen und auch in die Tumorigenese involviert sind (Abbildung 1.3) [3, 11, 22, 31, 32]. Die Rolle einzelner HDACs für die Entstehung und Progression verschiedener Krebserkrankungen wird in Abschnitt 1.1.3. diskutiert.

Die HDACs der Klasse II weisen eine Homologie zum Hefe-Protein „Histondeacetylase 1“ (hda1) auf und werden auf der Basis ihrer Sequenzhomologien und ihrer Domänenorganisation in zwei Unterklassen unterteilt. HDAC4, 5, 7 und 9 gehören zur Klasse IIa, während HDAC6 und 10 zur Klasse IIb gezählt werden [24, 33, 34]. Die Mitglieder beider Klassen sind sowohl im Nukleus als auch im Zytoplasma lokalisiert [35-38]. Die HDACs der Klasse IIa besitzen lange N-terminale Fortsätze mit konservierten Bindungsstellen für den Transkriptionsfaktor „Myocyte Enhancer Factor 2“ (MEF2) und für 14-3-3-Proteine. Die Bindung an 14-3-3-Proteine hat einen nukleären Export der HDACs zur Folge und stellt einen Mechanismus für die Regulation der transkriptionellen Aktivität dieser HDACs dar [27, 36, 39]. Die HDACs der Klasse II werden gewebsspezifisch exprimiert. HDAC5 und HDAC9 kommen vor allem in Muskeln, im Herzen und im Gehirn vor [27, 40], HDAC4 ist im Gehirn und in den Wachstumsplatten des Skeletts hoch exprimiert [41] und HDAC7 in Endothelzellen und Thymozyten [42]. Anhand von aufgereinigten, rekombinanten Klasse-IIa-HDACs wurde gezeigt, dass die HDACs dieser Familie nur eine minimale katalytische Aktivität besitzen. Der genaue Mechanismus, über den sie die Transkription regulieren, ist noch nicht vollständig geklärt, es gibt jedoch erste Hinweise, dass sie zum einen Klasse-I-HDACs rekrutieren und zum anderen mit verschiedenen transkriptionellen Repressoren wechselwirken können [43, 44].

Gemeinsames Strukturmerkmal der Klasse-IIb-HDACs ist der Besitz zweier Deacetylasedomänen. Während bekannt ist, dass HDAC6 die Hauptdeacetylase im Zytoplasma von Säugetierzellen ist [45], sind bezüglich HDAC10 nur sehr begrenzte

Kenntnisse vorhanden [27]. Unter den Substraten von HDAC6 befinden sich Proteine des Zytoskeletts, wie  $\alpha$ -Tubulin und Cortactin, verschiedene Plasmamembranproteine und Chaperone [46-49]. *In-vivo*- und *In-vitro*-Studien zeigten, dass HDACs der Klasse II in verschiedenen Entwicklungsprozessen wichtig sind. Darüber hinaus spielt HDAC6, über den Einfluss auf den Mikrotubuli-abhängigen Transport von ubiquitinierten, fehlgefalteten Proteinen und auf deren proteasomalen Degradation, eine Rolle bei der Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen wie der Parkinson- und der Huntington-Krankheit ([52, 53]; Abbildung 1.3).

Das einzige Mitglied der Klasse IV ist HDAC11 [25]. Über die Funktion von HDAC11, die vor allem im Gehirn, im Herzen, in Muskeln, in den Nieren und in den Hoden exprimiert wird, ist nur sehr wenig bekannt [54, 55]. Derzeit wird angenommen, dass HDAC11 in der Histondeacetylierung des zentralen Nervensystems und bei der Reifung von Oligodendrozyten und Neuronen während der postnatalen Entwicklung des Gehirns von Bedeutung ist [54]. Auch wurde nachgewiesen, dass HDAC11 in den frühen Phasen von ischämischen Schlaganfällen verstärkt exprimiert wird und daher möglicherweise in der Pathogenese dieser Erkrankung beteiligt ist [56]. Über die negative Regulation von „Interleukin-10“ (IL-10) in „Antigen präsentierenden Zellen“ (APZs) wurde nicht zuletzt auch eine Implikation von HDAC11 in die Regulation des Gleichgewichtes zwischen Immunaktivierung und Immuntoleranz angenommen [57].

Die HDACs der Klasse III sind Homologe des „Silencing Protein“ (Sir2) von *Saccharomyces cerevisiae*. Diese Klasse besteht aus den sieben NAD-abhängigen Enzymen SIRT1-7. Die zentrale Rolle von NAD<sup>+</sup> als Coenzym in Stoffwechselwegen verbindet die Aktivität der Sirtuine mit dem Zellstoffwechsel. Sirtuine sind aber auch in Prozesse wie Gen-Silencing, Altern und Zellzyklus-Regulation involviert (Abbildung 1.3) [58, 59]. SIRT1, 6 und 7 sind im Nukleus lokalisiert, während SIRT3, 4 und 5 in den Mitochondrien nachgewiesen wurden. SIRT2 befindet sich im Zytoplasma [60].

Bei fehlerhafter Funktion spielen HDACs eine entscheidende Rolle bei der Entstehung und Progression vieler Krankheiten wie Krebs (siehe Abschnitt 1.1.3.), verschiedener Erkrankungen des ZNS (neurodegenerative Erkrankungen wie Parkinson-Krankheit, Alzheimer-Krankheit, Huntington-Krankheit, psychiatrische Störungen, verschiedene Erkrankungen, die eine mentale Retardation zur Folge haben etc.), Diabetes, Autoimmunität und Entzündungserkrankungen [61-65].

Obwohl mit Hilfe von Knock-Out-Mäusen bereits einige HDAC-Isoenzym-spezifische Phänotypen identifiziert werden konnten, sind die genauen physiologischen Funktionen der



einzelnen HDACs nur sehr vage und bruchstückhaft bekannt. Zur Aufklärung ihrer Rolle bei der Entstehung verschiedener Erkrankungen und für die gezieltere Entwicklung geeigneter Therapeutika bedarf es noch intensiver Forschungsarbeit. Im Folgenden wird genauer auf die Bedeutung von HDACs und HDAC-Inhibitoren für die Entstehung bzw. Behandlung von Krebserkrankungen eingegangen.

### 1.1.3. HDACs und Krebs

Bei vielen Krebsarten liegt eine fehlerhafte Expression von Tumorsuppressoren oder Onkogenen vor, die verschiedene Ursachen haben kann und häufig durch eine fehlerhafte Aktivität von HDACs mit verursacht wird. Eine fehlerhafte Genexpression kann entweder auf die Überexpression von HDACs oder der von repressiven Transkriptionsfaktoren beruhen. So wurde bereits in vielen soliden Tumoren, wie denen der Prostata, des Magens, der Brust, des Gehirns und des Dickdarms [1, 3, 66-68], aber auch in hämatologischen Malignomen (z.B. bei akuter myelozytischer Leukämie, im diffus großzelligen B-Zell-Lymphom, im kutanen T-Zelllymphom) die Überexpression von HDAC1, HDAC2, HDAC3 oder HDAC6 nachgewiesen [69, 70].

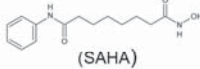
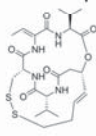
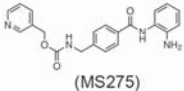
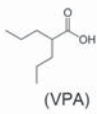
Im Zusammenhang mit HDACs kann eine fehlerhafte Genexpression desweiteren aber auch das Resultat der Bindung von HDACs an onkogene DNA-bindende Fusionsproteine sein, die als Folge von Chromosomentranslokationen entstehen und zu einer fehlerhaften Rekrutierung von HDACs führen. Ein Beispiel für ein derartiges onkogenes Fusionsprotein ist das bei der akuten Promyelozytenleukämie entstehende „Retinsäurerezeptor- $\alpha$ -PML“ (RAR $\alpha$ -PML)-Fusionsprotein. Dieses bindet auch in Anwesenheit des RAR $\alpha$ -Liganden Retinsäure an die DNA und führt über die Rekrutierung von HDACs zur transkriptionellen Unterdrückung von RAR $\alpha$ -Zielgenen und damit zur Hemmung der Zelldifferenzierung [23]. Eine fehlerhafte Rekrutierung von HDACs kann darüber hinaus auch infolge der Deletion („loss of heterozygosity“) von Tumorsuppressoren zustande kommen, die mit HDACs Co-Repressorkomplexe ausbilden [71, 72]. So wurde beispielsweise nachgewiesen, dass der Verlust des HDAC-Co-Repressors SIN3A mit der Entstehung des „Nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms“ NSCLC korreliert wird [71].

Ein weiteres mögliches Szenario, das HDACs in die Onkogenese involviert, ist ihre verminderte Bindung an Promotoren von Protoonkogenen aufgrund der Herunterregulation des jeweiligen HDAC-bindenden Tumorsuppressors [73]. Die Bedeutung von HDACs für Krebserkrankungen wird auch durch die Identifizierung vieler Nicht-Histon-HDAC-Substrate (wie p21, p53, E2F, Rb, Bcl6 usw.) unterstrichen, die in die Initiation und Progression von

Krebs involviert sind [22]. So wurde in vielen Studien nachgewiesen, dass eine HDAC-bedingte Tumor**initiation** (Onkogenese) über die transkriptionelle Repression folgender Proteine zustande kommen kann: Zellzyklusinhibitoren (p21, p53, TGF- $\beta$ R etc.), Proteine, die für die Zelldifferenzierung (GATA4, GATA6, Muc2 etc.) und solche, die für die Auslösung von Apoptose (Bax, etc.) von Bedeutung sind. Zusätzlich zur Regulation von Genen, die an der Krebsauslösung beteiligt sind, spielt die Acetylierung und die Deacetylierung von Histonen auch für die transkriptionelle Kontrolle von Genen eine Rolle, die in die Tumor**progression** involviert sind. So ist die Expression von Genen wie *HIF-1 $\alpha$*  oder *VEGF*, die Angiogenese induzieren, erhöht, wohingegen die Expression von anti-angiogenetischen Genen wie *p53* oder *VHL* erniedrigt ist. Gene wie *E-Cadherin*, die Zellinvasion verhindern oder wie *ICAM1*, welche die Zelladhäsion herabsetzen, liegen in Tumoren häufig herunterreguliert vor. Dafür ist die Expression von zellmigrationsfördernden Genen wie *CXCR4* erhöht [23, 25, 32]. Aus diesem Grund sind HDACs ein bedeutender therapeutischer Angriffspunkt für die Behandlung von Krebserkrankungen geworden [21, 24].

#### 1.1.4. HDAC-Inhibitoren

Fortschritte im Verständnis der Entstehung und Progression von Krebs und die Entdeckung, dass diese häufig mit einer Dysregulation von HDACs assoziiert sind, führte zur Identifizierung und Entwicklung einer Vielzahl von HDAC-Inhibitoren, die entweder aus natürlichen Quellen stammen oder neu synthetisiert wurden. HDAC-Inhibitoren können nach ihrer Struktur in verschiedene Klassen unterteilt werden (Abbildung 1.4): die Hydroxamate, die zyklischen Peptide, die aliphatischen Säuren und die Benzamide [14, 21, 24, 74].

Klasse (Beispiel)	Inhibitor	Wirkbereich (IC <sub>50</sub> )	HDAC- Spezifität	klinische Phase	Indikation
Hydroxamate   (SAHA)	SAHA (Vorinostat)	µM	Klasse I, II	zugelassen	CTLC
	TSA	nM	Klasse I, II	n.v.	n.v.
	SK-7041	nM	HDAC1 u. 2	n.v.	n.v.
	Tubacin	µM	Klasse IIb	n.v.	n.v.
	Givinostat	nM	Klasse I u. II	Phase II	Entzündung, Onkologie
	SB939	nM	Pan-HDAC-Inh.	Phase II	Myelofibrose
	EX527	nM	SIRT1	Phase II	Huntington Krankheit
	Panobinostat (LBH589)	nM	Klasse I u. II	Phase I - III	Onkologie, Myelofibrose
	Belinostat (PXD101)	µM	Klasse I u. II	Phase I - II	Onkologie
Dacinostat (LAQ824)	nM	Klasse I u. II	Phase I	Onkologie	
Zyklische Peptide   (Romidepsin)	Depsipeptid (Romidepsin)	nM	Klasse I	zugelassen	CTLC
	Trapoxin A	nM	Klasse I u. IIa	n.v.	n.v.
	Apicidin	nM	HDAC1 u. 3	n.v.	n.v.
Benzamide   (MS275)	MS-275	µM	HDAC1, 2, 3, 8	Phase I u. II	Onkologie
	CI-994 (tacedinaline)	µM	n.v.	Phase II u. III	Onkologie
Aliphatische Säuren   (VPA)	Butyrat	mM	Klasse I u. IIa	Phase I - IV	Onkologie, Entzündung, Diabetes, Subarachnoidalblutung, Bluthochdruck
	VPA	mM	Klasse I	Phase I - IV	Onkologie, Migräne, HIV, Muskelatrophie, Schizophrenie, Epilepsie, Autismus, Bipolare Störung, Drogenabhängigkeit, Insulinresistenz
Sonstige	EVP-0334	µM	Klasse I	Phase I - III	Alzheimer-Krankheit
	RG2833	µM	Klasse I	n.v.	Friedreich-Ataxie

**Abbildung 1. 4: Molekulare Charakteristika und klinischer Status ausgewählter HDAC-Inhibitoren:**

Die Abbildung zeigt beispielhaft einige Mitglieder aus jeder HDAC-Inhibitor-Untergruppe und, falls vorhanden, ihren derzeitigen klinischen Status. Eine vollständige Liste aller 356 momentan laufenden klinischen Studien mit HDAC-Inhibitoren als Mono- oder Kombinationstherapie ist auf der Seite <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?term=hdac+inhibitors> zu finden. In der Spalte „IC<sub>50</sub>-Wirkbereich“ ist die Größenordnung der Konzentration angegeben, bei der 50 % Inhibition, durch die jeweiligen HDAC-Inhibitoren, erzielt werden konnte. Abkürzungen: Suberoyl Anilid Hydroxamic Acid (SAHA), Cutaneous T-Cell Lymphoma (CTCL), „nicht verfügbar“ (n. v.). Die Abbildung fasst Informationen aus folgenden Literaturstellen zusammen:[14, 21, 24, 25, 38, 74].

### 1.1.5. HDAC-Inhibitoren als potenzielle Tumorthapeutika

Ein Vorteil der Behandlung verschiedener Krebsarten mit HDAC-Inhibitoren ist, dass nicht-neoplastische Zellen relativ resistent sind, während Tumorzellen viel empfindlicher mit Wachstumshemmung, Apoptose und verminderter Differenzierung reagieren [32, 75]. Die Spezifität für Tumorzellen beruht auf verschiedenen Mechanismen.

HDAC-Inhibitoren führen in vielen Tumorzelllinien zur transkriptionellen Erhöhung des Zellzyklusinhibitors p21, der bei vielen Krebsarten aufgrund einer Überexpression von HDACs, vor allem der HDAC1 oder 2, herunterreguliert ist [67, 68]. Die Behandlung mit