

Neue niedermolekulare Inhibitoren („small molecules“) der fokalen Adhäsionskinase, FAK

Anwendungsgebiet

Fokale Adhäsionen (FA) sind mechanische, verankernde Zellverbindungen zwischen dem intrazellulären Aktinzytoskelett einer lebenden Zelle und der extrazellulären Matrix (EZM) und haben einen großen Funktionsumfang. Vor allem spielen sie bei der Signalübertragung und der Steuerung des Adhäsions-abhängigen Wachstums und Überlebens der Zelle sowie insbesondere bei der Zellmigration eine wichtige Rolle.

Eine besondere Funktion nimmt in diesem Zusammenhang die fokale Adhäsionskinase (FAK) ein. FAK ist in Tumorzellen oft überexprimiert und für die hohe Gewebeerkranklichkeit von Tumorzellen mitverantwortlich. Es wurden nun „small molecules“ neu entwickelt, die mit der Lokalisation und damit der Funktion von FAK interferieren und so zur Behandlung von Krebs sowie zur Prävention und Behandlung von Restenosen mittels drug-eluting Stents dienen sollen.

Stand der Technik

FAK ist als Zielstruktur zur Tumorbekämpfung bekannt. Es gibt spezifische Kinase-Inhibitoren zur Unterdrückung der Enzymaktivität von FAK. Nachteilig ist, dass viele FAK-abhängige Prozesse nicht allein durch die Aktivität dieser Kinase gesteuert werden, sondern dass FAK auch als Adapter für weitere Signalmoleküle fungiert und diese dadurch an fokale Adhäsionen dirigiert. Die vollständige Deaktivierung von FAK gelang daher bisher nur durch den natürlichen endogenen Inhibitor FAK-related non-kinase (FRNK), welcher FAK von den fokalen Adhäsionen verdrängt und damit die Enzym- und die Adapterfunktion gleichzeitig blockiert. FAK-abhängige Prozesse wie die Migration von Tumorzellen lassen sich durch FRNK effektiv unterdrücken. Problematisch ist, dass FRNK temperaturlabil und mit über 40 kDa nicht zellgängig ist, so dass sich eine Anwendung auf gentherapeutische Ansätze (Transduktion mit Viren) beschränkt.

Ihre Vorteile auf einen Blick

Die neuartigen FAK-Inhibitoren sind

- ✓ hochwirksam
- ✓ niedermolekular
- ✓ zellgängig
- ✓ zeigen geringe Zelltoxizität
- ✓ durch chemisch-definierte Synthese herstellbar
- ✓ vielfältig applizierbar
- ✓ unproblematisch zu sterilisieren

Innovation

An der Universität Konstanz konnten nun niedermolekulare Substanzen entwickelt werden, die eine völlig neue Klasse von zellpermeablen Inhibitoren von FAK darstellen und die sich am Funktionsprinzip des endogenen Inhibitors FRNK orientieren. Mit diesen Substanzen lässt sich FAK innerhalb von Minuten in lebenden Zellen von fokalen Adhäsionsstellen verdrängen (Abb. 1).

Die als FootLocker bezeichneten Substanzen zeigen in Migrations-Versuchen mit normalen Fibroblasten und menschlichen Tumorzellen eine sehr starke inhibitorische Wirkung bereits bei Wirkstoffkonzentrationen von 3 μM (Abb. 2). Besonders hervorzuheben ist, dass diese Substanzen effektiv die Fortbewegung der Zellen unterbinden, ohne dabei die Verankerung der Zellen an die extrazelluläre Matrix zu lösen oder die Zellmorphologie und das Zytoskelett zu beeinträchtigen.

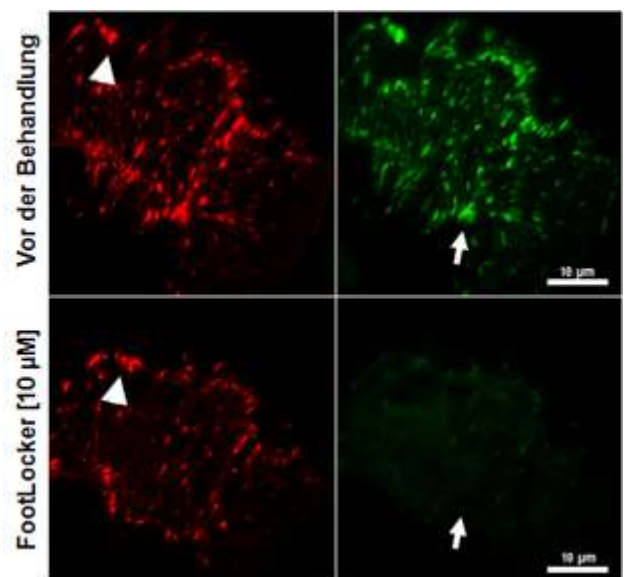


Abb. 1: FootLocker in Aktion: FootLocker verdrängt FAK von den fokalen Adhäsionsstellen, ohne die Zyxin-Lokalisation zu beeinflussen.

Lebendzellen-TIRF-Mikroskopie von GFP-FAK und mKate-Zyxin während der Fibroblasten-Expression: Bilder einer einzelnen Zelle wurden vor der Behandlung und 30 min nach dem Einbringen von 10 μM FootLocker aufgenommen. Während mKate-Zyxin (rote Färbung, linke Aufnahmen) an den fokalen Adhäsionsstellen verbleibt (Pfeilspitzen), wird nach der Zugabe von FootLocker GFP-FAK (grüne Färbung, rechte Aufnahmen) sehr schnell von den fokalen Adhäsionsstellen verdrängt (Pfeile).

Neue niedermolekulare Inhibitoren („small molecules“) der fokalen Adhäsionskinase, FAK

Aufzeichnung der Fortbewegung von isolierten Brustkrebszellen in der Kulturschale: Die Fortbewegung einzelner Zellen wird mittels Lebendzell-Mikroskopie über mehrere Stunden verfolgt, so dass die zurückgelegte Wegstrecke und die eingeschlagene Richtung nachvollzogen sowie die Geschwindigkeit einzelner Zellen berechnet werden können. Geringe Konzentrationen von FootLocker haben einen sofortigen, dramatischen Effekt auf die Migration der Brustkrebszellen.

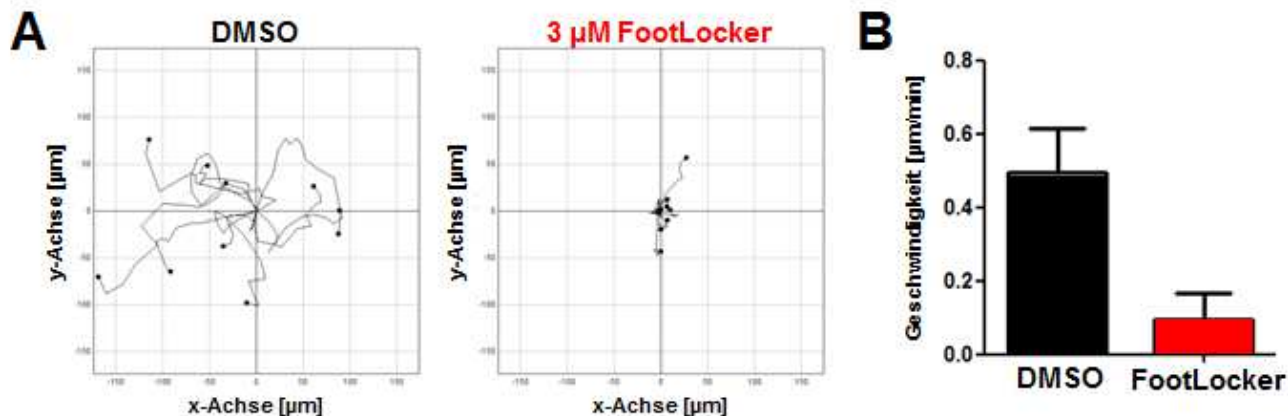


Abb. 2: **FootLocker hemmt die Migration von Brustkrebszellen.**

Die Migration von menschlichen MDA-MB-231 Brustkrebszellen wurde stimuliert und die Fortbewegung von einzelnen Zellen über einen Zeitraum von 6 h aufgezeichnet.

(A) Migrationswege von 10 einzelnen Zellen unter Kontrollbedingungen (DMSO, linkes Schaubild) bzw. nach der Zugabe von FootLocker (3 µM, rechtes Schaubild).

(B) Die Balken repräsentieren die mittlere Geschwindigkeit einzelner Zellen +/- Standardabweichung (n=10), die Aufzeichnung erfolgte ebenfalls wie bei (A) über einen Zeitraum von 6 h.

Technologietransfer

Die Technologie-Lizenz-Büro GmbH ist mit der Verwertung der Technologie beauftragt und bietet Unternehmen die Möglichkeit der Lizenznahme.

Patent-Portfolio

Für die Erfindung wurde 2014 ein Patent in Europa angemeldet.

Kontakt

Dr. Frank Schlotter
fschlotter@tlb.de
 Technologie-Lizenz-Büro (TLB)
 der Baden-Württembergischen Hochschulen GmbH
 Ettlinger Straße 25, D-76137 Karlsruhe
 Tel. 0721 79004-0, Fax 0721 79004-79
www.tlb.de

Referenz-Nummer: 12/024TLB