

AKT2 unterdrückt die durch DNA-Doppelstrangbrüche ausgelöste zytoprotektive Autophagie in kolorektalen Karzinomzellen

DNA-Doppelstrangbrüche (DSBs) sind kritische DNA-Läsionen, die die Genomstabilität und das Zellüberleben gefährden. DSBs können direkt durch ionisierende Strahlung (IR) und radiomimetische Agenzien, wie das *cytolethal distending toxin* (CDT), verursacht werden. Dieses bakterielle Genotoxin besitzt eine einzigartige DNase-I-ähnliche Endonukleaseaktivität. In dieser Arbeit untersuchten wir die Bedeutung von DSBs bei der Auslösung von Autophagie, einem zellulären Prozess, welcher an Zellhomöostase, Genomschutz und Krebsentstehung beteiligt ist. Weiterhin wurden die regulatorischen Mechanismen der DSB-induzierten Autophagie in kolorektalen Karzinomzellen analysiert, wobei die ATM-p53-vermittelte DNA-Schadensantwort und die AKT-abhängige Signalübertragung im Fokus standen. Wir konnten zunächst zeigen, dass die Behandlung mit CDT oder IR die Level des Autophagiemarkers LC3B-II erhöht. Damit einhergehend wurde eine verstärkte Bildung von Autophagosomen und der Abbau des Autophagiesubstrats p62 beobachtet. Sowohl CDT als auch IR unterdrückten die mTOR-abhängige Signalübertragung und stimulierten den autophagischen Flux. Durch Verwendung einer DNase-I-defekten CDT-Mutante, welche weder DSBs noch Autophagie auslöst, wurde demonstriert, dass DSBs den initialen Trigger der Autophagie darstellen. Die genetische Ausschaltung von p53 und die Hemmung des ATM-Signalwegs beeinträchtigten beide den autophagischen Flux, was sich in einer LC3B-II Akkumulation und reduzierten Bildung autophagischer Vesikel widerspiegelte. Die Blockierung des DSB-induzierten apoptotischen Zelltods mit dem pan-Caspase Inhibitor z-VAD führte zur Stimulierung der Autophagie. Übereinstimmend hierzu bewirkte die pharmakologische Autophagie-Hemmung erhöhte Zelltodraten, wobei eine Herunterregulierung von ATG5 durch siRNA keine Auswirkung auf den DSB-induzierten Zelltod hatte. Interessanterweise bewirkten sowohl CDT als auch IR eine Aktivierung von AKT, wodurch die DSB-getriggerte Autophagie unabhängig vom zellulären DNA-PK-Status unterdrückt wurde. Weitere *Knockdown*- und Inhibitor-Experimente lieferten den Beweis, dass die negative Autophagie-Regulation größtenteils auf die AKT2-Untereinheit zurückzuführen ist. Schließlich wurde nachgewiesen, dass die Steigerung der CDT-induzierten Autophagie durch AKT-Inhibition in einer geringeren Apoptoserate und erhöhten Zellviabilität resultiert. Zusammenfassend zeigen unsere Befunde, dass DSBs in einer ATM- und p53-abhängigen Weise Autophagie als zellulären Überlebensweg auslöst, welche durch das AKT2-Signaling supprimiert wird.

Publiziert:

Seiwert N, Neitzel C, Stroh S, Frisan T, Audebert M, Toulany M, Kaina B, and Fahrner J. AKT2 suppresses pro-survival autophagy triggered by DNA double-strand breaks in colorectal cancer cells. *Cell Death Dis.* 2017, 8(8):e3019.