



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Regulierung der MIM Expression in Tumoren des Urogenitaltraktes

Autor: Isabelle Muller-Molinet
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Doktorvater: Prof. Dr. S. Goerdts

MIM ist ein aktinbindendes Protein, welches einen regulierenden Einfluss auf die Organisation der Zytoskelettstruktur der Zelle besitzt und dadurch die Zellpolarität fördert. Durch seine Beteiligung am Sonic Hedgehog Signalübertragungsweg spielt das Gen eine entscheidende Rolle während des Entwicklungsprozesses und der Karzinogenese. Da eine signifikante Verminderung der MIM Expression in metastasierenden Tumorzelllinien im Vergleich zu nicht metastasierenden beobachtet werden konnte, wurde MIM auch als potenzielles Metastasensuppressorgen beschrieben. Die vorliegende Arbeit befasst sich schließlich mit der Regulierung der MIM Expression in metastasierenden und nicht metastasierenden Tumorzelllinien von Blase und Prostata. Durch Real-Time RT-PCR Analysen konnte eine Inhibierung der MIM Expression in den metastasierenden Prostatakarzinomzelllinien LnCap und PC-3 sowie der metastasierenden Blasenkarzinomzelllinie TccSup im Vergleich zu den nicht metastasierenden Blasentumorzelllinien 5637 und RT-4 dargestellt werden. Dabei zeigte sich in den Zelllinien 5637 und RT4 eine 22- und 12-fach höhere MIM Expression als in LnCap und PC-3, welche beide eine vergleichbar geringe Expression des MIM Gens aufzeigten. Durch anschließende Analyse der Promotorsequenz mithilfe von Transfektionsversuchen konnte schließlich die vollständige Lokalisation des MIM Promotors als 129 bp DNA-Abschnitt strangaufwärts des 1. Exons des MIM Gens innerhalb einer CpG-Insel dargestellt werden. Die Analyse der Promotoraktivität von MIM mithilfe des Luciferase Reportersystems in verschiedenen Zelllinien unterschiedlicher endogener MIM Expression ergab nach Transfektion des Promotorkonstrukts keine signifikanten Unterschiede. Diese Daten zeigten somit, dass Zelllinien mit unterschiedlicher endogener MIM Expression alle zur Expression des MIM Gens notwendigen Transkriptionsfaktoren besitzen. Folglich wurde angenommen, dass die Expression des MIM Gens durch einen epigenetischen Mechanismus reguliert werden muss. Um die Hypothese der Expressionsregulation des MIM Gens durch den Mechanismus der DNA-Methylierung zu prüfen, erfolgte die Analyse des DNA-Methylierungsmusters im Promotorbereich des MIM Gens. Hierzu wurde nach Optimierung der Methode der nested-PCR die DNA im Promotorbereich mit Bisulfit behandelt und anschließend sequenziert. Dabei zeigte sich erwartungsgemäß eine Hypermethylierung der DNA in den Tumorzelllinien mit inhibierter MIM Expression. Während der Anteil der DNA-Methylierung in 5637 lediglich 1,01 % und in RT-4 3,19 % betrug, konnte in den Zelllinien mit inhibierter MIM Expression wie LnCap ein Anteil von 18,84 % und in PC-3 schließlich von 34,93 % nachgewiesen werden. Die Inaktivierung des MIM Gens durch den Mechanismus der DNA-Methylierung in metastasierenden Tumorzelllinien konnte im Anschluss durch die Ergebnisse eines Stimulationsversuchs mit einem Inhibitor der DNA-Methyltransferase bestätigt werden. So führte die Behandlung von LnCap Zellen mit 5-Aza-2'-deoxycytidin nach 72 Stunden in der Real-Time RT-PCR Analyse zu einem Anstieg der Transkriptionsprodukte auf das 4-fache des Ausgangswerts und folglich zur Reaktivierung des MIM Gens. Die DNA-Methylierung konnte somit als expressionsregulierender Mechanismus im Bereich des MIM Gens identifiziert werden. Diese Arbeit trägt daher zum Verständnis von MIM als Metastasen- und Tumorsuppressorgen und dessen Inaktivierung im Laufe der Karzinogenese bei. Die Ergebnisse erlauben Rückschlüsse über den expressionsregulierenden Mechanismus sowie die Reaktivierung des Gens.