

Carolin Elisabeth Schopf
Dr. med.

Matrixmetalloproteinasen, deren Inhibitoren und extrazelluläre Matrixproteine beim nicht kleinzelligen Bronchialkarzinom

Morphologische Vergleiche zwischen zentraler Läsion und Invasionsfront des Primärkarzinoms, dessen verschiedenen Metastasen, klinisch-pathologischen Stadien und Karzinomtypen

Geboren am 24.10.1981 in Bad Mergentheim
Staatsexamen am 19.11.2008 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Ph. A. Schnabel

Bei malignen Tumoren wie dem nicht kleinzelligen Bronchialkarzinom (NSCLC) ist das homöostatische Gleichgewicht zwischen Auf- und Abbau der extrazellulären Matrix (EZM) gestört und ermöglicht dadurch den Karzinomzellen sich auszubreiten. Matrixproteine, wie Kollagene und Fibronectin, Matrix Metalloproteinasen (MMPs) und MMP-Inhibitoren (TIMPs) sind Proteine, die entscheidend an diesen Prozessen beteiligt sind.

In dieser Arbeit wurden diese Proteine an Gewebeproben von Patienten mit NSCLC unter folgenden **Fragestellungen** untersucht:

1. Lassen sich Unterschiede im Expressionsverhalten von MMP-1, -2, -9 sowie TIMP-1 und -2 und den EZM-Proteinen Fibronectin, Kollagen I und Kollagen IV im Primärtumor zwischen der zentralen Läsion im Vergleich zu der Invasionsfront finden?

Unterscheiden sich die Verteilungen von MMP-1, -9, TIMP-1, -2 und der Matrixproteine beim Vergleich zwischen den Lokalisationen im Primärtumor und der Metastasen (pM1-zerebral, pM1-pulmonal, pT4-intrapulmonal und pN2)?

Wie verhalten sich die Expressionsprofile von den in 2 genannten MMPs, TIMPs und EZM-Proteinen in den unterschiedlichen Metastasenlokalisationen beim NSCLC?

Inwiefern und inwieweit ist das Expressionsverhalten von MMP-1, -2, -9, TIMP-1 und -2 sowie der Matrixproteine, Kollagen I und Kollagen IV in den klinisch-pathologischen Krankheitsstadien (IV, III, I) verschieden?

Zeigen sich Unterschiede im Gehalt der in 4 genannten Enzyme und EZM-Proteine bei den unterschiedlichen Karzinomen (Adeno-, Plattenepithel- und pleomorphes Karzinom)?

Primärtumorproben von 107 Patienten (31 weiblich (29%), 76 männlich (71%); Durchschnittsalter $62,7 \pm 9,7$ Jahre) mit NSCLC wurden sowohl entsprechend ihres klinisch-pathologischen Stadiums drei Gruppen zugeordnet: Stadium IV (n = 38), Stadium III (n = 49) und Stadium I (n = 20), als auch drei histologischen Typen: Adenokarzinom (n = 64), Plattenepithelkarzinom (n = 38) und pleomorphes Karzinom (n = 5). Nach der (Strept)Avidin-Biotin-Peroxidase-Methode wurde an Paraffinschnitten von Proben dieser Patienten sowohl der Primärtumor, mit den Lokalisationen Invasionsfront und Tumorzentrum, als auch zugehörige zerebrale (pM1-zerebral (n = 16)) und intrapulmonale (pM1-pulmonal (n = 17), pT4-intrapulmonal (n = 36)) Metastasen, sowie ipsilaterale mediastinale Lymphknoten-metastasen (pN2 (n = 45)) immunhistochemisch untersucht. Nach einer Einteilung der Antikörperfärbungen für MMPs und TIMPs in ein niedriges versus starkes Expressionslevel wurde mittels Punktzählverfahren lichtmikroskopisch bei 400facher Vergrößerung für die MMPs und TIMPs bei starkem Expressionslevel die Volumendichten von gefärbten Karzinomzellen, nicht gefärbten Karzinomzellen, EZM-Strukturen/ -Zellen, Nekrosearealen, Gefäßen und vom „leeren Raum“ ermittelt. Für die Matrixproteine wurden die Volumendichten von positiv gefärbten EZM-Strukturen, nicht gefärbten EZM-Strukturen, Karzinomzellen, Nekrosearealen, vom „leeren Raum“ und bei Fibronectin zusätzlich noch von

Gefäßen quantitativ ausgewertet. Stattdessen kam ein semiquantitatives Scoringverfahren zum Einsatz bei den Lymphknoten- und Hirnmetastasen für MMPs und TIMPs, sowie bei den Lymphknotenmetastasen für Kollagen I.

Quantitativ wurden folgende **Ergebnisse** erzielt:

1. Für alle untersuchten MMPs und EZM-Proteine, nicht jedoch für die TIMPs, ließen sich signifikante Unterschiede ($p = 0,0001$) beim Expressionsverhalten der zentralen Läsion und der Invasionsfront im Primärtumor finden. Die MMPs, Fibronectin und Kollagen I waren dabei vermehrt in der zentralen Läsion nachweisbar, im Gegensatz dazu war Kollagen IV mehr in der Invasionsfront exprimiert.
2. Außer einem signifikanten Unterschied bei MMP-1 und einer Tendenz dazu bei TIMP-2 fanden sich bei den Vergleichen der MMPs und TIMPs bezüglich der Lokalisationen im Primärtumor und der Metastasen keine statistisch signifikanten Unterschiede. Bei den Matrixproteinen hingegen zeigten vor allem Fibronectin und Kollagen I eine signifikant vermehrte Expression in den zerebralen Metastasen im Gegensatz zu den Primärtumorlokalisationen. Zudem wurden weitere statistisch signifikante Unterschiede bei den Matrixproteinen gefunden.

MMP-9 und TIMP-1 zeigten bei den Gegenüberstellungen der unterschiedlichen Metastasenlokalisationen je einen signifikant ($p = 0,0001$) höheren Nachweis bei zerebralen im Gegensatz zu Lymphknotenmetastasen. Weitere statistisch signifikante Unterschiede der MMPs und TIMPs fehlten, wie auch bei Fibronectin nur eine Tendenz dazu festgestellt wurde. Die anderen Matrixproteine hingegen wiesen einige signifikante Unterschiede auf, wobei vor allem Kollagen I in den zerebralen Metastasen signifikant

($p = 0,0001$) häufiger als in den intrapulmonalen Metastasen exprimiert war.

Zwischen den untersuchten klinisch-pathologischen Krankheitsstadien zeigten sich außer für Kollagen I keine signifikanten Unterschiede bei den untersuchten Proteinen.

Die Expressionen von Kollagen IV, MMP-1 und die der TIMPs wiesen statistisch signifikante Unterschiede bei den verschiedenen Karzinomtypen auf, mit vermehrtem Nachweis im Adenokarzinom verglichen mit dem Plattenepithelkarzinom.

Generell war eine geringe TIMP Expression in den untersuchten Geweben zu bemerken.

Daraus lassen sich folgende **Schlussfolgerungen** ziehen:

Beim Vergleich der Invasionsfront mit der zentralen Tumorkläsion weist die differente Expression der MMPs und Matrixproteine auf Unterschiede im Prozess des „Remodelling“ und der Tumor-Matrix-Interaktionen des Primärtumors (NSCLC) hin. Verschiedene Metastasierungsarten und Milieubedingungen in den verschiedenen Metastasen (intrapulmonal pT4 oder pM1, zerebral pM1 oder lymphonodal mediastinal pN2) bedingen signifikante Unterschiede in den untersuchten Proteinexpressionen.