



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Homo- und heterotypische Melanomzell-Kontakte und Desmoglein 2
als neues solitäres Zelloberflächenprotein**

Autor: Christian Johannes Schmitt
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Doktorvater: Prof. Dr. S. Goerdts

Bedeutsam für die Pathogenese maligner Melanome sind Störungen der Zell-Zellkontakte, wobei insbesondere die Cadherine, Calcium-abhängige Transmembranproteine, eine zentrale Rolle spielen. Bei der Entstehung von Melanomen findet ein sogenannter „Cadherin-Switch“ statt, bei dem das in Epithelzellen und in Melanocyten gebildete E-Cadherin von dem für mesenchymale Zellen typischen N-Cadherin ersetzt wird. Dies ermöglicht den Melanomzellen einerseits die Interaktion mit neuen Nachbarn, wie Fibroblasten und Endothelzellen, und führt andererseits zur Aktivierung proliferativer und pro-migratorischer Signalkaskaden. Während die funktionelle Bedeutung des „Cadherin-Switch“ in Zellkultursystemen und Tiermodellen gut belegt ist, sind Ergebnisse an Melanomen *in vivo* ambivalent. Diese Diskrepanz führte im Rahmen der vorgelegten Arbeit zu einer eingehenden Untersuchung des Cadherin-Profiles von Melanomzellen in Kultur und von Melanommetastasen *in situ*.

Hierzu wurden zunächst die homotypischen Verbindungsstrukturen von Melanomzellen untersucht. Protein-Analysen und Immunfluoreszenzmikroskopien an Melanomzell-Kulturen zeigten, dass 6 von 8 Melanomlinien N-Cadherin, 3 E-Cadherin und 5 P-Cadherin enthielten. Dabei konnten bestimmte Zelllinien bis zu 3 Cadherine parallel synthetisieren. An der Linie WM 35, die 3 klassische Cadherine - N-, E- und P-Cadherin - simultan bildete, wurden exemplarisch doppel-immunfluoreszenzmikroskopische Analysen und Immunpräzipitationen durchgeführt. Diese ergaben heterotypische Komplexe aus E- und P-Cadherin, während N-Cadherin getrennt von beiden vorlag.

Immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an menschlichen Melanommetastasen *in situ* zeigten, dass insgesamt 7 von 10 Metastasen mehr als nur ein klassisches Cadherin enthielten. In 6 von 10 Metastasen wurde dabei sowohl E- als auch N-Cadherin gefunden, z. T. auch zusammen innerhalb einer Tumorzelle. Der Verlust von E-Cadherin scheint also weder ein universeller noch ein unvermeidbarer Schritt für die Metastasierung maligner Melanome zu sein.

Interessanterweise wurde in 2 der N-Cadherin-positiven Melanomlinien, MeWo und C32, zusätzlich zu den an *Zonulae adhaerentes* vorkommenden klassischen Cadherinen das für Desmosomen typische Cadherin Desmoglein 2 (Dsg2) nachgewiesen, wogegen andere Desmosomen-spezifische Proteine fehlten. Dieses überraschende Ergebnis wurde mit RT-PCR, Immunpräzipitation und MALDI-TOF-Analysen bestätigt. Anhand von Melanomzell-Kulturen durchgeführte konfokale Laserscanning-Mikroskopie und Immunelektronenmikroskopie zeigten Anreicherungen N-Cadherin, α - und β -Catenin in Plaque-tragenden *Puncta adhaerentia*, während Dsg2 ein diffuses Verteilungsmuster entlang der Zellmembran aufwies. In zweidimensionalen Kokulturen aus HaCaT-Keratinocyten und den Dsg2-positiven Melanomlinien wurde Dsg2 an homotypischen Keratinocyten- und Melanomzell-Verbindungen nachgewiesen, aber auch an heterotypischen Kontaktstellen. Dasselbe Ergebnis lieferten organotypische Kokulturen aus Keratinocyten und Melanomzellen. Dass die Expression von Dsg2 auch für Melanome *in vivo* bedeutsam ist, zeigten immunhistochemische Untersuchungen menschlicher Melanommetastasen. Hier enthielten 5 von 10 Metastasen Dsg2-positiv Tumorzellgruppen.

Die Ergebnisse belegen, dass Zell-Zelladhäsionen von Melanomen komplexer und heterogener sind als bisher angenommen. Das in einem Subtyp von Melanomzellen und Metastasen gefundene Dsg2 liegt hier in Abwesenheit anderer Desmosomen-spezifischer Proteine als solitäres Zelloberflächenprotein vor und scheint sowohl homo- als auch heterotypische Zellkontakte zu vermitteln. Dieses neue, primitive, auf Dsg2 basierte Zelladhäsionssystem muss in Zukunft hinsichtlich seiner Interaktionspartner, seiner Regulation und seiner möglichen diagnostischen, prognostischen und therapeutischen Relevanz für maligne Melanome näher charakterisiert werden.