



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

**Erstnachweis des neuen Tumorsuppressors Pdcd4 als
Prognosefaktor, sowie Marker der Adenom-Karzinom-Sequenz beim
kolorektalen Karzinom, und klinisch experimentelle Analysen der
molekularen Regulation des Urokinase Plasminogen Aktivator
Rezeptors**

Autor: Fabian Medved
Institut / Klinik: Chirurgische Klinik / Abteilung für Experimentelle Chirurgie
und Molekulare Onkologie
Doktormutter: Prof. Dr. med. Dipl. oec. med. Heike Allgayer, MD, PhD

Hintergrund: Die hier vorgelegte Arbeit beschäftigt sich mit der Identifikation und Etablierung von molekularen Markern mit dem Ziel einer individuelleren Prognoseeinschätzung bei kolorektalen Karzinompatienten. Ein weiteres Ziel war die Analyse von neuen molekularen Markern im Hinblick auf ein mögliches diagnostisches Potential bei der Karzinogenese und Progression des kolorektalen Karzinoms. Im Zentrum der Untersuchungen standen 2 wesentliche Moleküle: 1. u-PA Rezeptor und dessen transkriptionale Regulation durch das u-PAR-Promotorelement -152/-135. Dem u-PA System, und im Speziellen dem u-PA Rezeptor wird eine tragende Rolle bei der systemischen Ausbreitung solider Tumore zugeschrieben. 2. Pdcd4, ein neuer Tumorsuppressor, dessen vermehrte Expression die neoplastische Transformation, Invasion und Metastasierung verhindert und dessen Lokalisation in der Zelle laut theoretischen Untersuchungen durch Akt mitreguliert wird. Zu Pdcd4 gibt es bisher noch keinerlei prognostische Untersuchungen, und eine potenzielle Relevanz in der Adenom-Karzinom-Sequenz beim kolorektalen Karzinom ist bislang nicht untersucht. **Patienten und Methoden:** Insgesamt wurde Tumor- und Normalgewebe von 90 an einem kolorektalen Tumorleiden operierten Patienten, sowie zusätzlich Gewebe von 42, tumorfreien, an einem kolorektalen Adenomleiden endoskopisch behandelte Patienten, untersucht. Die Analysen in dieser Arbeit erfolgten mit molekularbiologischen Methoden wie EMSA, einer Technik zur Untersuchung von DNA-Protein-Interaktionen. Proteinkonzentrationen/-mengen wurden mittels ELISA und Western Blot Analysen bestimmt. Die Darstellung von Proteinen in den Geweben erfolgte mit Hilfe Immunhistochemischer Färbungen. Die ermittelten Daten wurden abschließend mit der Statistiksoftware SPSS ausgewertet. **Resultate:** Bei den Analysen zu Pdcd4 zeigte sich ein signifikanter Verlust von Gesamt-Pdcd4-Protein im Vergleich von normaler kolorektaler Schleimhaut mit adenomatös verändertem Gewebe, und bei der Gegenüberstellung von adenomatösem mit karzinomatösem kolorektalen Gewebe. In der normalen Schleimhaut zeigte sich für Pdcd4 eine starke Anfärbung im Kern, welche bei dem adenomatösen Gewebe an Intensität abnahm. In karzinomatös verändertem Gewebe war in der Mehrzahl der Fälle keine Pdcd4-Färbung im Kern mehr nachweisbar. Das analysierte pAkt zeigt eine inverse Korrelation mit Pdcd4 und mit dem Übergang von Pdcd4 aus dem Zellkern in das Cytoplasma. In univariaten Kaplan-Meier-Analysen konnte gezeigt werden, dass ein Verlust von Gesamt-Pdcd4, sowie von nukleärem Pdcd4 mit dem Überleben korrelierte. In Multivarianz-Analysen stellte sich der Verlust von Gesamt-Pdcd4, und der Verlust von Pdcd4 im Zellkern, als ein neuer und unabhängiger Faktor in Bezug auf ein schlechtes Überleben dar. Nach dem aktuellen Wissensstand veranschaulichen die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen zu Pdcd4 erstmalig den unabhängigen prognostischen Einfluss dieses Tumorsuppressors und seines Expressionsmusters bei kolorektalen Karzinomen. Weiter verweisen die Ergebnisse dieser Studie auf eine Regulation der Pdcd4-Lokalisation durch pAkt in vivo. Bei den Untersuchungen zu dem u-PA Rezeptor und dessen transkriptionaler Regulation in reseziertem Gewebe konnte gezeigt werden, dass die u-PAR-Konzentration im Tumorgewebe im Vergleich mit den u-PAR-Konzentrationen im entsprechenden Normalgewebe signifikant erhöht waren. In univariaten Kaplan-Meier-Analysen konnte dargestellt werden, dass eine erhöhte u-PAR-Protein Konzentration mit einem verminderten Überleben einherging. Bei den Analysen zur transkriptionalen Regulation von u-PAR konnte für die Bindungen von SP1, SP3 und AP-2 α -ähnlichem Faktor an das u-PAR-Promotorelement -

152/-135 eine signifikante Erhöhung im Tumorgewebe im Vergleich mit dem entsprechenden Normalgewebe aufgezeigt werden. In univariaten Kaplan-Meier-Analysen konnte veranschaulicht werden, dass ein Anstieg der Ratio des Transkriptionsfaktors SP1 in Tumor- versus Normalgewebe signifikant mit einem schlechten Überleben einherging. Damit zeigt diese Arbeit zusammenfassend neue diagnostische und prognostische Wertigkeiten zweier wesentlicher Moleküle der Tumorprogression auf.