



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

Molekularbiologische Untersuchungen des Urothelkarzinoms der Harnblase unter Berücksichtigung von Risikofaktoren

Autor: Ute Gabriel
Institut / Klinik: Urologische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. M. S. Michel

Das Rauchen von Zigaretten stellt den größten Risikofaktor für die Bildung eines Urothelkarzinoms dar. Die lange Latenzzeit zwischen der Rauchexposition und der Tumormanifestation deutet auf genetische Veränderungen als Ursache für das erhöhte Risiko und prä maligne Veränderungen in histologisch normalem Gewebe hin. Nicht-invasive und die aggressiveren invasiven Urothelkarzinome weisen unterschiedliche genetische Veränderungen auf, die sich wahrscheinlich bereits im prä malignen Stadium manifestieren. Neben den funktionellen Genen enthält das humane Genom Humane Endogene Retroviren (HERV). Diese können die Transkription anderer Gene beeinflussen und gelten als potenzielle Tumormarker und therapeutische Ziele, weshalb sie zunehmend ins Blickfeld der onkologischen Forschung rücken. Das Ziel dieser Arbeit war, die Transkription der funktionellen Gene und HERV in malignen und nicht-malignen Geweben von Patienten mit invasiven und nicht-invasiven Urothelkarzinomen zu beschreiben. Außerdem sollten durch Rauchen hervorgerufene Transkriptionsänderungen identifiziert und auf ihren Bezug zur Karzinogenese hin untersucht werden.

Bei der Analyse der funktionellen Gene wurde zunächst der Einfluss des Rauchens jeweils innerhalb unterschiedlicher Gewebegruppen untersucht. Raucher zeigten eine Veränderung der Zellmigration, der anti-tumoralen Immunantwort und der Chromosomstruktur. Daneben wies jede Gewebeart individuelle Raucher-assoziierte Veränderungen auf, die bei Geweben von Patienten mit invasiven Tumoren ausgeprägter auftraten. In nicht-malignem Urothel von Patienten mit invasiven gegenüber nicht-invasiven Tumoren waren zahlreiche Onkogene und Wachstumsfaktoren verstärkt aktiviert, was für den Wachstumsfaktor CTGF in einer eigenen unabhängigen Validierungsstudie bei Rauchern bestätigt wurde. Insgesamt lassen diese Ergebnisse darauf schließen, dass bei Patienten mit invasiven Tumoren sowohl im malignen als auch im nicht-malignen Urothel eine aggressivere maligne Transformation durch Rauchen stattfindet als in den jeweiligen Geweben von Patienten mit nicht-invasiven Tumoren. Im Weiteren wurden 35 Genkaskaden identifiziert, die sowohl bei allen Rauchern (vs. Nichtraucher) als auch im Tumorgewebe (vs. nicht-malignem Gewebe) gleichzeitig verändert waren. Diese Kaskaden waren mit Proliferation, Immunantwort, extrazellulärer Matrix, Homöostase oder Signaltransduktion assoziiert. Interessanterweise waren bei Rauchern vs. Nichtrauchern alle Kaskaden entgegengesetzt verändert als bei deren Vergleich zwischen Tumorgewebe vs nicht-malignem Urothel. Die Veränderungen der fünf Zellfunktionen deuten auf einen primär zytotoxischen Einfluss des Rauchens hin. Die Analyse dieser 35 Kaskaden innerhalb jeder Gewebegruppen zeigte jedoch, dass Rauchen die einzelnen Zellfunktionen, wie beispielsweise die Proliferation, je nach Gewebeart unterschiedlich verändert. Raucher-assoziierte Veränderungen der Proliferation bei nicht-malignem Urothel von Patienten mit nicht-invasiven Tumoren korrespondierten am besten mit entsprechenden Veränderungen in normalen Epithelzellen (*in vitro*). Dies unterstützt die These, dass nicht-malignes Urothel von Patienten mit nicht-invasiven Tumoren von den untersuchten Gewebearten die geringste maligne Transformation durch Rauchen erfährt. Großes Potenzial für eine frühe Detektion und als Risikomarker für die Entstehung eines invasiven Tumors in nicht-malignem Gewebe haben 15 Gene, die durch Rauchen aktiviert

werden und sich im Urothel von Patienten mit invasivem und nicht-invasivem Urothelkarzinom signifikant unterscheiden. Die geringsten Überschneidungen von Veränderungen bei Rauchern (vs. Nichtraucher) und ehemaligen Rauchern (vs. Nichtraucher) zeigten nicht-maligne Urothelgewebe von Patienten mit nicht-invasiven Tumoren. In diesen Geweben scheinen also weniger permanente Veränderungen als in den übrigen Geweben durch Rauchen zu entstehen. Dies deutet auch darauf hin, dass diese Gewebe am ehesten intakte Reparaturmechanismen besitzen. Die Reparatur war jedoch auch dort nicht vollständig, was der Nachweis bleibender Änderungen von

migrationsfördernden Genen bei ehemaligen Rauchern verdeutlichte. In nicht-malignen Geweben von Patienten mit invasiven Tumoren zeigten die bei Rauchern aktivierten Onkogene bei ehemaligen Rauchern ebenfalls eine vergleichbare Aktivität, was für eine permanente maligne Transformation durch Rauchen in diesem Gewebe spricht. In den Tumorgeweben blieb die immunmodulierende Wirkung bei ehemaligen Rauchern erhalten. Die mit Rauchen assoziierten migrationsfördernden Gene scheinen reversibel bei nicht-invasiven, jedoch nicht bei invasiven Tumorgeweben nach Beendigung des Rauchens zu sein. Diese reversiblen und permanenten Veränderungen könnten erklären, warum das erhöhte Risiko für eine Urothelkarzinogenese bei ehemaligen Rauchern wieder abnimmt, jedoch nicht mehr das niedrige Ausgangsniveau von lebenslangen Nichtrauchern erreicht. Bei der Analyse der 21 größten HERV-Familien wurde ein urothelspezifisches Expressionsmuster aus sechs konstant transkribierten Familien identifiziert. Im Tumorgewebe fand sich das Profil mit geringen Veränderungen wieder. Die durch QRT-PCR ermittelte verminderte Transkription von HERV-E4-1 und HERV-K(HML-6) im Tumorgewebe zeigte einen Trend, durch Rauchen weiter vermindert zu werden. In nicht-malignem Gewebe und in normalen Epithelzellen *in vitro* wurde ein entgegengesetzter Trend beobachtet. Hier lassen sich Parallelen zu den gewebespezifischen Transkriptionsänderungen der funktionellen Gene erkennen. Die genannten Ergebnisse und die Tatsache, dass ein Großteil der gefundenen aktiven HERV-Proviren als chromosomaler Bruchpunkt in vielen Tumoren bekannt ist und einige aktive Proviren bereits bei anderen Tumorentitäten beschrieben sind, deutet auf eine wichtige Rolle der HERV bei der Karzinogenese des Urothels hin. Aktive HERV-Proviren, die in Introns der funktionellen Gene PLA2G4A und RNGTT lokalisiert wurden, könnten zudem deren Transkription und damit wichtige Zellfunktionen beeinflussen.