



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

**Homo- und heterotypische Zellkontakte bei Merkelzellen und  
Merkelzellkarzinomen: überraschende Heterogenität und Hinweise  
für einen Cadherin Switch**

Autorin: Anna Maria Werling  
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie  
Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. W. Ludwig-Peitsch

Merkelzellkarzinome (MCC) sind seltene, jedoch besonders aggressive neuroendokrine Karzinome der Haut mit drastisch steigender Inzidenz. Über ihre molekulare Pathogenese ist nur wenig bekannt. Im Jahr 2008 wurde jedoch ein neues Polyomavirus, das Merkelzellvirus (MCV), identifiziert, das eine kausale Bedeutung für die Entstehung von MCC zu besitzen scheint.

Für die Genese und Progression einer Vielzahl unterschiedlicher Tumore spielen strukturelle und funktionelle Störungen von Zelladhäsionsproteinen eine zentrale Rolle, insbesondere von Cadherinen, Calcium-abhängigen Transmembranproteinen. Während der Tumorentstehung und Progression kann es zu einem „Cadherin Switch“ kommen, bei dem das für Epithelzellen charakteristische E-Cadherin ganz oder teilweise durch das für mesenchymale Zellen typische N-Cadherin ersetzt wird.

Ziel der vorgelegten Arbeit war die Untersuchung von Zelladhäsionsproteinen in MCC im Vergleich mit Merkelzellen in gesunder Haut. Hierfür wurden Merkelzellen aus gesunder Haut sowie 52 verschiedene MCC, darunter Primärtumore, Rezidive und Lymphknotenmetastasen mit Doppelimmunfluoreszenzmikroskopie und konfokaler Laserscanning-Mikroskopie auf das Vorkommen von desmosomalen, Zonula adhaerens (ZA)-assoziierten und Tight Junctions (TJ)-assoziierten Zelladhäsionsproteinen untersucht. Das Repertoire an Zelladhäsionsproteinen wurde mit klinischen und histologischen Informationen und mit dem Real-Time PCR ermittelten MCV-Status korreliert.

Eine Untersuchung der heterotypischen Verbindungsstrukturen zwischen Merkelzellen und Keratinozyten in gesunder Haut zeigte, dass die beiden Zelltypen einerseits über Desmosomen, die in ihrer molekularen Zusammensetzung weitestgehend den Desmosomen zwischen basalen Keratinozyten entsprechen, verbunden sind. Andererseits bestehen die heterotypischen Kontaktstrukturen aus den für epitheliale Zellen typischen klassischen Cadherinen E- und P-Cadherin zusammen mit den für ZA charakteristischen Plaqueproteinen. Das ultrastrukturelle Korrelat dieser E- und P-Cadherin-haltigen Strukturen ist unklar, zumal in elektronenmikroskopischen Analysen bisher nur kleine Desmosomen zwischen Merkelzellen und Keratinozyten gefunden wurden.

Wurden dagegen MCC auf ihr Repertoire an Zelladhäsionsproteinen untersucht, wurde in der überwiegenden Mehrzahl der Tumoren (90%) das für mesenchymale Zellen typische N-Cadherin nachgewiesen, das zwischen Keratinozyten und Merkelzellen gesunder Haut fehlte. Dagegen bildeten nur 67 bzw. 65% der Tumoren E- bzw. P-Cadherin. Unter der Annahme, dass sich MCC von Merkelzellen ableiten, können diese Befunde als Hinweise auf einen „Cadherin Switch“ während der Entstehung und Progression von MCC gewertet werden. Ein solcher „Switch“ von E- und P- zu N-Cadherin könnte den Merkelzellkarzinomzellen einerseits die Interaktion mit neuen, mesenchymalen Nachbarzellen wie Fibroblasten und Endothelzellen erleichtern und andererseits – wie in anderen Tumoren beschrieben – zur Aktivierung pro-proliferativer und pro-migratorischer Signalkaskaden führen. Interessanterweise wurde P-Cadherin signifikant seltener in Lymphknotenmetastasen als in Primärtumoren nachgewiesen. Zudem befanden sich Patienten mit P-Cadherin-negativen Primärtumoren tendenziell in weiter fortgeschrittenen Tumorstadien. Demzufolge könnte P-Cadherin eine günstige prognostische Bedeutung besitzen, eine Hypothese, die an größeren Patienten- und Tumorkollektiven geprüft werden muss.

Nur ein Teil der MCC bildete desmosomale Proteine in unterschiedlichen Kombinationen, v.a. Desmoglein 2. In einer Untergruppe von MCC war Desmoglein 2 zusammen mit Desmoplakin in punktförmigen, vermutlich Desmosomen entsprechenden Strukturen angereicht, während eine andere Untergruppe lineare Dsg2-Akkumulationen entlang der Zell-Zellgrenzen zeigte.

Ein überraschendes Ergebnis der vorgelegten Studie war, dass ein hoher Prozentsatz von MCC auch Proteinkomponenten von TJ enthielt, die an heterotypischen Merkelzell-Keratinocyten-Kontakten vollkommen fehlten. Besonders häufig wurden die Transmembranproteine Claudin-3 und -5, Occludin und JAM-A sowie die TJ-Plaueproteine ZO-1 und -2 nachgewiesen. Welches ultrastrukturelle Korrelat den in MCC gefundenen TJ-Proteinen zugrunde liegt und ob diese tatsächlich eine Barrierefunktion ausüben, ist bisher ungeklärt. Es wäre z.B. denkbar, dass die Bildung von TJ in MCC einen Mechanismus der Selbstisolierung der Tumorzellen darstellt, der mitverantwortlich für die häufig zu beobachtende schnelle Entwicklung einer Chemoresistenz sein könnte.

Mit Real-Time PCR vorgenommene Untersuchungen auf MCV DNA zeigten in 84% der Tumoren bzw. 83,3% der Patienten virale DNA, gut im Einklang mit anderen Berichten. Patienten mit MCV-negativen Tumoren waren tendenziell in weiter fortgeschrittenen Tumorstadien, passend zu anderen Studien, die auf eine günstige prognostische Bedeutung des Virus hinwiesen. Ein offensichtlicher Zusammenhang zwischen dem MCV-Status und dem Repertoire an Zelladhäsionsproteinen fand sich nicht, was jedoch auch auf die geringe Anzahl MCV-negativer Patienten (n = 5) zurückzuführen sein mag und an einem größeren Patienten- und Tumorkollektiv verifiziert werden muss.

Insgesamt wurde gezeigt, dass Zell-Zelladhäsionen von MCC wesentlich komplexer und heterogener sind als bisher angenommen. Einige der nachgewiesenen Proteine erscheinen vielversprechend für klinische Anwendungsmöglichkeiten: P-Cadherin könnte sich als prognostischer Marker eignen, N-Cadherin, das in 90% der MCC de novo synthetisiert wird, als therapeutische Zielstruktur für N-Cadherin-blockierende Peptide. Das in 63% der MCC gebildete Claudin-3, ein Rezeptor für Clostridium perfringens Enterotoxin (CPE), könnte wie in anderen Claudin-3-reichen Tumoren einen therapeutischen Angriffspunkt für gezielte Applikation von CPE darstellen.