

Christian Rupp

Dr. med.

## **CD24 als exosomaler Marker beim Mammakarzinom**

Promotionsfach: DKFZ Heidelberg (Tumorimmunologie)

Doktorvater: Prof. Dr. Peter Altevogt

Exosomen sind kleine Doppellipidmembranvesikel mit einem Durchmesser von 40-100 nm, die durch einwärts gerichtete Knospung aus Multivesikulären Körperchen entstehen. Aufgrund ihrer spezifischen Komposition von Oberflächenmolekülen und Membranlipiden unterscheiden sie sich von Membranbläschen und Mikrovesikeln, die direkt von der Zellmembran abgeschnürt werden. Exosomen können von zahlreichen eukaryotischen Zellen sekretiert und auch aufgenommen werden. Sie können im Zellkulturüberstand und in zahlreichen Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Exosomen von Mammakarzinom-Zelllinien sowie aus dem Serum von Mammakarzinom-Patientinnen isoliert. Das im Mammakarzinom häufig stark überexprimierte GPI-verankerte Molekül CD24 konnte auf 80% der Serumexosomen der untersuchten Patientinnen-Proben nachgewiesen werden. Im Serum gesunder Kontrollpersonen gelang dagegen kein Nachweis von CD24. Neben einer gesteigerten gelatinolytischen Aktivität vermitteln Serumexosomen von Tumorpatientinnen auch einen immunmodulatorischen Effekt und beeinträchtigen die Proliferation von T-Zellen. Interessanterweise besteht ein inverser Zusammenhang zwischen Krankheitsstadium und -progression und der Expression von CD24 auf Serumexosomen.

Des Weiteren wurden Exosomen aus dem Urin untersucht. CD24 konnte hierbei erstmals auf Urinexosomen nachgewiesen werden, wobei alle untersuchten Proben unabhängig von der Krankheitssituation eine vergleichbar hohe Expressionsrate aufwiesen. In tierexperimentellen Versuchen mit CD24-Knock-out-Mäusen wurde der Einfluss von CD24 auf die Produktion von Urinexosomen untersucht. Weder Urinmenge, noch der Gehalt an Exosomen wurde durch die Expression von CD24 signifikant beeinflusst. Histopathologische Untersuchungen konnten eine konstitutive Expression von CD24 auf Podozyten und tubulären Zellen nachweisen. CD24 konnte somit als neuer Marker für humane Urin- und Fruchtwasserexosomen etabliert werden. Mittels Kreuzverpaarungen zwischen CD24-Knock-out-Mäusen mit Wildtyp-Männchen konnten fötale CD24-positive Exosomen in der

maternalen Blutzirkulation nachgewiesen werden. Die bereits vorbeschriebene Modifikation der Serumexosomen bei schwangeren Frauen scheint somit zumindest in Anteilen durch den Eintrag fötaler Exosomen bedingt zu sein.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde ein SNP (Single Nucleotid Polymorphismus) des CD24-Gens untersucht, wobei es zu einem Austausch der Base Alanin durch Valin kommt. Für diesen SNP konnte bereits ein Einfluss auf die Inzidenz und Krankheitsprogression bei Multipler Sklerose nachgewiesen werden. Um einen Einfluss des SNPs auf die Expressionsstärke von CD24 zu untersuchen wurden Mammakarzinom-Zelllinien herangezogen. Hierbei konnte kein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Allel des CD24-SNPs und der Expression von CD24 auf der Zelloberfläche nachgewiesen werden. Ebenso zeigten mit den verschiedenen Allelen transfizierte Mammakarzinom-Zelllinien keinen signifikanten Unterschied in der Oberflächenexpression von CD24. Ebenso zeigte sich kein Unterschied in der Proliferationsrate oder der Produktion von Vesikeln im Zellkulturüberstand zwischen den beiden Transfektanten. Aus Vollblut von 100 Mammakarzinom-Patientinnen wurde genomische DNA isoliert und auf den CD24-SNP analysiert. Der bei MS mit einer schlechteren Prognose assoziierte Val/Val-Polymorphismus konnte in 10% der Patientinnen nachgewiesen werden, was deutlich über der Frequenz aus einer gepoolten historischen Kontrollgruppe (n=1780) liegt.