

Natascha Caroline Haag
Dr. med.

Expression und Funktion der Metalloproteinase ADAM10 im Pankreaskarzinom

Promotionsfach: Chirurgie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Moritz Wentz

Es ist bekannt, dass Mitglieder der ADAM-Familie in einer Reihe von Krankheitsprozessen eine Rolle spielen. So machen sich Tumorzellen die Metalloproteasen zu Nutzen, um ihr Wachstum und ihre Metastasierung voranzutreiben. Auch ADAM10 ist durch seine proteolytische Aktivität an der Progression und dem Metastasierungsprozess zahlreicher solider Tumoren beteiligt. Eine Überexpression von ADAM10 in verschiedenen menschlichen Tumoren wurde beschrieben. Auf mRNA-Ebene zeigte sich im Pankreaskarzinomgewebe sowie im Gewebe von chronischer Pankreatitis im Vergleich zu normalem Pankreasgewebe keine Aufregulation von ADAM10. Auch alle getesteten Zelllinien enthielten ADAM10 mRNA. Auf Proteinebene konnte mittels Western Blot, im Gegensatz zu den qRT-PCR Daten, nur eine schwache Expression sowohl der ADAM10 Proform (~100 kDa) als auch der aktiven Form (~60 kDa) detektiert werden. In Pankreaskarzinomgewebe sowie in Gewebe von chronischer Pankreatitis zeigte sich im Vergleich zu Normalgewebe ein deutlich stärkeres Signal für ADAM10. Darüber hinaus war ein Unterschied hinsichtlich der Expression der Proform und der aktiven Form zwischen Gewebe und Zellysaten zu beobachten. Während in den Zelllinien vornehmlich die inaktive Proform exprimiert wurde, konnte im Gewebe ein stärkeres Signal für die aktive Form detektiert werden. In den immunhistochemischen Analysen stellten sich im Pankreaskarzinomgewebe die Tumorzellen und in Gewebe von chronischer Pankreatitis die tubulären Komplexe stark immunopositiv dar. Hierbei konzentrierte sich die Immunoreaktion hauptsächlich auf das Zytoplasma, aber auch im Nukleus war eine positive Reaktion für ADAM10 zu beobachten, während eine immunhistochemische Reaktion an der Zellmembran mit einer einzigen Ausnahme nicht vorzufinden war. Dieses könnte dafür sprechen, dass ADAM10 nicht nur an extrazellulären sondern über eine Interaktion mit nukleären Proteinen oder DNA auch an intrazellulären Prozessen beteiligt ist. Im normalen Pankreasgewebe waren die Gänge nur fokal immunopositiv, während die Azinuszellen und Inseln ein mäßiges, diffuses Färbeverhalten zeigten. Ein Einfluss von rhADAM10 oder der ADAM10 Suppression mittels siRNA auf die Proliferation der Pankreaskarzinomzelllinien ASPC-1 und COLO-357 konnte nicht festgestellt werden. Somit ist davon auszugehen, dass ADAM10 im Pankreaskarzinom keinen proliferationsfördernden Effekt besitzt. Jedoch zeigte sich im

Matrigel Invasionsassay, dass eine Suppression von ADAM10 zu einer signifikanten Abnahme der Invasionsfähigkeit der Pankreaskarzinomzelllinien ASPC-1 und COLO-357 führte. Ebenso wurde in einem in vitro Wound Healing Assay eine deutlich herabgesetzte Migrationsfähigkeit von Pankreaskarzinomzellen beobachtet werden, nachdem diese mit ADAM10 siRNA transfiziert worden waren. Diese Ergebnisse zeigen, dass ADAM10 im Pankreaskarzinom einen invasions- und migrationsfördernden Effekt auf Tumorzellen besitzt. Eine Verminderung der ADAM10 Substrate E-Cadherin und CXCL16 in Zellkulturüberständen konnte durch siRNA Blockade von ADAM10 nicht erreicht werden.