

Sebastian Heinze  
Dr. med.

## **Expressions- und Mutations-Analyse von Zell-Zell-Adhäsionsmolekülen in Nierenzellkarzinomen**

Geboren am 07.03.1974 in Radolfzell  
Reifeprüfung am 17.05.1993 in Gaienhofen  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1995 bis SS 2001  
Physikum am 20.03.1997 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Mannheim  
Praktisches Jahr in Heidelberg, England, Nepal  
Staatsexamen am 13.11. 2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Chirurgie  
Doktorvater: Prof. Dr. G. Kovacs

Die vorliegende Arbeit umfasst Ergebnisse zur Expressions- und Sequenz-Analyse der Zell-Zell-Adhäsionsmoleküle APC,  $\alpha$ -Catenin,  $\beta$ -Catenin, E-Cadherin und Cadherin-6 in Nierenzelltumoren. Veränderungen im Expressionsprofil, sowie Mutationen der Gene, die für die Zelladhäsion zuständig sind, werden für Wachstum, Zellmorphologie und Metastasenbildung von Tumoren verantwortlich gemacht.

Mutationen in der Mutation Cluster Region (MCR) des APC-Gens führen zu Dickdarmkrebs. Es wurde in diversen Arbeiten bewiesen, dass die Entwicklung und Entstehung verschiedener anderer Tumorarten ebenso durch Mutationen des APC-Gens beeinflusst werden. Mutationen in Exon 3 des  $\beta$ -Catenin-Gens ist assoziiert mit der Entstehung von Tumoren. Die Gene für  $\beta$ -Catenin befinden sich auf Chromosom 3p21, APC auf Chromosom 5q21 und  $\alpha$ -Catenin auf Chromosom 5q31. Auf diesen Genorten wurden regelmäßig Deletionen und Duplikationen in konventionellen Nierenzellkarzinomen gefunden. Das E-Cadherin-Gen wurde auf Chromosom 16q24 lokalisiert, wo häufig Duplikationen in papillären Nierenzellkarzinomen nachweisbar sind. Der Genort 5p14-15 von Cadherin-6 wird mit der Entstehung von verschiedenen Tumorarten in Zusammenhang gebracht. Außerdem wurde gezeigt, dass eine schwache Cadherin-6-Expression mit einer schlechten Prognose der Nierentumorerkrankung in Zusammenhang gebracht werden kann.

Durch Analysen mittels RT-PCR wurden papilläre, konventionelle, chromophobe Nierenzellkarzinome und Nierenonkozytome auf Expressionsabweichungen der Adhäsionsgene untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass es keine gravierenden Unterschiede der Expression dieser Gene aus papillären, konventionellen Nierenzellkarzinomen und Nierenonkozytomen im Vergleich zur Expression der Gene aus normalen Nierenzellen gibt. APC, E-Cadherin,  $\alpha$ -Catenin und  $\beta$ -Catenin werden in allen Tumortypen relativ gleichmäßig exprimiert. Cadherin-6 wird von allen untersuchten Genen am schwächsten exprimiert. Auffällig war die schwache  $\alpha$ -Catenin-,  $\beta$ -Catenin-, E-Cadherin- und Cadherin-6-Expression in chromophoben Nierenzellkarzinomen. Dieses Ergebnis ist womöglich auf eine geringere Stoffwechselaktivität dieses Tumortyps zurückzuführen.

Die Mutationsanalyse der MCR von APC und des Exons 3 des  $\beta$ -Catenin-Gens ließen keine Abweichungen zur Originalsequenz erkennen. Bei der Sequenzanalyse der gesamten

kodierenden Region des  $\alpha$ -Catenin-Gens in 4 konventionellen Nierenzellkarzinomen wurde eine Veränderung zur Originalsequenz in Codon 786 gefunden: T  $\rightarrow$  G Übergang ergibt einen Aminosäureaustausch von Histidin zu Glutamin. Da aber dieser Befund auch in 3 normalen Nierenproben gefunden wurde, deckt dieses Ergebnis vielmehr einen Lesefehler der Originalsequenz auf.

Der Vergleich zwischen Zelllinien und Gewebeproben wurde durchgeführt, um mögliche Veränderungen der Genregulation infolge der Zellkultivierung festzustellen. Dabei wurden Unterschiede bei der  $\beta$ -Catenin-Expression normaler Zellen aus Gewebeproben bemerkt, indem die Expression im Vergleich zu Zelllinien fehlte. Dies könnte ein Hinweis auf veränderte  $\beta$ -Catenin-Expression während der Kultivierung sein. Im allgemeinen wurden die Ergebnisse aber durch Untersuchungen mit Gewebeproben bestätigt und sogar verdeutlicht. Folglich sollten daher Expressionsanalysen eher mit RNS aus Gewebeproben durchgeführt werden. Andererseits sollte aber gewährleistet werden, dass die Proben sehr wenig nicht-tumoröses Material (z.B. Blutbestandteile, Bindegewebe) enthalten, damit reine, tumorspezifische RNS aus Tumorgewebe gewonnen werden kann.

Nierenzelltumore kommen bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz (End-Stage-Renal-Failure; ESRF) unter Dialysebehandlung um das 5-fache häufiger vor als in der allgemeinen Bevölkerung. Etwa 50 mal häufiger als in normalen Nieren entstehen papilläre oder konventionelle Nierenzellkarzinome. Spezifische genetische Unterschiede konnten in diesen Tumorarten nachgewiesen werden. Die Expressionsanalyse mit Tumoren von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz brachten keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den vorher untersuchten Tumoren, außer der schwachen  $\beta$ -Catenin-Expression, die in Tumoren der allgemeinen Bevölkerung nicht nachgewiesen werden konnte. Dieses Ergebnis kann als eine charakteristische Eigenschaft von Tumoren in ESRF-Nieren betrachtet werden.

Als Hauptergebnis dieser Arbeit kann festgestellt werden, dass aufgrund der durchgeführten Sequenz- und Expressionsanalysen die untersuchten Zell-Zell-Adhäsionsgene nicht mit den beschriebenen Chromosomenveränderungen in Zusammenhang gebracht werden können. Die Gene haben keinen wesentlichen Einfluss auf die Entstehung und Progression von Nierenzellkarzinomen.