

Angelika Alonso Hess
Dr. med.

Molekulare Charakterisierung von Zell-Zell-Verbindungen und differenzierungs-spezifische Verteilung von Keratinen im Urothel

Geboren am 19.08.1977 in Heidelberg
Staatsexamen am 10.05.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. J. Kartenbeck

Das Urothel kleidet als hochspezialisiertes Epithel die ableitenden Harnwege aus. Die besondere Aufgabenkombination des Urothels aus Barrierfunktion einerseits und Anpassungsvermögen an veränderte Dehnungszustände andererseits stellt auch besondere Anforderungen an Zell-Zell-Verbindungen und Zytoskelett. Eine vollständige molekulare Charakterisierung der genannten Strukturen war bisher jedoch nicht durchgeführt worden. Weiterhin fehlten bisher wesentliche Aspekte auch der morphologischen Charakterisierung des Urothels, so dass die Zuordnung des Urothels zu den mehrschichtigen oder zu den mehrreihigen Epithelien derzeit kontrovers diskutiert wird. Ziel der vorliegenden Arbeit war eine möglichst vollständige molekulare Charakterisierung von Zell-Zell-Verbindungen und Elementen des Zytoskeletts. Darüber hinaus sollte eine auf morphologischen und molekularen Kriterien basierende Einordnung des Urothels in die gängige Einteilung der Epithelien versucht werden.

Zur molekularen Charakterisierung der Zell-Zell-Verbindungen sowie der Keratine wurden Immunfluoreszenzmikroskopie und Immunoblotting angewandt. Der molekulare Aufbau der Desmosomen unterschied sich in den Urothelien von Harnblase, Nierenbecken und Ureter nicht. Lediglich für embryonale Harnblase konnte immunfluoreszenzmikroskopisch eine Synthese von Dsg 1 in Superfizialzellen nachgewiesen werden, die im adulten Gewebe nicht zu finden war. Von den desmosomalen Cadherinen wurden Dsg 2 und Dsc2 entlang der Zellgrenzen aller Zellschichten gefunden, während Dsc 3 nur in der Basalzellschicht nachweisbar war. Dsc 1 konnte in keinem der untersuchten Gewebe nachgewiesen werden.

Die Plaqueproteine Desmoplakin und Plakoglobin zeigten sich ebenso wie die Isoform Plakophilin 3 in allen Zellschichten. Plakophilin 2 konnte in Beschränkung auf die Basalzellschicht nachgewiesen werden, eine Synthese von Plakophilin 1 fand sich in der vorliegenden Arbeit nicht.

Auch die Intermediate junctions zeigten in Bezug auf ihren molekularen Aufbau keine Unterschiede in den verschiedenen Geweben. Von den Cadherinen konnte E-Cadherin in allen Zellschichten und im Immunoblotting auch P-Cadherin nachgewiesen werden. Sowohl α - als auch β -Catenin fand sich in gleicher Lokalisation wie E-Cadherin, der Nachweis von Plakoglobin wurde bereits im Zusammenhang mit den Desmosomen erläutert.

Die Tight junctions des Urothel, die in allen untersuchten Geweben den gleichen molekularen Aufbau aufwiesen, zeigten immunfluoreszenzmikroskopisch eine Lokalisation mit linearer Umrandung der Superfizialzellen. Hier konnten neben dem Transmembranprotein Occludin und den peripheren Membranproteinen ZO-1, ZO-2 und Cingulin auch die Isoformen 3 und 5 der Claudine nachgewiesen werden. Die Claudine 1 und 4 fanden sich in der vorliegenden

Untersuchung entlang der Zellgrenzen aller Zellschichten, Claudin 2 dagegen konnte im Urothel nicht nachgewiesen werden.

Für die Keratine konnten in der vorliegenden Arbeit einige Besonderheiten der verschiedenen Gewebe im Kombinationsmuster aufgezeigt werden. In allen untersuchten Geweben und in allen Zellschichten konnten die Keratine 7, 8, 18 und 19 nachgewiesen werden, wobei die genannten, insbesondere das Keratinpaar 8/18, eine besonders starke Reaktion in der Superficialzellschicht zeigten. K20 war in vielen, nicht aber in allen Zellen der Superficialzellschicht zu finden. Lediglich im Nierenbecken konnte kein K20 nachgewiesen werden. Die Synthese von K17 fand sich ebenso wie das Keratinpaar 5/14 in Beschränkung auf die Basalzellen, während K13 sowohl in den Basal- als auch in den Intermediärzellen nachzuweisen war. Einzelne Zellen vorwiegend der basalen Zellbereiche waren K4-positiv. Solche Zellen konnten im Ureter allerdings nicht nachgewiesen werden. K6 dagegen zeigte lediglich im Nierenbecken eine positive Reaktion in basalen und intermediären Zellen.

In der vorliegenden Arbeit konnte durch elektronenmikroskopische und immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchung der Deckzellen weiterer Aufschluss über die histologische Sonderstellung des Urothels gewonnen werden. So fanden sich bei elektronenmikroskopischer Untersuchung der Zell-Zell-Kontakte Desmosomen an der basalen Fläche der Deckzellen, die diese analog zum Aufbau mehrschichtiger Epithelien mit darunter liegenden Zellen verbinden. Immunfluoreszenzmikroskopisch konnte mit einem gegen K 20 gerichteten Antikörper kein direkter Kontakt der Zellausläufer der Deckzellen mit der Basalmembran nachgewiesen werden. Alle darunter liegenden Zellen zeigten sich sowohl elektronen- als auch immunfluoreszenzmikroskopisch direkt mit der Basalmembran verbunden. Bei Untersuchung der im Urothel exprimierten Keratine fanden sich neben den für einfache Epithelien typischen Keratinen 7, 8, 18, 19 und 20 auch für mehrreihige Epithelien typische Keratine wie K13 sowie Keratine mehrschichtiger Epithelien wie K17 oder im Nierenbecken auch K6. Auch die dargelegte molekulare Zusammensetzung der Desmosomen mit großer Ähnlichkeit zu epidermalen Desmosomen, aber Besonderheiten im Bereich der Superficialzellschicht, unterstreicht die Sonderstellung des Urothels mit nach apikal zunehmend komplexer Differenzierung.

Zusammenfassend zeigt das Urothel damit neben Charakteristika sowohl mehrschichtiger als auch mehrreihiger Epithelien auch Urothel-spezifische morphologische und molekulare Merkmale, so dass eine Zuteilung des Urothels zu den mehrschichtigen oder den mehrreihigen Epithelien wie allgemein diskutiert, unter Berücksichtigung der vorliegenden Ergebnisse, dem komplexen Aufbau des Urothels nicht gerecht wird.