

Holger Bronger

Dr. med.

Expression und Lokalisation von Exportpumpen der ABCC-Familie und von Aufnahmetransportern für organische Anionen in Gliomen des Menschen

Geboren am 26.05.1979 in Aachen

Staatsexamen am 06.12.2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Tumorbiochemie (Deutsches Krebsforschungszentrum)

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Dietrich Keppler

Die Prognose maligner Gliome hat sich in den letzten 30 Jahren kaum verbessert. Ursachen hierfür liegen in der unzureichenden chirurgischen Interventionsmöglichkeit, der geringen Strahlungssensitivität und in der ausgeprägten Resistenz dieser Tumoren gegenüber zytostatischen Wirkstoffen. Die Expression von Exportpumpen der ABC-Familie und das Fehlen von geeigneten Aufnahmetransportern scheinen wesentlich zur Resistenzentstehung beizutragen. Mit Ausnahme von ABCB1, ABCC1 und ABCG2 war die Expression dieser Transportproteine im Gliom bisher nur unzureichend charakterisiert worden.

Ziel dieser Arbeit war es daher, die Expression und Lokalisation von Exportpumpen der ABCC-Familie (ABCC1-ABCC6, frühere Bezeichnung MRP1-MRP6) und Aufnahmetransportern für organische Anionen (OATP) erstmals in Gliomen unterschiedlichen histologischen Subtyps und Malignitätsgrades zu analysieren. Diese Untersuchungen sollten die Grundlagen für die Bewertung der Bedeutung dieser Transporter für die Resistenz maligner Gliome schaffen.

Es wurden insgesamt 61 Resektatproben astrozytärer, oligodendroglärer und gemischter Gliome untersucht. Mittels RT-PCR-Experimenten wurden die mRNAs von *ABCC1*, *ABCC3*, *ABCC4*, *ABCC5*, *SLCO1A2*, *SLCO2B1*, *SLCO1C1* und *SLCO4A1* in den Proben detektiert. Immunblot-Analysen mit isoformspezifischen, affinitätsgereinigten Antikörpern zeigten die Expression von ABCC4 und ABCC5 in Gliomen. ABCC4 war dabei etwas geringer glykosyliert als in der Leber und in den als Positivkontrolle verwendeten *ABCC4*-transfizierten V79-Zellen. Beide Proteine wurden durch Immunfluoreszenz-Färbungen und anschließende konfokale

Laserrastermikroskopie in der Blut-Hirn- und der Blut-Tumor-Schranke lokalisiert, wobei ihre Expression in den proliferierenden Endothelzellen höhergradiger, besonders in den oligodendroglären Tumoren teilweise verloren ging. Dies ist ein Indikator des zunehmenden Integritätsverlustes der Blut-Hirn-Schranke. Beide Exportpumpen sind in den Endothelzellen in der luminalen Plasmamembran lokalisiert. Reaktive Astrozyten zeigen ebenfalls eine starke Expression der ABCC4- und ABCC5-Proteine, insbesondere in ihren perivaskulären Endfüßchen. Tumorzellen bilden vor allem dann die Proteine, wenn sie histologisch und zellbiologisch einem astrozytären Phänotyp entsprechen. Eine Korrelation zwischen der Expression beider Proteine in den Gliomzellen und dem Malignitätsgrad des Tumors konnte nicht festgestellt werden.

Die Immunfluoreszenz-Experimente zur Lokalisation von Mitgliedern der OATP-Familie zeigten eine endothelial-luminale Lokalisation von OATP1A2 und OATP2B1, letzteres konnte erstmalig im Gehirn beschrieben werden. Ein Verlust dieser Expression in höhergradigen Gliomen wurde nicht festgestellt. Immunblot-Untersuchungen zeigten, dass OATP2B1 ähnlich wie in der Leber gering glykosyliert ist, während OATP1A2 in zwei verschiedenen Glykosylierungsstufen, hauptsächlich jedoch unglykosyliert vorliegt. OATP1C1, OATP4A1, OATP1B1 und OATP1B3 wurden weder in Immunblot- noch in Immunfluoreszenz-Analysen nachgewiesen und scheinen somit weder im Normalhirn noch in Gliomen eine Rolle zu spielen.

Die Existenz der Exportpumpen ABCC4 und ABCC5 in den Gliomzellen zeigt, dass beide Proteine zur ausgeprägten Chemoresistenz von Gliomen beitragen können. Andererseits zeigt die Existenz der Aufnahmetransporter OATP1A2 und OATP2B1, dass organische Anionen über die Blut-Tumor-Schranke gelangen können. Andererseits bleibt der Aufnahmemechanismus für organische Anionen in den Gliomzellen selbst zu klären. Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit zeigen, dass es wünschenswert ist, die Transporterausstattung im jeweiligen Tumor zu kennen oder zu bestimmen, um eine wirksame Chemotherapie zu ermöglichen.