

Lars Konrad

Dr. med.

Transmembrandomänenproteine und sekretorische Proteine:

Untersuchung von selektierten Zielgenen der MSI-Karzinogenese im Dickdarm

Geboren am 19.08.1979 in Speyer

Staatsexamen am 23.04.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Magnus von Knebel Doeberitz

Epidemiologische Veränderungen und Fortschritte der Naturwissenschaften haben Tumorerkrankungen im letzten Jahrhundert zu einem zentralen Gegenstand medizinisch-biologischer Forschungen werden lassen. Krebserkrankungen sind derzeit nach den Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems die zweithäufigste Todesursache in den Industrieländern. Das kolorektale Karzinom ist in den westlichen Ländern eine der zahlreichsten malignen Erkrankungen und ist sowohl für Frauen als auch für Männer die zweithäufigste Krebstodesursache. HNPCC ist ein autosomal-dominantes Prädispositionssyndrom mit früh auftretenden kolorektalen Karzinomen und anderen Neoplasien und tritt bei ca. 3-5 % aller kolorektaler Karzinome auf. Die Kolonkarzinogenese verläuft bei HNPCC-Patienten allerdings nicht über die gut charakterisierte Adenom-Karzinom-Sequenz, sondern ist Folge einer MSI aufgrund eines defekten MMR-Systems. MSI tritt bei ca. 90 % aller HNPCC-Karzinomen und bei ca. 15 % aller sporadischen kolorektalen Karzinomen auf. Die Identifikation selektierter Zielgene wird künftig möglicherweise helfen, die molekularen Mechanismen der MSI-Karzinogenese aufzuklären und den Weg für neue diagnostische und therapeutische Ansatzpunkte zu ebnen.

Ziel dieser Arbeit war es, neue selektierte Zielgene der MSI-Karzinogenese im Dickdarm zu identifizieren. Dafür wurden Gene mit Transmembrandomänen und Gene sekretorischer Proteine (MNRs \geq 8bp) aus einer Genom-weiten humanen MNR-Datenbank ausgewählt. Diese 43 Gene mit kodierenden Mikrosatelliten wurden jeweils auf Längenveränderungen in 98 MSI-H Kolontumoren und ihren korrespondierenden Normalgeweben untersucht. Zusätzlich wurden diese Ergebnisse mit den Resultaten der Referenzanalysen von 20 MSI-H

Zelllinien, 1 MSI-L Zelllinie, 18 MSS Zelllinien und 64 Leukozyten-DNA Proben gesunder Spender verglichen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden mit dem Modell zur Identifikation selektierter Zielgene von Wörner bewertet. Sechs der 43 Kandidatengene zeigten, bezogen auf die Länge ihres MNRs, eine auffällige Mutationsrate: ADAMTSL1, ADAMTSL4, CTSC, EPHB2 und ROBO2 waren signifikant häufiger mutiert als das aus den Berechnungen aller bisher bekannten Mutationsfrequenzen zu erwarten gewesen wäre. RXFP2 war signifikant seltener mutiert, und wurde somit als negativ selektiertes Zielgen eingestuft. CTSC fiel mit einer Mutationsrate von 88,54 % für einen ursprünglich beschriebenen A8-MNR besonders auf. Weitere Analysen konnten einen zusätzlichen nicht-kodierenden T13-MNR im Intron 1 identifizieren. Mittels Sequenzierung von CTSC konnte das Mutationsmuster auf den T13-iMNR zurückgeführt werden und damit die Deklaration als selektiertes Zielgen revidiert werden. Auch eine mögliche Splicevariante mit Exonskipping und verminderter Expression konnte durch RT-PCR von CTSC ausgeschlossen werden. Die nächsten Schritte waren Datenbankanalysen, bei denen die Proteinfunktion der Zielgene durchleuchtet und die möglichen Konsequenzen einer Mutation diskutiert wurden. Allen ermittelten selektierten Zielgenen konnte eine mögliche Rolle in der Karzinogenese nachgewiesen werden. Im Falle von ADAMTSL1 und ADAMTSL4 könnte ihre Funktionsänderung als potente Angiogeneseinhibitoren und Zell-Matrix-Interaktionsmodulatoren zur Tumorprogression beitragen. Weiterhin sind Funktionen der Onkogenaktivierung, Tumorsuppressorgeninaktivierung und Apoptoseinaktivierung beschrieben. ROBO2 wird ebenfalls mit Funktionen der Angiogenese und Zell-Zell-Interaktion in Zusammenhang gebracht und wurde bereits an anderen Tumorentitäten diskutiert. RXFP2 ist als negativ selektiertes Zielgen durch seine Integration in Mechanismen des Tumorzellwachstums, -differenzierung, -invasion und Neovaskularisation ein interessantes Zielgen der Karzinogenese. EPHB2 zeigte in weiteren Publikationen eine Korrelation zwischen Fortschritt der kolorektalen Karzinogenese, Aggressivität, Metastasierung und zunehmender EPHB2-Inaktivierung. Seine Rolle in der Karzinogenese scheint allerdings bei verschiedenen Tumorentitäten unterschiedlich zu sein.

Die beschriebenen Ergebnisse machen diese fünf Gene zu interessanten Zielgenen der MSI-Karzinogenese im Dickdarm. Die Instabilität bei kodierenden Mikrosatelliten führt bei den meisten Transkripten über eine Leserasterverschiebung während der Translation zu carboxyterminalen Neopeptiden. Im Falle der sezernierten Proteine ADAMTSL1 und ADAMTSL4 könnten diese Neopeptide als idealer Tumormarker dienen. Für die Transmembranproteine ROBO2, RXFP2, und EPHB2 wäre die Bildung von Neopeptiden

ebenfalls für die Diagnostik, aber vor allem für die Therapie und Prävention interessant. Eine hochpräzise, nebenwirkungsarme Chemotherapie wäre denkbar. Ein weiterer Schritt könnte die Prävention oder Therapie durch Vakzinierung sein. Eine gesteigerte Immunogenität dieser Neoplasien wurde bereits an einigen Beispielen demonstriert. Durch die Vakzinierung könnten Krebserkrankungen durch körpereigene Abwehrmechanismen kontrolliert und sogar verhindert werden.

Weiterführende Analysen der prognostizierten Neopeptide sind notwendig, um die Nachweisbarkeit, Sensitivität und Spezifität zu prüfen. Ein letzter Schritt wäre die Effektivität und Verträglichkeit möglicher Chemotherapien und Vakzinierungen in Studien und Therapieversuchen zu verifizieren und mit bereits bekannten Therapieoptionen zu vergleichen.