

Claudia Stefanie Albert
Dr. med.

Expression von Prostaglandin H Synthase-1 und -2 in normalem und pathologisch veränderten Kolongewebe des Menschen

Geboren am 25.01.1972 in Trier
Reifeprüfung am 27.05.1991 in Trier
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1992 bis SS 1999
Physikum am 29.03.1994 an der Ruprecht-Karls Universität, Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Lyon (Frankreich) und Heidelberg
Staatsexamen am 26.11.1999 an der Ruprecht-Karls Universität, Heidelberg

Promotion am Deutschen Krebsforschungszentrum, Heidelberg
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. W. D. Lehmann

Die Expression der Prostaglandin H-Synthase (PGHS)-Isoenzyme-1 und -2 wurde in 3 normalen physiologischen Kolonbiopsien, in 5 adenomatösen Polypen und in 10 Adenokarzinomen sowie in 3 M.Crohn-Läsionen einer Patientin untersucht.

Die mRNA-Expression wurde mittels semiquantitativer RT-PCR-Analyse gemessen. Hierzu wurden zunächst isoenzymspezifische Standard-Konstrukte aus PGHS- und eLOX-cDNA-Sequenzen kloniert. Native PGHS-mRNA und korrespondierender Standard wurden mit der Reversen Transkriptase in cDNA umgeschrieben, anschließend mit isoenzym-spezifischen Primern in der PCR-Reaktion amplifiziert und durch Agarosegel-Elektrophorese analysiert. Die qualitative Überprüfung der PCR-Amplifikate erfolgte durch Restriktionsenzymverdau, durch Southern Blotting und exemplarisch durch Sequenzanalyse. In allen Proben konnte eine Expression der beiden Isoenzym-mRNAs nachgewiesen werden. Die semiquantitative Analyse ergab für neoplastisch verändertes Kolon (Adenome und Karzinome) eine im Vergleich mit Normalkolon signifikant verminderte PGHS-1-mRNA-Konzentration. Die PGHS-2-mRNA-Mengen waren dagegen nicht signifikant verschieden.

Die Expression der PGHS-Proteine wurde mittels Immunpräzipitation und Western Blotting und dann durch Immunhistochemie an Paraffinschnitten bestimmt. PGHS-1-Protein war konstitutiv in allen 22 untersuchten Proben unabhängig von der klinischen Diagnose exprimiert, allerdings in Adenomen und Karzinomen etwas schwächer als in Normalgewebe. Für PGHS-2 galt: 2 von 4 Normalkolonproben und 2 von 5 adenomatösen Polypen waren negativ; 3 der Polypen zeigten ein schwaches bis moderates Immunsignal; die Karzinomproben waren alle positiv, wobei die PGHS-2-Expression zwischen schwach und extrem hoch variierte. Es fand sich keine Korrelation mit der Histopathologie oder der Einstufung der Tumore.

Bei der immunhistochemischen Lokalisation der PGHS-Isoenzyme wurde im Normalkolon PGHS-1 sowohl interstitiell in der Lamina propria, in den glatten Muskelzellen der Lamina muscularis und der Tunica muscularis, in lymphatischem Gewebe als auch im Oberflächenepithel und in den oberen Kryptenanteilen gefunden. In den unteren Kryptenbereichen beschränkte sich die Immunreaktion auf endokrine Zellen. Auf zellulärer Ebene war PGHS-1 in den Kolonozyten nur cytoplasmatisch, in den endokrinen Zellen cytoplasmatisch und nukleär lokalisiert. PGHS-2 war in diesen Proben nur schwach und vereinzelt im Oberflächenepithel nachweisbar. In den M.Crohn-Proben war die Isoenzym-verteilung umgekehrt. PGHS-1 war hier nur schwach im Oberflächenepithel und entzündlichen Infiltraten vertreten, wohingegen PGHS-2 stark exprimiert wurde. In Adenomen überwog die PGHS-1 in Epithelzellen, endokrinen Zellen und Lamina propria gegenüber PGHS-2, die sich mit schwacher Intensität auf

Lamina propria und vereinzelt auf Epithelzellen beschränkte. In Karzinomen wurde PGHS-2 überwiegend epithelial in neoplastisch veränderten Kolonozyten exprimiert, wobei auch das Interstitium angefärbt wurde. Auf zellulärer Ebene wurde die PGHS-2-Färbung cytoplasmatisch, gelegentlich auch perinukleär gefunden.