



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Die Bedeutung der Matrix-Metalloproteinasen 2, 7 und 9 bei der
Metastasierung des Urothelkarzinoms der Harnblase**

Autor: Daniel Knauf
Institut / Klinik: Klinik für Urologie
Doktorvater: Prof. Dr. Ch. Bolenz

Das Urothelkarzinom der Harnblase ist trotz radikaler operativer Therapie mit einer hohen Rezidiv- und Mortalitätsrate behaftet. Ein wesentlicher Grund für die Rezidivbildung ist das Vorhandensein einer Mikrometastasierung. Als Surrogat-Parameter für diesen Prozess wurde die lymphovaskuläre Invasion im Zystektomie-Präparat identifiziert. Die initialen Mechanismen der Metastasierungskaskade des Urothelkarzinoms sind unbekannt. Präklinische Untersuchungen zur Migration und Invasion sowie zu sekretorischen Prozessen von Tumorzellen sind notwendig für das Verständnis der lokalen Tumorprogression und für die Identifizierung möglicher therapeutischer Zielstrukturen. Schlüsselenzyme der Invasion des Urothelkarzinoms sind die Matrix-Metalloproteinasen (MMP). Insbesondere MMP2, 7 und 9 sind aufgrund ihrer proteolytischen Aktivität maßgeblich an der Degradation der extrazellulären Matrix beteiligt.

In der vorliegenden Arbeit wurde die MMP-Expression von fünf humanen Urothelkarzinomzelllinien und einer benignen Urothelzelllinie mittels Gelatine-Zymographie und Western Blot analysiert und im Anschluss mit dem invasiven Verhalten in einem von unserer Arbeitsgruppe etablierten elektrophysiologischen Invasionsassay verglichen. Weiterhin wurde die Invasion mithilfe eines unspezifischen MMP-Inhibitors sowie dem Epidermalen Wachstumsfaktor (EGF) manipuliert. Schließlich wurde mittels RNA-Interferenz eine zielgerichtete Inhibition der MMP7-Expression durchgeführt.

Das invasive Potenzial der Tumorzellen korrelierte nicht eindeutig mit der MMP-Expression. Der Einsatz des MMP-Inhibitors AHA führte nur bei einer Zelllinie zu einer Reduzierung des invasiven Potenzials. Bei der *low grade*-Urothelkarzinomzelllinie RT4 und den benignen Zellen der UROtsa-Reihe konnte eine EGF-Stimulation die Invasivität erhöhen und bei UROtsa die Transformation von einer nichtinvasiven in eine invasive Zelllinie induzieren. EGF erhöhte die MMP9-Expression der UROtsa-Zelllinie zeit- und konzentrationsabhängig. Durch den zielgerichteten, optimierten MMP7-*Knockdown* in der Zelllinie HT1197 konnte deren MMP7-RNA-Expression und das invasive Potenzial signifikant reduziert werden.

Durch die standardisierte *in vitro*-Evaluation des invasiven Potenzials humaner Urothelkarzinomzellen konnten wichtige Erkenntnisse über die Mechanismen der Invasion des Urothelkarzinoms gewonnen werden. Sekretorische Prozesse sind beteiligt und MMP7 ist ein funktionelles Schlüsselenzym der initialen Metastasierungskaskade. Nach einer Validierung und weiterer Charakterisierung der Regulation kann MMP7 eine molekulare Zielstruktur für innovative Therapieansätze des Urothelkarzinoms der Harnblase darstellen.