

Sophie von Richter  
Dr. med.

## **Die Rolle des neuen VEGFR-2 Liganden Gremlin in der Angiogenese, Metastasierung und Resistenzentwicklung des kolorektalen Karzinoms**

Fach/Einrichtung: Chirurgie  
Doktorvater: Prof. Dr. Dr. med. Thomas Schmidt

Die Tumorangiogenese ist entscheidend am Fortschreiten von Krebserkrankungen beteiligt. Mittlerweile haben Krebserkrankungen kardiovaskuläre Erkrankungen als häufigste Todesursache in den reichen Ländern bis zu einem Alter von 70 Jahren abgelöst (PURE-Study, 2019) und es wird weiterhin intensiv nach immer effektiver wirkenden und die Prognose verlängernden Therapien gesucht. Der Einfluss angiogener Faktoren auf den Prozess der Tumorangiogenese ist dabei zentraler Bestandteil der aktuellen Tumorforschung. In der vorliegenden Arbeit wurde der Frage nachgegangen, inwieweit sich die Expression von Gremlin und weiterer angiogener Faktoren in den kolorektalen Tumoren und deren Lebermetastasen im Vergleich zum korrespondierenden Normalgewebe unterscheidet und inwieweit diese Expression mit der Gefäßdichte, dem Tumorstadium sowie der Prognose der Patienten korreliert.

Hierfür wurde die Expression von Gremlin-1, die Expression von VEGF-A sowie die Expression von sVEGFR-1 und VEGFR-2 im Primärtumor im Gegensatz zur korrespondierenden Normalschleimhaut bei 111 Patienten und die Expression der Faktoren in der Lebermetastase im Gegensatz zum korrespondierenden Normallebergewebe bei 26 Patienten mittels quantitativer „real time“ RT-PCR untersucht. Dabei zeigte sich im Kollektiv ‚CRC‘ Gremlin in 55,9% der Fälle höher im Tumor als in der zugehörigen Normalschleimhaut exprimiert. In der Lebermetastase war die Expression in 84,6% signifikant höher als im restlichen Lebergewebe und dabei korrelierte die Höhe von Gremlin mit der Größe des initialen Primärtumors.

VEGF-A fand sich bei 42,3% der Primärtumoren höher als in der Schleimhaut. In der Leber zeigte sich jedoch mit 73,1% eine deutlich stärkere Expression von VEGF-A als in der Lebermetastase. sVEGFR-1 konnte bei 52,3% der kolorektalen Karzinome höher im Tumor als in der Schleimhaut gemessen werden. In der Leber zeigte sich in 69,3% der Fälle eine stärkere Expression als in der Lebermetastase. VEGFR-2 wurde bei 45% der Patienten des Kollektivs ‚CRC‘ höher im Tumor als in der Schleimhaut gemessen, in der Leber zeigte sich in 96,2% der Fälle eine deutlich höhere VEGFR-2 Expression als in der Lebermetastase. Dabei zeigte sich, dass weitestgehend alle angiogenen Faktoren untereinander positiv korrelierten.

Bei 114 der Patienten wurde mittels Immunhistochemie mit dem monoklonalen Antikörper gegen das endotheliale Thrombozytenadhäsionsmolekül CD31 (PECAM-1) die intratumorale Gefäßdichte bestimmt und mit Hilfe einer neu etablierten Methode zur Quantifizierung wurde das Perfusionsareal sowie der CD31-positive Bereich als Ausdruck der Tumovaskularisation bestimmt. Mit diesen Daten wurde das Ausmaß der Neoangiogenese zu klinikopathologischen und potentiell prognostisch bedeutsamen Faktoren untersucht. Hierbei zeigte sich, dass in der vorliegenden Arbeit eine geringere CD31-spezifische Mikrogefäßdichte mit einer signifikant schlechteren Prognose hinsichtlich der Überlebenszeit korrelierte. Dabei konnte eine

signifikant negative Korrelation zwischen den Perfusionsparametern und der Menge an sVEGFR-1 beobachtet werden. Die Menge an im Serum zirkulierenden Gremlin wurde per ELISA bei 74 der 111 Patienten des Kollektivs ‚CRC‘ sowie 16 der 34 Patienten des Kollektivs ‚LM‘ in pg/ml gemessen. Der Mittelwert betrug bei den Patienten mit kolorektalem Karzinom 110,6 pg/ml  $\pm$ 42,7 (SD) und mit Lebermetastasen 132,2 pg/ml  $\pm$  35,4. Patienten mit Lebermetastasen hatten hierbei signifikant höhere Werte von Gremlin im Serum ( $p=0,043$ ).

Schlussfolgernd lässt sich beobachten, dass Gremlin in der Lebermetastase signifikant höher als im korrespondierenden Lebergewebe exprimiert wurde und die Expressionshöhe von Gremlin mit der Größe des initialen Primärtumors korrelierte. Auch die Konzentration von Gremlin im Serum war bei Patienten mit Lebermetastasen signifikant höher. Die Expression der weiteren angiogenen Faktoren zeigte sich im Gegensatz hierzu im normalen Lebergewebe deutlich höher als in der Metastase. Bei den kolorektalen Karzinomen ergab sich hingegen ein nicht so klares Bild. Hier war Gremlin in 55,9% der Fälle stärker im Tumor exprimiert. Weiterhin ließen sich keine signifikanten Unterschiede der Expressionswerte der Angiogenesemarker abhängig vom Tumorstadium, von der initialen Tumorgöße, von der Lymphknotenbeteiligung, vom Metastasierungsgrad oder vom Differenzierungsgrad feststellen. Auch zeigte sich keine Abhängigkeit der Expressionshöhe der jeweiligen angiogenen Marker vom Ausmaß der Mikrogefäßdichte. Ein hohes Tumorstadium, eine Lymphknotenbeteiligung sowie das Vorhandensein von Fernmetastasen waren statistisch signifikant assoziiert mit einer schlechteren Prognose. Entgegen der initialen Vermutung war eine geringer ausgeprägte Tumovaskularisation assoziiert mit einer schlechteren Prognose. Für die weiteren untersuchten Variablen ließ sich kein statistisch signifikanter Einfluss erkennen.

In der vorliegenden Arbeit bieten die Expressionswerte der angiogenen Faktoren keine Vorhersagekraft für prognostische Überlegungen. Allerdings lieferten die Expressionswerte von Gremlin in der Lebermetastase neue, klinisch potentiell bedeutsame Resultate. Der Einsatz von Gremlin als prädiktiver oder prognostischer Biomarker bleibt damit Gegenstand zukünftiger Forschung. Da die Metastasierung nach wie vor der prognostisch ungünstigste Faktor beim kolorektalen Karzinoms ist, wäre zum Beispiel eine synergistische Blockade von Gremlin und VEGF denkbar. Daher sind weiterführende Studien nötig, um die genaue Rolle von Gremlin zu verstehen und einen potentiellen Einsatz in der klinischen Routine zu rechtfertigen.