

Jana Brüggemann

Dr. med.

Über die Untersuchung endometrialer epithelialer Krebszellenlinien (HEC-1A und Ishikawa) auf den Einfluss von Insulin und Metformin bezüglich des Metastasierungspotentials

Fach/Einrichtung: Frauenheilkunde

Doktormutter: Prof. Dr. med. Ariane Germeyer

Das Endometriumkarzinom (EC) ist eine der häufigsten malignen Erkrankungen bei Frauen. Risikofaktoren sind unausgeglichene Östrogenspiegel, Hyperglykämien und Hyperinsulinämien. Metformin verbesserte in retrospektiven Studien das Gesamtüberleben von EC-Patient*innen und in in vitro Studien wurden krebshemmende Wirkungen auf verschiedene Krebsarten festgestellt.

In dieser in vitro Studie wurden die EC-Zelllinien Ishikawa und HEC-1A unter 12 verschiedenen Bedingungen 7 Tage lang kultiviert. Neben einer unbehandelten Kontrolle wurde eine Behandlung mit Metformin (0,1 und 1,0 mmol/L), Insulin (100 ng/mL) oder einer Kombination aus beidem in normoglykämischen (5,5 mmol/L) oder hyperglykämischen (17,0 mmol/L) Medium mit 10 nmol/L β -Estradiol durchgeführt.

Mithilfe eines zuvor durchgeführten Transkriptom-Array-Ansatzes (> 80 Gene wurden in HEC-1A Zellen mit und ohne 1,0 mM Metformin unter der hyperglykämischen Bedingung (17mM Glukose) untersucht) wurden 10 Gene ausgewählt, die in dieser Arbeit mittels qPCR unter den beschriebenen Versuchsbedingungen untersucht wurden. Die Proteine COL1A1, TIMP-2 und MMP-9 wurden zusätzlich mittels Western Blotting untersucht.

CEACAM1 trägt zur Zelladhäsion bei und hemmt die Tumorgenese. Die Hyperglykämie sowie die Hyperinsulinämie hatten einen negativen Einfluss auf die Genexpression von CEACAM1 in HEC-1A-Zellen, während eine Metforminbehandlung eine protektive Wirkung entfaltete. In den Ishikawa-Zellen war CEACAM1 jedoch nicht detektierbar.

α -Catenin beeinflusst die Zelladhäsion und wird kodiert durch CTNNA1, dessen vermehrte Expression als tumorsuppressiv zu werten ist. In dieser Arbeit konnte kein Effekt der Behandlungen auf die Genexpression in HEC-1A und Ishikawa-Zellen gezeigt werden.

COL1A1 kodiert die pro-alpha1-Kette des Typ-I-Kollagens und eine verstärkte Genexpression von COL1A1, hingegen eine verminderte Proteinexpression von COL1A1 sind als tumorsuppressiv zu werten. In den HEC-1A Zellen zeigte sich eine hohe Varianz in der COL1A1-Proteinexpression, während in der qPCR keine Genexpression gemessen werden konnte. In den Ishikawa-Zellen trat in der qPCR keine eindeutige Regulation durch eine Hyperglykämie, Hyperinsulinämie oder Metforminbehandlung auf. Eine tumorsuppressive Regulation auf die COL1A1-Proteinexpression wurde durch eine Metforminbehandlung unter Hyperinsulinämie bei Normoglykämie beobachtet.

Eine Hyperglykämie führte zu einer tumorsuppressiven Regulation der Proteinexpression unter Kontrollbedingungen.

MMP-2 und MMP-9 bauen neben anderen Substraten auch Kollagen ab. Eine Herabregulierung der MMPs kann zu einer geringeren Tumorprogression führen. Für das Gen MMP-2 zeigten sich keine signifikanten Effekte durch eine Hyperinsulinämie oder Metforminbehandlung. In den HEC-1A-Zellen trat eine verminderte Genexpression von MMP-9 unter Behandlung mit 1,0 mM Metformin unter normoglykämischer Bedingung auf, dies konnte auf Proteinebene jedoch nicht erneut gezeigt werden. In den Ishikawa-Zellen wurde MMP-9 im Western Blot durch eine Metforminbehandlung in normo- und hyperinsulinämischen Verhältnissen unter normoglykämischer Bedingung herunterreguliert., während auf Genebene keine signifikante Regulation beobachtet werden konnte. Eine Hyperinsulinämie unter Hyperglykämie hatte wiederum keinen signifikanten Effekt auf die Gen- und Proteinexpression von MMP-9.

MMP-10 konnte in der qPCR der HEC-1A-Zellen nicht detektiert werden und in den Ishikawa-Zellen wurden keine signifikanten Regulationen durch die Behandlungen beobachtet.

TIMPs hemmen die MMPs, sodass eine geringe Expression mit einer verstärkten Metastasierung verbunden wird, lediglich eine verminderte Expression von TIMP-1 gilt als tumorsuppressiv. Eine Genregulation von TIMP-1 konnte in den untersuchten Zellen nicht beobachtet werden. Unter Behandlung mit 1,0 mM Metformin unter Hyperinsulinämie fand sich eine Hochregulation der Gene TIMP-3 in den Ishikawa-Zellen sowie TIMP-4 in den HEC-1A-Zellen. Eine Runterregulation von TIMP-2 unter Metforminbehandlung konnte in den Ishikawa-Zellen sowohl auf Gen- wie auch Proteinebene beobachtet werden. Es wurden somit sowohl tumor-progressive als auch -suppressive Effekte auf die TIMP-Expression durch eine Behandlung mit Metformin erfasst, je nach vorliegenden Zuckerstoffwechselveränderungen. Eine Hyperinsulinämie führte in den HEC-1A-Zellen zu keiner Regulation, jedoch wurde in den Ishikawa-Zellen für TIMP-3 unter normoglykämischer Bedingung eine Runterregulation beobachtet, während unter einer hyperglykämischen Situation in beiden Zelllinien keine signifikanten Effekte beobachtet werden konnten.

Die durchgeführte in vitro Studie zeigte verschiedene, zum Teil anti-tumoröse lokale Wirkungen von Metformin sowie zum Teil tumorproliferative Wirkungen von Insulin und Glukose auf die Expression der untersuchten Gene und Proteine in den Zelllinien HEC-1A und Ishikawa.