

Pierre Kunz
Dr. med.

Die Rolle des Angiopoietin-2 in der Tumorangiogenese

Geboren am 29.05.1975 in Würzburg
Staatsexamen am 19.11.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: DKFZ / Anatomie und Zellbiologie
Doktorvater: Prof. Dr. sc.hum. Ralf Kinscherf

Im Rahmen der Erforschung neuer, alternativer Therapiestrategien in der Tumorthherapie gilt die Angiogenese von Malignomen seit Jahren als hoffnungsvoller Therapieansatz.

Neben den intensiv beforschten vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren (VEGFs) und dem basischen Fibroblasten Wachstumsfaktor (bFGF) auch das Angiopoietin-2 (Ang-2)-System zu den Schlüsselsystemen in der Tumorangiogenese.

Aufgrund seiner schwachen Sekretion unter physiologischen Bedingungen und seiner Wirkungen in selektiven pathologischen Prozessen könnte das Ang-2 einen aussichtsreichen Ansatzpunkt für zukünftige anti-angiogene Therapieansätze darstellen.

Durch diese Arbeit sollten die Auswirkungen von Ang-2 einerseits *in vitro*, andererseits *in vivo* im Morris Hepatom erfasst werden. Hierfür wurden Morris Hepatom 3924A-Zellen mit einem retroviralem Vektor, der das Ang-2-Gen trägt, transfiziert und die Auswirkungen auf die Expression verschiedener angiogener Faktoren in humanen Nabelschnurvenen Endothelzellen (HUVECs) getestet. Im Anschluss erfolgte die Inokulation in ACI Ratten für *in vivo* Untersuchungen der Auswirkung einer Ang-2-Überexpression. Zur Erhebung funktioneller Parameter wie der Tumorperfusion und dem Bloodpooling innerhalb der Tumore wurden Untersuchungen mittels Positronen-Emissionstomographie (PET) durchgeführt. Den *in vivo* Versuchen folgten eine Genexpressionsanalyse der Tumore mittels Gene-Arrays sowie eine immunhistomorphometrische Untersuchungen des Tumorgewebes zur Überprüfung eines Zusammenhangs zwischen morphologischen und funktionellen Parametern.

Erstmalig konnten wir *in vitro* eine Induktion verschiedener angiogener Schlüsselgene in HUVECs, insbesondere verschiedener vaskulärer Wachstumsfaktor-Rezeptoren, durch Ang-2 zeigen. Des Weiteren wiesen wir durch Co-Kultivierung von HUVECs mit Ang-2-überexprimierenden MH3924A-Zellen sowie WT-MH3924A-Zellen einen proliferationssteigernden Effekt von Ang-2 auf HUVECs nach. Obwohl eine subkutane Inokulation von WT-MH3924A sowie Ang-2-transfizierter Zellen in ACI-Ratten keinen Unterschied bezüglich des Tumorwachstumsverhaltens ergab, konnten wir in funktionellen PET-

Untersuchungen eine gesteigerte Perfusion in den Ang-2- im Vergleich zu den WT-MH3924A Tumoren zeigen. Im Rahmen der immunhistomorphometrischen Untersuchungen konnten wir eine gesteigerte Mikro- sowie Makrovaskularisation (CD31 bzw. α -Aktin immunreaktive Fläche) in den Ang-2 überexprimierenden Tumoren zeigen. Außerdem waren sowohl Proliferations- als auch Apoptoserate in den Ang-2-MH3924A Tumoren erhöht, und die Nekrosefläche stark reduziert. Zusätzlich fanden wir eine höhere Anzahl MIF-positiver Zellen und eine gesteigerte Cluster-Fläche CD11b-positiver Zellen in den Ang-2-MH3924A Tumoren.

Genexpressionsanalysen (mittels Gene-Arrays) zeigten in den Ang-2-MH3924A-Tumoren eine Induktion von Genen, die in Zusammenhang mit Angiogenesensystemen, Stress-Reaktion, Apoptose sowie der Extrazellulärmatrix in Verbindung stehen.

Alles in allem konnten wir zeigen, dass Ang-2 in HUVECs direkt die Expression entscheidender Angiogenesegene induziert. *In vivo* scheint Ang-2 in der Lage zu sein, bei gleich bleibendem Tumolvolumen die Vaskularisation sowie die funktionelle Tumorperfusion im Morris Hepatom zu steigern. Die immunhistologischen Ergebnisse sowie die Ergebnisse der Gen-Expressionsanalysen der Tumore verdeutlichen die divergente Rolle des Ang-2 und seinen Einfluss auf verschiedene Systeme.

Auch wenn weiterführende Untersuchungen bezüglich der Rolle des Ang-2 in der Tumorangiogenese unabdingbar sind, so erscheint Ang-2 doch insbesondere aufgrund seiner engen Verknüpfung mit vaskulären Wachstumsfaktoren sowie seines Einflusses auf funktionelle Parameter im Tumor als hoffnungsvolles Ziel zukünftiger Ansätze in der Tumorthherapie.

Ein interessanter Ansatz wäre hierbei die Kombination einer Ang-2-induzierten Perfusionssteigernden Therapie mit einer Bestrahlung oder einer Chemotherapie; durch eine erhöhte Sauerstoffradikalbildung bzw. einen besseren Transport des Chemotherapeutikums innerhalb der Tumore könnte die Effizienz dieser etablierten Therapiestrategien möglicherweise bedeutend verbessert werden.