



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Fakultät für Klinische Medizin Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Mikrosatellitenanalyse der Deleted in Colorectal Carcinoma-Region  
im kolorektalen Karzinom**

Autor: Martin Ulrich Horst Gottstein  
Institut / Klinik: Institut für Pathologie  
Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. C. Verbeke

Durch die Anhäufung von Mutationen erhalten Zellen die Potenz unlimitiert zu proliferieren. Dieser bislang nur unzureichend bekannte molekularbiologische Prozeß erweist sich als komplexes Zusammenspiel diverser Alterationen von Tumorsuppressorgenen und Onkogenen. Die Alterationen gehen mit einer Instabilität des gesamten Genoms einher und betreffen auch Mikrosatelliten. Das auf Chromosom 18 lokalisierte DCC-Gen stellt sich als eines der entscheidenden Tumorsuppressorgene bei der Genese des kolorektalen Karzinoms dar. Das DCC-Gen kodiert ein transmembranäres Protein, welches während der Embryogenese eine Rolle in der Nervenausprossung spielt. Danach kommt es nicht nur im Gehirn und auf Nerven, sondern auch in der normalen Kolonmukosa vor. In der kolorektalen Adenom-Karzinom-Sequenz tritt der Verlust des DCC-Gens anscheinend in den späten Adenomstadien auf, wobei die fehlende DCC-Genexpression zu einer Proliferationssteigerung der neoplastischen Zellen führt.

Das Ziel der Arbeit war es, eine molekulare Screeningmethode zu entwickeln, mit der an einem großen Kollektiv von Kolonkarzinomen die Inzidenz und die Art der Defekte (Loss of Heterozygosity vs. Mikrosatelliteninstabilität) in der DCC-Region 18q21 identifiziert werden können. Da in der Literatur eine Korrelation zwischen dem DCC-Gen-Status und der Prognose kolorektaler Karzinome festgestellt wurde, käme dieser Screeningmethode bei der prognostischen Einschätzung individueller Kolonkrebspatienten und der Wahl einer adaptierten Therapie eine große Bedeutung zu. Auf Grund einer hohen Sensitivität, der Möglichkeit zwischen LOH und MSI zu differenzieren, des Bedarfs an geringen DNA-Mengen und des niedrigen Kosten- und Zeitaufwandes wurde die Mikrosatellitenanalyse als Screeningmethode für ein Kollektiv von 83 Kolonkarzinomen in den Dukes Stadien B2-3 ausgewählt. Untersucht wurden 3 Mikrosatelliten-regionen, wovon eine (D18S69) innerhalb des DCC-Gens lokalisiert ist und 2 weitere (D18S61, D18S535) den DCC-Genlocus flankieren. Mittels Mikrodisektion wurde aus archivierten Paraffin-blöcken Tumor- und Normalgewebe gewonnen, woraus DNA extrahiert und anschließend mittels PCR im Bereich der 3 Mikrosatellitenmarker amplifiziert wurde. Durch Vergleich der Amplifikationsprodukte der Tumor- und Normal-DNA nach PAGE war es möglich Heterozygotie, Homozygotie, LOH und MSI zu verifizieren.

Insgesamt wurde in 31% der Tumoren ein LOH in zumindest einem der Mikrosatelliten-marker nachgewiesen. In 17% der Tumoren ließ sich eine MSI in mindestens einem der Marker identifizieren. Eine Kombination von LOH und MSI in 2 der 3 Marker war in 6% der Tumoren erkennbar, wobei stets der Marker D18S69 mitbetroffen war. In 22% der untersuchten Tumoren wies der DCC-Genlocus (Marker D18S69) eine Aberration in Form eines LOH (11%) oder einer MSI (11%) auf. In 5 dieser Tumoren ließ sich zusätzlich ein LOH in der flankierenden Region 18q23 (Marker D18S61, D18S535) nachweisen, was eine Deletion eines größeren Bereiches des Chromosom 18 vermuten läßt. Lediglich 24% der untersuchten Tumoren ergaben einen „wild type“-Genotyp in allen 3 Mikrosatelliten. In 28% der Fälle war eine Analyse wegen Homozygotie der untersuchten Genloci oder fehlender DNA-Amplifikation zumindest einer Markerregion non-informativ. Diese genomischen Daten wiesen keine signifikante Korrelation mit klinikopathologischen Parametern (TN-Stadium, Differenzierungsgrad, Alter, Geschlecht) auf. Lediglich bezüglich der Tumorlokalisation ließ sich eine geringere MSI-Rate in der linken Kolonhälfte nachweisen, was mit den heutigen Vorstellungen zur Dickdarmkarzinogenese übereinstimmt.

Überlebensdaten lagen zum Zeitpunkt dieser Studie noch nicht vor. Allerdings läßt der Nachweis von LOH in der DCC-Region in der 4 von 7 bislang verstorbenen Patienten eine prognostische Bedeutung der Ergebnisse vermuten. Vergleichsdaten sind in der Literatur kaum vorhanden, da die meisten Studien sich in Tumorkollektiv, Methodik und Interpretation der Ergebnisse unterscheiden. Insgesamt erwies sich das Mikrosatellitenscreening als sensitive und praktikable Methode, deren Ergebnisse eine sehr häufige Aberration (LOH oder MSI) der DCC-Region in Kolonkarzinomen der Dukes Stadien B2-3 erkennen ließen.