

Die Suche nach einem neuen diagnostischen Marker oder einem therapeutischen Ziel für gastrointestinale Karzinome¹

Karzinome der Leber und des Magens gehören zu den häufigsten Krebsarten des Gastrointestinaltraktes und haben eine schlechte Prognose, da sie meist erst im fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert werden und die therapeutischen Möglichkeiten dann eingeschränkt sind. Um die hohe Sterblichkeitsrate hepatogastrointestinaler Karzinome zu verbessern, muss die frühzeitige Diagnostik und die Therapie verbessert werden. Ziel der vorliegenden Dissertation war es, neue Marker und neue therapeutische Ziele zu finden, die die Diagnose und Behandlung hepatogastrointestinaler Karzinome verbessern können. Dazu wurden zwei unterschiedliche Vorgehensweisen gewählt.

Zunächst wurde mit Hilfe des *Differential Display* nach differentiell exprimierten Genen gesucht. Bei dem Vergleich eines hepatozellulären Karzinoms (HCC) gegen korrespondierendes tumorfreies Lebergewebe wurde GSDML identifiziert und als ein neues Mitglied der tumorassoziierten GSDMDC Proteinfamilie eingeordnet. GSDML wird sowohl in Tumorgewebe als auch in nicht-läsionalem Gewebe exprimiert, wobei sich die Expressionsprofile der GSDML Splicingvarianten im Tumor und Nichttumor offenbar voneinander unterscheiden. Interessant ist, dass GSDML auch in Tumoren des Magens und Dickdarms nachweisbar war und möglicherweise für die Tumorzellbiologie wichtig ist. Weiterführende Untersuchungen sollten sich insbesondere der Primärstruktur des Proteins und dessen biologischer Bedeutung zuwenden.

Im zweiten Ansatz wurde die potentielle Bedeutung multifunktionaler Membranproteine in der Biologie gastrointestinaler Tumore untersucht. Dabei waren NEP (CD10), APN (CD13), DPIV (CD26), ACE (CD143), ADAM 9, ADAM 12 und ADAM 15 Gegenstand der hier vorgestellten Untersuchungen. Für alle diese Ektopeptidasen konnte bereits bei anderen Tumoren eine tumorbiologische Bedeutung bestätigt werden. Tumore der Leber und des Magens waren allerdings bislang noch nicht systematisch untersucht worden.

In HCC fand sich u.a., dass sich die Expression von NEP umgekehrt proportional zur Proliferation und Differenzierung verhält. NEP war in HCC herunter reguliert und ließ zunächst vermuten, dass das Tumorwachstum gehemmt wird. Anschließende Zellkulturexperimente konnten zwar bestätigen, dass NEP-Aktivität die Proliferation beeinflusst, aber nicht in der erwarteten Weise, da es die Proliferation *in vitro* sogar anregte. Auch APN, DPIV und ACE regten die

¹ Originaltitel: *The Search for a Novel Diagnostic Marker or Therapeutic Target for Gastrointestinal Cancer*

Tumorzellproliferation *in vitro* an, waren jedoch im Gegensatz zu NEP im Tumorgewebe hochreguliert. Weiterführende Untersuchungen haben dann zeigen können, dass NEP, APN und ACE als Marker für die klinisch-pathologische Diagnostik hepatozellulärer Tumore (HCC und FNH) geeignet sind und somit ein wichtiges Studienziel erreicht werden konnte.

Auch im Magenkarzinomen ließen sich alle untersuchten Ektopeptidasen vermehrt nachweisen, und zwar sowohl auf mRNA- als auch auf Proteinebene. In-vitro-Experimente erbrachten weiterhin Hinweise, dass eine Hemmung von NEP, APN und ACE die Proliferation von Magenkarzinomzellen verlangsamt. Da bereits Inhibitoren einiger dieser Ektopeptidasen für die Behandlung von Hypertonie eingesetzt werden, bietet sich die Möglichkeit, die gleichen Medikamente auch für die Behandlung des Magenkarzinoms zu testen, womit ein weiteres Studienziel erreicht werden konnte.

Auch ADAMs beeinflussen die Proliferation von Magenkarzinomzellen. Aber obwohl die ADAMs beim Magenkrebs hochreguliert sind, ist ihr Expressionsprofil doch nicht tumor-spezifisch genug, um in der Diagnostik oder als therapeutisches Ziel eingesetzt werden zu können.

Die funktionelle Bedeutung der Ektopeptidasen für die Tumorbilogie wurde dann für das ACE, bzw. das lokale Angiotensin-System detaillierter untersucht. ACE spaltet Ang I in Ang II, das an die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren AT1 und AT2 bindet. Nachdem die differentielle Expression von ACE in Magenkarzinomen nachgewiesen worden war, wurde in Anlehnung an die hier gemachten Beobachtungen gezeigt, dass der ACE-Genpolymorphismus beim Magenkarzinom mit der lokalen und lymphogenen Tumorausbreitung korreliert (Ebert et al 2005, Röcken et al 2005). Eine tumorbiologische Relevanz des ACE war somit belegt. Eigene Untersuchungen fanden außerdem eine auffällige Expression von ACE in der Nachbarschaft von Lymphfollikeln und es wurde die Hypothese aufgestellt und in daraufhin durchgeführten Zellkulturexperimenten belegt, dass die Expression des ACE durch Zytokine reguliert wird. Auch die immunhistologisch nachweisbare Expression des AT1 korreliert signifikant mit der Anzahl der Lymphknotenmetastasen bei Magenkarzinompatienten (Röcken et al, eingereicht). Umfangreiche In-vitro-Experimente an Magenkarzinomzelllinien belegten dann, dass alle Mitglieder des lokalen Angiotensin-Systems (ACE, AT1 und AT2) von Magenkarzinomzelllinien exprimiert werden und deren Inhibition, bzw. Antagonisierung die Tumorzellinvasion im Matrigel-Assay signifikant hemmen kann. So hat die systematische Untersuchung der Ektopeptidasen dazu geführt, dass das lokale Angiotensin-System als potentiell prognostisches und therapeutisches Target zur Behandlung des Magenkarzinoms identifiziert wurde. Hier laufen bereits weiterführende Studien.