

Aus der Urologischen Klinik
Universitätsklinikum Benjamin Franklin
Freie Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Kurt Miller

Telomeraseaktivität in malignen und benignen Nierentumoren

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereiches
Humanmedizin
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von: Christian Porsche
aus München

Referent: Priv.-Doz. Dr. M. Müller

Korreferent/in: Prof. Dr. U. Keilholz

Gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereiches Humanmedizin der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 17.05.2002

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	3
1.1	Telomere und Telomerase	3
1.1.1	Telomere.....	3
1.1.2	Telomerase	10
1.1.3	Alternative Mechanismen zur Telomerase.....	16
1.1.4	Diagnostische und therapeutische Möglichkeiten der Telomerase	17
1.2	Nierentumore	18
1.2.1	Maligne Nierentumore.....	18
1.2.1.1	Nierenzellkarzinome	19
1.2.1.2	Urothelkarzinome der Niere.....	23
1.2.2	Benigne Nierentumore.....	25
1.2.2.1	Onkozytome	25
1.2.2.2	Angiomyolipome	26
1.3	Fragestellung	28
2	MATERIAL UND METHODEN	29
2.1	Zelllinien und Zellkulturen	29
2.1.1	Zelllinien.....	29
2.1.2	Zellkulturen	29
2.2	Proben von Patienten und Probanden	29
2.3	Aufarbeitung der Proben	30
2.3.1	CHAPS-Extraktion	30
2.3.2	Proteinbestimmung.....	30
2.4	Nachweis der Telomeraseaktivität	31
2.4.1	Telomeric repeat amplification protocol (TRAP-Assay)	31
2.4.2	Detektion der TRAP-Produkte	34
2.4.2.1	Detektion der TRAP-Produkte mit GeneScan-Fragmentanalyse.....	34
2.4.2.2	Detektion der TRAP-Produkte mit Telomerase-PCR-ELISA	36

3	ERGEBNISSE	37
3.1	Telomeraseaktivität bei Nierentumoren	37
3.1.1	Telomeraseaktivität in Nierenzellkarzinom-Zelllinien.....	37
3.1.2	Telomeraseaktivität bei Nierenzellkarzinomen	37
3.1.3	Telomeraseaktivität bei Urothelkarzinomen der Niere	41
3.1.4	Telomeraseaktivität bei Onkozytomen.....	41
3.1.5	Telomeraseaktivität bei Angiomyolipomen	41
3.1.6	Telomeraseaktivität in normalem Nierengewebe	41
4	DISKUSSION.....	43
5	ZUSAMMENFASSUNG	47
6	LITERATURVERZEICHNIS	48
7	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	62
8	DANKSAGUNG	63
9	LEBENS LAUF	64

7 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ALT	Alternative lengthening of telomeres
ASP	Alternative senescence pathway
ATCC	American type culture collection
bp	Basenpaare
CHAPS	3-[(3-chloramidopropyl)-dimethylamino]-1-propanesulfonate
CT	Computertomographie
dCTP	2'-Desoxycytidin-5'-triphosphat
dGTP	2'-Desoxyguanosin-5'-triphosphat
DNA	Desoxyribonucleic acid
dNTP	2'-Desoxyribonucleosid-5'-triphosphat
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
EMBL	European molecular biology laboratory
6-FAM	6-carboxyfluorescein
γ -GT	γ -Glutamyl-Transferase
HPV	Human papilloma virus
hTERT	Human telomerase reverse transcriptase
hTR	Human telomerase RNA
ITAS	Internal standard
LOH	Loss of heterozygosity
M1	Mortalitätsstadium 1
M2	Mortalitätsstadium 2
mdr	multidrug resistance
MEM	Minimum essential medium
mRNA	Messenger RNA
MRT	Magnetresonanztomographie
mTERT	Mouse telomerase reverse transcriptase
mTR	Mouse telomerase RNA
PCR	Polymerase chain reaction
RNA	Ribonucleic acid
RT	Reverse transcriptase
SV	Simian virus
TLP-1	Telomerase linked protein 1
TNM	Tumor-lymph node-metastasis
TRAP	Telomeric repeat amplification protocol
TRF-1	Telomeric repeat binding factor-1
TRF-2	Telomeric repeat binding factor-2
TRF	Terminal restriction fragments
UICC	Union internationale contre le cancer

8 DANKSAGUNG

Die vorliegende Arbeit wurde im Urologischen Forschungslabor des Universitätsklinikums Benjamin Franklin der Freien Universität Berlin angefertigt und von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt (HE 1362/6-1).

Bei Herrn Prof. Dr. Kurt Miller und Herrn Priv.-Doz. Dr. Markus Müller bedanke ich mich für die Bereitstellung dieses Themas, für Ihre Betreuung, sowie Ihre Diskussionsbereitschaft und unermüdliche Unterstützung während der Durchführung dieser Arbeit.

Ich bedanke mich für die gute Zusammenarbeit bei Birgit Schaak, Sylvia May und den anderen Mitarbeitern des Urologischen Forschungslabors des Universitätsklinikums Benjamin Franklin, die mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Bei Herrn Dr. Thomas Emrich (Roche Biochemicals, Penzberg, Deutschland) bedanke ich mich für die Bereitstellung des internen Standards.