

1 Einleitung

Auf der Basis eines zunehmenden Wissens um die Regulation des Wachstums maligner Zellen können neue Therapieansätze gefunden werden. Dafür ist es notwendig, mehr über die komplexen Mechanismen der Tumorentstehung und der unbegrenzten Proliferation, der Immortalisierung, von Tumorzellen zu wissen. Die Hypothesen der Immortalisierung gehen davon aus, dass es in den jeweiligen Geweben zu mehreren unterschiedlichen Ereignissen kommen muss, die additiv das normale Wachstum einer Zelle außer Kraft setzen. Die Forschungen der letzten Jahre haben gezeigt, dass die Reaktivierung des Enzyms Telomerase bei der Immortalisierung von Zellen eine entscheidende Rolle spielt.

Normale Körperzellen besitzen im Unterschied zu immortalen Zellen, Stamm- und Keimzellen ein begrenztes Teilungsvermögen, welches abhängig ist von der Anzahl der Zellteilungen und der Länge der Telomere, der Enden der Chromosomen (Harley *et al.*, 1990). Während jeder Zellteilung verkürzen sich die Telomere bis zu einer kritischen Länge, ab der sich die Zellen nicht mehr weiter teilen und in den Zustand der Seneszenz, einem ruhenden Zustand, übergehen und letztendlich sterben. Immortale Zellen, Stamm- und Keimzellen dagegen besitzen einen Mechanismus, der der Verkürzung der Chromosomen entgegenwirkt. Diesen Zellen ist es möglich, mit der Aktivität des Enzyms Telomerase die Telomerlänge konstant zu halten. Die Telomerase ist ein Ribonukleoproteinkomplex, bestehend aus einer RNA-Komponente, einer katalytischen Proteinkomponente und weiteren assoziierten Proteinuntereinheiten. Die Telomerase führt mit Hilfe ihrer RNA-Komponente als Matrize eine de-novo Synthese von DNA an die Telomere durch. Die Rekonstruktion der Telomere ermöglicht diesen Zellen somit ein unbegrenztes Wachstum.

Seit der Entdeckung des Zusammenhangs zwischen Telomeraseaktivität und Tumorpheriferation wurden zahlreiche Untersuchungen publiziert, in denen die Funktion der Telomerase als möglicher Tumormarker in unterschiedlichsten Tumorentitäten geprüft wurde. In 85 % aller analysierten Tumoren konnte Telomeraseaktivität nachgewiesen werden, in der Regel jedoch nicht in benignen Geweben und Zellen (Shay & Bacchetti, 1997). Eine Ausnahme bilden germinative Gewebe, wie Hoden und Ovar (Tanaka *et al.*, 1998b), aber auch stark proliferative Gewebe oder Zellen, wie hämatopoetische Stammzellen und aktivierte Lymphozyten besitzen eine geringe Telomeraseaktivität (Counter *et al.*, 1995). Aber auch als therapeutisches Angriffsziel an Tumorzellen findet die Telomerase Interesse in der Forschung. Ausgehend von der Erkenntnis, dass die Telomerase verantwortlich für die Erhaltung und Stabilität der Telomere in immortalen Zellen ist, sollte die Inaktivierung der Telomerase eine Hemmung der Proliferation hervorrufen. Zur Inaktivierung der

Telomeraseaktivität können verschiedene Ansatzpunkte am Ribonukleoproteinkomplex verfolgt werden (Autexier, 1999).

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der diagnostischen Untersuchung der Telomerasekomponenten und einer möglichen therapeutischen Anwendung der Telomerase beim Nierenzellkarzinom. Nierenzellkarzinome gehören zu den eher selteneren Tumoren, sind jedoch mit mehr als 35 000 neuen Fällen innerhalb der Europäischen Gemeinschaft die acht häufigste Krebsart bei Männern und die elft häufigste bei Frauen (Pomer *et al.*, 1998; de Kernion *et al.*, 1978). Tumormarker mit akzeptabler Sensitivität und Spezifität für ein Screening sind beim Nierenzellkarzinom bisher nicht bekannt. Die initiale Behandlung des Nierenzellkarzinoms ist die radikale Tumornephrektomie. Beim Auftreten von Tumormetastasen gibt es für die meisten Patienten bisher jedoch nur unzureichende, noch in klinischen Studien, befindliche Therapien. Die Resistenz gegen Chemo-, Strahlen- und Hormontherapie eines metastasierenden Nierenzellkarzinoms stellt das weithin größte klinische Problem bei der Behandlung dar (Hamilton *et al.*, 1997). Neue Ansätze zur Therapie des Nierenzellkarzinoms sind somit dringend erforderlich.

Das Ziel dieser Arbeit waren Untersuchungen mit Nierenzellkarzinomgeweben und davon abgeleiteten Zelllinien in Bezug auf die bisher bekannten Charakteristika der Telomerase, sowie weiterführende Experimente zur möglichen Inhibierung der Telomerase als eine therapeutische Option beim Nierenzellkarzinom durchzuführen und zu diskutieren. Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurden Nierenzellkarzinome und Nierennormalgewebe auf deren Telomeraseaktivität analysiert, sowie eine quantitative Analyse der bisher bekannten Komponenten des Enzyms Telomerase, der RNA-Komponente und der katalytischen Untereinheit mittels einer Reversen Transkription der RNA und anschließender Polymerasekettenreaktion durchgeführt. Weiterhin wurde die Telomerlänge von korrespondierenden Nierenkarzinomen und Normalgeweben untersucht. Im zweiten Teil werden die Ergebnisse dreier unterschiedlicher experimenteller Strategien zur Hemmung der Telomeraseaktivität in einem Nierenkarzinommodell der Maus als mögliche therapeutische Ansätze zur Beeinflussung der Proliferation von Nierenkarzinomzellen vorgestellt.