

## 6 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den diagnostischen und therapeutischen Anwendungen der Telomerase beim Nierenzellkarzinom. Die Telomerase ist ein Ribonukleoproteinkomplex bestehend aus einer RNA-Komponente und einer katalytischen Proteinuntereinheit. In Untersuchungen an unterschiedlichen Tumor- und Normalgeweben konnte für die Telomerase eine Spezifität von ca. 85% in malignen Geweben gezeigt werden. Aufgrund bisher mangelnder therapeutischer Möglichkeiten beim fortgeschrittenen Nierenzellkarzinom boten sich Untersuchungen zur Telomerase in dieser chemoresistenten und heterogenen Tumorentität an.

Im diagnostischen Teil der Arbeit wurden Nierentumor- und Nierennormalgewebe auf Telomeraseaktivität, Expression der Telomerase-RNA (hTR) und der katalytischen Proteinuntereinheit (hTERT) untersucht. Telomeraseaktivität wurde in nur 63 % bzw. 46 % der Nierenkarzinome in zwei verschiedenen Versuchsserien bestimmt. Normales Nierengewebe zeigte keine Telomeraseaktivität. Mit Hilfe einer quantitativen RT-PCR wurde in 34 % der Nierenkarzinome eine Expression der hTERT gefunden, Nierennormalgewebe waren zu 31 % hTERT positiv. Eine hTR-Expression wurde in 83 % der Nierenkarzinome gefunden, aber nur in 56 % der Nierennormalgewebe. In der Expression der Telomeraseuntereinheiten treten keine signifikanten Unterschiede zwischen Tumor- und Normalgewebe auf. Es konnte aber unter Anwendung des Mann-Whitney-Testes eine statistisch signifikante Korrelation zwischen hTERT und der Telomeraseaktivität ( $p=0,031$ ) aufgezeigt werden. Bemerkenswert sind weiterhin, die unterschiedlichen Expressionsstärken und Expressionsmuster, die auf eine komplexe Regulation der Telomerase hinweisen. Diese Untersuchungen zeigen auf, dass die Telomerase in den Nierenkarzinomen zusammen mit anderen alternativen Mechanismen eine Bedeutung für die Telomererhaltung besitzt, aber kein diagnostisches Target darstellt.

Neue therapeutische Möglichkeiten sind aufgrund der Chemoresistenz der Nierenkarzinome von großem Interesse. Für die in dieser Forschungsarbeit durchgeführten Versuche zur Hemmung der Telomerase wurde deshalb als Modell die Nierenkarzinomzelllinie der Maus RENCA verwendet. Es wurden hier drei verschiedene Angriffsstrategien an dem Enzymkomplex untersucht: (i) die Verwendung von antisense Telomerase-RNA gerichtet gegen die RNA; (ii) eine dominant-negative Mutante der katalytischen Untereinheit und (iii) der Einsatz von chimären Oligonukleotiden, die eine Bindung an die Telomerase-RNA und an die Proteinuntereinheit ermöglichen. Mit allen diesen Angriffsmöglichkeiten wurde eine zeitweise Hemmung der Proliferation und ein erhöhter Zelltod in den murinen oder humanen Tumorzellen hervorgerufen. Ungefähr 35. Populationsverdopplungszeiten nach Behandlung

der RENCA-Zellen mit antisense Telomerase-RNA wurde eine stark verringerte Proliferation, sowie eine gehemmte Telomeraseaktivität beobachtet. Dies war einhergehend mit der Verkürzung der Telomere. Ähnliche Beobachtungen wurden bei der Verwendung einer dominant-negativen Mutante der katalytischen Untereinheit gemacht. Hier zeigte sich nach einer stark verringerten Selektionsrate der transduzierten Klone eine bis zu 30 % gehemmte Proliferation der veränderten Zellen. Weiterhin wurde auch in diesen Zellen eine verringerte Telomeraseaktivität, sowie eine Verkürzung der Telomere bis zur 86. PD gemessen. Nach der Hemmung der Telomeraseaktivität wurde eine Reaktivierung der Telomerase aufgrund einer gesteigerten Expression des endogenen Telomeraseproteins gemessen. Weiterhin konnte die Telomeraseaktivität durch den Einsatz von verschiedenen Phosphorthioat-modifizierten Oligonukleotiden in humanen und murinen Tumorzelllinien in-vitro gehemmt werden.

Diese hier vorgestellten Ergebnisse zeigen neue Möglichkeiten der Hemmung der Telomerase in Tumorzellen auf. Der Einsatz von Telomeraseinhibitoren kann eine Hemmung der Proliferation von Nierenkarzinomzellen hervorrufen. Die Ergebnisse machen deutlich, dass die Telomerase einer komplexen Regulation in der Zelle unterliegt, und dass dabei gewebe- und zellspezifische Besonderheiten, besonders zwischen Maus und Mensch, zu beachten sind. Insgesamt kann zusammengefasst werden, dass die vorliegenden Untersuchungen interessante Erkenntnisse über die diagnostische und therapeutische Bedeutung der Telomerase beim Nierenzellkarzinom darstellen und damit auf mögliche neue Wege in der Tumordiagnostik und Tumorthapie hinweisen.