

3. Mikroarrayanalyse der Wirtsgenexpression in der Invasionsfront kolorektaler Lebermetastasen

Das Verhalten der Wirtszellen übt entscheidenden Einfluss auf die Tumordinvasion aus. Wir haben an experimentellen Metastasen der humanen kolorektalen Karzinomzelllinie LS-174T mit Hilfe der Affymetrixtechnologie Genexpressionsunterschiede innerhalb des nicht befallenen Leberanteils darstellen können. Hierzu wurde ein genomweiter Vergleich mikrodissasierter Gewebeproben aus der leberseitigen Invasionsfront mit tumorfernen Bereichen der Leber von Nacktmäusen unternommen. Aufgrund des geringen Anteils kreuzhybridisierender Gene zwischen Mensch und Maus von 15% gestattet unser Xenograftmodell die Unterscheidung von Maus- und Menschengenen auch in solchen Fällen in denen eine Isolierung der entsprechenden Gewebe nicht einwandfrei möglich war.

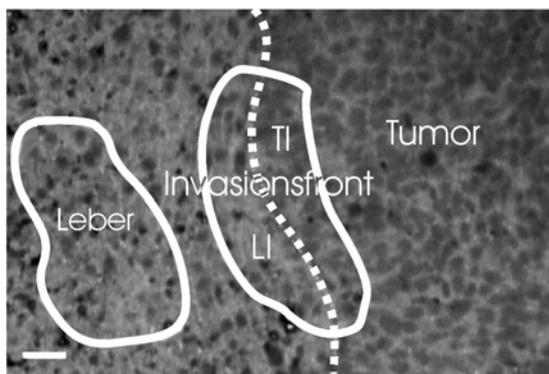


Abb. 6: Invasionsfront einer kolorektalen Lebermetastase am Lasermikrodissektionsgerät. Innerhalb der Invasionsfront können noch ein Leberanteil (LI) und ein Tumoranteil (TI) unterschieden werden. Die Trennung von Tumor und Leber ist aufgrund der besonderen Gewebeerarbeitung oft schwierig. HE-Färbung, Balken = 50µm

Anhand der Gene Ontology (GO) Klassifikation, konnten wir distinkte Muster regulierter Gene im Leberteile der Invasionsfront ermitteln. Die GO-terms „extracellular matrix“, „cell communication“, „response to biotic stimulus“, „structural molecule activity“ und „cell growth“ waren stark überrepräsentiert, was einer betonten Wirtsreaktion auf die Tumordinvasion entspricht. Auf Einzelgenebene waren Aktivierungsmarker fettspeichernder Zellen (Ito-Zellen) im Leberteile der Invasionsfront stark überrepräsentiert, unter anderem der Chemokinrezeptor-5, Retinolbindendes Protein-1 und VCAM-1. Die im englischen Sprachgebrauch als hepatic stellate cells (HSC) bekannten Zellen sind bisher in erster Linie mit fibrotischen Lebererkrankungen assoziiert worden [40], ihre Anreicherung und Aktivierung im Bereich der Invasionsfront wurde Immunhistochemisch und in der qPCR bestätigt.

HSCs gelten als Hauptquelle extrazellulärer Matrixproteine in der Leber und differenzieren sich durch profibrogene Stimuli um zu Myofibroblasten [40]. Eine Reihe von aktinbindenden Genen wird dabei aktiviert und verleiht den Zellen kontraktile Fähigkeiten. Begleitend fanden wir eine starke Induktion von Galectin-1. Galectine sind eine Gruppe β -Galaktosidbindender Lectine, die, wie auch die MMPs, mit Wachstum, Zell-Matrix-Interaktionen und Malignität in Verbindung gebracht werden. Interessanterweise ist seit kurzem bekannt, dass Galectin-7, ursprünglich als Keratinozytenmarker beschrieben, über eine Hochregulation von MMP-9 die Malignität von Lymphomzellen erhöht [38]. Für Galectin-1 ist entsprechendes jedoch noch nicht gezeigt worden.

Die Aktivierung von HSCs wird vermittelt über Methylierung von Cp-binding-factor-1 (CBF1) und 1-methyl-CpG-binding protein-2 (MeCP2), welche eine starke Induktion von $\text{i}\kappa\text{B}$ und letztlich Inhibition von NF κB bewirken [39]. Darauf basierend können antiinflammatorische Wirkstoffe wie Sulfasalazin in experimentellen Modellen der

Leberfibrose Apoptose bei HSCs hervorrufen. Weil HSCs typischerweise TIMP-1 in hohen Mengen sezernieren führt ihr Absterben zu einer erhöhten Nettoaktivität von Proteasen [40].

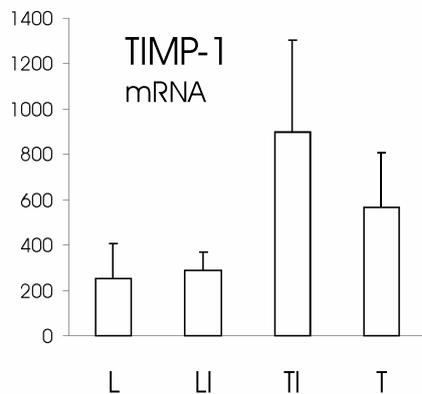


Abb. 7: Hochregulation von TIMP-1 in der Invasionsfront unbehandelter CT-26-Lebermetastasen. Microarrayexperiment (detection p-values: L = 0,009155; LI = 0,011353; TI = 0,000732; T = 0,001587)

Hepatic stellate cells sezernieren bekanntermaßen TIMP-1 und sind eine mögliche Quelle der hier nachgewiesenen mRNA. TIMP-1 könnte damit eine proliferatorische Aktivität unterhalten.

Im Einklang mit diesen Aussagen haben wir in einem bisher unveröffentlichten Microarrayexperiment anhand von CT-26-Tumoren eine deutliche Hochregulation von TIMP-1 im Tumorteil der Invasionsfront nachgewiesen (Abb. 7). Möglicherweise äußern sich hierin wachstumssteigernde Effekte von TIMP-1. Zumindest scheint dadurch unsere These untermauert zu werden, der Antitumoreffekt von TIMP-1 sei konzentrationsabhängig.

Hepatic stellate cells könnten eine Quelle des nachgewiesenen TIMP-1 sein, allerdings ist im Unterschied zum Interspezies-Modell eine Einordnung seines Ursprungs aus Wirts- oder Tumorzellen nicht einfach anhand der Microarraydaten zu beantworten. Weitere Experimente sind auch zur Bestätigung der gezeigten Microarraydaten auf RNA- und Proteinebene unumgänglich.