Expression von Matrixmetalloproteinasen im juvenilen Angiofibrom

S. Dürr, O. Wendler, B. Schick, H. Iro

Einleitung

Das juvenile Angiofibrom ist ein seltener, vor allem beim männlichen Jugendlichen auftretender Tumor. Typische Kennzeichen sind die Lage im hinteren Abschnitt der Nasenhöhle, ein lokal aggressives Wachstum und die Ausbildung von Gefäßspalten, welche mit Endothel ausgekleidet sind. Ziel dieser Untersuchung ist die Charakterisierung der Matrixmetalloproteinasen (MMP-1-28), die im Zusammenspiel mit ihren Inhibitoren (TIMP-1-3) eine entscheidende Rolle (1,2) bei der Tumordinvasion und Angiogenese vieler Tumorentitäten spielen.

Methodik und Ergebnisse

Relative Darstellung des Expressionsprofils von Angiofibromen zu normalem Nasenmuschelgewebe mittels Oligo-GEArray (Superarray)

An drei Angiofibromgeweben der Stadien II/III und normalem Nasenmuschelgewebe wurde mittels Oligo-GEArray die Transkription der meisten MMPs und ihrer Inhibitoren TIMP1-3 densitometrisch gemessen. Die Meßwerte wurden auf beta-Actin normalisiert und auf das Expressions-niveau des Normalgewebes bezogen.

Es ließen sich MMP-1, -2, -10, -11, -12, -13, TIMP-1 und TIMP-3 Transkripte nachweisen. Absolut gesehen dominiert die Expression von MMP-2 im Angiofibromgewebe. Die Expression von TIMP-1 und -3, die im Normalgewebe deutlich vorhanden ist, scheint im Angiofibromgewebe auf Null zurückgegangen zu sein.

Relativ auf das Normalgewebe bezogen ergibt sich eine 2-fache (bei MMP-2) bis 33-fache (MMP-11/-12) Expressionssteigerung der MMPs.

Zymogramm- und Westernblot-Untersuchungen bei juvenilen Angiofibromen

Auf Proteinebene wurden Zymogramme angefertigt, deren Ergebnis auf mehrere Gelatinase verdauende Proteasen in der Größe zwischen 55 und 65 kDa hinweist (Abb. 2a).

Im Westernblot konnten die Banden mittels spezifischer Antikörper als MMP-13 (Abb. 2b) und MMP-2 (Abb. 2c) identifiziert werden.

In-Situ-Zymographie-Untersuchungen bei juvenilen Angiofibromen

Bei diesem Ansatz (Abb. 3a) wurde durch den Verdau von DQ-Gelatine ein fluoreszierender Farbstoff im nativen Gefrierschnitt freigesetzt. Es zeigt sich eine deutliche Enzymaktivität im Stroma des Tumorgewebes. Im Bereich der Myoepithelzellen um die Gefäßspalten ist kaum Gelatinase-Aktivität zu erkennen.

In Abb. 3b wurde der gleiche Ansatz unter Zusatz eines allgemeinen MMP-Inhibitors (GM 1489) durchgeführt. Es ist kaum Protease-Aktivität detektierbar.

MMP-2-Immunfluoreszenz-Färbung von juvenilen Angiofibromen

Mittels spezifischem Antikörper konnte MMP-2-Protein in der extrazellulären Matrix des gesamten Stromas juveniler Angiofibrome angefärbt werden (Abb. 4). Die zahlreichen Gefäßspalten wurden durch Antikörper gegen Laminin 1 markiert.

Diskussion

Durch Oligo-Arrays, Westernblot- und Immunfluoreszenzversuche konnten mehrere MMPs, insbesondere MMP-2, sowohl auf RNA-, als auch auf Proteinebene im juvenilen Angiofibrom nachgewiesen werden. Im Vergleich zu normalem Nasenmuschelgewebe erschienen die MMPs stärker exprimiert, wohingegen deren Inhibitoren TIMP-1-3 im juvenilen Angiofibrom nicht mehr nachweisbar waren. Diese Untersuchungen geben Hinweise, dass das normale Gleichgewicht zwischen Proteasen und Inhibitoren zugunsten der Protease-Aktivität gestört ist. Dieses Ungleichgewicht zwischen Matrixmetalloproteinasen und ihren Inhibitoren wird als eine wesentliche Komponente des aggressiven Wachstumsverhaltens juveniler Angiofibrome angesehen.