

**Dissertation: Analyse der tumorinduzierten Ostolyse in riesenzellhaltigen
Knochtumoren des Menschen (Homo sapiens)**

Abstrakt:

Der Riesenzelltumor (RZT) des menschlichen Knochens ist eine lokal aggressive Neoplasie, die eine massive Lyse der Knochenmatrix hervorruft. Im Tumorgewebe lassen sich drei verschiedene Zelltypen unterscheiden. Die mehrkernigen Riesenzellen entsprechen in ihrer Markerexpression den Osteoklasten und sind für die Osteolyse verantwortlich. Sie entstehen durch Fusion von Monozyten, die aus dem Blut ins Tumorgewebe migrieren und dort zu mehrkernigen Riesenzellen differenzieren. Die neoplastische Komponente des Riesenzelltumors ist eine mononukleäre, fibroblastenähnliche Stromazelle. Die Stromazellen sind als einzige Komponente des Riesenzelltumors zur Proliferation in Zellkultur fähig, wohingegen die Monozyten und die mehrkernigen Riesenzellen nach wenigen Passagen in Apoptose gehen. Das Ursprungsgewebe der neoplastischen RZT-Stromazellen war bisher nicht bekannt.

Es wurde Primärmaterial von 14 verschiedenen Riesenzelltumoren in Zellkultur überführt und die Expression der Oberflächenmarker SH2, SH3, SH4, ALCAM und Stro1, welche für mesenchymalen Stammzellen beschrieben wurden, überprüft. Die RZT-Stromazellen entsprachen in ihrer Markerexpression den undifferenzierten mesenchymalen Stammzellen (MSC). Sie sind im Gegensatz zu ihren Ursprungszellen in vivo nicht mehr zur Differenzierung in die verschiedenen mesenchymalen Zelltypen fähig. Durch eine geeignete Stimulation konnte, analog zu den MSC, eine in vitro Differenzierung der RZT-Stromazellen in Osteoblasten, Chondroblasten und Adipozyten induziert werden. Zur Analyse der differentiellen Genexpression wurden „human Cancer 1.2 cDNA-Arrays“ eingesetzt. Es wurden die Expressionsprofile der Stromazellen von fünf verschiedenen Riesenzelltumoren mit der mRNA Expression von zwei mesenchymalen Stammzellpopulationen verglichen. Die RZT-Stromazellen unterschieden sich in 29 differentiell exprimierten Genen von den MSC. Von diesen 29 Genen zeigten vier Gene eine verringerte Expression in den RZT-Stromazellen, während 25 Gene verstärkt exprimiert wurden. Die Expressionsunterschiede von zehn dieser Gene, die eine besondere Relevanz für die Tumorentstehung annehmen ließen,

wurden mit „Real-Time PCR“ Analysen bestätigt. Die Gene mit einer verringerten Expression im RZT kodieren für das extrazelluläre Matrixprotein Fibronectin (*FN1*) und den Gewebeinhibitor der Matrix-Metalloproteinase 3 (*TIMP3*). Eine erhöhte Expression wurde bei folgenden Genen beobachtet: *JUN*, *NME2*, *IL6*, *PLAB*, *DCN*, *CTSL*, *CALM1* und *LRP1*. Bei ihren Genprodukten handelt es sich um die Transkriptionsfaktoren c-Jun und NM23-H2, die Zytokine Interleukin-6 und „Macrophage Inhibitory Cytokine-1“, die extrazellulären Proteine „Bone Proteoglycan-2“, Cathepsin L, und die intrazellulären Regulatoren Calmodulin und das „ α 2-Macroglobulin Receptor-associated Protein“.

Da die mehrkernigen Riesenzellen aus Blutmonozyten, die ins Tumorgewebe einwandern, entstehen, ist die Angiogenese für die zelluläre Komposition des Riesenzelltumors essentiell. In „Real-Time PCR“ Analysen konnte eine erhöhte mRNA-Expression von Oncostatin M, Angiopoetin-1 und des Angiopoetinrezeptors Tie2/Tek festgestellt werden, während die mRNA von Angiopoetin-2 und der „Vascular Endothelial Growth Factor“ (VEGF) vermindert exprimiert wurden. Die mRNA des VEGF-Rezeptor Typ II (*KDR*) wurde weder in den RZT-Stromazellen noch in MSC exprimiert. In Migrationsexperimenten konnte eine chemotaktische Wirkung des konditionierten Riesenzelltumormediums auf Endothelzellen beobachtet werden. Die Induktion der Endothelzellmigration war VEGF unabhängig, wie durch Inhibition mit einem VEGF-Antikörper nachgewiesen wurde.

In dieser Arbeit gelang erstmalig die Identifizierung und Charakterisierung der neoplastischen Komponente des Riesenzelltumors als mesenchymale Stammzelle. Durch Auswertung der Expressionsunterschiede zwischen RZT-Stromazellen und MSC konnten zahlreiche Gene bestimmt werden, deren Identifizierung zum besseren Verständnis der Entstehung und zellulären Interaktion im Riesenzelltumors beiträgt.