

5 Diskussion

5.1 MMP-2

Während der Invasion und dem Prozeß der Metastasierung müssen die Tumorzellen epitheliale und endotheliale Basalmembranen, zu deren Hauptbestandteil das Typ IV Kollagen gehört, durchqueren. Zu den Typ IV Kollagen hydrolytisch spaltenden Proteasen gehört die Matrixmetalloprotease MMP-2 (Gelatinase A). MMP-2 konnte in einem breiten Spektrum maligner Tumoren in hoher Expression nachgewiesen werden.

Mittels RT-PCR konnte eine moderate bis starke Expression der mRNA von MMP-2 in Schilddrüsenneoplasien aufgezeigt werden. Die immunhistochemisch untersuchten benignen Schilddrüsenngewebe (Struma colloidosa et nodosa) waren in 93% MMP-2 negativ.

In dieser Studie war ein hoher Anteil an MMP-2 positiven Geweben in den differenzierten Karzinomen FTC und PTC zu finden. Beim follikulären Karzinom fiel auf, daß das minimal invasive gekapselte Karzinom keine Immunreaktivität zeigte, während die grob invasiven Karzinome in 7 von 9 (78%) untersuchten Tumoren positiv waren. Auf Grund der geringen Fallzahl läßt sich hier jedoch keine signifikante Korrelation zwischen dem Grad der Invasivität und der Proteasenexpression feststellen. Im Gegensatz dazu wurde bei den papillären Karzinomen sowohl beim Mikrokarzinom als auch in den anderen PTC-Varianten ein ähnliches Expressionsmuster mit fokal starker MMP-2 Immunreaktivität in 14 von 17 (82%) Tumoren vorgefunden. Die in unserer Studie untersuchten Primärtumoren, Lymphknotenrezidive und Lokalrezidive unterschieden sich in der Expressionsausprägung nicht voneinander. Auch die bei einem Primärtumor mit untersuchte Lymphknotenmetastase zeigte ebenso wie der Primärtumor ein fokal schwaches MMP-2-Expressionsmuster. Andere Autoren berichteten, daß Metastasen und Lymphknotenmetastasen eine stärkere Expression aufweisen als ihre Primärtumoren (Campo et al., 1992; Karakiulakis et al., 1997).

Die untersuchten Schilddrüsenkarzinome zeigten sowohl eine zytoplasmatische Färbung der Tumorzellen als auch eine Färbung der den Tumor umgebenden Fibroblasten. Oft wiesen aber nur die invasiven Ränder der Tumoren eine Immunreaktivität auf. In zahlreichen immunhistochemischen Studien (Levy et al., 1991, Autio-Harmainen et al., 1993, Schoedel et al., 1996, Grignon et al., 1996, Talvensaaari-Mattila et al., 1998) wurde das MMP-2-Immunreaktionsprodukt überwiegend im Zytoplasma der Tumorzellen und zum Teil im desmoplastischen Stroma entdeckt. Im Gegensatz dazu lokalisierten andere Studiengruppen (Pyke et al., 1992, Poulsson et al., 1992, Heppner et al., 1996) die MMP-2 mRNA nur in den Fibroblasten des den Tumor umgebenden Stromas. In Pankreaskarzinomen konnten die MMP-2-Transkripte überwiegend in den Stromazellen und nur zum Teil im Tumorzytoplasma beobachtet werden, so daß man annehmen muß, daß sowohl Stroma als auch Tumorzellen als Quelle der Proteasen und auch der Inhibitoren in Frage kommen (Gress et al., 1995). Für diese Diskrepanz zwischen den einzelnen Studien bzw. den unterschiedlichen

Nachweisverfahren gibt es verschiedene Erklärungsmodelle, z.B. Aufnahme der von den Fibroblasten stammenden Proteasen durch die Karzinomzellen. Durch eine Immunelektronenmikroskopiestudie, konnte MMP-2 im rauhen endoplasmatischen Retikulum von Tumorfibroblasten in Magen- und Hautkrebs lokalisiert werden. Aber auch im Zytosol der Krebszellen fand sich MMP-2. Dies zeigt einen möglichen Mechanismus der Enzymaufnahme in die Tumorzellen auf (Ohtani et al., 1995). Andererseits kommt es zu Unterschieden in der mRNA Translationsrate und der Kapazität der intrazellulären Lagerung des Proteins oder es gibt Unterschiede im Bereich der Nachweisschwelle der einzelnen Verfahren wie der in situ Hybridisation und der Immunhistochemie (Poulsom et al., 1992; Nomura et al., 1996).

Ausgehend von klinischen Beobachtungen in Blasenkarzinomen und Neuroblastomen (Davies et al., 1993; Kanayama et al., 1998; Ara et al., 1998) war zu vermuten, daß die gering differenzierten insulären Karzinome und die anaplastischen Karzinome eine stärkere MMP-2-Expression aufweisen als die gut differenzierten Karzinome. Jedoch wiesen die pdTC ein ähnliches Bild mit überwiegend fokal starker MMP-2-Expression auf.

Die anaplastischen Tumoren zeigten ein unerwartetes Ergebnis, nur 56% der untersuchten UTC waren MMP-2 positiv. Eine mögliche Erklärung ist, daß auf Grund der Größe der meisten UTC nur zentrale Gebiete dieser Tumoren untersucht werden konnten und nicht die invasiven Randgebiete. Denn gerade in den Tumorrandgebieten kommt es zu einer erhöhten Freisetzung von Proteasen während des Tumorwachstums.

Auf Grund seiner Ableitung von parafollikulären C-Zellen und den daraus resultierenden biologischen, morphologischen und funktionellen Eigenschaften nimmt das medulläre Karzinom eine Sonderstellung innerhalb der epithelialen Schilddrüsenmalignome ein. Hinsichtlich der MMP-2-Expression in den Primärtumoren der sporadischen MTC konnte ein ähnliches Ergebnis wie in den differenzierten Schilddrüsenkarzinomen beobachtet werden. Jedoch in über 70% der Lokal- und Lymphknotenrezidive der sporadischen MTC konnten keine oder nur eine fokal schwache Antigenexpression nachgewiesen werden.

Im besonderen Fall einer Patientin, in dem 3 aufeinander folgende Lokalrezidive untersucht wurden, war ein durchgehend negatives Expressionsmuster zu beobachten. Auch bei den familiären MTC überwog eine negative Antigenexpression. Unklar bleibt, warum es im Fall der MTC solche Unterschiede zwischen Primärtumoren und Rezidiven gibt. Zur Klärung dieser Ergebnisse sollten auf jeden Fall noch andere Untersuchungsmethoden mit einbezogen werden.

In Bezug auf das TNM-Stadium konnte keine Korrelation mit dem Expressionsgrad oder Expressionsmuster von MMP-2 festgestellt werden. Lediglich die Rezidivtumoren wiesen in den größeren Tumoren eine stärkere Expression auf. Zu beachten ist dabei auch die sehr kleine Anzahl von T1- und T2- Tumoren. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Gress et al., sie

fanden keine Korrelation zwischen der MMP-2-Expression und dem TNM-Stadium sowie dem Differenzierungsgrad in Pankreastumoren (Gress et al., 1995).

Talvensaari-Mattila et al. konnten bei Mammakarzinomen eine Korrelation zur Überlebensrate nachweisen, aber keine Beziehung zum TNM-Stadium, zum histologischen Typ, zum Patientenalter und zum Östrogen-/Progesteron-Rezeptor-Status feststellen. MMP-2 scheint nicht zwingend notwendig mit anderen Hauptprognosefaktoren in Mammakarzinomen verbunden zu sein, obwohl es potentielle Aggressivität und invasive Kapazität anzeigen kann (Talvensaari-Mattila et al., 1998). Poulsom et al. fanden die MMP-2 Transkripte erhöht in Neoplasien, aber keine Korrelation zwischen der MMP-2-Expression und der Tumorprogression (Poulsom et al., 1993).

Entscheidend für die Funktion der Protease MMP-2 ist die Umwandlung der inaktiven Zymogenform in eine aktivierte Form. Deryugina et al. zeigten anhand von Gliom- und Fibrosarkomzelllinien, daß der Umbau der Kollagenmatrix durch die Tumorzellen eine Aktivierung und Zelloberflächenverbindung erfordert, wobei die Aktivierung abhängig von MT-1MMP (Membrane Type 1 Matrixmetalloprotease) ist. Dabei scheint die MMP-2 Aktivität auf der Zelloberfläche entscheidend für den Umbau der ECM durch die Tumorzellen zu sein (Deryugina et al., 1998). Durch Untersuchungen der aktiven und der latenten MMP-2 und MMP-9 Form in kolorektalen Karzinomen (CRC) durch Gelatin-Zymographie, konnte gezeigt werden, daß der Verlust von Basalmembran-Typ IV Kollagen mit einer erhöhten MMP-2 und MMP-9-Expression assoziiert ist. Des Weiteren konnten die latenten Formen in allen CRC und normaler Mukosa nachgewiesen werden, während die aktivierte Form überwiegend in CRC mit Metastasierung zu beobachten war (Zeng et al., 1998). Zu ähnlichen Schlüssen kamen Koshiba et al. . Sie wiesen in allen untersuchten Pankreasnormalgeweben und in Pankreaskarzinomen die latente Form von MMP-2 mittels Gelatinzymographie nach. Hingegen beobachteten sie die aktivierte Form von MMP-2 in allen Karzinomen, aber in nur 30% der Normalgewebe, so daß eine positive Korrelation zwischen MMP-2-Expression und TNM-Status nachgewiesen werden konnte (Koshiba et al., 1998). Aus diesem Grund scheint es von Bedeutung zu sein, daß die in unserer Studie verwendeten Antikörper nicht zwischen dem aktivem und dem latenten Enzym unterscheiden konnten und so die Auswertung in Bezug auf die Korrelation mit dem TNM-Stadium durch die Doppelerkennung erschwert ist.

5.2 MMP-9

MMP-9 (Gelatinase B) eine weitere Typ IV Kollagenase, konnte in zahlreichen Studien in einem breiten Spektrum maligner Tumoren ermittelt werden. Bei den im Rahmen dieser Arbeit mittels RT-PCR untersuchten Neoplasien war in 76% der Gewebe MMP-9 mRNA nachweisbar. Von den daraufhin immunhistochemisch untersuchten

Schilddrüsenmalignomen zeigten insgesamt 89% der Fälle eine erhöhte MMP-9 Immunreaktivität. Ähnlich den Ergebnissen der Gelatinase A erwies sich der größte Teil der benignen Schilddrüsengewebe als MMP-9 negativ.

Vergleichbar mit den MMP-2 Ergebnissen zeigten sich die Expressionsraten der differenzierten Tumoren. In 8 von 10 (80%) der follikulären Karzinome bzw. in allen 17 papillären Karzinomen war eine überwiegend fokal starke MMP-9 Immunreaktivität zu beobachten. Primärtumoren, Lymphknotenrezidive und Lokalrezidive unterschieden sich in der Expressionsausprägung auch bei dieser Protease nicht voneinander. Die im Fall 29 mit untersuchte Metastase verhielt sich äquivalent dem Primärtumor.

Auffällig erscheint, daß bei den gering differenzierten insulären Karzinomen, gegenüber den MMP-2 markierten pdTC, eine höhere Anzahl von Geweben eine diffus starke Expression zeigte. Ebenso war bei den undifferenzierten Tumoren in 14 von 16 (87%) Fällen eine positive Reaktion nachzuweisen, wobei 5 (31%) Tumoren eine diffus starke Expression zeigten. In den medullären Karzinomen imponierte in 83% der Fälle ein positiver Antigennachweis. Die Expressionsausprägung in Primärtumoren, Lymphknotenrezidiven und Lokalrezidiven unterschied sich nicht. Sporadische und familiäre MTC zeigten im Vergleich ebenfalls ein ähnliches Reaktionsmuster.

Weitere Hinweise auf die Bedeutung der Gelatinase B im Prozeß der Tumordinvasion konnten Davidson et al. aufzeigen. Sie erbrachten den Nachweis einer erhöhten Immunreaktivität in höhergradigen zervikalen intraepithelialen Neoplasien (Präkanzerose der Zervix) und in Zervixkarzinomen durch Immunhistochemie und in situ Hybridisation und konnten somit aufzeigen, daß MMP-9 schon in potentiellen Vorstadien eines Malignoms eine große Rolle spielt (Davidson et al., 1999). Bezug nehmend auf dieses Ergebnis könnte man die positive MMP-9 Reaktion der beiden T1-Tumoren dahingehend erklären, daß unabhängig von der Tumorgroße eine Proteasenexpression in invasiven bzw. invasiv werdenden Prozessen erfolgt. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Gelatinase B im Zytoplasma der Tumorzellen, im desmoplastischen Stroma und auch in den Endothelzellen der Tumorgefäße lokalisiert. Auch für die Gelatinase B konnte eine Diskrepanz im Bezug auf die Lokalisation bei den einzelnen Nachweisverfahren festgestellt werden, wobei aber in der Mehrzahl der untersuchten Tumoren ein Nachweis im desmoplastischen Stroma erfolgte. So zeigten Zeng et al. in mehreren Arbeiten die Expression von MMP-9 in kolorektalen Karzinomen sowohl durch Nachweis der mRNA als auch des Proteins. Beide mRNA- und auch Proteinsignale waren stark in den Stromazellen am Übergang Stroma - invasiver Tumor konzentriert. Die MMP-9 positiven Zellen wurden in der Mehrzahl der Fälle als Makrophagen identifiziert (Zeng et al., 1995, Zeng et al., 1996 a und b).

Die Arbeitsgruppe von Nielsen et al. untersuchte Kolonadenokarzinome immunhistochemisch und durch in situ Hybridisation, wobei sie in sämtlichen Tumoren eine MMP-9-Expression feststellen konnten. Mittels Doppelfärbung wurde MMP-9 auch hier in

den Makrophagen und den Neutrophilen im desmoplastischen Stroma lokalisiert (Nielsen et al., 1996). Eine andere Arbeitsgruppe lokalisierte MMP-9 überwiegend in Stromaendothelzellen. Des Weiteren fanden sie, daß die Endothelzellen der Blutgefäße der invasiven Tumoren MMP-9 exprimieren (Heppner et al., 1996). Das läßt den Schluß zu, daß MMP-9 eine wichtige Funktion im Rahmen der Angiogenese zukommt.

Wie auch MMP-2 wird MMP-9 in einer inaktiven Form sezerniert, welche einer Aktivierung bedarf, wobei nur die aktive, nicht die latente Kollagenase an Kollagen bindet. (Gallegos et al., 1995). So gilt auch hier zu bedenken, daß eine Auswertung in Bezug auf das TNM-Stadium auf Grund der Doppelerkennung von latenter und aktiver Gelatinase B erschwert ist. Eine Unterscheidung zwischen malignen und benignen Schilddrüsengeweben mittels immunhistochemischen MMP-9-Nachweises ist jedoch auf Grund der Expressionsunterschiede gut möglich.

5.3 TIMP-1

Tissue inhibitors of matrix metalloproteases (TIMP) sind eine Familie von natürlichen Inhibitoren, welche die Aktivität der MMP in der ECM kontrollieren. Dabei beginnt die Tumordinvasion, wenn die Balance zwischen MMP und TIMP gestört ist und dieses Gleichgewicht dabei zur proteolytischen Funktion der MMP hin verschoben wird. Dann beginnen die Tumorzellen, in die umgebende Matrix, das Lymph- und das Gefäßsystem einzudringen.

TIMP-1 mRNA konnte mittels RT-PCR in fast allen untersuchten neoplastischen Geweben in starker Expression nachgewiesen werden. Immunhistochemisch wurde in 20% der benignen Schilddrüsengewebe ein positives Immunreaktionsprodukt beobachtet. In den neoplastischen Geweben konnte dagegen in 95% der Fälle eine fokal starke bzw. eine diffus starke TIMP-1-Expression nachgewiesen werden. Das TIMP-1 Protein, wie auch die beiden Proteasen, wurde immunhistochemisch, im Zytoplasma der Tumorzellen und in den den Tumor umgebenden Fibroblasten lokalisiert. Häufig exprimierten auch die Endothelzellen der Tumorblutgefäße TIMP-1. Die TIMP-1-Expression in den differenzierten Karzinomen zeigte überwiegend eine einfach positive Reaktion. Die im Fall 29 untersuchte Metastase verhielt sich äquivalent dem Primärtumor. Auffällig dagegen waren die gering differenzierten insulären Karzinome. Hier wurde in 71% der Fälle eine zweifach positive diffus starke Expression vorgefunden, während in den anaplastischen Karzinomen ein ähnliches Bild wie in den differenzierten Karzinomen zu beobachten war (nur 25% der Tumoren waren zweifach positiv). Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß besonders in der Übergangsphase zwischen differenzierten und anaplastischen Schilddrüsenkarzinomen eine verstärkte TIMP-1-Expression erfolgt. Wobei auch hier zu beachten ist, daß bei den anaplastischen Karzinomen auf Grund deren Größe meist nur zentrale Gebiete und weniger die invasiven

Randgebiete als bei den gering differenzierten insulären Karzinomen untersucht werden konnten. Auch bei den Inhibitoren unterschied sich die Expressionsausprägung in Primärtumoren, Lymphknotenrezidiven und Lokalrezidiven in allen Tumorarten nicht.

Beim medullären Karzinom zeigten die sporadische und familiäre Form ein ähnliches Reaktionsmuster. Bemerkenswert ist in den MTC eine insgesamt in 43% nachgewiesene zweifach positive Reaktion und in 53% eine einfach positive Reaktion, d.h. im Vergleich zu den Proteasen zeigte sich eine weit stärkere Expression der Inhibitoren.

Ähnlich den Ergebnissen bei den Proteasen konnte keine Korrelation mit dem TNM-Stadium festgestellt werden. Bei dieser in allen Schilddrüsenneoplasien, fast unabhängig von der histologischen Klassifikation, nachgewiesenen TIMP-1 Überexpression stellt sich die Frage, was die Ursachen bzw. die Auslöser für die erhöhte TIMP-1 Produktion sind. Kossakowska et al. beobachteten eine Überexpression von TIMP-1 in humanen Lymphomen assoziiert mit aggressiverem Verhalten und Yoshiji et al. wiesen eine signifikante Erhöhung der TIMP-1 Transkripte in Mamma-Ca nach (Kossakowska et al., 1991; Yoshiji et al., 1996).

In unserer Studie konnte eine Übereinstimmung der Expression der Protease MMP-9 und deren Inhibitor TIMP-1 aufgezeigt werden. Ein ähnliches Expressionsmuster fand sich sowohl in den Tumorzellen als auch im desmoplastischen Stroma, wobei die Inhibitorexpression etwas stärker ausgeprägt war. Zu vergleichbaren Ergebnissen kamen Murray et al. in Magenkarzinomen und Duffy et al. in Mammakarzinomen (Murray et al., 1998; Duffy et al. 1995). Auch Heppner et al. fanden in Mammakarzinomen TIMP-1 überwiegend stark exprimiert im Tumorstroma desselben Zelltyps, welcher MMP produziert (Heppner et al., 1996).

Es scheint überraschend, daß TIMP-1, ein Kollagenaseinhibitor, in invasiven Tumoren erhöht ist. Zwei Erklärungsmodelle sind: daß eine Hochregulation des Inhibitors TIMP-1 infolge einer erhöhten Proteasenexpression erfolgt, aber die proteolytische Aktivität überwiegt oder aber, daß bei der Präsenz von exzessiv mehr TIMP als MMP im Tumorgewebe die wachstumsfördernden Aktivitäten des Inhibitors (s.u.) das Gleichgewicht zugunsten von Wachstum und Metastasierung verschieben läßt. (Sang et al., 1998; Tomita et al., 1996).

Der Inhibitor TIMP-1 stellt sich als multifunktionelles Protein dar, welches zum einen produziert wird, um der proteolytischen Funktion der MMP entgegenzuwirken und um die strukturelle Integrität der Kollagen- und Elastinkomponenten der ECM vor zirkulierenden Proteasen zu schützen, zum anderen zeigt es wachstumsfördernde Aktivitäten. So konnte die Regulation des Wachstums durch TIMP-1 in einem breiten Spektrum von humanen und bovinen Zelllinien nachgewiesen werden (Hayakawa et al., 1992).

Eine starke TIMP-1-Expression wurde in Mammakarzinomen in Zellen des Tumorstromas und in allen Gebieten mit ECM-Umbau beobachtet. Dabei erwies sich die TIMP-Expression als unabhängig vom Tumorstadium und von der Gelatinaseexpression. Es wird diskutiert,

daß TIMP-1 eine Rolle bei der Tumorprogression zu spielen scheint, welche nicht von einer MMP-Hemmung abhängt. Nur der Schutz der ECM und die Hemmung der Angiogenese sind beide abhängig von einer Hemmung der Proteasenaktivität. Im Gegensatz dazu ist die Stimulation des Wachstums und der Differenzierung der verschiedenen Zelltypen unabhängig von der Fähigkeit zur Hemmung der MMP-Aktivität (Lindsay et al., 1995 und 1997). So konnten auch Chesler et al. nachweisen, daß die wachstumsfördernden Aktivitäten von TIMP-1 und die antiproteolytische Fähigkeit physikalisch und funktionell unabhängig voneinander sind (Chesler et al., 1995). Welche der Funktionen von TIMP-1 ursächlich zur Überexpression im malignen Tumoren führt, bleibt noch ungeklärt.

Auf Grund unserer Ergebnisse muß die ausgeprägte Korrelation der Expressionsmuster der Protease MMP-9 und des korrespondierenden Inhibitors TIMP-1 als eine Antwort zur Tumordinvasion diskutiert werden und dabei die TIMP-1 Überexpression als der Versuch, die MMP-Aktivität zu kontrollieren und die ECM-Integrität zu erhalten. Für diese These sprechen auch die durch den Einsatz künstlicher Inhibitoren, z.B. Barimastat und Marimastat bei fortgeschrittenen malignen Tumorerkrankungen, erzielten Erfolge. Hier zeigte sich eine deutliche Reduktion der Tumorgroße.

5.4 TIMP-2

Annähernd übereinstimmend mit den TIMP-2 Ergebnissen zeigte sich auch die TIMP-2-Expression in den benignen und malignen Schilddrüsenneoplasien dieser Studie.

TIMP-2 mRNA konnte mittels RT-PCR in fast allen untersuchten neoplastischen Geweben in starker Expression ermittelt werden. Eine schwache bis mäßige TIMP-2 Expression fand sich in 40% der benignen Schilddrüsenewebe, wobei eine Parallelität zwischen TIMP-1- und TIMP-2-Expression nicht nachgewiesen werden konnte. Die malignen Gewebe waren in 86% der untersuchten Fälle TIMP-2 positiv.

Im Zytoplasma der Tumorzellen und in den den Tumor umgebenden Fibroblasten konnte TIMP-2 immunhistochemisch in fast identischer Lokalisation wie die beiden Proteasen und TIMP-1 nachgewiesen werden. Auch bei diesem Inhibitor war eine starke Expression in den Endothelzellen des Gefäßsystems der Neoplasien vorzufinden, was auf eine wichtige Rolle bei der Neoangiogenese von Schilddrüsentumoren hinweist.

Vergleichbar mit den TIMP-1 Ergebnissen zeigten sich die Expressionsraten der differenzierten Tumoren. In 80% der follikulären Karzinome bzw. in allen papillären Karzinomen war eine überwiegend fokal starke TIMP-2 Immunreaktivität zu ermitteln. Auffällig waren auch bei diesem Inhibitor die gering differenzierten insulären Karzinome.

Hier zeigte sich in 71% der Fälle eine zweifach positive diffus starke Expression. Ähnlich wie bei TIMP-1, scheint in der Übergangsphase zwischen differenzierten und anaplastischen Schilddrüsenkarzinomen eine verstärkte TIMP-Expression zu erfolgen. Auch bei

anaplastischen Karzinomen lassen sich Parallelen zu TIMP-1 feststellen. Es zeigten alle untersuchten Gewebe eine positive Immunreaktion, aber nur 19% der Tumoren waren zweifach positiv für TIMP-2. Bei den medullären Karzinomen waren im Vergleich zu TIMP-1 geringere Expressionsraten zu ermitteln. Für TIMP-2 fiel der Anteil zweifach positiver immunhistochemischer Reaktionen geringer aus (13%). Insgesamt 23 von 30 Fällen (77% gegenüber 96% bei TIMP-1) der MTC war ein positives Reaktionsprodukt zu beobachten. Ein ähnliches Expressionsmuster zeigten die sporadische und die familiäre Form der MTC.

Ein Zusammenhang zwischen der TIMP-2-Expression und der Tumorgroße, dem Lymphknotenstatus sowie der hämatogenen Metastasierung konnte nicht ermittelt werden. Diese Ergebnisse werden auch von der Gruppe Santoro et al. bestätigt. Sie wiesen in neoplastischen Zelllinien von humanen Schilddrüsen eine signifikante Erhöhung des TIMP-2 Transkriptes im Vergleich zu normaler Schilddrüse nach (Santoro et al., 1994). In immunhistochemischen Studien von Kolon-, Magen- und Mammakarzinomen war ebenfalls eine erhöhte TIMP-2-Expression im Tumorzellzytoplasma und im umgebenden Stroma zu beobachten (Höyhty et al., 1994). In Lungenneoplasien, mit Ausnahme des kleinzelligen Lungenkarzinoms konnte eine TIMP-2 Überexpression ermittelt werden (Kawano et al., 1997).

Eine weitere TIMP-2 Überexpression konnte in Blasenepithelneoplasien nachgewiesen werden, dabei hauptsächlich im Stroma um invasive Zellnester, welche auch Gelatinase A positiv waren (Grignon et al., 1996). Entsprechend der Korrelation zwischen MMP-9 und TIMP-1 zeigte sich eine ähnliche immunhistochemische Lokalisation von TIMP-2 und der Gelatinase A, wobei auch hier die Intensität des Inhibitors stärker war. Somit läßt sich auch für TIMP-2 die Schlußfolgerung ableiten, daß die Überexpression entweder eine Gegenregulation zur Proteasenaktivität darstellt oder aber die Überexpression auf die wachstumsstimulierende Funktion des Inhibitors zurückzuführen ist. Denn TIMP-2 ist ebenso wie TIMP-1 ein multifunktionelles Protein, welches neben der die Proteasen hemmenden Aktivität auch die Funktion eines Wachstumsfaktors sowie eines Inhibitors der Angiogenese aufweist (Emmert-Buck et al., 1995, Hayakawa et al., 1994; Kostoulas et al., 1999).

Eine genaue Ursachenklärung bleibt Aufgabe weiterer Studien.

5.5 Klinische Bedeutung der gewonnenen Ergebnisse

Die Daten dieser Studie haben gezeigt, daß die Aktivität der Matrixmetalloproteasen und der Inhibitoren stark mit der Tumorinvasion und Metastasierung von Schilddrüsenkarzinomen assoziiert ist. Anhand der vorliegenden Ergebnisse dieser Studie ergibt sich eine mögliche klinische Bedeutung durch die Kontrolle der Proteasentätigkeit.

Da die Balance zwischen den Proteasen und deren Inhibitoren ein entscheidender Faktor bei der Tumorentstehung und -progression zu sein scheint, erfolgten zahlreiche Studien, in denen die Wirkungen der Inhibitoren untersucht wurden. Dabei kam es zu widersprüchlichen Ergebnissen. Einige Studien zeigten eine Tumorreduktion durch TIMP-1 bzw. TIMP-2 auf (Khokha et al., 1992.; DeClerck et al., 1992; Valente et al., 1998). Während in der Mehrzahl der Studien die Inhibitoren wahrscheinlich durch die wachstumsstimulierende Funktion ohne den Nachweis einer tumorreduzierenden Wirkung hoch reguliert waren. (McCarthy et al., 1999; Goss et al., 1998; Lindsay et al., 1997). Erfolge bei der Hemmung der Tumorinvasion, Metastasierung und Tumorangiogenese versprechen präklinische Daten über mindestens 6 verschiedene synthetische Inhibitoren der Matrixmetalloproteasen (u.a. Batimastat und Marimastat). Batimastat, der am umfangreichsten untersuchte synthetische Inhibitor, ist ein Hydroxamsäureanalogon. Er erfaßt ein breites Spektrum der MMP Aktivität. Sowohl in animalen als auch in humanen Karzinomen bzw. Karzinomzelllinien konnte eine Hemmung sowohl des Tumorwachstums als auch der Metastasierung festgestellt werden (Sledge et al., 1995; Tonn et al., 1999; Bu et al. 1998). Auf Grund in der klinischen Anwendung aufgetretener Nebenwirkungen (keine orale Verfügbarkeit, toxische Lokalreaktionen bei intraperitonealer Anwendung) wurde ein oral verfügbarer Inhibitor „Marimastat“ entwickelt. Marimastat, ebenfalls ein Hydroxamsäureanalogon, wird z.Z. an Patienten mit Pankreas-, Lungen- und Magenkarzinomen sowie Glioblastomen in Studien der Phase III untersucht. Die endgültigen Ergebnisse liegen noch nicht vor. Dabei ist zu beachten, daß die synthetischen Inhibitoren eher zytostatische als zytotoxische Effekte besitzen und daher als adjuvante Therapie nach der chirurgischen Entfernung des Tumors, Radiotherapien oder Knochenmarktransplantationen zum Schutz vor erneuten Tumorwachstum geeignet sind (Watson et al., 1999; Yu et al., 1998; Cockett et al., 1998; Wojtowicz-Praga et al., 1997).

Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Hinweise auf die Bedeutung der Matrixmetalloproteasen MMP-2 und MMP-9 sowie deren Inhibitoren TIMP-1 und TIMP-2 lassen den Schluß zu, daß auch in Schilddrüsenkarzinomen eine Anwendung der synthetischen Inhibitoren mit dem therapeutischen Ziel der Hemmung der Tumorprogression bei den undifferenzierten Tumoren zu überlegen ist.

Die Beeinflussung der MMP-Aktivität ist somit ein erfolgversprechender Schritt im Kampf gegen die Invasivität und Metastasierung von Karzinomen.