

4. Zusammenfassung

Im Rattengenom sollten tumorsuszeptible Gene identifiziert und kartiert werden. Dazu wurde das Tumorspektrum der F1- und F2-Generationen ausgewählter Kreuzungen von Rattenstämmen aufgezeigt und eine Kopplungsanalyse der F2-Generationen durchgeführt. Mit den Daten der für die Kopplungsanalyse verwendeten Marker wurden außerdem Kopplungskarten erstellt. Chromosom 20 wurde dabei besonders berücksichtigt.

Im Vorfeld dieser Arbeit wurden Kreuzungen von Rattenstämmen angesetzt, die eine unterschiedliche genetische Prädisposition für endometriale Karzinome aufweisen. Die BDII Ratte mit ihrer hohen Inzidenz wurde mit einem Stamm verpaart, der eine niedrige Inzidenz für Zervikal- und Vaginaltumoren hat (BN Ratte) bzw. einem resistenten Stamm (SPRD-Cu3 Ratte). Das Tumorspektrum der F1- und F2 Generationen der Kreuzungen (BDII x BN) und (BDII x SPRD-Cu3) zeigt ausschließlich Tumoren, für die eine östrogenabhängige Genese beschrieben ist: Uterine Tumoren, Mammatumoren und Hypophysentumoren. Für die Kreuzung (BDII x SPRD-Cu3) ergeben sich bei den endometrialen Tumoren Hinweise auf einen rezessiven Erbgang, für die (BDII x BN) Kreuzung ist dies nicht erkennbar. Bei der Kreuzung (BDII x SPRD-Cu3) traten vermehrt Mammatumoren auf, für die der Ausgangsstamm SPRD-Cu3 eine hohe Inzidenz und die BDII Ratte eine sehr geringe Inzidenz aufweist. Berücksichtigt man lediglich die benignen Tumoren, konnten auch hier Anhaltspunkte für einen rezessiven Erbgang gefunden werden.

Eine Kopplungsanalyse wurde für die Chromosomen 4, 7, 11, 12, 13, 15, 18, 19 und 20 durchgeführt, die restlichen Chromosomen werden in den weiteren an diesem Projekt beteiligten Arbeitsgruppen in Göteborg und Brüssel analysiert. Für die Kopplungsanalyse mußten zunächst Marker gefunden werden, die für die Ausgangsstämme Polymorphismen aufweisen. Von 277 getesteten Markern waren 99 für die Kreuzung (BDII x SPRD-Cu3) polymorph, 82 davon wurden eingesetzt. Für die Kreuzung (BDII x BN) waren 142 Marker polymorph, davon kamen 79 zum Einsatz.

Alle 112 Tiere der F2-Generationen wurden mit Hilfe der polymorphen Marker typisiert. Im χ^2 -Test ergaben die folgenden Marker signifikante Kopplungen zum Auftreten von uterinen Tumoren:

(BDII x SPRD-Cu3): D4Mgh1; D11Mgh6 und D20Mit2

(BDII x BN): D12Mgh6; D15Mgh2; D15Mgh8; D15Mgh4; D20Rat48 und D20Mit2.

Für die Mammatumoren:

(BDII x SPRD-Cu3): D20Rat10; D20Rat55; D20Rat56; D20Rat29 und D20Rat39.

Das Verteilungsmuster des Verhältnisses homozygoter zu heterozygoter Tiere gibt Hinweise auf eine Beteiligung von Chromosom 4.

Die Bereiche, in denen sich diese Marker auf dem betreffenden Chromosom befinden, sind verdächtig, tumorsuszeptible Gene zu enthalten und müssen in weiteren Studien genauer untersucht werden. Dabei können die Ergebnisse erst bei Vorliegen der Analysendaten der anderen beteiligten Arbeitsgruppen abschließend beurteilt werden.

Mit den in der Kopplungsanalyse verwendeten Markern wurden genetische Kopplungskarten erstellt. Diese geben Auskunft über Lage und chromosomale Zuordnung der Marker und decken Fehlkartierungen auf. Chromosom 20 zeigte zunächst für beide Tumorformen signifikante Kopplungen, so daß dieses Chromosom mit den zur Zeit kleinstmöglichen Markerabständen analysiert wurde. Dabei konnte durch die zusätzliche Verwendung von DNA Lewis-kongener Stämme die Einordnung der Marker innerhalb oder außerhalb des *RTI* (MHC der Ratte) erfolgen.

Barbara Beckmann: Genetic investigations on the development of spontaneous endometrial- and mammary-tumors in the laboratory rat (*Rattus norvegicus*).

7. Summary:

The aim of the study was to identify and map rat genes conferring susceptibility to uterine and mammary cancer. For this purpose F1- and F2-females of specifically suitable crosses (BDII x SPRD-Cu3) and (BDII x BN) had to be analysed for their tumor spectrum within 24 month of age and genotyped for a set of microsatellite markers. The genetic analysis was performed to provide information on the mode of inheritance, the number of genes involved and the chromosomal location of these susceptibility genes. With the genotyping-data we constructed microsatellite maps paying a special attention to chromosome 20.

The breeding has been initiated one and a half year before the analysis could be performed, because tumors were not expected to occur prior 18 month of age. The three inbred strains are characterized by different incidences for endometrial carcinomas. The BDII rat with its very high incidence (>90%) has been mated with SPRD-Cu3 rats, which hardly develop this type of tumor, respectively with BN rats, which show only a low incidence for uterine tumors (=19%). The F2- intercrosses only developed tumors, which are known to be estrogen-dependent: Uterine tumors, mammary-tumors and pituitary-tumors. For the (BDII x SPRD-Cu3) crosses there are hints for the involvement of just one or two genes in the uterine carcinogenesis and for a recessive inheritance. For the (BDII x BN) intercross the involvement of one or a few genes can be assumed, while the mode of inheritance remains unclear: obviously in this case additive effects of tumor growth modifying genes lead to a proportion of uterine tumor higher than expected. A consistable number of mammary-tumors occurred in the (BDII x SPRD-Cu3) crosses, for which the SPRD-Cu3 has a high incidence, but not the BDII strain. With respect to the benign mammary-tumors there is evidence for monogenetic or at most an oligogenetic inheritance combined with pattern in a recessive mode.

Linkage analysis has been carried out for the chromosomes number 4, 7, 11, 12, 13, 15, 18, 19 and 20 in this thesis, while the remaining chromosomes will be analyzed by cooperating partners of this EU-project in Gothenburg and Brussel. For this kind of investigation markers had to be found, which are polymorphic for the inbred strains used in this study. From the 277 markers tested 99 turned out to be polymorphic for the BDII and SPRD-Cu3 strains and 82 were used in the analysis of the nine chromosomes mentioned above. For the BDII and BN cross 142 markers showed a polymorphism, 79 of which have been selected for genotyping.

All 112 rats of the F2-population have been genotyped with these microsatellite markers. After an initial scan of the chromosomes with a marker distance of 20 cM apart, additional markers were selected and used for fine mapping of regions possibly carrying tumor susceptibility genes. Results of the χ^2 -tests show association between the following markers and the occurrence of a uterine tumor:

(BDII x SPRD-Cu3): D4Mgh1, D11Mgh6 and D20 Mit2

(BDII x BN): D12Mgh6, D15Mgh2, D15Mgh8, D15Mgh4, D20Rat48 and D20Mit2

Association with mammary-tumors:

(BDII x SPRD-Cu3): D20Rat10, D20Rat55, D20Rat56, D20Rat29 and D20Rat39.

The relative proportion of homozygous and heterozygous genotypes further supports the involvement of chromosome 4 in mammary-carcinogenesis.

Further studies with backcross populations and the analysis of the genotyping from the partner groups are necessary to confirm our data.

Based on our genotyping genetic linkage maps were constructed, which are informative for the assignment and location of single markers. Originally chromosome 20 seemed to be involved in both types of tumors, therefore all known markers were used for the genotyping. However it turned out that D20Mit2 which was the one with significant χ^2 -results is not a member of chromosome 20, but to chromosome 16.

For microsatellite markers mapping to the chromosomal region on RNO 20, that contains the major histocompatibility complex (*RTI*) with additional analysis using DNA from a large set of MHC congenic LEW rats it was possible to place these markers within or outside the *RTI* region.