

VI. Zusammenfassung

Es wurde die Expression des CD44-Molekuls in seiner Standardform und in verschiedenen Isoformen bei Gliomzellen untersucht

Hierfür wurden sieben Gliomzelllinien (fünf permanente Gliomzelllinien humanen Ursprungs sowie zwei Tumorzelllinien aus Xeno-Transplantationstumoren) verwendet.

Der Nachweis erfolgte mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern gegen CD44-s und fünf verschiedenen CD44-Varianten (v5, v6, v7, v7/8, v10) mit verschiedenen Darstellungsmethoden. Alle Zelllinien exprimierten sowohl CD44-s als auch CD44-Varianten. Die Expression der Varianten war aber immer deutlich geringer ausgeprägt als die CD44-s-Expression.

Eine immunhistochemische Färbung mit denselben Antikörpern zeigte ebenfalls bei allen Zelllinien eine deutlich positive Immunreaktivität für CD44-s. Bei den Varianten ergab sich jedoch nur in wenigen Fällen eine sehr schwache bis fragliche Immunreaktivität.

Ein mRNA-Nachweis von acht verschiedenen CD44-Varianten (v3, v4, v5, v6, v7, v8, v9, v10) zeigte eine Variantenexpression bei allen untersuchten Zelllinien, allerdings in sehr unterschiedlicher Anzahl! (von einer Variante in der Zelllinie N63-85 bis zu sechs Varianten in der Zelllinie N14-88). Die immunhistochemische Färbung einer fetalen Zellkultur ergab eine positive Immunreaktivität für CD44-s, jedoch nicht für die untersuchten Varianten (v5, v6, v7, v7/8, v10).

Die immunhistochemischen Färbungen von Schnittpräparaten (Paraffin- und Kryostatenschnitte) von Groß- und Kleinhirn sowie von Gliomen mit monoklonalen Antikörpern gegen CD44-s und jeweils einer Variante zeigten eine meist diffuse Anfärbung mit CD44-s. CD44-Varianten (v5 bzw. v7/8) konnten nicht nachgewiesen werden.

Weiterhin wurde das Expressionsverhalten von CD44-s und Varianten unter dem Einfluß von γ -IFN in Gliom-Zelllinien untersucht.

Mit dem Mikro-ELISA zeigte sich bei CD44-s bei den meisten Zelllinien eher eine Expressionssteigerung, während die Varianten v5, v6, v7, v7/8, v10 entweder nicht beeinflusst wurden oder eine Expressionsverminderung erfolgte. Allerdings ergaben die Werte eine breite Streuung mit geringer Signifikanz.

Der mRNA-Nachweis von acht CD44-Varianten (v3, v4, v5, v6, v7, v8, v9, v10) mittels PCR zeigte dagegen sowohl eine stärkere Expression der Varianten oder das Auftreten zusätzlicher Varianten als auch eine Variantenabnahme

Alle Untersuchungen wurden auch mit dem Antikörper MUC 2-63 durchgeführt, ein gegen menschliche Gliomzellen gerichteter Antikörper MUC 2-63 reagierte in allen Fällen gleichartig wie der Antikörper gegen das CD44-Standardmolekül und bekräftigt somit die Identität von CD44-s und dem MUC 2-63-Antigen

VII. Summary

Susanne Kramer:

CD44-expression in human glioma cells under various conditions of growth

The expression of the CD44 molecule in its standard form and in various iso-forms has been investigated in glioma cells.

For this investigation seven glioma cell lines were used, five permanent glioma cell lines of human origin as well as two tumor cell lines from transplantation tumors.

The detection was carried out with the assistance of monoclonal antibodies against CD44-s and five different CD44 variants (v5, v6, v7, v7/8, v10) using from different methods of examination. All cell lines expressed CD44-s as well as CD44 variants. The expression of the variants however was always clearly less marked than the expression of the CD44-s

An immuno-histochemical staining with the same antibodies also indicated a clearly positive immune reactivity for CD44-s. As far as the variants were concerned, only a few cases produced a very weak and questionable immune reactivity.

A mRNA detection of eight different CD44 variants (v3, v4, v5, v6, v7, v8, v9, v10) revealed a variant expression in all examined cell lines, but in very varied numbers (from one variant in cell line N63-85 to six variants in cell line N14-88).

The immuno-histochemical staining of a foetal cell culture revealed a positive immune reactivity for CD44-s, but not for the investigated variants (v5, v6, v7, v7/8, v10)

The immuno-histochemical staining of slice preparations (paraffin and cryostat slice) of the cerebrum and the cerebellum as well as of a glioma with monoclonal antibodies against CD44-s and a variant for each showed a diffuse staining of CD44-s. CD44 variants (v5 or v7/8) could not be detected

Furthermore the expression of CD44-s and variants under the influence of γ -IFN in glioma cell lines has been investigated.

In micro-ELISA with five variants (v5, v6, v7, v7/8, v10) CD44-s showed a decrease in expression, whereas the variants were either not influenced or showed a decrease in expression. The results however revealed a broad scattering of no significance.

The mRNA-detection of eight CD44 variants (v3, v4, v5, v6, v7, v8, v9, v10) by means of PCR showed in comparison a stronger expression of the variants or the appearance of additional variants as well as a variant decrease.

All investigations have also been examined with the antibody MUC 2-63, an antibody directed against human glioma cells. In all cases MUC 2-63 reacted similarly to the antibody against the CD44 standard molecule and therefore confirms the identity of CD44-s and the MUC 2-63 antigen.