Die Rolle von ChREBP in der Nephrokarzinogenese diabetischer Mäuse

Jessica Jeremy Siewert (Institut für Pathologie)

Dieses Projekt der AG Ribback befasst sich weiterführend mit der Rolle des Carbohydrate responsive element binding proteins (ChREBP) in der renalen Karzinogenese bei diabetischen Mäusen. ChREBP ist ein glukoseabhängiger Transkriptionsfaktor, der bei wesentlichen zellulären Prozessen der Tumorentstehung von Bedeutung ist (gesteigerte Glykolyse, de novo Lipogenese, onkogener Signalweg von AKT/mTOR). Je nach Organ, bzw. Gewebe, scheint ChREBP zudem unterschiedliche Eigenschaften in der Karzinogenese zu besitzen.
So sind zum Beispiel in der Leber onkogene Funktionen beschrieben worden, während ChREBP in der Niere tumorsuppressiv zu wirken scheint.

Durch vorherige Projekte der AG Ribback ergab sich folgende Fragestellung:

Ist die beobachtete tumorsuppressive Eigenschaft von ChREBP in der Niere auf Funktionen in den Nierentubuluszellen selbst oder auf die metabolischen Funktionen von ChREBP zurückzuführen?

Material und Methoden

Um diese Fragestellung zu klären, verwendeten wir hepatozytenspezifische und nierentubuluszellspezifische ChREBP-Knockout (KO) Mäuse.

Diese Tiere wurden je Stamm in eine diabetische und eine nicht diabetische Gruppe, sowie in 6 Monate und 12 Monate Versuchsdauer eingeteilt (s. Tabelle rechts).

Der Versuchsablauf:

1. Eigene Zucht dabei PCR Genotypisierung
↓ *9 Wochen alte männliche Mäuse*
teils Diabetesinduktion mittels Streptozotocin

2. Blutzucker- und Gewichtsmessung
↓ *die ersten 4 Wochen wöchentlich, dann monatlich*

3. Injektion des Proliferationsmarkers (BrdU)
↓ *über 24 Stunden oder 7 Tage per osmotischer Minipumpe*

4. Perfusion
Tötung der Versuchstiere unter Narkose, Organentnahme

↳ **Verarbeitung der Organproben:**
1. HE- Färbung
2. PAS-Reaktion
3. BrdU
↳ *ggf. Immunhistochemie, Immunfluoreszens, Western blot, qPCR, Elektronenmikroskopie*

ChREBPflox/Alb-cre/flox (hepatozyten-KO), Diabetisch + Kontrolle 6 Monate, 12 Monate	**ChREBPflox/Six2-cre/flox (Nierenzelltubulus-KO), Diabetisch + Kontrolle 6 Monate, 12 Monate**
Alb-cre (WT) Leber Diabetisch+ Kontrolle 6 Monate, 12 Monate	Six2-cre (WT) Niere Diabetisch+ Kontrolle 6 Monate, 12 Monate
ChREBPflox/Albcre (WT-flox) Leber, Diabetisch+ Kontrolle 6 Monate, 12 Monate	ChREBPflox-Six2cre (WT-flox) Niere, Diabetisch+ Kontrolle 6 Monate, 12 Monate

Auswertung

Das Nierengewebe untersuchen wir in verschiedenen Reaktionen und Färbungen auf:

- **Tumoren/ Präneoplastische Läsionen:**
  - **Häufigkeit, Größe und histologische Merkmale**
  - **Proliferationsaktivität (inkl. der proximalen und distalen Tubulusepithelien mithilfe von der BrdU-Färbung)**
- **Nukleäre Glykogenspeicherung (GLK)**
- **Anzahl der Vorläuferläsionen (Armanni-Ebstein-Läsion = AEL [Abb.1, und 1.1])**
  - **dabei handelt es sich um Glykogenspeicherungen im Zytoplasma**
    -> Ebenfalls durch eine PAS-Reaktion erkennbar, hier ist der Zellkern jedoch nicht betroffen

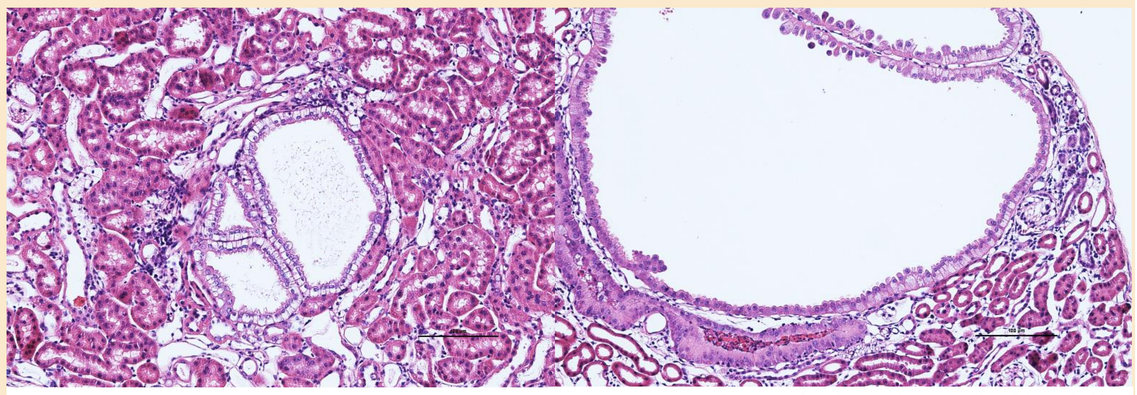

Abb. 3 Leber-KO, 6 Monate diabetisch, klarzellige Läsion, HE 100x

Abb. 4 WTflox- Leber, 12 Monate diabetisch, zystisch-hellzellige Läsion, HE 100x

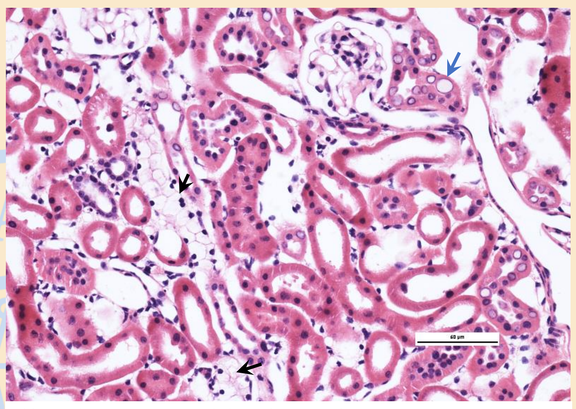

Abb.1 .Leber-KO, 6 Monate diabetisch, AEL und GLK, HE 200x

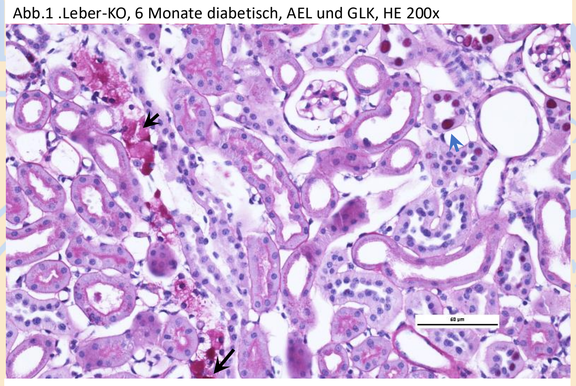

Abb. 1.1 Leber-KO, 6 Monate diabetisch, AEL und GLK, PAS 200x

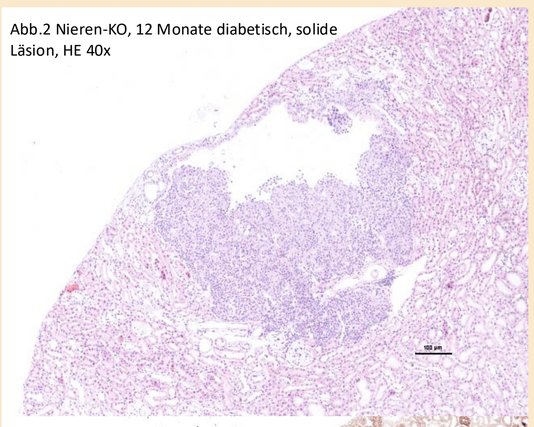

Abb.2 Nieren-KO, 12 Monate diabetisch, solide Läsion, HE 40x

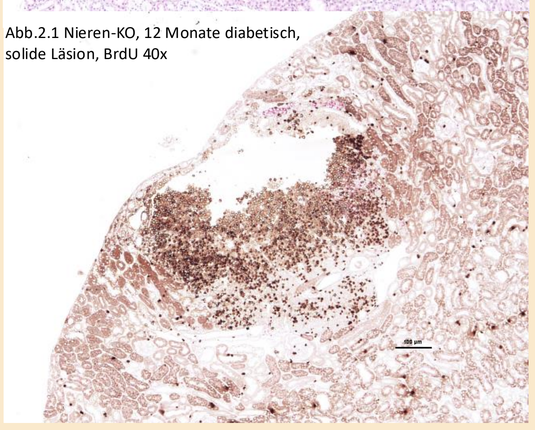

Abb.2.1 Nieren-KO, 12 Monate diabetisch, solide Läsion, BrdU 40x

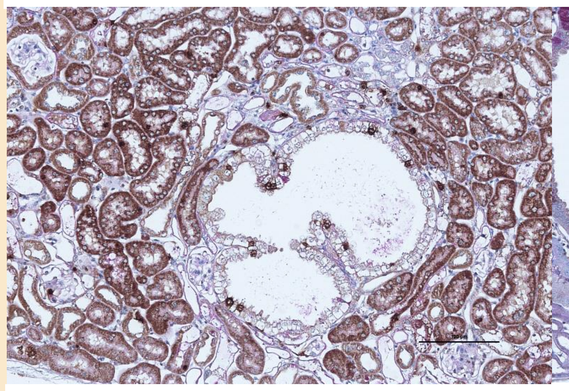

Abb. 3.1 Leber-KO, 6 Monate diabetisch, klarzellige Läsion, BrdU 100x

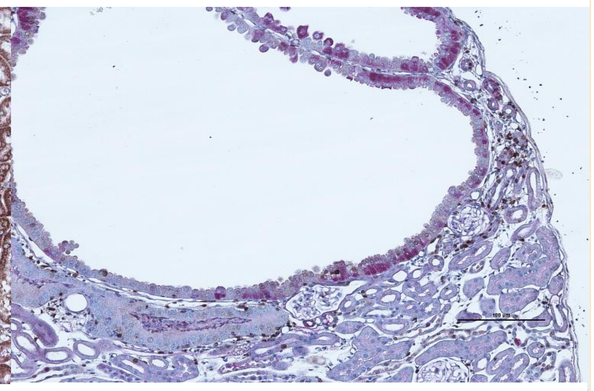

Abb. 4.1 WTflox-Leber, 12 Monate diabetisch, zystisch-hellzellige Läsion, BrdU 100x

Abb. 2.2 Nieren-KO 12 Monate, solide Läsion

Abb. 4.2 WTflox-Leber, zystisch-hellzellige Läsion

betreut durch Prof. Dr. med. Silvia Ribback, silvia.ribback@uni-greifswald.de