

Abstract V 3.7 – 3.9

Experimenteller Preis – Paul-Mellin Sitzung

Abstract V 3.7

Die Bedeutung N6-Methyladenosin (m6A) Reader beim klarzelligen Nierenzellkarzinom von Hagen F.¹, Gundert L.¹, Strick A.¹, Tolkach Y.², Kristiansen G.², Toma M.², Müller S.C.¹, Ellinger J.¹

¹Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Bonn, Urologie, Bonn, Germany, ²Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Bonn, Pathologie, Bonn, Germany

Fragestellung: N6-Methyladenosin ist die häufigste bekannte RNA-Modifikation des Menschen. Sie verändert die Sekundärstruktur und damit die Stabilität von RNA-Molekülen. Diverse Gene sind an der Entstehung, Aufrechterhaltung und der Funktionalität dieser Modifikation beteiligt. Man spricht in diesem Zusammenhang von RNA-bindenden Proteinen (Reader), Methylasen (Writer) und Demethylasen (Eraser). In dieser Studie soll die Bedeutung der Reader HNRNPA2B1, HNRNPC, YTHDC1, YTHDF1, YTHDF2, sowie YTHDF3 untersucht werden.

Methodik: Es wurde die Gesamt-RNA aus Nierengewebe von 166 klarzelligen Nierenzellkarzinomen (ccRCC) und 102 gesunden Nierengeweben isoliert. Die mRNA-Expressionsprofile von HNRNPA2B1, HNRNPC, YTHDC1, YTHDF1, YTHDF2, und YTHDF3 wurden mittels quantitativer Real-Time-PCR ermittelt. Die Expressionslevel wurden sowohl mit dem Overall-Survival, als auch mit klinisch-pathologischen Daten korreliert. Das TCGA-Datenset wurde zur externen Validierung genutzt.

Ergebnis: Die Expression von allen m6A-Readern zeigte sich im ccRCC signifikant herabreguliert im Vergleich zu gesundem Nierengewebe (alle $p < 0.001$). Darüber hinaus sind niedrige Expressionsniveaus mit einem fortgeschrittenen pT-Stadium (pT1 vs. pT2 vs. pT3 vs. pT4: HNRNPC, $p=0,039$) sowie dem Vorhandensein von Fernmetastasen (HNRNPA2B1, $p=0,037$; HNRNPC, $p=0,025$; YTHDC1, $p=0,004$; YTHDF1, $p=0,010$; YTHDF2, $p=0,015$; YTHDF3, $p=0,021$) korreliert. Die Kaplan-Meier Analysen zeigen, dass niedrige Level von HNRNPC (log-rank $p=0,060$), YTHDC1 (log rank $p=0,004$), YTHDF1 (log rank $p=0,046$), YTHDF3 (log rank $p=0.002$) mit einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert sind. Die Validierung der Untersuchungsergebnisse mit dem TCGA Datensatz für das ccRCC zeigte für HNRNPA2B1 ($p=0,001$), HNRNPC ($p=0,012$), YTHDF1 ($p < 0,001$) und YTHDF3 ($p=0,035$) ebenfalls eine signifikante Korrelation von verringertem Expressionsniveau und kürzerem Gesamtüberleben.

Schlussfolgerung: Die m6A-Reader sind im ccRCC dysreguliert. Die Abnahme ihrer Genexpression ist ein signifikanter prognostischer Parameter für das Gesamtüberleben der Patienten nach Nephrektomie bzw. Nierenteilresektion.

Abstract V 3.8

Die prognostische Bedeutung von N6-Methyladenosin-Demethylasen beim Nierenzellkarzinom

Strick A.¹, Gundert L.¹, von Hagen F.¹, Tolkach Y.², Kristiansen G.², Toma M.², Müller S.C.¹, Ellinger J.¹

¹Universitätsklinikum Bonn, Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Bonn, Germany,

²Universitätsklinikum Bonn, Institut für Pathologie, Bonn, Germany

Einleitung: N6-Methyladenosin (m6A) ist die häufigste RNA-Modifikation des Menschen und beeinflusst die Sekundärstruktur und Stabilität der RNA Moleküle. Verschiedene Gene sind in der Etablierung der Modifikation involviert, darunter die Demethylasen ALKBH5 und FTO. Aktuelle Untersuchungen lassen eine Rolle von m6A und den modifizierenden Faktoren in der Karzinogenese verschiedener Malignome vermuten.

Material und Methoden: Aus Proben von 166 klarzelligen Nierenzellkarzinomen (ccRCC) und 106 normalen Nierengeweben wurde die Gesamt-RNA isoliert und das mRNA-Expressionsprofil von ALKBH5 und FTO mittels quantitativer real-time PCR bestimmt.

Die Expressionslevel wurden in Korrelation sowohl mit klinischen und pathologischen Parametern, als auch mit dem Gesamtüberleben gesetzt. Für die externe Validierung wurden die TCGA Daten herangezogen.

Ergebnisse: Die Expression von ALKBH5 zeigte sich im ccRCC gegenüber normalem Nierengewebe vermindert ($p < 0,001$), FTO war nicht signifikant verändert ($p = 0,856$). Patienten mit Fernmetastasen zeigten signifikant verminderte Expressionslevel im ccRCC (ALKBH5 $p = 0,007$; FTO $p = 0,034$). Weder das pT-Stadium noch das Grading waren mit der ALKBH5 und FTO Expression assoziiert. Die Kaplan Meier Analyse zeigte, dass sowohl niedrige Expressionslevel von ALKBH5 (log-rank $p = 0,007$) und FTO (log-rank $p = 0,039$) mit einem verkürzten Gesamtüberleben korrelierten. Die externe Validierung mit den TCGA Daten konnte die prognostische Relevanz von ALKBH5 und FTO jedoch nicht bestätigen; es bestand keine Korrelation von Gesamtüberleben und Genexpression.

Fazit: Die m6A-Demethylase ALKBH5 ist im ccRCC dysreguliert; zudem geht die verminderte Expression von FTO und ALKBH5 mit einer schlechteren Prognose einher und könnte als Prognose-Parameter eingesetzt werden.

Abstract V 3.9

Relevanz der Methyltransferasen der N6-Methyladenosin-Modifikation (m6A) bei klarzelligen Nierenzellkarzinomen

Gundert L.¹, Strick A.¹, von Hagen F.¹, Tolkach Y.², Kristiansen G.², Toma M.², Müller S.C.¹, Ellinger J.¹

¹Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Bonn, Bonn, Germany,

²Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Bonn, Bonn, Germany

Einleitung: Die N6-Methyladenosin-Modifikation spielt eine wichtige Rolle in der Modulation der RNA-Expression beim Menschen; unter anderem zeigt sich ihre Bedeutung in der Beeinflussung der Sekundärstruktur und Stabilität der RNA. Die m6A Modifikation wird durch Methylasen (Writer), Demethylasen (Eraser) und RNA-bindende Proteine (Reader) vermittelt. An der Etablierung der m6A Modifikation sind zahlreiche Gene beteiligt, bezüglich der m6A-Methylasen handelt es sich dabei um METTL3, METTL4, METTL14, WTAP und KIAA1429.

Material und Methoden: Zur Analyse der mRNA-Expression von METTL3, METTL4, METLL14, WTAP und KIAA1429 wurde total RNA aus 166 klarzelligen Nierenzellkarzinomen (ccRCC) und aus 102 Normalnierengeweben isoliert und mithilfe der quantitativen real-time PCR untersucht. Die jeweiligen Expressionslevel wurden mit klinisch-pathologischen Parametern und dem Gesamtüberleben in Korrelation gesetzt. Zusätzlich erfolgte eine externe Validierung der eigenen Daten mit den TCGA Daten für das ccRCC.

Ergebnisse: Im Vergleich zum normalen Nierengewebe ist die Expression aller m6A-Methyltransferasen im ccRCC-Gewebe herunterreguliert (alle $p < 0,001$). Die erniedrigten Expressionslevel korrelieren mit hohem Grading (METTL3, G1/2 vs. G3/4, $p = 0,010$), einem fortgeschrittenen pT-Status (METTL4, pT1/2 vs. pT3/4, $p = 0,039$), und einer Fernmetastasierung (METTL3, $p = 0,040$; METTL14, $p = 0,003$; KIA1429, $p = 0,026$; WTAP, $p = 0,004$). Die Kaplan-Meier-Überlebensanalyse zeigt, dass niedrige Level von METTL3 (log rank $p = 0,0016$), METTL4 (log rank $p = 0,019$), METTL14 (log rank $p = 0,025$), KIAA1429 (log rank $p < 0,001$) und WTAP (log rank $p = 0,037$) mit einem kürzeren Gesamtüberleben (OS) korrelieren. Die Validierung mit den TCGA Daten konnte für METTL3 ($p = 0,006$), METTL14 ($p < 0,001$), WTAP ($p = 0,021$) und KIAA1429 ($p = 0,009$) bestätigen, dass ein vermindertes Expressionsniveau mit einem kürzerem Gesamtüberleben einhergeht.

Fazit: Die m6A-Methyltransferasen weisen eine verminderte Expression im ccRCC auf. Die Dysregulation geht mit einem aggressiveren Phänotyp einher und zeigte eine Korrelation mit dem Gesamtüberleben nach Nierenteilresektion bzw. Nephrektomie. Somit ist anzunehmen, dass die m6A-RNA-Modifikation eine wichtige - noch zu klärende - Funktion in der Entstehung und Progression des ccRCC einnimmt.