



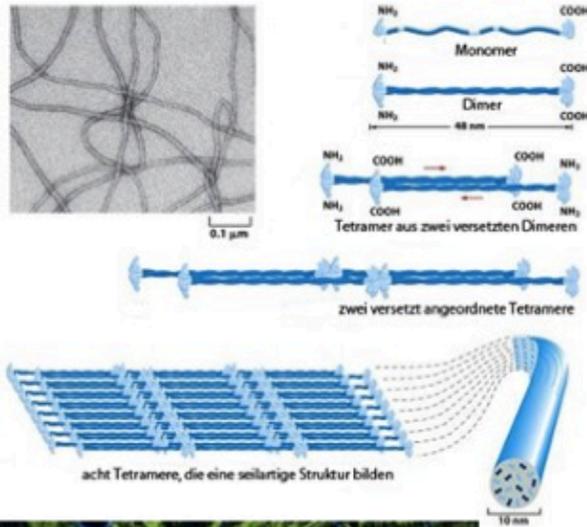
Nestinexpression in
melanozytären
Tumoren der
Bindehaut

Nestin

- Intermediäres Filament Klasse VI
- Kommt in Zellen mit Stammzellcharakter vor, auch während Wundheilung (als Gewebereserve)
- Kommt aber auch in Krebs“stammzellen“ sowie niedrig differenzierten Tumorzellen vor und scheint zur Tumoraggressivität beizutragen
- Ist bei der Tumorangio-genese bei der Interaktion zwischen Tumorzellen und Gefäßendothelzellen beteiligt

Tampaki EC et al.: Nestin involvement in tissue injury and cancer-
-a potential tumor marker? Cell Oncol 2014

Intermediärfilamente (IF)



• ~10 nm dick

- Zugfest → mechanische Festigung (z. B. Epithelzellen der Haut, Neurone, Muskelzellen)
- umringen oft den Zellkern, strahlen in die Peripherie aus → sind oft an Zell-Zell-Verbindungen verankert (z. B. Desmosom)
- Auch im Zellkern: Lamin (Kernhülle)

Gruppen:

1. Keratin (Epithel)
2. Vimentin und Verwandte

Vimentin: Bindegewebszellen

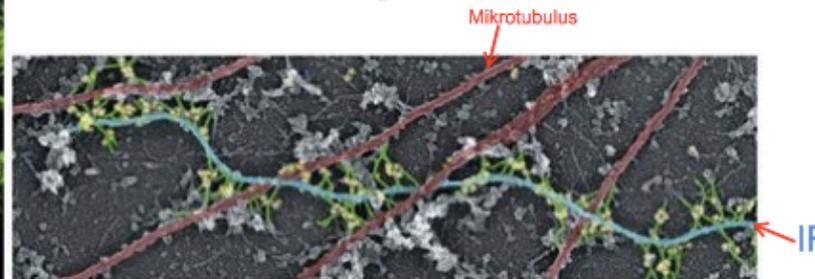
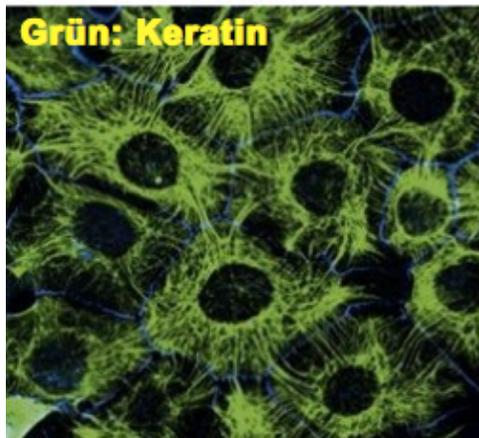
Desmin: Muskelzellen

GFAP: Gliazellen

1. Neurofilamente (NF-L, -M, -H)
2. (Kern)Lamine

Hilfsproteine:

- Plectin (grün), Filaggrin: hilft bei Quervernetzung, Verankerung an Desmosomen



Aus Präsentation Dr. Orsolya Kantor, Budapest, 2011

<http://slideplayer.org/slide/919807/#>

Intermediärfilamente (\varnothing 10 nm)

Typ	Vertreter	Vorkommen
1 (saure Keratine)	saures Keratin	Epithelien
2 (basische Keratine)	basisches Keratin	Epithelien
3 (Desmine)	GFAP (glial fibrillar acidic protein) Desmin Vimentin Peripherin	Gliazellen, Astrozyten Muskelzellen Zellen mesenchymaler Herkunft periphere Neurone
4	α -Internexin	ZNS während der Entwicklung
5 (Lamine)	Lamin A Lamin B Lamin C	Zellkern Zellkern Zellkern
6 (Neurofilamente)	NF-L β -Internexin NF-M NF-H Nestin	Neurone Neurone Neurone Neurone neuroepitheliale Stammzellen

Mikrofilament 7 nm, Mikrotubuli 20-30 nm

<https://de.wikipedia.org/wiki/Intermediärfilamente>

Nestin: Funktion und Zellentwicklung

- Funktion:
 - Formen der Intermediärfilamente in mitotisch aktiven Zellen
- Zunehmende Zelldifferenzierung:
 - Nestin wird durch zellspezifische Intermediärfilamente z.B. durch Neurofilament oder GFAP ersetzt

Nestin

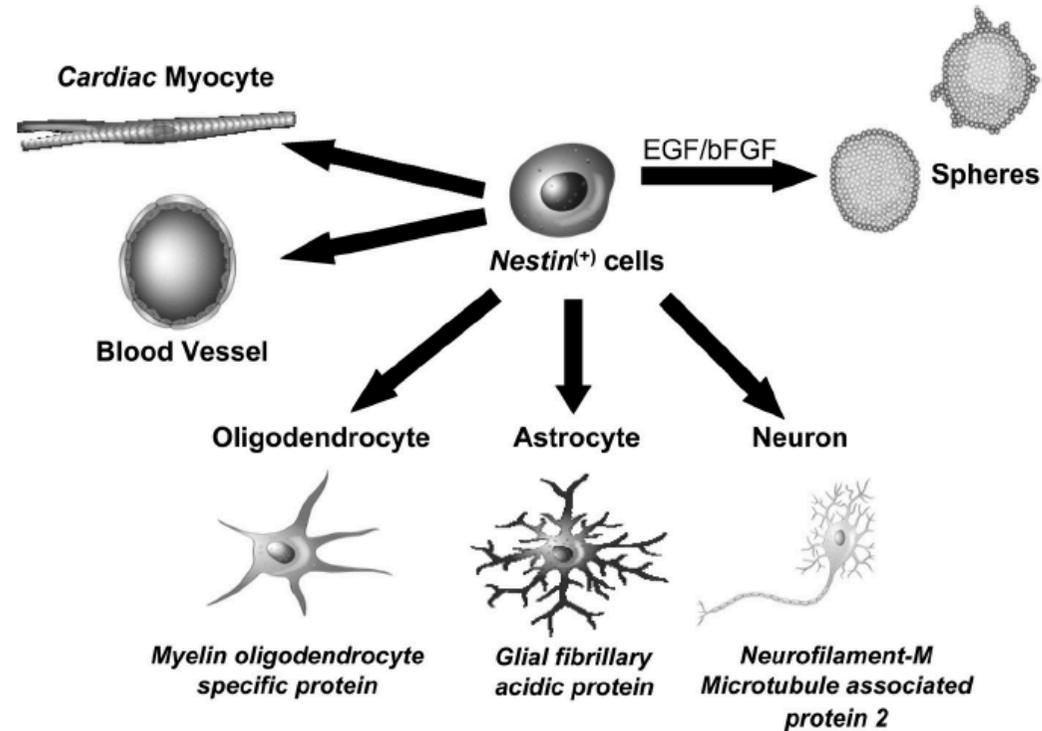
- Intermediäres Filament Klasse VI
- Kommt in Zellen mit Stammzellcharakter vor, auch während Wundheilung (als Gewebereserve)
- Kommt aber auch in Krebs“stammzellen“ sowie niedrig differenzierten Tumorzellen vor und scheint zur Tumoraggressivität beizutragen
- Ist bei der Tumorangio-genese bei der Interaktion zwischen Tumorzellen und Gefäßendothelzellen beteiligt

Tampaki EC et al.: Nestin involvement in tissue injury and cancer-
-a potential tumor marker? Cell Oncol 2014

Nestin allgemein

- Kommt vor in
 - Neuralen Vorläuferzellen
 - Mesenchymalen Knochenmarksstammzellen
 - Endothelialen Vorläuferzellen
 - Haarfollikelstammzellen (der Maus)
 - Stromalen Stammzellen der Schweißdrüsen
 - Herz (Ratte, auch Erwachsene)

Plastizität von Nestin (+)-Zellen

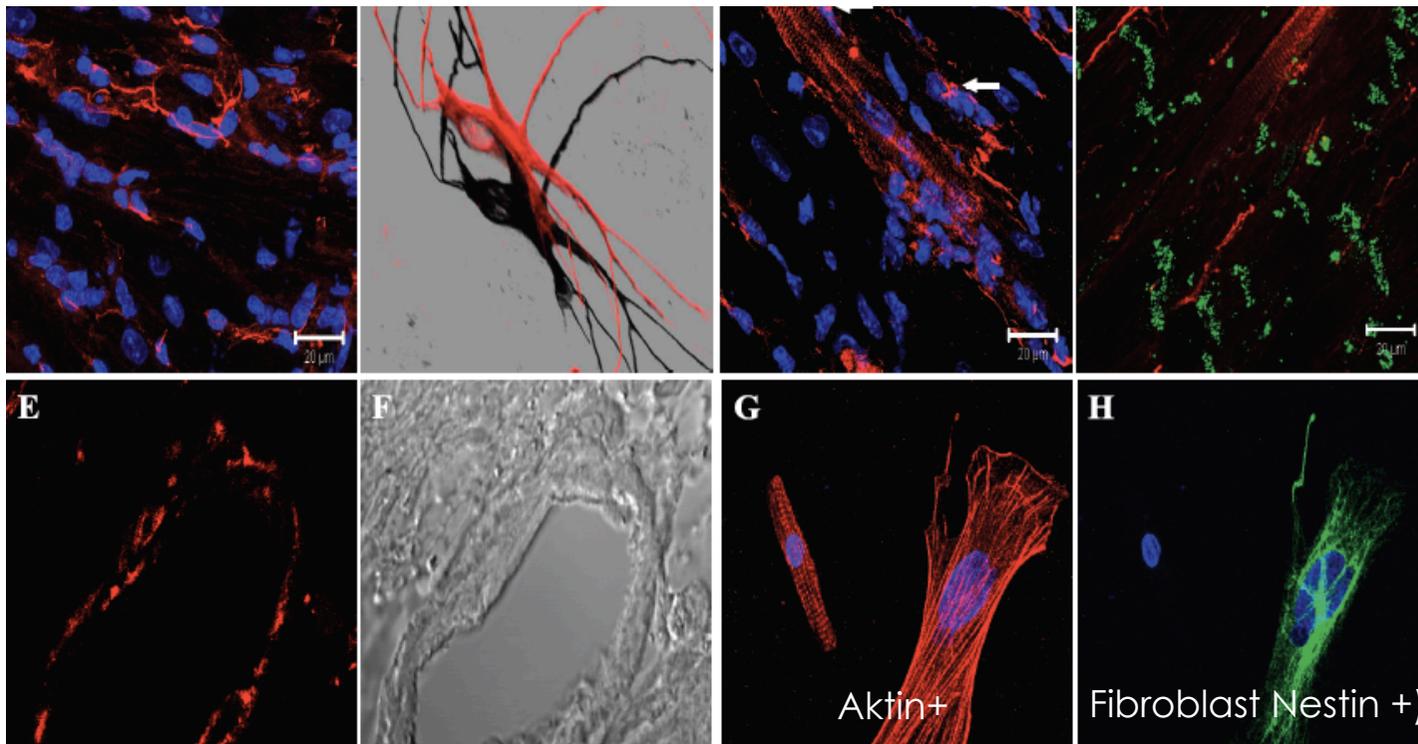


Calderone A: Nestin⁺ cells and healing the infarcted heart.
Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2012

Nestin im Herz

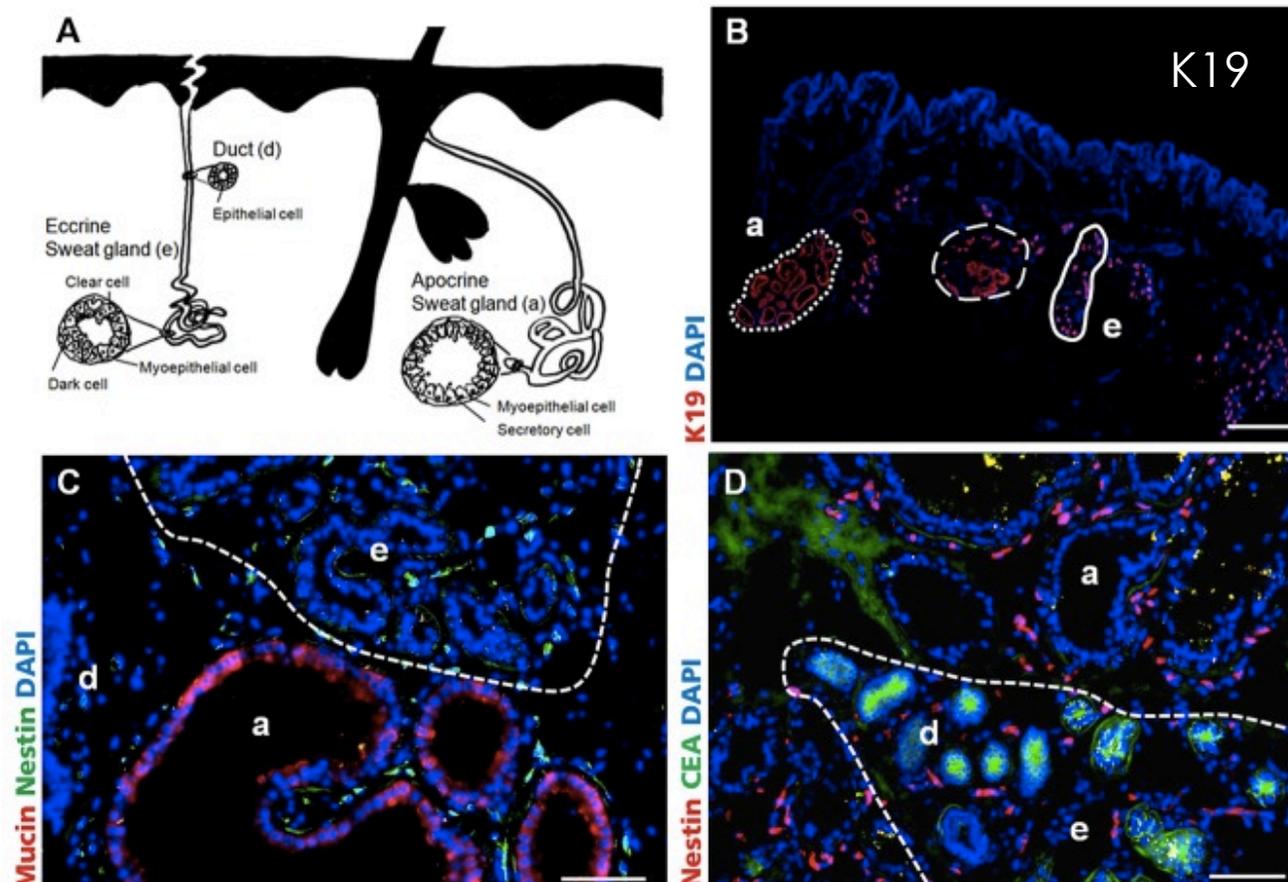
(Ratte, A-F 1 Woche nach Infarkt,
G-H Neugeborenes)

A-F rot=Nestin grün=Connexin 43



Calderone A: Nestin+cells and healing the infarcted heart.
Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2012

Nestin in stromalen Stammzellen der Schweißdrüsen



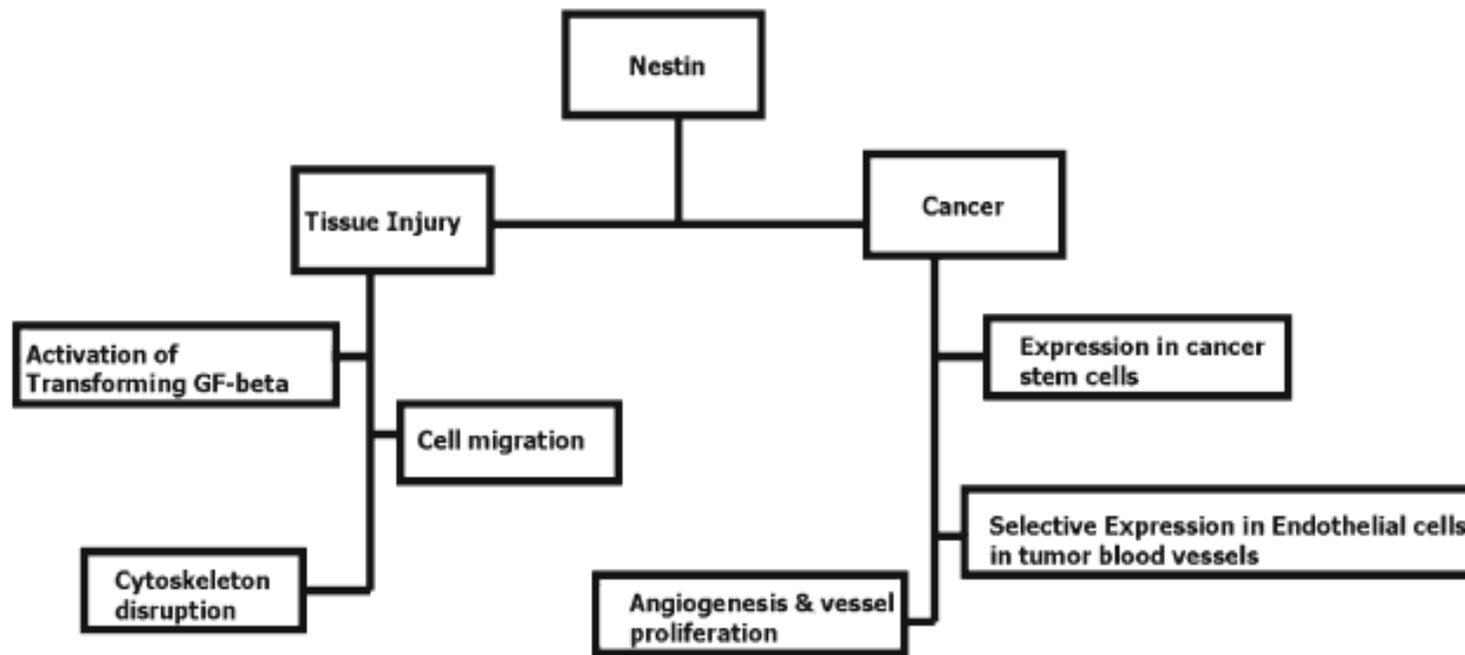
Nagel S. et al.: Multipotent Nestin-Positive Stem Cells Reside in the Stroma of Human Eccrine and Apocrine Sweat Glands and Can Be Propagated Robustly In Vitro. PlosOne 2013

Nestin

- Intermediäres Filament Klasse VI
- Kommt in Zellen mit Stammzellcharakter vor, auch während Wundheilung (als Gewebereserve)
- Kommt aber auch in Krebs“stammzellen“ sowie niedrig differenzierten Tumorzellen vor und scheint zur Tumoraggressivität beizutragen
- Ist bei der Tumorangio-genese bei der Interaktion zwischen Tumorzellen und Gefäßendothelzellen beteiligt

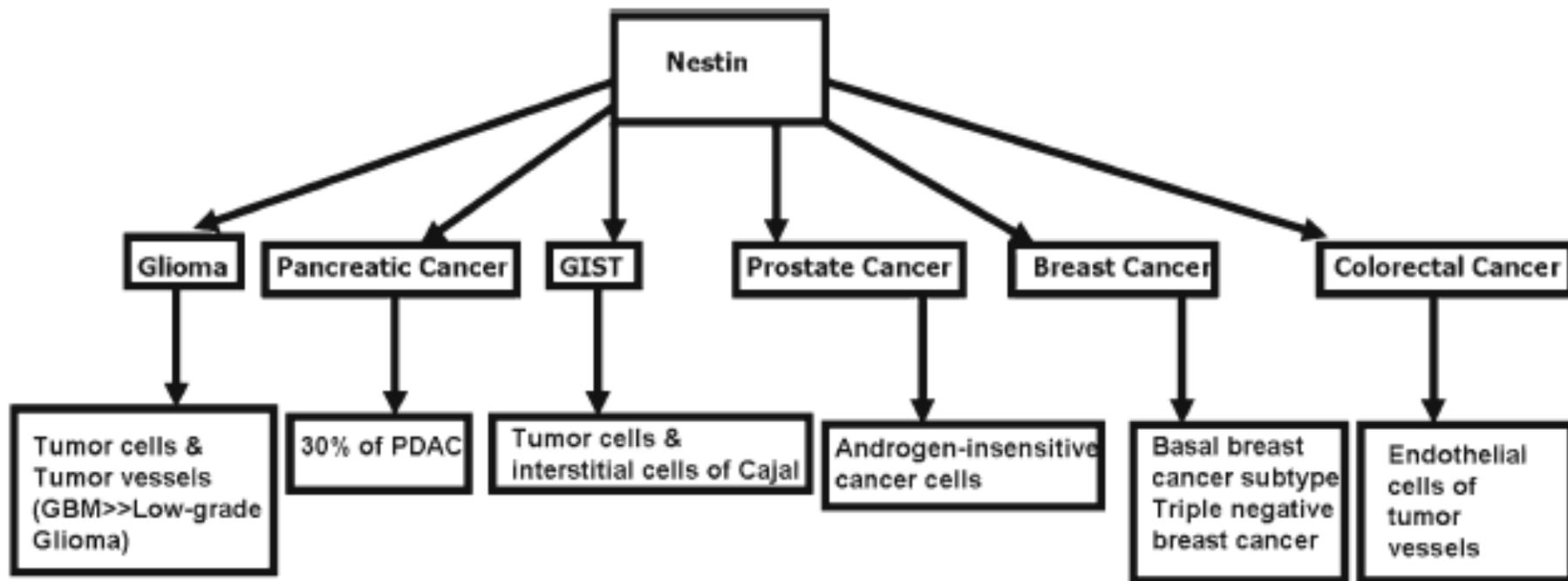
Tampaki EC et al.: Nestin involvement in tissue injury and cancer-
-a potential tumor marker? Cell Oncol 2014

Nestin in Gewebeverletzung und Tumoren



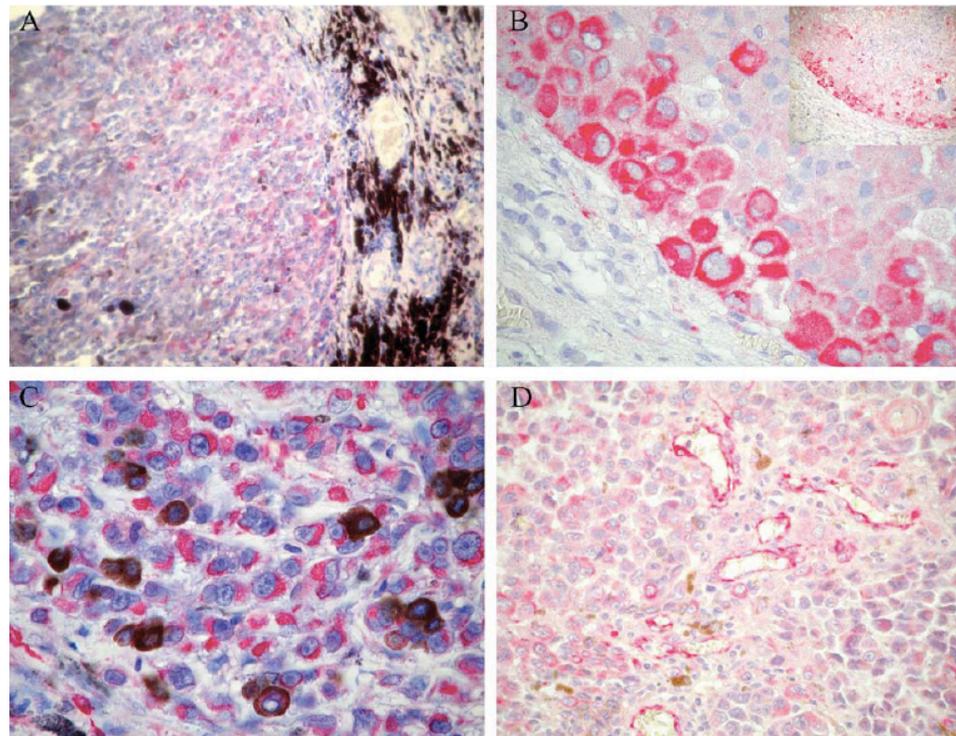
Tampaki EC et al.: Nestin involvement in tissue injury and cancer - a potential tumor marker? Cell Oncol. (2014)

Nestin in verschiedenen Tumoren



Tampaki EC et al.: Nestin involvement in tissue injury and cancer - a potential tumor marker? Cell Oncol. (2014)

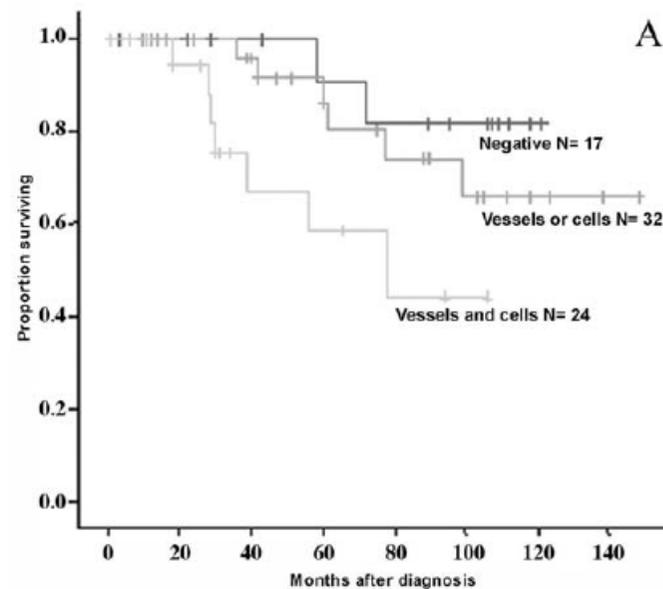
Nestin im Hautmelanom



Piras S et al.: The stem cell marker nestin predicts poor prognosis in human melanoma. ONCOLOGY REPORTS 2010

Nestin im Hautmelanom

- Höhere Expression ist mit schlechterer Prognose verbunden

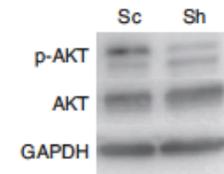
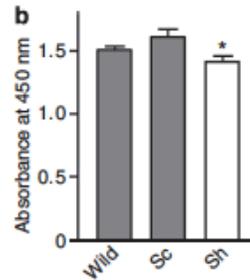
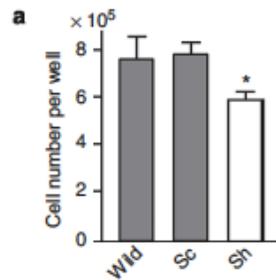


Piras S et al.: The stem cell marker nestin predicts poor prognosis in human melanoma. ONCOLOGY REPORTS 2010

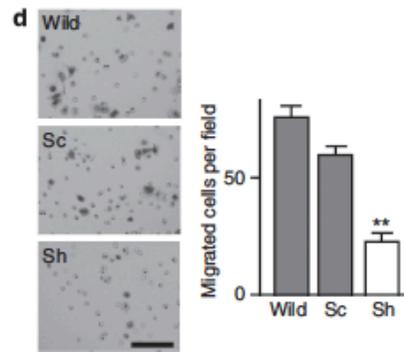
Nestinunterdrückung

nestin shRNA-transfected
c A375 human melanoma cells

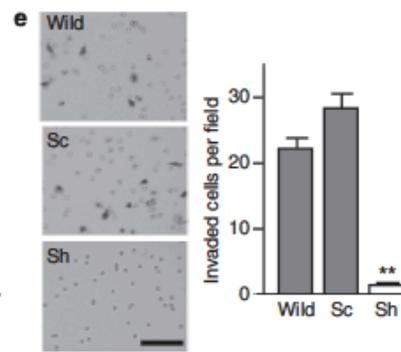
Zellzahl ↓



Zellmigration ↓



Zellinvasion ↓

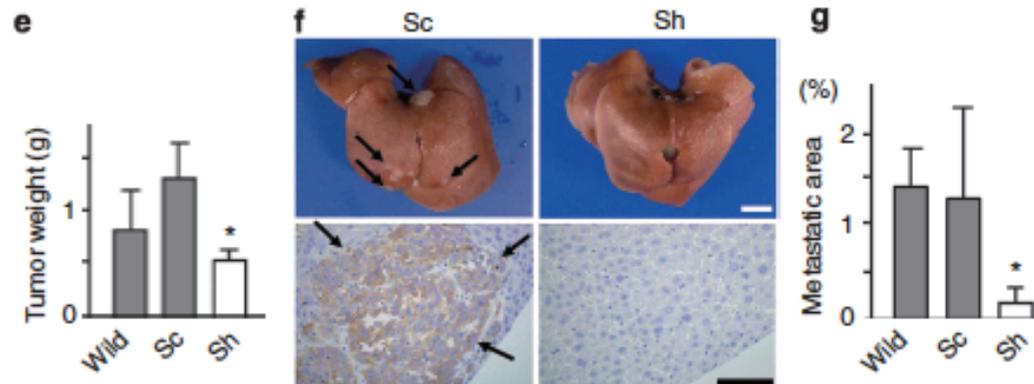


Zellwachstum und Motilität ↓

Akiyama M et al.: Inhibition of the Stem Cell Marker Nestin Reduces Tumor Growth and Invasion of Malignant Melanoma. *Journal of Investigative Dermatology* (2013)

Nestinunterdrückung

nestin shRNA-transfected
A375 human melanoma cells
Injektion in die Schwanzvene
von Mäusen



Tumorgewicht ↓

Prozentuelle von
Tumor befallene Fläche ↓

Akiyama M et al.: Inhibition of the Stem Cell Marker Nestin Reduces Tumor Growth and Invasion of Malignant Melanoma. *Journal of Investigative Dermatology* (2013)

Nestin im Auge

- Kommt vor in
 - Netzhaut (OIR-Modell, Maus)
 - Ziliarkörperperithel (Ratte)
 - Trabekelmaschenwerk (Mensch)
 - Limbale Endothelzellen (Mensch)
 - Limbusstammzellen (Kaninchen)
 - Bindehaut...

Ishikawa K et al.: Gene Expression Profile of Hyperoxic and Hypoxic Retinas in a Mouse Model of Oxygen-Induced Retinopathy. *Retinal Cell Biology* 2010

Abdouh M. et al.: In vivo reactivation of a quiescent cell population located in the ocular ciliary body of adult mammals. *Exp Eye Res.* 2006

Umemoto et al. Limbal epithelial side-population cells have stem cell-like properties, including quiescent state. *Stem Cells.* 2006

McGowan SL et al.: Stem cell markers in the human posterior limbus and corneal endothelium of unwounded and wounded corneas. *MolVis* 2007

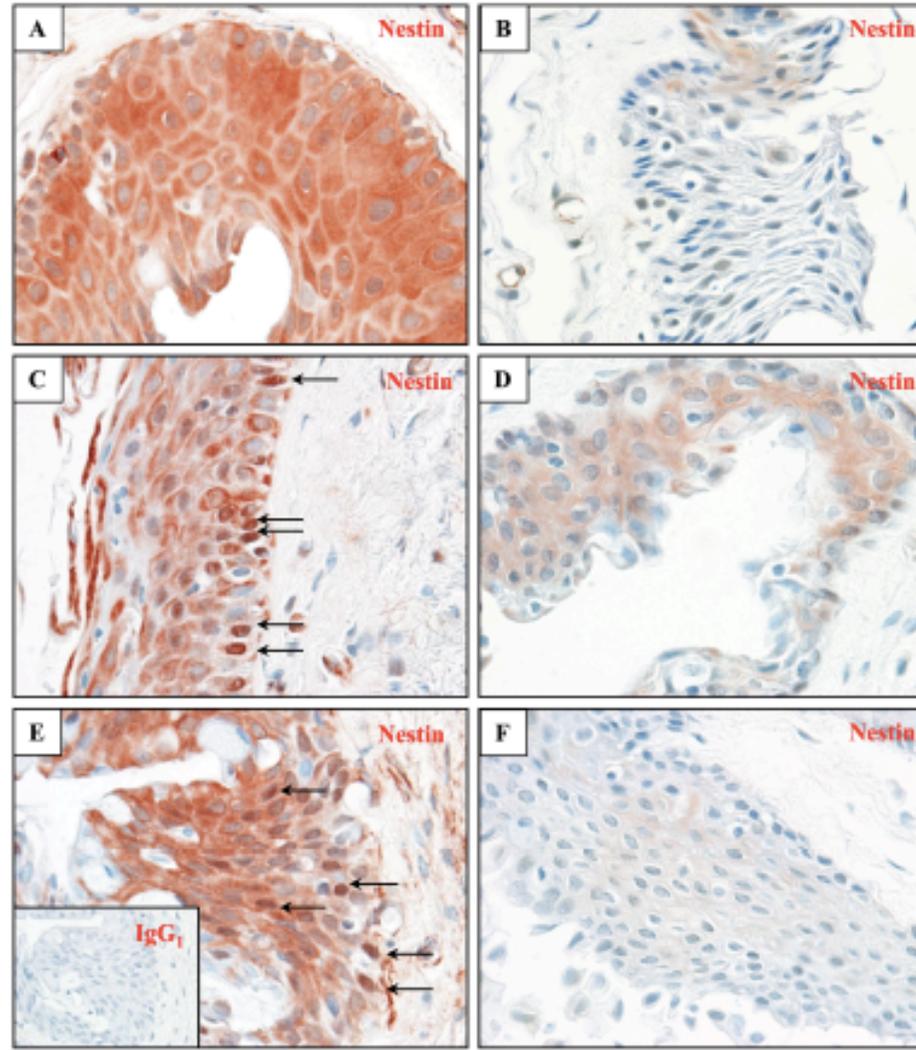
Nestin in Bindehaut

- [Nestin expression in pterygia: potential role in angiogenesis.](#)
- 1. Tonthat CV, Di Girolamo N.
Br J Ophthalmol. 2014 Jun;98(6):801-7. doi: 10.1136/bjophthalmol-2013-303919. Epub 2013 Sep 5.
PMID: 24008823
[Similar articles](#)
- [Increased expression of nestin in human pterygial epithelium.](#)
- 2. Wen D, Wang H, Heng BC, Liu H.
Int J Ophthalmol. 2013 Jun 18;6(3):259-63. doi: 10.3980/ij.issn.2222-3959.2013.03.01. Print 2013.
PMID: 23826515 **Free PMC Article**
[Similar articles](#)
- [Expression of pluripotency and multipotency factors in human ocular surface tissues.](#)
- 3. Pauklin M, Thomasen H, Pester A, Steuhl KP, Meller D.
Curr Eye Res. 2011 Dec;36(12):1086-97. doi: 10.3109/02713683.2011.608238. Epub 2011 Sep 29.
PMID: 21958029
[Similar articles](#)
- [Neurogenic differentiation of human conjunctiva mesenchymal stem cells on a nanofibrous scaffold.](#)
- 4. Soleimani M, Nadri S, Shabani I.
Int J Dev Biol. 2010;54(8-9):1295-300. doi: 10.1387/ijdb.092999ems.
PMID: 20857376 **Free Article**
[Similar articles](#)
- [Potential localization of putative stem/progenitor cells in human bulbar conjunctival epithelium.](#)
- 5. Qi H, Zheng X, Yuan X, Pflugfelder SC, Li DQ.
J Cell Physiol. 2010 Oct;225(1):180-5. doi: 10.1002/jcp.22215.
PMID: 20458737
[Similar articles](#)
- [HVEM and nectin-1 are the major mediators of herpes simplex virus 1 \(HSV-1\) entry into human conjunctival epithelium.](#)
- 6. Akhtar J, Tiwari V, Oh MJ, Kovacs M, Jani A, Kovacs SK, Valyi-Nagy T, Shukla D.
Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008 Sep;49(9):4026-35. doi: 10.1167/iovs.08-1807. Epub 2008 May 23.
PMID: 18502984 **Free PMC Article**
[Similar articles](#)
- [Human conjunctival epithelial precursor cells and their progeny in 3D organotypic culture.](#)
- 7. Rosellini A, Papini S, Giannarini C, Nardi M, Revoltella RP.
Int J Dev Biol. 2007;51(8):739-43.
PMID: 17939121 **Free Article**
[Similar articles](#)

Summary ▾ 20 per page ▾ Sort by Most Recent ▾

Send to: ▾

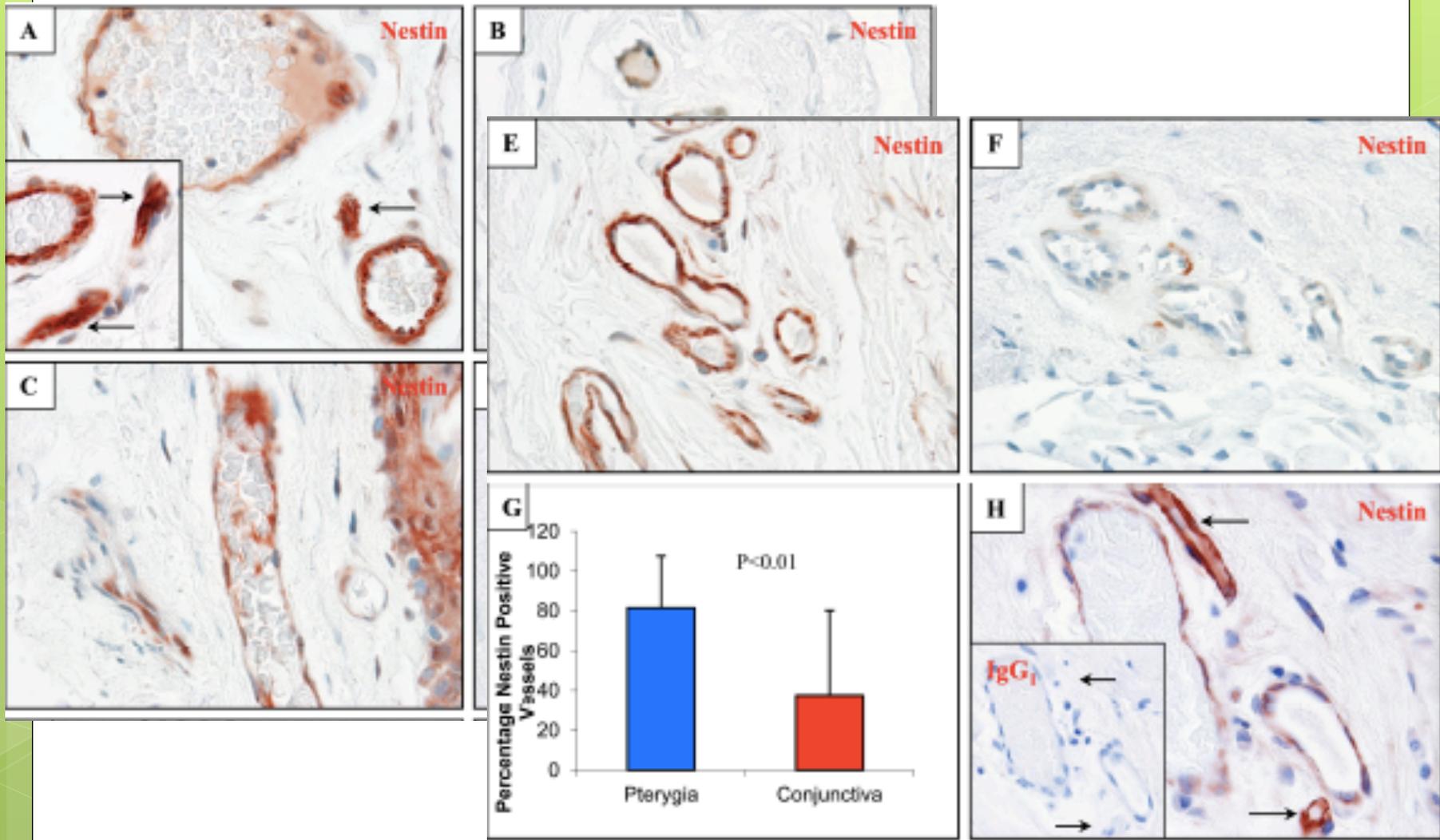
Nestin in Bindehaut: Pterygium



Tonthat, CV et al.: Nestin expression in pterygia: potential role in angiogenesis. BJO 2013

Wen D et al. : Increased expression of nestin in human pterygial epithelium Int J Ophthalmol. 2013

Nestin in Bindehaut: Pterygium



Tonthat, CV et al.: Nestin expression in pterygia: potential role in angiogenesis. BJO 2013

Nestin in Bindehautmelanom

- DOG 2014

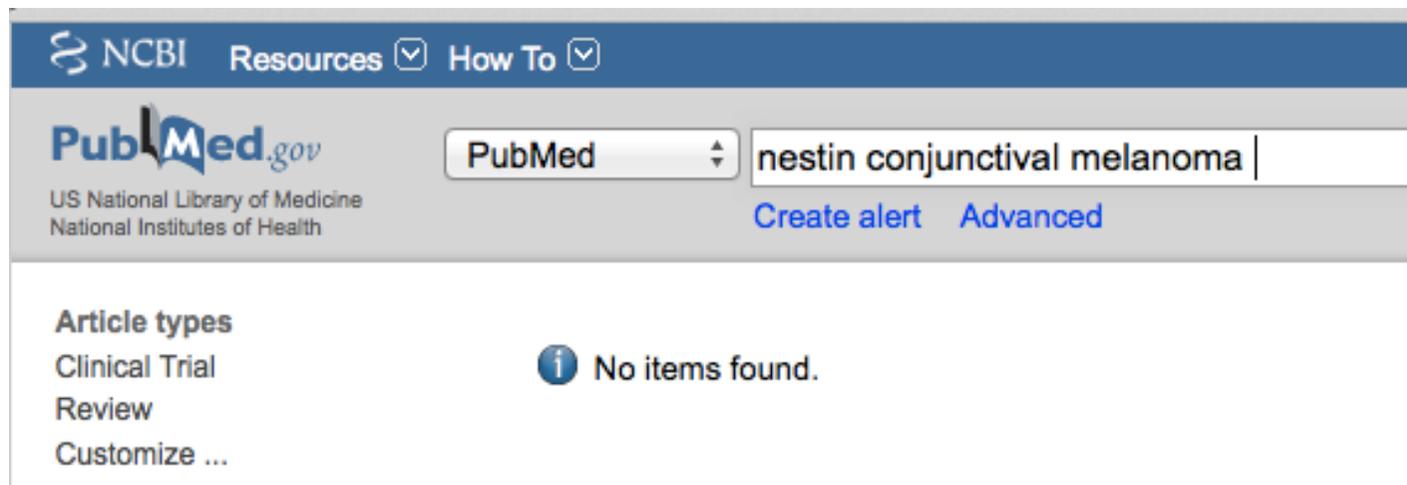
- Hanet et al.:

 - 3 Melanomzelllinien

 - UKE29, UKE17 und CR1 *deutlich abnehmende Nestinexpression*

 - 5 Bindehautmelanompräparate
starke Nestinexpression

Nestin und Bindehautmelanom Stand 11/2016



NCBI Resources How To

PubMed.gov
US National Library of Medicine
National Institutes of Health

PubMed [Create alert](#) [Advanced](#)

Article types
Clinical Trial
Review
Customize ...

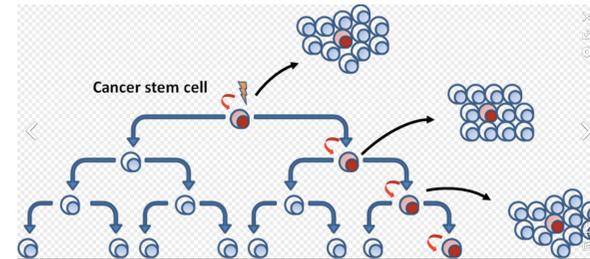
i No items found.



Relevanz von
Krebsstammzellen
in melanozytären
Tumoren der
Bindehaut

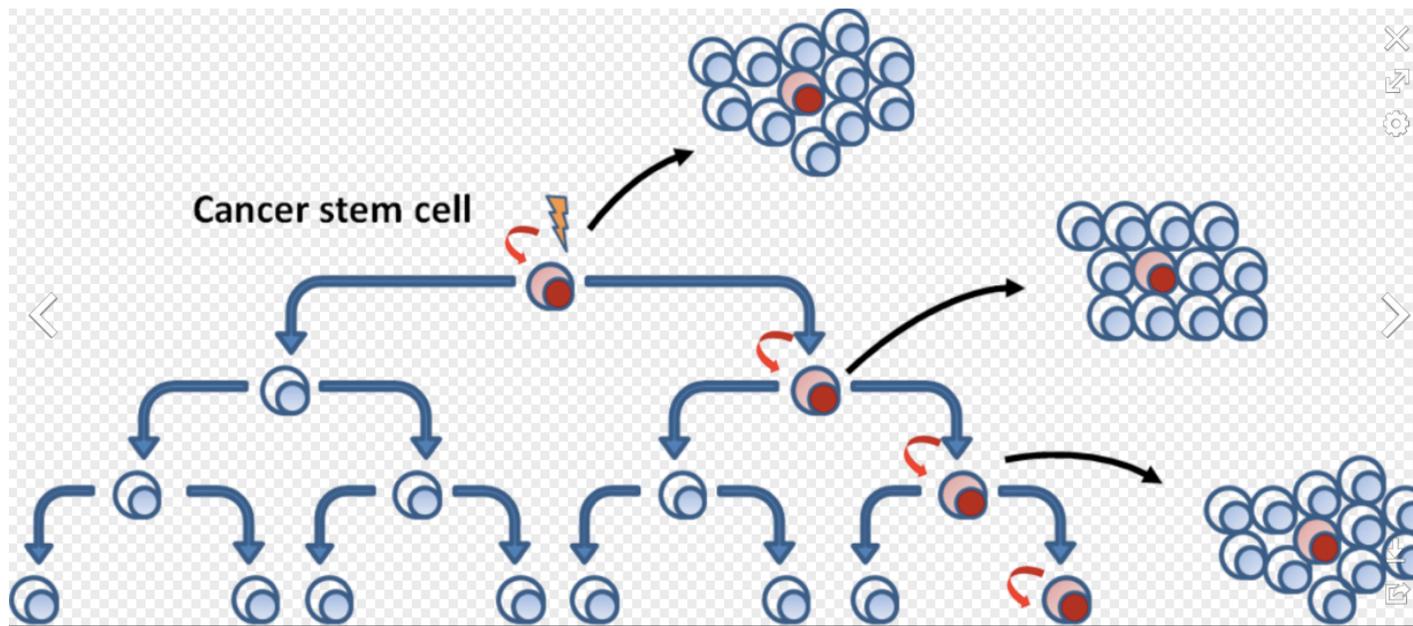
Krebsstammzellen

Cancer stem cells



- Erstbeschreibung durch John Dick in AML Ende der 90iger
- Bislang sind sie gefunden worden in Gehirn, Mamma, Kolon, Ovar, Pankreas, Prostata, Melanom, Plasmozytom, Hautkrebs
- Sollen für die Resistenz der Tumore gegenüber verschiedenen Chemotherapien verantwortlich sein

Krebsstammzellen



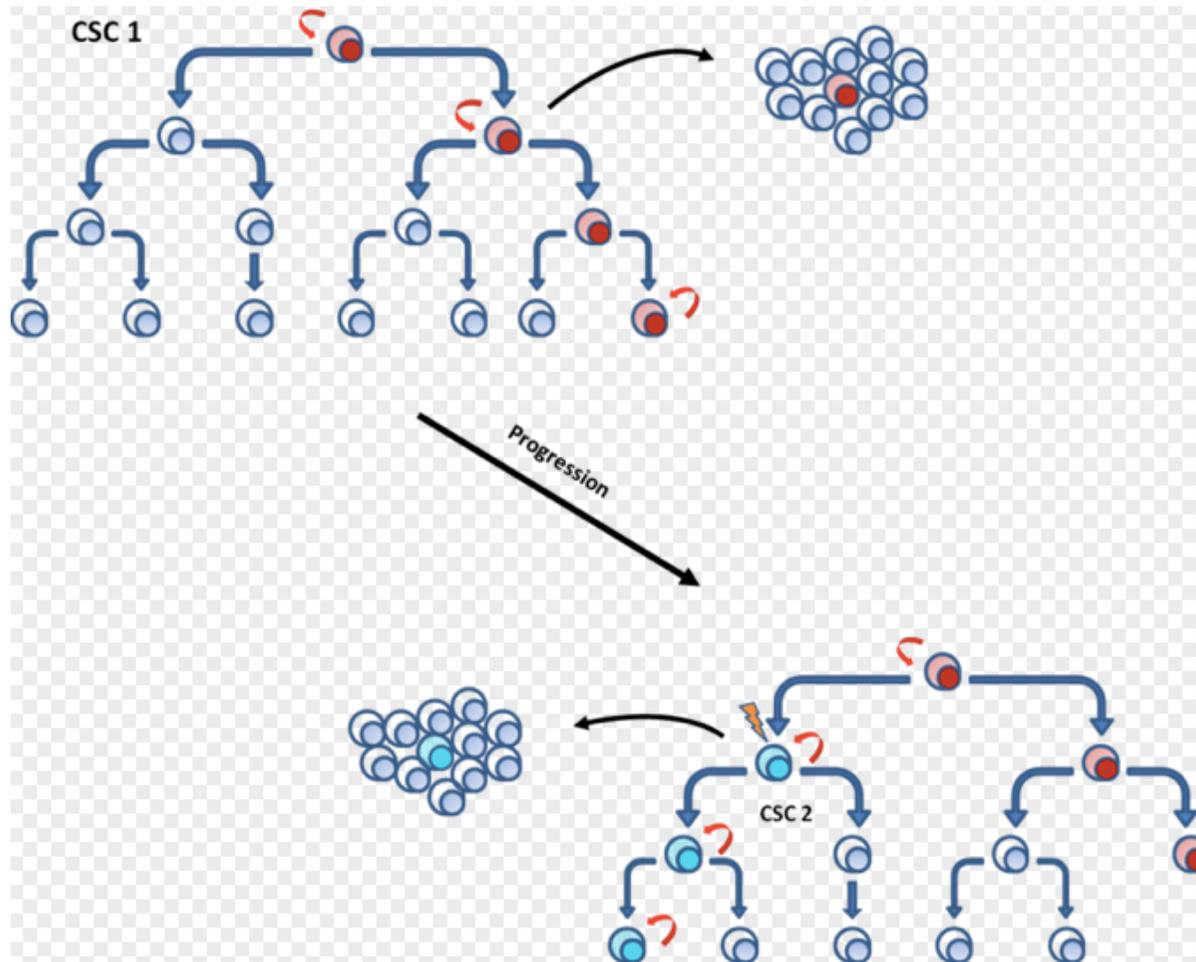
https://en.wikipedia.org/wiki/Cancer_stem_cell

Zweite Hypothese der Tumorzellentwicklung: klonale Selektion

Vernon Louw, <https://www.youtube.com/watch?v=p74z3Ex59IU>



Beide Modelle sind möglicherweise gültig



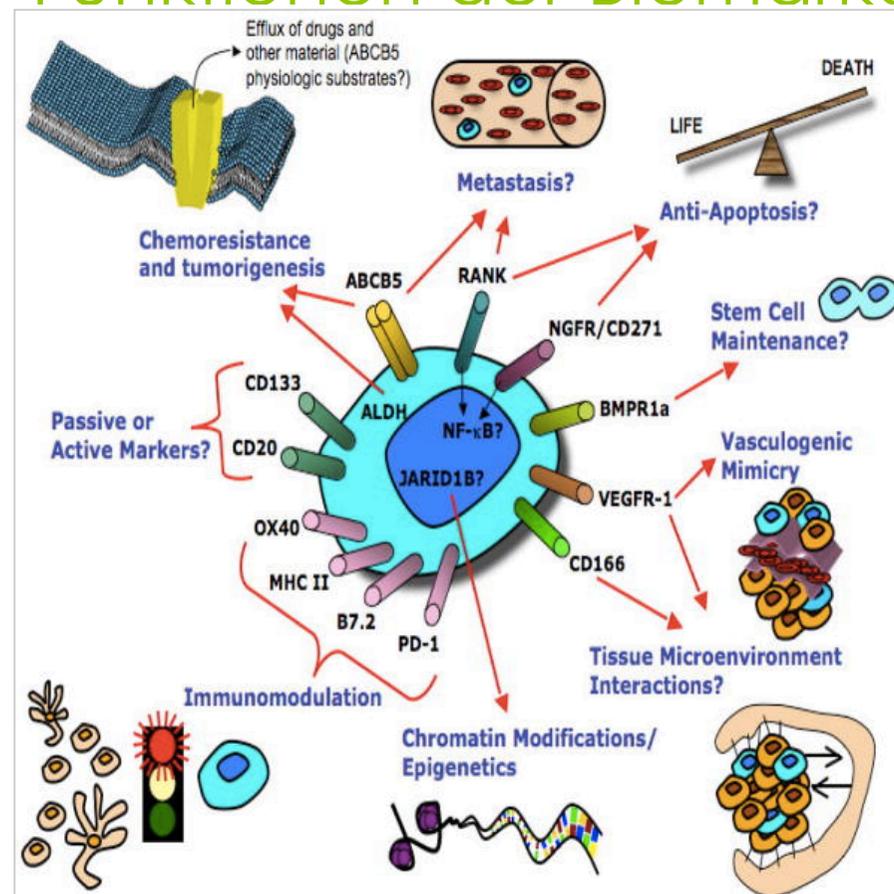
https://en.wikipedia.org/wiki/Cancer_stem_cell

Krebsstammzellen

- Sind positiv für ABCB5 (ABC-Transporter, die bei verschiedenen physiologischen Vorgängen und Multi-drug resistance eine Rolle spielen)¹
- Begünstigen Tumorwachstum, Rezidive und Metastasierung (Mamma-Ca, orales Plattenepithelkarzinom, Ovarialkarzinom)²⁻⁴

Sharma BK1, Manglik V, Elias EG Immuno-expression of human melanoma stem cell markers in tissues at different stages of the disease. J Surg Res. 2010.

Melanoma stem cells und abgeleitete Funktionen der Biomarker



George F. Murphy et al. Stem Cells and Targeted Approaches to Melanoma Cure. Mol Aspects Med. 2014

Krebsstammzellen bei melanozytären Hauttumoren

- ABCB5:

Zunehmende Expression abhängig von der Dignität (Nävus < Melanoma in situ < Melanom)

- Nestin:

Unterschiedliche Ergebnisse abhängig von der Dignität (signifikant erhöht in MM-kein Unterschied)

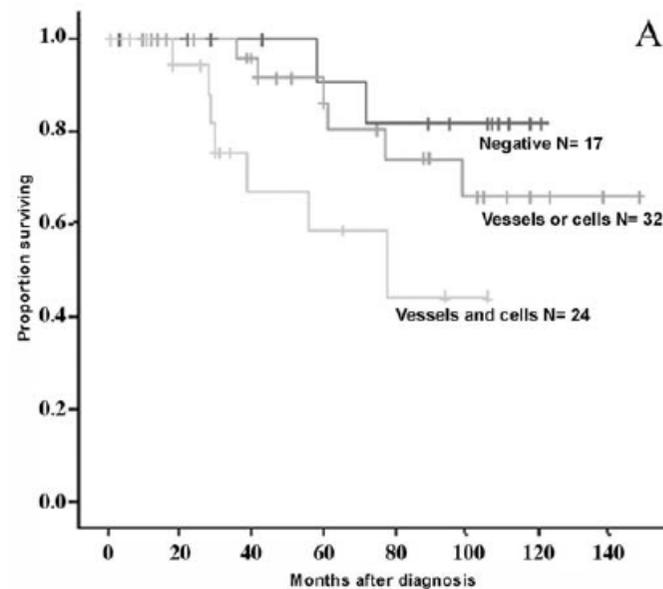
Klein WM et al. Increased expression of stem cell markers in malignant melanoma. Modern Pathology (2007)

Namrata Setia et al. Profiling of ABC transporters ABCB5, ABCF2 and nestin-positive stem cells in nevi, in situ and invasive melanoma. Modern Pathology (2012)

[Sharma BK1, Manglik V, Elias EG](#) Immuno-expression of human melanoma stem cell markers in tissues at different stages of the disease. J Surg Res. 2010. (Nävus und MM)

Nestin im Hautmelanom

- Höhere Expression ist mit schlechterer Prognose verbunden



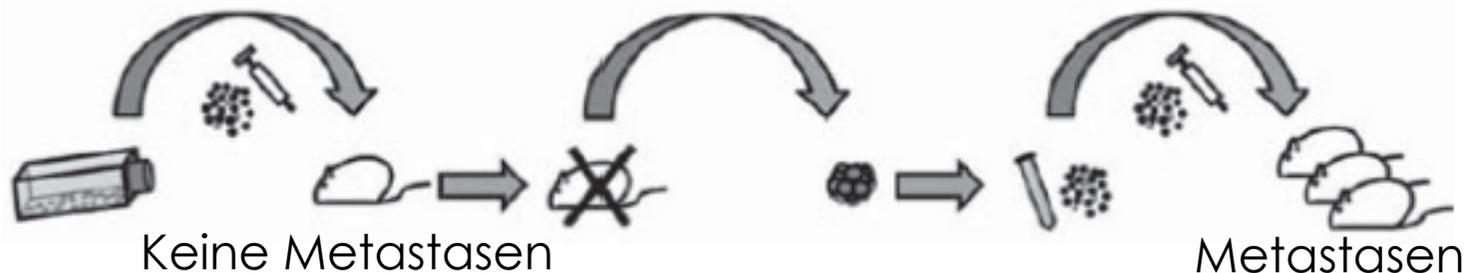
Piras S et al.: The stem cell marker nestin predicts poor prognosis in human melanoma. ONCOLOGY REPORTS 2010c



ABCB5-positive Krebsstammzellen in Melanom

ABCB5-positive Krebsstammzellen im Bindehautmelanom

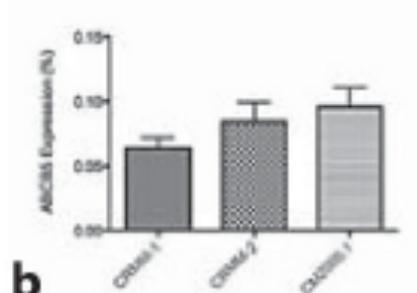
- Sind im Tierversuch mit subkonjunktival erzeugtem MM vorhanden
- Metastasen exprimieren mehr ABCB5 im Vergleich zum Primärtumor (Haut-MM human, Bh-MM Maus-Xenograft)



Nadine E. de Waard et al. Expression of Multidrug Resistance Transporter ABCB5 in a Murine Model of Human Conjunctival Melanoma. Ocul Oncol Pathol. 2015

ABCB5-positive Krebsstammzellen im Bindehautmelanom (humanes Xenograft in Maus), FACS-Analyse ABCB5

0,15%

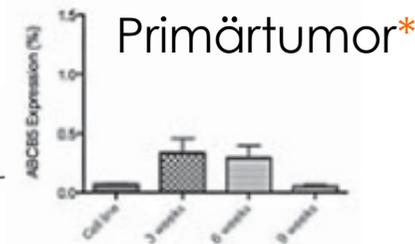
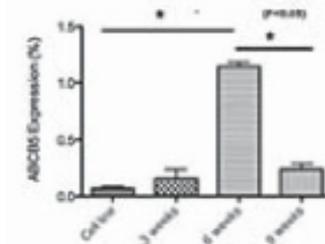
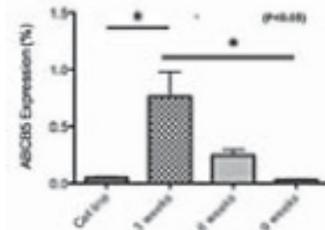


b

CRMM-1
CRMM-2
CM2005.1
Originalzelllinien

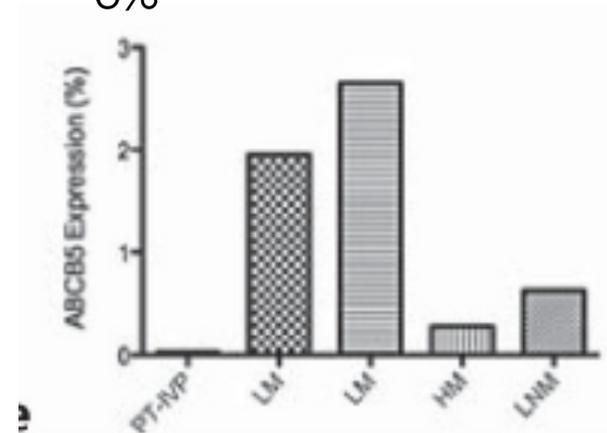


1,5%



Primärtumor*

3%



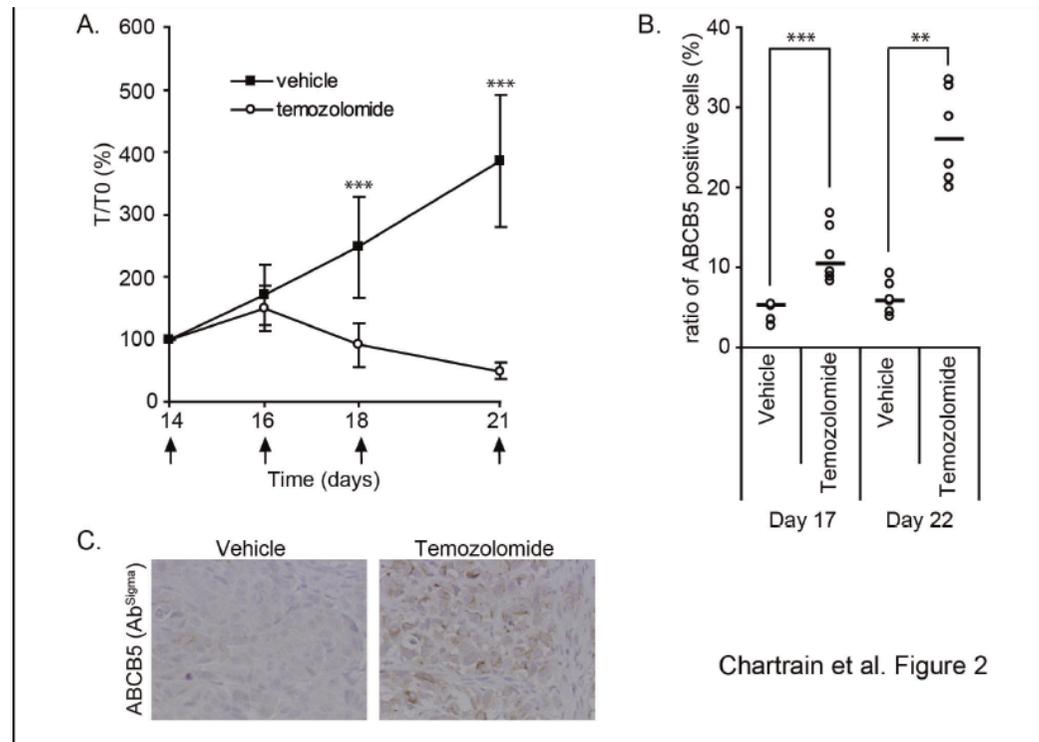
Metastasen

Nach in vivo Passage

Nadine E. de Waard et al. Expression of Multidrug Resistance Transporter ABCB5 in a Murine Model of Human Conjunctival Melanoma. Ocul Oncol Pathol. 2015

ABCB5 nach Behandlung vom Melanom

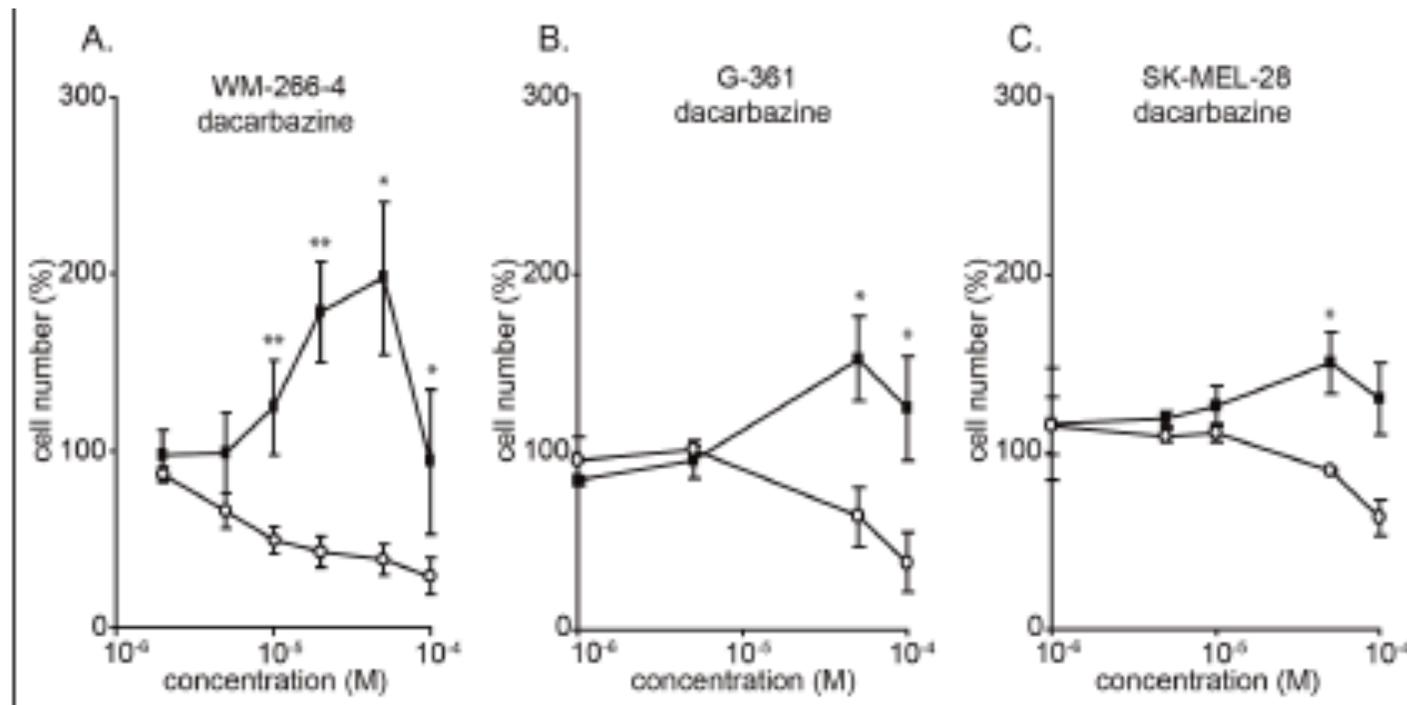
Tumorreaktion auf Dacarbazin intraperitoneal humanes Haut-MM auf Maus



Chartrain et al. Figure 2

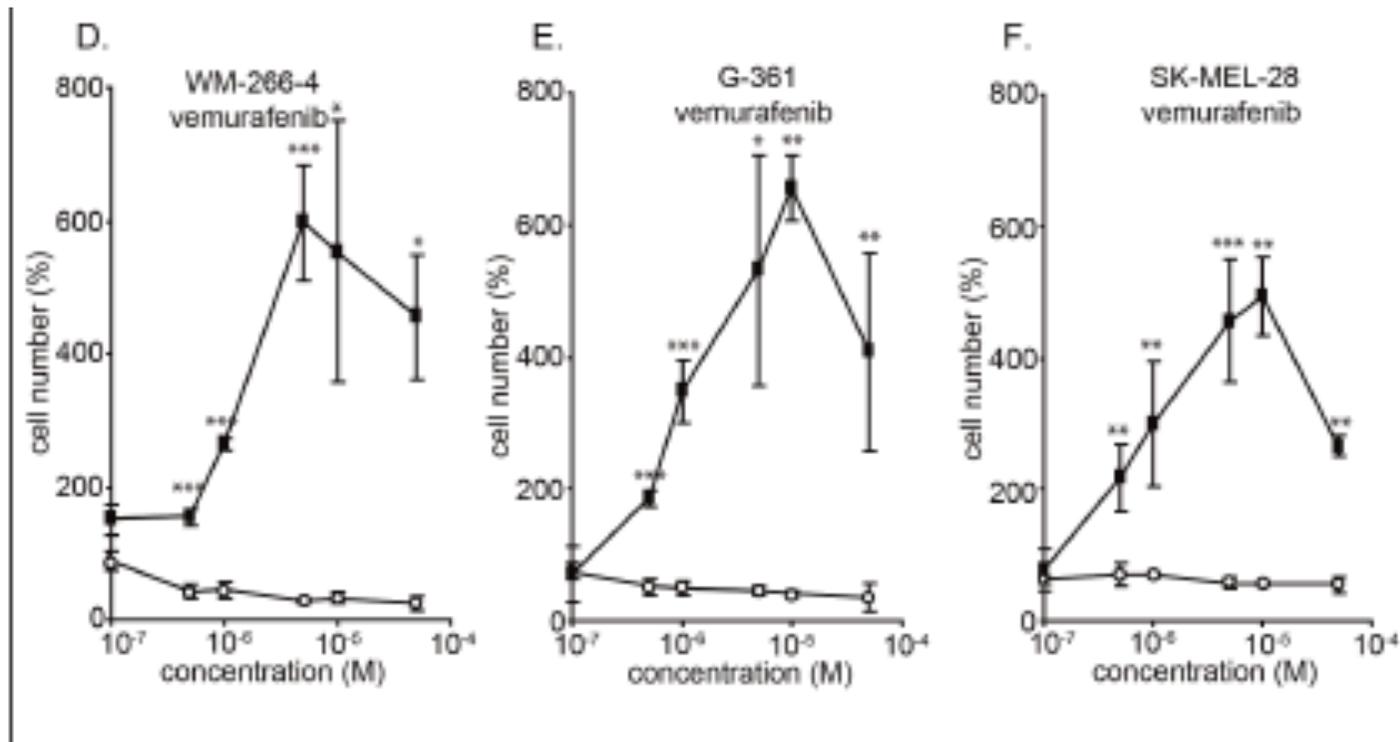
Chartrain M, Riond J, Stennevin A, et al. Melanoma chemotherapy leads to the selection of ABCB5-expressing cells. PLoS One. 2012

Verhalten von ABCB5-positiven Haut-Melanoma stem cells in humanen Zelllinien nach Chemotherapie: Dacarbazin



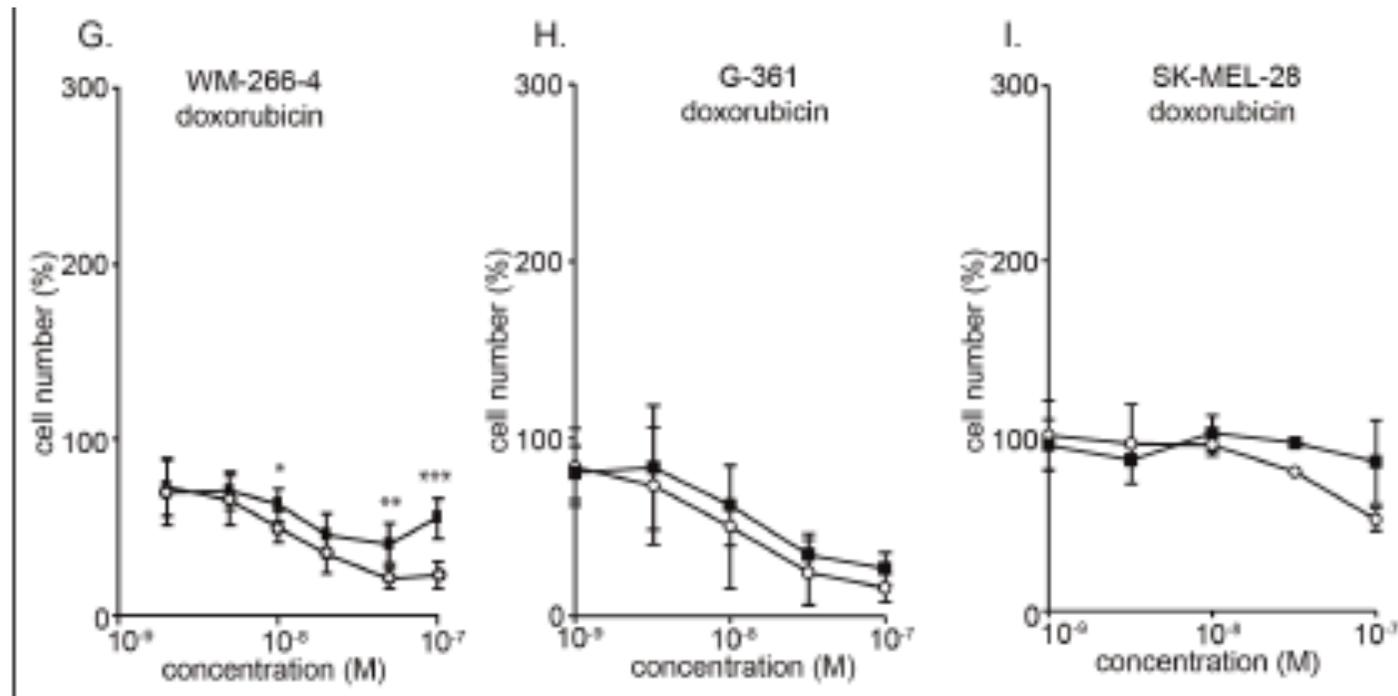
Chartrain M, Riond J, Stennevin A, et al. Melanoma chemotherapy leads to the selection of ABCB5-expressing cells. PLoS One. 2012

Verhalten von ABCB5-positiven Haut-Melanoma stem cells in humanen Zelllinien nach Chemotherapie: Vemurafenib



Chartrain M, Riond J, Stennevin A, et al. Melanoma chemotherapy leads to the selection of ABCB5-expressing cells. PLoS One. 2012

Verhalten von ABCB5-positiven Haut-Melanoma stem cells in humanen Zelllinien nach Chemotherapie: Doxorubicin



Chartrain M, Riond J, Stennevin A, et al. Melanoma chemotherapy leads to the selection of ABCB5-expressing cells. PLoS One. 2012

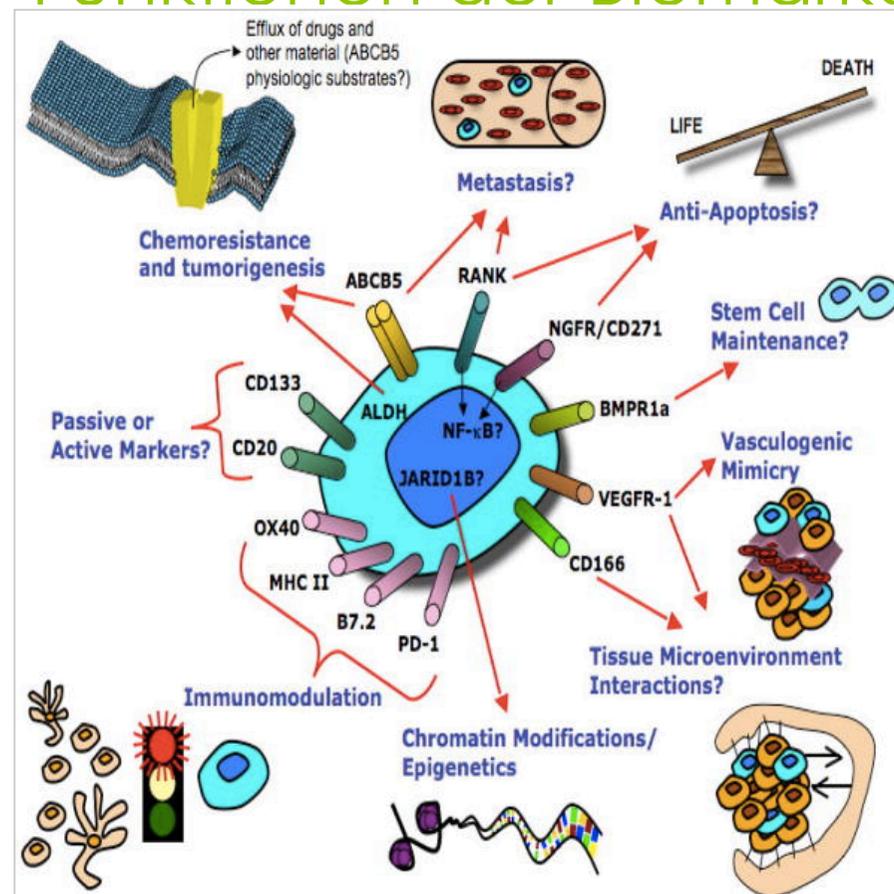
Unterdrückung von ABCB5 führt bei resistenten MM-Zelllinien zum Ansprechen auf Chemotherapie

- siRNA gegen ABCB5 → Ansprechen der ursprünglich resistenten Tumorzellen auf Camptothecin
- monoklonale Antikörper gegen ABCB5 → Ansprechen der ursprünglich resistenten Tumorzellen auf Doxorubicin

Huang Y et al. Membrane transporters and channels: role of the transportome in cancer chemosensitivity and chemoresistance. *Cancer Res* 2004

Frank NY et al. ABCB5-mediated doxorubicin transport and chemoresistance in human malignant melanoma. *Cancer Res.* 2005

Melanoma stem cells und abgeleitete Funktionen der Biomarker



George F. Murphy et al. Stem Cells and Targeted Approaches to Melanoma Cure. Mol Aspects Med. 2014

Weitere Marker?

- CD133

Marker von Cancer stem cells

In Bindehautkultur

basale Epithelzellen +

Knochenmarksstammzellen,
endotheliale Vorläuferzellen

Hautstammzellen die in neurale Zellen
differenzieren können

...

Rosellini A et al.: Human conjunctival epithelial precursor cells and their progeny in 3D organotypic culture. [Int J Dev Biol.](#) 2007

Belicchi M, Pisati F, Lopa R, et al: Human skin-derived stem cells migrate throughout forebrain and differentiate into astrocytes after injection into adult mouse brain. J Neurosci Res, 2004.

CD133

- Synonym: Prominin 1
- Transmembranes pentaspan Glykoprotein das an Zellausläufern lokalisiert ist
- Funktion unbekannt, soll die Anordnung von Zellmembran beeinflussen

CD133 im Hautmelanom

- CD133-Positivität induziert ABCB5- und CD144-Expression die mit Vasculogenic mimicry assoziiert ist¹
 - Morphologisch sehr starke Ähnlichkeit zu Gefäßendothelzellen, jedoch CD31-neg²
- CD133-Knockout führt zu geringerer Tumorbildung und ABCB5- bzw. CD144-Expression in vivo, in vitro kein negativer Einfluss → wichtiger Einfluss der biologischen Umgebung!

¹ Chiou-Yan Lai et al.: CD133+ Melanoma Subpopulations Contribute to Perivascular Niche Morphogenesis and Tumorigenicity through Vasculogenic Mimicry. Cancer Res . 2012

² Hendrix MJ, SefTOR EA, Hess AR, SefTOR RE. Vasculogenic mimicry and tumour-cell plasticity: lessons from melanoma. Nature reviews Cancer. 2003

CD133 in Malignomen

CD133- Zellen können in vivo zu CD133+
werden



Dynamischer Prozess der
Stammzelleigenschaft von Tumorzellen



Krebstherapie gegen einen einzigen Tumor-
Stammzellmarker wahrscheinlich wenig
sinnvoll

Shmelkov SV, Butler JM, Hooper AT, Hormigo A, Kushner J, Milde T, et al. CD133 expression is not restricted to stem cells, and both CD133+ and CD133-metastatic colon cancer cells initiate tumors. The Journal of clinical investigation. 2008

CD133 in melanozytären Tumoren der Haut

- Zunehmende Expression abhängig von der Dignität (Nävus<Melanom)

Klein WM et al. Increased expression of stem cell markers in malignant melanoma.
Modern Pathology (2007)

CD133 in Gliomen

- 239 Patienten mit Gliom
Korrelation mit Differenzierungsgrad
CD133-Expression: nein
Nestin-Expression: ja

Doppelexpression von CD133 und Nestin:
Signifikante Verkürzung des
progressionsfreien Überleben aber
nicht des Gesamtüberleben

Dahlrot RH et al.: Clinical value of CD133 and nestin in patients with glioma:
a population-based study. [Int J Clin Exp Pathol](#). 2014

Was haben wir vor?

Zusammenstellen von Fällen von

- Bindehautmelanom
 - Conjunctivale melanozytäre intraepitheliale Neoplasie bzw. primäre erworbene Melanose
 - Bindehautnävi mit und ohne junctionale Aktivität
 - Kontrollbindehäute (von CIN-Studie)
-
- Färben der Fälle mit Antikörper gegen Nestin, ABCB5 und CD133

Thill M et al. Expression of CD133 and other putative stem cell markers in uveal melanoma.
Melanoma Res 2011