

4 Diskussion

4.1 Expression der COX-2 im Prostatakarzinom

In dieser Studie wurden Prostatakarzinome von 104 Patienten auf eine Expression der COX-2 und des ELAV-ähnlichen Proteins HuR mittels Immunhistochemie untersucht. Dabei zeigte sich eine signifikante Zunahme der COX-2-Expression in Prostatakarzinom und Prostatischer Intraepithelialer Neoplasie ($p < 0,0005$, Chi^2 -Test) im Vergleich zu Normalgewebe und atrophischen Drüsen. Außerdem konnte im Tumorgewebe eine signifikant verstärkte Positivität für zytoplasmatisches HuR ($p < 0,0001$, exakter Test nach Fisher) verglichen mit normalen Prostatadrüsen festgestellt werden. Dagegen erreichte die Abnahme der nukleären HuR-Expression im Prostatakarzinom gegenüber dem Normalgewebe lediglich eine grenzwertige Signifikanz ($p = 0,065$, exakter Test nach Fisher).

Zusätzlich sollte eine mögliche Korrelation der Expression der beiden Proteine mit klinisch-pathologischen Charakteristika wie Tumorgröße, Gleason-Grad oder Residualtumorstatus untersucht werden. Hier konnte jedoch keine Korrelation zwischen der COX-2-Expression oder der zytoplasmatischen bzw. nukleären HuR-Expression und den ausgewählten klinisch-pathologischen Parametern festgestellt werden.

Wesentlicher Teil der Arbeit war die Untersuchung eines möglichen prognostischen Einflusses der COX-2- bzw. HuR-Expression auf das PSA-rezidivfreie Überleben. Hier konnte die nukleäre HuR-Expression als prognoserelevanter Parameter identifiziert werden ($p = 0,0308$). Eine negative nukleäre Expression war demnach mit einer signifikant kürzeren PSA-rezidivfreien Überlebenszeit assoziiert.

Ergänzend wurde in dieser Arbeit die Expression der COX-2 sowie deren Induzierbarkeit durch IL-1 β und TPA in drei Prostatakarzinomzelllinien mittels Western Blot untersucht. In PC-3-Zellen konnte dabei eine basale COX-2-Expression beobachtet werden, die durch Gabe von IL-1 β und TPA stimulierbar war. In LnCaP-Zellen zeigte sich eine COX-2-Expression nach Inkubation mit IL-1 β , ohne dass eine basale COX-2-Expression zu beobachten war.

4.1.1 Expression und Prognoserelevanz der COX-2- Vergleich mit anderen immunhistochemischen Studien

G.P.O'Neill gelang 1993 erstmals der Nachweis hoher Konzentrationen von COX-2-mRNA in nicht-malignem humanem Prostatagewebe mittels RT-PCR [124]. Die erste immunhistochemische Studie zur Expression der COX-2 im Prostatakarzinom wurde 2000 von Gupta et al. veröffentlicht und zeigte eine multifokale, granuläre, moderate bis starke Überexpression der COX-2 [125]. Es folgten weitere immunhistochemische Studien, die jedoch stark divergierende Ergebnisse zeigten (Tabelle 12) [125-137]. Sowohl eine erhöhte Expression im Tumorgewebe als auch eine Korrelation mit klinisch-pathologischen Standardparametern war in mehreren Studien nicht nachweisbar. Umstritten war auch, ob die Expression der COX-2 eher in glatten Muskelzellen, Stromazellen oder epithelialen Zellen vorherrscht.

In der hier vorliegenden Studie konnte eine deutliche Überexpression der COX-2 im Prostatakarzinom gegenüber dem Normalgewebe nachgewiesen werden. Besonders deutlich war die Überexpression in der Prostatistischen Intraepithelialen Neoplasie (PIN), der Vorläuferläsion der Prostatakarzinoms. Dies könnte ein Hinweis auf eine entscheidende Rolle der COX-2 in einem relativ frühen Stadium der Karzinogenese des Prostatakarzinoms sein. Diese Hypothese wird durch Beobachtungen von Kirschenbaum et al. gestützt, die ebenfalls eine erhöhte COX-2-Expression in basalen und luminalen Epithelzellen der PIN fanden [128]. Wiederholt haben verschiedene Autoren auf die Bedeutung der chronischen Entzündung der Prostata hingewiesen, die über eine Hochregulation der COX-2 die Entwicklung einer PIN und schließlich eines Karzinoms begünstigen soll. Wang et al. zeigte in zwei Studien an 45 bzw. 43 Patienten, dass sowohl in Benigner Prostatahyperplasie (BPH) als auch im Prostatakarzinom die Expression der COX-2 in lokaler chronischer Inflammation hochreguliert war [135]. Die vorliegende Studie liefert damit wichtige Ergebnisse in einer nach wie vor kontroversen Diskussion.

Gleiches gilt für die in dieser Studie beobachtete basale COX-2-Expression in PC-3-Zellen und ihre Stimulierbarkeit durch Interleukin-1 (IL-1) und 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetat (TPA). Auch hier liegen diesbezüglich eine Reihe von Studien vor mit teils abweichenden, teils unterstützenden Ergebnissen (Tabelle 13) [134,138-143]. Beide Substanzen sind bekannte Induktoren der COX-2. Die TPA aktiviert aufgrund ihrer Strukturähnlichkeit mit dem physiologischen Aktivator Diacylglycerol die

Proteinkinase C und führt damit zu einer NF κ B-vermittelten Aktivierung des COX-2-Promoters [144]. Bei der Induktion der COX-2 durch das proinflammatorische Zytokin IL-1 β werden ebenfalls eine Aktivierung der Proteinkinase C sowie der Mitogen-aktivierten-Proteinkinase (MAPK) diskutiert [145-147].

Nach Abschluss dieser Arbeit erschienen zwei Studien, in denen die prognostische Relevanz der COX-2-Expression untersucht wurden. Sowohl Rubio et al. als auch Cohen et al. konnten dabei einen signifikanten Einfluss der COX-2-Expression auf das PSA-rezidivfreie Überleben zeigen ($p=0,026$ bzw. $p<0,0001$) [136,137]. Im Falle von Cohen et al. stellte sich die COX-2 sogar als unabhängiger Prognosefaktor (RR=16,442, 95% CI: 4,656-58,067, $p<0,0001$) heraus.

Mögliche Erklärungen für die abweichenden Ergebnisse der verschiedenen Studien könnten beispielsweise in einem unterschiedlichen Aufbau der Studienkollektive liegen. Im Gegensatz zu den meisten vorangegangenen Studien, die teilweise weit unter 100 Tumoren untersuchten, verfügt die vorliegende Arbeit mit 104 Patienten über ein vergleichsweise großes Kollektiv. Lediglich Zha et al. untersuchten bislang ein noch größeres Kollektiv mit 144 Patienten, konnten dabei jedoch weder eine erhöhte Expression der COX-2 noch eine Korrelation mit klinisch-pathologischen Parametern nachweisen [134].

Hinzu kommt, dass vielfach eine gleichmäßige Verteilung der Tumorparameter wie Tumorgröße oder -differenzierung nicht gewährleistet war. So zeigte das Kollektiv von Rubio et al. eine relativ gleichmäßige Verteilung der Tumorgrößen-Stadien, während im Kollektiv der vorliegenden Studie 99% der Fälle auf die pT2- und pT3-Stadien entfielen und keine pT1-Fälle vorhanden waren [136]. In dem Kollektiv von Cohen et al. fehlten dagegen kapselüberschreitende Tumoren (pT3-4) völlig, wohingegen auch in der Stanzbiopsie nachgewiesene Tumoren (pT1c) in die Studie miteingeschlossen wurden [137]. Gleiches gilt für die Verteilung des Tumordifferenzierungsgrades im vorliegenden Studienkollektiv. Während 62% des Kollektivs auf schlecht differenzierte Tumoren (G3) entfielen, waren lediglich 9% der Tumoren gut differenziert (G1). Dies könnte auch erklären, warum weder eine prognostische Relevanz des Differenzierungsgrades noch eine Korrelation der COX-2-Expression mit dem Gleason-Grad beobachtet werden konnte.

Die Homogenität des Kollektivs könnte zudem durch Rekrutierung von Patienten desselben Operateurs verbessert werden. Hinzu kommen Unterschiede im gesamten

Ablauf der immunhistologischen Färbung, angefangen von der Fixation des Gewebes über die einzelnen Schritte des Färbungsprozesses bis hin zur Bewertungsskala im Rahmen der mikroskopischen Auswertung. Auch bei der Wahl des Antikörpers muss berücksichtigt werden, dass es aufgrund einer unterschiedlichen Bindungsaffinität zu den verschiedenen glykosylierten Formen der COX-2 zu unterschiedlichen Färbemustern kommen kann. Der in der vorliegenden Studie verwendete monoklonale COX-2-Antikörper von Cayman gehört zu den am weitverbreitetsten COX-2-Antikörpern. Im Rahmen der vorliegenden Studie teilweise durchgeführte immunhistochemische Färbungen mit dem polyklonalen Anti-COX-2-Antikörper PG27, den Zha et al. in ihrer Studie benutzten, zeigten ein ähnliches Färbeverhalten wie der in dieser Studie verwendete monoklonale Anti-COX-2-Antikörper von Cayman Chemical (Abbildung 2b, G und H).

Tabelle 12: Immunhistochemische Studien zur COX-2-Expression im Prostatakarzinom

Studien	Fallzahl	COX-2-Expression im Prostatakarzinom	Korrelation der COX-2 mit klinisch-pathologischen Parametern, Prognoserelevanz
Gupta S et al., 2000 [125]	12 (PC), 12 (NP)	ja (83,3%)	nicht untersucht
Tanji N et al., 2000 [126]	12 (PC), 3 (BPH)	nein	nicht untersucht
Yoshimura R et al., 2000 [127]	28 (PC), 8 (BPH), 1 (PIN), 8 (NP)	ja	nicht untersucht
Kirschenbaum A et al., 2000 [128]	31 (PC), 10 (BPH)	ja (87%)	keine Korrelation
Madaan S et al., 2000 [1329]	82 (PC), 30 (BPH)	ja	Differenzierungsgrad
Lee LM et al., 2001 [130]	18 (PC), 22 (BPH), 18 (NP)	ja (83%)	Differenzierungsgrad
Zang T et al., 2001 [131]	16 (PC), 42 (BPH)	ja (93,8%)	nicht untersucht
Shappell SB et al., 2001 [132]	87 (PC)	nein	Differenzierungsgrad
Uotila P. et al., 2001 [133]	12 (PC), 13 (NP)	ja	nicht untersucht
Zha S. et al., 2001 [134]	144 (PC)	nein	keine Korrelation

Wang W et al, 2005 [135]	43 (PC)	ja (93 %)	Differenzierungsgrad
Rubio J et al., 2005 [136]	91 (PC)	ja (67%)	Differenzierungsgrad, Prognoserelevanz
Cohen BL et al., 2006 [137]	60 (PC)	nicht angegeben	keine Korrelation, Prognoserelevanz

PC= Prostatakarzinom, NP= Normales Prostatagewebe, BPH= Benigne Prostatahyperplasie

Tabelle 13: Studien zum Nachweis der COX-2-Protein-Expression in Prostatakarzinomzelllinien mittels Western Blot

Studie	Zelllinien	COX-2-Expression
Lim JT et al., 1999 [138]	PC-3, LnCaP	negativ
Liu XH et al., 1999 [139]	PC-3, LnCaP	PC-3, LnCaP
Hsu AL et al., 2000 [140]	PC-3, LnCaP	PC-3, LnCaP
Subbarayan V et al., 2001 [141]	PC-3, LnCaP, DU 145	PC-3, DU 145
Zha S et al., 2001 [134]	PC-3, LnCaP, DU 145	basal negativ, PC-3 (Induktion durch TPA)
Song X et al., 2002 [142]	PC-3, LnCaP, DU 145	PC-3
Patel MI et al., 2005 [143]	PC-3, LnCaP	negativ

4.1.2 Antitumorale Effekte von NSAID auf das Prostatakarzinom im Zellkultur- und Tiermodell

Ergänzend zu den genannten Expressionsstudien anderer Arbeitsgruppen konnte in zahlreichen Experimenten der hemmende Einfluss von NSAID auf die Proliferation von Prostatakarzinomzellen nachgewiesen werden.

Auf genetischer Ebene führte die Ausschaltung des COX-2-Gens durch COX-2-antisense-complementary DNA (cDNA) in der Prostatakarzinomzelllinie PC-3 zu einem verlangsamten Zellwachstum und einer verminderten Angiogenese [133].

In Zellkulturexperimenten konnte nachgewiesen werden, dass die Behandlung mit COX-2-Inhibitoren zu einer Zeit- und Dosis-abhängigen Apoptose-Induktion in COX-2-exprimierenden PC-3- und LnCaP-Zellen führte [126,129,132,148-150]. Während Liu et al. diesen Effekt auf eine VEGF- und bcl-2-Herunterregulation zurückführten, konnten Hsu et al. keine verminderte bcl-2-Expression feststellen und beobachteten hingegen eine Inhibition der apoptosefördernden Akt-Aktivierung durch Celecoxib. Patel et al. und Lim et al. propagierten einen COX-2-unabhängigen Mechanismus, da sie sowohl in PC-3- als auch in LnCaP-Zellen keine bzw. nur eine sehr geringe COX-2-Expression nachweisen konnten, die Gabe von Celecoxib jedoch zu einer Wachstumshemmung dieser Zellen führte [138,143].

Zwei In-vivo-Studien an Nacktmäusen, denen man PC-3-Zellen injiziert hatte, zeigten nach Behandlung mit COX-2-Inhibitoren eine Tumorgößen-Reduktion von bis zu 93% [132,148]. Gleichzeitig zeigte sich ein Rückgang der Zellproliferation und der Mikrogefäßdichte sowie eine erhöhte VEGF-Expression der Tumorzellen. Bei vergleichbaren Tierversuchen mit Ratten wurden eine verringerte Tumorprogression und -metastasierung sowie eine erhöhte Ansprechbarkeit der Tumorzellen auf Bestrahlung festgestellt [51].

4.2 Expression von HuR in malignen Tumoren

Im Gegensatz zu der Vielzahl an immunhistologischen Studien zur Expression der COX-2 in Tumoren ist das Vorkommen von HuR in Tumoren noch kaum erforscht. Nachdem Nabors et al. im Jahre 2001 erstmals eine ubiquitäre Expression in Gehirntumoren feststellten, erschienen nacheinander eine Reihe von

immunhistologischen Studien zur Expression von HuR in Kolon-, Ovarial-, Mamma- und Magenkarzinomen (Tabelle 14) [151-158]. Dabei konnte im Magen-, Mamma- und Ovarialkarzinom von unterschiedlichen Arbeitsgruppen eine Korrelation der zytoplasmatischen HuR-Expression mit unterschiedlichen klinisch-pathologischen Parametern wie der Tumorgröße und dem histologischen Differenzierungsgrad festgestellt werden. Darüber hinaus stellte sich in den Studien von Erkinheimo et al. und Denkert et al. die zytoplasmatische HuR-Expression im Ovarialkarzinom als prognostisch ungünstiger Parameter für das rezidivfreie Überleben heraus ($p < 0,0001$ bzw. $p = 0,03$) [150,151]. In der Studie von Denkert et al. erwies sich die zytoplasmatische HuR-Expression in der multivariaten Analyse sogar als unabhängiger Prognosefaktor (RR=2,62, 95% CI: 1,32-5,19, $p = 0,006$). Gleiches konnten Heinonen et al. für das Mammakarzinom zeigen. Hier erwies sich die zytoplasmatische HuR-Expression im rezidivfreien Überleben ebenfalls als prognostisch relevanter Parameter ($p < 0,0001$) und konnte zudem als unabhängiger Überlebensparameter identifiziert werden (RR=2,07, 95% CI: 1,05-4,07, $p = 0,035$) [152].

Im Prostatakarzinom wurde die Expression von HuR lediglich in Ansätzen von Lopèz de Silanes et al. erforscht [153]. In ihrer Studie untersuchten sie anhand von "Tissue micro arrays", einer Auswahl mehrerer ausgestanzter und in einem Paraffinblock zusammengefasster Tumorareale, insgesamt 9 Prostatakarzinomproben. Dabei stellten sie eine relative Verdopplung der zytoplasmatischen HuR-Expression im Karzinom verglichen mit dem Normalgewebe fest.

Die vorliegende Arbeit ist somit die erste Studie, die in größerem Umfang und gezielt die Expression von HuR im Prostatakarzinom untersucht. Analog zu der Expressionsstudie von Lopèz de Silanes et al. an 15 Kolonkarzinomproben konnte hier eine signifikante Zunahme der zytoplasmatischen HuR-Expression ($p < 0,0001$, exakter Test nach Fisher) sowie eine relative Abnahme der nukleären HuR-Expression ($p = 0,065$, exakter Test nach Fisher) im Prostatakarzinom gegenüber dem Normalgewebe festgestellt werden. Während in den Studien von Erkinheimo, Denkert, Heinonen und Mrena jeweils die vermehrte zytoplasmatische HuR-Expression als prognoserelevanter Parameter identifiziert werden konnte, stellte sich in der vorliegenden Studie der Verlust der nukleären HuR-Expression als Prädiktor für ein früheres PSA-Rezidiv heraus ($p = 0,0308$) [150-154]. Eine negative nukleäre Expression ist demnach mit einem signifikant kürzeren PSA-rezidivfreien Überleben assoziiert.

Ein Ungleichgewicht des nukleären HuR-Exports ist somit nicht nur auf zytoplasmatischer, sondern auch auf nukleärer Ebene zu beobachten. Offensichtlich kann eine Deregulation der subzellulären Lokalisation von HuR sowohl zu einer vermehrten zytoplasmatischen als auch einer verminderten nukleären Expression führen. Dieses Ergebnis unterstreicht einmal mehr die Bedeutung der Translokation von HuR zwischen dem nukleären und zytoplasmatischen Kompartiment und der damit verbundenen Stabilisierung und Wirkung tumorfördernder Zielproteine wie der COX-2.

Tabelle 14: Immunhistochemische Studien zur Expression von HuR in verschiedenen Tumoren (Angaben zu den Korrelationen und der Prognoserelevanz beziehen sich auf die zytoplasmatische HuR-Expression)

Studien	HuR in Tumoren	Korrelation mit der COX-2-Expression	Korrelation mit klinisch-pathologischen Parametern	Prognoserelevanz
Nabors LB et al., 2001 [151]	Gehirn-TU	nicht untersucht	nicht untersucht	nicht untersucht
López de Silanes I et al., 2003 [152]	Kolon-Ca (n=15)	nicht untersucht	nicht untersucht	nicht untersucht
Erkinheimo TL et al., 2003 [153]	seröses Ovarial-Ca (n= 445)	ja	Differenzierungsgrad, R	ja
Denkert C et al., 2004 [154]	Ovarial-Ca (n=83)	ja	Differenzierungsgrad, mitotische Aktivität	ja
Denkert C et al., 2004 [155]	Mamma-Ca (n=208)	ja	Differenzierungsgrad	keine Korrelation
Heinonen M et al., 2005 [156]	Mamma-Ca (n=133)	nicht untersucht	Differenzierungsgrad, pT	ja
Erkinheimo TL et al., 2005 [157]	muzinöses Ovarial-Ca (n=64)	ja	nicht untersucht	nicht untersucht
Mrena J et al., 2005 [158]	Magen-Ca (n=328)	ja	Alter, Geschlecht, Stadium, M, R	ja
Denkert C et al., 2006 [159]	Kolon-Ca	ja	Dukes-Stadium	keine Korrelation

Ca=Karzinom, pT=Tumorgröße, M=Metastasierung, R=Residualtumorstatus, TU=Tumor

4.3 COX-2-Regulation durch HuR

4.3.1 Wegweisende Ergebnisse aus Zellkultur- und Tiermodellen

Strukturanalysen der COX-2-RNA sowie Tier- und Zellkulturexperimente ließen HuR als wichtiges regulatorisches Element erkennen. Zum einen beinhaltet die COX-2-mRNA in ihrer 3'-UTR eine 116-Nukleotid lange Sequenz, die, wie Deletions- und Transfektionsversuche zeigten, eine Degradation der mRNA vermittelt und ihre Translation inhibiert [160]. Weitere Untersuchungen an LoVo-Kolonkarzinomzellen ergaben dann, dass HuR an die ARE der COX-2-mRNA bindet und eine Überexpression von HuR in einer erhöhten Expression von COX-2 und VEGF resultiert [161]. Sengupta et al. bestätigten diese Entdeckung anhand von Untersuchungen an der Mammakarzinomzelllinie MDA-MB 231, in der eine Herunterregulation von HuR eine Abnahme der COX-2-Expression bewirkte [162]. In Tierexperimenten zeigte sich nach subkutaner Injektion von HuR-überexprimierenden RKO-Zellen in Nacktmäusen ein signifikant größeres Tumolvolumen verglichen mit Kontrollpopulationen [163].

Darüber hinaus konnten in mehreren immunhistochemischen Studien an Ovarial-, Mamma-, Magen- und Kolonkarzinomen eine Korrelation der zytoplasmatischen HuR-Expression mit einer vermehrten Expression der COX-2 nachgewiesen werden (Tabelle 14) [151-158]. In Übereinstimmung mit den genannten Forschungsergebnissen wurde in der vorliegenden Studie nun erstmals am Prostatakarzinom ein signifikanter Zusammenhang zwischen der zytoplasmatischen HuR-Expression und einer erhöhten Expression der COX-2 demonstriert (Korrelationskoeffizient nach Spearman-Rho 0,27, $p=0,005$).

4.3.2 HuR-regulierende Mechanismen

Ein besseres Verständnis der Mechanismen, die die Aktivität und Funktion von HuR regulieren, wurde durch die Identifikation mehrerer HuR-regulierender Proteine ermöglicht. Zu ihnen gehören SET α , SET β und pp32, die gemeinsam mit HuR einen Komplex bilden [164]. Sie sind Inhibitoren der Proteinphosphatase 2A, einer Serin/Threonin-Phosphatase, die vielfältige zelluläre Prozesse wie Zellzyklus-Progression, DNA-Replikation und -Transkription, Zellentwicklung und -morphogenese reguliert [111]. Eine weitere Gemeinsamkeit der drei Proteine ist ihre Rolle in Zellwachstum und -differenzierung. So wurden SET-Proteine als wichtige Faktoren in

der Genese von Leukämien diskutiert. In humanen Stammzellen und neoplastischen Zellen konnte eine erhöhte pp32-Expression nachgewiesen werden [165]. Auch das Prostatakarzinom wurde dahingehend untersucht. Dabei zeigte sich in Tumoren mit einem Gleason Score ≥ 5 hohe pp32-Werte, während höher differenzierte Karzinome (Gleason-Score < 5) niedrigere pp32-Werte aufwiesen [166]. In normalen Prostatastrüden blieb die pp32-Expression auf die Basalzellen beschränkt. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass pp32 eine entscheidende Rolle im Differenzierungsstatus des Prostatakarzinoms spielt. Unterstützend konnten Brody et al. nachweisen, dass eine Reduktion von pp32 in der Karzinomzelllinie TSU-Pr1 zu einer verminderten Proliferationsrate und Zelldifferenzierung führte [167].

Ein weiteres HuR-bindendes Protein ist APRIL (acidic protein rich in leucin). Wie HuR sind auch pp32 und APRIL in der Lage, zwischen Zellkern und Zytoplasma zu translozieren. Sie verfügen dazu über Leucin-reiche nukleäre Export-Signale (NES), die für die Interaktion mit dem nukleären Export-Rezeptor CRM1 essentiell sind. Erwartungsgemäß führt die Inhibition von CRM1 durch den antimykotischen und antibakteriellen Wirkstoff Leptomycin B (LMB) zu einer Akkumulation der genannten Proteine im Zellkern [164]. Interessanterweise hat die CRM1-Blockade auch eine erhöhte Assoziation von pp32 und APRIL mit HuR sowie eine verstärkte Bildung von HuR-mRNA-Komplexen zur Folge [164]. Man nimmt daher an, daß diese beiden HuR-bindenden Proteine einen entscheidenden Einfluss auf die mRNA-Bindungs-Fähigkeit von HuR ausüben [114].

Weitere Zellkulturexperimente mit dem indirekten HuR-Inhibitor Leptomycin B konnten außerdem unterstützende Ergebnisse hinsichtlich der mRNA-stabilisierenden Funktion von HuR erzielen. So führte Leptomycin B in der Ovarialkarzinomzelllinie OVCAR-3 zu einer reduzierten COX-2-Expression [153]. Leptomycin B blockiert darüber hinaus auch zahlreiche andere wichtige regulatorische Proteine wie Cyclin B1, MAPK oder das Tumorsuppressorgen p53 [168,169]. In den Prostatakarzinomzelllinien LnCaP und DU 145 kam es nach Gabe von LMB über eine Stabilisierung und Aktivierung von p53 zum Zellzyklus-Arrest und zur Apoptose [170]. Die antitumorale Aktivität von LMB wurde in einer klinischen Phase I-Studie untersucht, jedoch aufgrund einer zu hohen Toxizität abgebrochen [171,172]. Nichtsdestotrotz zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass die Entwicklung eines Hemmstoffs des nukleozytoplasmatischen Transports ein sinnvoller therapeutischer Ansatz wäre.

Die zytoplasmatische HuR-Translokation wird außerdem durch die AMP-aktivierte Kinase (AMPK) reguliert. Eine Aktivierung der AMPK in der Kolonkarzinomzelllinie RKO führte zu einer verminderten zytoplasmatischen HuR-Expression und einer reduzierten Bildung von HuR-mRNA-Komplexen [173]. AMPK ist ein zellulärer Sensor auf metabolischen Stress und reagiert auf eine erhöhte AMP-ATP-Ratio mit einer Aktivierung energiesparender und ATP-generierender Signalwege [174]. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass eine AMPK-Aktivierung auf die Prostatakarzinomzelllinien PC-3, DU 145 und LnCaP einen wachstumshemmenden Effekt hat [175]. Xiang et al. postulierten deshalb einen tumorsupprimierenden Effekt der AMPK. Yun et al. beobachteten wiederum in DU 145-Zellen, dass eine AMPK-Aktivierung in einer Erhöhung der VEGF-mRNA-Werte resultierte und so entscheidend bei der Angiogenese in Tumoren beteiligt sein könnte [176]. Hier wäre es interessant, die genauen Mechanismen der Interaktion zwischen der AMPK und HuR und ihren Einfluss auf unterschiedliche Tumoren näher zu untersuchen.

Zusammenfassend lassen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sowie die genannten Studienergebnisse erkennen, dass HuR grundsätzlich als mögliches neues therapeutisches Zielprotein in der Therapie des Prostatakarzinoms in Frage käme. Voraussetzung hierfür wäre die Entwicklung von zielgerichteten nebenwirkungsarmen Inhibitoren. Aufbauend auf der in dieser Studie nachgewiesenen prognostischen Relevanz eines Verlustes der nukleären HuR-Expression sollten großangelegte klinische Studien durchgeführt werden, um die prognostische Rolle von HuR im Prostatakarzinom zu untersuchen.

4.4 NSAID in der Prävention und Therapie des Prostatakarzinoms-therapeutischer Ausblick

Mehrere epidemiologische Studien haben einen möglichen protektiven Effekt für die Erkrankung an einem Prostatakarzinom durch eine regelmäßige Einnahme von NSAID untersucht. In den letzten Jahren sind dazu zwei Metaanalysen erschienen. Mahmud et al. analysierten 12 Studien, darunter fünf retrospektive und sieben prospektive Studien, getrennt nach Einnahme von Aspirin, allen NSAID oder "Nicht-Aspirin"-NSAID [177]. Die meisten Studien bezüglich einer regelmäßigen Aspirin-Einnahme zeigten eine inverse, jedoch nur in zwei Fällen signifikante

Beziehung. Die Gesamt-Odds Ratio (OR) lag hier bei 0,9 (95% CI: 0,82-0,99, $p=0,025$). Die Einnahme von allen NSAID bzw. Nicht-Aspirin-NSAID zeigten keine eindeutige inverse Assoziation mit der Entstehung von Prostatakarzinomen. In der Metaanalyse von Bosetti et al. [178] ergab der Vergleich von insgesamt 15 Studien zur möglichen protektiven Wirkung einer regelmäßigen Einnahme von Aspirin keine signifikante Reduktion des Prostatakarzinomrisikos (OR 0,98, 95% CI: 0,95-1,01) bei starker Heterogenität der einzelnen Studien (Abbildung 13) [179-193].

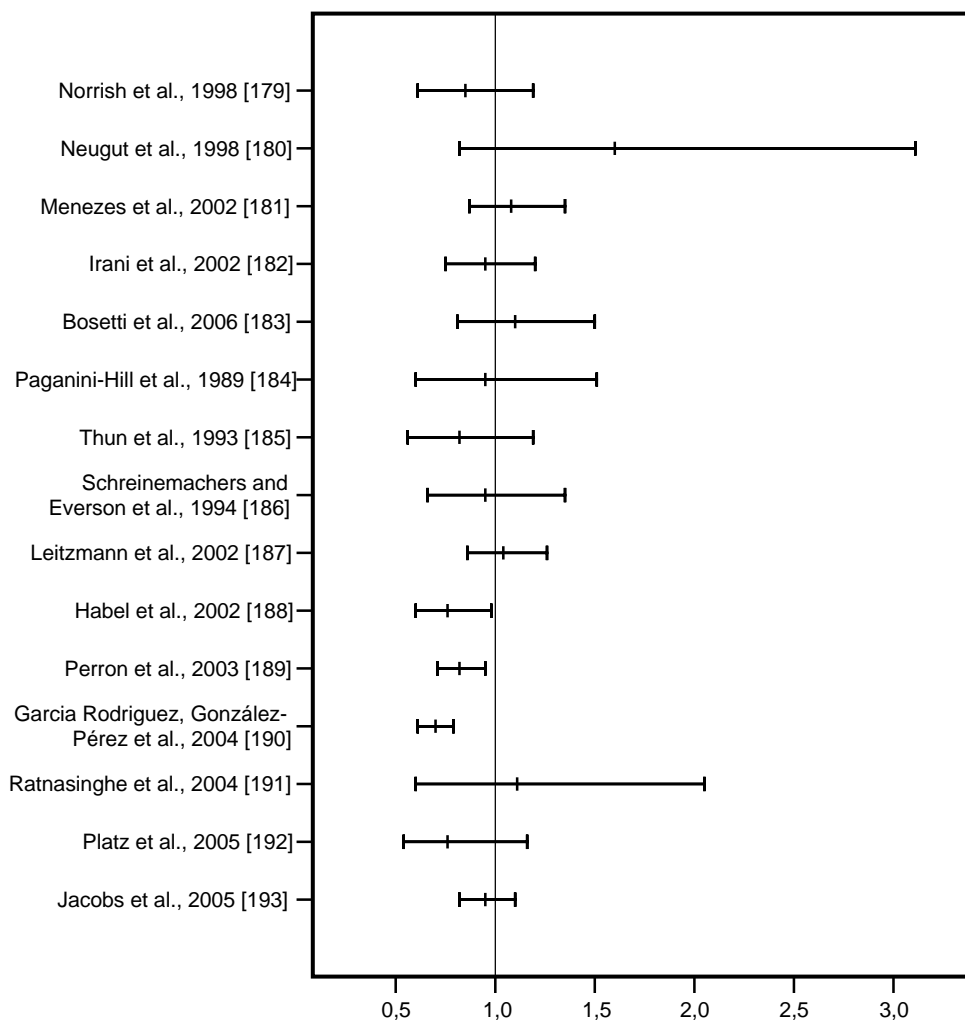


Abbildung 13: Die Metaanalyse von Bosetti et al. [178] zeigt keine signifikante Reduktion des Prostatakarzinomrisikos bei regelmäßiger Aspirin-Einnahme (OR=0,98, 95% CI: 0,95-1,01) [179-193].

Der Einsatz von COX-2-Inhibitoren im Sinne einer adjuvanten Therapie bei Patienten nach Prostatektomie oder Radiatio wurde bereits in zwei klinischen Studien erforscht. In einer Pilotstudie von Pruthi et al. wurden 12 Patienten, die nach radikaler Prostatektomie oder Radiotherapie einen PSA-Anstieg zeigten, 12 Monate lang zweimal täglich mit 200 mg Celecoxib behandelt. Dabei fand sich bereits nach 3 Monaten ein signifikant hemmender Effekt auf die PSA-Progression ($p=0,001$) [194]. Die gleiche Arbeitsgruppe veröffentlichte zwei Jahre später Ergebnisse einer Phase-II-Studie mit ähnlichem Studienaufbau: 40 Patienten mit einem PSA-Rezidiv nach radikaler Prostatektomie oder Radiotherapie erhielten bis zu 18 Monate lang zweimal täglich 400 mg Celecoxib. Bei 90% der Patienten kam es dabei nach 3 Monaten zu einem verlangsamten PSA-Anstieg, elf Patienten davon zeigten sogar sinkende PSA-Werte. Da die Testosteronspiegel keine signifikante Änderung aufwiesen, wird von einer androgenunabhängigen Wirkung ausgegangen, weshalb auch die Therapie hormonrefraktärer Tumoren möglich erscheint [195]. Studien mit größeren Patientenkohorten und längeren Nachbeobachtungszeiten werden notwendig sein, um die Mechanismen dieser Medikamentengruppe im Prostatakarzinom zu erforschen.

Denkbar ist auch der adjuvante Einsatz bei gleichzeitiger Radiatio oder Chemotherapie. In Zellkulturexperimenten konnte gezeigt werden, dass eine COX-2-Inhibition durch antisense-cDNA oder Celecoxib zu einem erhöhten Ansprechen der Tumorzellen auf Chemotherapeutika führte [148,196]. Auch eine erhöhte Sensibilität von Prostatakarzinomzellen auf Bestrahlung wurde beschrieben [51].

Der Nutzen von selektiven COX-2-Inhibitoren als chemopräventives Therapeutikum ist als äußerst kritisch anzusehen. Zwar konnte in mehreren klinischen Studien ein signifikant reduziertes Auftreten kolorektaler Adenome festgestellt werden [180-182]. Diese Resultate wurden jedoch von einem bis zu zweifach erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Nebenwirkungen wie Myokardinfarkte oder Schlaganfälle begleitet [58,200].

Es wird geschätzt, dass abhängig von Lokalisation, Größe und Art des Karzinoms bis zur Hälfte der Patienten nach radikaler Prostatektomie oder Radiotherapie einen PSA-Anstieg aufweisen. Eine Chemotherapie wird in diesem Stadium aufgrund einer zu geringen Effizienz und zu hohen Toxizität ebenso wie eine frühe antiandrogene Therapie abgelehnt. So wird derzeit bis zum Auftreten einer klinischen Symptomatik abgewartet und dann mit der Hormon-Therapie begonnen [178]. Dies zeigt die

Notwendigkeit, für diese Patientengruppe einfache und nebenwirkungsarme Therapiealternativen zu entwickeln. Aufgrund der diskutierten kardiovaskulären Nebenwirkungen müssen allerdings mögliche Risiken und ein potentieller Nutzen für den Patienten sorgfältig abgewogen werden. Patienten mit fortgeschrittenem Tumorleiden und einem geringen kardiovaskulären Risiko könnten eventuell im Rahmen von prospektiven Studien mit einer adjuvanten Kombinationstherapie mit COX-2-Inhibitoren behandelt werden. In Hinblick auf die genannten Nebenwirkungen wäre es beim Design der klinischen Studien wichtig, zunächst prädiktive Marker wie eine COX-2-Expression im Tumor zu untersuchen, um das Ansprechen des Tumors auf eine COX-2-hemmende Therapie abzuschätzen und so eine möglichst individualisierte Therapie zu ermöglichen.