

Aus dem
CharitéCentrum für diagnostische und präventive Labormedizin
(CC5)
Institut für Pathologie
Direktor: Professor Dr. Manfred Dietel

Habilitationsschrift

Expressionsanalysen prognostischer, diagnostischer und prädiktiver Biomarker an Prostata- und Nierenzellkarzinomen

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Pathologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Florian Fritzsche

Eingereicht: Juli 2010
Dekanin: Prof. Dr. med. Annette Grütters-Kieslich
1. Gutachter: Prof. Dr. med. Christoph Röcken, Institut für
Pathologie, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
2. Gutachter: PD Dr. rer. nat. Holger Sültmann, Deutsches
Krebsforschungszentrum, Heidelberg

Widmung

Dem Weltfrieden

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	3
1. Einleitung.....	4
Epidemiologie urogenitaler Karzinome.....	4
Behandlungsstrategien von Prostata- und Nierenzellkarzinomen - Fragen an die Pathologie.....	6
Übersicht der untersuchten Proteine.....	9
2. Zielstellung.....	11
3. Eigene Arbeiten.....	12
Hohe ADAM9 Expression im Nierenzellkarzinom ist mit aggressiverem Tumorverhalten assoziiert.....	12
ADAM9 Überexpression ist eine unabhängiger Prognosemarker des Prostatakarzinoms.....	14
Hohe ADAM8 Expression ist mit aggressiveren Prostatakarzinomen assoziiert.....	16
Klasse I Histondeacetylasen 1,2 und 3 werden in Nierenzellkarzinomen stark exprimiert.....	18
HDAC 1,2 und 3: Expression und prognostische Bedeutung im Prostatakarzinom.....	20
GOLPH2 als neuer diagnostischer Biomarker des Prostatakarzinoms.....	22
4. Diskussion.....	24
5. Zusammenfassung.....	28
6. Literaturangaben.....	29
7. Danksagung.....	38
8. Erklärung.....	39

Abkürzungsverzeichnis

3D	Dreidimensional (three-dimensional)
ADAM	Ein Disintegrin und Metalloproteinase (A Disintegrin And Metalloproteinase)
AMACR	Alpha-methylacyl-CoenzymA-Razemase (Alpha-methylacyl-CoA-racemase)
DNA	Desoxyribonukleinsäure (deoxyribonucleic acid)
EGFR	Epidermaler Wachstumsfaktor Rezeptor (epidermal growth factor receptor)
GOLPH2	Golgi Phosphoprotein 2 (golgi phosphoprotein 2)
HDAC	Histondeazetylase (histione deacetylase)
HDI	HDAC Hemmstoff (HDAC inhibitor)
HIF-1alpha	Hypoxieinduzierter Faktor 1alpha (hypoxia-inducible factor 1 alpha)
Ki-67	Kiel-67
mRNA	Boten-RNA (messenger RNA)
mTOR	Ziel des Rapamycins im Säugetier (mammalian Target of Rapamycin)
pH	pondus Hydrogenii
p63	Protein 63 (protein 63)
PIN	Prostatische intraepitheliale Neoplasie (prostate intraepithelial neoplasia)
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction)
PSA	Prostata-spezifisches Antigen (prostate specific antigen)
p-Wert	Überschreitungswahrscheinlichkeitswert (probability-value)
RNA	Ribonukleinsäure (ribonucleic acid)
S3	Stufe 3 – <i>höchste Qualitätsstufe</i> (step 3)
TIMP	Gewebshemmstoff von Metalloproteinasen (tissue inhibitor of metalloproteinases)
VEGF	Vaskulär-endothelialer Wachstumsfaktor (vascular endothelial growth factor)
VHL	von Hippel-Lindau
WHO	Weltgesundheitsorganisation (World health organization)

1. Einleitung

Epidemiologie urogenitaler Karzinome

Tumorerkrankungen stehen in Todesursachenstatistiken industrialisierter Länder seit Jahrzehnten an zweiter Stelle hinter kardiovaskulären Erkrankungen. Unter den Tumorerkrankungen sind in dieser Beziehung die malignen epithelialen Tumoren, die Karzinome, mit Abstand am bedeutsamsten. Die Untergruppe der urogenitalen Karzinome umfasst dabei Tumoren der Niere, der ableitenden Harnwege sowie üblicherweise solche der männlichen Geschlechtsorgane.

Prostatakarzinome stellen nach aktuellen epidemiologischen Daten zur Erkrankungshäufigkeit sowohl in Deutschland als auch in den Vereinigten Staaten von Amerika das häufigste Karzinom beim Mann und die drittbeziehungsweise bis zweithäufigste Tumor-bedingte Todesursache nach Bronchial- beziehungsweise kolorektalen Karzinomen dar (1-3). Berücksichtigt man insgesamt alle möglichen Todesursachen, belegt das Prostatakarzinom bei Männern in Deutschland den siebten Rang (4). Die Kosten für Prostatakarzinombehandlungen im ersten Jahr nach Diagnosestellung liegen in Deutschland bei knapp einer viertel Milliarde Euro (5). Nicht eingerechnet sind hier die Kosten für Vorsorge-Programme sowie Langzeitbehandlungskosten.

Nierenzellkarzinome sind bezüglich ihrer Häufigkeit bei beiden Geschlechtern ebenfalls unter den zehn häufigsten malignen Tumorerkrankungen einzuordnen (1-3). Während bei der Prostata der konventionelle azinäre histologische Typ klar gegenüber dem duktalem Typ dominiert, sind in der Niere in abnehmender Häufigkeit der klarzellige, der papilläre und der chromophobe histologische Typ zu nennen. Sowohl das Prostata- als auch das Nierenzellkarzinom sind als Erkrankung des höheren Lebensalters zu betrachten. Das mediane Erkrankungsalter liegt mit etwa 70 Jahren beim Prostatakarzinom noch einige Jahre oberhalb dessen des Nierenzellkarzinoms. Die Zunahme der PSA-Untersuchungen im Rahmen von Vorsorgeprogrammen bei Männern bedingt allerdings eine Tendenz zur Diagnose der Prostatakarzinome in etwas jüngeren Altersgruppen.

Unter den urogenitalen Karzinomen sind diese beiden genannten Entitäten - was Inzidenz und Todesursachen angeht - führend. Die selteneren Harnblasenkarzinome bedingen im Verhältnis zu ihrer Inzidenz eine recht hohe Mortalitätsrate. Tumoren des Hodens weisen in den Industrieländern, gerade auch in Deutschland, eine steigende Inzidenz auf, betreffen dabei typischerweise Erwachsene jüngeren bis mittleren Alters und sind im Regelfall prognostisch günstig (6). Die vorliegende Arbeit wird sich auf Studien zu Prostata- und Nierenzellkarzinome begrenzen, weshalb sich die therapeutischen Angaben ebenfalls auf diese beiden Entitäten beziehen werden.

Behandlungsstrategien von Prostata- und Nierenzellkarzinomen - Fragen an die Pathologie

Laut aktueller S3 Leitlinie aus dem Jahr 2009, an der sich diese Übersicht orientiert, werden zur Therapie eines lokal begrenzten Prostatakarzinoms die radikale Prostatektomie, Strahlentherapie, Brachytherapie oder auch ein Active-Surveillance Ansatz empfohlen (4). Letztgenannte Überwachung setzt einen niedrigen PSA-Wert, ein gut oder maximal mässiggradig differenziertes Karzinom, ein T1c oder T2a Tumorstadium, Tumorbefall in ≤ 2 Stanzen und $\leq 50\%$ Tumorbefall in einer Stanze voraus. Weiterhin sollte diese Option bei Patienten mit einer Lebenserwartung von unter 10 Jahren erörtert werden.

Eine radikale Prostatektomie wird als primäre Therapieoption des lokal begrenzten Prostatakarzinoms gesehen, die eine R0-Resektion anstrebt. Sie kann die karzinomspezifische Mortalität signifikant senken. Weitere Zielstellungen bei der Prostatektomie sind der Erhalt der Harnkontinenz und der erektilen Funktion. Die Operation kann dabei retropubisch, perineal, laparoskopisch oder roboter-assistiert durchgeführt werden.

Eine 3D-konformale Strahlentherapie wird ebenfalls als primäre Therapieoption gesehen, wobei Strahlendosis und eventuelle hormonablativ Adjvantien vom Risikoprofil (PSA-Wert, Gleason-Score, T-Stadium) abhängig gemacht werden sollen.

Eine low-dose-rate Brachytherapie ist lediglich für niedrig-Risiko Patienten eine primäre Therapieoption. In Kombination mit einer 3D-konformalen Strahlentherapie stellt eine high-dose-rate Brachytherapie eine primäre Therapieoption für lokal begrenzte und lokal fortgeschrittene Karzinome mittleren bis hohen Risikoprofils dar.

Beim fortgeschrittenen Prostatakarzinom stellen die radikale Prostatektomie ebenso wie die Strahlentherapie jeweils in Kombination mit einer Hormonablation therapeutische Optionen dar. Vor Durchführung einer Prostatektomie bei fortgeschrittenen Tumoren wird eine pelvine Lymphadenektomie empfohlen. In Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstatus, dem Resektionsrandstatus und dem Lymphknotenstatus können eine adjuvante Strahlentherapie und/oder Hormontherapie nach Prostatektomie

erwogen werden. In der Nachkontrolle dient eine PSA-Wert Bestimmung der Detektion eines biochemischen Rezidivs welches lokal oder systemisch auftreten kann. Im Falle eines Rezidivs, können Strahlentherapie und Hormonablation angeboten werden. Sobald das Wachstum des Tumors jedoch androgenunabhängig wird, sind die Behandlungsoptionen bislang nur palliativ (Chemotherapie, Radiotherapie).

Die wichtigsten Fragen an den Pathologen beinhalten bei der Stanzbiopsie die Ausdehnung und den Gleason-Score des Tumors und bei Ektomiepräparaten den pT-Status, Gleason-Score und Resektionsrandstatus. Gerade bei kleinen Tumorherden ist die sichere Dignitätsbeurteilung oft auf auxiliäre immunhistologische Untersuchungen angewiesen. Biomarker, die eine spezifische Karzinomdetektion erleichtern, wären hier diagnostisch hilfreich. Während das lokalisierte Prostatakarzinom mit den vorhandenen Behandlungsmethoden recht gut beherrscht werden kann, besteht starker Bedarf an Optionen zur kurativen Behandlung der fortgeschrittenen und kastrationsresistenten Karzinome. Ansätze zur Lösung dieser Fragen liefern molekulare Markerproteine, die im Rahmen einer gezielteren und individualisierten Therapie zur Detektion, Chemoprävention, Vakzinierung, Gentherapie oder Immunmodulation eingesetzt werden könnten (7, 8).

Beim lokalisierten Nierenzellkarzinom besteht die primäre Therapie in der chirurgischen Exzision des Tumors. Ähnlich wie bei der Prostatektomie sind verschiedene Zugangsmethoden und Laparoskopietechniken etabliert und können als vollständige Nephrektomie oder als Nephron-schonender Eingriff mit oder ohne Adrenalektomie oder Lymphonodektomie durchgeführt werden (9). Nierenzellkarzinome sind gegenüber konventionellen Radio- oder Chemotherapien hingegen überwiegend resistent.

Eine Nephrektomie wird bislang auch bei metastasierten Nierenzellkarzinomen im Rahmen der sogenannten Zytoreduktion als Reduzierung der Tumorlast im Körper durchgeführt. Zudem hat sich für diese Tumorentität auch die Metastasenchirurgie, besonders bei Lungenfiliae, als prognostisch vorteilhaft herausgestellt (9).

Das metastasierte Nierenzellkarzinom wird ansonsten traditionell mit Interferon-alpha und Interleukin-2 therapiert. Diese bewirken eine verstärkte

Immunreaktion des Körpers gegen das Karzinom. Dauerhafte Heilungen gelingen damit jedoch immer noch relativ selten. Das genauere Verständnis über den Zusammenhang von VHL-Mutationen und den daraus resultierenden zellulären Fehlregulationen bei der Entstehung von Nierenzellkarzinomen führte zur Entdeckung neuer Therapiezielstrukturen und zur Entwicklung neuer Medikamente. So finden seit einiger Zeit Therapeutika, die über die tumorale Angiogenese und den Gefäßwachstumsfaktor VEGF oder über den Endothelwachstumsfaktorrezeptor EGFR oder über den sogenannten mTOR pathway den Tumor bekämpfen sollen, Verwendung. Trotz einiger Erfolge mit diesen neuen Medikamenten fehlt immer noch eine Therapiestrategie, welche zuverlässig eine komplette und dauerhafte Remission bei Nierenzellkarzinomen bewirken kann (10).

Übersicht der untersuchten Proteine

Die Familie der ADAMs (A Disintegrin And Metalloproteinase) umfasst zahlreiche Mitglieder, deren Funktionen vielfältig sind und die von Spermatogenese, Neurogenese, Myogenese und Leukozytenmigration bis zur Zelladhäsion reichen (11, 12). Eine erhöhte Expression von ADAMs wurde bereits mit der Progression einiger Malignome assoziiert (13-15). Als wichtiges strukturelles Merkmal der ADAMs gilt das Vorhandensein einer sogenannten Tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) -unabhängigen Proteasedomäne neben einer Adhäsionsdomäne (16).

ADAM8 wurde bislang mit Entzündungsprozessen assoziiert und zudem im zentralen Nervensystem nachgewiesen (17, 18). Außerdem verstärkt und erleichtert ADAM8 karzinomunterstützend die Migrationsaktivität von Tumorzellen (13, 19). Dabei scheint die ADAM8 Expression und Funktionalität in gewissem Masse Hypoxie-induzierbar und pH-abhängig zu sein (20, 21).

ADAM9 ist mittlerweile in zahlreichen Tumorentitäten, darunter auch im Prostatakarzinom, beschrieben worden, in denen es zumeist aufreguliert vorliegt (22-24). Aufgrund seiner Rolle bei der Spaltung und Freisetzung zahlreicher tumorrelevanter Proteine wird ADAM9 als potentielles Therapieziel in Tumoren mit ADAM9 Überexpression angesehen (22, 25-28). Tatsächlich konnte mit Inhibitoren gegen ausgewählte ADAMs ein synergistischer Effekt mit anderen Chemotherapien in Bezug auf eine Beschränkung der Tumorprogression gezeigt werden (29).

Histondeazetylasen (HDAC) sind an der Deazetylierung von nukleären Histonden beteiligt, was zu einer veränderten Anlagerung der DNA um die nukleären Histonproteine führt und somit die Transkription beeinflussen kann (30, 31). Weiterhin können HDACs das Azetylierungsmuster verschiedener Tumor-assoziiertes nicht-Histon-Proteine modulieren und darüber auf deren Funktion einwirken (32, 33). Zur HDAC-Proteinfamilie wurden bislang 18 HDACs zugeordnet, die wiederum in vier Klassen unterteilt werden. Die meisten Beschreibungen liegen zu den Klassen I und II vor. Im Rahmen der patho-onkologischen Forschung ist besonders interessant, dass seit einiger Zeit für

die Malignomtherapie zugelassene HDAC-Inhibitoren (HDI) existieren (34, 35). Im Rahmen von Studien konnte gezeigt werden dass HDI zu Wachstumsstillstand, Ausdifferenzierung und Apoptosen bei malignen Tumoren, einschließlich Nierenzellkarzinomen, führen können (31, 36-40). Dabei erscheint unter anderem auch eine Inhibition der über HIF-1alpha induzierten und ebenfalls über HDACs modulierten Angiogenese vielversprechend (41). Beim Prostatakarzinom sollen HDACs an der Aktivierung Androgenrezeptor-gesteuerter Gene beteiligt sein, so dass HDI hier blockierend und antitumoral wirken könnten (42). Mit zunehmender Zahl der HDI steigt auch die Zahl der hierzu durchgeführten pharmako-klinischen Studien. Bisherige zellbasierte Studien und kleinere Phase 1 Versuche, auch an den beiden hier weiter untersuchten Karzinomentitäten, verliefen sowohl was Wirkung als auch Nebenwirkungen anging positiv (43-50).

Das Golgi Phosphoprotein 2 (GOLPH2) wurde bereits auf mRNA Ebene als aufreguliert im Prostatakarzinom beschrieben (51-53). Zudem soll GOLPH2 eine gute Detektierbarkeit für das Prostatakarzinom anhand von Urinprobenanalysen – gerade auch im Vergleich zum etablierten PSA-Test - ermöglichen (54). Funktionell gibt es noch keine relevanten Erkenntnisse zu diesem Protein. Neben dem Nachweis im Prostatakarzinom haben neuere Studien GOLPH2 außerdem in Seminomen, einigen Nierenzellkarzinomen und in hepatozellulären Karzinomen nachweisen können (55-57). In letztgenannten könnte GOLPH2 als Serummarker in Zukunft diagnostisch Verwendung finden (57).

2. Zielstellung

Das Ziel der hier vorgestellten Arbeiten bestand darin, ausgewählte Proteine in Prostata- und Nierenzellkarzinomen zu untersuchen. Im Einzelnen sollte dabei

- die Expression von ADAM8, ADAM9, HDAC1-3 und GOLPH2 in Prostata- und/oder Nierenzellkarzinomen im Vergleich zur Expression in korrespondierendem nicht-neoplastischen Gewebe an konventionellen Gewebsschnitten oder Tissue-Microarrays mittels Immunhistologie untersucht werden,
- die Expression einiger der genannten Proteine beziehungsweise deren Transkripte zusätzlich in Tumor- und korrespondierendem nicht-neoplastischen Gewebe mittels quantitativer PCR und/oder Western Blot untersucht werden,
- Korrelationen/Assoziationen der immunhistologisch und/oder PCR-analytisch bestimmten Marker-Expression mit klinisch-pathologischen Daten berechnet werden,
- die Proteinexpression in den jeweiligen Tumorkollektiven hinsichtlich ihrer prognostischen oder diagnostischen Relevanz überprüft werden,

um, in Zusammenschau mit vorherigen Arbeiten und funktionellen Studien, eine Aussage bezüglich einer möglichen Eignung der genannten Proteine als diagnostische oder prognostische Biomarker oder als Zielproteine für eine individualisierte und gerichtete Chemotherapie im Prostata- und/oder Nierenzellkarzinom treffen zu können.

3. Eigene Arbeiten

Hohe ADAM9 Expression im Nierenzellkarzinom ist mit aggressiverem Tumorverhalten assoziiert

Literatur: Fritzsche FR., Wassermann K., Jung M., Tölle A., Kristiansen I., Lein M., Johannsen M., Dietel M., Jung K., Kristiansen G.

ADAM9 is highly expressed in renal cell cancer and is associated with tumour progression, BMC Cancer, 26, 2008, 179.

Studienkollektiv und Methoden

Eingeschlossen in diese Studie wurden Gewebeproben von 108 Patientinnen und Patienten im Alter zwischen 28 und 92 Jahren, bei denen zwischen 2003 und 2005 am Institut für Pathologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin ein Nierenzellkarzinom diagnostiziert worden war. Nach Konstruktion eines Tissue-Microarrays wurden die Proben immunhistologisch mit einem ADAM9 Antikörper untersucht. Weiterhin wurden zusätzliche Frischgewebsproben von Tumor und korrespondierendem normalem Nierenrindengewebe von 30 Patienten mittels real time-PCR in Bezug auf die ADAM9 mRNA Expression untersucht. Weitere Patienten-, Tumor- und Methodikcharakteristika sind in anhängender Publikation beschrieben.

Expression von ADAM9 im Nierenzellkarzinom und im normalen Nierengewebe

Der ADAM9 mRNA Gehalt im Nierenzellkarzinom war signifikant erhöht gegenüber dem Gehalt im zugehörigen normalen Nierenrindengewebe.

Die immunhistologische Analyse zeigte eine in den proximalen Nierentubuli und luminal betonte ADAM9 Expression im normalen Nierengewebe. In den Nierenzellkarzinomen wurde ADAM9 überwiegend homogen, vor allem membranös, in den papillären histologischen Subtypen jedoch auch zytoplasmatisch exprimiert. Auch wenn gut ein Drittel der Karzinome eine starke

ADAM9 Expression zeigte, was nur für knapp 4% der Normalgewebeproben zutraf, blieben insgesamt die Expressionsunterschiede zwischen Karzinom- und Normalgewebe auf Proteinebene insignifikant.

Korrelation der ADAM9 Expression mit klinisch-pathologischen Parametern

Bei den 30 untersuchten Frischgewebefällen konnten keine signifikanten Assoziationen zwischen der ADAM9 mRNA Expression und den klinisch-pathologischen Parametern Tumor-Stadium, Tumorgrad, Metastasenstatus, Lymphknotenstatus, Resektionsrandstatus und histologischem Subtyp nachgewiesen werden.

Für die ADAM9 Protein Expression im Nierenzellkarzinom fanden sich hingegen signifikante Assoziationen mit höherem Tumorgrad, positivem Lymphknotenstatus und dem Vorhandensein von distalen Metastasen.

Bedeutung der ADAM9 Expression für das Überleben der Patienten/innen

Neben den bekannten klinisch-pathologischen Prognosefaktoren des Nierenzellkarzinoms war auch die Expression des ADAM9 Proteins im Karzinom in der Kaplan-Meier Analyse ein signifikanter Prognoseparameter. Patienten/innen mit einer erhöhten ADAM9 Expression zeigten in dieser Analyse signifikant kürzere Überlebenszeiten als solche ohne oder mit einer geringen ADAM9 Expression. In einer angeschlossenen multivariaten Überlebensanalyse konnte ein unabhängiger prognostischer Wert für das Überleben der Patienten/innen in Abhängigkeit von der ADAM9 Expression wie auch für den Fuhrman Tumorgrad nicht bestätigt werden.

Weitere Details zu dieser Arbeit und eine Diskussion der Ergebnisse sind der anhängenden Publikation zu entnehmen.

Hohe ADAM9 Expression ist eine unabhängiger Prognosemarker des Prostatakarzinoms

Literatur: Fritzsche FR., Jung M., Tölle A., Wild P., Hartmann A., Wassermann K., Rabien A., Lein M., Dietel M., Pilarsky C., Calvano D., Grützmann R., Jung K., Kristiansen G.

ADAM9 expression is a significant and independent prognostic marker of PSA relapse in prostate cancer, *European Urology*, 54, 2008, 1097-106.

Studienkollektiv und Methoden

Eingeschlossen in diese Studie wurden Gewebeproben von 198 Patienten im Alter zwischen 47 und 74 Jahren, bei denen am Institut für Pathologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin ein Prostatakarzinom diagnostiziert worden war. Die Proben wurden auf konventionellen Gewebsschnitten des Prostatektomiepräparates mit einem ADAM9 Antikörper untersucht. Von weiteren 25 Patienten wurden Frischgewebeproben von Prostatakarzinomen und korrespondierendem nicht-neoplastischem Prostatagewebe mittels real time-PCR auf eine ADAM9 mRNA Expression hin analysiert. Zusätzliche 6 gepaarte Proben mit Karzinom- und nicht-neoplastischem-Gewebe wurden in einem Western blot evaluiert.

Weitere Patienten-, Tumor- und Methodikcharakteristika sind in anhängender Publikation beschrieben.

Expression von ADAM9 im Prostatakarzinom und im nicht-neoplastischen Prostatagewebe

Der ADAM9 mRNA Gehalt im Prostatakarzinom war signifikant erhöht gegenüber dem ADAM9 Gehalt im zugehörigen nicht-neoplastischen Prostatagewebe.

Auch auf Proteinebene fand sich eine signifikant höhere ADAM9 Expression im Prostatakarzinom und auch in der hochgradigen prostatistischen intraepithelialen Neoplasie im Vergleich zum angrenzenden nicht-neoplastischen Prostatadrüsengewebe. Das Expressionsmuster ließ neben einer zytoplasmatischen auch eine luminal betonte ADAM9 Verteilung erkennen. Die Western blot Analyse bestätigte die beobachtete Aufregulation im

Karzinomgewebe.

Korrelation der ADAM9 Expression mit klinisch-pathologischen Parametern

Die ADAM9 mRNA Expression zeigte keine signifikante Assoziation mit klinisch-pathologischen Parametern (Tumor-Stadium, Gleason-Score-Summe, präoperativer PSA-Wert oder Resektionsrandstatus).

Ebensowenig lag für die ADAM9 Protein Expression im Prostatakarzinom eine signifikante Assoziation mit den genannten Parametern vor.

Bedeutung der ADAM9 Expression für das Rezidiv-freie Überleben von Prostatakarzinompatienten

In der vorliegenden Kohorte konnte für die bekannten Prognoseparameter Tumor-Status, Gleason-Score-Summe, Resektionsrandstatus und präoperativer PSA-Wert eine statistische Signifikanz für das Rezidiv-freie Überleben in der univariaten Überlebensanalyse gezeigt werden. Ebenso war eine erhöhte ADAM9 Protein Expression ein signifikanter Prognostikator eines kürzeren Rezidiv-freien Überlebens. Weitere Subgruppenanalysen konnten zeigen, dass neben einer starken Expression auch ein diffuses zelluläres Verteilungsmuster der ADAM9 Expression im Karzinom im Gegensatz zu einem luminal polaren Verteilungsmuster signifikant mit einem früheren biochemischen Rezidiv assoziiert ist. Dieser prognostische Wert der ADAM9 Expression wurde auch besonders für anti-Androgen vorbehandelte Karzinome gefunden und im Rahmen einer multivariaten Cox-Analyse bestätigt.

Weitere Details zu dieser Arbeit und eine Diskussion der Ergebnisse sind der anhängenden Publikation zu entnehmen.

Hohe ADAM8 Expression ist mit aggressiveren Prostatakarzinomen assoziiert

Literatur: Fritzsche FR., Jung M., Xu C., Rabien A., Schick Tanz H., Stephan C., Dietel M., Jung K., Kristiansen G.

ADAM8 expression in prostate cancer is associated with parameters of unfavorable prognosis, Virchows Archiv, 449, 2006, 628-36.

Studienkollektiv und Methoden

Eingeschlossen in diese Studie wurden Gewebeproben von 128 Patienten im Alter zwischen 47 und 73 Jahren, bei denen am Institut für Pathologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin ein Prostatakarzinom diagnostiziert worden war. Die Proben wurden auf konventionellen Gewebsschnitten mit einem ADAM8 Antikörper untersucht. Von weiteren 59 Patienten wurden Frischgewebeproben von Prostatakarzinomen und korrespondierendem nicht-neoplastischem Prostatagewebe mittels real time-PCR bezüglich einer ADAM8 mRNA Expression analysiert.

Weitere Patienten-, Tumor- und Methodikcharakteristika sind in anhängender Publikation beschrieben.

Expression von ADAM8 im Prostatakarzinom und im nicht-neoplastischen Prostatagewebe

Der ADAM8 mRNA Gehalt im Prostatakarzinom war signifikant erniedrigt gegenüber dem ADAM8 Gehalt im zugehörigen nicht-neoplastischen Prostatagewebe. Dabei lag in 18 Fällen eine erhöhte Expression und in 41 Fällen eine erniedrigte Expression vor. Die ADAM8 Protein Expression im Prostatakarzinom und auch in der hochgradigen prostatistischen intraepithelialen Neoplasie war hingegen im Vergleich zum angrenzenden nicht-neoplastischen Prostatadrüsengewebe signifikant erhöht. In allen drei Gewebetypen fand sich eine zytoplasmatische Expression, wobei jedoch gut 60% der Karzinome und fast 85% der nicht-neoplastischen Gewebe keine oder nur eine schwache

Expression von ADAM8 aufwiesen.

Korrelation der ADAM8 Expression mit klinisch-pathologischen Parametern

Die ADAM8 mRNA Expression zeigte keine signifikante Assoziation mit den klinisch-pathologischen Parametern Tumor-Stadium, Gleason-Score-Summe, präoperativer PSA-Wert oder Resektionsrandstatus.

Die ADAM8 Protein Expression im Prostatakarzinom wies signifikante positive Assoziationen mit einem fortgeschrittenen Tumor-Stadium, höherer Gleason-Score-Summe und positivem Lymphknotenstatus auf.

Bedeutung der ADAM8 Expression für das Rezidiv-freie Überleben von Prostatakarzinompatienten

Während für die bekannten Prognoseparameter Tumor-Status, Gleason-Score-Summe, Resektionsrandstatus und präoperativer PSA-Wert eine statistische Signifikanz für das Rezidiv-freie Überleben in der univariaten Analyse bestätigt werden konnte, war dies für die ADAM8 Expression nicht der Fall. Auch wenn die Kaplan-Meier Kurven einen Trend für ein längeres Rezidiv-freies Überleben bei niedriger ADAM8 Expression andeuteten, blieb dieser mit einem p-Wert von 0,218 oberhalb des Signifikanzniveaus, was sich auch in weiteren Subgruppenanalysen nicht änderte.

Weitere Details zu dieser Arbeit und eine Diskussion der Ergebnisse sind der anhängenden Publikation zu entnehmen.

Klasse I Histondeazetylasen 1,2 und 3 werden in Nierenzellkarzinomen stark exprimiert

Literatur: Fritzsche FR., Weichert W., Röske A., Gekeler V., Beckers T., Stephan C., Jung K., Scholman K., Denkert C., Dietel M., Kristiansen G.

Class I histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in renal cell cancer, BMC Cancer, 19, 2008, 381.

Studienkollektiv und Methoden

Eingeschlossen in diese Studie wurden Gewebeproben von 106 Patientinnen und Patienten im Alter zwischen 28 und 92 Jahren, bei denen zwischen 2003 und 2005 am Institut für Pathologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin ein Nierenzellkarzinom diagnostiziert worden war. Nach Konstruktion eines Tissue-Microarrays wurden die Proben immunhistologisch mit Antikörpern gegen die Klasse I HDAC Isoformen HDAC1, 2 und 3 untersucht.

Weitere Patienten-, Tumor- und Methodikcharakteristika sind in anhängender Publikation beschrieben.

Expression von HDAC1, 2 und 3 im Nierenzellkarzinom und im normalen Nierengewebe

Alle drei Klasse I HDAC Isoformen wurden zum Teil stark in glomerulären Zellen des normalen Nierengewebes exprimiert. Auch in den Nierentubuli fand sich eine variable Expression in verschiedenen Tubulusabschnitten.

In Nierenzellkarzinomen konnte eine deutliche nukleäre Expression für HDAC1 und 2 in jeweils über 50 Prozent der Tumoren gezeigt werden. HDAC3 war hingegen nur in etwa 13% der Karzinome exprimiert, wobei es deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen histologischen Subtypen gab. Nur etwa 8 Prozent der klarzelligen Nierenzellkarzinome exprimierten HDAC3, hingegen waren gut 40% der papillären Tumoren positiv für diesen Marker. Intratumorale Stromazellen exprimierten Klasse I HDAC Isoformen unabhängig von der Expression im Karzinom.

Korrelation der HDAC Expression mit klinisch-pathologischen Parametern

Die HDAC Expressionen der verschiedenen Isoformen korrelierten signifikant untereinander und jeweils mit dem Ki-67 Proliferationsindex der Tumoren. Zudem fand sich ein statistisch signifikanter reziproker Zusammenhang zwischen HDAC3 Expression und Tumorstadium.

Bedeutung der HDAC Expression für das Überleben der Patienten/innen

In der untersuchten Kohorte erreichten die bekannten klinisch-pathologischen Prognosefaktoren des Nierenzellkarzinoms das Signifikanzniveau in der univariaten Überlebensanalyse. Für die Klasse I HDAC Isoformen konnte weder einzeln, noch kombiniert, noch für verschiedene cutoff Werte eine signifikante Bedeutung in den Überlebensanalysen gezeigt werden.

Weitere Details zu dieser Arbeit und eine Diskussion der Ergebnisse sind der anhängenden Publikation zu entnehmen.

HDAC 1,2 und 3: Expression und prognostische Bedeutung im Prostatakarzinom

Literatur: Weichert W., Röske A., Gekeler V., Beckers T., Stephan C., Jung K., Fritzsche FR., Niesporek S., Denkert C., Dietel M., Kristiansen G.

Histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in prostate cancer and HDAC2 expression is associated with shorter PSA relapse time after radical prostatectomy, British Journal of Cancer, 12, 2008, 604-10.

Studienkollektiv und Methoden

Eingeschlossen in diese Studie wurden Gewebeproben von 192 Patienten im Alter zwischen 46 und 73 Jahren, bei denen zwischen 1991 und 2001 am Institut für Pathologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin ein Prostatakarzinom diagnostiziert worden war. Die Proben, die allesamt Prostatektomiepräparaten entstammten, wurden auf konventionellen Gewebsschnitten immunhistologisch mit Antikörpern gegen die Klasse I HDAC Isoformen HDAC1, 2 und 3 untersucht.

Weitere Patienten-, Tumor- und Methodikcharakteristika sind in anhängender Publikation beschrieben.

Expression von HDAC1, 2 und 3 im Prostatakarzinom und im nicht-neoplastischen Prostatagewebe.

Alle drei Klasse I HDAC Isoformen wurden in geringer bis mäßiger Intensität im periglandulären Stroma und in den luminalen Epithelzellen der peritumoralen nicht-neoplastischen Prostatadrüsen exprimiert. Die Basalzellen waren hingegen negativ. Abweichend davon wurden alle drei Isoformen in den Prostatkarzinomen mit überwiegend starker Intensität exprimiert. HDAC1 und 2 in etwas 70-75% der Fälle und HDAC3 sogar in fast 95%. Ein sehr ähnliches Muster konnte auch für die hochgradige prostatistische intraepitheliale Neoplasie gezeigt werden

Korrelation der HDAC Expression mit klinisch-pathologischen Parametern

Die HDAC Expressionen der verschiedenen Isoformen korrelierten signifikant untereinander und jeweils mit dem Ki-67 Proliferationsindex. Weiterhin waren HDAC1 und 2, nicht jedoch HDAC3, mit einem höheren Gleason Score korreliert.

Bedeutung der HDAC Expression für das Rezidiv-freie Überleben von Prostatakarzinompatienten

In der untersuchten Kohorte erreichten die bekannten klinisch-pathologischen Prognosefaktoren des Prostatakarzinoms das Signifikanzniveau in der univariaten Analyse für ein Rezidiv-freies Überleben. Für alle Klasse I HDAC Isoformen zeigte sich in den Kaplan-Meier Kurven ein Trend für ein früheres Rezidiv bei erhöhter Proteinexpression, wobei das Signifikanzniveau nur für HDAC2 erreicht wurde. Besonders traf diese Prognoseaussage für Karzinome mit einer Gleason-Score-Summe von 7 zu. Auch in der multivariaten Analyse blieb der Aussagewert von HDAC2 signifikant bestehen.

Weitere Details zu dieser Arbeit und eine Diskussion der Ergebnisse sind der anhängenden Publikation zu entnehmen.

GOLPH2 als neuer diagnostischer Biomarker des Prostatakarzinoms

Literatur: Kristiansen G., Fritzsche FR., Wassermann K., Jäger C., Tölle A., Lein M., Stephan C., Jung K., Pilarsky C., Dietel M., Moch H.

GOLPH2 protein expression as a novel tissue biomarker for prostate cancer: implications for tissue-based diagnostics, British Journal of Cancer, 16, 2008, 939-48.

Studienkollektiv und Methoden

Eingeschlossen in diese Studie wurden Gewebeproben von 614 Patienten im Alter zwischen 43 und 74 Jahren, bei denen am Institut für Pathologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin ein Prostatakarzinom diagnostiziert worden war. Nach Konstruktion eines Tissue-Microarrays aus neoplastischem und korrespondierendem nicht-neoplastischem Prostatagewebe, wurden die Proben mit einem GOLPH2 Antikörper untersucht. Das Expressionsmuster wurde mit dem von AMACR und p63 verglichen. Daneben erfolgten Analysen der GOLPH2 Expression an verschiedenen Zelllinien, ausgewählten Prostatastanzbiopsien und mittels Immunfluoreszenz.

Weitere Patienten-, Tumor- und Methodikcharakteristika sind in anhängender Publikation beschrieben.

Expression von GOLPH2 im Prostatakarzinom und im nicht-neoplastischen Prostatagewebe

GOLPH2 wurde sowohl im nicht-neoplastischen als auch im neoplastischen Prostatagewebe exprimiert. Das zelluläre Verteilungsmuster zeigte eine typische perinukleäre Betonung des Signals und ein granulär-punktförmiges Muster. Zwischen Karzinom, prostaticher intraepithelialer Neoplasie und nicht-neoplastischem Prostatagewebe fand sich ein deutlicher und signifikanter Unterschied in der Intensität der GOLPH2 Färbung. In weniger als 9% der Fälle war GOLPH2 im Karzinom gleichermaßen oder sogar weniger stark exprimiert als im nicht-neoplastischen Prostatagewebe. Die GOLPH2 Expression im

Karzinom war signifikant mit der von AMACR korreliert. Interessanterweise exprimierten die meisten der AMACR negativen Fälle GOLPH2 und vice versa, was den additiven Wert dieses Markers in der Prostatakarzinomdiagnostik unterstreicht.

Assoziationen der GOLPH2 Expression mit klinisch-pathologischen Parametern und dem Rezidiv-freiem Überleben von Prostatakarzinompatienten

GOLPH2 war weder mit klinisch-pathologischen Parametern noch mit dem Rezidiv-freiem Überleben (univariate Analyse) assoziiert.

Weitere Details zu dieser Arbeit und eine Diskussion der Ergebnisse sind der anhängenden Publikation zu entnehmen.

4. Diskussion

In den vorgestellten Arbeiten wurde in klinisch und pathologisch charakterisierten Kohorten von Prostata- und Nierenzellkarzinomen die Expression von Proteinen untersucht, die aufgrund von vorherigen Studien an Zelllinien oder auf Transkriptebene in den entsprechenden Tumoren differentiell exprimiert zu sein schienen. Die gefundenen Expressionmuster und Assoziationen mit klinisch-pathologischen Parametern oder follow-up Daten lassen zum Teil interessante prognostische, diagnostische und/oder potentiell therapeutische Anwendungsmöglichkeiten für ADAM8, ADAM9, HDAC1-3 und GOLPH2 antizipieren.

Zu mehreren Proteinen der ADAM Familie existieren mittlerweile zahlreiche Studien, die meist eine Aufregulation des entsprechenden ADAM Proteins im Malignom im Vergleich zum normalen Gewebe zeigen (58-62). Zudem konnte oft auch eine Assoziation der ADAM Expression mit Parametern für eine schlechtere Prognose und/oder einer verkürzten Überlebenszeit der Patienten gezeigt werden. Auch zu ADAM9 existieren entsprechende Arbeiten für maligne Melanome, Magen-, Prostata-, Pankreas- und Lungenkarzinome (59, 62-66). Unsere Ergebnisse zur ADAM9 Expression im Nierenzellkarzinom spiegeln ebenfalls die negative prognostische Bedeutung der ADAM9 Expression im Tumor wider. Ein eindeutiger Nachweis der Aufregulation gelang in dieser Studie zwar nur auf mRNA Ebene, jedoch wurde auch auf Proteinebene eine starke ADAM9 Expression mehr als acht mal so häufig beobachtet wie im normalen Nierengewebe. Eindrücklicher zeigten die Ergebnisse hingegen den signifikanten Überlebensnachteil für Patienten mit einer erhöhten ADAM9 Expression und die Assoziation mit einer schlechteren Tumordifferenzierung und fortgeschrittenem Tumorstadium.

Im Prostatakarzinom wurde ADAM9 bereits 2003 in Zelllinienexperimenten beschrieben, was auch 2005 von unserer Arbeitsgruppe nachvollzogen wurde (24, 53). Zusätzlich zu diesen Ergebnissen auf Transkriptionsebene zeigte die hier besprochene Studie eine zu diesen Vorergebnissen passende Überexpression von ADAM9 auf Proteinebene im Prostatakarzinom. Der Nachweis unterschiedlicher ADAM9 Formen und Vorläuferformen lassen eine

alternative Prozessierung des ADAM9 Proteins in Tumor und Normalgewebe annehmen (60, 67, 68). Die in unserer ADAM9 Prostatastudie durchgeführte Evaluierung von transmembranärem und sekretorischem ADAM9 konnte zeigen, dass beide Formen im Karzinom aufreguliert sind.

Die ADAM9 Protein Expression war ein unabhängiger Marker für ein früheres biochemisches Rezidiv. Interessanterweise war dies gerade auch in der Gruppe der anti-androgen vorbehandelten signifikant. In dem Zusammenhang stehen auch Ergebnisse, die erhöhte ADAM9 Level während des Überganges von Androgen-abhängigen in Androgen-unabhängige Karzinome und eine Induzierbarkeit von ADAM9 durch oxidativen Stress zeigten (69). Diese suggerieren eine ADAM9-vermittelte Resistenz gegen oxidative Einflüsse, die Karzinomen, die auf eine Hormonablation mit ADAM9 Aufregulation reagieren einen Überlebensvorteil geben könnte (69, 70). Daher steht neben der gezeigten prognostischen Aussage von ADAM9 im Prostatakarzinom auch eine mögliche prädiktive Bedeutung bezüglich der Wirksamkeit anti-androgener Therapien für weitere Studien zur Abklärung aus.

Die starke Überexpression von ADAM9 in zahlreichen Karzinomen, erfolgreiche ADAM9 Inhibitionsversuche und Proteincharakteristika sprechen für eine mögliche Nutzung als Ziel einer gerichteten Tumortherapie (71).

Ebenfalls zu dieser Proteinfamilie gehört ADAM8.

Unsere Analyse der ADAM8 Expression im Prostatakarzinom zeigte eine geringe Differentialität diese Markers im Vergleich zum nicht-neoplastischen Prostatagewebe. Eine diagnostische Verwendung ist damit nicht gegeben. Die gefundenen Assoziationen der ADAM8 Expression im Karzinom mit Parametern, die mit einem negativen Prognose assoziiert sind, passen sehr gut zu Ergebnissen publizierter Studien anderen Tumoren und Zelllinien (13-15, 19, 72). Eine eigene prognostische Bedeutung für die ADAM8 Proteinexpression konnte hingegen nicht gezeigt werden. Da der generelle Eindruck einer tumorprogressionsfördernden Wirkung von ADAM8 auch in Hinblick auf die vorhandene und neu hinzugekommene Literatur bestätigt werden konnte, könnte eine therapeutische Blockierung dieses Proteins gerade bei den aufregulierten Fällen eine mögliche zukünftige Therapieoption beim Prostatakarzinom darstellen.

Histondeacetylasen konnten bislang in einer Reihe von Tumoren nachgewiesen werden. Im Vordergrund stehen dabei die Klasse I HDACs. Im Nierenzellkarzinom fand sich eine von anderen Tumorentitäten abweichende niedrige Expression von HDAC3 (73-76). HDAC1 und 2 waren hingegen in mehr als der Hälfte der Tumoren exprimiert, Dies deutet auf alternative Regulationsmechanismen der HDACs im Nierenzellkarzinom hin. Ebenfalls abweichend von den Funden an anderen Tumoren war die fehlende Assoziation der HDAC Expression sowohl mit konventionellen Parametern eines aggressiveren Tumorverlaufes als auch mit einer kürzeren Überlebenszeit. Ein signifikanter Zusammenhang zur Proliferationsfraktion in den Karzinomen liess sich dagegen demonstrieren. Letzteres könnte für die Wirksamkeit der mittlerweile schon mehrfach in der Malignomtherapie erfolgreich getesteten HDAC Inhibitoren sprechen, da diese gerade auch einen Arrest der Tumorpheriferation bewirken (38-40, 77, 78).

Im Prostatakarzinom und ebenfalls in der prostatistischen intraepithelialen Neoplasie waren alle drei Klasse I HDACs stark exprimiert. Dies deutet darauf hin, dass diese Aufregulation ein relativ frühes Ereignis im Rahmen der Kanzerogenese im Prostatakarzinom darstellt. Die HDAC Expression war mit einer Dedifferenzierung der Tumoren und einer erhöhten Proliferationsfraktion (Ki-67) assoziiert. Zudem war HDAC2 ein signifikanter und unabhängiger Prognostikator eines früheren biochemischen Rezidives. Diese Ergebnisse sind sehr gut mit vorausgegangenen Beobachtungen an prostatistischem Gewebe wie auch an anderen Tumorentitäten vereinbar und bestätigen die Einflüsse von HDACs auf Tumorzellen in in vitro Experimenten (73, 77-80). Wie auch beim Nierenzellkarzinom könnten derzeit in Studien befindliche oder die neue Generation von HDAC Inhibitoren mögliche Therapieoptionen für Prostatakarzinompatienten im Rahmen einer gerichteten Tumorthherapie darstellen (81-83). Bisherige Studien an entsprechenden Zelllinien sind diesbezüglich vielversprechend. Inwiefern dann auch der Proteinexpression im Karzinom ein prädiktiver Wert zukommt, muss dann in Therapiestudien neu beurteilt werden.

In der Prostatakarzinomdiagnostik werden neben der H/E Färbung auch routinemässig immunhistologische Färbungen zur Diagnosesicherung

eingesetzt. Üblicherweise gelingt dies durch den Nachweis eines Verlustes der Basalzellschicht, was zum Beispiel mit dem Marker p63 zuverlässig möglich ist. Gerade bei kleinen Tumorherden, wie dies bei Stanzbiopsien häufiger der Fall ist, kann jedoch auch bei fehlender Basalzellschicht das Stellen der Karzinomdiagnose schwierig sein. In solchen Fällen war bislang lediglich AMACR als immunhistologischer Unterstützungsmarker weitgehend akzeptiert. Dieser zeigt in den meisten Fällen ein Färbesignal im Karzinom bei Negativität im nicht-neoplastischen Gewebe. Einschränkend für AMACR ist eine beobachtete Heterogenität der Expression im Karzinom sowie das Vorhandensein AMACR-negativer Karzinome (84-86). Unsere Studie hat zeigen können, dass ein großer Teil dieser AMACR-negativen Karzinome durch sein GOLPH2 Expressionsmuster identifiziert werden kann. Alleine genommen war GOLPH2 - was die Sensitivität betraf - AMACR leicht unterlegen und die Signalauswertung ist durch den erforderlichen Vergleich mit nicht-neoplastischem Prostatagewebe ebenfalls als schwieriger einzuschätzen. Daher erscheint die diagnostische Bedeutung von GOLPH2 vor allem in der Unterstützung und sinnvollen Ergänzung schwierigerer Fälle zusammen mit AMACR zu liegen. Kritisch sei angemerkt, dass eine systematische Auswertung verschiedener Karzinom-Mimicker noch aussteht. Die in der Zwischenzeit durchgeführten Studien weisen weiterhin darauf hin, dass GOLPH2 wohl keine explizite Tumorspezifität aufweist, sondern vielmehr in verschiedenen Neoplasien vermehrt exprimiert wird (55-57). Bei noch ungeklärter Funktion dieses Proteins konnte noch nicht gesichert werden, ob es sich dabei um ein Karzinogenese-relevantes oder sekundäres Phänomen handelt.

5. Zusammenfassung

Karzinome der Prostata und der Niere zählen mit zu den häufigsten malignen Tumoren industrialisierter Nationen. Außerdem stellen die beiden genannten Karzinomtypen zwei der häufigsten Ursachen tumorbedingter Mortalität dar. Die chirurgischen und radiologischen Behandlungsoptionen beim Nierenzell- und Prostatakarzinom sind vor allem in frühen Krankheitsstadien erfolgreich. Bislang verfügbare Chemotherapien weisen in fortgeschritteneren Stadien dagegen noch eine hohe Rate an Therapieresistenz mit daraus resultierendem Krankheitsprogress auf, wodurch die genannte hohe Mortalität dieser Erkrankungen bedingt wird. Daraus folgt der offensichtliche Bedarf an neuen chemotherapeutischen Strategien zur Behandlung dieser Karzinome. Weiterhin werden Biomarker benötigt, die den individuellen Krankheitsverlauf besser vorhersagen können, um den betroffenen Patienten entsprechend individualisiert eine mehr oder weniger aggressive Therapie anbieten zu können. Aus pathologischer Sicht sind zudem Marker hilfreich, die in diagnostisch schwierigen Fällen eine validierte Entscheidungshilfe in der Beurteilung der Dignität einer Läsion liefern. Die vorgestellten Studien zeigen, dass ADAM9 in beiden untersuchten Karzinomentitäten prognostische und im Prostatakarzinom möglicherweise auch prädiktive Aussagen ermöglicht. Als Mitglied der ADAM-Familie kommt dieses von den Karzinomen zum Teil stark überexprimierte Protein daneben auch als zukünftiges Therapieziel in Frage. Eine höhere Expression von ADAM8 wurde ebenfalls mit Tumorprogression assoziiert, jedoch in eingeschränkterem Masse als es bei ADAM9 der Fall war. Die Klasse I Histondeacetylasen 1-3 werden in Prostata- und Nierenzellkarzinomen stark exprimiert, sind mit einer erhöhten Proliferationsrate der Tumoren assoziiert und können zum Teil ebenfalls als Prognostikator eines Karzinomrezidives dienen. Die deutliche Überexpression von GOLPH2 im Prostatakarzinom im Vergleich zum nicht-neoplastischen Prostatadrüsengewebe macht diesen Marker zu einer vielversprechenden Ergänzung von p63 und AMACR in der Prostatakarzinomdiagnostik.

6. Literaturangaben

1. Haberland J, Bertz J, Gorsch B, Dolle R, Kurth BM. [Future cancer incidents in Germany]. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2006 May;49(5):459-67.
2. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. CA Cancer J Clin. 2009 Jul-Aug;59(4):225-49.
3. Schon D, Bertz J, Gorsch B, Haberland J, Kurth BM. [Federal Cancer Reporting Unit. Surveillance program for cancer registration in Germany]. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2004 May;47(5):429-36.
4. Deutsche Gesellschaft für Urologie e.V., e.V. DK. *Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms*. Berlin: Deutsche Gesellschaft für Urologie e.V.; 2009.
5. Fourcade RO, Benedict A, Black LK, Stokes ME, Alcaraz A, Castro R. Treatment costs of prostate cancer in the first year after diagnosis: a short-term cost of illness study for France, Germany, Italy, Spain and the UK. BJU Int. Jan;105(1):49-56.
6. Husmann G, Kaatsch P, Katalinic A, Haberland J, Kraywinkel U, editors. Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeiten und Trends. Berlin: Robert Koch-Institut, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.; 2010.
7. Agrawal S, Patil KP, Dunsmuir WD. Molecular markers in prostate cancer. Part II: potential roles in management. Asian J Androl. 2009 Jan;11(1):22-7.
8. Chi KN, Bjartell A, Dearnaley D, Saad F, Schroder FH, Sternberg C, et al. Castration-resistant prostate cancer: from new pathophysiology to new treatment targets. Eur Urol. 2009 Oct;56(4):594-605.
9. Lattouf JB, Trinh QD, Saad F. The contemporary role of surgery in kidney cancer. Curr Oncol. 2009 May;16 Suppl 1:S8-S15.
10. Samlowski WE, Vogelzang NJ. Emerging drugs for the treatment of metastatic renal cancer. Expert Opin Emerg Drugs. 2007 Nov;12(4):605-18.

11. Nath D, Slocombe PM, Webster A, Stephens PE, Docherty AJ, Murphy G. Meltrin gamma(ADAM-9) mediates cellular adhesion through alpha(6)beta(1) integrin, leading to a marked induction of fibroblast cell motility. *J Cell Sci.* 2000 Jun;113 (Pt 12):2319-28.
12. Yamamoto S, Higuchi Y, Yoshiyama K, Shimizu E, Kataoka M, Hijiya N, et al. ADAM family proteins in the immune system. *Immunol Today.* 1999 Jun;20(6):278-84.
13. Ishikawa N, Daigo Y, Yasui W, Inai K, Nishimura H, Tsuchiya E, et al. ADAM8 as a novel serological and histochemical marker for lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2004 Dec 15;10(24):8363-70.
14. Roemer A, Schwettmann L, Jung M, Stephan C, Roigas J, Kristiansen G, et al. The membrane proteases adams and hepsin are differentially expressed in renal cell carcinoma. Are they potential tumor markers? *J Urol.* 2004 Dec;172(6 Pt 1):2162-6.
15. Wildeboer D, Naus S, Amy Sang QX, Bartsch JW, Pagenstecher A. Metalloproteinase disintegrins ADAM8 and ADAM19 are highly regulated in human primary brain tumors and their expression levels and activities are associated with invasiveness. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2006 May;65(5):516-27.
16. Wolfsberg TG, Primakoff P, Myles DG, White JM. ADAM, a novel family of membrane proteins containing A Disintegrin And Metalloprotease domain: multipotential functions in cell-cell and cell-matrix interactions. *J Cell Biol.* 1995 Oct;131(2):275-8.
17. Fourie AM, Coles F, Moreno V, Karlsson L. Catalytic activity of ADAM8, ADAM15, and MDC-L (ADAM28) on synthetic peptide substrates and in ectodomain cleavage of CD23. *J Biol Chem.* 2003 Aug 15;278(33):30469-77.
18. Schlomann U, Wildeboer D, Webster A, Antropova O, Zeuschner D, Knight CG, et al. The metalloprotease disintegrin ADAM8. Processing by autocatalysis is required for proteolytic activity and cell adhesion. *J Biol Chem.* 2002 Dec 13;277(50):48210-9.
19. Valkovskaya N, Kaye H, Felix K, Hartmann D, Giese NA, Osinsky SP, et al. ADAM8 expression is associated with increased invasiveness and reduced patient survival in pancreatic cancer. *J Cell Mol Med.* 2007 Sep-Oct;11(5):1162-74.

20. Valkovskaya NV. Hypoxia-dependent expression of ADAM8 in human pancreatic cancer cell lines. *Exp Oncol*. 2008 Jun;30(2):129-32.
21. Hall T, Pegg LE, Pauley AM, Fischer HD, Tomasselli AG, Zack MD. ADAM8 substrate specificity: influence of pH on pre-processing and proteoglycan degradation. *Arch Biochem Biophys*. 2009 Nov;491(1-2):106-11.
22. Peduto L. ADAM9 as a potential target molecule in cancer. *Curr Pharm Des*. 2009;15(20):2282-7.
23. Zobel A, Flechtenmacher C, Edler L, Alonso A. Expression of ADAM9 in CIN3 lesions and squamous cell carcinomas of the cervix. *Gynecol Oncol*. 2009 Aug;114(2):332-6.
24. Karan D, Lin FC, Bryan M, Ringel J, Moniaux N, Lin MF, et al. Expression of ADAMs (a disintegrin and metalloproteases) and TIMP-3 (tissue inhibitor of metalloproteinase-3) in human prostatic adenocarcinomas. *Int J Oncol*. 2003 Nov;23(5):1365-71.
25. Izumi Y, Hirata M, Hasuwa H, Iwamoto R, Umata T, Miyado K, et al. A metalloprotease-disintegrin, MDC9/meltrin-gamma/ADAM9 and PKCdelta are involved in TPA-induced ectodomain shedding of membrane-anchored heparin-binding EGF-like growth factor. *EMBO J*. 1998 Dec 15;17(24):7260-72.
26. Hirao T, Nanba D, Tanaka M, Ishiguro H, Kinugasa Y, Doki Y, et al. Overexpression of ADAM9 enhances growth factor-mediated recycling of E-cadherin in human colon cancer cell line HT29 cells. *Exp Cell Res*. 2006 Feb 1;312(3):331-9.
27. Mahimkar RM, Visaya O, Pollock AS, Lovett DH. The disintegrin domain of ADAM9: a ligand for multiple beta1 renal integrins. *Biochem J*. 2005 Jan 15;385(Pt 2):461-8.
28. Kataoka H. EGFR ligands and their signaling scissors, ADAMs, as new molecular targets for anticancer treatments. *J Dermatol Sci*. 2009 Dec;56(3):148-53.
29. Duffy MJ, McKiernan E, O'Donovan N, McGowan PM. Role of ADAMs in cancer formation and progression. *Clin Cancer Res*. 2009 Feb 15;15(4):1140-4.
30. Minucci S, Pelicci PG. Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer. *Nat Rev Cancer*. 2006 Jan;6(1):38-51.

31. Stimson L, Wood V, Khan O, Fotheringham S, La Thangue NB. HDAC inhibitor-based therapies and haematological malignancy. *Ann Oncol.* 2009 Aug;20(8):1293-302.
32. Drummond DC, Noble CO, Kirpotin DB, Guo Z, Scott GK, Benz CC. Clinical development of histone deacetylase inhibitors as anticancer agents. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005;45:495-528.
33. Liu T, Kuljaca S, Tee A, Marshall GM. Histone deacetylase inhibitors: multifunctional anticancer agents. *Cancer Treat Rev.* 2006 May;32(3):157-65.
34. Iglesias-Linares A, Yanez-Vico RM, Gonzalez-Moles MA. Potential role of HDAC inhibitors in cancer therapy: Insights into oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2010 Mar;46:323-9.
35. Marks PA, Breslow R. Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug. *Nat Biotechnol.* 2007 Jan;25(1):84-90.
36. Blaheta RA, Michaelis M, Driever PH, Cinatl J, Jr. Evolving anticancer drug valproic acid: insights into the mechanism and clinical studies. *Med Res Rev.* 2005 Jul;25(4):383-97.
37. Richon VM, Zhou X, Rifkind RA, Marks PA. Histone deacetylase inhibitors: development of suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) for the treatment of cancers. *Blood Cells Mol Dis.* 2001 Jan-Feb;27(1):260-4.
38. Kato Y, Yoshimura K, Shin T, Verheul H, Hammers H, Sanni TB, et al. Synergistic in vivo antitumor effect of the histone deacetylase inhibitor MS-275 in combination with interleukin 2 in a murine model of renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2007 Aug 1;13(15 Pt 1):4538-46.
39. VanOosten RL, Moore JM, Karacay B, Griffith TS. Histone deacetylase inhibitors modulate renal cell carcinoma sensitivity to TRAIL/Apo-2L-induced apoptosis by enhancing TRAIL-R2 expression. *Cancer Biol Ther.* 2005 Oct;4(10):1104-12.
40. VanOosten RL, Earel JK, Jr., Griffith TS. Enhancement of Ad5-TRAIL cytotoxicity against renal cell carcinoma with histone deacetylase inhibitors. *Cancer Gene Ther.* 2006 Jun;13(6):628-32.
41. Ellis L, Hammers H, Pili R. Targeting tumor angiogenesis with histone deacetylase inhibitors. *Cancer Lett.* 2009 Aug 8;280(2):145-53.

42. Welsbie DS, Xu J, Chen Y, Borsu L, Scher HI, Rosen N, et al. Histone deacetylases are required for androgen receptor function in hormone-sensitive and castrate-resistant prostate cancer. *Cancer Res.* 2009 Feb 1;69(3):958-66.
43. Atmaca A, Al-Batran SE, Maurer A, Neumann A, Heinzl T, Hentsch B, et al. Valproic acid (VPA) in patients with refractory advanced cancer: a dose escalating phase I clinical trial. *Br J Cancer.* 2007 Jul 16;97(2):177-82.
44. Munster PN, Marchion D, Thomas S, Egorin M, Minton S, Springett G, et al. Phase I trial of vorinostat and doxorubicin in solid tumours: histone deacetylase 2 expression as a predictive marker. *Br J Cancer.* 2009 Oct 6;101(7):1044-50.
45. Zhou X, Yang XY, Popescu NC. Synergistic antineoplastic effect of DLC1 tumor suppressor protein and histone deacetylase inhibitor, suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA), on prostate and liver cancer cells: perspectives for therapeutics. *Int J Oncol.* Apr;36(4):999-1005.
46. Kwon HK, Ahn SH, Park SH, Park JH, Park JW, Kim HM, et al. A novel gamma-lactam-based histone deacetylase inhibitor potently inhibits the growth of human breast and renal cancer cells. *Biol Pharm Bull.* 2009 Oct;32(10):1723-7.
47. Tavares TS, Nanus D, Yang XJ, Gudas LJ. Gene microarray analysis of human renal cell carcinoma: the effects of HDAC inhibition and retinoid treatment. *Cancer Biol Ther.* 2008 Oct;7(10):1607-18.
48. Mahalingam D, Medina EC, Esquivel JA, 2nd, Espitia CM, Smith S, Oberheu K, et al. Vorinostat enhances the activity of temsirolimus in renal cell carcinoma through suppression of survivin levels. *Clin Cancer Res.* Jan 1;16(1):141-53.
49. Gojo I, Jiemjit A, Trepel JB, Sparreboom A, Figg WD, Rollins S, et al. Phase 1 and pharmacologic study of MS-275, a histone deacetylase inhibitor, in adults with refractory and relapsed acute leukemias. *Blood.* 2007 Apr 1;109(7):2781-90.
50. Ramalingam SS, Maitland ML, Frankel P, Argiris AE, Koczywas M, Gitlitz B, et al. Carboplatin and Paclitaxel in combination with either vorinostat or placebo for first-line therapy of advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* Jan 1;28(1):56-62.

51. Luo JH, Yu YP, Cieply K, Lin F, DeFlavia P, Dhir R, et al. Gene expression analysis of prostate cancers. *Mol Carcinog.* 2002 Jan;33(1):25-35.
52. Wei S, Dunn TA, Isaacs WB, De Marzo AM, Luo J. GOLPH2 and MYO6: putative prostate cancer markers localized to the Golgi apparatus. *Prostate.* 2008 Sep 15;68(13):1387-95.
53. Kristiansen G, Pilarsky C, Wissmann C, Kaiser S, Bruemmendorf T, Roepcke S, et al. Expression profiling of microdissected matched prostate cancer samples reveals CD166/MEMD and CD24 as new prognostic markers for patient survival. *J Pathol.* 2005 Feb;205(3):359-76.
54. Laxman B, Morris DS, Yu J, Siddiqui J, Cao J, Mehra R, et al. A first-generation multiplex biomarker analysis of urine for the early detection of prostate cancer. *Cancer Res.* 2008 Feb 1;68(3):645-9.
55. Fritzsche FR, Kristiansen G, Riener MO, Dietel M, Oelrich B. GOLPH2 expression may serve as diagnostic marker in seminomas. *BMC Urol.* Feb 25;10(1):4.
56. Fritzsche FR, Riener MO, Dietel M, Moch H, Jung K, Kristiansen G. GOLPH2 expression in renal cell cancer. *BMC Urol.* 2008;8:15.
57. Riener MO, Stenner F, Liewen H, Soll C, Breitenstein S, Pestalozzi BC, et al. Golgi phosphoprotein 2 (GOLPH2) expression in liver tumors and its value as a serum marker in hepatocellular carcinomas. *Hepatology.* 2009 May;49(5):1602-9.
58. Tannapfel A, Anhalt K, Hausermann P, Sommerer F, Benicke M, Uhlmann D, et al. Identification of novel proteins associated with hepatocellular carcinomas using protein microarrays. *J Pathol.* 2003 Oct;201(2):238-49.
59. Alldinger I, Dittert D, Peiper M, Fusco A, Chiappetta G, Staub E, et al. Gene expression analysis of pancreatic cell lines reveals genes overexpressed in pancreatic cancer. *Pancreatol.* 2005;5(4-5):370-9.
60. O'Shea C, McKie N, Buggy Y, Duggan C, Hill AD, McDermott E, et al. Expression of ADAM-9 mRNA and protein in human breast cancer. *Int J Cancer.* 2003 Jul 20;105(6):754-61.
61. Le Pabic H, Bonnier D, Wewer UM, Coutand A, Musso O, Baffet G, et al. ADAM12 in human liver cancers: TGF-beta-regulated expression in stellate cells is associated with matrix remodeling. *Hepatology.* 2003 May;37(5):1056-66.

62. Zigrino P, Mauch C, Fox JW, Nischt R. Adam-9 expression and regulation in human skin melanoma and melanoma cell lines. *Int J Cancer*. 2005 Oct 10;116(6):853-9.
63. Peduto L, Reuter VE, Shaffer DR, Scher HI, Blobel CP. Critical function for ADAM9 in mouse prostate cancer. *Cancer Res*. 2005 Oct 15;65(20):9312-9.
64. Carl-McGrath S, Lendeckel U, Ebert M, Roessner A, Rocken C. The disintegrin-metalloproteinases ADAM9, ADAM12, and ADAM15 are upregulated in gastric cancer. *Int J Oncol*. 2005 Jan;26(1):17-24.
65. Grutzmann R, Luttgies J, Sipos B, Ammerpohl O, Dobrowolski F, Alldinger I, et al. ADAM9 expression in pancreatic cancer is associated with tumour type and is a prognostic factor in ductal adenocarcinoma. *Br J Cancer*. 2004 Mar 8;90(5):1053-8.
66. Shintani Y, Higashiyama S, Ohta M, Hirabayashi H, Yamamoto S, Yoshimasu T, et al. Overexpression of ADAM9 in non-small cell lung cancer correlates with brain metastasis. *Cancer Res*. 2004 Jun 15;64(12):4190-6.
67. Mazzocca A, Coppari R, De Franco R, Cho JY, Libermann TA, Pinzani M, et al. A secreted form of ADAM9 promotes carcinoma invasion through tumor-stromal interactions. *Cancer Res*. 2005 Jun 1;65(11):4728-38.
68. Hotoda N, Koike H, Sasagawa N, Ishiura S. A secreted form of human ADAM9 has an alpha-secretase activity for APP. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 May 3;293(2):800-5.
69. Sung SY, Kubo H, Shigemura K, Arnold RS, Logani S, Wang R, et al. Oxidative stress induces ADAM9 protein expression in human prostate cancer cells. *Cancer Res*. 2006 Oct 1;66(19):9519-26.
70. Fischer OM, Hart S, Gschwind A, Prenzel N, Ullrich A. Oxidative and osmotic stress signaling in tumor cells is mediated by ADAM proteases and heparin-binding epidermal growth factor. *Mol Cell Biol*. 2004 Jun;24(12):5172-83.
71. Russ AP, Lampel S. The druggable genome: an update. *Drug Discov Today*. 2005 Dec;10(23-24):1607-10.
72. Wu GC, Hu HC, Shi MH. [Expression and clinical significance of a disintegrin and metalloprotease 8 (ADAM8) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in non-small cell lung cancer]. *Ai Zheng*. 2008 Aug;27(8):874-8.

73. Krusche CA, Wulfing P, Kersting C, Vloet A, Bocker W, Kiesel L, et al. Histone deacetylase-1 and -3 protein expression in human breast cancer: a tissue microarray analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2005 Mar;90(1):15-23.
74. Weichert W, Roske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C, Jung K, et al. Histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in prostate cancer and HDAC2 expression is associated with shorter PSA relapse time after radical prostatectomy. *Br J Cancer.* 2008 Feb 12;98(3):604-10.
75. Weichert W, Denkert C, Noske A, Darb-Esfahani S, Dietel M, Kalloger SE, et al. Expression of class I histone deacetylases indicates poor prognosis in endometrioid subtypes of ovarian and endometrial carcinomas. *Neoplasia.* 2008 Sep;10(9):1021-7.
76. Weichert W, Roske A, Niesporek S, Noske A, Buckendahl AC, Dietel M, et al. Class I histone deacetylase expression has independent prognostic impact in human colorectal cancer: specific role of class I histone deacetylases in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res.* 2008 Mar 15;14(6):1669-77.
77. Munster PN, Troso-Sandoval T, Rosen N, Rifkind R, Marks PA, Richon VM. The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid induces differentiation of human breast cancer cells. *Cancer Res.* 2001 Dec 1;61(23):8492-7.
78. Uchida H, Maruyama T, Nagashima T, Asada H, Yoshimura Y. Histone deacetylase inhibitors induce differentiation of human endometrial adenocarcinoma cells through up-regulation of glycodeclin. *Endocrinology.* 2005 Dec;146(12):5365-73.
79. Floryk D, Huberman E. Differentiation of androgen-independent prostate cancer PC-3 cells is associated with increased nuclear factor-kappaB activity. *Cancer Res.* 2005 Dec 15;65(24):11588-96.
80. Halkidou K, Gaughan L, Cook S, Leung HY, Neal DE, Robson CN. Upregulation and nuclear recruitment of HDAC1 in hormone refractory prostate cancer. *Prostate.* 2004 May 1;59(2):177-89.
81. Butler LM, Agus DB, Scher HI, Higgins B, Rose A, Cordon-Cardo C, et al. Suberoylanilide hydroxamic acid, an inhibitor of histone deacetylase, suppresses the growth of prostate cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Res.* 2000 Sep 15;60(18):5165-70.

82. Kuefer R, Hofer MD, Altug V, Zorn C, Genze F, Kunzi-Rapp K, et al. Sodium butyrate and tributyrin induce in vivo growth inhibition and apoptosis in human prostate cancer. *Br J Cancer*. 2004 Jan 26;90(2):535-41.
83. Thelen P, Schweyer S, Hemmerlein B, Wuttke W, Seseke F, Ringert RH. Expressional changes after histone deacetylase inhibition by valproic acid in LNCaP human prostate cancer cells. *Int J Oncol*. 2004 Jan;24(1):25-31.
84. Wang J, Weng J, Cai Y, Penland R, Liu M, Ittmann M. The prostate-specific G-protein coupled receptors PSGR and PSGR2 are prostate cancer biomarkers that are complementary to alpha-methylacyl-CoA racemase. *Prostate*. 2006 Jun 1;66(8):847-57.
85. Murphy AJ, Hughes CA, Lannigan G, Sheils O, O'Leary J, Loftus B. Heterogeneous expression of alpha-methylacyl-CoA racemase in prostatic cancer correlates with Gleason score. *Histopathology*. 2007 Jan;50(2):243-51.
86. Kristiansen G, Fritzsche FR, Wassermann K, Jager C, Tolls A, Lein M, et al. GOLPH2 protein expression as a novel tissue biomarker for prostate cancer: implications for tissue-based diagnostics. *Br J Cancer*. 2008 Sep 16;99(6):939-48.

7. Danksagung

Für ihre kontinuierliche Unterstützung und ihr geduldiges Verständnis in der Begleitung meiner Facharztausbildung und klinisch-pathologischen Forschung gilt mein herzlichster Dank meinen Eltern ...

8. Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde.
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....
Datum

.....
Unterschrift