

5 Diskussion

5.1 ER β Expression in normaler Kolonmukosa und im Kolonkarzinom

Seit einigen Jahren wird die Rolle der Östrogene bei der Genese kolorektaler Karzinome diskutiert und in verschiedenen Studien ist ein protektiver Effekt dieser Hormone gegenüber Kolonkarzinomen beobachtet worden. Die Wirkung der Östrogene wird über Östrogenrezeptoren vermittelt, von denen bisher zwei Subtypen, ER α und ER β , bekannt sind (Green et al. 1986, Kuiper et al. 1996, Mosselman et al. 1996, Tremblay et al. 1997). Dabei scheint ER β eine entscheidende Rolle in der Vermittlung der protektiven Effekte der Östrogene in kolorektalen Geweben zu spielen. Aufgrund dieser entscheidenden Rolle des ER β in Bezug auf das Kolonkarzinomrisiko wurde in der vorliegenden Studie die Expression dieses Rezeptors zunächst in tumorfreiem Kolongewebe von 33 Männern und 31 Frauen mittels RT-PCR und Western Blot Analyse untersucht. Mit beiden Untersuchungsverfahren konnten bei allen Patienten in morphologisch normalem Kolongewebe hohe ER β Expressionsraten nachgewiesen werden, wobei die Streuung der Werte sehr breit war. Auch andere Studie konnten hohe Expressionsraten für ER β in normaler Kolonmukosa nachweisen. In der Arbeit von Enmark et al. (1997) wurden erstmalig verschiedene Gewebe hinsichtlich ihrer ER β Expression untersucht. Mittels in situ Hybridisierung wiesen sie eine hohe Rezeptorexpression in der normalen Mukosa von Kolon und Rektum nach. In einer weiteren Studie wurde mittels Western Blot Analyse die Expression beider ER in normaler Kolonmukosa untersucht (Foley et al. 2000). Die Forscher beobachteten in den Gewebeproben eine vorrangige Expression des ER β , während für ER α nur minimale Expressionsniveaus nachgewiesen werden konnten. Diese Ergebnisse führten die Forschungsgruppe zu der Vermutung, dass ER β entscheidend für die Vermittlung der Östrogenwirkung in Kolongewebe ist. Aber auch Studien, die die ER Expression in Kolonkarzinomzelllinien untersuchten, konnten eine vorrangige Expression von ER β gegenüber ER α nachweisen und kamen so zu dem Schluss, dass ER β eine wichtige Rolle bei der Vermittlung der *in vitro* Effekte von Östrogenen auf kolorektale Karzinomzellen spielt (Fiorelli et al. 1999, Arai et al. 2000).

Es sind zur Zeit verschiedene Mechanismen bekannt, über die Östrogene ihre Wirkung vermitteln. Neben einem „klassischen Weg“, bei dem beide ER nach Bindung von Östrogen die Gentranskription aktivieren (Paech et al. 1997), gibt es noch einen „nicht-klassischen Weg“, über den ER die Gentranskription unterschiedlich beeinflussen. So konnte nachgewiesen werden, dass

in Anwesenheit von Östrogen der ER β -AP1 Komplex zu einer Hemmung der Gentranskription führt, während der ER α -AP1 Komplex die Transkription fördert. (Paech et al. 1997). Da ER β in normaler Kolonmukosa exprimiert wird, ist es denkbar, dass Östrogene über diesen Rezeptor via dem „nicht-klassischen Weg“ die Zelle vor unkontrollierter Proliferation und maligner Transformation schützen. Es stellte sich nun in der vorliegenden Studie zunächst die Frage, ob in entartetem Kolongewebe weniger ER β exprimiert wird, als in den gesunden Gewebeproben. Mittels Western Blot und RT-PCR Analyse untersuchten wir die ER β Expression in Gewebeproben aus Kolonkarzinomen und verglichen diese Werte mit den Expressionsraten in den korrespondierenden tumorfreien Gewebearealen. Mit beiden Analyseverfahren ließ sich bei allen Patienten eine statistisch signifikante Reduktion der Expression im Tumorgewebe im Verhältnis zum tumorfreien Gewebe nachweisen.

Andere Forschungsgruppen, die ebenso die ER β Expression in Kolonkarzinomen im Vergleich zu histologisch unauffälligen Kolongewebsproben untersuchten, kamen zu uneinheitlichen Ergebnissen. Foley et al. (2000) untersuchten mittels Western Blot Analyse die Expression des ER β in Gewebeproben aus Kolonkarzinomen von fünf Männern und sechs Frauen und verglichen diese mit den Expressionswerten in den korrespondierenden tumorfreien Gewebeproben. Es konnte bei beiden Geschlechtern eine starke Reduktion der ER β Proteinexpression im malignen Gewebe gegenüber dem normalen Gewebe nachgewiesen werden. In der nachfolgenden RT-PCR Analyse zeigten sich jedoch für die ER β mRNA Expression keine Unterschiede zwischen tumorfreiem und karzinösem Gewebe. In der Studie von Campbell-Thompson et al. (2001) wurde mittels RT-PCR in Gewebeproben von 15 Frauen und 11 Männern die Expression der ER β mRNA sowohl in normaler Kolonmukosa als auch in Kolonkarzinomen analysiert. Während die Expression bei den weiblichen Patienten im Tumor im Vergleich zum histologisch unauffälligen Gewebe statistisch signifikant reduziert war ($p < 0,02$), zeigten sich bei Männern nur geringfügige, nicht signifikante Expressionsunterschiede zwischen den beiden Gewebetypen. Die Arbeitsgruppe um Xie (2004) untersuchte ebenfalls mittels RT-PCR die ER β mRNA Expression in morphologisch unauffälligem Gewebe im Vergleich zum Karzinomgewebe. Dabei konnten keine Unterschiede zwischen normaler Kolonmukosa und Tumorgewebe beobachtet werden. Konstantinopoulos et al. (2003) verglichen mittels Immunhistochemie bei 40 Frauen und 50 Männern die ER β Expression zwischen normaler Kolonmukosa und Karzinomgewebe. Es zeigte sich für beide Geschlechter eine statistisch signifikant niedrigere Expression im Tumorgewebe im Vergleich zu den tumorfreien Gewebeproben.

Des Weiteren konnten zahlreiche Studien auch in anderen Organen eine verminderte Expression der ER β mRNA bzw. des ER β Proteins (oder eine erhöhte ER α /ER β Ratio) im Tumor gegenüber dem benignen Gewebe nachweisen (Brandenberger et al. 1998, Pujol et al. 1998, Rutherford et al. 2000, Roger et al. 2001) Diese Forschungsgruppen kamen ebenfalls zu der Schlussfolgerung, dass die Östrogenrezeptoren eine entscheidende Rolle in der Tumorgenese spielen. So ist zum Beispiel in verschiedenen Studien die Expression von ER α und β in Brustgewebe untersucht worden. In der Arbeit von Roger et al. (2001) wurde in normalem Brustgewebe ein hoher ER β Anteil nachgewiesen, der über die nicht proliferativen und proliferativen Brustkrankungen ohne Zellatypien bis hin zum Carcinoma in situ stetig abnahm. Im Gegensatz dazu war mit zunehmenden Krankheitsgrad eine vermehrte ER α Expression zu beobachten. Außerdem zeigte sich eine inverse Korrelation des ER β mit Ki67, einem Marker für Zellproliferation. Daher wurde von den Autoren vermutet, dass ER β über die Modulation der proliferativen Effekte des ER α protektiv gegen die mitogene Aktivität der Östrogene wirkt (Roger et al. 2001). Ähnliches zeigte auch die Studie von Shaw et al. (2002), in der in Mammakarzinomen eine überwiegende ER α Expression nachgewiesen werden konnte, während ER β in den Tumoren kaum exprimiert wurde. Ebenso wiesen Iwao et al. (2000) mit ihrer RT-PCR Analyse nach, dass während der Mammakarzinogenese die Expression der ER α mRNA steigt, und die der ER β mRNA sinkt.

Weiterhin scheinen Östrogene und deren Rezeptoren auch in die Entstehung von Prostatakarzinomen involviert zu sein (Jarred et al. 2000). Latil et al. (2001) untersuchten mittels RT-PCR die ER α and ER β mRNA Expression in benignem und malignem Prostatagewebe. In den meisten Tumorproben zeigte sich eine Abnahme der ER β mRNA Expressionsspiegel im Vergleich zum histologisch unauffälligem Gewebe. Auch Horvath et al. (2001) und Leav et al. (2001) konnten einen Verlust der ER β Expression während der Tumorenstehung im Prostatagewebe beobachten. Beide Arbeitsgruppen vermuteten in ER β einen Tumorsuppressor, der durch Hemmung des unkontrollierten Wachstums im Prostatagewebe die Entstehung von Neoplasien verhindert. Diese Hypothese wird durch eine weitere Studie unterstützt, in der mittels eines polygonalen Antikörpers die ER β Expression in morphologisch normalem und karzinösem Prostatagewebe mit Hilfe der Western Blot Analyse untersucht wurde (Pasquali et al. 2001). Hierbei wurde, im Gegensatz zum normalen Gewebe, in keiner der Karzinomproben eine ER β Expression nachgewiesen, womit die Forscher zu dem Entschluss kamen, dass die Entartung des Prostatagewebes mit dem Verschwinden von ER β assoziiert zu sein scheint.

Östrogenrezeptoren scheinen außerdem an der Karzinogenese von Ovarialtumoren beteiligt zu sein. Studien zeigten, dass im Ovar beide ER exprimiert werden, wobei, ähnlich wie im Kolon, in normalem Ovarialgewebe sowohl bei Ratten (Byers et al. 1997) als auch bei Menschen

(Kuiper et al. 1996, Enmark et al. 1997) überwiegend ER β nachgewiesen wurde. Pujol et al. (1998) analysierten die ER α und ER β Expression in humanen Proben aus benignem und malignem Ovarialgewebe. Hierbei konnte eine erhöhte ER α /ER β mRNA Ratio im ovariellen Karzinomgewebe im Vergleich zum nicht entarteten Gewebe nachgewiesen werden, was die Forscher zu der Vermutung führte, dass eine Überexpression der ER α mRNA gegenüber der ER β mRNA ein wichtiger Marker für die Tumorgenese im Ovar sei. Unterstützt wurde diese Schlussfolgerung durch die Arbeiten von Brandenberger et al. (1998) und Rutherford et al. (2000), die zu ähnlichen Ergebnissen kamen.

Zusammenfassend sprechen all diese Studien, inklusive der vorliegenden, dafür, dass ER β ein wichtiger Faktor bei der Verhinderung der Entstehung diverser Karzinome ist. Die Beobachtung, dass eine Minderung oder ein Verlust dieses Rezeptors mit einer zunehmenden Entartung der einzelnen Gewebetypen einhergeht, lässt vermuten, dass es sich bei ER β um einen Tumorsuppressor handelt, der über einen bisher noch unklaren Mechanismus die Zelle vor maligner Transformation und unkontrollierter Proliferation schützt. Während diese protektive Wirkung in Mamma- und Ovarialgewebe scheinbar durch eine Modulation der ER α -vermittelten Effekte erfolgt, ist zu vermuten, dass in der Kolonmukosa, in der bisher nur niedrige ER α Expressionsspiegel nachgewiesen werden konnten, andere Mechanismen eine Rolle spielen.

Warum ist die ER β Expression in kolorektalen Karzinomen gegenüber tumorfreien Geweben reduziert? Aufgrund der vorliegenden Daten bezüglich des Einflusses der Östrogene auf das Kolonkarzinomrisiko wäre eine mögliche Hypothese, dass ein vermindertes Angebot von Östrogenen zu einer „Downregulation“ des ER β führt und somit die Entstehung von Tumoren im Dickdarm begünstigt wird. Dies würde auch die protektive Wirkung einer postmenopausalen HRT erklären, die in diversen Studien nachgewiesen werden konnte (Calle et al. 1995, Newcomb et al. 1995, Kampman et al. 1997, Grodstein et al. 1998, Nanda et al. 1999). Physiologischerweise sinkt bei Frauen nach der Menopause der Östrogenspiegel im Blut. Wird exogen Östrogen zugeführt und somit das Östrogenangebot hochgehalten, könnte dies die „Downregulation“ des Rezeptors verhindern. Somit bestände weiterhin der Schutz vor maligner Transformation über den „nicht klassischen Weg“ via ER β . Weiterhin wäre dies eine Erklärung dafür, dass Männer, die niedrigere Östrogenspiegel haben als Frauen, häufiger kolorektale Karzinome entwickeln (Levi et al. 1991, DeCosse et al. 1993, Ries et al. 1997). Gegen diese Theorie spricht allerdings, dass in der vorliegenden Studie auch bei Männern in normaler Kolonmukosa annähernd gleich hohe ER β Expressionsraten wie bei Frauen nachgewiesen werden konnten. Dabei ist jedoch auch zu beachten, dass die Gewebeprobe aus den tumorfreien

Arealen von Patienten stammen, die bereits ein Kolonkarzinom entwickelt hatten, und dass somit, v.a. bei den weiblichen Patienten, die protektive Wirkung der Östrogene hier nicht gegriffen hat. Es wäre daher interessant, die Expression des ER β in normaler Kolonmukosa von gesunden Patienten zu analysieren und diese Werte mit den Expressionsraten im histologisch unauffälligen Gewebe und im Tumorgewebe erkrankter Patienten zu vergleichen.

Es konnte aber auch bei Männern, deren Östrogenspiegel physiologischerweise nicht so stark schwanken, im Prostatagewebe eine Expressionsminderung des Rezeptors während der Tumorgenese nachgewiesen werden und auch bei prämenopausalen Frauen kam es in Mammakarzinomen zu einer Reduktion des ER β im Vergleich zum morphologisch unauffälligen Gewebe. Deswegen ist zu vermuten, dass andere Faktoren, als die Minderung der Östrogenkonzentration im Blut, an einer „Downregulation“ von ER β beteiligt sind. Möglicherweise führt erst das erste Auftreten entarteter Zellen zu einer Reduktion der ER β Expression und es entsteht daraus ein Circulus vitiosus in dem eine zunehmende Minderung der ER β Expression eine fortschreitende Entartung des Gewebes zur Folge hat.

Auffallend in unserer Studie war, dass die Minderung der ER β Expression im Tumor auf der Proteinebene sehr viel stärker ausgeprägt war, als auf der Ebene der mRNA. Shaw et al. (2002), die in ihrer Studie die Expression von ER α und β in humanen Mammagewebeproben untersuchten, konnten ebenso eine geringere Expression des ER β Proteins im Vergleich zur ER β mRNA Expression im Tumorgewebe nachweisen (RT-PCR: ER β 85%, Western Blot: 32%). Weiterhin konnte in unserer Studie in drei zusätzlich untersuchten Gewebeproben aus tubulovillösen bzw. villösen Adenomen eine deutliche Expressionsminderung für das ER β Protein im Vergleich zur normalen Kolonmukosa nachgewiesen werden, während sich für die ER β mRNA keine Unterschiede in der Höhe der Expression zwischen den Adenomen und den korrespondierenden normalen Kolongeweben nachweisen ließen. Möglicherweise ist der Grund für diese sehr viel stärkere Abnahme der ER β Proteinexpression im entarteten Gewebe in einem posttranskriptionellen Mechanismus der „Downregulation“ des ER β Proteins im Tumorgewebe zu suchen, wie es auch schon von Foley et al. (2000) vermutet wurde. Die posttranskriptionelle Regulation der Nuklear-Hormon-Rezeptoren (zu denen die Östrogenrezeptoren gehören) ist bereits von verschiedenen Forschern beschrieben worden. Yeap et al. (1999) entdeckten, dass die Expression der Androgenrezeptoren über einen posttranskriptionellen Mechanismus reguliert wird. In einer anderen Studie wurde eine Steigerung der endometriellen ER Expression durch Östrogen über einen posttranskriptionellen Weg beschrieben (Ing et al. 1996). Der genaue Mechanismus dieser posttranskriptionellen Modifikationen ist bisher unklar. Ein möglicher

Erklärungsansatz wurde von Alarid et al. (1999) geliefert, die in ihrer Arbeit einen Proteasom-vermittelten Mechanismus für die posttranskriptionelle Regulation von ER in Hypophysenzellen beschrieben. Hierbei kam es jedoch als Antwort auf eine Östrogenzufuhr zu einer „Downregulation“ des ER β Proteins.

Sollte es sich in zukünftigen Studien bestätigen, dass die Abnahme des ER β zu einer Karzinomentstehung im Kolon führt, und dass ein vermindertes Östrogenangebot die Ursache der „Downregulation“ ist, lässt sich eine HRT als eine mögliche Therapievariante diskutieren. Es konnte bereits in verschiedenen Studien nachgewiesen werden, dass eine HRT bei postmenopausalen Frauen das Risiko der Entwicklung eines Kolonkarzinoms mindert (Fernandez et al. 1998, Paganini-Hill 1999, Calle et al. 1995, Newcomb et al. 1995, Kampman et al. 1997, Grodstein et al. 1998). Es ist daher zu überlegen, ob Patienten, die familiär oder genetisch vorbelastet sind, solch eine Therapie in Anspruch nehmen sollten. Hierfür sollte getestet werden, welche Dosen für eine signifikante Risikominderung notwendig sind und ob diese in einem angemessenen Verhältnis zu den möglichen Nebenwirkungen stehen. Dabei sollte nicht außer Acht gelassen werden, dass verschiedene Studien ein erhöhtes Brustkrebsrisiko bei Frauen nachwiesen, die postmenopausal Hormone einnahmen (Nelson et al. 2002, Roussow et al. 2002, Beral et al. 2003). Weiterhin wird ein erhöhtes Risiko für die Entstehung von Ovarialkarzinomen durch eine Langzeit-HRT diskutiert (Rodriguez et al. 2002, Lacey et al. 2002, Anderson et al. 2003, Folsom et al. 2004). Möglicherweise wird auch bei Männern durch eine Hormonbehandlung die Entstehung weiterer Neoplasien begünstigt.

Weiterführend wurde in unserer Studie auch die Expression im Tumorgewebe auf geschlechtsspezifische Unterschiede untersucht. Interessanterweise zeigten sich bei diesem Vergleich Differenzen zwischen den beiden Untersuchungsverfahren. Während bei der RT-PCR Analyse bei Männern und Frauen etwa gleich niedrige Werte im pathologischen Gewebe nachgewiesen wurden, zeigten sich im Western Blot bei Männern statistisch signifikant niedrigere Werte im Karzinomgewebe als bei Frauen. Auch in anderen Arbeiten wurden die ER β Expressionswerte im Tumor auf geschlechtsspezifische Unterschiede untersucht. Dabei konnten Campbell-Thompson et al. (2001) mit ihrer RT-PCR-Analyse ebenso keine geschlechtsspezifischen Unterschiede im Tumorgewebe beobachten. Auch die Arbeitsgruppe um Konstantinopoulos (2003), die ihre Proben mittels Immunhistochemie untersuchten, konnten keine Unterschiede in der ER β Expression im Tumor zwischen Männern und Frauen feststellen. Möglicher Weise sind die Expressionsunterschiede in den Kolonkarzinomen zwischen Männern und Frauen spezifisch für das ER β Protein. In zukünftigen Studien sollte daher eine größere

Anzahl von Kolonkarzinomproben mittels Western Blot auf geschlechtsspezifische Unterschiede untersucht werden. Die Ursache dieser von uns beobachteten Unterschiede in der ER β Proteinexpression ist jedoch unklar.

5.2 Expression innerhalb der einzelnen Tumorstadien

Nachdem in unserer Studie eine signifikante Abnahme der ER β Expression im Tumor im Verhältnis zum korrespondierenden gesunden Gewebe nachgewiesen wurde, stellte sich die Frage, ob Parameter wie eine zunehmende TumorgroÙe, ein vermehrter Lymphknotenbefall oder eine zunehmende Entdifferenzierung des Tumors mit einer verminderten ER β Expression assoziiert sind. Bisher ist nur in einer Studie in Proben aus kolorektalen Karzinomen die Korrelation zwischen der ER β Expression und dem Grading mittels Immunhistochemie untersucht worden (Konstantinopoulos et al. 2003). Interessanterweise waren in der vorliegenden Studie, abhängig vom Untersuchungsverfahren, unterschiedliche Ergebnisse zu beobachten. Auf der Ebene der ER β mRNA war eine eindeutige inverse Korrelation zwischen der Expression und der TumorgroÙe zu beobachten. So waren, sowohl für alle Patienten, als auch für Männer und Frauen getrennt, mit zunehmender TumorgroÙe geringere ER β mRNA Expressionen zu verzeichnen. Es konnte aber lediglich bei der Analyse der Werte aller Patienten eine statistisch signifikante Reduktion der mRNA Expression vom Stadium T2 zum Stadium T4 hin nachgewiesen werden. Bei isolierter Betrachtung der Werte der männlichen und weiblichen Patienten deutete sich jedoch eine tendenziell signifikante Reduktion der ER β mRNA Expression mit zunehmender TumorgroÙe an. Da die Fallzahlen innerhalb der einzelnen Subgruppen in unserer Studie sehr gering waren (Stadium T2: 5 Frauen, 5 Männer) und außerdem über 50% der Patienten einen Tumor im Stadium T3 hatten, sollte in weiterführenden Studien mit größeren Studienpopulationen und einer annähernd gleichen Verteilung innerhalb der einzelnen Stadien überprüft werden, ob sich diese signifikante Reduktion der ER β mRNA Expression mit zunehmender TumorgroÙe bestätigt und ob auch jeweils für Männer und Frauen getrennt signifikante Abnahmen der Expression mit weiterer Ausbreitung des Tumors zu beobachten sind. Eine weitere Studie bestätigt unsere Beobachtungen bezüglich des Einflusses von ER β auf die Invasivität des Tumors (Cheng et al. 2004). Diese Forschungsgruppe stellte in ER-negativen Prostatakarzinomzellen eine ER α und ER β Expression her, indem sie die Zellen mit für ER α und ER β kodierten Adenoviren infizierten. So konnten sie nachweisen, dass das Einbringen von ER β die Invasivität der Tumorzellen senkt. Dabei wurde die Ausbreitung des Tumors am stärksten in

zusätzlicher Anwesenheit von Östradiol inhibiert. Des Weiteren zeigte sich auch ein deutlicher Proliferationsrückgang mit Einbringen des Rezeptors. Die Forscher konnten demonstrieren, dass ER β Apoptose triggern kann und vermutlich über diesen Weg die weitere Tumorausbreitung gehemmt wird. In einer früheren Studie gelang bereits der Nachweis, dass ER β zu einer Steigerung der Apoptose in Kolonkarzinomzellen führt (Qiu et al. 2002). Die Forschungsgruppe sah hier den Grund für die protektive Wirkung der Östrogene bezüglich des Kolonkarzinomrisikos. Sollte in zukünftigen Studien gezeigt werden können, dass auch in ER β negativen Kolonkarzinomzellen das Einbringen des Rezeptors zu einem Rückgang der Tumorproliferation und -invasion führt und dass dieser Effekt durch Zugabe von Östrogenen gesteigert werden kann, könnte man dies in der Tumorthherapie kolorektaler Karzinome nutzen und eine weitere Ausbreitung eines bereits vorhandenen Karzinoms möglicherweise verhindern und damit die Prognose für den Patienten verbessern.

Auf der Proteinebene konnten dahingegen in der vorliegenden Studie keine eindeutige inverse Korrelation zwischen der Tumorgröße und der ER β Proteinexpression beobachtet werden. Die höchsten Expressionsraten fanden sich hier bei allen Patienten im Stadium T3. Im Stadium T4 war zwar eine Abnahme der ER β Expression zu beobachten, wobei diese jedoch statistisch nicht signifikant war. Es ist also zu vermuten, dass auf der Proteinebene die ER β Expression in keinem Zusammenhang mit der lokalen Tumorausbreitung steht. Diese Beobachtung wurde auch bei der getrennten Analyse von Männern und Frauen bestätigt. Es deutete sich zwar für Frauen eine Minderung der Rezeptorexpression mit zunehmender Tumorgröße an, aber letztendlich konnten in beiden Geschlechtern keine Unterschiede zwischen den einzelnen T-Stadien nachgewiesen werden. Jedoch ist aufgrund der ungleichen Gruppengrößen und der geringen Fallzahlen innerhalb der einzelnen Subgruppen in dieser Studie eine statistisch signifikante Aussage nur schwer möglich. Zukünftig sollte demnach die Assoziation zwischen der ER β Proteinexpression und der Invasivität des Tumors mit größeren Populationen untersucht werden.

Ebenso zeigte sich auch bei der Analyse der einzelnen Lymphknotenstadien für das ER β Protein keine Assoziation zwischen der Höhe der Expression und dem Befall der regionären Lymphknoten. Es war hier zwar eine Abnahme vom Stadium N1 zum Stadium N2 zu beobachten, wobei jedoch diese nicht statistisch signifikant war. Bei der geschlechtsspezifischen Betrachtung der Expressionsraten zeigten sich aber wiederum ähnliche Konstellationen, wie bei der Analyse innerhalb der einzelnen T-Stadien. Auf Seiten der Frauen war mit zunehmender Streuung der Tumoren in die regionären Lymphknoten tendenziell eine Minderung der ER β Proteinexpression zu beobachten. Dahingegen scheint auf Seiten der

Männer ein vermehrter Lymphknotenbefall nicht mit einer Änderung der Höhe der Rezeptorexpression zu korrelieren.

Auf der Ebene der ER β mRNA konnten wir aber eine Assoziation zwischen der Expressionshöhe und dem Lymphknotenstadium nachweisen. So korrelierte bei unseren Untersuchungen ein zunehmender Lymphknotenbefall mit einer verminderten ER β Expression. Die Abnahme der mRNA Expression war bei der Analyse aller Patienten im Vergleich des Stadiums N0 mit dem Stadium N2 statistisch signifikant. Bei isolierter Betrachtung beider Geschlechter war für Frauen, trotz der geringen Gruppengrößen (z.B. N0: 10 Patientinnen), eine statistisch signifikante Reduktion der ER β mRNA Expression mit zunehmenden Lymphknotenbefall nachzuweisen. Für Männer deutet sich eine Abnahme der Expression mit zunehmenden Lymphknotenbefall an, es ließen sich hier aber keine statistisch signifikanten Unterschiede nachweisen. Bisher gibt es nur wenige Studien, die die Assoziation der ER β Expression mit dem Lymphknotenstatus bei Tumorerkrankungen untersucht haben. Jarvinen et al. (2000) wiesen in ihrer Arbeit nach, dass ER β positive Brusttumoren statistisch signifikant mit einem negativem axillären Lymphknotenstatus assoziiert sind ($p < 0,0001$), während 73% der ER β negativen Tumoren in die axillären Lymphknoten gestreut hatten. In einer anderen Studie wurde angenommen, dass die Koexpression von ER α und β ein schlechter Prognosefaktor ist, da ER α/β -positive Brusttumoren statistisch signifikant ($p < 0,02$) mit einem positiven Lymphknotenstatus korrelierten (Speirs et al. 1999). Alleinige Expression von ER β in den Karzinomzellen konnte in dieser Studie nicht nachgewiesen werden.

Interessanterweise konnte die Tendenz, dass ein prognostisch ungünstigerer Tumor mit einer verminderten Expression auf der Ebene der mRNA einhergeht, bei der Analyse der Werte für die einzelnen Differenzierungsgrade nicht bestätigt werden. Sowohl für alle Patienten insgesamt, als auch bei getrennter Betrachtung der Werte von Frauen und Männern waren keine verwertbaren Unterschiede in der Höhe der Expression zwischen den mittel und niedrig differenzierten Tumoren zu beobachten. Anders verhielt es sich für die ER β Proteinexpression, wo eine zunehmender Entdifferenzierung der Tumoren mit einer Reduktion der Rezeptorexpression assoziiert war. Diese Reduktion war für Männer sogar statistisch signifikant. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass eine zunehmende Entdifferenzierung der Tumorzellen keinen Einfluss auf die Bildung der mRNA hat, es aber auf posttranskriptioneller Ebene zu einer verminderten Bildung von ER β Protein kommt.

Bisher haben nur Konstantinopolus et al. (2003) die Korrelation zwischen der ER β Expression und dem Differenzierungsgrad von Kolonkarzinomen untersucht. Mittels Immunhistochemie

konnten sie ebenfalls mit zunehmender Entdifferenzierung eine Reduktion der ER β Expression nachweisen, die sowohl im Vergleich zwischen hoch und mittel differenzierten Tumoren, als auch im Vergleich zwischen mittel und niedrig differenzierten Tumoren statistisch signifikant war (hoch vs. mittel: $p < 0,008$; mittel vs. niedrig: $p < 0,007$). Weiterhin konnte in ER β positiven Brusttumoren eine signifikante Abnahme des Rezeptors mit zunehmender Entdifferenzierung beobachtet werden (Jarvinen et al. 2000). Ebenso gelang es einer Forschungsgruppe in Prostatakarzinomen einen stetigen Rückgang der ER β Expression von Grad 3 bis hin zu Grad 4/5 nachzuweisen (Leav et al. 2001). Angesichts dieser Ergebnisse ist zu vermuten, dass ER β eine Rolle als Tumorsuppressor spielt und dass eine Minderung bzw. ein Verlust dieses Rezeptors mit zunehmender Entdifferenzierung des Gewebes einhergeht. Es ist aber unklar, warum sich in der vorliegenden Studie auf der Proteinebene beim Grading eine signifikante Minderung der Expression bei Männern beobachten lässt, die Werte der Frauen dahingegen innerhalb dieser Stadien annähernd gleich hoch sind.

Wir konnten mit verschiedenen Testverfahren nachweisen, dass die Expression von ER β in einem Zusammenhang mit der Tumorausbreitung und –differenzierung steht. Ob aber eine Minderung der ER β Expression mit einem prognostisch ungünstigerem Kolonkarzinom einhergeht, sollte in weiteren Studien untersucht werden.