

## 6. Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom ist der häufigste maligne Tumor des Mannes. Sein Auftreten, vor allem im hohen Alter, rückt ihn bei einer steigenden Lebenserwartung der Bevölkerung weiter in den Mittelpunkt des Interesses.

Zur Analyse dieses Tumors wurde das Expressionsprofil des Tumor- und Normalgewebes von 54 Prostatapatienten durch Affymetrix-Chiphybridisierungen untersucht. Die nach chirurgischem Eingriff entfernte Prostata wurde entsprechend pathologischer Standards untersucht und Tumor- sowie Normalgewebe wurden mikrodisseziert. Nach Präparation der Poly-A<sup>+</sup>-RNA wurde diese in aufeinander folgenden Runden von cDNA-Synthese und *in vitro* Transkription linear amplifiziert und für eine Chiphybridisierung mit Biotin markiert. Die Hybridisierung erfolgte auf einen Oligochip der Firma Affymetrix, der die Sequenzen von knapp 4000 Genen trug. Die Gene wurden zuvor durch bioinformatische Analysen von metaGen Pharmaceuticals GmbH als tumorassoziiert identifiziert (Schmitt et al., 1999).

Die Chipdaten der 108 Patientengewebe und Prostatazelllinien wurden mit einem speziell entwickelten Algorithmus ausgewertet und führte zur Identifikation von 124 in Prostatatumoren herunterregulierten Sequenzen. Zu dieser Liste herunterregulierter Gene wurden 104 weitere Sequenzen mit einer signifikanten Hochregulation in den Tumoren ausgewählt und in einer Gruppenanalyse (Clusteranalyse) untersucht.

Die Clusteranalyse zeigte eine deutliche Trennung der Tumor- von ihren korrespondierenden Normalgeweben mit einer Sensivität von 94% bei einer Spezifität von 72%. Der gewählte Algorithmus erwies sich dem vielfach publizierten Algorithmus nach Eisen et al. (1998) in seiner Trennschärfe deutlich überlegen. Eine Auftrennung der Gewebe entsprechend ihrer histologischen Klassifikationen war nicht in allen Fällen möglich, entspricht aber durchaus den von anderen Gruppen gemachten Erfahrungen mit verschiedenen Geweben (persönliche Kommunikation J. Staunton, Whitehead Institute, Cambridge USA). Auch war eine Gruppierung der Tumorproben entsprechend ihres Grades und Stadiums nicht möglich, da die histologischen Merkmalen nicht eindeutig mit den molekularen Profilen übereinstimmten.

Diese Tatsache könnte zu der Suche nach Tumorgruppen mit gleichem molekularem Profil und ähnlichen klinischen Verläufen führen, um aus dem Expressionsprofil eines unbekanntem Prostatatumors den möglichen Verlauf zu diagnostizieren und die besten Therapieformen ableiten zu können. Für eine solch umfassende Analyse wäre neben einer größeren Basis von Experimenten zusätzlich eine lückenlose Patientengeschichte mit Folgedaten nötig, die zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht verfügbar ist.

Für eine nähere Untersuchung wurden aus der Liste der in den Prostatatumoren herunterregulierten Gene drei ausgesucht und ein viertes auf Grund einer ähnlichen Funktion ausgewählt.

Die Herunterregulation des **WIF-1** in den Prostatatumoren war sehr deutlich und konnte auch in Brust- und Lungentumoren gezeigt werden. Die Ursache der Herunterregulation ist unbekannt, da WIF-1 in der Region 12q14.3 lokalisiert ist, für die in Prostatatumoren bisher noch keine chromosomalen Aberrationen identifiziert wurden. Immunhistochemische Färbungen von Prostata- und Harnblasentumoren konnten den Verlust der Expression in einem Teil der Tumoren bestätigen. In der Prostata zeigte sich der Verlust der Proteinexpression in niedriggradigen bei gleichzeitiger Expression in hochgradigen Tumoren. Weitere funktionelle Untersuchungen müssen nun noch zeigen, inwieweit die beobachtete differentielle Expression des WIF-1 eine supprimierende Rolle in einzelnen Phasen der Tumorentstehung spielt.

Aus dem Signalweg der Wnt-Proteine konnte das **sFRP1** als ein weiteres Gen, mit einer ähnlichen Funktion wie WIF-1, auf dem Chip identifiziert werden. sFRP1 zeigte keine Regulation in Prostatatumoren, ist jedoch in der häufig in Harnblasentumoren verlorenen Region 8p11.22 lokalisiert. Die reduzierte Genexpression in Blumentumoren konnte in Northern-Hybridierungen gezeigt werden und LOH-Untersuchungen bestätigten den häufigen Verlust der Region. Immunhistochemische Untersuchungen mit einem sFRP1-Antikörper zeigten den Verlust der Expression in 26% der untersuchten Harnblasentumore. Die Funktion von sFRP1 lässt eine Rolle in der Tumorentstehung als möglich erscheinen, jedoch müssen konkrete Überexpressions- und „Knock-out“-Studien diese Vermutungen belegen.

Als drittes Gen mit einer Herunterregulation in Prostatatumoren wurde das **Chimerin-1** ausgewählt, das eine hemmende Wirkung auf die Signalweiterleitung Ras-ähnlicher Rho-Proteine hat. Auch für dieses Gen konnte die differentielle RNA-Expression bestätigt werden.

Für das Adaptorprotein **Ponsin** konnte die differentielle Expression in RNA-Studien bestätigt werden, die Proteinexpression zeigte sich jedoch nicht als differentiell zwischen Normal- und Tumorepithelien, sondern wies auf ein methodisches Problem der manuellen Mikrodissektion hin. Auch konnte in einer LOH-Untersuchung kein signifikanter Hinweis auf einen Verlust des Gens gefunden werden, während für den weiter telomerwärts gelegenen Marker D10S1223 ein deutlicher Verlust identifiziert wurde.

Die Analyse von Expressionsprofilen von Tumorgewebe zeigt ihre Möglichkeiten in der Identifikation tumorassoziierter Gene, die auf Grund ihrer Funktion auch potentielle Tumorsuppressorgene darstellen können. Die Untersuchung der Proteinexpression des Ponsins verdeutlicht jedoch die Wichtigkeit einer Mikrodissektion, die in der Lage ist einzelne Zellen zu isolieren.