

## F Zusammenfassung

Das Endometriumkarzinom ist die häufigste, maligne Erkrankung des Genitaltraktes der Frau. In den meisten Stadien wird das Endometriumkarzinom operativ durch Hysterektomie entfernt. Eine adjuvante oder auch palliative Endokrintherapie mit Antiestrogenen (AE), wie sie beim hormonsensitiven Mammakarzinom routinemäßig angewendet wird, ist beim Endometriumkarzinom nicht etabliert. Zur Behandlung inoperabler Endometriumkarzinome und alternativ zur Operation sollte mit den Untersuchungen zu der vorliegenden Arbeit der Erfolg einer AE-Therapie am Endometriumkarzinom evaluiert werden.

Die Untersuchungen erfolgten an sechs humanen, endometrialen Adenokarzinomzelllinien, die aufgrund proteinbiochemischer Bestimmung (Enzymimmunoassay) der Estrogenrezeptor (ER)-Expression in ER-negative und ER-positive Zelllinien eingeteilt wurden. Von den ER-positiven Zelllinien exprimierte ECC-1 187 fmol ER/mg Protein und Ishikawa 24 fmol ER/mg Protein. Bei den ER-negativen Zelllinien handelte es sich um die Zelllinien MFE-296, MFE-280, MFE-319 und KLE. Die Untersuchungen erfolgten vergleichend mit den nichtsteroidalen, partialagonistischen AE Tamoxifen und Raloxifen sowie mit den steroidalen, reinen AE ZK 191703 und ICI 182,780.

Es wurden *in vitro*-Proliferationsassays mit Kristallviolett-messung und *in vivo*-Untersuchungen in estrogen- oder tamoxifensubstituierten SCID Mäusen bei subkutaner Tumortransplantation durchgeführt. Ausschließlich bei ER-positiven Zelllinien wurde eine Estrogen- oder AE-Sensitivität beobachtet. In ECC-1-Zellen war die Wachstumsstimulierung durch Estradiol und die Wachstumsinhibition durch AE *in vitro* und *in vivo* stärker als in Ishikawazellen. Diese Beobachtungen zeigen eine Korrelation zwischen ER-Menge und Estrogen- bzw. Antiestrogenwirkung. Das reine AE ZK 191703 war in seiner antiproliferativen Wirkung potenter als die anderen AE. *In vitro* betrug die  $IC_{50}$  von ZK191703 in ECC-1-Zellen  $6,6 \times 10^{-10}$  M verglichen mit  $1,4 \times 10^{-9}$  M, der  $IC_{50}$  von ICI 182,780. *In vivo* bewirkte das oral applizierte ZK 191703 im Vergleich zu den oral applizierten AE Tamoxifen und Raloxifen und im Vergleich zu dem subkutan einmal monatlich applizierten ICI 182,780 in beiden ER-positiven Zelllinien gegenüber den estrogen- und tamoxifenstimulierten Kontrolltumoren eine signifikante Tumorstillstandshemmung. Das partialagonistische AE Tamoxifen stimulierte in Ishikawatumoren das Wachstum und inhibierte es in ECC-1-Tumoren, so daß auf eine tumorspezifisch unterschiedliche Wirkung von Tamoxifen in endometrialen Adenokarzinomen geschlossen wurde.

Die Hämatoxylin-Eosin (HE)-gefärbten Schnitte der ER-positiven, estrogenstimulierten Tumore der *in vivo*-Versuche zeigten eine Verschiebung des Tumorgewebe/Stroma-Verhältnisses (TSV) in Richtung Tumorgewebe. Im Gegensatz dazu zeigten die HE-gefärbten Schnitte der ER-negativen endometrialen Tumore eine Verschiebung des TSV in Richtung Stroma, wenn sie mit Estrogenen stimuliert wurden. Diese Beobachtungen in den ER-negativen Tumoren deuten auf eine Estrogensensitivität des murinen Stromas hin bei estrogenunbeeinflusstem Tumorwachstum. In beiden Tumorgeweben zeigte das TSV eine Verschiebung in die jeweils andere Richtung nach Behandlung mit AE, welche die estrogenen Effekte antagonisierten.

Die selektive ER-Destabilisierung in humanen Endometriumkarzinomen durch Behandlung mit den reinen AE ZK 191703 und ICI 182,780 wurde *in vitro* und *in vivo* mit zwei Methoden nachgewiesen: proteinbiochemisch und immunhistochemisch mit dem monoklonalen Antikörper 1D5. Diese ER-Destabilisierung war konzentrationsabhängig, *in vitro* bereits nach 24 Stunden zu beobachten und nach 5-7 Tagen in gleicher Weise nachweisbar. Die hohe ER-Expression nach langer Inkubationszeit mit niedriger ICI 182,780-Dosierung deutet auf ein konzentrationsabhängiges, zeitlich verzögertes *escape*-Phänomen hin.

Die Hemmung ER-induzierter Effekte durch reine AE wurde weiterhin durch eine konzentrationsabhängige Abnahme der Progesteronrezeptor (PgR)-Expression nach Behandlung mit reinen AE *in vitro* und *in vivo* in beiden ER-positiven Zelllinien proteinbiochemisch gezeigt. Eine Korrelation zwischen Expression von ER und epidermalem Wachstumsfaktorrezeptor wurde in den Zelllinien Ishikawa und ECC-1 proteinbiochemisch nicht beobachtet.

Die in Zellzyklusanalysen am Durchflußzytometer beobachtete, auf 85-90% erhöhte ECC-1-Zellfraktion in der G0/G1-Phase nach Inkubation mit reinen AE weist auf eine Arretierung der Zellen in dieser Phase hin.

Diese präklinischen Arbeiten zeigten einen therapeutischen Effekt von reinen AE auf estrogen- und tamoxifenstimulierte Endometriumkarzinome. Aufgrund der Ergebnisse könnte ZK 191703 in der adjuvanten, aber auch palliativen Endokrintherapie gegenüber ICI 182,780 erfolgsversprechender sein. Patientinnen mit präexistentem Endometriumkarzinom nach Tamoxifen-Langzeittherapie, vor der Menopause mit endogener Estrogenaktivität und nach der Menopause unter Estrogen-Ersatztherapie sind Zielgruppe dieser AE-Therapie. Voraussetzung für eine AE-Therapie ist jedoch die Estrogensensitivität des Endometriumkarzinoms. Die Bestimmung des ER-Status vor Therapiebeginn ermöglicht eine Aussage über die Ansprechrate des Tumors auf das AE und eine prognostische Bewertung der Therapie hinsicht-

lich der zu erwartenden Tumorregression. Das reine, steroidale AE ZK 191703 sollte in klinischen Studien auf seine Wirksamkeit gegenüber endometrialen Adenokarzinomen hin geprüft werden.