

5. Zusammenfassung

5.1 Hintergrund

Der quantitative Nachweis von zirkulierenden Tumorzellen durch die RT-PCR ist immer noch mühselig, und die meisten Marker, die als Objekte der RT-PCR benutzt werden, sind entweder nicht tumorspezifisch oder nicht sensitiv genug oder beides. Wir untersuchten anhand eines Real-time RT-PCR Ansatzes zwei neue Marker und CEA.

5.2 Ziele

Wir wollten einen quantifizierbaren Real-time Reversen Transkriptions (RT) Polymerasekettenreaktions (PCR) Ansatz zum Nachweis zirkulierender kolorektaler Tumorzellen etablieren und herausfinden, ob Protease M oder Colon carcinoma specific gene 1 (Ccsg1) dem Carcinoembryonalen Antigen (CEA) hierbei als Tumormarker überlegen sind.

5.3 Untersuchungsgut und Methodik

Wir haben einen für Protease M und CEA spezifischen Real-time RT-PCR Ansatz entwickelt und diesen durch die in Titrationsexperimenten mit Protease M und CEA positiven Zellen in Gesundblut gewonnenen Ergebnisse verbessert. Mithilfe des gewonnenen Protokolls untersuchten wir Blut (n=24) und Tumorgewebe (n=9) von Patienten mit kolorektalem Karzinom. Die Spezifität wurde anhand der Untersuchung von gesundem Blut (n=7) und gesundem Kolongewebe (n=6) bestimmt.

5.4 Ergebnisse

In unseren Titrationsexperimenten konnten wir Protease M im Vergleich zu CEA drei Zehnerpotenzen an Tumorzellen früher detektieren. Von den sieben Gesundblutproben war eine (14%) CEA mRNA-positiv und keine Protease M (0%) oder Ccsg1 (0%) positiv. Die Expression von Protease M und CEA variierte in gesundem - und neoplastischem Gewebe stark. Protease M wurde im Gegensatz zu CEA in Tumorgewebe höher exprimiert als in gesundem Gewebe. In

Patientenblutproben korrelierte die Expression von Protease M-mRNA nicht mit der von CEA-mRNA ($p=0,88$). Unser interner Standard war dem Vergleich mit PBG-D nicht überlegen.

5.5 Auswertung

Mit Protease M-mRNA lassen sich zirkulierende kolorektale Tumorzellen in einem Real-time RT-PCR Ansatz nachweisen und quantifizieren. Ob Protease M hierbei sensitiver oder spezifischer als CEA ist, müssen nachfolgende Arbeiten untersuchen.