

Zusammenfassung der eingereichten Dissertation von Dipl.-Biochem. Albrecht Röpke

Thema: Molekulargenetische Analyse des Androgenrezeptor- und DICE1-Gens beim Prostatakarzinom

Das Prostatakarzinom ist in Deutschland derzeit das häufigste Krebsleiden beim Mann. Der klinische Verlauf des Prostatakarzinoms ist vor allem von zwei kritischen Progressionsstufen abhängig: einerseits von der Entstehung von Metastasen und andererseits von einer möglichen Resistenz gegenüber einer Hormontherapie. Da primäre Prostatakarzinome in ihrem Wachstum meist androgenabhängig sind, ist die Ansprechrate auf eine Antiandrogentherapie entsprechend hoch und liegt bei ca. 75 %. Bei ca. 25 % der Patienten wird bereits primär eine Resistenz gegenüber der Antiandrogentherapie beobachtet. Für das Versagen der Antiandrogentherapie werden unter anderem genetische Veränderungen des Androgenrezeptors (AR) im Tumor verantwortlich gemacht.

Im Mittelpunkt des ersten Teils dieser Arbeit standen Untersuchungen zur Bedeutung des AR-Gens bei einer möglichen Antiandrogenresistenz bei der Behandlung primärer Prostatakarzinome. Hierfür wurde die Anzahl von Kopien des Androgenrezeptor-Gens und des X-Chromosoms bei 80 primären Prostatakarzinomen mittels FISH-Analyse ermittelt und die Ergebnisse mit den klinischen Daten der Patienten in Korrelation gebracht. Durch die hier vorgelegten Ergebnisse konnte das Auftreten zusätzlicher X-Chromosomen, einschließlich des AR-Gens, bei insgesamt 8 der untersuchten Prostatakarzinome vor einer Antiandrogentherapie festgestellt werden. Es ist zu vermuten, dass die zusätzlichen Kopien des AR-Gens zu einem schlechteren Ansprechen der Antiandrogentherapie führen können. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Prostatakarzinome in einem fortgeschrittenen pathologischen Stadium häufiger eine Aneuploidie des X-Chromosoms zeigen. Durch weitere FISH-Analysen mit einem Sondenmix für die Zentromere der Chromosomen X, Y und 18 konnte nachgewiesen werden, dass die Aneuploidie des X-Chromosoms nicht allein auf eine Tetraploidie des gesamten Chromosomensatzes zurückzuführen ist. Ein tetraploides Signalmuster der drei eingesetzten Sonden wurde bei 5 der 8 Prostatakarzinome mit zusätzlichen X-Chromosomen gefunden. Bei diesen 5 Karzinomen waren jedoch maximal 19 % der analysierten Zellkerne tetraploide.

Wie bei anderen soliden Tumoren geht auch die Tumorgenese des Prostatakarzinoms insbesondere mit dem Verlust genetischen Materials einher, der als Hinweis auf den Verlust von Tumorsuppressorgenen gewertet wird. Eine kritische chromosomale Region mit häufigen Verlusten ist das Chromosom 13q14. In dieser Region konnte das Tumorsuppressorgen DICE1 isoliert werden.

Im zweiten Teil der Arbeit sollte die molekulare Rolle des DICE1-Gens als Tumorsuppressorgen bei Prostatakarzinomen spezifiziert werden. Für diese Fragestellung wurde zunächst der Promotor des DICE1-Gens identifiziert und funktionell untersucht. Die funktionelle Analyse der DNA-Sequenz vor dem Transkriptionsstartpunkt des DICE1-Gens ergab eine Sequenz von 800 bp, die eine Promotoraktivität in COS-7-Zellen zeigte. In Zelllinien nichtkleinzelliger Lungenkarzinome konnte in der unmittelbaren Region vor dem DICE1-Gen eine unterschiedliche Methylierung von CpG-Dinukleotiden festgestellt werden, wobei die Stärke der Methylierungen mit der DICE1-Expression korrelierte. In den Prostatakarzinom-Zelllinien LNCaP und DU-145, die eine verminderte DICE1-Expression zeigten, konnte ebenfalls eine Methylierung von CpG-Dinukleotiden im DICE1-Promotor gefunden werden. Nach Behandlung dieser Zelllinien mit 5-Azacytidin, einem Inhibitor der DNA-Methyltransferase 1, konnte eine Re-Expression des DICE1-Gens in diesen Zelllinien nachgewiesen werden. Bei der Untersuchung primärer Prostatakarzinome konnte in 5 von 10 informativen Fällen (50%) eine LOH am Mikrosatellitenmarker D13S284, der mit dem DICE1-Gen kolokalisiert, identifiziert werden. Bei 8 Prostatakarzinomen wurde die DNA mittels der Bisulfidmethode untersucht. In 4 der 8 untersuchten Fälle konnten methylierte Cytosine bei 8 der 16 analysierten CpG-Dinukleotide festgestellt werden. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass das DICE1-Gen in Prostatakarzinom-Zellen als ein Tumorsuppressorgen fungiert und die Knudsonsche „two hit“-Theorie erfüllt. Als erstes Ereignis kann eine Deletion in der chromosomalen Region 13q14 angesehen werden. Die Promotormethylierung stellt möglicherweise das zweite Ereignis dar und führt zur Inaktivierung der zweiten Genkopie.