

Zusammenfassung

Das Mammakarzinom ist die häufigste Krebserkrankung in der weiblichen Bevölkerung. Trotz operativer Entfernung des Primärtumors kommt es bei vielen Mammakarzinompatientinnen im weiteren Krankheitsverlauf zu einem Tumorrezidiv, das wahrscheinlich auf eine frühzeitige Tumorzell dissemination zurückzuführen ist. Mit klinisch-radiologischen Untersuchungen können einzelne disseminierte Tumorzellen nicht detektiert werden. Allerdings kann diese klinisch okkulte Disseminierung mit sensitiven immunzytochemischen und molekularen Methoden erfasst werden. Dabei zeigte sich, dass das Knochenmark (KM) ein Organ darstellt, das bevorzugt von disseminierten Tumorzellen besiedelt wird. Das Vorhandensein dieser Zellen im KM ist darüberhinaus mit einer schlechteren Prognose der Patientinnen korreliert (Braun et al., 2000). Neben dieser direkten hämatogenen Tumorzellaussaat können Tumorzellen auch lymphogen in die regionalen Lymphknoten (LK) streuen und von dort über die Blutbahn in Sekundärorgane gelangen.

Das Ziel dieser Arbeit war die Identifizierung von Genexpressionsmustern des primären Mammakarzinoms, die entweder für die hämatogene Disseminierung ins KM oder die lymphogene Metastasierung in die regionalen LK verantwortlich sind. Mit cDNA-Arrays wurde daher in dieser Arbeit das Transkriptom von primären Mammakarzinomen in Korrelation zum KM- und zum LK-Status vergleichend analysiert. Die für diese Analyse ausgewählten Patientinnen zeichneten sich durch kleine Tumoren ohne solide Metastasen aus (pT₁₋₂pN0M0), d.h. es wurde der Beginn der hämatogenen bzw. lymphogenen Disseminierung untersucht. Das Genexpressionsmuster von Primärtumoren, das mit der hämatogenen Disseminierung von Tumorzellen assoziiert war, unterschied sich dabei beträchtlich von demjenigen Muster, das mit der lymphogenen Tumormetastasierung korrelierte. Die hämatogene Streuung von Tumorzellen scheint daher einen anderen Adaptationsprozess zu erfordern als die Metastasierung über das Lymphsystem. Dieser Adaptationsprozess schien bei der lymphogenen Metastasierung im Vergleich zu der hämatogenen Disseminierung allerdings weniger stark ausgeprägt zu sein. Bei der lymphogenen Disseminierung wurden nur etwa halb so viele differenziell exprimierte Gene identifiziert und diese Gene konnten nicht eindeutig einem Reaktionsweg oder einer größeren funktionellen Gruppe zugeordnet werden. Deshalb wurde im weiteren Verlauf der Arbeit nur die hämatogene Disseminierung weiter analysiert.

Allgemein zeigte sich, dass die hämatogene Disseminierung ein selektiver, kontrollierter Prozess ist, der hauptsächlich durch eine verminderte Genexpression determiniert wird. Dieses Ergebnis korreliert mit dem kürzlich veröffentlichten Konzept, wonach das Ausschalten mehrerer Gene (z.B. durch transkriptionelle Repressoren) die Metastasierung deutlich fördert (S. Varambally et al., 2002).

Die KM-positive im Vergleich zur KM-negative Gruppe wies eine differenzielle Expression mehrerer Gene auf, die in den Auf- und Abbau der extrazellulären Matrix (n= 9), in die Zytoskelettplastizität (n=10) und in Signaltransduktionswege (n= 34) involviert sind.

Einige bedeutende Ergebnisse der Genexpressionsanalyse wurden mit einem Mikrometastasenarray bestehend aus 83 auswertbaren Primärtumoren von Patientinnen mit bekanntem KM-Status auf Proteinebene validiert. Dabei bestätigte sich, dass z.B. die herunterregulierte Genexpression der luminalen Zytokeratine (CK-8,-18 und-19) mögliche Indikatoren einer frühzeitigen hämatogenen Streuung ins KM sind. Zytokeratine stellen die strukturellen Bausteine des Zytoskelettes normaler und maligner Epithelzellen dar. Eine verminderte Zytokeratinexpression in Tumorzellen könnte den relativ starren epithelialen Zellen mehr Beweglichkeit verleihen, so dass ihre Wanderung im Blutstrom bzw. ihr Eindringen in ein Organparenchym erleichtert wird. Eine reduzierte Proteinexpression von CK-18 aber nicht von CK-8 oder -19 war auch signifikant mit der Entwicklung distanter Metastasen und dem tumorassoziierten Tod der Brustkrebspatientinnen korreliert. Dieses Ergebnis ergab sich aus den immunhistochemischen Färbungen eines umfangreichen Gewebearrays mit 650 Brusttumorproben und einer klinischen Nachbeobachtung der operierten Patientinnen von 160 Monaten. Die vorliegende Arbeit zeigt somit erstmals, dass humane Tumorzellen die für die Metastasierung relevanten genetischen Veränderungen frühzeitig in der Tumorentwicklung erwerben und dass Zytokeratine eine kritische Rolle als Metastasierungssuppressoren bei Brustkrebs zu spielen scheinen. Während CK-19 und -8 überwiegend in die Disseminierung von Tumorzellen zu Sekundärorganen involviert sind, hemmt CK-18 sowohl die Disseminierung als auch das Auswachsen der disseminierten Zellen zu manifesten Metastasen.

Darüberhinaus konnte durch komplexe molekarzytogenetische Untersuchungen mittels der sogenannten Array-CGH-Technik gezeigt werden, dass der mit der hämatogenen Disseminierung assoziierte Phänotyp primärer Mammakarzinome nicht vornehmlich genomisch prädisponiert ist, sondern überwiegend transkriptionell reguliert wird. Neben der Identifizierung möglicher Markerproteine (CK-8, 18 und 19 sowie HIF-1 α) für die hämatogene Disseminierung beim primären Mammakarzinom wurde in dieser Arbeit insbesondere auch die Biologie des Disseminierungsprozesses untersucht. Hierbei scheint für die hämatogene Disseminierung der RAS- und HIF-1 α -Reaktionsweg bedeutsam zu sein. Durch die Identifikation solcher Signalwege, die möglicherweise in die Tumorzelldisseminierung involviert sind, könnte die Entwicklung effizienterer anti-metastatischer Behandlungsmethoden (z.B. Antikörpertherapien und Therapien mit Tyrosinkinaseinhibitoren) ermöglicht werden.