

Nicolas Kahn  
Dr. med.

## **Gen-Expressions-Analysen aus endobronchialer epithelialer Flüssigkeit zur Abklärung pulmonaler Rundherde**

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Felix Herth

Das Lungenkarzinom ist mit jährlich über 40.000 Sterbefällen in der Bundesrepublik Deutschland die vierthäufigste Todesursache und die häufigste Krebstodesursache. Die nicht befriedigende relativ geringe mittlere Überlebenszeit der Patienten hängt besonders damit zusammen, dass keine effektiven Früherkennungsmaßnahmen zur Verfügung stehen. Eine besondere Situation ergibt sich durch die immer häufigere Entdeckung von Lungenrundherden durch bildgebende Verfahren: Lungenrundherde stellen eine mögliche Frühmanifestation von Lungenkrebs dar. Die frühzeitige Identifizierung von malignen Lungenrundherden ist besonders wichtig, da es sich hierbei um eine potentiell heilbare Form des Lungenkrebses handelt. Eine definitive präoperative Diagnose bei Patienten mit isolierten Lungenrundherden zu erzielen, stellt jedoch immer noch eine Herausforderung im klinischen Alltag dar, da bislang angewendete Methoden verschiedene Schwächen aufweisen. Allerdings sollte eine chirurgische Resektion bei Patienten mit benignen Lungenrundherden vermieden werden. In der vorliegenden Arbeit wurde zwecks Abklärung der Rundherd - Malignität der Einsatz von Bronchoscopic Microsampling zur Erstellung eines molekulardiagnostischen Genexpressionsprofils aus der aus endobronchialen linig fluid gewonnenen RNA untersucht.

Bei 15 Patienten wurden jeweils drei ELF – Proben sowohl in Rundherdnähe wie auch von der kontralateralen Lunge mittels Bronchoscopic Microsampling entnommen. Die Diagnose wurde mittels transbronchialer Biopsie oder Operation bestätigt (NSCLC n=11, nicht-maligne Läsionen n=4). Gesamt – RNA wurde aus den Proben extrahiert und hinsichtlich Qualität und Quantität charakterisiert. Aus der RNA wurde cDNA synthetisiert, die mittels real-time PCR auf die Expression einer vordefinierten Liste von Genen mit für die Fragestellung diagnostischem Potential analysiert wurde, (MMP9, TWIST 1, CEACAM3, CDH1, EGFR, CEACAM5, KRT19, und MUC1). Zusätzlich zur kontralateralen Kontrolle, wurde bei jeder Probe auch die Expression von zwei sogenannten „housekeeping“ Gene - ESD und B2M - zwecks internem Kontrollabgleich bestimmt.

Gesamt – RNA in ausreichender Menge (> 0,8 µg) und Qualität konnte aus 13 (86%) der 15 Patienten gewonnen werden. In Patienten mit malignen Rundherden konnte eine Überexpression des Gens MMP9 (Matrix – Metalloproteinase 9) bestimmt werden (p = 0,0039). Im Median war MMP9 um das 12 – Fache gegenüber den jeweiligen Kontrollen aus der kontralateralen Seite erhöht. Diese Erhöhung war in Proben aus Plattenepithel – Karzinomen besonders deutlich. Auch die Expression von

TWIST 1 (Transkriptionsfaktor) war erhöht ( $p= 0,05$ ), in diesem Fall entsprach das im Median einem Faktor drei gegenüber der kontralateralen Seite. Darüber hinaus konnte aus entsprechenden Proben mittels Zytospin Makrophagen (50 – 80%), Lymphozyten (10 – 30%) und epitheliale Zellen (5 – 15%) gut dargestellt werden (38).

Es konnte in vorliegender Arbeit bewiesen werden, dass es möglich ist mittels endobronchial microsampling genügend ELF aus der Nähe von pulmonaren Rundherden reproduzierbar zu gewinnen, um Genexpressionsanalysen durchführen zu können. Dank der im Verhältnis geringen Invasivität der Methode, war es auch möglich ohne die Komplikationsrate zu erhöhen, Kontrollproben aus der kontralateralen Seite zu entnehmen. Diese Kombination an Möglichkeiten bietet eine solide Grundlage um einen Verbesserung der Rundherddiagnose zu erarbeiten. Es konnten zwei Gene bestimmt werden, die im ELF in Rundherdnähe überexprimiert sind. Es wäre in anbetracht der geringen Fallzahl verfrüht die diagnostische Dignität dieser Gene abschließend zu bewerten. Da man aber jetzt in die Lage versetzt wurde, eine Genexpressionsanalyse des ELF in einer Praxis - konformen Art durchzuführen, eröffnet sich die Möglichkeit über eine Erweiterung der Anzahl untersuchter Gene und bei entsprechend größerer Fallzahl, zu einer molekulardiagnostischen Lösung für die Bestimmung der Malignität der Rundherde zu gelangen. Darüber hinaus könnte die gezeigte Gewinnung von Zellen aus der Rundherdnähe auch einen diagnostischen Zugang auf immunzytologischer Ebene eröffnen.