

Jana Ortmann

Dr. med.

Untersuchung des Androgenstoffwechsels in den Mammakarzinomzelllinien MCF-7, BT-20, MDA-MB435S und T47-D

Geboren am 04. 07. in Erfurt

Reifeprüfung am 28.06.1994

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1994 bis SS 2001

Physikum am 13.09.1996 an der Universität Jena

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Mannheim

Staatsexamen am 23.05.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Frauenheilkunde

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Dr. h.c. T. Rabe

Endokrine Faktoren eine große Rolle in der Inzidenz des Mammakarzinoms und der Regulation seines Wachstums. Außerdem wird ein positiver Östrogen- und Progesteronrezeptorstatus als Prädiktor für das mögliche Ansprechen auf eine endokrine Therapie gesehen und hat damit prognostischen Wert. Die Rolle der Androgene im Stoffwechsel von Mammakarzinomzellen und molekulare Mechanismen sind bisher wenig erforscht.

Die vorliegende Arbeit gibt einen Überblick über den Androgenstoffwechsel in den Mammakarzinomzelllinien MCF-7, MDA-MB 435S, BT-20 und T47-D. Mit Hilfe des Stoffwechselessays, dem Nachweis und der Klonierung der 5α -Reduktase, der Androgen- und Östrogenrezeptorstatusbestimmung und den Proliferationssays konnte ein Einblick in das komplexe Zusammenspiel von Enzymen, Hormonen und Rezeptoren des Androgenstoffwechsels in diesen Mammakarzinomzellen gewonnen werden und einige, für das weitere Verständnis und Management von Mammakarzinomen, wichtige Aussagen gemacht werden.

Mit Hilfe des Stoffwechselessays konnte gezeigt werden, daß im Androgenstoffwechsel die 5α -Reduktase und die 17β -HSDH die quantitativ aktivsten Enzyme sind. Dabei wurde die 5α -Reduktase in absteigender Aktivität in den Zelllinien MCF-7, MDA-MB 435S, BT-20 und T47-D nachgewiesen. Diese Ergebnisse demonstrieren die bedeutende Rolle der 5α -Reduktase in Mammakarzinomzellen.

Es konnte erstmalig bewiesen werden, daß es sich bei diesen Zelllinien um das Isoenzym 1 der 5α -Reduktase handelt, welches für die 5α -Reduktaseaktivität im Androgenstoffwechsel dieser Zelllinien verantwortlich zu machen ist. Die 5α -Reduktase Typ 2 konnte in keiner der Zelllinien mittels PCR nachgewiesen werden. Die Klonierung der 5α -Reduktase in MCF-7-Zellen und die sich anschließenden Studien zur Enzymkinetik dienten zur Identifizierung der Sequenz und zur Charakterisierung der 5α -Reduktase Typ 1. Hiermit wurde ein *in vitro*-Modellsystem und damit eine interessante Möglichkeit für weitere Untersuchungen der 5α -Reduktase in Mammakarzinomzellen geschaffen.

Die Frage einer möglichen Korrelation der 5α -Reduktaseexpression mit dem Steroidrezeptorstatus der Mammakarzinomzelllinien wurde mittels Östrogen- und Androgenrezeptorstatusbestimmung mit Immunfluoreszenz und Western Blots untersucht. In den T47-D- und MCF-7-Zellen konnten Östrogenrezeptoren für den Subtyp α nachgewiesen werden, während der Östrogenrezeptorstatus für den Subtyp α in den BT-20- bzw. MDA-MB 435S-Zellen negativ war. Die Androgenrezeptoren konnten erstmalig in den MCF-7-, T47-D-, MDA-MB 435S- und BT-20-Zellen in absteigenden Konzentrationen nachgewiesen werden. Unsere Ergebnisse lassen vermuten, daß in östrogenrezeptorpositiven Zelllinien immer auch der Androgenrezeptor exprimiert wird, was allerdings für den umgekehrten Fall nicht zutrifft. Eine direkte positive Korrelation zwischen der Androgenrezeptorexpression und der 5α -Reduktaseaktivität wurde nicht nachgewiesen. Die von Perel et al., (1985) postulierte These einer Korrelation zwischen einem positiven Östrogenrezeptorstatus und der erhöhten 5α -Reduktaseaktivität in den vorliegenden Experimenten mit den Mammakarzinomzelllinien MCF-7, T47-D, BT-20, und MDA-MB 435S-Zellen konnte nicht bestätigt werden.

Schließlich wurde mittels Wachstumsessays der Einfluß von Testosteron, Dihydrotestosteron und Östrogen auf das Proliferationsverhalten der Zelllinien MCF-7, T47-D, MDA-MB 435S und BT-20 untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, daß Androgenbehandlung das Wachstum der Tumorzellen signifikant hemmt, wohingegen bei Östrogengabe die rezeptorpositiven Zelllinien MCF-7 und T47-D mit einer Proliferationssteigerung reagierten. Die östrogenrezeptornegativen BT-20- und MDA-MB 435S-Zellen zeigten kein gesteigertes Wachstum. MDA-MB 435S-Zellen reagierten sogar mit einer Proliferationshemmung, was durch eine Umwandlung des Östrogens zu Androgenen oder mit einer Interaktion des Östrogens mit z. B. dem Androgenrezeptor erklärbar wäre. Des weiteren stellte sich heraus, daß die Proliferationshemmung der Mammakarzinomzelllinien durch Androgene mit der Expression von Androgenrezeptoren positiv korreliert. Interessanterweise konnte in den östrogenrezeptorpositiven Zelllinien MCF-7 und T47-D ein stärkerer Einfluß von Dihydrotestosteron und bei den östrogenrezeptornegativen Zellen von Testosteron auf die Wachstumshemmung beobachtet werden, was mehrere Erklärungsmodelle zuläßt. Bei der Frage nach einer Korrelation der 5α -Reduktaseaktivität mit dem Proliferationsverhalten wurde kein direkter Zusammenhang festgestellt, allerdings war bei den auf

Dihydrotestosteron stärker reagierenden MCF-7- Zellen die 5α -Reduktaseaktivität am höchsten. Insgesamt sind die MCF-7-Zellen eine sehr stoffwechselaktive Zelllinie mit einer hohen 5α -Reduktaseaktivität und stellen aus diesem Grund ein sehr gutes Modell für weitere Studien bezüglich dieses Enzyms dar.

Die Ergebnisse dieser Arbeit tragen wesentlich dazu bei, den Androgenstoffwechsel in den Mammakarzinomzelllinien MCF-7, MDA-MB 435S, BT-20 und T47-D zu verstehen und den Mechanismus der Interaktion zwischen der 5α -Reduktase, dem Androgen- bzw. Östrogenrezeptor sowie den Hormonen Testosteron, DHT und Östrogen aufzudecken. Die Invasion von Krebszellen und deren Metastasierung, als auch die Ausbildung von Chemo- und Strahlenresistenz können positiv durch Androgene, unter Berücksichtigung der Bedeutung der 5α -Reduktase und das Zusammenspiel mit dem Androgenrezeptor, beeinflusst werden, was von besonderer Relevanz für den Verlauf des Brustkrebs ist. Mit dem Wissen über den exakten Interaktionsmechanismus und seiner Bedeutung für die pathologische Situation bietet sich die Möglichkeit, mit Hilfe von Hormonagonisten diese Wirkung zu beeinflussen und gezielt in die pathologische Situation therapeutisch einzugreifen. Des Weiteren geben die in vitro Ergebnisse dieser Arbeit Anlaß für in vivo Untersuchungen bezüglich der Aufnahme der Androgenrezeptorstatusbestimmung in die klinische Routinediagnostik bei Mammakarzinompatientinnen. Er soll neben dem Östrogen- und Progesteronrezeptorstatus zu einer genaueren Determination einer geeigneten Therapie und damit als Prognosefaktor, speziell bei fortgeschrittener Erkrankung dienen.