

Frank Diehl
Dr. sc. hum.

Untersuchung der mRNA-Expression in Karzinomen der *Cervix uteri* mit Hilfe der Repräsentativen Differenzanalyse und der Microarray-Technologie

Geboren am 22. August 1973 in Neustadt an der Weinstraße
Reifeprüfung am 22. Juni 1994 in Ludwigshafen am Rhein
Vordiplom 14. Mai 1996 an der Fachhochschule Mannheim für Technik und Gestaltung
Diplom am 14. Oktober 1998 an der Fachhochschule Mannheim für Technik und Gestaltung

Promotionsfach: Onkologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Magnus von Knebel Doeberitz

Gebärmutterhalskrebs ist weltweit die zweithäufigste Krebserkrankung der Frau. Das Ziel der Forschung ist die Entwicklung besserer Diagnose- und Behandlungsmöglichkeiten. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Veränderungen der mRNA Expression während der malignen Progression untersucht, um Gene zu identifizieren, die möglicherweise als Früherkennungsmarker in der Diagnose dienen können. Zu diesem Zweck ist ein krebspezifischer Microarray entwickelt worden, der 5200 IMAGE-Klone enthält, die 3500 verschiedene Gene repräsentieren. Diese Gene sind aufgrund ihrer Gewebespezifität und ihrer Beteiligung an wichtigen zellulären Prozessen aus verschiedenen öffentlich zugänglichen Datenbanken ausgewählt worden. Der krebspezifische Microarray ist zur Erstellung von Genexpressionsprofilen aus Zervixbiopsien unterschiedlicher Progressionsstufen verwendet worden. Ein grundsätzliches Problem bei der Erstellung von mRNA-Expressionsprofilen aus Tumorbiopsien ist, daß die geringen Probenmengen ohne spezielle Amplifikationsschritte für ein Microarray-Experiment nicht ausreichend sind. Diese Limitierung wurde sowohl durch die Entwicklung von Microarrays mit verbesserten Eigenschaften in Bezug auf die Sensitivität und Quantifizierbarkeit der Ergebnisse, als auch durch den Einsatz eines neuartigen Detektionssystems umgangen. Durch den Einsatz dieses Systems, das auf der hochauflösenden Messung von Radioaktivität beruht, konnten Expressionsprofile aus Mengen von 0,2 bis 2 µg Gesamt-RNA erstellt werden, durch die zuvor nicht mit Zervixkarzinomen in Verbindung gebrachten Gene identifiziert werden konnten.

Das humane Papillomvirus (HPV) ist als Hauptrisikofaktor bei der Entstehung eines Zervixkarzinoms bekannt. Die Expression der viralen Onkoproteine E6 und E7 ist dabei nicht nur für die Initiation und sondern auch für die Aufrechterhaltung des neoplastischen Phänotyps verantwortlich. Durch Microarray-Hybridisierungen und Repräsentative Differenzanalysen konnten Gene identifiziert werden, deren mRNA-Expression sich nach der Reprimierung von E6/E7 in einer HPV-18 Zervixkarzinomzelllinie verändert.

Außer zur Identifizierung neuer Markergene wurden Microarray-Analysen auch zur Untersuchung des Wirkmechanismus von 4,4'-Dithiodimorpholin (C16) verwendet, einer Substanz, die möglicherweise zur Behandlung HPV-assoziiierter Erkrankungen eingesetzt werden kann.