



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**cDNA-Mikroarray Analysen zur molekularen Charakterisierung des
invasiv duktales Mammakarzinoms**

Autor: Jörg Schneider
Institut / Klinik: Frauenklinik
Doktorvater: Prof. Dr. J. Volz

Die biologische Fragestellung dieser Arbeit war darauf ausgerichtet Genexpressionsanalysen des invasiv duktales Mammakarzinoms, das mit 65 bis 80% die größte Gruppe der infiltrierend wachsenden Mammakarzinome darstellt, durchzuführen. Zu diesem Zweck wurde eigens ein brustkrebspezifischer cDNA-Mikroarray mit 8.441 Klonen, die auf Basis genomweiter Analysen selektiert wurden, entwickelt und hergestellt. Um die limitierenden Mengen an Ausgangs-RNA zu vervielfältigen, wurde ein Protokoll zur linearen RNA-Amplifikation etabliert. Die Reproduzierbarkeit des Amplifikationsprotokolls konnte in anschließenden Hybridisierungsexperimenten gezeigt werden. In der experimentellen Studie wurde die RNA von 67 invasiv duktales Mammakarzinomproben isoliert, amplifiziert und auf die brustkrebspezifischen Mikroarrays hybridisiert. Die Analyse der gewonnenen Daten erfolgte bezüglich verschiedener klinischer Parameter. Die Überprüfung einiger der differentiell exprimierten Gene mittels qRT-PCR zeigte, dass für ca. 70% der untersuchten Gene eine Übereinstimmung zwischen Mikroarray- und qRT-PCR-Daten vorlag. Für den ER-Status konnte ein Set von sieben Genen identifiziert und verifiziert werden, mit dessen Hilfe fünf pathologisch ER-negativ klassifizierte Patientenproben aufgrund des Expressionsprofils der Gruppe der ER-positiven Tumore zugeordnet werden konnten. Anhand der identifizierten differentiell exprimierten Gene bezüglich des HER2/neu-Status konnte gezeigt werden, dass es mithilfe der Expressionsanalyse möglich ist, genomische Aberrationen aufgrund der resultierenden Veränderung der Genexpression zu identifizieren. Neben den differentiell exprimierten und verifizierten Genen (*HER2/neu*, *CAB2* und *GRB7*) der chromosomalen Region 17q12-q21 konnte als weiteres differentielles Gen bezüglich des HER2/neu-Status *LOC118430* identifiziert werden. Für den AR-Status konnten *AR*, *FOXA1*, *GATA3* und *AZGP1* als positiv assoziierte Gene identifiziert werden. Für die gefundene Assoziation der Genexpression von *AR* zu *FOXA1*, *GATA3* und *AZGP1*, konnte bisher kein Bezug zu Brustgewebe festgestellt werden. Hingegen wurde in Prostatagewebe die Koexpression dieser Gene bereits nachgewiesen. Aufgrund der Steroidabhängigkeit der beiden Gewebe deuten die gefundenen Ergebnisse darauf hin, dass auch in Brustgewebe ähnliche Abhängigkeiten in der Genexpression dieser Gene vorliegen können. Die differentiell exprimierten Gene bezüglich des PR-Status und des Gradings zeigten eine 74 bzw. 33% Übereinstimmung zu den differentiell exprimierten Klonen bezüglich des ER-Status. Trotz der Übereinstimmung konnte bezüglich des Gradings *NY-BR-1*, das als brustkrebspezifisches Tumorantigen diskutiert wird, als Marker für Tumoren mit niedrigem Grading identifiziert werden.

Keine differentielle Genexpression konnte hingegen für den Lymphknoten-Status, die Tumorgroße, das Patientenalter und sowohl für die Gesamt- als auch für die rezidivfreie Überlebenszeit, festgestellt werden. Ursachen dafür könnten die Verwendung des spezifischen Mikroarrays, die Zusammensetzung des Patientenkollektivs und die damit verbundenen interindividuellen Schwankungen im Genexpressionsprofil der Patientenproben sein.

Insgesamt gesehen konnte in der vorliegenden Arbeit aus methodischer Sicht ein brustkrebspezifischer Array generiert und ein reproduzierbares Amplifikationsprotokoll etabliert werden. In den vorgestellten Untersuchungen bezüglich der verschiedenen klinischen Parameter konnte eine große Anzahl an differentiell exprimierten Genen gefunden werden. Darunter befand sich ein Set von sieben differentiell exprimierten Genen bezüglich des ER-Status, dass von klinischer Relevanz für die ER-Diagnostik sein könnte. Daneben wurden weitere Markergene, wie z.B. *NY-BR-1* für Tumore mit niedrigem Grading und *LOC118430* und *CAB2* für HER2/neu-positive Tumore, identifiziert und mittels qRT-PCR verifiziert. Die Signifikanz dieser Ergebnisse muss allerdings erst auf Basis weiterer Studien überprüft werden.