

Soroosh-Shahryarhesami

Dr. sc. hum.

Detection of bacteria and virus-associated Pancreatic Ductal Adenocarcinoma by cell-free protein microarray

Fach: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Christoph Michalski

Infektion ist die Ursache von fast 20% aller Krebsarten. Infektionserreger wie das Bakterium *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) als erstes bekanntes bakterielles Karzinogen und Viren aus der Familie der Herpesviridae sind an der Pathogenese verschiedener Krebsarten beteiligt. Das Screening auf Antikörper gegen bakterielle und virale Antigene in Krebspatienten kann daher potenzielle Marker und Ziele für optimierte Strategien zur Krebsbekämpfung aufdecken. Zu diesem Zweck untersuchte ich die Antikörper-Zusammensetzung im peripheren Blut von Patienten mit duktalem Adenokarzinom des Pankreas (PDAC) und geeigneten Nicht-Krebs-Spendern als Kontrollen.

Alle 1437 offenen Leserahmen (ORFs) von *H. pylori* und die 100 ORFs des Truthahn Herpesvirus (HVT) wurden durch zwei aufeinanderfolgende PCRs hergestellt und auf nickelbeschichteten Glasoberflächen aufgebracht. Durch *in vitro* Transkription/Translation wurden Mikroarrays des gesamten Proteoms von sowohl *H. pylori* als auch HVT hergestellt. Immunoassays wurden mit PDAC- und Nicht-PDAC-Serumproben durchgeführt, um Antikörperbindungsmuster nachzuweisen und zwischen PDAC- und Nicht-PDAC-Gruppen zu unterscheiden. Zur Darstellung der Assoziation jedes nachgewiesenen Antigens mit PDAC wurde das Ergebnis als „Odds-Ratio“ (OR) mit 95% Konfidenzintervall (CI) berechnet. Auch funktionale Annotationen wurden durchgeführt.

Zunächst wurde das *H. pylori*-Proteom mit Serumgemischen aus Blutproben von 10 PDAC-Patienten, 10 gesunden Personen und 9 Patienten mit chronischer Pankreatitis (CP) untersucht. Insgesamt wurden 46 Proteine nachgewiesen, von denen 29 eine Assoziation mit PDAC zeigten (OR > 1). Nach der Analyse der Serumgemische wurden einzelne Serumproben von PDAC und Nicht-PDAC (gesund und CP) auf den Mikroarrays untersucht. Insgesamt wurden 47 PDAC- und 38 Nicht-PDAC-Proben (19 gesunde und 19 CP) analysiert. Insgesamt wurden 62 Proteine nachgewiesen. Die meisten von ihnen zeigten eine Assoziation mit PDAC (OR > 1); davon waren 33 Antigene auch in den Analysen mit Probengemischen gefunden worden, wie beispielsweise HP0874, HP0599 und HP0175. In weiteren Experimenten wurden 11 PDAC- und 8 Nicht-PDAC-Serumgemische untersucht, für die eine genaue Annotation des gastrointestinalen Gesundheitszustands vorlag, um wiederum *H. pylori*-Antigene zu finden. Insgesamt wurden in diesem Experiment 59 Antigene nachgewiesen, von denen 29 eine Assoziation mit PDAC zeigten (OR > 1).

Die HVT-Proteine wurden zunächst unter Verwendung von Serumgemischen (10 PDAC, 10 gesunde und 10 CP) analysiert. In diesem Schritt wurden in den PDAC Serumgemischen Antikörper gegen drei spezifische Antigene nachgewiesen. Anschließend wurde ein „Screening“ mit Einzelproben durchgeführt. Insgesamt wurden 74 PDAC- und 46 Nicht-PDAC-Serumproben (24 CP-Patienten und 22 gesunde Spender) auf den HVT-Microarrays

untersucht. Dabei wurden 25 HVT-Proteine identifiziert, einschließlich der Antigene, die bereits in den Gemischen nachgewiesen wurden: HVT079, HVT059 und HVT062.

Analysen von Serumproben auf Darstellungen des Proteoms von *H. pylori* und HVT wurden durchgeführt, um Antigene zu finden, die mit dem Auftreten von PDAC assoziiert sind, wobei Serumpools und einzelne Serumproben verwendet wurden. Aus jedem „Screening“ wurde eine Kandidatenliste erstellt, die eine wertvolle Ressource für diagnostische Zwecke darstellt. Unter den 167 *H. pylori*-Proteinen wurden vier Antigene in allen drei Datensätzen mit starker Assoziation zu PDAC nachgewiesen: HP0874, HP0010, HP0601 und HP01238. Unter den 25 nachgewiesenen HVT-Proteinen wurden folgende drei häufig nachgewiesen: HVT079, HVT059 und HVT062. Diese Ergebnisse könnten die PDAC-Diagnose unterstützen und Zielmoleküle für eine mögliche Behandlung der PDAC Entwicklung und Progression liefern.