

Chaoyang Zhang

Dr.sc.hum.

Risk stratification and progression analysis of pancreatic intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN)

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Thilo Hackert

Die Doktorarbeit besteht aus zwei Teilen. Im ersten wurde der Protein- und microRNA (miRNA)-Gehalt von Serumproben analysiert, um Biomarker für die Diagnose und Risikostratifizierung von Patienten zu identifizieren. Im zweiten Teil wurden vorhandene molekulare Datensätze aus Gewebeproben zur Identifizierung von Expressionsveränderungen genutzt, die wiederum eine Risikoabschätzung zulassen. Sie wurden funktionell auf ihr Potenzial als mögliche Zielmoleküle untersucht.

Das intraduktale papilläre muzinöse Neoplasma (IPMN) ist eine Vorläuferläsion des dukalen Adenokarzinoms des Pankreas (PDAC). IPMN wird in verschiedenen Risikostadien diagnostiziert. Patienten mit Niedrigrisiko- oder Hochrisiko-IPMN erfordern ein unterschiedliches klinisches Management und haben verschiedene Überlebensergebnisse. Es wäre für Patienten von großem Nutzen, im peripheren Blut zirkulierende Biomarker zu identifizieren und eine Risikostratifizierung zu ermöglichen. Serumproben wurden von 302 IPMN-Patienten und 88 gesunden Spendern erhalten. Ich führte eine Proteinanalyse mit einem Antikörper-Mikroarray von 2977 Antikörpern durch. Für miRNA-Biomarker wurde ein kommerzielles PCR-Array, das 179 miRNAs untersucht, und qPCR angewendet. Unter Verwendung von Methoden des maschinellen Lernens, wie der Regression des kleinsten absoluten Schrumpfungs- und Auswahloperators (LASSO) und der rekursiven Merkmalseliminierung (RFE) mit 5-facher Kreuzvalidierung, wurden *Support-Vector-Machine* (SVM) Klassifikatoren definiert, die in unabhängigen Probensätzen validiert wurden. Mehrere Protein- und miRNA-Biomarker-Panels wurden etabliert, die eine Risikostratifizierung mit hoher Genauigkeit erreichen. In Kombination ergab ein Panel aus fünf Proteinen und drei miRNAs

einen *area under the curve* (AUC) Wert von 97 %. Alle Genauigkeitswerte waren wesentlich besser als diejenigen, die mit der gleichen Patientenkohorte unter Verwendung von den Leitlinienkriterien zur Unterscheidung von hohem und niedrigem Risiko erhalten wurden. Darüber hinaus wurde eine sehr genaue Unterscheidung zwischen gesunden Patienten und solchen mit Niedrigrisiko-, Hochrisiko- und invasiver IPMN oder allen IPMN-Fällen zusammen erzielt. Protein- und microRNA-Biomarker im Blut ermöglichen eine präzise Diagnose und Risikostratifizierung von IPMN-Fällen, was das Patientenmanagement und damit die Prognose von IPMN-Patienten verbessern wird.

Zusätzlich zur serumbasierten Analyse nutzten wir vorhandene IPMN-assoziierte RNA-Expressionsprofil Datensätze, die mit Gewebeproben erstellt wurden. Wir haben drei Datensätze mit mRNA-Daten und zwei weitere Datensätze mit miRNA-Daten genutzt, um Panele zu finden, die als Biomarker für die Risikostratifizierung von IPMN dienen könnten. Um potenzielle molekulare Mechanismen der IPMN-Progression und mögliche Tumortreibergene zu identifizieren, wurde eine erste Co-Expressionsnetzwerkanalyse am mRNA-Expressionsdatensatz durchgeführt, um co-exprimierte Gene zu identifizieren, die mit der IPMN-Progression assoziiert sind. Eine funktionelle Anreicherungsanalyse ergab drei co-exprimierte Gensätze, die an verschiedenen Signalwegen beteiligt sind, wie z. B. Zellzyklus und ECM-Rezeptor-Interaktion. Die integrierte Analyse von mRNA-Expressions- und Kopienzahl-Variationsdatensätzen identifizierte stark exprimierte Gene mit einer Zunahme der Kopienzahl vom Carcinoma in situ bis zum invasiven Karzinom. Die integrierte Analyse von mRNA-Expressionsdatensätzen und DNA-Methylierungsdatensätzen fand stark exprimierte Gene mit signifikant verringertem DNA-Methylierungsgrad von IPMN mit niedrigem Risiko bis hin zu Hochrisiko-IPMN. Potenzielle Ziele im Zusammenhang mit der IPMN-Progression wurden durch überlappende Analysen bestimmt. Fünf potenzielle IPMN-Treibergene (MRPL13, SCEL, EMP1, DTL, UBE2T) wurden für funktionelle Assays in den Zelllinien ASAN-PaCa und BxPC3 verwendet. Der siRNA-Knockdown der Gene MRPL13, SCEL, DTL und UBE2T könnte separat voneinander die Zellproliferation hemmen, den Zellzyklusarrest in der S-Phase induzieren und die Apoptose beeinflussen. Transwell-Assays zeigten, dass der siRNA-Knockdown der drei Gene MRPL13, SCEL und EMP1 die Zellinvasion hemmte. Schließlich ergab eine Überlebensanalyse, dass die fünf Gene als potenzielle Biomarker für die Prognose von PDAC-Patienten dienen könnten. Während weitere Analysen erforderlich sind, um das Potenzial der Gene als Risikomarker und mögliche Zielmoleküle zur Beeinflussung der IPMN-Progression zu bestätigen, sind die Gene vielversprechend, wichtige Faktoren für solche Zwecke zu werden.