



Extrazelluläre Vesikel und ihr Integrinprofil im metastasierten Prostatakarzinom: von der Zellkultur zur klinischen Erprobung

Autor: Lisa Frey
Institut / Klinik: Klinik für Urologie und Urochirurgie
Doktorvater: Prof. Dr. J. Hardenberg

Aufgrund der hohen klinischen Relevanz des Prostatakarzinoms sind zentrale Aufgaben im klinischen Alltag das Treffen von Therapieentscheidungen sowohl im lokalisierten als auch im metastasierten Stadium. Um einen geeigneten Biomarker zur individualisierten Tumordiagnostik und Therapieüberwachung zu etablieren, ist zunächst ein besseres Verständnis der Tumorbiologie nötig. Eine entscheidende Rolle bei der Metastasierung spielt die Ausbildung einer prämetastastischen Nische durch extrazelluläre Vesikel. Extrazelluläre Vesikel enthalten Informationsmaterial der Ursprungszelle und können aus nahezu allen Körperflüssigkeiten wenig invasiv gewonnen werden. Ob die prometastatischen Eigenschaften in der veränderten Vesikelbeladung, der erhöhten Sekretion oder anderen Ursachen begründet liegen, ist bisher unzureichend untersucht. Das Integrinprofil extrazellulärer Vesikel ist in anderen Tumorentitäten entscheidend für die Ausbildung der Organotropie im Rahmen der Metastasierung. In Literaturrecherchen und *in silico*-Analysen wurden Integrine, die eine Rolle bei der Organotropie des metastasierten Prostatakarzinoms spielen könnten, herausgesucht. Als geeignete Integrine wurden identifiziert: CD51 (α), CD29 (β 1) und CD104 (β 4). Als etablierte Exosomen-Marker wurden CD9, CD63 und CD81 gewählt. Mittels Ultrazentrifugation sowie mittels eines kommerziell erworbenen Exosomen-Isolationskits erfolgte die Isolation von extrazellulären Vesikeln aus 6 verschiedenen Zelllinien sowie aus humanem Plasma. Anschließend erfolgte die Quantifizierung und Größenbestimmung mittels Nanopartikel Tracking Analyse und Elektronenmikroskopie. Zur Detektion von extrazellulären Vesikeln mittels Durchflusszytometrie erfolgte die Kopplung an Beads und Färbung mit Fluorochrom-konjugierten Antikörper (CD9, CD63, CD81, CD51, CD29 und CD104).

In Verdünnungsreihen konnte gezeigt werden, dass die Detektierbarkeit schwach exprimierter Oberflächenmoleküle von der Einsatzmenge der Vesikel abhängig ist. Es konnte gezeigt werden, dass die Wahl der Fluorochrom-gekoppelten Antikörper und das Design des Panels, insbesondere bei Mehrfachfärbungen, Einfluss auf die Nachweisbarkeit einzelner Oberflächenmoleküle haben kann. Der Nachweis von CD9 gelang bei nahezu allen extrazellulären Vesikeln aus humanem Plasma. Es fiel auf, dass die extrazellulären Vesikel von Patienten mit einem lokalisierten Prostatakarzinom signifikant häufiger CD81 positiv waren als diese von Patienten mit einem ossär metastasierten Prostatakarzinom. Im Plasma von gesunden Probanden konnten signifikant höhere Partikelkonzentration im Vergleich zu Patienten mit benigner Prostatahyperplasie und lokalisiertem Prostatakarzinom gemessen werden. Patienten mit viszeraler Metastasierung wiesen größere Partikel als Patienten ohne viszerale Metastasierung auf. Eine Tendenz zu höheren Partikelkonzentrationen bei Patienten mit viszeraler Metastasierung und insbesondere bei hepatischer Metastasierung, zeigte sich ebenfalls. Unter Chemotherapie mit Docetaxel zeigte sich kein Abfall der Partikelkonzentration oder eine Veränderung der Partikelgröße. Korrelationsanalysen zeigten einen positiven Zusammenhang zwischen steigenden PSA-Werten und höheren Partikelkonzentrationen. Bezüglich des Integrinprofils können anhand der erhobenen Daten abschließende Aussagen bezüglich eines differierenden Integrinprofils bei Patienten mit Leber- und/oder Lungenmetastasen nicht getroffen werden.