

## Titel:

Etablierung und Validierung eines molekularen Testsystems zur sensitiven mRNA-basierten Diagnostik des Androgenrezeptors im Kontext der molekularen Subklassifikation bei Urothelkarzinomen der Harnblase

Einleitung: Durch die Unterteilung des Harnblasenkarzinoms in molekulare Subtypen, nämlich hormonabhängige lumbale und hormonrezeptorneegative basale Tumore, wird die Bedeutung von Hormonrezeptoren als möglichen Angriffspunkten für eine zielgerichtete antihormonelle Therapie zunehmend diskutiert. Während präklinische Studien bereits die antiproliferative Wirksamkeit von anti-Östrogenen bei luminalen Blasentumoren belegt haben, wurde die funktionelle Bedeutung des Androgenrezeptors als Zielstruktur für eine verbesserte Behandlung von Harnblasenkarzinomen bisher jedoch noch nicht untersucht, obwohl zahlreiche Studien einen Zusammenhang zwischen dem Androgenrezeptor und der Entstehung des Urothelkarzinoms der Blase sehen und es Hinweise auf einen klinischen Benefit einer antiandrogenen Therapie beim Urothelkarzinom der Blase gibt. Ein Grund weshalb die antihormonelle Therapien bis heute keine Anwendung findet, stellt sicher die mangelnde Sensitivität und Reproduzierbarkeit der Immunhistochemie für die prognostische Bedeutung der Hormonrezeptoren dar.

Ziele und Methoden: Ziel dieses Projekts ist ein standardisiertes Verfahren zur sensitiven mRNA-basierten Bestimmung des Androgenrezeptors im Kontext der molekularen Subklassifikation des Urothelkarzinoms der Blase zu entwickeln. In Analogie zu den bereits etablierten Verfahren in der Brustkrebsdiagnostik soll die molekularbiologische Methodik zur objektiven sensitiven Quantifizierung der mRNA aus paraffinfixiertem Routinegewebe mittels der hochsensitiven, quantitativen PCR-Technologie (RT-qPCR) nun zur molekularen Klassifizierung der Androgenrezeptorexpression bei Blasenkarzinomen angewandt werden. Anschließend soll mit Hilfe des molekularen Testsystems in retrospektiven Analysen an Patientenkollektiven mit Urothelkarzinomen verschiedener Stadien die Expression des Androgenrezeptors bestimmt und die prognostische Bedeutung durch Korrelation zu klinischen und pathohistologischen Variablen erarbeitet werden. Die zu analysierenden Tumorproben mit entsprechenden klinischen Verlaufsparemtern werden durch die Klinik für Urologie, sowie das Institut für Pathologie in Erlangen (n=400) und durch die Klinik für Urologie in Mannheim (n=200) zur Verfügung gestellt.

Schließlich soll die mögliche Effektivität antihormoneller und vor allem antiandrogener Therapien *in vitro* an Urothelkarzinomzelllinien getestet werden.

Gastlabor: Am Institut für Pathologie des St. Elisabeth Krankenhauses in Köln Hohenlind konnte ein Verfahren etabliert werden, mit dem Nukleinsäuren (RNA & DNA) aus FFPE Gewebeproben der pathologischen Routinediagnostik effizient extrahiert und sensitiv reproduzierbar vermessen werden können. Dieses Verfahren wird in der Mammakarzinomdiagnostik bereits erfolgreich eingesetzt. Die hierbei gewonnenen Erkenntnisse werden auch in die Entwicklung eines Testsystems für den Androgenrezeptor einfließen.

Arbeitsprogramm: Das Projekt soll innerhalb von 12 Monaten verwirklicht werden: 1.-5. Monat: Einarbeitung und Analyse der Findungskohorte; 5.-9. Monat: Retrospektive Validierung prognostischer & prädiktiver *cut-offs*; 8.-11. Monat (überlappend): Funktioneller Nachweis der Bedeutung der Androgenrezeptorexpression in *in vitro*-Modellen und Behandlung von Zelllinien mit Androgenen und Antiandrogenen; 10.-12. Monat: Planung der prospektiven Validierung der technischen Umsetzbarkeit in der klinischen Routinediagnostik und Erstellung des Abschlussberichts.

Ausblick: Durch die Etablierung des Testsystems und die Bestimmung der Hormonrezeptorexpression soll der klinische Stellenwert von Hormonrezeptoren in den molekularen Subtypen des Urothelkarzinoms erarbeitet werden. Im Anschluss soll an die Fertigstellung des Testsystems dieses zur Validierung an weiteren Proben im Rahmen der klinischen Routine getestet und ein Ringversuch in verschiedenen urologischen und pathologischen Laboren durchgeführt werden, um die Ergebnisse auch vor dem Hintergrund eines multizentrischen Interlaborvergleichs auf Ihre Validität hin zu überprüfen. Aufbauend auf den Ergebnissen der Zellkulturexperimente sollen zudem weiterführende Experimente zur funktionellen Bedeutung der Hormonrezeptoren und des Androgenrezeptors im Besonderen erarbeitet werden.