

• **Dr. med. Verena Huppert**

Fördernummer HuV1/FE-13

Heimatklinik: Urologische Klinik, Universitätsklinikum Erlangen

Gastlabor: Lehrstuhl für experimentelle Medizin und Therapieverfahren, Universität Regensburg

Betreuer: Prof. Dr. med. Christoph A. Klein

Projekt: „Bestimmung der miRNA-Profile frühdisseminierter Prostatakarzinomzellen mit metastasiogenem Potenzial“

Projektbeschreibung (Zusammenfassung):

Die immer weiter verbesserte Früherkennungsdiagnostik hat dazu geführt, dass Prostatakarzinome zunehmend häufiger in einem frühen Tumorstadium diagnostiziert und mehr Patienten einer kurativen Therapie zugeführt werden können. Die multifokale und heterogene Natur des Prostatakarzinoms erschwert jedoch die prognostisch und prädiktiv wichtige Unterscheidung zwischen wenig aggressiven Tumoren und solchen, die mit einer frühen Metastasierung und hormonunabhängigem Wachstum einhergehen. Zum jetzigen Zeitpunkt ist kein validierter Biomarker vorhanden, der die Metastasierungsfähigkeit des Primärtumors bestimmen kann. Disseminierte Tumorzellen (DTCs) stellen in diesem Zusammenhang eine interessante Population von Tumorzellen dar. Diese Tumorzellen lassen sich im Knochenmark bereits vor dem Auftreten klinisch diagnostizierter Fernmetastasen nachweisen. Es ist generell akzeptiert, dass sich in der Population der DTCs solche Tumorzellen befinden, die zur Metastasenbildung befähigt sind. Diese Zellen haben die Eigenschaft, dass sie ex vivo in Zellkultur zu dreidimensionalen Tumorzell-Sphäroiden (Prostatosphären) auswachsen. Ziel des Projekts ist die molekulare Charakterisierung von Prostatosphären-Zellen auf der Ebene von mikroRNAs (miRNAs). MiRNAs sind kurze, 19-25 Nukleotide lange RNA Moleküle. Sie spielen eine wichtige Rolle in der posttranskriptionellen Genregulation. Neben dieser funktionellen Rolle haben miRNAs auch das Potenzial zu wertvollen prognostischen und prädiktiven Biomarkern. Hierbei sind miRNA-basierte Profile oftmals spezifischer als mRNA-basierte.

In unserem Projekt werden zwei Arbeitshypothesen verfolgt:

Hypothese 1: Es existiert ein spezifisches miRNA-Expressionsprofil metastasierungsbereiter Zellen im Prostatakarzinom. In einem ersten Patientenkollektiv mit 5-7 Patienten wird eine vergleichende miRNA-Analyse von DTC-abgeleiteten Prostatosphären, Primärtumor- und korrespondierendem Normalgewebe durchgeführt. Ziel ist die Erstellung eines metastasierungsspezifischen miRNA-Expressionsprofils. MiRNAs, die charakteristisch für das Profil metastasierungsbereiter Tumorzellen sind, werden mit einer unabhängigen Methode (quantitative PCR) in einem erweiterten Patientenkollektiv von 30-40 Prostatakarzinompatienten überprüft. Somit wird ein experimentell validiertes, spezifisches Set an miRNAs definiert, welches die metastasierungsbereiten Zellen eindeutig identifiziert. Mittels in situ-miRNA-Hybridisierung soll überprüft werden, ob solche Zellen sich auch im Primärtumor identifizieren lassen.

Hypothese 2: MiRNA-Gene spielen über die Regulation spezifischer Zielgene eine wichtige Rolle im Metastasierungsprozess des Prostatakarzinoms. Da miRNAs und ihre Zielgene in

einer sequenz-spezifischen Weise interagieren, lassen sich die Zielgene jeder miRNA bioinformatisch vorhersagen. Unter der Vielzahl an vorhergesagten Zielgenen werden wir diejenigen identifizieren, die eine mögliche Rolle in der Metastasierung spielen. Hierfür werden wir die Technik einer Gene Set Enrichment Analysis anwenden. MiRNA-Zielgene mit einem Bezug zu charakteristischen tumorbiologischen Prozessen, wie Zellmotilität, Regulation der Angiogenese oder Unterdrückung der Apoptose, können so definiert werden. Analog zu der in Hypothese 1 aufgezeigten Vorgehensweise wird die veränderte Expression von vorhergesagten miRNA-Zielgenen im erweiterten Kollektiv von 30-40 Prostatakarzinompatienten experimentell validiert.

Zusammenfassend ist das Ziel unseres Projekts die Identifikation von miRNAs, die für metastasierungsfähige Tumorzellen charakteristisch sind. Ausgehend von diesen miRNAs werden wir deregulierte Zielgene in Metastasierungs-assoziierten Signalwegen analysieren. Die zu erwartenden Ergebnisse bilden die Grundlage für weiterführende funktionelle Untersuchungen, bei denen die tumorbiologische Relevanz validierter miRNA-Zielgene für den Metastasierungsprozess im Detail analysiert werden. Von klinischer Seite sind Langzeit-Beobachtungsstudien nötig, um die klinisch relevante Frage zu beantworten, ob miRNAs oder ihre Zielgene zur Stratifikation von Prostatakarzinompatienten in Gruppen mit niedrigem oder hohem Metastasierungsrisiko geeignet sind. Ferner können miRNAs oder ihre Zielgene als Zielstrukturen angesehen werden, um über eine therapeutische Intervention direkt die Metastasierung zu unterbinden.