

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
5. Februar 2004 (05.02.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/011945 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: G01N 33/574,
C12Q 1/68

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/008243

(22) Internationales Anmeldedatum:
25. Juli 2003 (25.07.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
PCT/EP02/08305 25. Juli 2002 (25.07.2002) EP

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: DEBUSCHEWITZ, Sabine [DE/DE];
Grasbrunnerstrasse 20, 85635 Höhenkirchen-Siegerts-
brunn (DE). JOBST, Jürgen [DE/DE]; Kammweg 20,
72762 Reutlingen (DE). KAISER, Stephan [DE/DE];
Burgstrasse 10, 79312 Emmendingen (DE).

(74) Anwälte: WEICKMANN, Franz, Albert usw.; Weick-
mann & Weickmann, Postfach 860 820, 81635 München
(EP).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: MOLECULAR MARKERS FOR CHOLANGIOLAR CARCINOMA

(54) Bezeichnung: MOLEKULARE MARKER FÜR DAS CHOLANGIOLÄRE KARZINOM

(57) Abstract: The invention relates to molecular markers which occur with cholangiolar carcinomas (CCC), comprising, in particular, gene sequences or peptides coded thereby, which have an up or down regulated expression thereof in CCC relative to non-malignant or normal liver cells and the use of said sequences for the diagnosis and/or therapy of CCC and for the screening and identification of novel agents for CCC. The invention further relates to a CCC-specific cluster as novel diagnostic agent for CCC. The invention furthermore relates to the discrimination of CCC and HCC (liver cell carcinoma).

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft molekulare Marker, die beim cholangiolären Karzinom (CCC) auftreten. Sie umfasst insbesondere Gensequenzen bzw. davon codierte Peptide, die beim CCC gegenüber nicht malignen bzw. normalen Leberzellen in der Expression herauf- oder herabreguliert sind, sowie die Verwendung dieser Sequenzen zur Diagnose oder/und Therapie von CCC sowie zum Screening zur Identifizierung neuer Wirkstoffe für CCC. Weiterhin betrifft die Erfindung ein CCC-spezifisches Cluster als einzigartiges diagnostisches Mittel für CCC. Weiterhin betrifft die Erfindung die Diskriminierung von CCC und HCC (Leberzellkarzinom).



WO 2004/011945 A2

Molekulare Marker für das cholangioläre Karzinom

Beschreibung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft molekulare Marker, die beim cholangiolären Karzinom (CCC) auftreten. Sie umfasst insbesondere Gensequenzen bzw. davon codierte Peptide, die beim CCC gegenüber nicht malignen bzw. normalen Leberzellen in der Expression herauf- oder herabreguliert sind, sowie die Verwendung dieser Sequenzen zur Diagnose oder/und Therapie von CCC sowie zum Screening zur Identifizierung neuer Wirkstoffe für CCC. Weiterhin betrifft die Erfindung ein CCC-spezifisches Cluster als einzigartiges diagnostisches Mittel für CCC. Weiterhin betrifft die Erfindung die Diskriminierung von CCC und HCC (Leberzellkarzinom).

15

Das cholangiocelluläre Karzinom (CCC) ist ein Karzinom, das von den Zellen der Gallengänge, den Cholangiocyten ausgeht. Das CCC ist also ein Karzinom der Gallengänge, meistens ein Adenokarzinom und damit in der Leber sowie in den abführenden Gallengängen lokalisiert. Anders als bei dem ebenfalls in der Leber lokalisierten Leberzellkarzinom (HCC), das von den echten Leberzellen, den Hepatocyten, ausgeht, sind Gallengangszellen der zelluläre Ursprung des CCC.

Die Früherkennung eines CCC ist von entscheidender Bedeutung für das Überleben der betroffenen Patienten. Somit besteht von medizinisch-klinischer Seite ein eindeutiger Bedarf an Tumormarkern mit sehr hoher Sensitivität und Spezifität für CCC.

Weiterhin sind für die Therapie des CCC neue und innovative Ansätze wünschenswert.

30

Es ist bekannt, dass das Entstehen von Krebs ein Prozess ist, bei welchem sehr viele und verschiedene genetische Veränderungen stattfinden und miteinander interagieren. Dies zeigt sich z.B. in der Aktivierung oder Überexpression von Onkogenen und Inaktivierung bzw. komplettem Verlust von Tumorsuppressorgenen in den entsprechenden Tumorzellen. Jedoch ist
5 bislang kein kohärentes Muster von genetischen Veränderungen beim CCC definiert worden.

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es deshalb, neue
10 Tumormarker für CCC bereitzustellen, sowie neue Möglichkeiten für die Therapie von CCC aufzuzeigen.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung mindestens einer Nukleinsäure, die (i) in Tabelle I, in Tabelle II, in Tabelle III
15 oder in Tabelle IV gezeigt ist, (ii) einer Sequenz aus (i) im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entspricht, (iii) eine Teilsequenz einer Sequenz aus (i) oder/und (ii) mit einer Länge von mindestens 25, vorzugsweise mindestens 50 und mehr bevorzugt mindestens 100 Nukleotiden aufweist, (iv) mit einer Sequenz aus (i), (ii) oder/und (iii) unter
20 stringenten Bedingungen hybridisiert oder/und (v) eine zu einer Sequenz aus (i), (ii), (iii) oder/und (iv) komplementäre Sequenz aufweist, oder eines von einer solchen Nukleinsäure codierten Polypeptids als Target für das cholangioläre Karzinom (CCC).

Der Ausdruck "Hybridisierung unter stringenten Bedingungen" wird hierin
25 verwendet, wie bei Sambrook et al. (Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989), 1.101-1.104) verwendet. Bevorzugt liegt eine stringente Hybridisierung gemäß der vorliegenden Erfindung vor, wenn nach Waschen für eine Stunde mit 1 x
30 SSC und 0,1 % SDS bei 50 °C, bevorzugt bei 55 °C, mehr bevorzugt bei 62 °C und am meisten bevorzugt bei 68 °C und mehr bevorzugt für 1 Stunde mit 0,2 x SSC und 0,1 % SDS bei 50 °C, bevorzugt bei 55 °C,

mehr bevorzugt bei 62 °C und am meisten bevorzugt bei 68 °C noch ein positives Hybridisierungssignal beobachtet wird.

5 Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wurde ein neues Verfahren der modernen Genomforschung benutzt, um über- und unterexprimierte Gene bei CCC zu identifizieren.

Mit Hilfe dieser erst jüngst etablierten DNA Chip-Technologie (siehe z.B. P. Brown et al., Nature Genetics Supplement, 21 (1999) 33-37; K. Cole et al.,
10 Nature Genetics Supplement, 21 (1999) 38-41; R. Lipshulz et al., Nature Genetics Supplement, 21 (1999) 20-24) ist es gelungen, Gene zu ermitteln, die in CCC von verschiedenen Patienten signifikant über- oder unterexprimiert waren. Durch die anschließende Softwareanalyse ließen sich Gruppen von Genen bestimmen, die konsistent, d.h. in sämtlichen
15 (100 %) oder den meisten (80 %) der CCC über- oder unterexprimiert sind (siehe hierzu auch die Tabellen I, II, III und IV). Sämtliche dieser mit Hilfe der Genchipanalyse identifizierten Gene werden bei Vorliegen eines CCC häufiger und konsistenter überexprimiert bzw. unterexprimiert als derzeit klinisch zur Verfügung stehende Marker.

20

Deshalb stellen die im Rahmen der vorliegenden Erfindung identifizierten Gene wirkungsvolle Targets und insbesondere geeignete Marker für CCC dar. Besonders bevorzugt werden die Gene der Tabelle IA oder/und die Gene der Tabelle IIA verwendet, bei denen eine Expressionserhöhung bzw.
25 Expressionerniedrigung in 100 % der untersuchten Patienten festgestellt worden ist. Für viele Anwendungen ist es jedoch bereits ausreichend, mindestens ein Gen der Tabelle IIIA einzusetzen, also Gene, bei denen eine erhöhte Expression in mindestens 80 % der untersuchten Patienten festgestellt worden ist.

30

Erfindungsgemäß bevorzugt werden Gene eingesetzt, die, verglichen mit nicht krebsartigen bzw. normalen Leberzellen um einen Faktor von

mindestens 1,5 herab- bzw. heraufreguliert sind, mehr bevorzugt um einen Faktor von mindestens 2, noch mehr bevorzugt um einen Faktor von mindestens 3 und am meisten bevorzugt um einen Faktor von mindestens 4.

5

Während bereits durch die Verwendung eines einzigen, in der vorliegenden Erfindung identifizierten Gens in Zusammenhang mit CCC Verbesserungen erhalten werden, können weitere vorteilhafte Wirkungen durch Verwendung von mehreren der erfindungsgemäß aufgefundenen Gene, insbesondere von mindestens 5, mehr bevorzugt von mindestens 10, noch mehr bevorzugt von mindestens 20 und am meisten bevorzugt von mindestens 40 Genen erzielt werden. Erfindungsgemäß bevorzugt werden die aufgefundenen Gene zu Gruppen zusammengefasst, die für CCC spezifisch sind und eine eindeutige Unterscheidung von CCC zu anderen Zellen, auch anderen pathologisch veränderten Zellen erlauben.

15

Erfindungsgemäß werden die in den Tabellen I, II, III bzw. IV gezeigten Gene bevorzugt zum Nachweis oder/und zur Diagnose oder/und zur Prognose von CCC eingesetzt.

20

Mit den identifizierten Gruppen von Genen lassen sich auch eindeutige Erkennungsmerkmale für die Diskriminierung von verschiedenen (Leber-) Tumoren identifizieren. So konnte durch Clusteranalyse ein CCC - spezifisches Muster für die Diagnostik von CCC positiven Gewebeproben gegenüber anderen Gewebemustern der Leber identifiziert werden.

25

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform werden mindestens 20, insbesondere mindestens 40 Gene eingesetzt, mit denen eine besonders gute Differenzierung erreichbar ist, nämlich die Gene der Tabelle IA, insbesondere die Gene Nr. 1 bis 14 in Tabelle IA sowie die Gene in der Tabelle IIA, insbesondere die Gene Nr. 1 bis 34 in Tabelle IIA. Bei diesem Satz werden vorzugsweise mindestens 10 heraufregulierte und mindestens

30

10 herabregulierte Gene eingesetzt, wobei mittels Clusteranalyse eine 100 %-ige Differenzierung zwischen Tumorlebergewebe und nicht malignem Lebergewebe möglich ist. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform werden alle in den Tabellen I, II und III aufgeführten Gene eingesetzt. Mit diesen 143 differenziell exprimierten Genen ist aufgrund der Expressionshomogenität des CCC eine eindeutige Zuordnung (Tumor zu Nichttumor) möglich.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform werden die in den Tabellen IB und IIB aufgeführten Gene eingesetzt und in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform die in den Tabellen IA und IIA aufgeführten Gene, d.h. alle in 100 % der Fälle herauf- bzw. herabregulierten Gene.

Weiterhin ist es bevorzugt, mindestens 2, insbesondere mindestens 5 und noch mehr bevorzugt mindestens 10 Gene der Tabelle IA oder/und der Tabelle IIA einzusetzen und gegebenenfalls zusätzlich weitere, insbesondere mindestens 2, bevorzugt mindestens 5 und noch mehr bevorzugt mindestens 10 Gene aus der Tabell III und gegebenenfalls weitere Gene aus der Tabelle IV.

Die erfindungsgemäß als Target bereitgestellten Nukleinsäuren bzw. deren Menge, beispielsweise die in einer Zelle exprimierte Menge, können mittels geeigneter Assays bestimmt und somit zur Diagnose von CCC herangezogen werden. Bevorzugt werden ausgehend von den hierin gelieferten Sequenzinformationen Sonden bereitgestellt oder gebildet, welche an die in den Tabellen gezeigten Nukleinsäuren binden. Hierzu können beispielsweise zu den angegebenen Gene komplementäre Sequenzen bzw. komplementäre Sequenzabschnitte verwendet werden.

Für spezielle Anwendungen können weitere Gengruppierungen oder Gencluster zusammengestellt werden, um spezifische analytische Fragestellungen zu lösen. Auf diese Weise können beispielsweise Cluster

zur Diskriminierung verschiedener Tumore der Leber, z.B. gutartig-bösartig oder bösartig-bösartig (Leberkarzinom- oder Metastasen des Darmkrebs-CCC) oder Cluster zur Unterscheidung verschiedener Stadien einzelner Tumore erstellt werden, wobei jeweils die Gene aus den Tabellen I bis IV herangezogen werden, bei denen eine besonders deutliche oder besonders konsistente Änderung beobachtet werden kann. Diese Differenzierungen sind heute mit den aktuell zur Verfügung stehenden Methoden oft nicht oder nur sehr schwierig zu bewerkstelligen.

5

10 Neben dem cholangiozellulären Karzinom (CCC), das von den Zellen der Gallengänge, den Cholangiocyten, ausgeht, gibt es in der Leber noch das HCC, das als Karzinom von den "echten" Leberzellen, den Hepatocyten, ausgeht. Erfindungsgemäß konnten Expressionsmuster festgestellt werden, die eine eindeutige Diskriminierung dieser beiden Tumore ermöglichen.

15 Gene, die eine Differenzierung zwischen den beiden Karzinomen HCC und CCC ermöglichen, sind in den Tabellen IB, IIB, IIIB und IV, dargestellt. So wurden spezifische Cluster identifiziert mit Genen, die nur im CCC heraufreguliert oder herunterreguliert sind. Zur Unterscheidung der beiden Cluster wird somit bevorzugt ein diagnostisches Mittel verwendet, welches

20 mindestens ein, insbesondere mindestens 5, mehr bevorzugt mindestens 10 und bis zu alle in den Tabelle IB, IIB, IIIB und IV dargestellten Gene, die für CCC spezifisch sind als Target nutzt. Bevorzugt verwendet man mindestens 1, mehr bevorzugt mindestens 5 und noch mehr bevorzugt mindestens 10 der in den Tabellen IB, IIB und/oder IIIB, insbesondere der in

25 den Tabellen IB und/oder IIB dargestellten Gene. Am meisten bevorzugt wird eine Differenzierung zwischen CCC und HCC mit allen 42 in den Tabellen IB, IIB und IIIB dargestellten Genen durchgeführt. Die in den Tabellen IB, IIB, IIIB und IV dargestellten Gene können aber auch genutzt werden, um das CCC im Gegensatz zu Normalgewebe oder nicht-malignen

30 Gewebe zu unterscheiden.

Das Vorhandensein eines konsistenten Musters genetischer Veränderungen beim CCC, wie es erfindungsgemäß festgestellt worden ist, bietet prinzipiell die Möglichkeit, verschiedene Stadien, Ursachen oder/und Subgruppen des CCC im Hinblick auf bestimmte genetische Muster zu untersuchen. So kann hier z.B. ein Hinweis auf die Wahrscheinlichkeit der Entstehung eines bösartigen Tumors aus bereits vorgeschädigtem Gewebe gegeben werden (Prognose). Ein solches Muster bietet zudem auch die Möglichkeit, bei der histologischen Unterscheidung zwischen Tumorzellen und nicht malignen transformierten Zellen eindeutig zu differenzieren. So kann eine weitgehend untersucherunabhängige Diagnose gestellt werden (GenCluster-Analyse - Genompathologie, Genprofilpathologie). Weiterhin können anhaltend überexprimierte Gene (bzw. die von ihnen codierten Proteine) als wesentlich spezifischere und - wenn sie bereits in frühen Stadien der Tumorentstehung auftauchen - sensitivere Tumormarker als die bislang bekannten und angewandten fungieren. Die selektierten Gene können auch als Kopplungsstelle für potenzielle therapeutische Targets benutzt werden.

Erfindungsgemäß ist es weiterhin möglich, zwischen verschiedenen Formen bzw. Subgruppen von CCC zu differenzieren. Da bei frühen Tumorstadien eine chirurgische Therapie erfolversprechender ist, sind frühzeitige Prognoseparameter für CCC, wie durch die erfindungsgemäßen Gene und insbesondere die erfindungsgemäßen Clusteranalysen bereitgestellt, für eine erfolgreiche Therapie von essenzieller Wichtigkeit. Weiterhin kann erfindungsgemäß ein gezieltes Screening von Risikogruppen mit Hilfe der hierin bereitgestellten Daten erfolgen. Weiterhin hervorzuheben ist die Möglichkeit, einen Serummarker für die Entstehung eines CCCs bereitzustellen sowie die Möglichkeit eines auf den hierin präsentierten Daten basierenden Anti-CCC-Impfstoffes für die genannten Risikogruppen.

Ein weiterer Vorteil der mit der vorliegenden Erfindung erhalten werden kann, ist, dass mit den erfindungsgemäß bereitgestellten Genen eine

Risikogruppendiagnose durchgeführt werden kann. Hierzu werden beispielsweise Patienten untersucht und anhand der über- oder unterexprimierten Gene in entsprechende Risikogruppen eingeteilt.

5 Aus den in den Tabellen dargestellten Gene sind foetal exprimierte Gene als Tumormarker von besonderem Interesse. Für Therapieansätze eignen sich insbesondere Gene, die für Rezeptoren codieren sowie Onkogene als auch in den Zellzyklus involvierte Gene (cdc) und Signaltransduktionselemente.

10 Werden die Genprodukte (Proteine) oder ein Teil davon ins Blut sezerniert, so besteht ein enorm hohes Potenzial für ein einfaches Detektionsverfahren für die Entstehung eines CCC. Mit Hilfe dieser Marker bzw. dieses Detektionsverfahrens können beispielsweise in Form eines einfachen Serumbluttests Risikopatienten auf die Entstehung eines CCC problemlos,
15 sicher und schnell getestet werden. In der Folge könnte bei einem positiven Detektionstest dann eine weitere spezifisch auf das Ergebnis dieses Tests abgestimmte Diagnostik oder/und Therapie durchgeführt werden. Eine Detektion von tumorspezifischen Zelloberflächenproteinen ist damit ebenso möglich.

20 Die Erfindung umfasst somit Gensequenzen als diagnostisches Nachweisverfahren und als potenzielle therapeutische Angriffspunkte im Zusammenhang mit einem CCC sowie ein CCC-spezifisches Cluster aus z.B. 143 Genen (Indikatorgene - Genompathologie) als einzigartiges
25 diagnostisches Instrument.

Der wirtschaftliche Nutzen ergibt sich einerseits z.B. in der Benutzung der Expressionsmuster als Detektionsverfahren für die molekulare Tumoridentifikation (spezifische Serummarker, spezifische GenCluster,
30 immunhistochemische Marker), andererseits können jene Gene, welche als geeignet für therapeutische Ansätze für molekulare Therapien wie

Gentherapie und/oder Tumorstabilisierung angesehen werden, entsprechend geprüft und zur Therapieentwicklung herangezogen werden.

Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur Diagnose von CCC, bei
5 den man in einer Probe die Menge an mindestens einer Nukleinsäure, mehr bevorzugt an mindestens 2 Nukleinsäuren, noch mehr bevorzugt an mindestens 5 Nukleinsäuren, die in Tabelle I, II, III oder/und IV gezeigt sind bzw. eines davon codierten Proteins bestimmt.

10 Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Therapie von CCC, bei dem man die Menge an mindestens einer Nukleinsäure, die in Tabelle I, II, III oder/und IV gezeigt sind oder eines davon codierten Proteins beeinflusst. Die Beeinflussung kann eine Erhöhung oder Verminderung der Menge umfassen, beispielweise durch Zugabe der mindestens einen Nukleinsäure
15 bzw. eines davon codierten Proteins (insbesondere bei herabregulierten Genen der Tabellen II oder/und III) oder durch Abfangen von in Überschuss produzierten Genen oder davon codierten Proteinen, beispielsweise durch Antisense-Moleküle oder geeignete Antikörper (insbesondere bei heraufregulierten Genen der Tabellen I oder/und IV).

20 Die Erfindung umfasst weiterhin ein CCC-spezifisches Cluster bzw. ein mit CCC assoziiertes Expressionsprofil, welches mindestens 5, insbesondere mindestens 10 und bis zu alle der Gene Tabelle IA, IIA und/oder IIIA umfasst.

25 In den Tabellen sind die mittels Genchipanalyse identifizierten Gene dargestellt. In den Tabellen sind die Datenbankzugangsnummern der Gene sowie die Bezeichnung der Gene bzw. das von ihnen codierte Polypeptid bzw. EST Nummer angegeben.

30 Die Tabelle IA zeigt Gene, die in humanem CCC, verglichen mit nicht krebsartigen Leberzellen spezifisch heraufreguliert sind, und zwar in 100 %

der untersuchten Patienten um mindestens das 2-fache. Ebenfalls angegeben ist das Ausmaß der Heraufregulierung.

5 Tabelle IB zeigt diejenigen Gene aus Tabelle IA, die beim CCC verglichen mit humanem primärem HCC, in 100 % der untersuchten CCC-Patienten differenziell exprimiert werden.

10 Tabelle IIA zeigt Gene, die bei 100 % der untersuchten CCC-Patienten im Vergleich zu normalem Lebergewebe herabreguliert sind.

15 Tabelle IIB zeigt davon wiederum die Gene, die beim CCC im Vergleich zu humanem primärem HCC in 100 % der CCC-Patienten differenziell exprimiert werden.

20 Tabelle IIIA zeigt Gene, die beim CCC, verglichen mit nicht krebsartigen Leberzellen, spezifisch bei 80 % der Patienten herabreguliert sind.

25 Tabelle IIIB zeigt davon wiederum die Gene, die beim CCC im Vergleich zum HCC in 80 % der CCC-Patienten differenziell exprimiert werden.

30 Tabelle IV zeigt Gene, die im CCC heraufreguliert und im HCC nicht differenziell reguliert sind.

Die Erfindung wird durch folgende Beispiele und Figuren weiter erläutert.

25 Bei den Genexpressionsanalysen handelt es sich um eine Auswahl der signifikant über- (Rottöne) und unterexprimierten (Grüntöne) Gene (vertikal aufgetragen) aus den jeweiligen Gewebeproben (horizontal dargestellt). Die Farben verdeutlichen die signifikanten Unterschiede in den Aktivitäten der Gene. Eindrucksvoll kann nicht nur Tumorgewebe von "normalem"
30 Lebergewebe unterschieden werden, sondern ebenso eine eindeutige Differenzierung zwischen gutartigen Leberveränderungen (Adenomen) oder

Metastasen eines Kolonkarzinoms oder dem hepatozellulären Karzinom (Tumor = HCC) und CCC vorgenommen werden.

Figur 1 zeigt eine Genclusteranalyse eines CCC im Vergleich zu nicht malignem Gewebe basierend auf 143 Genen der Tabellen IA, IIA und IIIA. Jede Spur in der Figur zeigt eine Gewebeprobe, die einzelnen Farbpixel pro Spur jeweils ein Gen bzw. ein Hybridisierungssignal. In den einzelnen Spuren sind CCC-Tumorgewebe (TU) bzw. nicht malignes Gewebe (NG) aufgetragen. Ein roter Farbpixel bedeutet, dass das entsprechende Gen in der Probe überexprimiert ist, ein grüner Farbpixel, dass das entsprechende Gen unterexprimiert ist. Eingesetzt wurden 143 Gene, welche die stärkste differenzielle Differenzierung zwischen den beiden Geweben erlaubten. Ziel der Untersuchung war es, eine möglichst eindeutige Differenzierung zwischen Tumorgewebe und nicht malignem Gewebe auf möglichst einfachem Wege zu erhalten. Aus Figur 1 kann man deutlich ersehen, dass auf einfache Weise eine Unterscheidung der verschiedenen Zelltypen, selbst für einen Laien oder ungeschultes Personal, möglich ist.

Beispiel 1 Bestimmung von Genen, die in CCC herauf- oder herabreguliert sind

Es wurde ein Chip mit ca. 22.000 menschlichen Gensonden eingesetzt, wobei die Selektion durch spezifische Hybridisierung mit hochgereinigtem Leberkrebsgewebe (RNA) erfolgte. Dabei wurde auf hohe Stringenz, hohe Robustheit und hohe Konsistenz sowie Spezifität geachtet. Durch die primär digitale Aufbereitung der Daten ist eine Clusteranalyse mit hoher Spezifität möglich. Darauf beruht die letztendliche Selektion (durch stringente Auswahlkriterien) einzelner Gene aus der Basis von mehreren tausend untersuchten Genen.

Tabelle IA > 2fach heraufregulierte Gene in 100 % der Patienten

Accession Nr.	Gen-Name	durchschnittliche Veränderung xfach
1 Z74616	Collagen, Typ I, alpha 2	20,8
2 NM_000088	Collagen, Typ I, alpha 1	15,1
3 J02814	Chondroitinsulfatproteoglycan 2 (versican)	13,0
4 NM_001067	Topoisomerase (DNA) II alpha (170 kD)	12,0
5 X15998	Chondroitinsulfatproteoglycan 2 (versican)	11,6
6 M12125	Tropomyosin 2 (beta)	10,5
7 AF282626	Latexinprotein	7,5
8 AK025912	Collagen, Typ IV, alpha 2	7,0
9 NM_000393	Collagen, Typ V, alpha 2	6,8
10 BF590263	Chondroitinsulfatproteoglycan 2 (versican)	5,4
11 AI983428	Collagen, Typ V, alpha 1	4,6
12 Y12653	Diubiquitin	4,2
13 X03124	Gewebeinhibitor von Metalloproteinase 1 (Erythroid potenzierende Aktivität, Collagenaseinhibitor)	4,0
14 U89942	Lysyloxidase-like 2	2,7

25

Tabelle 1B differenziell exprimierte Gene im CCC versus HCC in 100 %
der Patienten

Accession Nr.	Gen-Name	durchschnittliche Veränderung xfach
1 NM_000088	Collagen, Typ I, alpha 1	15,1
2 J02814	Chondroitinsulfatproteoglycan 2 (versican)	13,0
3 X15998	Chondroitinsulfatproteoglycan 2 (versican)	11,6
4 AF282626	Latexinprotein	7,5
5 NM_000393	Collagen, Typ V, alpha 2	6,8
6 BF590263	Chondroitinsulfatproteoglycan 2 (versican)	5,4
7 AI983428	Collagen, Typ V, alpha 1	4,6
8 X03124	Gewebeinhibitor der Metallproteinase 1 (Erythroid potenzierende Aktivität, Collagenaseinhibitor)	4,0
9 U89942	Lysyloxidase-like 2	2,7

Tabelle II A_CCC >2 fach herunterregulierte Gene in 100 % der Patienten

Accession Nr.	Gen Name	durchschnittliche Veränderung x fach
1 AB017551	fetuin B	-16,2
2 AF116651	hypothetical protein PRO0800	-12,0
3 AF101477	glycine N-methyltransferase	-9,3
4 AV647713	tyrosine aminotransferase	-8,8
5 U77086	solute carrier family 22 (organic cation transporter), member 1	-7,9
6 AF110330	breast cell glutaminase	-6,8
7 AF091582	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 11	-6,4
8 AF182275	cytochrome P450, subfamily IIA (phenobarbital-inducible), polypeptide 6	-6,3
9 M21758	glutathione S-transferase A2	-5,9
10 U22029	cytochrome P450, subfamily IIA (phenobarbital-inducible), polypeptide 7	-5,8
11 AB045829	aldo-keto reductase family 1, member C4 (chlordecone reductase; 3-alpha hydroxysteroid dehydrogenase)	-5,8
12 AW024233	glycine-N-acyltransferase	-5,5
13 T67741	cytochrome P450, subfamily IIA (phenobarbital-inducible), polypeptide 6	-5,4
14 X65962	cytochrome P450, subfamily IIC (mephenytoin 4-hydroxylase), polypeptide 19	-5,2
15 AF261715	folate hydrolase (prostate-specific membrane antigen) 1	-5,2
16 M33318	cytochrome P450, subfamily IIA (phenobarbital-inducible), polypeptide 6	-5,0
17 AC004522	Homo sapiens PAC clone RP4-604G5 from 7q22-q31.1	-5,0
18 J05037	serine dehydratase	-5,0
19 U50929	betaine-homocysteine methyltransferase	-4,7
20 AF237982	oxysterol 7alpha-hydroxylase	-4,6
21 U96876	insulin induced gene 1	-4,4
22 X13929	EST	-4,4
23 M99487	folate hydrolase (prostate-specific membrane antigen) 1	-4,3
24 AF148505	aldehyde dehydrogenase 6 family, member A1	-3,9
25 X95190	acyl-Coenzyme A oxidase 2, branched chain	-3,8
26 NM_006944	secreted phosphoprotein 2, 24kD	-3,6
27 AF323990	cytosolic beta-glucosidase	-3,6
28 AW168915	Homo sapiens prostate-specific membrane antigen PSM mRNA, exon 6 alternative splice variant, partial	-3,4
29 AF136523	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 11	-3,3
30 AF250136	peroxisomal membrane protein 2 (22kD)	-3,1

Tabelle II A_CCC - Fortsetzung

31 AF152562	angiopoietin-like 3	-2,9
32 M84127	UDP glycosyltransferase 1 family, polypeptide A3	-2,7
33 M15331	cytochrome P450, subfamily IIC (mephenytoin 4-hydroxylase), polypeptide 9	-2,6
34 AY028632	catalase	-2,3

Tabelle II B_CCC_HCC **differenziell exprimierte Gene im CCC versus HCC in 100% der Patienten**

Accession Nr,	Gen Name	durchschnittliche Veränderung x fach
1 AB045829	aldo-keto reductase family 1, member C4 (chlordecone reductase; 3-alpha hydroxysteroid dehydrogenase	-5,8
2 X65962	cytochrome P450, subfamily IIC (mephenytoin 4-hydroxylase), polypeptide 19	-5,4
3 AF136523	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 11	-3,3
4 M84127	UDP glycosyltransferase 1 family, polypeptide A3	-2,7
5 AY028632	catalase	-2,3

Tabelle III A_CCC

>2 fach herunterregulierte Gene in 80 % der Patienten

Accession Nr,	Gen Name	durchschnittliche Veränderung x fach
1 D13368	alanine-glyoxylate aminotransferase (oxalosis I; hyperoxaluria I; glycolicaciduria; serine-pyruvate	-26,0
2 AF064255	very long-chain acyl-CoA synthetase homolog 2	-25,1
3 AV695711	sialyltransferase 1 (beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransferase)	-19,6
4 M12849	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade D (heparin cofactor), member 1	-16,8
5 AF016495	aquaporin 9	-16,7
6 M16961	alpha-2-HS-glycoprotein	-16,7
7 AF223225	3-hydroxysteroid epimerase	-16,3
8 X69078	methionine adenosyltransferase I, alpha	-16,1
9 AF245219.2	CD209 antigen-like	-15,7
10 S70004	glycogen synthase 2 (liver)	-14,1
11 AK001709	hypothetical protein FLJ10847	-13,8
12 AF182274	cytochrome P450, subfamily I (aromatic compound-inducible), polypeptide 2	-13,4
13 Z28339	aldo-keto reductase family 1, member D1 (delta 4-3-ketosteroid-5-beta-reductase)	-13,3
14 AF153821	alcohol dehydrogenase IB (class I), beta polypeptide	-12,6
15 AF162690	transthyretin (prealbumin, amyloidosis type I)	-12,6
16 AF052732	formyltetrahydrofolate dehydrogenase	-12,0
17 M74220	plasminogen	-11,8
18 M29874	cytochrome P450, subfamily IIB (phenobarbital-inducible), polypeptide 6	-11,6
19 Z70723	paraoxonase 1	-11,5
20 W80357	carbamoyl-phosphate synthetase 1, mitochondrial	-11,3
21 AL354872	cystathionase (cystathionine gamma-lyase)	-9,7
22 U32989	tryptophan 2,3-dioxygenase	-9,6
23 BC005844	3-hydroxybutyrate dehydrogenase (heart, mitochondrial)	-9,3
24 AF305814	solute carrier family 38, member 4	-9,3
25 X92720	phosphoenolpyruvate carboxykinase 2 (mitochondrial)	-8,1
26 X51823	coagulation factor XIII, B polypeptide	-7,9

Tabelle III A_CCC - Fortsetzung

27 AF113123	carbonyl reductase	-7,8
28 AF280109	cytochrome P450 polypeptide 43	-7,8
29 AI732905	ESTs, Weakly similar to PROSTATIC SPERMINE-BINDING PROTEIN PRECURSOR [M.musculus]	-7,7
30 J05594	hydroxyprostaglandin dehydrogenase 15-(NAD)	-7,6
31 AB026256	solute carrier family 21 (organic anion transporter), member 9	-7,4
32 L27050	apolipoprotein F	-7,0
33 AB013094	N-acetyltransferase 8 (camello like)	-6,9
34 M16541	butyrylcholinesterase	-6,9
35 AK024848	hypothetical protein FLJ21195 similar to protein related to DAC and cerberus	-6,5
36 X52520	tyrosine aminotransferase	-6,5
37 BE971373	cytochrome P450, subfamily IIC (mephenytoin 4-hydroxylase), polypeptide 9	-6,5
38 N54942	ESTs	-6,2
39 AF010248	guanidinoacetate N-methyltransferase	-6,2
40 X56088	cytochrome P450, subfamily VIIA (cholesterol 7 alpha-monooxygenase), polypeptide 1	-6,2
41 AF162428	sarcosine dehydrogenase	-6,2
42 AB026257	solute carrier family 21 (organic anion transporter), member 6	-6,2
43 L11701	glycosylphosphatidylinositol specific phospholipase D1	-6,1
44 Z30425	nuclear receptor subfamily 1, group I, member 3	-6,1
45 U66495	leptin receptor	-5,9
46 NM_000689	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1	-5,9
47 L34081	bile acid Coenzyme A: amino acid N-acyltransferase (glycine N-choyltransferase)	-5,9
48 AF182273	cytochrome P450, subfamily IIIA (nifedipine oxidase), polypeptide 4	-5,8
49 AF000573	homogentisate 1,2-dioxygenase (homogentisate oxidase)	-5,8
50 M29873	cytochrome P450, subfamily IIB (phenobarbital-inducible), polypeptide 7	-5,7
51 U12778	acyl-Coenzyme A dehydrogenase, short/branched chain	-5,7
52 D31815	regucalcin (senescence marker protein-30)	-5,6
53 K02100	ornithine carbamoyltransferase	-5,5
54 U52914	leptin receptor	-5,5
55 AL574184	hydroxyprostaglandin dehydrogenase 15-(NAD)	-5,2
56 AF239613	potassium intermediate/small conductance calcium-activated channel, subfamily N, member 2	-5,1
57 D16626	histidine ammonia-lyase	-5,0

Tabelle III A_CCC - Fortsetzung

58 AF161454	apolipoprotein M	-5,0
59 D12485	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1	-4,9
60 AJ245434	apolipoprotein M	-4,6
61 L23928	serine hydroxymethyltransferase 1 (soluble)	-4,6
62 U11079	cold shock domain protein A	-4,5
63 AB042410	G-protein coupled receptor 88	-4,5
64 AV652420	cytochrome P450, subfamily I1C (mephenytoin 4-hydroxylase), polypeptide 9	-4,5
65 S52784	cystathionase (cystathionine gamma-lyase)	-4,4
66 L48516	paraoxonase 3	-4,3
67 BE300521	insulin induced gene 1	-4,2
68 U63296	hydroxyprostaglandin dehydrogenase 15-(NAD)	-4,1
69 AL547946	progesterone receptor membrane component 1	-4,0
70 U49082	solute carrier family 38, member 3	-3,8
71 M84402	alcohol dehydrogenase 6 (class V)	-3,8
72 AI003579	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, GABA), member 1	-3,8
73 AI478172	homogentisate 1,2-dioxygenase (homogentisate oxidase)	-3,8
74 AF232009	peroxisomal trans 2-enoyl CoA reductase; putative short chain alcohol dehydrogenase	-3,7
75 X06399	cytochrome P450, subfamily I1B (phenobarbital-inducible), polypeptide 6	-3,6
76 J03058	argininosuccinate lyase	-3,6
77 BC002477	KIAA1630 protein	-3,6
78 M80482	paired basic amino acid cleaving system 4	-3,5
79 AK023446	EST	-3,4
80 X04300	cytochrome P450, subfamily I (aromatic compound-inducible), polypeptide 1	-3,3
81 N54448	translational inhibitor protein p14.5	-3,2
82 M95585	hepatic leukemia factor	-3,2
83 S69232	electron-transferring-flavoprotein dehydrogenase	-3,1
84 BE300521	insulin induced gene 1	-3,1
85 AF051852	UDP-N-acetylglucosamine-2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase	-3,1
86 U43168	leptin receptor	-2,9
87 D88308	fatty-acid-Coenzyme A ligase, very long-chain 1	-2,9
88 AF087853	growth arrest and DNA-damage-inducible, beta	-2,8

Tabelle III A_CCC - Fortsetzung

89 AF233336	epoxide hydrolase 2, cytoplasmic	-2,8
90 M36532	carbonic anhydrase II	-2,6
91 BC015520	ribonuclease, RNase A family, 4	-2,5
92 AF113128	steroid-5-alpha-reductase, alpha polypeptide 1 (3-oxo-5 alpha-steroid delta 4-dehydrogenase alpha 1)	-2,5
93 AJ277280	hepcidin antimicrobial peptide	-2,5
94 D16350	SA hypertension-associated homolog (rat)	-2,4
95 J02639	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 5	-2,2

Tabelle III B_CCC_HCC

differentiell exprimierte Gene im CCC versus HCC in 80 % der Patienten

Accession Nr,	Gen Name	durchschnittliche Veränderung x fach
1 M12849	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade D (heparin cofactor), member 1	-16,8
2 AK001709	hypothetical protein FLJ10847	-13,8
3 BC005844	3-hydroxybutyrate dehydrogenase (heart, mitochondrial)	-9,3
4 AB026256	solute carrier family 21 (organic anion transporter), member 9	-7,4
5 AK024848	hypothetical protein FLJ21195 similar to protein related to DAC and cerberus	-6,5
6 X56088	cytochrome P450, subfamily VIIA (cholesterol 7 alpha-monooxygenase), polypeptide 1	-6,2
7 AF162428	sarcosine dehydrogenase	-6,2
8 L11701	glycosylphosphatidylinositol specific phospholipase D1	-6,1
9 NM_000689	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1	-5,9
10 U12778	acyl-Coenzyme A dehydrogenase, short/branched chain	-5,7
11 D31815	regucalcin (senescence marker protein-30)	-5,6
12 K02100	ornithine carbamoyltransferase	-5,5

Tabelle III B_CCC_HCC

13 U52914	leptin receptor	-5,5
14 L23928	serine hydroxymethyltransferase 1 (soluble)	-4,6
15 U11079	cold shock domain protein A	-4,5
16 AB042410	G-protein coupled receptor 88	-4,5
17 U63296	hydroxyprostaglandin dehydrogenase 15-(NAD)	-4,1
18 AL547946	progesterone receptor membrane component 1	-4,0
19 U49082	solute carrier family 38, member 3	-3,8
20 M84402	alcohol dehydrogenase 6 (class V)	-3,8
21 AI003579	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, GABA), member 1	-3,8
22 AI478172	homogentisate 1,2-dioxygenase (homogentisate oxidase)	-3,8
23 AF232009	peroxisomal trans 2-enoyl CoA reductase; putative short chain alcohol dehydrogenase	-3,7
24 X06399	cytochrome P450, subfamily IIB (phenobarbital-inducible), polypeptide 6	-3,6
25 BC002477	KIAA1630 protein	-3,6
26 X04300	cytochrome P450, subfamily I (aromatic compound-inducible), polypeptide 1	-3,3
27 M95585	hepatic leukemia factor	-3,2
28 BC015520	ribonuclease, RNase A family, 4	-2,5

Tabelle IV

Gene die im Hepatozellulären Karzinom (HCC) nicht differentiell reguliert sind und gleichzeitig im Cholangiozellulärem Karzinom (CCC) in 100 % der Fälle heraufreguliert sind.

Anzahl	Chip Ident Nr.	Accession Nr.	Gen Bezeichnung	durchschn. Veränderung x-fach
1	201650_at	NM_002276.1	keratin 19	110,4
2	202826_at	NM_003710.1	hepatocyte growth factor activator inhibitor precursor	24,5
3	209524_at	NM_016073.1	CGI-142	16,6
4	204990_s_at	NM_000213.1	integrin, beta 4	13,8
5	203397_s_at	BF063271	polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 3	12,4
6	211184_s_at	AB006955.1	PDZ-73 protein	11,0
7	219564_at	NM_018658.1	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 16	10,8
8	219513_s_at	NM_005490.1	SH2 domain-containing 3A	9,7
9	212256_at	BE906572	hypothetical protein DKFZp586H0623	9,6
10	201462_at	NM_014766.1	KIAA0193 gene product	9,2
11	219850_s_at	NM_012153.1	ets homologous factor	9,0
12	209153_s_at	M31523.1	Human transcription factor (E2A) mRNA,	8,4
13	205137_x_at	NM_005709.1	PDZ-73 protein	8,1
14	202267_at	NM_005562.1	laminin, gamma 2, isoform a precursor	8,1
15	209215_at	L11669.1	tetracycline transporter-like protein	7,8
16	221173_at	NM_025034.1	hypothetical protein FLJ21290	7,3
17	220468_at	NM_025047.1	hypothetical protein FLJ22595	7,1
18	218376_s_at	NM_022765.1	CasL interacting molecule	6,5
19	204202_at	NM_017604.1	hypothetical protein DKFZp434I0118	6,4
20	31845_at	U32645	E74-like factor 4 (ets domain transcription factor)	6,3
21	209369_at	M63310.1	annexin A3	6,0
22	210715_s_at	AF027205.1	serine protease inhibitor, Kunitz type, 2	5,7
23	209270_at	L25541.1	laminin subunit beta 3 precursor	5,7
24	209675_s_at	BC004242.1	E1B-55kDa-associated protein 5	5,6
25	211657_at	M18728.1	Human nonspecific crossreacting antigen mRNA, complete cds.	5,6
26	209892_at	AF305083.1	ConHomo sapiens alpha(1,3)-fucosyltransferase IV (FUTIV) gene,	5,5

27	204718_at	NM_004445.1	ephrin receptor EphB6 precursor	5,4
28	1007_s_at	U48705	discoidin receptor tyrosine kinase isoform b	5,4
29	212336_at	AB002336.1	Consensus includes erythrocyte membrane protein band 4.1-like 1	5,1
30	208779_x_at	L20817.1	discoidin receptor tyrosine kinase isoform b	4,8
31	210150_s_at	BC003355.1	laminin alpha 5	4,3
32	210749_x_at	L11315.1	discoidin receptor tyrosine kinase isoform b	4,3
33	215287_at	AA975427	Consensus includes Homo sapiens ELISC-1 mRNA, partial cds	3,4
34	210933_s_at	BC004908.1	hypothetical protein MGC4655	3,4
35	222240_s_at	AL137749.1	myo-inositol 1-phosphate synthase A1	3,4
36	214705_at	AJ001306.1	PDZ domain protein (Drosophila inaD-like)	3,3
37	218456_at	NM_023925.1	hypothetical protein FLJ22569	3,3
38	213244_at	AI207792	secretory carrier membrane protein 4	3,2
39	208540_x_at	NM_021039.1	calcizarrin	3,1
40	210910_s_at	BC000487.1	POM (POM121 rat homolog) and ZP3 fusion	2,9
41	211066_x_at	BC006439.1	protocadherin gamma subfamily C, 3, isoform 1	2,9
42	210260_s_at	BC005352.1	TNF-induced protein	2,8
43	201406_at	NM_021029.1	ribosomal protein L36a	2,8
44	211942_x_at	BF979419	Consensus includes ribosomal protein L13a	2,8
45	201412_at	NM_014045.1	DKFZP564C1940 protein	2,8
46	205328_at	NM_006984.1	claudin 10	2,7
47	212079_s_at	NM_005933.1	myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia (trithorax homolog, Drosophila); tran	2,7
48	201411_s_at	NM_017958.1	hypothetical protein FLJ20783	2,7
49	208161_s_at	NM_020037.1	ATP-binding cassette, sub-family C, member 3,	2,6
50	201746_at	NM_000546.2	tumor protein p53	2,5
51	44654_at	AI669655	Cluster Incl. Homo sapiens cDNA, 3 end /clone	2,5
52	219359_at	NM_025092.1	hypothetical protein FLJ22635	2,5
53	207966_s_at	NM_012201.1	golgi apparatus protein 1	2,5
54	221580_s_at	BC001972.1	hypothetical protein MGC5306	2,4
55	213720_s_at	AI831675	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin a4	2,3
56	213890_x_at	AI200589	ribosomal protein S16	2,3
57	203688_at	NM_000297.1	polycystin 2	2,3
58	209549_s_at	BC001121.1	deoxyguanosine kinase, isoform c precursor	2,3
59	203286_at	NM_014901.1	KIAA1100 protein	2,2
60	212537_x_at	BE733979	ribosomal protein L17	2,2

61	201410_at	AI983043	hypothetical protein FLJ20783 /FL=gb:NM_017958.1	2,2
62	201874_at	BF978611	hypothetical protein FLJ21047	2,1
63	212790_x_at	BF942308	ribosomal protein L13a	2,1
64	201871_s_at	NM_015853.1	unknown protein LOC51035	2,1
65	217986_s_at	NM_013448.1	bromodomain adjacent to zinc finger domain, 1A	2,1
66	201080_at	BF338509	phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase type II beta,	2,0
67	203407_at	NM_002705.1	periplakin	2,0
68	212799_at	AF038202.1	Consensus includes Homo sapiens clone 23570 mRNA sequence	2,0
69	201049_s_at	NM_022551.1	ribosomal protein S18	2,0
70	222380_s_at	AI907083	Consensus includes gb:AI907083 /FEA=EST /DB_XREF=gi:6497611 /DB_XREF=est:PM-BT134-050499-650 /UG=Hs.124620 ESTs	2,0
71	213396_s_at	AA456929	A kinase (PRKA) anchor protein 10	1,9
72	201023_at	NM_005642.1	TATA box-binding protein-associated factor 2F	1,9
73	201850_at	NM_001747.1	capping protein (actin filament), gelsolin-like	1,9
74	201928_at	NM_003628.2	plakophilin 4	1,9
75	202421_at	AB007935.1	immunoglobulin superfamily, member 3	1,9
76	213084_x_at	BF125158	ribosomal protein S2	1,9
77	212037_at	Y09703.1	pinin, desmosome associated protein	1,9
78	212377_s_at	AU158495	Notch homolog 2	1,8
79	208760_at	NM_003345.1	Consensus includes Human DNA sequence from clone LA16-358B7 on chromosome 16	1,8
80	217720_at	NM_016139.1	16.7Kd protein	1,8
81	201665_x_at	NM_001021.1	ribosomal protein S17	1,8
82	211487_x_at	BC004886.1	ribosomal protein S17	1,8
83	213883_s_at	AA012917	beta-amyloid binding protein precursor	1,8
84	200809_x_at	NM_000976.1	ribosomal protein L12	1,8
85	210210_at	AF181660.1	myelin protein zero-like 1	1,7
86	200088_x_at	AK026491.1	FLJ22838 fis, clone KAI/A4494, highly similar to HUML12A Human ribosomal protein L12 mRNA.	1,7
87	204366_s_at	NM_001521.1	general transcription factor IIIC, polypeptide 2 (beta subunit, 110kD)	1,7
88	220467_at	NM_025032.1	hypothetical protein FLJ21272	1,6
89	213392_at	AW070229	Consensus includes ... protein-coupled receptor, family C, group 5, member B	1,6

Ansprüche

1. Verwendung mindestens einer Nukleinsäure, die
 - (i) in Tabelle I, II, III oder IV gezeigt ist,
 - (ii) einer Sequenz aus (i) im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entspricht,
 - (iii) eine Teilsequenz einer Sequenz aus (i) oder/und (ii) mit einer Länge von mindestens 20, insbesondere mindestens 25, vorzugsweise mindestens 50 und mehr bevorzugt mindestens 100 Nukleotiden aufweist,
 - (iv) mit einer Sequenz aus (i), (ii) oder/und (iii) unter stringenten Bedingungen hybridisiert oder/und
 - (v) eine zu einer Sequenz aus (i), (ii), (iii) oder/und (iv) komplementäre Sequenz aufweist,oder eines von einer solchen Nukleinsäure codierten Polypeptids als Target für das cholangioläre Karzinom (CCC).
2. Verwendung nach Anspruch 1 zur Diagnose von CCC.
3. Verwendung nach Anspruch 1 zur Therapie von CCC.
4. Verwendung nach Anspruch 1 in einem Screeningverfahren zur Identifizierung neuer Wirkstoffe für CCC.
5. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens 5 Nukleinsäuren eingesetzt werden.
6. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens 5 Targets, ausgewählt aus Nukleinsäuren, die

- (i) in Tabelle I gezeigt sind,
(ii) einer Sequenz aus (i) im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entsprechen,
(iii) Teilsequenzen davon mit einer Länge von mindestens 25, vorzugsweise mindestens 50 und mehr bevorzugt mindestens 100 Nukleotiden aufweisen,
(iv) mit einer Sequenz aus (i), (ii) oder/und (iii) unter stringenten Bedingungen hybridisieren oder/und
(v) eine zu einer Sequenz aus (i), (ii), (iii) oder/und (iv) komplementäre Sequenz aufweisen und
davon codierten Polypeptiden sowie mindestens 5 Targets, ausgewählt aus Nukleinsäuren, die
(i) in Tabelle II gezeigt sind,
(ii) einer Sequenz aus (i) im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entsprechen,
(iii) Teilsequenzen davon mit einer Länge von mindestens 25, vorzugsweise mindestens 50 und mehr bevorzugt mindestens 100 Nukleotiden aufweisen,
(iv) mit einer Sequenz aus (i), (ii) oder/und (iii) unter stringenten Bedingungen hybridisieren oder/und
(v) eine zu einer Sequenz aus (i), (ii), (iii) oder/und (iv) komplementäre Sequenz aufweisen
und davon codierten Polypeptiden eingesetzt werden.

7. Verwendung nach Anspruch 6,
dadurch gekennzeichnet,
dass mindestens 5 Targets, insbesondere mindestens 7 Targets, ausgewählt aus Nukleinsäuren, die
(i) in Tabelle IB gezeigt sind,
(ii) einer Sequenz aus (i) im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entsprechen,

- (iii) Teilsequenzen davon mit einer Länge von mindestens 25, vorzugsweise mindestens 50 und mehr bevorzugt mindestens 100 Nukleotiden aufweisen,
- (iv) mit einer Sequenz aus (i), (ii) oder/und (iii) unter stringenten Bedingungen hybridisieren oder/und
- 5 (v) eine zu einer Sequenz aus (i), (ii), (iii) oder/und (iv) komplementäre Sequenz aufweisen und/oder davon codierten Polypeptiden sowie mindestens 2 Targets, insbesondere mindestens 4 Targets, ausgewählt aus Nukleinsäuren,
- 10 die
- (i) in Tabelle IIB gezeigt sind,
- (ii) einer Sequenz aus (i) im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entsprechen,
- (iii) Teilsequenzen davon mit einer Länge von mindestens 25,
- 15 vorzugsweise mindestens 50 und mehr bevorzugt mindestens 100 Nukleotiden aufweisen,
- (iv) mit einer Sequenz aus (i), (ii) oder/und (iii) unter stringenten Bedingungen hybridisieren oder/und
- (v) eine zu einer Sequenz aus (i), (ii), (iii) oder/und (iv)
- 20 komplementäre Sequenz aufweisen und/oder davon codierten Polypeptiden eingesetzt werden.

8. Verwendung nach Anspruch 6 oder 7,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
25 dass ein CCC-spezifisches Muster mindestens bestehend aus den Genen der Tabelle IA, der Tabelle IIA, und der Tabelle IIIA eingesetzt wird.

9. Verwendung mindestens einer Nukleinsäure, die
30 (i) in Tabelle IB, IIB, IIIB oder IV gezeigt ist,
(ii) einer Sequenz aus (i) im Rahmen der Degeneration des genetischen Codes entspricht,

- (iii) eine Teilsequenz einer Sequenz aus (i) oder/und (ii) mit einer Länge von mindestens 20, insbesondere mindestens 25, vorzugsweise mindestens 50 und mehr bevorzugt mindestens 100 Nukleotiden aufweist,
- 5 (iv) mit einer Sequenz aus (i), (ii) oder/und (iii) unter stringenten Bedingungen hybridisiert oder/und
- (v) eine zu einer Sequenz aus (i), (ii), (iii) oder/und (iv) komplementäre Sequenz aufweist,
- oder eines von einer solchen Nukleinsäure codierten Polypeptids zur
- 10 Differenzierung zwischen cholangiozellulärem Karzinom (CCC) und hepatozellulärem Karzinom (HCC).

10. Verfahren zur Diagnose von CCC,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
- 15 dass man in einer Probe die Menge an mindestens einer Nukleinsäure, die in Tabelle I, II, III oder/und IV gezeigt sind, bestimmt.
11. Verfahren nach Anspruch 12,
20 d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
dass man die Menge an mindestens 10, insbesondere mindestens 20, vorzugsweise mindestens 50 Nukleinsäuren, die in Tabelle I, II, III oder/und IV gezeigt sind, bestimmt.
- 25 12. Verfahren zur Therapie von CCC,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
dass man die Menge an mindestens einer Nukleinsäure, die in Tabelle I, II, III oder/und IV gezeigt sind, beeinflusst.
- 30 13. Verfahren nach Anspruch 12,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,

dass man eine Nukleinsäure beeinflusst ausgewählt aus Genen für Rezeptoren, Onkogenen, in den Zellzyklus involvierten Genen (cdc) oder/und Signaltransduktionselementen.

5 14. CCC-spezifischer Cluster, umfassend mindestens 5 Gene der Tabelle IB, und mindestens 2 Gene der Tabelle IIB.

15. Expressionsprofil, insbesondere zur Verwendung als diagnostisches Mittel, assoziiert mit CCC,
10 d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
dass es mindestens 5 der Gene der Tabelle IA um mindestens das 1,5fache erhöht und mindestens 5 der Gene der Tabelle IIA um mindestens das 2-fache verringert gegenüber nicht krebsartigen oder normalen Leberzellen aufweist.

15

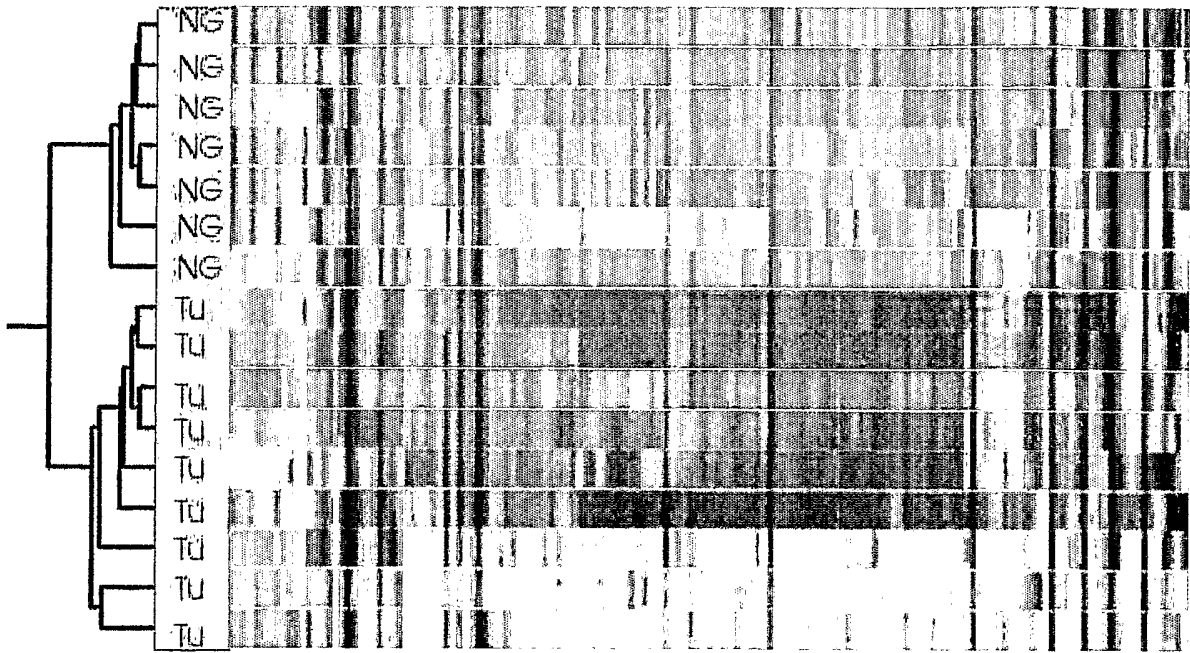


Abb. 1: Clusteranalyse von CCC vs Nicht malignem Gewebe basierend auf 143 Genen.