



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

EGFR-Aktivität in humanen Pankreaskarzinomzelllinien

Autor: Markus Kessler
Institut / Klinik: Chirurgische Klinik
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. E. Shang

Das duktales Pankreaskarzinom hat eine der schlechtesten Prognosen von allen humanen Malignomen. Vor allem das aggressive Wachstum, die hohe Rezidivrate, die frühzeitige Metastasierung sowie die spät auftretende Symptomatik und das damit einhergehende bei Diagnose meist fortgeschrittene Stadium der Erkrankung mit häufiger Inoperabilität, sowie die Chemotherapieresistenz sind Charakteristika dieses Tumors. Im Rahmen der Entschlüsselung der weiteren Tumorbilogie wurde eine erhöhte EGFR-Expression, die sich in verschiedenen Studien zwischen 30 und 100% bewegte, einhergehend mit einer erhöhten EGF- und/oder TGF α -Expression mit einem aggressiveren Wachstumsverhalten sowie einer schlechten Prognose in Verbindung gebracht. Aus dieser Erkenntnis heraus lag es nahe auch Anti-EGFR-Substanzen in der Therapie des Pankreaskarzinoms zu erproben. Jedoch erzielen EGFR-Inhibitoren bisher nur einen bescheidenen Überlebensvorteil in der Therapie von Pankreaskarzinomen. Die Überlebenszeit wird durch die Therapie mit EGFR-Inhibitoren nur in einer kleinen Anzahl von Patienten mit fortgeschrittenen Pankreaskarzinomen verlängert. Die Therapie mit Anti-EGFR-Substanzen scheint somit nicht für alle Pankreasadenokarzinompatienten geeignet. Aus diesem Grund stellt sich die Frage, welche Patienten von einer EGFR-Blockade profitieren und wie diese Patienten aus dem Kollektiv aller Pankreaskarzinompatienten herausgefiltert werden können. Die bisher gängigen Prädiktoren für die Wirksamkeit von Anti-EGFR-Substanzen sind unzureichend und stellen keine zuverlässigen Surrogatmarker dar, um eine Wirksamkeit von Anti-EGFR-Substanzen verlässlich vorhersagen zu können. Deshalb ist die weitere Suche eines zuverlässigen Surrogatmarkers von großer Bedeutung. In diesem Zusammenhang wurden von einigen Autoren Messungen der bisher stark vernachlässigten EGFR-Aktivität vorgeschlagen. In dieser Arbeit wurden sechs Zelllinien auf die Expression von EGFR auf RNA- und Proteinebene untersucht und mit der Rezeptorphosphorylierung verglichen. Die Rezeptoraktivität bzw. -phosphorylierung wurde mittels FRET zwischen fluoreszenzgekoppelten Antikörpern über die Technik des Rezeptorphotobleaching quantifiziert. In den Zelllinien konnten signifikante Unterschiede in der EGFR-Expression auf RNA- und Proteinebene dargestellt werden. Zwei der untersuchten Zelllinien zeigten eine deutliche Überexpression des EGFR auf RNA- und Proteinebene ohne jegliche Stimulation. Jedoch unterschied sich die Rezeptoraktivität in Abwesenheit jeglicher Liganden nicht signifikant von benignen Zelllinien. Unter Stimulation mit EGF, einem der physiologischen Liganden des EGFR, konnte jedoch eine deutliche Aktivitätszunahme in allen Zelllinien und sogar signifikante Unterschiede zwischen malignen und benignen Zellen, sowie zwischen den Pankreaskarzinomen untereinander verzeichnet werden. Somit konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass eine hohe Rezeptorexpression nicht zwangsläufig mit einer hohen Rezeptoraktivität in Pankreaskarzinomzelllinien einhergehen muss und die Methodik des FRET zwischen fluoreszenzgekoppelten Antikörpern gut geeignet ist um über die Technik des Rezeptorphotobleaching Aktivitätsanalysen von Rezeptoren durchzuführen. Vorteilhaft gegenüber etablierten Nachweisverfahren zur Bestimmung der Rezeptorphosphorylierung ist, dass die oben beschriebene Methode Untersuchungen einer Zelle ohne externe Kalibrierung ermöglicht. Die Analyse von Rezeptoraktivitäten könnte es ermöglichen, Patienten in Zukunft zu selektionieren und selektiv zu behandeln. Die EGFR-Phosphorylierung könnte ein zuverlässiger Surrogatmarker für die Behandlung von Patienten mit Anti-EGFR-Substanzen sein. Dies muss in weiteren Untersuchungen noch verifiziert werden.