

Maike Kristin Voss  
Dr. med.

## **Analyse der Mutationsfrequenz kodierender Mikrosatelliten in Mikrosatelliten- instabilen Kolonkarzinomen sporadischer Genese**

Geboren am 5.9.1983 in Bad Dürkheim  
Staatsexamen am 19.5.2010 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Magnus von Knebel Doeberitz

15 % aller kolorektalen Karzinome zeigen Mikrosatelliten-Instabilität (MSI). Zu einem geringen Anteil handelt es sich dabei um Karzinome im Kontext des HNPCC-Syndroms und wird durch Keimbahnmutation in einem der Gene des DNA-Mismatchreparatur-Systems hervorgerufen. Der weitaus größere Anteil von MSI-Kolonkarzinomen ist sporadischer Genese. Die funktionelle Inaktivierung des Mismatchreparatur-Systems erfolgt in diesem Fall durch Hypermethylierung von CpG-Inseln im Promotorbereich des *MLH1*-Gens. MSI-Kolonkarzinome sporadischer und hereditärer Genese zeigen einen ähnlichen klinikopathologischen Phänotyp, welcher sie von Mikrosatelliten-stabilen Kolonkarzinomen unterscheidet. Daneben weisen sie jedoch vor allem auf molekularer Ebene insbesondere bei der Expression bestimmter Onkogene wie *BRAF* und *KRAS* grundsätzliche Unterschiede auf. Neben diesen beiden Genen sind bislang jedoch keine weitere Gene bekannt, deren Expression in ähnlicher Weise charakteristisch für eine der beiden Tumorgruppen ist. Der Großteil der Forschung an MSI-Tumoren differenziert nicht eindeutig zwischen sporadischer und hereditärer Genese. Daher schien es naheliegend, Mutationsfrequenzen von Genen, die von potentieller Relevanz in der Tumorigenese Mikrosatelliten-instabiler Kolonkarzinome sind, an einem Kollektiv sporadischer MSI-Kolonkarzinome zu untersuchen. Dazu wurden aus einem unselektionierten Kollektiv von 326 kolorektalen Tumoren mittels MSI-Analyse, Immunhistochemie, BRAF-Mutationsanalyse sowie methylierungsspezifischer PCR des *MLH1*-Promotors die Mikrosatelliten-instabilen Kolonkarzinome sporadischer Genese herausgefiltert. Bei der anschließenden Mutationsfrequenz-Analyse wurden Gene untersucht, die kodierende Mononukleotidrepeats besitzen, da diese in Mismatchreparatur-defizienten Zellen besonders suszeptibel für Mutationen sind. Der Vergleich mit Literaturdaten gab Aufschluss über Unterschiede in der Mutationsfrequenz der entsprechenden Gene in beiden MSI-Kollektiven. Es zeigte sich, dass von 17 getesteten Genen zwei (*CASP5*, *NDUFC2*) eine signifikant höhere Mutationsfrequenz im sporadischen Kollektiv besaßen, als diese in der Literatur für MSI-Karzinome insgesamt beschrieben ist. Im direkten Vergleich des sporadischen MSI-Kollektivs mit einem entsprechenden Kollektiv ausschließlich HNPCC-assoziierter Kolonkarzinome bestätigte sich die signifikant höhere Mutationsfrequenz im sporadischen Kollektiv jedoch nur für *NDUFC2*. Bei *NDUFC2* handelt es sich um ein Gen, bei dem eine proapoptotische Funktion vermutet wird. Ein mutationsbedingter Ausfall von *NDUFC2* könnte demnach auf einen Selektionsvorteil für die betroffene Zelle hindeuten, welcher möglicherweise im sporadischen Kontext von besonderer Bedeutung. Ein weiteres Ergebnis der vorliegenden Arbeit war der Nachweis von Mutationen des für die HLA Klasse I-vermittelte Antigenpräsentation essentiellen Gens *B2M* in über 30 % sporadischer MSI-Tumoren, was darauf hindeutet, dass Immunselektionsmechanismen nicht nur bei HNPCC-assozierten, sondern auch bei sporadischen MSI-Tumoren eine wichtige Rolle spielen. Der Grund dafür liegt möglicherweise in der Zusammensetzung des Vergleichskollektivs bzw. in der Abhängigkeit der Mutationsfrequenz vom Tumorstadium sowie dem Vorliegen von

Fernmetastasierung. Insgesamt weisen die Ergebnisse der Mutationsfrequenzanalyse darauf hin, dass die Impfung mit carboxyterminalen Neopeptiden, ein neuer bislang noch experimenteller Therapieansatz in der Behandlung HNPCC-assoziiierter Kolonkarzinome, auch in der adjuvanten Therapie des Mikrosatelliten-instabilen Kolonkarzinoms sporadischer Genese zukünftig eine Therapieoption darstellen könnte. Außerdem zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass Frameshift-Peptid-basierte Diagnostikverfahren, wie sie für HNPCC-Tumorpatienten evaluiert werden, ebenfalls viel versprechende Ansätze für neue Konzepte in der Verlaufskontrolle sporadischer MSI-Tumoren darstellen.