

Anja Ursula Brüggemann  
Dr. med.

## **Nachweis von Hepatitis B-Virus-DNA in Leberzellkarzinomen westeuropäischer Patienten**

Geboren am 26.4.1972 in Rheine  
Staatsexamen am 9.10.1997 an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

Promotionsfach: Pathologie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Günter Herrmann

Das primäre Leberzellkarzinom ist eines der häufigsten Karzinome überhaupt. Die ätiologische Rolle einer Hepatitis B-Virus-Infektion ist unbestritten und bewiesen. In der Vergangenheit wurden besonders Patienten afrikanischer und asiatischer Herkunft untersucht.

In dieser Arbeit wurden 98 formalinfixierte, paraffineingebettete Präparate ausschließlich europäischer Patienten untersucht. Bei 42 Patienten, also etwa der Hälfte, stand außer dem Leberzellkarzinom-Gewebe noch Leberparenchym zur Verfügung.

Mittels Polymerase-Kettenreaktion wurde Hepatitis B-Virus-DNA nachgewiesen, nachdem der zunächst durchgeführte Nachweis von  $\beta$ -Globin in 93 von 98 (94,90%) aller Tumorproben und in 39 von 42 (92,86%) aller Leberparenchymproben gelang. Auch beim darauffolgenden Nachweis von HBV-DNA stellte sich heraus, dass die PCR auch bei fast 30jährigen formalinfixierten, paraffineingebetteten Proben eine zuverlässige Nachweismethode darstellt.

Beim Southern Blot wurden neben radioaktiv markierten auch Digoxigenin-markierte Sonden verwendet. Mittels radioaktiver Markierung gelang der Nachweis von HBx-DNA in 82 von 93 (88,17%) aller Tumoren. Im Gegensatz dazu gelang die DIG-Markierung bei nur 54 von 93 (58,06%) aller Tumoren. Somit zeigte sich ein deutlicher Vorteil der radioaktiven Markierung gegenüber der Colorimetrie, so dass die erstgenannte Methode eindeutig favorisiert werden konnte.

Darüberhinaus konnte in 32 der 39 Leberparenchym-Proben (82,05%) HBx-DNA festgestellt werden. Lediglich 5 von 93 Patienten (5,38%) erwiesen sich sowohl im Tumor als auch in der Leber negativ für HBx.

Um nachzuweisen, ob die nachgewiesene HBx-DNA aus Virusreplikation oder von integrierten HBV-DNA-Anteilen stammt, wurde außerdem ein Primerpaar in der PCR verwendet, welches HBCore-DNA umfaßt. Da es im vorliegenden Untersuchungsgut lediglich in einem Leberpräparat einen positiven Nachweis für HBCore-DNA gab, muß davon ausgegangen werden, dass es sich bei den übrigen untersuchten Leberzellkarzinomen um integrierte HBx-DNA handelt.

Integrierte HBx-DNA konnte zusammenfassend in 82 von 93 Leberzellkarzinomen (88,17%) und in 31 von 39 Leberparenchym-Proben (79,49%) aller untersuchten Patienten festgestellt werden. Lediglich 5 Patienten (6,45%) erwiesen sich als komplett negativ für HBV-DNA.

Im westeuropäischen Patientengut liegt also die Rate Hepatitis B-Virus-Positiver unter den Leberzellkarzinom-Patienten deutlich über der Durchseuchungsrate der Gesamtbevölkerung. Insbesondere die Integration des HBx-Gens in die DNA der Leber bei europäischen Patienten konnte in dieser Untersuchung festgestellt werden. Ihr kommt eine wichtige Rolle in der Pathogenese des primären Leberzellkarzinoms zu. Verglichen mit asiatischen Patienten scheint die Integration von HBx-DNA in Leberzellkarzinome bei Europäern ein häufigeres Ereignis zu sein.

Verglichen mit der in situ-Hybridisierung und der Immunhistochemie stellt sich die PCR als deutlich sensitivere Methode im Nachweis von Hepatitis B-Virus-DNA dar.

Da die Entstehung eines malignen Tumors das Ergebnis eines Mehrschrittmechanismus ist, sind auch andere Faktoren, insbesondere chronische Entzündungszustände, beteiligt. Im vorliegenden Untersuchungsgut ergaben sich Hinweise darauf durch das relativ häufige Auftreten einer Zirrhose, außerdem vier Fälle einer Siderose und eine Hämochromatose.

Dennoch kommt dem Hepatitis B-Virus und besonders dem HBx-Gen eine spezielle Rolle in der Pathogenese des Leberzellkarzinoms zu. Der genaue Mechanismus der malignen Transformation ist jedoch noch bis heute unbekannt und bedarf weiterer Forschung.