

Anne Katrin Seidel  
Dr. med.

## **Genetische Risiko- und Prognosefaktoren des Bronchialkarzinoms- Die Bedeutung von Polymorphismen in Glutathion-S-Transferasen**

Promotionsfach: Chirurgie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. H. Dienemann

Die Entstehung von Neoplasien basiert auf komplexen Interaktionen von ererbten Faktoren (Gen-Geninteraktion) und von umweltbedingten Einflüssen (Gen-Umwelt-interaktion). Beim Bronchialkarzinom konnte eine signifikante Assoziation zwischen auslösenden Noxen (Karzinogenen des Tabakrauchs) und der Erkrankung in einem Umfang wie bisher bei keinem anderen malignen Tumor nachgewiesen werden. Es handelt sich um die weltweit häufigste maligne Erkrankung, die zudem mit einer sehr ungünstigen Prognose vergesellschaftet ist. Die Verbesserung der Präventions- und Screeningmaßnahmen, sowie Optimierung von Therapie und Nachsorge ist unabdingbar. Ein Ansatz findet sich in der Identifikation von genetisch determinierten Risiko- und Prognosefaktoren. Die Gensuperfamilie der *Glutathion-S-Transferasen* reguliert das sensible Gleichgewicht der Zellhomöostase über den Metabolismus von Karzinogenen (z.B. BPDE), Interaktion mit Apoptosekaskaden und Immunmodulation. Die Sequenzvariationen *GSTM1* – Nullpolymorphismus, *GSTT1* - Nullpolymorphismus, *GSTP1 313A>G*, *GSTA1 -69C>T*, *GSTO1 419C>A* und *464-IVS4+1del* verändern Expressions- und Aktivitätsmuster der resultierenden Enzyme. Durch Beeinflussung der Metabolisierungskapazität für Karzinogene wie BPDE können diese zu einer erhöhten Präsenz von genotoxischen Metaboliten im Lungengewebe führen und somit über die Bildung von DNA-Addukten die Karzinogenese fördern. Bisherige Studien haben nur wenige Polymorphismen der *GST*-Familie untersucht. Die Ergebnisse waren aufgrund der zum Teil kleinen oder im Fall von Metaanalysen sehr heterogenen Kollektive wenig aussagekräftig. Defizite bestanden insbesondere bei der Auswertung von zusätzlichen Einflussfaktoren (z.B. Tabakkonsum) für die Erfassung von Gen-Umweltinteraktionen oder auch Gen-Geninteraktionen. Hier knüpfte nun diese Arbeit an: Durch Untersuchung eines breiten Spektrums der *GSTs* mit einem qualitativ hochwertigen Studiensetting (großes und homogenes Studienkollektiv, langer Nachbeobachtungszeitraum) wurde versucht, den Einfluss von Polymorphismen auf Risiko und Prognose des Bronchialkarzinoms verifizieren. Für die vorliegende Fall-Kontrollstudie wurden zwischen Januar 1997 und Juni 2004 in der Thoraxklinik Heidelberg n=1055 Probanden mit gesichertem primärem Bronchialkarzinom sowie n=588 Kontrollen rekrutiert. Eingebettet war eine prospektive Kohortenstudie von n=384 an Bronchialkarzinom erkrankten und primär operativ versorgten Probanden. Diesem lag der Gedankengang zugrunde, dass nach vollständiger Entfernung des Tumors, die „wirtsspezifischen“ Faktoren und deren prognostischen Effekte in den Vordergrund treten. Die epidemiologischen Daten sowie Angaben zu Tabakkonsum und Schadstoffexposition stammten aus einem standardisierten Fragebogen, den jeder Proband erhalten hatte. Für die Probanden der prospektiven Kohortenstudie wurden zusätzlich Daten zu Stadium und Therapie der Erkrankung sowie Nachbeobachtungszeit und Überlebensstatus erfasst. Die Genotypisierung der aus venösem Blut gewonnenen Probanden-DNA erfolgte mittels PCR-RFLP und anschließender Analyse der Produkte durch Gel-elektrophorese oder Kapillar-PCR gefolgt von fluoreszenz-basierter Schmelzkurvenanalyse. Für die Analyse der beiden SNPs im *GSTO1*-Gen wurden neue Genotypisierungsmethoden entwickelt sowie eine softwaregestützte Haplo- und Diplotypenanalyse etabliert. Bei der Validierung der neuentwickelten Methoden wurden zwei bisher noch nicht beschriebene Sequenzvariationen des *GSTO1*-Gens entdeckt. Der Einfluss der verschiedenen SNPs und Umweltfaktoren (z.B. Rau-

chen) auf das Lungenkrebsrisiko und die Prognose wurden in multivariaten logistischen Regressionsmodellen mittels Odds und Hazard Ratios quantitativ erfasst. Die Analyse der Überlebensdaten geschah zusätzlich mit Hilfe von univariaten Überlebensfunktionen nach Kaplan und Meier. Im Folgenden werden die wichtigsten Ergebnisse kurz zusammengefasst. In der Analyse des genotypassoziierten Risikos für die Entstehung eines Bronchialkarzinoms zeigte sich für Träger mindestens eines funktionellen *GSTT1*-Gens ein signifikant erhöhtes Risiko im Gesamtkollektiv sowie insbesondere im weiblichen Subkollektiv (OR=1,69 95%KI 1,05-2,73). Für *GSTM1* fand sich insbesondere in der Gruppe der ältesten Probanden (OR=2,35 95%KI 1,30-4,22) sowie derer mit SCC eine signifikante Risikoerhöhung für Probanden, die keine vollständige Kopie des *GSTM1*-Gens besaßen. Für die Deletion des Basentriplets im *GSTO1*-Gen zeigte sich in der Risikoanalyse der SCC-Gruppe ein signifikanter Effekt bei Probandinnen ohne Deletion (OR=0,17 95%KI 0,04-0,82). Im Fall von *GSTO1 419C>A* fand sich in allen Probandensubgruppen mit hoher Karzinogenexposition eine Risikoreduktion für Träger des heterozygoten Genotyps. In der *GSTP1*-genotypspezifischen Analyse zeigte sich in der Überlebensanalyse eine signifikant schlechtere Prognose für Träger des Wildtypallels (HR=1,63 95% KI 1,00-2,64). Keine signifikanten Effekte ließen sich für *GSTA1*, *P1* sowie *O1*-Haplo- und Diplotypen in der Risikoanalyse und *GSTM1*, *T1*, *A1* sowie *O1* in der Überlebensanalyse nachweisen. Die Kombinationsanalyse für *GSTM1* und *T1*-Genotyp zeigte ein etwa verdoppeltes relatives Erkrankungsrisiko für alle Probanden, die nicht den metabolisch vermutlich besten Genotyp aufwiesen. Während sich in der um den *GSTP1*-Genotyp erweiterten Gen-Gen-Analyse noch ein signifikanter Effekt in der Subgruppe der Jemalsraucher fand, zeigte sich in der Kombinationsanalyse von *GSTM1*, *T1*, *P1* und *A1*-Genotyp kein risikomodulierender Effekt. Für *GSTM1* ließen sich die Ergebnisse vorangegangener Studien mit erhöhtem Karzinomrisiko bei reduzierter Stoffwechselkapazität für Tabakkarzinogene aufgrund des Fehlens beider Genkopien im Wesentlichen nachvollziehen. Für *GSTT1* war die Studienlage bis dato uneinheitlich. Der in der vorliegenden Arbeit nachgewiesene protektive Effekt insbesondere für weibliche Probanden ohne funktionelles Allel unterstützt die Hypothese, dass für *GSTT1* andere Mechanismen als die eines typischen Detoxifikationsenzym der Phase II von Bedeutung sind. Für die Karzinogenese bei Frauen werden bereits seit langem alternative Abläufe diskutiert, so könnte *GSTT1* auch eine wichtige Funktion bei der Giftung von potenziell karzinogenen Stoffen haben. Im Gegensatz zu den vorangegangenen Studien zeigte sich für *GSTP1 313A>G* eine signifikante prognostische Relevanz. Dieser Effekt lässt sich bei der ausgesprochen vielfältigen Funktion des *GSTP1*-Enzyms sowohl über eine Modulation des Karzinogenmetabolismus als auch mit einer veränderten Interaktion mit Apoptosekaskaden plausibel begründen. Die SNPs in *GSTA1* und *GSTO1* sowie deren Haplo- und Diplotypen wurden im Rahmen dieser Studie, mit Ausnahme einer Risikoanalyse zu *GSTA1*, erstmalig bezüglich ihres Effekts für Risiko und Prognose beim Bronchialkarzinom untersucht. Die Tatsache, dass sich für beide Gene nur wenige Effekte und diese z.T. auch erst bei einer hohen Karzinogenbelastung zeigten, lässt sich mit der vermuteten housekeeping Rolle und der damit verbundenen Notwendigkeit einer hohen Stabilität der Genfunktion begründen. Insgesamt lieferte die Studie auf zellulärer Ebene nachvollziehbare qualitativ hochwertige Ergebnisse, zudem konnten wichtige Gen-Umwelt sowie Gen-Gen-Interaktionen aufgezeigt werden. Bevor die erzielten Ergebnisse jedoch auf ein Individuum und damit in den klinischen Alltag übertragen werden können bedarf es noch weiterer großer klinischer Studien zur Validierung der gezeigten Effekte. „Wirts“-spezifische Faktoren wie die vorgestellten SNPs lassen sich im Gegensatz zu tumorspezifischen Faktoren ohne großen Aufwand und invasive Maßnahmen bestimmen und könnten somit künftig einen großen Beitrag zur Identifikation von Risikogruppen sowie frühzeitigen individuumspezifischen Tumortherapie leisten.