

Annette Ruth Merdes
Dr. med.

Genamplifikation und Deletion des Epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors in humanen glialen Tumoren unterschiedlicher Dignität: Molekulargenetische Charakteristik und klinische Relevanz

Geboren am 25.08.1966 in Heidelberg
Reifeprüfung am 14.06.1985 in Heidelberg
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1986/87 bis WS 1993
Physikum am 17.08.1988 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Monterrey/ Mexiko und Heidelberg
Staatsexamen am 09.11.1993 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. H.P. Schmitt

Die therapeutischen Ergebnisse bei den malignen Hirntumoren haben sich auch in den letzten Jahren nicht deutlich gebessert. Die Identifikation konstanter genetischer Veränderungen in diesen Tumoren hat die Hoffnung genährt, die betroffenen Gene als Ziele neuer Therapieansätze nutzen zu können. Eine der häufigsten genetischen Veränderung, die bei Gehirntumoren vorkommt, ist die Amplifikation und das Rearrangement des Gens für den Epidermalen Wachstumsfaktor (EGF) Rezeptor.

In der vorliegenden Arbeit sollte die Häufigkeit der Genamplifikation und der Überexpression des EGF-Rezeptors in humanen glialen Tumoren unterschiedlicher Malignitätsgrade in Beziehung zum Tumorwachstumsverhalten untersucht werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 81 gliale Gehirntumoren und als Vergleichsproben normales Hirngewebe mittels Southern-Blot, Reverser Transkriptase-Polymerasekettenreaktion (RT-PCR) der mRNA und Western-Blots untersucht. Dabei zeigte sich im Southern-Blot bei 19 von 42 Glioblastomen (45%) eine Amplifikation des *EGFR*-Gens und nur bei einem von 14 glialen Tumoren WHO Grad III. Auch bei einem Ependymom WHO Grad II konnte eine Amplifikation des *EGFR*-Gens nachgewiesen werden, was jedoch aufgrund der geringen Fallzahl von insgesamt 4 Ependymomen keine statistische Aussage zuläßt. Ferner fand sich bei keinem weiteren Tumor des WHO Grades II oder des WHO Grades I eine Amplifikation des *EGFR*-Gens.

In der RT-PCR zeigte die mRNA von 4 der 19 Glioblastome mit amplifiziertem *EGFR*-Gen eine spezifische Amino-terminale Deletionsmutation, die als *EGFRvIII* bezeichnet wird und 801 bp umfaßt. Jeder dieser Tumoren wies zudem die nicht-deletierte mRNA des *EGFR*-Gens auf.

In den Western-Blots zeigten 28 der 42 Glioblastome die Expression des EGF-Rezeptors. Die Proteinmenge war bei den verschiedenen Glioblastomen unterschiedlich; es zeigte sich eine Korrelation zwischen der Menge der *EGFR*-Genamplifikation und der EGF-Rezeptor-Proteinexpression.

Vier Glioblastome, die die spezifische Deletionsmutation *-EGFRvIII-* zeigten, wiesen zusätzlich zum normalen EGF-Rezeptor-Protein mit 170 kDa Molekulargewicht ein immunreaktives Protein des Molekulargewichtes 130 kDa auf, entsprechend dem erwarteten EGFRvIII-Protein. Damit konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, daß diese

spezifische Deletionsmutation verhältnismäßig selten (4 von insgesamt 42 Glioblastomen, ca. 10%) in Glioblastomen zu erwarten ist.

Von den Glioblastom-Patienten der vorliegenden Untersuchung konnten insgesamt 31 Patienten in der neuroradiologischen Nachsorge engmaschig durch zweimonatliche kernspintomographische Untersuchungen hinsichtlich des Rezidivtumor-Wachstums beurteilt werden. Dabei zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied im mittleren rezidivfreien Intervall: Patienten mit einem Glioblastom ohne Amplifikation des *EGFR*-Gens zeigten ein signifikant längeres mittleres rezidivfreies Intervall als Patienten mit Amplifikation des *EGFR*-Gens.

Das rezidivfreie Intervall wurde als Parameter in Korrelation zur Genamplifikation des Epidermalen Wachstumsfaktor Rezeptor-Gens erstmalig untersucht und zeigte im Vergleich zu anderen klinischen Parametern wie z.B. der Überlebenszeit eine statistische Signifikanz.

Durch die unterschiedliche Expression von Wachstumsfaktoren in glialen Gehirntumoren eröffnen sich Perspektiven zur Entwicklung zusätzlicher diagnostischer Kriterien und gegebenenfalls in Einzelfällen auch prognostischer Marker. Neue therapeutische Ansätze durch den Angriff an Wachstumsfaktorrezeptoren sind vielversprechend.