

Zusammenfassung der Dissertation

Nele Lisa-Maria Kreyocy

Dr. med. dent.

Titel:

Expression und Lokalisation von Glyoxalase1 bei der Pathogenese und Therapie von Plattenepithelkarzinomen der Kopf- und Halsregion.

Fach:

Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

Doktorvater:

Prof. Dr. rer. nat. Jochen Hess

In der aktuellen translationalen Krebsforschung gilt Glyoxalase 1 als vielversprechendes Enzym für neue, zielgerichtete Therapieformen. Der Grund dafür ist neben gesteigerter Proteinexpression in zahlreichen humanen Karzinomen die wichtige Rolle bei der Zellzyklusregulation, der Apoptose und bei Mechanismen der Therapieresistenz. Bis heute fehlen jedoch entscheidende Erkenntnisse besonders auch im Zusammenhang mit Plattenepithelkarzinomen der Kopf- und Halsregion (HNSCC). Daher wurde als Ziel der vorliegenden Studie adressiert ein besseres Verständnis über die Expression und Regulation von Glyoxalase 1 bei der Pathogenese und Therapie zu gewinnen, um so die Erkenntnisse in Diagnostik und Therapieschemata zu integrieren. Hierfür wurde zunächst retrospektiv eine Kohorte von 163 Patienten mit einem HNSCC, genauer definiert Oropharynxkarzinomen, mit Hilfe von immunhistochemischen Färbungen von Gewebearrays untersucht.

Die beobachtete Heterogenität hinsichtlich Expressionsintensität als auch Lokalisation von Glyoxalase 1 war sowohl in gesunder Schleimhaut als auch in den Tumorzellen der Oropharynxkarzinome zu verzeichnen. Die dabei postulierte nukleäre Lokalisation des Enzyms stellt ein absolutes Novum im Zusammenhang mit HNSCC dar, wurde jedoch bereits aktuell auch in kutanen Neoplasien sowie Prostatakarzinomen nachgewiesen.

Über bisher gewonnene Erkenntnisse hinausgehend, dass eine moderate bis hohe Glyoxalase 1 Expression beim Oropharynxkarzinom mit vermehrtem Lymphknotenbefall und höherem klinischen Stadium einhergeht, manifestierte sich auch die Proteinlokalisierung auf klinisch-pathologischer Ebene. Eine nukleäre Proteinlokalisierung korrelierte mit größeren und HPV-unabhängigen Tumoren, vice versa und legte die klinische Relevanz der Lokalisation von Glyoxalase 1 nahe. Der nachteilige prognostische Effekt einer moderaten bis hohen

Glyoxalase 1 Expression beim Oropharynxkarzinom auf das progressionsfreie und Gesamtüberleben wurde bei der Analyse der nukleären Lokalisation noch deutlicher. Die Kombination aus hoher Proteinexpression und nukleärer Lokalisation kann bei Oropharynxkarzinomen als unabhängiger Risikofaktor für schlechtes Überleben postuliert werden und gab Hinweis darauf, dass die beiden Parameter nicht isoliert betrachtet werden sollten.

Der Ansatz, dass die Tumorzellen eine Steigerung der Glyoxalase 1 Expression induzieren, um einerseits ihr gesteigertes Zellwachstum, basierend auf vermehrter Glykolyse, zu gewährleisten und gleichzeitig Methylglyoxal-detoxifizierenden Enzyme auch im Nukleus zu unterstützen, um einen protektiven Effekt gegenüber der Methylglyoxal-bedingten Zytotoxizität unter pathologischen Stoffwechselbedingungen zu erzielen, geht einher mit dem aktuellen Verständnis von Glyoxalase 1.

Um das Verständnis für die intrinsische Funktion und Regulation von Glyoxalase 1 beim HNSCC zu verbessern, wurde ein Zellkulturmodell etabliert, anhand dessen die Genexpression, Proteinlokalisierung und regulatorische Netzwerke untersucht werden konnten. Mittels Immunfluoreszenztechnik wurde die nukleäre Lokalisation von Glyoxalase 1 in der HNSCC-Zelllinie FaDu bestätigt. Dieses Bild zeigte sich jedoch nicht in allen HNSCC-Zelllinien, was auf die intertumorale Heterogenität beim HNSCC hindeutet.

Dass Bestrahlung zu einer vermehrten Proteinlokalisierung im Nukleus führte, könnte die Folge strahlungsbedingter DNA-Schäden sein und wirft die Frage auf, ob durch derartige Therapiemaßnahmen das Risiko eines aggressiveren Tumortyps gesteigert wird.

Im Fokus der genregulatorischen Signalkaskaden stand PKB/Akt, welche trotz positiver Korrelation basaler Glyoxalase 1 Expression und phosphoryliertem Akt in den untersuchten HNSCC-Zelllinien, nach ausführlicher Untersuchung als zentraler Regulator ausgeschlossen wurde. Für zukünftige Forschungsprojekte ist die Signalkaskade Raf/MEK/ERK1/2 via NF- κ B und ihr regulatorischer Einfluss von besonderem Interesse, da die Glyoxalase 1 Promotorregion einerseits eine Bindungsstelle für NF- κ B besitzt, eine Reduktion der Expression sowie des Zellwachstums nach Hemmung von ERK bereits in anderen Tumorzelllinien nachgewiesen wurde und andererseits dieser Kaskade eine Rolle bei kovalenten Modifikationen von Glyoxalase 1 zur nukleären Translokation zugeschrieben wird. Abschließend wurden die Auswirkungen variabler glykämischer Stoffwechselbedingungen auf das Wachstumsverhalten der HNSCC-Tumorzellen sowie der Glyoxalase1 Expression dargestellt. In stark proliferierenden HNSCC-Zellen bestand ein Zusammenhang zwischen reduziertem Glucoseangebot, geringerem Wachstum und Regeneration parallel zur Adaptation der Glyoxalase 1 Expression. In langsam proliferierenden HNSCC-Zellen mit geringerer Basalexpression von Glyoxalase 1 war dies eher auszuschließen.

Die Assoziation hoher, nukleärer Glyoxalase 1 Expression und starker Proliferation ließe sich anhand einer Ki67-Analyse weiter untermauern. Auch aufgrund der hohen Glyoxalase 1 Expression in den Nucleii der Basalzellen gesunder Schleimhaut erscheint die Erklärung mit schnellproliferierenden Zellen stringent, zeigt gleichzeitig aber, dass dieses Expressionsmuster auch unter physiologischen Bedingungen auftreten kann.

Die vorliegende Dissertation liefert somit in Ergänzung zu bestehenden Publikationen weitere wissenschaftliche Erkenntnisse hinsichtlich der kausalen Rolle von Glyoxalase 1 bei der Tumorgenese des Oropharynxkarzinoms und dessen Progression. Ebenso wurde das Potential des Proteins dargelegt, als tumorspezifisches Enzym einer zielgerichteten Chemotherapie zu dienen mit der Schlussfolgerung, dass Oropharynxkarzinome im Rahmen der Diagnostik nach Glyoxalase1 Expression und Lokalisation zu klassifizieren sind.