

Natalie Alexandra Inga Orthmann

Dr. med.

Expression und Regulation von Podoplanin und TOM1L1 bei der Pathogenese von Kopf- und Halstumoren

Fach/Einrichtung: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. Jochen Hess

In der aktuellen molekularbiologischen Krebsforschung taucht das Protein Podoplanin immer wieder in Zusammenhang mit der Pathogenese zahlreicher Tumorerkrankungen auf. Es scheint eine wichtige Rolle in verschiedensten Malignomen inne zu haben, so unter anderem bei Karzinomen der Kopf-Hals Region (*Head and neck squamous cell carcinoma*, HNSCC). Diese Karzinome bilden eine sehr heterogene Tumorentität, dessen Subtypen bisher nicht ausreichend charakterisiert und verstanden sind. Trotz intensiver Bemühung und neuer Erkenntnisse stagnierten die Überlebensraten von HNSCC-Patienten in den letzten Jahren und es besteht eine dringende Notwendigkeit, das HNSCC weiter zu erforschen. Als sinnvoller Angriffspunkt bietet sich dabei das Protein Podoplanin an, da dessen Rolle in der Pathogenese und dem Progress beim HNSCC bisher nicht ausreichend geklärt ist und somit neue Erkenntnisse dem Verständnis des HNSCC zutragen würden. Eine Möglichkeit die Funktion und Regulation eines Proteins besser zu verstehen, besteht darin, neue funktionelle Interaktionspartner zu identifizieren. So war es das Ziel dieser Arbeit, neue Interaktionspartner für Podoplanin zu finden und eine mögliche Interaktion weiter zu charakterisieren, um die pathophysiologische Rolle von Podoplanin im Kontext der Tumorentstehung sowie malignen Progression besser zu verstehen.

Ausgehend von *in silico*-Recherchen wurde TOM1L1 als neuer potentieller Interaktionspartner für Podoplanin identifiziert. TOM1L1 ist ein intrazelluläres Protein, das eine Rolle bei der endosomalen Sortierung und dem Abbau von Membranproteinen spielt und eine zentrale Rolle bei der Regulation des EGF-Rezeptors inne hat. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen wurde als weiteres Ziel der Studie der Zusammenhang zwischen den beiden Proteinen Podoplanin und TOM1L1 untersucht.

In Zellkulturexperimenten wurde mittels Western Blot und Immunfluoreszenzanalysen das Vorliegen beider Proteine in gleichen Zellkompartimenten beobachtet, so dass die Voraussetzung für eine Ko-Lokalisation beider Proteine gegeben war. Diese Ergebnisse wurden durch immunhistochemische Färbungen von Gewebearrays mit Tumorproben einer Kohorte von 120 Patienten mit einem Oropharynxkarzinom (*Oropharyngeal squamous cell carci-*

noma, OPSCC) weiter unterstützt. In weiterführenden Zellkulturexperimenten wurde darüber hinaus durch Western Blot- und Immunfluoreszenzanalysen eine gemeinsame und gleichzeitig stattfindende Regulation der beiden Proteine durch Stimulation mit dem epidermalen Wachstumsfaktor (*epidermal growth factor*, EGF) beobachtet. Durch Stimulation mit EGF wurde die intrazelluläre Proteinmenge und Lokalisation sowohl von TOM1L1 als auch von Podoplanin beeinflusst, was eine funktionelle Interaktion beider Proteine wahrscheinlich macht.

Aufgrund der Daten kann spekuliert werden, dass als möglicher Mechanismus TOM1L1 EGF-abhängig die Abnahme von Podoplanin verursacht - ähnlich wie beim TOM1L1-vermittelten Abbau des EGF-Rezeptors. Allerdings wird die Reaktion von Podoplanin auf EGF-Stimulation in der aktuellen Literatur teilweise kontrovers diskutiert, so dass weitere *in vitro*- und *in vivo*- Studien notwendig sind, um Klarheit über den Einfluss von EGF auf die beiden Proteine zu erlangen.

Über die Identifizierung eines Zusammenhangs zwischen den beiden Proteinen hinaus konnte bei der Analyse der Daten von Patienten mit einem Oropharynxkarzinom ein klinischer Nutzen in der Färbung der Tumoren nach der TOM1L1-Expression festgestellt werden. Multivariatanalysen ergaben, dass eine erhöhte TOM1L1-Expression einen prognostischen Marker darstellt für längeres krankheitsspezifisches und progressionsfreies Überleben. Zudem gab es Hinweise, dass diese Patientenstratifizierung durch Hinzunahme des Markers Podoplanin noch verbessert werden kann. Bei Einteilung der Patienten anhand der TOM1L1- und Podoplanin-Expression hatte die Patientengruppe mit niedriger Podoplanin- und hoher TOM1L1-Expression in der Multivariatanalyse eine signifikant höhere Überlebenschance als alle anderen Subgruppen - ein Ergebnis, das sich gut in den aktuellen Literaturkontext einfügt.

Entsprechend könnten beide Proteine als Biomarker genutzt werden, um eine bessere Patientenstratifizierung vorzunehmen und Therapiestrategien und Kontrolluntersuchungen im Rahmen der Nachsorge zu verbessern.

Die vorliegende Dissertation ist somit die erste Studie zu TOM1L1 im OPSCC und liefert weitere wissenschaftliche Erkenntnisse zur Korrelation von Podoplanin und TOM1L1 mit der Prognose von Oropharynxkarzinomen. Zudem wurde TOM1L1 als möglicher Interaktionspartner für Podoplanin identifiziert und ein Zusammenhang zwischen den beiden Proteinen gezeigt. Diese Studie leistet daher einen Beitrag zum besseren Verständnis von Podoplanin und TOM1L1 beim HNSCC und liefert mit der Untersuchung der Wirkung von EGF auf beide Proteine einen neuen Ansatzpunkt für die Regulierung von Podoplanin. Überdies wurde das Potential einer klinischen Nutzung der beiden Proteine als Biomarker dargelegt, mit der Er-

kenntnis, dass Patienten bei der Therapie- und Nachsorgeplanung von einer Stratifizierung nach der Podoplanin- und TOM1L1-Expression profitieren können.