

Marie-France Muller

Dr. med.

Expression von ERK1/2 und NOTCH1 nach fraktionierter Bestrahlung bei Plattenepithelkarzinomen des Oropharynx

Fach/Einrichtung: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Jochen Hess

Neben Chemotherapeutika und einem operativen Vorgehen, spielt Bestrahlung bei der Behandlung vom HNSCC eine vordergründige Rolle. Dennoch erliegen 40-60% der HNSCC-Patienten nach nur fünf Jahren einem tumorassoziierten Tod und dies macht deutlich, dass es im Laufe der Erkrankung zur Ausbildung von widerstandsfähigen Subpopulationen gekommen ist. Hierbei spielen diverse Signalwege und Prozesse eine Rolle, von denen im Rahmen dieser Arbeit auf zwei eingegangen wurde. Zum einen ist die bivalente Rolle von NOTCH1 als Tumorsuppressor und Onkogen beim HNSCC beschrieben und stellt hier das am zweit häufigsten mutierte Gen dar. Diese Tatsache lässt viele Fragen offen und Klärungsbedarf ist dringend erforderlich, ist NOTCH1 doch bei der Entstehung von Krebsstammzellen beteiligt und wäre potenziell pharmakologisch hemmbar. Zum anderen ist der MEK-MAPK/ERK-Signalweg beim Ansprechen auf Bestrahlung von großer Bedeutung, stellt er doch Überlebenssignale für Tumorzellen nach Bestrahlung dar und ist zudem in der Onkogen-induzierten Seneszenz involviert. Letztere Rolle hat sich in den letzten Jahren ganz erheblich gewandelt, vom tumorsuppressiven Mechanismus bis hin zur Möglichkeit dem Zelltod zu entrinnen und resistent zu werden.

Weitgehend ungeklärt bleiben jedoch die molekularen Resistenzmechanismen einer fraktionierten Bestrahlung beim HNSCC, einem Behandlungsschema, welches dem klinischen Therapieregime am nächsten kommt. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden nicht nur

etablierte HNSCC-Zelllinien bestrahlt, sondern auch ein präklinisches Modell von ex vivo Gewebekulturen angewandt.

In den in vitro Experimenten konnte, nach fraktionierter Bestrahlung, das Auftreten einer Subpopulation von Zellen mit atypischer Morphologie beobachtet werden. Weiterführende Experimente zeigten, dass es sich um SA- β -Gal positive Zellen handelte, welche zudem eine nukleäre p21^{CDKN1A}-Expression aufwiesen. Diese Tatsache legte die Vermutung nahe, dass es sich hierbei um Seneszenz-ähnliche Zellen handelte. Da Seneszenz u.a. eingeschlagen wird nach starken onkogenen oder genotoxischen Auslösern, sollte in der Folge der MAPK/ERK-Signalweg untersucht werden. Tatsächlich haben, nach Bestrahlungsende, die Seneszenz-ähnlichen Zellen eine starke phospho-ERK1/2-Expression angereichert. Die Lokalisation dieses Signals war in allen drei Zelllinien prominent nukleär ausgeprägt, wobei eine Zelllinie auch ein zytoplasmatisches Signal aufwies.

Das ex vivo Tumormodell ermöglicht es die kontextabhängige Antwort der Tumorzellen und des Mikromilieus zu untersuchen, eine Tatsache, die ganz besonders entscheidend ist im Rahmen des Zell-Zell- und Zell-Matrix-abhängigen NOTCH1-Signalwegs. So konnte gezeigt werden, dass ein aktiver NOTCH1-Signalweg nicht nur durch Bestrahlung weiter unterhalten werden kann, sondern sich auch ungünstig auf die Prognose auswirkt. Auch scheinen HES1 und HEY2 tumorabhängig einer nicht-kanonischen Regulation zu unterliegen. So kam es, parallel zur Hochregulierung von HES1 und HEY2, auch zur Zunahme der Expression von phospho-ERK1/2 und der Seneszenzmarker p21^{CDKN1A} und γ H2AX. Dies könnte einen gemeinsamen Mechanismus widerspiegeln bei der Entstehung von radioresistenten, seneszenten Tumorzellen.

Um die klinische Relevanz der Kombination aus phospho-ERK1/2 und aktivem NOTCH1 zu verifizieren, wurde retrospektiv eine OPSCC-Patientenkohorte (n=127) statistisch untersucht. Zum einen wurde die Assoziation zwischen dem Gesamtüberleben (PFS, DSS) und der Subgruppe NOTCH1^{aktiv} phospho-ERK1/2^{hoch} mittels univariater Kaplan-Meier-Analyse und multivariatem Cox-Regressionmodell untersucht. Zum anderen wurde die Korrelation dieser Subgruppe mit den klinischen und histopathologischen Merkmalen erforscht. Zusammengefasst geht die Kombination NOTCH1^{aktiv} phospho-ERK1/2^{hoch} mit einer signifikant schlechteren Prognose einher und kann als unabhängiges Risikoprofil beim OPSCC betrachtet werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit liefern somit ergänzende Erkenntnisse zu der Entstehung von Radioresistenz. Hierbei interagieren MAPK/ERK und NOTCH1

kontextabhängig und tragen zur Entstehung von seneszenten Zellen bei. Des Weiteren wurde hier erstmal das Generieren von ex vivo Kulturen auf Basis einer prätherapeutisch gewonnenen Panendoskopie etabliert. Dies legt den Grundstein für das panendoskopische Entnehmen von Proben im Therapieverlauf, sowie bei Patienten in therapierefraktärem Setting. Langfristig könnte so eine Stratifizierung der Patienten anhand von prädiktiven Biomarkern erfolgen und dazu beitragen eine möglichst zielgerichtete und individualisierte Therapiestrategie zu entwickeln.