



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Mutationsanalyse der Tumor-Suppressor-Gene *p53*,
p16^{INK4a}/CDKN2, *VHL* und *FHIT* in Plattenepithel-Karzinomen der
Kopf-Hals-Region**

Autor: Carsten Schäfer
Institut / Klinik: Hals-Nasen-Ohrenklinik
Doktorvater: Prof. Dr. K. Hörmann

In der Genese von Plattenepithel-Karzinomen im Kopf-Hals-Bereich ist die Inaktivierung von Tumor-Suppressor-Genen aus heutiger Sicht ein wesentlicher Faktor. Neben Deletionen von chromosomalen Abschnitten, in denen sich Tumor-Suppressor-Gene befinden, und posttranskriptionalen Veränderungen der Gen-Produkte, zählen Mutationen auf DNA-Ebene zu den bedeutendsten Möglichkeiten der Inaktivierung von Tumor-Suppressoren. In engem Zusammenhang mit der Karzinogenese von Kopf-Hals-Tumoren vermutete und in dieser Arbeit analysierte Gene sind *p53* auf 17p13, *p16* auf 9p21, *FHIT* auf 3p14.2 und *VHL* bei 3p25.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war die Mutationsanalyse der genannten Gene an *einem* Kollektiv, um damit vergleichend einen Einblick in die Bedeutung der jeweiligen Tumor-Suppressor-Gene in der Karzinogenese im Kopf-Hals-Bereich zu bekommen. Darüber hinaus sollten die am häufigsten von Mutationen betroffenen Exons bestimmt werden, sowie analoge, von der auslösenden Noxe (z. B. Tabak) abhängige Mutationsmuster erkannt werden. Für diese Analyse stand ein Kollektiv von 30 Plattenepithel-Karzinomen zur Verfügung, welches mittels der *PCR-single-strand-conformational-polymorphism* (PCR-SSCP)-Analyse und anschließender Doppelstrang-Sequenzierung auf Mutationen in den erwähnten Tumor-Suppressor-Genen untersucht wurde.

Dabei zeigten sich mit Abstand die meisten Mutationen im Bereich des Gens *p53*, wo 69% (9/13) der in dieser Analyse aufgedeckten Alterationen lagen. Insgesamt 27% (8/30) der untersuchten Tumoren wiesen Mutationen des Tumor-Suppressor-Gens auf und in 88% waren Exon 5 und 6 geschädigt. Diese Ergebnisse unterstreichen die zentrale Bedeutung von *p53*-Mutationen in der Karzinogenese von Kopf-Hals-Tumoren.

In dem auf 9p21 gelegenen Gen *p16/CDKN2* konnten in 10% (3/30) der Tumoren insgesamt 4 Mutationen aufgedeckt werden. Da aber der Verlust der Heterozygotie (LOH) in der chromosomalen Region 9p21-22 zu einem sehr häufig nachweisbaren Befund bei Kopf-Hals-Tumoren gehört, lassen sich in diesem Abschnitt noch weitere für die Karzinogenese bedeutsame Gene vermuten. Zusätzlich werden in der Literatur für *p16/CDKN2* alternative Inaktivierungswege, wie etwa die *de novo*-Methylierung des *p16*-Promotors diskutiert.

Heterozygote Deletionen (Loss of Heterozygosity = LOH) bei 3p gehören zu den häufigsten genetischen Ereignissen in Kopf-Hals-Malignomen. Man konnte diese häufig von einem Verlust der Heterozygotie betroffenen Regionen auf 3p14.2 und 3p25 eingrenzen, wo sich unter anderem die Tumor-Suppressoren *FHIT*, bzw. *VHL* befinden. Doch keiner der analysierten Tumoren zeigte eine somatische Mutation dieser Gene, sodass man aufgrund dieser Diskrepanz auch hier weitere wichtige Genabschnitte vermuten kann. DNA-Mutationen von *FHIT* sind somit nicht der dominierende Weg der Inaktivierung dieses Gens bei Plattenepithel-Karzinomen der Kopf-Hals-Region. Im identischen Kollektiv konnte in 19% der hier untersuchten Tumoren eine verminderte oder erloschene *FHIT*-Protein-Expression, als Ausdruck einer Funktionseinbuße nachgewiesen werden. Das *VHL*-Gen scheint nach heutigem Stand der Forschung in der Karzinogenese von Kopf-Hals-Tumoren nicht von Bedeutung zu sein.

Die mutagene Potenz der in Zigaretten-Rauch enthaltenen Noxen, wie Benzopyrene, Nitrosamine und Sauerstoff-Radikale demonstriert sich im hier untersuchten Kollektiv eindrucksvoll durch die direkt von ihnen verursachten genetischen Veränderungen. Bei *p53* zeigten sich vor allem Missense-Mutationen im Bereich von Guanin-Basen (57% der *p53*-Punktmutationen) in den Exons 5-6, was als typische Mutations-Konstellation bei Tabak-induzierten Tumoren angesehen wird. Ebenso handelte es sich bei den DNA-Alterationen im Bereich von *p16/CDKN2* vor allem um Missense-Mutationen von Guanin-

Basen. Zusätzlich zu den Mutationsbefunden konnten bei *p16*, *FHIT* und auch *VHL* Polymorphismen nachgewiesen werden, deren fragliche Rolle in der Karzinogenese noch nicht aufgeklärt ist. Durch diese Arbeit wurden Ansätze und Ergänzungen für weiterführende Forschungsprojekte geschaffen. So könnten genetische "Fingerabdrücke" von Tumoren durch eine Mutationsanalyse ausgewählter Tumor-Suppressor-Gene erstellt werden, die zukünftig beispielsweise in die Wahl des Behandlungsregimes eingehen oder bei der Primarius-Suche beim CUP-Syndrom eingehen könnten. Weitere Anwendungen dieser "Fingerabdrücke" könnten die Tumor-Nachsorge oder Screening-Untersuchungen beinhalten.