

Annette Affolter

Dr. med.

Aberrante Expression von Zellzykluskomponenten in Kopf-Hals-Tumoren mit verschiedenen Mutationsarten des p53-Gens

Geboren am 06.09.1977

Reifeprüfung am 21.06.1996

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1996/97 bis SS 2003

Physikum am 09.09.1998

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg; New York City, USA; Zürich, CH

Staatsexamen am 23.05.2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

Doktorvater: Professor Dr. med. Hagen Weidauer

Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereiches haben in den meisten Fällen eine denkbar ungünstige Prognose. Zum einen werden sie oft erst in fortgeschrittenen Stadien klinisch manifest, zum anderen zeichnen sie sich durch frühe Metastasierung und aggressives infiltratives Wachstum aus.

Trotz erheblicher Weiterentwicklung sowohl der chirurgischen als auch der adjuvanten Therapiemöglichkeiten haben sich die Überlebensaussichten der betroffenen Patienten in den letzten Jahren nicht wesentlich verbessert.

Auf der Suche nach den Ursachen hierfür wird heute vermehrt eine mögliche prognostische Bedeutung von p53-Mutationen diskutiert.

p53 selbst fungiert als Sensor für DNA-Schäden nach zellulärem Stress. Es kann einerseits den Zellzyklus zugunsten Reparationen am Genom unterbrechen, andererseits Zellen mit irreparablen Schäden in die Apoptose treiben. Reguliert wird der Zellzyklus an bestimmten Kontrollpunkten durch Cyclin/cdk-Proteinkomplexe, mit denen wiederum eine Vielzahl anderer Proteine direkt oder indirekt interagieren. Zu diesen zählen die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Marker p21, p27, pRb, p16, p14 und mdm2.

Bei der Krebsentstehung sind zahlreiche Gene von Mutationen betroffen. Durch das Einwirken der Produkte dieser alterierten Genloci an den entscheidenden Punkten des Zellzyklus gerät das Zellwachstum außer Kontrolle. Die Proliferation schreitet ungehindert fort, ohne dass DNA-Schäden repariert werden können.

Unter den im Mehrstufenprozess der Karzinogenese veränderten Genen ist das Tumorsuppressorgen p53 das am häufigsten betroffene und auch am besten charakterisierte. Es gibt eine Vielzahl verschiedener Mutationen im p53-Gen, die aufgrund der vielfältigen Funktionen des p53-Proteins unterschiedliche biochemische, biologische und klinische Konsequenzen haben können.

Es war das Ziel dieser Arbeit, derartige Konsequenzen von p53-Mutationen zu untersuchen. Besonderes Augenmerk wurde hierbei sowohl auf Komponenten gerichtet, mit denen p53 selbst interagiert, also p21, p14, und mdm2, als auch auf die Komponenten der Regulationskreises um pRb, nämlich p16, Cyclin D1 und cdk4. In unterschiedlicher Weise ist dieser Regulationskreis in Tumoren ebenfalls unterbrochen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden deshalb Biopsien von 43 Patienten mit Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereiches untersucht, die sich von 1990-1998 in der HNO-Universitätsklinik Heidelberg einer Behandlung unterzogen hatten. Bei allen Proben waren zuvor laborintern mittels DNA-Sequenzanalyse unterschiedliche p53-Mutationen festgestellt worden. Die Methode der Immunhistochemie wurde nun angewendet, um die Expression der o.g. Zellzykluskomponenten an Paraffinschnitten dieser Tumoren mit mutiertem p53 zu untersuchen. Für den Nachweis der Marker p16, cdk4 und Cyclin D1 wurde zusätzlich eine signalverstärkte Tyramid-IHC durchgeführt.

Die Expressionsmuster der einzelnen Komponenten wurden zunächst mit den p53-Mutationstypen, sodann mit einigen klinischen Daten und mit dem postoperativen Verlauf der Patienten (ÜLZ, Auftreten von Rezidiven, Zweitumoren, Metastasen) in Beziehung gesetzt.

Es ergaben sich eine Reihe von interessanten Expressionsmustern, die sich insbesondere im Vergleich mit einer Tumorkohorte ohne p53-Mutationen im zentralen Bereich als sehr auffällig zeigten:

1. p16^{INK4a} wies in den p53-mutierten Tumoren signifikant häufiger einen Expressionsverlust auf.
2. Überraschenderweise konnte in sehr vielen p53-mutierten Tumoren kein cdk4 nachgewiesen werden.
3. mdm2 zeigte sowohl mit dem zytoplasmatischen als auch mit dem nukleär lokalisierten p14^{ARF} eine signifikante Assoziation. Entgegen der Erwartung eines hohen mdm2-Gehaltes bei p14-Verlust scheinen die beiden Marker sich gegenseitig zu stabilisieren.

Beim Vergleich dieser aberranten Expressionsmuster mit den verschiedenen Mutationstypen im p53-Gen war interessanterweise festzustellen, dass der p16-Verlust bei allen vier beteiligten Frameshift-/ Deletionsmutationen auftrat, aber bei den Punktmutationen keinem bestimmten Typ zugeordnet werden konnte.

Beim Vergleich mit den klinischen Verläufen zeigte sich, dass der cdk4-Verlust mit einer schlechteren, dagegen das zytoplasmatische p14 mit einer besseren Prognose assoziiert war. p16 zeigte keine Assoziation mit der Prognose.

Die Ergebnisse zeigen, in Übereinstimmung mit anderen Studien, dass verschiedene p53-Mutationen zum Teil einen spezifischen Selektionsdruck auf Störungen im eigenen Regelkreis und insbesondere auf den anderen in der Zellzykluskontrolle wichtigen Regelkreis ausüben und so die Tumorprogression vorantreiben können.

Eine Auswertung dieser Multiparameteranalyse auf größere Fallzahlen scheint dringend geboten, denn die hier vorgestellten Ergebnisse zeigen, dass man so zu einer differenzierteren Charakterisierung und Einteilung der Kopf-Hals-Tumoren gelangen kann.