

Kolja Freier
Dr. med.

Nachweis von Onkogenamplifikationen bei Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region durch Gewebearraytechnik und Fluoreszenz in-situ Hybridisierung

Geboren am 04.01.1973 in Heidelberg
Reifeprüfung am 18.05.1992 in Eppelheim
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1994 bis SS 2000
Physikum am 25.03.1997 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 23.10.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Mund-Zahn-Kieferheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. J. Mühling

Plattenepithelkarzinome der Kopf-Hals-Region sind die sechsthäufigsten soliden Tumoren des Menschen. Sie entwickeln sich aus nicht invasiven dysplastischen Läsionen der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes. Trotz moderner adjuvanter und neoadjuvanter Therapieformen ist Prognose der Patienten nach wie vor schlecht, die 5-Jahresüberlebensrate beträgt für alle Stadien nur etwa 55%. Herkömmliche Parameter wie Tumorgröße, histologische Differenzierung oder TNM-Stadien, auf denen Therapieentscheidungen bisher basieren, geben nur ungenügend die biologische Situation der Tumoren wieder und erlauben nur eine eingeschränkte prognostische Aussage für den Patienten. Daher besteht der Bedarf an zytogenetischen Marker für spezifische Stadien der Tumorentwicklung, die eine genauere Typisierung der Läsionen erlauben. Die zellulären Ereignisse auf der Ebene der DNA-, mRNA- und Proteinexpression während der klonalen Entwicklung eines invasiven Karzinoms sind komplex. Sie entwickeln sich über einen mehrstufigen Prozess, zu dem u.a. Deletionen von Tumor-Suppressorgenen und die Amplifikation von Onkogenen gehören. Die Bedeutung von Onkogenamplifikationen für die Entstehung und Progression von Tumorerkrankungen wird bei Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region diskutiert. Um klinisch verwertbare Korrelationen von molekulargenetischen Veränderungen zu definieren, ist es allerdings notwendig, mehrere hundert Tumoren in verschiedenen Stadien zu untersuchen.

Um solche klinisch verwertbaren molekular- und zytogenetischen Marker zu finden, wurde vor einigen Jahren die Gewebearraytechnik entwickelt. Bei dieser Methode lassen sich Stanzbiopsien von bis zu 1000 herkömmlich im Paraffin eingebetteten Präparaten auf einem neuen Paraffinblock unterbringen. An den Schnitten dieses „Empfängerblocks“ können dann Techniken wie die Fluoreszenz in-situ Hybridisierung (FISH) oder die Immunhistochemie (IHC) angewendet werden. Durch die Gewebearraytechnik ist es möglich, mit einem einzigen Experiment Daten von mehreren hundert Tumoren zu erhalten. In der vorliegenden Studie wurde die Gewebearraytechnik in Kombination mit der FISH zum Nachweis von Onkogenamplifikationen erstmals an einem großen Kollektiv von Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region angewendet. Ziel war es, die Amplifikationen von Onkogenen im Gesamtkollektiv und in klinisch definierten Subgruppen zu detektieren und einen möglichen Einfluss auf das Überleben der Patienten zu evaluieren. Durch den Einsatz der Gewebearraytechnik in Kombination mit der FISH wurden 511 Plattenepithelkarzinome der Kopf-Hals-Region auf Amplifikationen der Onkogene *CyclinD1*, *Myc*, *EGFR*, *ErbB2* und

ZNF217 untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass *CyclinD1*-Amplifikationen sich signifikant häufiger in pharyngealen Primärkarzinomen verglichen mit oralen und laryngealen Primärkarzinomen nachweisen ließen ($p < 0,001$), während Amplifikationen von *ZNF217* häufiger bei primären Mundhöhlenkarzinomen beschrieben werden konnten ($p = 0,02$). Darüber hinaus waren *CyclinD1*-Amplifikationen in Primärkarzinomen des Stadiums IV häufiger als in Primärkarzinomen der Stadien I-III ($p < 0,001$). Amplifikationen der untersuchten Onkogene hatten keinen Einfluss auf die Überlebenszeit des entsprechenden Patientenkollektivs bei der Analyse der verschiedenen Überlebenskurven nach Kaplan-Meier.

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass die Gewebearraytechnologie ein verlässliches und schnelles Screening-Verfahren zur Charakterisierung von Onkogenen bei Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region ist. Die unterschiedliche Amplifikationshäufigkeit einzelner Onkogene in unterschiedlichen klinischen Stadien und verschiedenen Lokalisationen in Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region lässt darauf schließen, dass hier unterschiedliche Gene während der Pathogenese aktiv sind. Dies könnte darauf hindeuten, dass diese Tumorentität aus unterschiedlichen Subentitäten bestehen, die sich trotz histomorphologisch identischem Phänotyp durch ihre Entstehung an unterschiedlichen anatomischen Lokalisationen definieren. Die Ergebnisse könnten ein Beitrag dazu sein, ein Modell zu entwickeln und zu verfeinern, das die Abfolge der genetischen Veränderungen beschreibt, die im Verlauf der Progression einer oralen Dysplasie über das invasive bis hin zum metastasierenden Karzinom entstehen. Dieses Modell hätte nicht nur prognostische Bedeutung für den einzelnen Tumorpatienten, es ließen sich auch die Indikationsstellungen für den Einsatz adjuvanter und neoadjuvanter Therapieverfahren neu evaluieren und diese Therapien auf ihre Wirksamkeit bezüglich einzelner Tumorklone überprüfen. Dies wäre nicht nur ein großer Fortschritt in der adäquaten Diagnose und Prognose einer Tumorerkrankung, es könnte auch dazu führen, dass die bis heute trotz großem technischen Aufwand noch mäßigen Therapieerfolge in Zukunft entscheidend verbessert werden.