

Simone Schlien

Dr.med.dent.

## **Aberrante Expression von Zellzykluskomponenten in Kopf-Hals-Tumoren mit Überexpression eines scheinbar unmutierten p53-Proteins**

Geboren am 02.07.1974 in Mannheim

Reifeprüfung am 12.05.1993 in Mannheim

Studiengang der Fachrichtung Zahnmedizin vom WS 1993/94 bis SS 1999

Physikum am 30.09.1996 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Staatsexamen am 14.07.1999 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. med. H. Weidauer

Plattenepithelkarzinome im Kopf-Hals-Bereich haben im Allgemeinen keine günstige Prognose, da sie meist erst in fortgeschrittenen klinischen Stadien diagnostiziert werden. Die in diesen Stadien eingeleiteten chirurgischen oder radio-chemotherapeutischen Maßnahmen bringen häufig nicht mehr den erhofften Therapieerfolg, führen aber zu teilweise erheblichen Einbußen an Lebensqualität für die betroffenen Patienten.

Um die Therapieansätze effektiver gestalten zu können, bemüht sich die molekulargenetische Tumorforschung in den letzten Jahren verstärkt, Prognosemarker zu identifizieren, die individueller auf bestimmte Tumortypen zugeschnitten sind als die bislang verwendeten Typisierungskriterien Tumorstadium, Tumorlokalisation und Grading.

Im Rahmen dieser Bemühungen wurde in der vorliegenden Arbeit eine Multiparameteranalyse auf Basis immunhistochemischer Färbemethoden durchgeführt. Ziel war es, eine bestimmte Gruppe von Kopf-Hals-Tumoren differenzierter zu charakterisieren. Bei dieser Gruppe handelte es sich um Tumoren, die einen erhöhten Proteinstatus und damit eine unphysiologische Stabilisierung von p53 im entarteten Gewebe aufwiesen, obwohl bei ihnen zunächst mittels routinemäßiger Sequenzierung keine funktionsbeeinträchtigende Mutation in der „hot spot“-Region des p53-Gens nachgewiesen werden konnte.

Schädigungen der p53-Funktion in Form von Genmutationen sind auch in Kopf-Hals-Tumoren die häufigsten genetischen Veränderungen.

Da p53 vielfach als universeller „Wächter über das Genom“ bezeichnet wird, kann man postulieren, dass in jedem Tumor eine Funktionsstörung von p53 vorliegen muß.

Solche Funktionsstörungen im p53- und pRb-Regelkreis, die zu unkontrollierter Proliferation führen können, äußern sich im Tumor durch aberrante Expression weiterer wichtiger Zellzyklusproteine.

An Gewebeproben von 40 primären Kopf-Hals-PEC's, die in den Jahren 1990-1998 in der Hals-Nasen-Ohrenklinik Heidelberg behandelt worden sind, wurden daher die wichtigsten Zellzyklusregulatoren (p21, p27, p14, p16, CD1 und CDK4), die mit p53 und pRb direkt oder indirekt interagieren, untersucht und deren Expressionsstatus im Tumorgewebe bestimmt. Parallel hierzu auch p53 und pRb selbst, sowie der Proliferationsmarker MIB. Alle Versuche erfolgten unter Anwendung von konventioneller- und teilweise auch Tyramid verstärkter Immunhistochemie.

Durch Vergleich der Expressionsmuster untereinander und mit denjenigen einer Kohorte p53-mutierter Tumoren sowie aus Vergleichen mit den vorliegenden klinischen Daten und spezifischer Fachliteratur, wurden in dieser Arbeit folgende Erkenntnisse gewonnen:

Alle untersuchten Tumoren wiesen zumindest partielle Störungen in der Expression von p14 auf, welches zur Aktivierung von p53 im Zellkern notwendig ist.

Während in den Extremfällen von einem völligen p53-Funktionsverlust auszugehen ist, scheint ein partieller p53-Funktionserhalt bei HPV-assoziierten Tumoren vorzuliegen. Diese HPV-assoziierten Tumoren weisen sich durch ein bestimmtes Proteinmuster aus (pRb-Reduktion, CD1-Verlust, erhöhter p16- und MIB-Proteinspiegel, reduzierte p27-Expression). Angesichts der pRb-Reduktion ist in diesen HPV-assoziierten Tumoren eine gleichzeitige p53-Mutation offenbar ausgeschlossen. Die betroffenen Patienten scheinen von einer Radiatio zu profitieren, da sich diese Tumoren als besonders Apoptose empfindlich gezeigt haben.

Als sehr informativ erwies sich die p16-Analyse. Da eine signifikante Assoziation zwischen p16-Verlust und p53-Mutationen gefunden wurde, wurden einige p53-„unmutierte“ Tumoren mit p16-Verlust mit dem sehr empfindlichen p53-„GeneChip“ nachsequenziert. Bei dieser Nachsequenzierung wurden tatsächlich zuerst unerkannte p53-Mutationen entdeckt.

Aufgrund der geringen Signalstärke sowohl bei der ersten, als auch bei der zweiten Sequenzierung ist zu vermuten, dass die Mutationen nur heterozygot vorlagen.

Für eine Interpretation hinsichtlich der Funktionalität des überexprimierten p53 in den untersuchten Tumoren erwiesen sich weder p21 noch mdm2 alleine als geeignet. Es ist daher anzunehmen, dass die p21- und mdm2-Regulation in Kopf-Hals-Tumoren nicht nur von p53 abhängig ist, sondern weitere Einflussfaktoren hinzutreten.

Die Überlebensstatistiken in der untersuchten Kohorte zeigten bei etablierten Prognosemarkern, wie Stadium, Grading und daraus folgend auch der Therapieform die erwarteten signifikanten Ergebnisse. Bei den einzelnen aberranten Proteinexpressionen wurde dagegen keine signifikante prognostische Bedeutung gefunden. Hierzu war die Patientenzahl der untersuchten Kohorte zu gering.

Es gilt daher die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse über die verschiedenen p53-Störungen anhand von Untersuchungen mit größeren Fallzahlen zu überprüfen. Die Möglichkeit durch Multiparameteranalysen im Gegensatz zu Einzelproteinanalysen Tumorphänotypen differenzierter zu entschlüsseln, wächst mit dem Umfang des einbezogenen Proteinspektrums. Daher wäre der Verzicht auf Einzelproteinanalysen zugunsten von Multiparameteranalysen mit möglichst breitem Proteinspektrum wünschenswert.