

Katharina Leng
Dr. med.

Allelimbalancen und Expression von Zellzykluskomponenten als Surrogat-Marker für den p53-Status in Kopf-Hals-Tumoren

Geboren am 02.08.1972 in Hagenow
Staatsexamen am 20.11.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. H. Weidauer

Kopf-Hals-Tumoren sind eine Gruppe von Tumoren, die einem operativen Therapieansatz aus anatomischen Gründen oft nur bedingt zugänglich sind, so dass man auf Ergänzungen durch Radio- oder Chemotherapie zurückgreift. Leider sind die Heilungschancen durch diese adjuvanten Therapien noch immer begrenzt, stattdessen führen sie häufig zur Einschränkung der Lebensqualität. Deshalb besteht die Notwendigkeit, intensiv nach neuen Therapieansätzen zu suchen. Molekularbiologische Untersuchungen haben zum Ziel, Prognosefaktoren zu identifizieren, die eine genauere Charakterisierung des Tumors erlauben, als die bisherigen klinischen Parameter dies können. Solche molekularen Faktoren sollen dazu beitragen, dass die Tumorthherapie individualisiert werden kann.

Eine molekulare Unterteilung der Kopf-Hals-Tumoren ist möglich z.B. durch Mutationsanalysen und immunhistochemische Färbungen des p53-Proteins, das nach derzeitigem Kenntnisstand am häufigsten in Tumoren verändert ist. Zu Beginn dieser Arbeit herrschte die Auffassung vor, dass *TP53*-Mutationen, die in der Mehrzahl der Fälle mit der Akkumulation des veränderten p53-Proteins einhergehen, prognostisch bedeutsam sind. Es wurde jedoch von vielen Arbeitsgruppen übereinstimmend eine Gruppe von Tumoren gefunden, die eine p53-Überexpression, aber scheinbar keine Mutation im zentralen Bereich aufwies. Der funktionelle Status von p53 und das klinische Verhalten dieser Tumoren waren unklar. Unsere Vermutung war, dass die p53-Überexpression ein Hinweis auf Mutationen außerhalb des zentralen Bereichs sein könnte, und solche Fälle sollten verstärkt Allelimbalancen zeigen.

Es wurden 38 Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereichs auf Allelimbalancen am und um den *TP53*-Lokus untersucht, um Hinweise auf eventuell nicht erkannte Mutationen zu finden. Dafür wurden 13 Marker auf Chromosom 17 mittels Mikrosatellitenanalyse untersucht. Die Mikrosatellitenanalyse zeigte in überraschend vielen, nämlich in der Hälfte der Fälle, Allelimbalancen an. Von sieben darauf hin mittels *p53 GenChip* untersuchten Tumoren zeigten sechs tatsächlich eine Mutation, während ein weiterer Tumor ohne Allelimbalancen, der als Negativkontrolle diente, auch keine Mutation aufwies. Dies belegt die Nützlichkeit der Mikrosatelliten-Analyse, denn sie weist auf genetische Ereignisse und den daraus resultierenden Selektionsdruck auf die verbleibenden Allele hin. Diese Allelimbalancen hatten jedoch keinerlei Einfluss auf das Überleben oder die progressionsfreie Zeit, wie Kaplan-Meier-Analysen zeigten.

Als zweiter experimenteller Ansatz, der Hinweise auf p53-Veränderungen geben konnte, wurden die Expressionsmuster der Zellzyklusproteine p27, mdm2 und MIB, die mit p53 direkt oder indirekt in Beziehung stehen, mittels Immunhistochemie im Tumorgewebe

untersucht. Die Interpretation der Ergebnisse der Immunhistochemie sowie der Vergleich der Proteine untereinander ergaben folgende Erkenntnisse:

MIB wurde entsprechend der Erwartung in mehr als der Hälfte der Fälle überexprimiert, als Zeichen verstärkter Proliferation. Die Mdm2-Expression im untersuchten Kollektiv war extrem heterogen und korrelierte weder mit p53 noch mit irgendeinem anderen untersuchten Parameter, insbesondere auch nicht mit den Allelimbalancen. Mdm2 erwies sich damit als nicht informativ bezüglich des p53-Status, und wird offensichtlich in den Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereichs durch andere Mechanismen reguliert. Auch die p27-Expression war bezüglich des p53-Status nicht informativ. Bemerkenswerterweise war aber p27 in den gut differenzierten Tumoren stärker reduziert als in den schlecht differenzierten, in denen es seine wachstumshemmende Funktion nicht erfüllen kann.

Die Ergebnisse der Immunhistochemie waren weder für sich allein, noch in Kombination mit der Mikrosatellitenanalyse prognostisch aussagekräftig, was vermutlich an der geringen Fallzahl lag.

Nach unserem heutigen Kenntnisstand, der sich auf groß angelegte Studien zum Einfluss von p53 auf die Prognose stützt, sind die Ergebnisse dieser Arbeit nicht mehr überraschend. Sie bestätigen vielmehr die Vermutung, dass die p53-Inaktivierung, die selbst schon sehr komplexer Natur sein kann, für die Tumorprogression keine große Rolle spielt. Die p53-Inaktivierung erfolgt in jedem Tumor bereits vor dem invasiven Stadium und die Natur der Veränderung erscheint sekundär.