

Michael Montag
Dr.med.

Lokalisationsabhängige Profile angiogener Wachstumsfaktoren bei Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereiches

Geboren am 2.9.1974 in Heidelberg
Staatsexamen am 9.12.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Peter K. Plinkert

Es gilt als gesichert, dass für das Wachstum eines Tumors ein adäquates Blutgefäßnetzwerk nötig ist, das sowohl ausreichend Nährstoffe und Sauerstoff in das entartete Gewebe leitet, als auch Stoffwechselprodukte zu entsorgen hilft. Bis zu einem Volumen von wenigen Kubikmillimetern wird ein Tumor von der ihn physiologischer Weise umgebenden Blutgefäßlandschaft ausreichend versorgt, darüber hinaus verlangen die Bedürfnisse des Tumorgewebes die Aussprossung und Bildung neuer Blutgefäße aus den bereits bestehenden Kapillaren und Venolen. Aus der Vielfalt an angiogenen Faktoren, die vom Tumor zur Induktion der Angiogenese auf unterschiedliche Reize hin sezerniert werden, wurde in dieser Arbeit eine Auswahl von acht dieser Proteine auf ihr qualitatives und quantitatives Vorkommen in HNSCC hin untersucht: HGF, b-FGF, VEGF-A, VEGF-D, G-CSF, GM-CSF, PDGF-AB und PDGF-BB. Der Gewebepool umfasste dabei Plattenepithelkarzinome aus dem Oropharynx, dem Larynx und Hypopharynx sowie Karzinome unbekannter Herkunft, kurz CUP. Mittels standardisiertem ELISA-Verfahren wurden Faktorkonzentrationen in Lysaten von 41 Nativgewebeproben ermittelt. Immuno-histochemisch konnte mit Hilfe eines Bildanalyse-Systems der Tumorangehalt und die Blutgefäßdichte eines jeden Gewebes errechnet werden. Erfasst wurden zudem die Parameter Staging, Grading und Überlebenszeit. Diese Arbeit explorativen Charakters hatte es zum Ziel, in einem in vivo-Umfeld unter Berücksichtigung von Einflüssen des tumorumgebenden Stromas möglichst naturgetreu das Vorkommen der acht angiogenen Faktoren und deren Korrelation mit klinisch-pathologischen Parametern zu beschreiben. Es interessierte zudem, ob abhängig von der Tumorlokalisation typische Faktorenprofile existieren, um eventuelle Schlüsselfaktoren für eine zielgerichtete antiangiogene Therapie zu identifizieren. Zur Charakterisierung des Studienkollektivs wurden mittels Immunhistochemie in jedem Gewebe der Tumorangehalt und die Gefäßdichte bestimmt. Die Bestimmung diente zur Klärung der Frage, ob es sich bei den 41 ausgewählten Tumorgeweben um eine genügend homogene Stichprobe handelte. Die Analyse des Tumorangehaltes ergab einen gruppenübergreifenden Durchschnittswert von etwa ein Drittel.

Die Mittelwerte der vier Tumorgruppen zeigten dabei vergleichbare Werte. In einem nächsten Schritt sollte die Heterogenität der Tumorgefäßversorgung in Form einer Gefäßdichtenbestimmung näher analysiert werden. Trotz eines wie beschrieben homogenen Tumoranteils bestand eine beträchtliche Streuung bei der Gefäßdichte, dabei bedeutete ein höherer Tumoranteil nicht gleichzeitig eine erhöhte angiogene Aktivität.

Per ELISA wurden die Konzentrationen der ausgewählten Wachstumsfaktoren in ng/mg Gesamtprotein an Gewebelysaten bestimmt. Insgesamt fiel auf, dass HGF unabhängig von der Tumorlokalisation die höchsten Konzentrationswerte aufwies, gefolgt von b-FGF und VEGF-A. Hierbei wurden HGF und b-FGF von allen Geweben produziert, VEGF von 98%. Auch PDGF-AB und PDGF-BB wurden mit jeweils 68% aller Gewebe relativ häufig gefunden. GM-CSF wurde in 56% der Gewebe gefunden, G-CSF in 51%. Die geringste Bedeutung scheint dem Cytokin VEGF-D zuzukommen, da es nur in 3 der untersuchten Gewebe und hier nur in äußerst geringen Mengen nachweisbar war. Lokalisationsabhängige signifikante Unterschiede in der Produktion eines einzelnen Wachstumsfaktors konnten für PDGF-BB, b-FGF und G-CSF gefunden werden.

Bei Betrachtung der Beziehungen der Wachstumsfaktoren untereinander fanden sich Korrelationen zwischen G- und GM-CSF, PDGF-AB und -BB, VEGF-A und PDGF-AB, b-FGF und HGF sowie zwischen b-FGF und G-CSF. Anhand dieser zahlreichen Verknüpfungen lässt sich nachvollziehen, dass ausgeprägte Wechselwirkungen zwischen den angiogenen Wachstumsfaktoren bestehen. Auch die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Gewebe sezernierten nie weniger als drei Wachstumsfaktoren gleichzeitig, circa die Hälfte des Gesamtkollektives bildeten drei bis fünf Faktoren, etwas mehr als die Hälfte sechs bis acht Faktoren. Eine gegen einen einzigen Faktor gerichtete Therapie muss also Gefahr laufen, durch Kompensationsreaktionen in ihrer Wirkung stark geschwächt oder gar wirkungslos zu werden. Folglich verspricht das Vorgehen gegen mehrere Kernfaktoren den größten Benefit.

Im Zuge der Analyse von Korrelationen der Wachstumsfaktormengen mit klinisch-pathologischen Parametern fand sich eine signifikante Kopplung mit der Überlebenszeit für HGF, b-FGF und G-CSF, eine höhere Konzentration hatte jeweils eine schlechtere Prognose zur Folge. Diese Bezüge werden für HGF und b-FGF hier erstmals beschrieben, für G-CSF erstmals unter in-vivo-Bedingungen. Die Ergebnisse im Hinblick auf den Einfluss von G-CSF raten zu einer grundlegenden Hinterfragung der Verwendung von G- und GM-CSF zur Behandlung granulozytopenischer Zustände nach Chemo- und beziehungsweise oder Radiotherapie.

Die hier vorliegende Arbeit bestätigt das komplizierte und von vielen Faktoren abhängig regulierte Wesen der tumorinduzierten Angiogenese. Nicht einzelne Gene, sondern eine Fülle an unphysiologisch produzierten Wachstumsfaktoren und Verflechtungen zwischen diesen sorgen für eine bis zum heutigen Tage therapeutisch schwer zu durchbrechende Phalanx des Tumorwachstums. Erfolg in dessen Bekämpfung dürfte vor allem durch Multitarget-Therapien oder durch die Ausschaltung von Schlüsselfaktoren mit außerordentlichem Einfluss zu erwarten sein. Die Ergebnisse der hier vorgestellten Untersuchungen können in diesem Sinne zu einer Erweiterung des Kataloges der therapielevanten angiogenen Faktoren führen, und den Focus des Therapeuten auf nun in ihrer Bedeutung untermauerte Faktoren in HNSCC lenken.