

Markus Régino Kolb

Dr. med.

Niedrige Kallikrein-related Peptidase 6- Expression im Plattenepithelkarzinom des Oropharynx als unabhängiger Biomarker für eine ungünstige Prognose

Fach/Einrichtung: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Jochen Hess

Die fehlregulierte (Über-)Expression der Kallikrein-related peptidase 6 (KLK6) tritt bei zahlreichen bösartigen Krebserkrankungen des Menschen auf und viele Studien sind zu dem Schluss gekommen, dass KLK6 in diesem Zusammenhang nicht nur als vielversprechender Biomarker für eine frühzeitige Diagnosestellung, sondern auch als Marker für eine ungünstige Prognose Verwendung finden kann. Jedoch gibt es bisher keine Studien über die Expression und molekulare Funktion von KLK6 bei Karzinomen der Schleimhaut, und hier speziell der Oropharynx- und Zervixschleimhaut.

Eine Tumorzelllinie der Zervixschleimhaut und drei Tumorzelllinien von Kopf-Hals-Tumoren wurden durch Western Blot-Analyse auf ihre KLK6-Expression hin untersucht. Um den Einfluss von KLK6 auf tumorrelevante Prozesse zu analysieren, wurden stabile Zellklone mit ektopischer KLK6-Überexpression von einer humanen, endogen nicht KLK6-exprimierenden Schleimhaut-Tumorzelllinie der Zervix hergestellt. Diese wurden durch Western Blot- und Immunfluoreszenz-Analysen auf ihre KLK6-Proteinexpression und -lokalisierung hin untersucht. Im Anschluss wurden primäre Plattenepithelkarzinome des Oropharynx (*engl.: oropharyngeal squamous cell carcinoma, OPSCC*) einer retrospektiven Patientenkohorte (n=125) auf tissue microarrays (TMAs) durch ein immunhistochemisches Verfahren auf ihre KLK6-Expression hin untersucht. Die sich daraus ergebende KLK6-Expression und -Lokalisation wurde mit klinischen und histo-pathologischen Merkmalen sowie dem HPV-Status der OPSCC-Patientenkohorte korreliert und anschließend durch univariate Kaplan-Meier-Analysen und ein multivariates Cox Regressionsmodell auf ihre Assoziation mit dem progressionsfreien und Gesamtüberleben der OPSCC-Patienten hin untersucht. Zur

Verifizierung der IHC-Spezifität wurde aus schwach bzw. stark KLK6 exprimierenden Oropharynx Tumoren der Patientenkohorte die RNA extrahiert und die Transkriptmengen durch eine Reverse Transkriptase-Polymerase Ketten-Reaktion (RT-PCR) analysiert.

Eine KLK6-Expression wurde in den drei Tumorzelllinien der Kopf-Hals-Tumoren (FaDu, Cal-27, SCC-25), jedoch nicht in der Tumorzelllinie der Zervixschleimhaut (HeLa) gefunden. Das veränderte Verhalten der HeLa-Zellen durch die induzierte ektopische KLK6-Expression zeigte eine inhibitorische Funktion von KLK6 bezüglich der Tumorzellproliferation und Migration auf. Analog dazu war eine geringe KLK6-Proteinexpression in den Primärtumoren der OPSCC-Patienten signifikant mit einem schlechten progressionsfreien ($p=0,023$) und Gesamtüberleben ($p=0,006$) assoziiert. Weiterhin zeigte diese Arbeit zum ersten Mal, dass eine geringe KLK6-Expression ein unabhängiger Risikofaktor für ein schlechtes progressionsfreies und Gesamtüberleben von OPSCC-Patienten ist und somit als potentieller prognostischer Biomarker für eine ungünstige klinische Prognose dienen könnte. In den stabilen HeLa-KLK6 Klonen konnte eine zytoplasmatische, nukleäre und extrazelluläre KLK6-Lokalisation nachgewiesen werden. Passend dazu deckten die IHC-Analysen eine bisher nicht für KLK6 beschriebene nukleäre Lokalisation auf. Des Weiteren ergaben sich Hinweise darauf, dass die beschriebene nukleäre KLK6-Lokalisation vermutlich auf eine alternative Spleißvariante zurückzuführen ist und mit einer tumorprotektiven nukleären Funktion einhergeht. Die stark KLK6-Protein exprimierenden Tumore wiesen wesentlich höhere KLK6-Transkriptmengen auf im Vergleich zu den gering KLK6-Protein exprimierenden Tumoren.

Zusammenfassend unterstützen diese Ergebnisse die Hypothese, dass die Regulation und Funktion von KLK6, je nach Tumorentität, kontextabhängig ist und dass eine geringe KLK6-Expression, im Gegensatz zu seiner Rolle bei den meisten anderen bösartigen humanen Krebserkrankungen, mit einem höheren Risiko für einen Behandlungsmisserfolg bei OPSCC-Patienten assoziiert ist. Daher stellt der Nachweis einer geringen KLK6-Proteinexpression in primären OPSCCs ein vielversprechendes Mittel dar, um Patienten mit einem hohen Risiko

für einen möglichen Behandlungsmisserfolg zu identifizieren. Diese Patienten könnten in Zukunft von einer pharmakologischen Reaktivierung der KLK6-Expression profitieren. Allerdings sind hierzu noch die spezifischen Signalwege und genauen Ursachen der KLK6-Wirkungsweise bei OPSCCs zu analysieren.