

Ji Hyun Youm

Dr. med.

Molekulare Charakterisierung des IPMN-assoziierten invasiven Adenokarzinoms des Pankreas

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Jens Werner

Intraduktal papillär-muzinöse Neoplasien (IPMNs) sind zystische Pankreasläsionen, die aus dem hohen Zylinderepithel des Pankreasgangs entstehen. Die genaue Inzidenzrate dieser Tumore ist unbekannt, allerdings seit der Erstbeschreibung im Jahre 1982 tendenziell steigend, am ehesten aufgrund des verbreiteten Verständnisses über diese Erkrankung. Die Differentialdiagnostik zu anderen zystischen Pankreasläsionen stellt eine der größten Herausforderungen in dem Management der IPMNs dar. Ebenso ist in manchen Fällen die Grenze zwischen konventionellen duktalem Pankreaskarzinomen, die mit IPMNs assoziiert sind und invasiven IPMNs schwierig zu ziehen. IPMNs werden nach ihrem makroskopischen Befund in den Hauptgang-, Nebengang- oder gemischten Typ eingeteilt, sowie nach ihrem histologischen Befund in verschiedenen Subtypen. In ihrer invasiven Form, die sich schrittweise in Form einer Adenom-Karzinom-Sequenz entwickelt, wird die IPMN ebenfalls histologisch unterteilt. Die Prognose der IPMNs ist, auch bei isolierter Betrachtung der invasiven Tumore, im Allgemeinen besser als die der PDACs.

Ziel dieser Arbeit war es, invasive IPMNs getrennt von den niedrigeren Dysplasiegraden der IPMNs zu betrachten und diese mit dem konventionellen duktalem Adenokarzinom, der chronischen Pankreatitis und dem gesunden Normalgewebe zu vergleichen, um ein besseres Verständnis über den molekularen Unterschied dieser Entitäten zu gewinnen. Die in dem Rahmen dieser Arbeit untersuchten Gene sind das KRAS-Gen, welches in seiner mutierten Form als ein Onkogen in vielen Tumoren bekannt ist, sowie das GNAS-Gen, welches laut mehreren Studien gehäuft in IPMNs mutiert ist. Zudem wurde das Tumorsuppressorprotein p53 untersucht und zum ersten Mal eine quantitative Expressionsanalyse der Retinoidrezeptoren RAR α , β , RXR α und RXR β durchgeführt.

Zur Analyse wurden FFPE- und kryokonserviertes Patientengewebe aus der Gewebekbank der Chirurgischen Klinik Heidelberg herangezogen. Nach histologischer Aufarbeitung und

Validierung jedes Präparates wurde DNA gewonnen, beziehungsweise RNA gewonnen und mittels reverser Transkription aufgearbeitet. Es erfolgte eine konventionelle PCR sowie anschließende Sequenzierung der Produkte für die Mutationsanalyse der Gene KRAS und GNAS. Zudem wurde mittels quantitativer Echtzeit-PCR die Retinoidrezeptorkonzentration bestimmt. Zuletzt wurden die Proben mit Hilfe immunhistologischer Färbungen auf p53-Mutationen untersucht.

Es stellte sich eine KRAS-Mutationsrate von 60 % in invasiven IPMNs und 91 % in PDACs und somit ein signifikanter Unterschied in beiden Gruppen dar ($p < 0,001$). Die GNAS-Mutationsrate betrug wider Erwarten lediglich 6 % in der Gruppe der invasiven IPMNs und 0 % in allen anderen Gruppen. Die p53-Mutationsrate lag mit 27 % (invasive IPMN) und 49 % (PDAC) in der komparativen Analytik knapp an der Signifikanzgrenze ($p = 0,050$). Die Retinoidrezeptoren RAR α , β und RXR α , β waren in allen Gewebeproben vorhanden. Im Vergleich zum gesunden Kontrollgewebe waren RAR α , RAR β und RXR α in allen invasiven IPMNs und PDACs signifikant reduziert; RXR β war in IPMNs reduziert, in PDACs jedoch signifikant erhöht. In der ROC-Kurvenanalyse zeigten sich alle Retinoidrezeptoren als Differenzierungsmarker zwischen invasiver IPMN und gesundem Pankreas geeignet, sowie RAR α , RXR α und RXR β zusätzlich zwischen PDAC und gesundem Pankreas. Ferner ergab die ROC-Kurvenanalyse des RXR β zur Differenzierung zwischen invasiver IPMN und PDAC ein signifikantes Ergebnis ($p < 0,001$). In der Untersuchung nach Korrelation mit klinischen Parametern stellte sich dar, dass signifikant mehr RXR β in IPMN-Patienten mit einem Operationsalter ≥ 65 Jahren, G3-Tumoren sowie positivem präoperativen CEA-Befund exprimiert waren. RXR α war verstärkt in CEA-negativen IPMN-Patienten exprimiert. Des Weiteren waren mehr Lymphknotenmetastasen unter KRAS-mutierten PDACs zu finden als unter solchen mit dem Wildtyp-Gen. Weitere Zusammenhänge zu klinischen Parametern konnten nicht gefunden werden. RAR α war zudem weniger in KRAS-mutierten invasiven IPMNs exprimiert als in IPMNs mit Wildtyp-KRAS. Die Mutationen KRAS, GNAS und p53 untereinander sowie weitere Korrelationsanalytik zu den Retinoidrezeptorexpressionen ergaben keine signifikanten Zusammenhänge.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass in invasiven IPMNs KRAS und p53 seltener mutiert waren als in PDACs. Das KRAS, welches in PDACs als ein zentraler Faktor in der Karzinogenese angesehen wird, scheint hiermit eine deutlich geringere Bedeutung für die Entwicklung von Invasivität in IPMNs zu besitzen. Die GNAS-Mutationsrate dieser Arbeit lag mit 6 % sehr viel niedriger als die, die bisher in verschiedenen Studien publiziert wurden.

Ferner konnte im Rahmen dieser Arbeit zum ersten Mal gezeigt werden, dass die Retinoidrezeptoren RAR α , β und RXR α , β in allen untersuchten Gruppen exprimiert und in beiden Tumoren – mit Ausnahme von RXR β in PDAC – deutlich reduziert waren. Dies deutet darauf hin, dass der Retinoidrezeptorenverlust auch in IPMNs und PDACs ein wichtiger Faktor der Pathogenese darstellt, jedoch, dass sich die Expressionsmuster voneinander unterscheiden. Die ROC-Kurvenanalyse zeigt uns, dass die vier untersuchten Retinoidrezeptoren für die Unterscheidung zwischen invasiver IPMN und gesundem Pankreas potentiell geeignet sind, zudem insbesondere das RXR β für die Differenzierung zwischen invasiver IPMN und PDAC. In Zukunft könnte es von Interesse sein, sowohl für die Analyse der GNAS-Mutation als auch für die Retinoidrezeptorenanalyse eine größere Patientenzahl zu untersuchen.

Alles in allem zeigten sich mehrere signifikante Unterschiede zwischen den IPMN-assoziierten invasiven Adenokarzinomen des Pankreas und den konventionellen Adenokarzinomen des Pankreas in sowohl den Mutationsstatus als auch in den Expressionsmuster der untersuchten Gene und Proteine.