

Dr. med. Jürgen Schlabe

Dr. med. dent.

Fach/Einrichtung: Mund-Zahn-Kieferheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Kolja Freier

Genomweite Methylierung im primären Plattenepithelkarzinom der Kopf-Hals-Region

Plattenepithelkarzinome der Kopf-Hals-Region stellen eine Gruppe maligner Neoplasien dar, die im Bereich der Mundhöhle, Oro- und Hypopharynx, Larynx und der Trachea lokalisiert sind und von den Zellen des oberen Aerodigestivtraktes ausgehen. Mit einer Inzidenz von 900.000 Erkrankungen weltweit sind sie die siebthäufigste Tumorentität bei Männern und an fünfzehnter Stelle bei Frauen. Intensiver Tabakkonsum und Alkoholgenuss sowie die Kombination aus beidem gelten als die Hauptrisikofaktoren. Trotz intensiver Forschung und Aufklärung sowie verbesserten Therapieverfahren beträgt das Gesamtüberleben über alle Tumorstadien nur etwa 60%.

Es wurden 33 Proben von primären Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region in die Studie eingeschlossen. Für 21 lagen zusätzliche Daten aus der Vergleichenden Genomischen Hybridisierung und bei 24 lagen zusätzlich Expressionsdaten aus Arbeiten der Arbeitsgruppe vor. Als Kontrolle dienten zehn Schleimhautproben gesunder Patienten aus Routine Weisheitszahnentfernungen. Ebenfalls wurden klinische Daten der Patienten erhoben. Im Rahmen dieser Studie wurden genomweit epigenetische Veränderungen mithilfe des Infinium 27 Bead Chip[®] untersucht. Vier Gene wurden anschließend in der Massarray genauer untersucht, und die Chipergebnisse validiert. Drei Tumorzelllinien von Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region wurden mit unterschiedlicher Konzentration von 5-Aza-2'-Deoxycytidin über bis zu 192 Stunden kultiviert. Anschließend wurden die Gene *IRF8*, *NID2*, *ADAMTS18* und *MSX1* mittels RT-PCR auf Expressionsveränderungen auf mRNA-Ebene untersucht, sowie die Methylierungslevel in der Promoterregion mittels Massarray gemessen.

31% der untersuchten Methylgruppen unterschieden sich signifikant ($p \leq 0,05$) von Normalgewebe, etwa 10% zeigten hochsignifikante Unterschiede ($p \leq 0,001$). Aus den 30 am stärksten signifikant abweichenden Genen wurden die vier Gene *IRF8*, *MSX1*, *NID2* und *ADAMTS18* mithilfe der Massarray validiert und die Ergebnisse des Chips bestätigt.

Nach Behandlung mit 5-Aza-2'-Deoxycytidin zeigten die Promoterregionen der untersuchten Gene *IRF8*, *NID2*, *ADAMTS18* und *MSX1* teilweise Demethylierung. In der RT-PCR konnte eine absolute Erhöhung der mRNA Expression der untersuchten Gene nach Behandlung mit 5-Aza-2'-Deoxycytidin in allen drei Zelllinien nachgewiesen werden, bei *IRF8* erfolgte ein Anstieg auf den zweifachen Ausgangswert, bei *MSX1* auf bis zu den viereinhalbfachen Ausgangswert. Bei den Genen *NID2* und *ADAMTS18* war der Anstieg jedoch minimal. Es konnten keine Assoziationen mit klinischen Parametern wie Tumorgröße, Lymphknotenstatus oder Überlebenszeit gefunden werden.

Da IRF8 über den Apo1-Signalweg IFN und Caspasen und Bcl2 beeinflusst, kann angenommen werden, dass eine methylierungsbedingte Abschaltung von *IRF8* zu apoptotischer Resistenz führt. Die Hypermethylierung im Plattenepithelkarzinom der Kopf-Hals-Region wurde im Rahmen dieser Studie erstmals nachgewiesen.

Eine Hypermethylierung von *ADAMTS18* wurde bereits in verschiedenen Tumoren nachgewiesen und im Rahmen dieser Studie erstmals auch im Plattenepithelkarzinom der Kopf-Hals-Region belegt. Ebenfalls ergab die Studie gute Hinweise auf eine Reaktivierung des Gens durch Demethylierung.

MSX1 ist beeinflusst p53 und induziert über den Wnt-Signalweg die Wnt-Inhibitoren DKK1, DKK2, DKK3 und SFRP1 induziert, die ihrerseits Einfluss auf den Tumorsuppressor APC und den Abbau von β -Catenin nehmen. Hierin könnte eine wichtige Rolle von *MSX1* in der Pathogenese des Plattenepithelkarzinoms der Kopf-Hals-Region bestehen. Die Hypermethylierung von *MSX1* wurde in dieser Studie erstmals nachgewiesen.

NID2 spielt eine zentrale Rolle beim Aufbau und bei der Stabilität der Basalmembran. Daher dürfte die Methylierung von *NID2* vor allem in der Invasion und Metastasierung eine wichtige Rolle spielen.