

Florian Oßwald

Dr. med.

Identifizierung und Charakterisierung differenziell exprimierter Gene in Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen von Lang- und Kurzzeitüberlebenden

Fach/Einrichtung: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

Doktormutter: Prof. Dr. rer. nat. Christel Herold-Mende

Die durchschnittliche 5-Jahres-Überlebensrate liegt bei Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich („head and neck squamous cell carcinoma“, HNSCC) bei nur wenig über 60 %. Innerhalb eines Tumorstadiums zeigen sich jedoch hinsichtlich der Gesamtüberlebensrate große Schwankungen von wenigen Monaten bis zu 15 Jahren. Grund für den Überlebensvorteil könnte eine veränderte Genexpression oder eine unterschiedliche Aktivierung des Immunsystems sein. Das Ziel der Arbeit war es, mithilfe einer transkriptomweiten Analyse differenziell exprimierte Gene in Kurz- und Langzeitüberlebenden mit Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich zu identifizieren und deren mögliche Bedeutung in Bezug auf die Tumorgenese oder eine Immunantwort zu beschreiben.

In der vorliegenden Arbeit wurde aus kryokonserviertem Tumorgewebe von 6 Langzeitüberlebenden und 9 Kurzzeitüberlebenden RNA extrahiert. Zuvor erfolgte der Ausschluss HPV-positiver Tumore mittels p16-Immunhistochemie an Kryo-Dünnschnitt-Präparaten. Anschließend erfolgte eine transkriptomweite Expressionsanalyse mittels RNA-Microarray. Aus den gewonnenen Expressionsdaten wurden 9 Kandidatengene ausgewählt, die mittels Real-Time-quantitativer-PCR validiert und anschließend an einem unabhängigen Patientenkollektiv (n = 65) und mittels des öffentlich zugänglichen TCGA-Datensets (n = 121) weiter auf ihre Validität überprüft wurden. Die Überprüfung der Ergebnisse für einzelne Gene auf Proteinebene erfolgte mittels Immunfluoreszenzfärbung und anschließender Auswertung mittels TissueFAXS. Um einen möglichen Zusammenhang mit der Immunbiologie dieser Tumore weiter zu untermauern erfolgte eine Korrelationsanalyse der Expressionsdaten mit einer bereits veröffentlichten, den Makrophagen-Phänotyp definierenden Gensignatur.

Mit Hilfe der transkriptomweiten Expressionsanalyse konnte ein 659 Gene-umfassendes Expressionsmuster identifiziert werden, welches eine zuverlässige Aufteilung der 15 Tumorproben in Lang- und Kurzzeitüberlebende zuließ. Die Expressionsunterschiede konnten anhand der Validierung mittels qPCR und mittels Validierung anhand eines unabhängigen Kollektivs und des TCGA-Kollektivs für einzelne Gene zumindest zum Teil bestätigt werden. Unter anderem konnte das noch weitgehend uncharakterisierte Chemokin CXCL17 identifiziert werden, welches in der RNA-Microarray-Analyse einen signifikanten Expressionsunterschied zwischen Lang- und Kurzzeitüberlebenden aufwies ($p = 0,018$). Der signifikante Zusammenhang zwischen dem Überleben der Patienten und der CXCL17-Expression ließ sich dann in Teilen anhand eines unabhängigen Patientenkollektivs (PFS: HR = 0,91, 95% CI = 0,82-1,02, $p = 0,082$) und des TCGA-Datensets (OS: HR = 0,96, 95% CI = 0,92-1,00, $p = 0,040$) bestätigen. Im Rahmen der Immunfluoreszenzuntersuchung konnte der signifikante Expressionsunterschied im Vergleich von Lang- und Kurzzeitüberlebenden auf Proteinebene bestätigt werden ($p = 0,034$). Des Weiteren war die

Expression von CXCL17 mit einer erhöhten Infiltration CD3-positiver T-Lymphozyten ($r = 0,556$, $p = 0,031$) sowie CD3-/CD8-positiver zytotoxischer T-Lymphozyten ($r = 0,652$, $p = 0,009$) assoziiert. Zusätzlich konnte eine signifikante Korrelation zwischen einer den Makrophagen-Phänotyp definierenden Genexpressionssignatur und deren differenzieller Expression in Kurz- und Langzeitüberlebern nachgewiesen werden ($r = 0,300$, $p = 0,005$).

Erstmals konnte ein Zusammenhang zwischen dem Patientenüberleben, der T-Zell-Infiltration und der Expression des Chemokins CXCL17 in Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich gezeigt werden. Weitere Untersuchungen sind nun notwendig, um die genaue Rolle von CXCL17 im Rahmen der Tumorgenese und anti-Tumor-Antwort zu charakterisieren. Außerdem sollten die Ergebnisse an größeren Kollektiven auf ihre Zuverlässigkeit und Gültigkeit geprüft werden, um daraus gegebenenfalls Prognosemarker zu entwickeln oder neue Therapiemöglichkeiten ableiten zu können.