

**Forum Moderne Pathologie
Forum Modern Pathology**

Schriftenreihe des Pathologischen Instituts
der Universitätsklinik Heidelberg

herausgegeben von
Prof. Dr. Peter Schirmacher

Band 14

Thomas Longerich

**Identifikation neuer Marker und Zielstrukturen
beim hepatozellulären Karzinom mittels
genomweiter Screening-Ansätze**

Shaker Verlag
Aachen 2012

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Zugl.: Heidelberg, Univ., Habil.-Schr., 2011

Copyright Shaker Verlag 2012

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-0810-4

ISSN 1863-7515

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • E-Mail: info@shaker.de

Zusammenfassung

Die molekulare Hepatokarzinogenese stellt einen langjährigen, mehrstufigen Prozess dar und beruht in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle chronischen Lebererkrankungen definierter Ätiologie. Auch wenn die auslösenden Faktoren bereits gut bekannt sind, fehlt es an Wissen um die genauen molekularen Mechanismen und entsprechende therapeutische Angriffspunkte. Die histopathologische Evaluation fokaler hochdifferenzierter hepatozellulärer Läsionen gehört zu den zentralen Aufgaben der Hepatopathologie und stellt eine der schwierigsten Herausforderungen dar.

Im Rahmen der vorliegenden Habilitationsarbeit wurden hepatozelluläre Karzinome mittels genomweiter Screeningansätze auf protumorigene Veränderungen untersucht und mehrere potentiell diagnostisch und therapeutisch relevante Faktoren im Detail und funktionell charakterisiert.

Eine Meta-Analyse klassischer CGH-Analysen von insgesamt 24 Dysplastischen Knoten und 871 humanen HCCs belegte, dass Zugewinne auf den Chromosomenarmen 1q und 8q frühe ätiologie-unabhängige genomische Alterationen darstellen, so dass onkogenen Kandidaten, die auf den Chromosomen 1q (wie MDM4) und 8q (MYC) codiert werden, vielversprechende Ziele für eine Prävention des humanen HCCs und möglicherweise Biomarker für eine frühe HCC-Diagnose darstellen könnten. Weiterhin wurde ein genomisches Progressionsmodell der Tumordifferenzierung des humanen HCC (1q-Zugewinn → 8q-Zugewinn 8q → 4q-Verlust → 16q-Verlust → 13q-Verlust) erarbeitet (Longerich et al., 2012).

In einer hochauflösenden, array-basierten Analyse eines ätiologisch gut definierten humanen HCC-Kollektivs (n=63) konnten rekurrente genomische Imbalancen aufgezeigt werden. Hierbei fanden sich chromosomale Zugewinne häufig auf den Chromosomenarmen 1q (71%), 6p (41%), 8q (49%), 17q (31%), 19p (31%) und 20q (43%), während Verluste genomischen Materials vorrangig auf den Chromosomenarmen 1p (31%), 4q (46%), 8p (52%), 13q (35%), 16q (31%) und 17p (37%) zu verzeichnen waren (Schlaeger & Longerich et al., 2008). Es konnten umschriebene ätiologie-typische genomische Imbalancen, die differentiell mit chronischem Alkoholabusus bzw. einer nicht-alkoholischen Steatohepatitis assoziiert waren, auf dem Chromosomenarm 8q nachgewiesen werden. Dies führte auf transkriptioneller Ebene zur Überexpression des MYC-Onkogens in den Alkohol-induzierten HCCs. Diese Daten deuten somit auf einem zumindest partiell differenten Hepatokarzinogenese-Mechanismus der pathogenetisch ähnlichen alkoholischen und nicht-alkoholischen Fettlebererkrankungen hin.

Während für den häufigen Zugewinn auf Chromosomenarm 1q das Protoonkogen Ski, welches als negativer Regulator im TGFβ-Signalweg fungiert, als Zielgen im humanen HCC ausgeschlossen werden konnte (Longerich et al., 2004), wurde durch die Definierung minimal überlappender Regionen u.a. MDM4 als ein Onkogen-Kandidat für die Zugewinne auf Chromosomen 1q identifiziert und funktionell in seiner Rolle als TP53-Inhibitor validiert (Schlaeger & Longerich et al., 2008).

Die Familie der Polo-like Kinasen (PLK) konnte mit onkogenen (PLK1) und tumorsuppressiven (PLK2-4) Funktionen in der humanen Hepatokarzinogenese assoziiert werden (Pellegrino et al., 2010). PLK1 wurde sowohl auf mRNA- wie auf Proteinebene in humanen HCCs überexprimiert, wobei sich besonders hohe Expressionslevel in HCCs mit kurzem Überleben nach Resektion zeigten. Diese PLK1-Überexpression resultierte aus einer proliferationsfördernden Aktivierung der Ha-Ras/FOXM1/PLK1-Achse wie die Induktion eines G2/M-Arrests nach PLK1-Inhibierung zeigte. Demgegenüber konnten für die Polo-like Kinasen 2-4 tumorsuppressive Funktionen im HCC aufgezeigt werden, wobei eine besonders geringe Expression in HCCs mit schlechter Prognose zu verzeichnen war. Die verminderte Expression von PLK2 und 3 war auf einer Promotermethylierung in Verbindung mit dem genomischen Verlust eines Allels basiert, während eine PLK4-Haploinsuffizienz offenbar für eine protumorige Wirkung ausreichen kann.

Diagnostisch kann mittels des immunhistologischen Nachweises einer diffusen sinusoidalen Expression von Annexin A2 (ANXA2) die diagnostische Aussagekraft einer etablierten Markerkombination (GPC3, GS, HSP70) hinsichtlich der verlässlichen und objektiven Biopsiediagnose des hochdifferenzierten HCCs verbessert werden (Longerich et al., 2011).

Zusammenfassend wurden im Rahmen dieser Habilitationsarbeit unter systematischer Verwendung breiter Screening- und Meta-Analysen ein onkogenetisches Progressionsmodell des HCC entwickelt und neue diagnostische Marker sowie potentiell onkogene und tumorsupprimierende Faktoren und damit mögliche therapeutische Zielstrukturen beim humanen HCC identifiziert. Selektierte Faktoren wurden funktionell validiert, wobei insbesondere die differentielle Rolle der PLKs sowie die Bedeutung des TP53-interagierenden MDM4 in der Hepatokarzinogenese herausgearbeitet wurde.