Aus der Klinik für Hämatologie, Onkologie und klinische Immunologie
Direktor: Univ.-Prof. Dr. R. Haas

Der Einfluss des Tumorsuppressorgens FHIT und des Tumoronkogens PTTG-1 auf das Überleben von Patienten mit kleinzelligem oder mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom

Dissertation

**zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

vorgelegt von

Nina Katrin Atamna

2006

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.- Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Bernd Nürnberg
Dekan

Referent: Priv.- Doz. Dr. med. Ralf Kronenwett

Korreferent: Prof. Dr. med. Baldus

Abkürzungsverzeichnis.....4

I. Einleitung und Problemstellung

1.1. Epidemiologie des Lungenkarzinoms……5
1.2. Ätiologie……6
1.3. Tumorentstehung……8
1.4. Histologie und Histopathologie……9
1.5. Stadieneinteilung……11
1.6. Diagnostik und Staging……13
1.7. Therapie……14
1.8. Prognose……18
1.9. Molekulare Prognosemarker bei Lungenkarzinomen……20
1.10 Zielsetzung der Arbeit……22

II. Patienten und Methoden

2.1. Patienten……23
2.2. Immunhistochemie……30
2.3. Statistische Methoden……32

III. Ergebnisse

3.1. Fragile histidine triad ……33
3.1.1. FHIT-Expression in kleinzelligen Lungenkarzinomen……33
3.1.2. Prognostische Bedeutung der FHIT-Expression für Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom……35
3.1.3. Korrelation der FHIT-Expression mit klinischen Parametern für Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom……39

3.2. Pituitary tumor transforming gene-1…..……..41
3.2.1. PTTG-1-Expression in kleinzelligen Lungenkarzinomen…. ……..41
3.2.2. Prognostische Bedeutung der PTTG-1-Expression für Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom……..43
3.2.3. Korrelation der PTTG-1-Expression mit klinischen Parametern für Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom..……..45
3.2.4. PTTG-1-Expression in nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen……..…46
3.2.5. Prognostische Bedeutung der PTTG-1-Expression für Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom… ……47
3.2.6. Korrelation der PTTG-1-Expression mit klinischen Parametern für Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom…..……..49

V. Diskussion……51

Literaturverzeichnis……..56

Danksagung……..71

Curriculum vitae...……..72

Zusammenfassung……..73

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AJCC	American Joint Commitee on Cancer
APC	Adenomatosous polyposis of the colon
AZ	Allgemeinzustand
CEA	carcinoembrionales Antigen
c-kit	Onkogen mit dem Namen c-kit (Rezeptortyrosinkinase)
CT	Computertomographie
CYFRA-21-1	Cytokeratin-Fragment
EGFR	epidermal growth factor receptor
FHIT	fragile histidine triad
G-CSF	granulocyte colony-stimulating factor
Hb	Hämoglobin
HE	Hämalaun-Eosin
kDa	Kilodalton
KM	Knochenmark
LDH	Laktatdehydrogenase
Myc	myelocytomatosis viral oncogene homologue
NIH 3T3	Fibroblastenzellinie (Ursprung: Maus)
NSCLC	non-small cell lung cancer = Nichtkleinzelliges Lungenkarzinom
NSE	neuronenspezifische Enolase
ODN	Oligonukleotid
p21	Protein der Größe 21 kDa
p53	Protein der Größe 53 kDa
PBS	phosphatgepufferte Kochsalzlösung
PTTG-1	pituitary tumor transforming gene-1
ras	Onkogene mit dem Namen ras
RT-PCR	Reverse Transkriptase-Polymerase Kettenreaktion
SCC	squamous cell carcinoma antigen
SCLC	small cell lung cancer = Kleinzelliges Lungenkarzinom
TNM	Tumor-Nodus-Metastase (WHO-Tumorklassifikation)
UICC	Union International Contre Cancer
VEGF	vascular endothelial growth factor
VHL	von Hippel-Lindau
WHO	World Health Organisation
XPC	Xeroderma pigmentosum, complementation group C
ZNS	Zentrales Nervensystem

I. Einleitung und Problemstellung

1.1. Epidemiologie des Lungenkarzinoms

Das Lungenkarzinom ist ein maligner epithelialer Tumor, der weltweit jährlich mehr als eine Million Todesfälle verursacht. Seit Anfang des 20.Jahrhunderts nimmt die Häufigkeit dieser bösartigen Neubildung bei beiden Geschlechtern stark zu.[78] Heute zählt das Lungenkarzinom zur Krebstodesursache Nummer eins beim Mann. [9, 65] Männer erkranken etwa dreimal häufiger als Frauen (25% der Krebstodesfälle/Mann; 8% der Krebstodesfälle/Frau). Allerdings wird bei den Frauen eine erhebliche Zunahme der Erkrankten erwartet; in der Todesursachenstatistik ist das Lungenkarzinom dabei, den Brustkrebs auf den zweiten Platz zu verdrängen.[122]

In der Bundesrepublik Deutschland (Stand 2003) ist das Lungenkarzinom mit 20% aller bösartigen Neubildungen die häufigste Erkrankung beim Mann (~33.000/Jahr). Bei der Frau findet sich das Lungenkarzinom mit ~9.200 Neuerkrankungen/Jahr an zweiter Stelle hinter dem Brustkrebs und vor dem Darmkrebs. Jährlich sterben in Deutschland ca. 28.600 Männer und 10.600 Frauen an den Folgen von bösartigen Neubildungen der Lunge.[104] Die altersstandardisierte Sterbeziffer des statistischen Bundesamtes (Stand 2003) liegt beim Mann mit 67,9/100.000 viermal über dem Wert der Frau, der 16,6/100.000 beträgt.[84] Die Anzahl der sich in Nachsorge befindlichen Patienten liegt bei ungefähr 150.000. Vergleichbare Zahlen finden sich auch in anderen westlichen Industrieländern.[69, 124]

Derzeit lässt sich eine Trendwende in der Lungenkrebsmortalität feststellen. Bei den Männern findet sich eine Häufigkeitsabnahme (1990=78,3/100.000), während man bei Frauen steigende Mortalitätszahlen findet (1990=12,6/100.000). Diese Umverteilung ist einerseits auf den wachsenden Anteil rauchender Frauen zurückzuführen und andererseits auf den leichten Rückgang der männlichen Raucher. Rauchten 1984 nur 26,7% der Frauen, so waren es im Jahr 2003 rund 30,1%.[55]

1.2. Ätiologie

Für das Auftreten von Lungenkarzinomen steht als ursächlicher Faktor das Rauchen im Vordergrund, weitere Ursachen sind durch die Exposition verschiedener Stoffe auf das Lungengewebe bedingt.

Ein Zusammenhang zwischen dem Tabakkonsum und dem Auftreten von Lungenkarzinomen wurde schon früh vermutet, bewiesen wurde dies aber erst in den 50er Jahren durch groß angelegte Studien, wie die von Graham und Wynder in den USA und Doll und Hill in Großbritannien.[26,129] Man geht davon aus, dass Tabakkonsum in 85–90% der Fälle Ursache für die Entstehung von Lungenkarzinomen ist.[31, 39, 48, 109, 118] Dabei ist das Risiko eines Rauchers, ein Lungenkarzinom zu entwickeln, abhängig von den Raucherjahren, Anzahl und Qualität der Zigaretten, sowie dem Alter zu Beginn des Rauchens.[28, 129] Es ist ca. 10-20mal höher als das des Nichtrauchers.[23] In der Regel erfolgt das Auftreten von Lungenkarzinomen mit einer 20-30 jährigen Latenzphase nach Beginn des Tabakkonsums.[120] So betrifft die Hälfte aller Erkrankungsfälle Patienten jenseits des 65. Lebensjahres. Dadurch entstehen entscheidende klinische Konsequenzen, da bei dieser Patientengruppe häufig zusätzlich kardiovaskuläre Begleiterkrankungen und physische Einschränkungen (z.B. verminderte Vitalkapazität der Lunge) bestehen, die das therapeutische Vorgehen beeinflussen. Auch durch Passiv-Rauchen kann das Karzinom-Risiko bis auf das Zweifache des nicht exponierten Nichtrauchers erhöht werden.[48, 49, 109]

Berufliche Expositionen spielen neben dem Rauchverhalten eine erhebliche Rolle bei der Entstehung von malignen Lungentumoren, ätiologisch werden ihnen 7-12% der Lungenkarzinome zugeschrieben.[9, 106] In verschiedenen Studien wird das Auftreten bösartiger Lungentumoren nach Exposition gegenüber Aluminium, Arsen, Asbest, Chrom, Senfgas, Vinylchlorid, Beryllium, Radon, Cadmium, Formalin, Dieselverbrennungsstoffen und Nickel beschrieben. Die kanzerogene Potenz der einzelnen Stoffe wird allerdings sehr unterschiedlich beurteilt.[92, 109, 130] Ein erhöhtes Risiko, an bösartigen Neubildungen der Lunge zu erkranken, besteht auch für Arbeiter an Koksöfen und in der Stahl- und Eisenindustrie, ebenso für Uranbergleute, bei welchen zwischen der Strahlenbelastung durch Radonzerfallsprodukte und der

Entstehung von Lungenkrebs ein eindeutiger Zusammenhang festgestellt wurde.[28,37,69] Bei der Untersuchung von Lungentumoren als Berufskrankheit zeigte sich nicht nur ein additiver Effekt zum Tabakmissbrauch, sondern teilweise überadditive oder sogar multiplikative Effekte, wie am Beispiel der Asbestexposition durch Schneider et al. gezeigt wurde.[92]

Desweiteren besteht neben diesen rein ätiologischen Gesichtspunkten bei vielen kanzerogenen Stoffen ein Zusammenhang mit einer speziellen histologischen Unterart. So findet man das Plattenepithelkarzinom und das kleinzellige Karzinom der Lunge gehäuft unter männlichen Rauchern, während man Adenokarzinome der Lunge anteilsmäßig gehäuft unter Nichtrauchern und Frauen findet.[48]

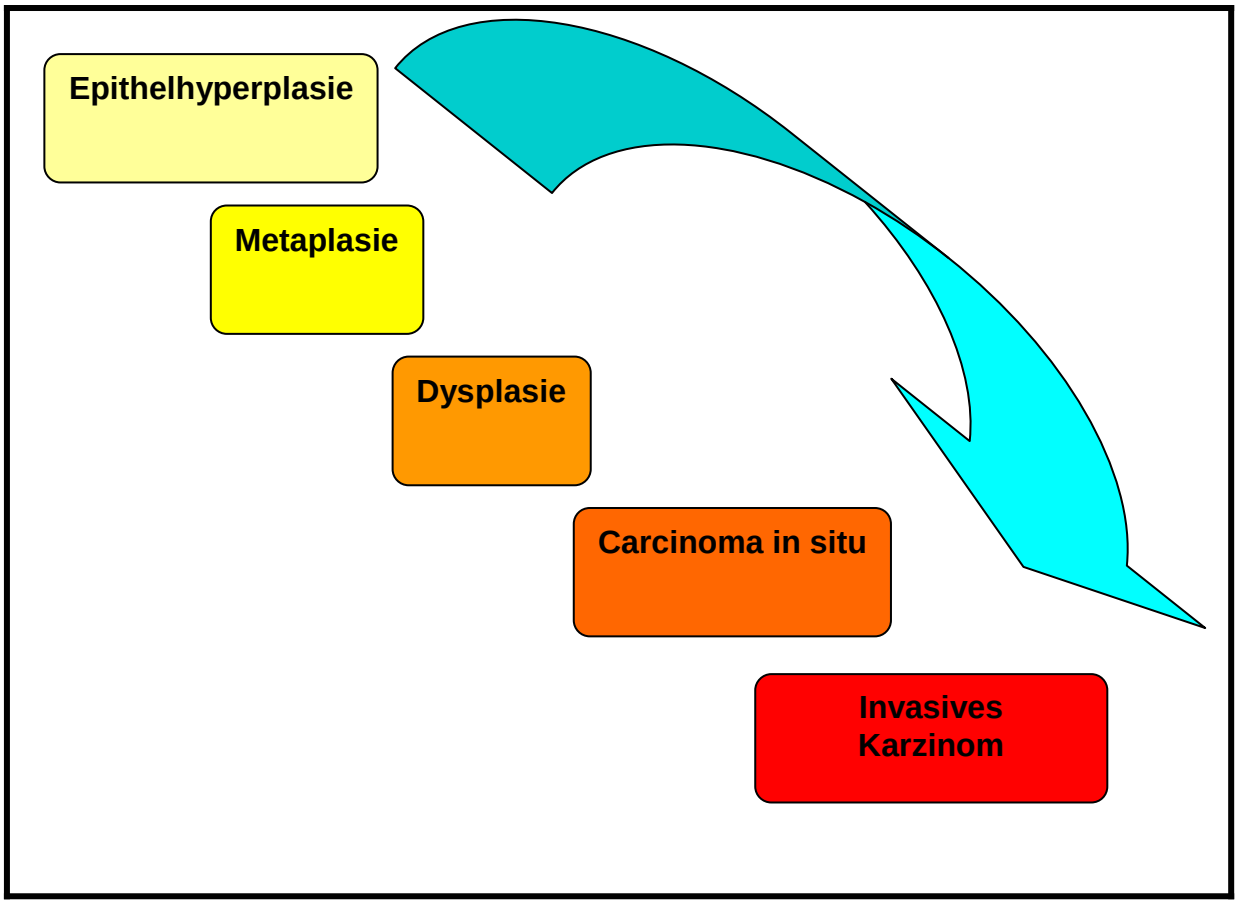
Bei der Entstehung von bösartigen Lungentumoren wird auch eine genetische Disposition diskutiert.[13] So ist der Genort 6q23-25 mit familiär vorkommenden Lungenkarzinomen assoziert; dessen genaue Bedeutung ist noch unklar. [93]

Für das kleinzellige Lungenkarzinom sind typische erworbene molekulare Veränderungen bekannt: zytogenetisch wurde ein Allelverlust der Chromosomen 3p, 4q, 5q, 10q, 13q und 17p gefunden; dadurch resultiert unter anderem ein Rezeptorverlust für Thyroxin und Retinsäure bzw. ein Verlust der Tumorsuppressorgene p53 und RB. Aber auch andere Tumorsuppressorgene wie FHIT, VHL, APC, XPC und p21 verlieren ihre Funktion.[2] Zusätzlich werden im weiteren Verlauf Onkogene aus der myc und ras/p21 Gruppe aktiviert.[83] Ähnliche Veränderungen wurden auch in nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen nachgewiesen: Deletionen der Chromosomen 3p, 4q, 5q und 13q. Zusätzlich fanden sich Deletionen an den Chromosomenarmen 6q, 8p, 9p 18q und 21q.[43, 89] So ist z.B. eine erhöhte EGFR-Expression bei nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen mit einer verkürzten Überlebenszeit, aggressiverem Tumorwachstum und vermehrter Chemotherapieresistenz assoziiert.[10,33,64,66] Die Erforschung der patho-physiologischen Grundlagen der Tumorentstehung ist entscheidend für die Entwicklung neuer Therapieansätze, z.B. auf der Grundlage der Antikörper- oder Gentherapie.

1.3. Tumorentstehung

Man nimmt derzeit an, dass Lungenkarzinome aus pluripotenten Stammzellen epithelialen Ursprungs hervorgehen. [52,110] Mögliche Zelltypen stellen Clarazellen, Typ II Pneumozyten und Reservezellen des bronchoalveolären Epithels dar. Bei der Entstehung bösartiger Lungentumore geht man wie schon bei anderen Tumoren davon aus, dass die Entwicklung stufenweise über Stadien der Metaplasie und Dysplasie sowie Carcinoma-in-situ bis zum invasiven Karzinom abläuft (**Abb.1**).[61, 108,15] Diese Theorie wurde durch zytologischen molekulargenetischen Untersuchungen belegt.[111]

Abbildung 1: Stadien der Tumorentstehung



Liegt ein Karzinom vor, so unterscheiden sich auch die Tumorverdopplungszeiten bei den verschiedenen Lungentumoren zum Teil erheblich. So ist sie bei den Adenokarzinomen mit durchschnittlich 183 Tagen am längsten, bei den Plattenepithelkarzinomen mit 100 Tagen schon geringer, am kürzesten für die kleinzelligen Tumoren mit durchschnittlich 55-80 Tagen.[14, 51, 106, 107]

1.4. Histologie und Histopathologie

Die WHO erstellte eine Tabelle der verschiedenen Lungentumoren, die 2004 aktualisiert wurde und heute die weltweit gültige Klassifikation darstellt.[8] Die folgende Aufzählung gibt darüber einen Überblick:

A) Maligne epitheliale Tumoren

1) Plattenepithelkarzinom
2) Kleinzelliges Karzinom
3) Adenokarzinom
4) Großzelliges Karzinom
5) Adenosquamöses Karzinom
6) Karzinoidtumor
7) Bronchialdrüsenkarzinom
8) Papilläre Tumoren des Oberflächenepithels
9) Sarkome
10) Präinvasive Läsionen
11) Mesenchymale Tumoren

B) Benigne epitheliale Tumoren

1)Papillome
2)Adenome

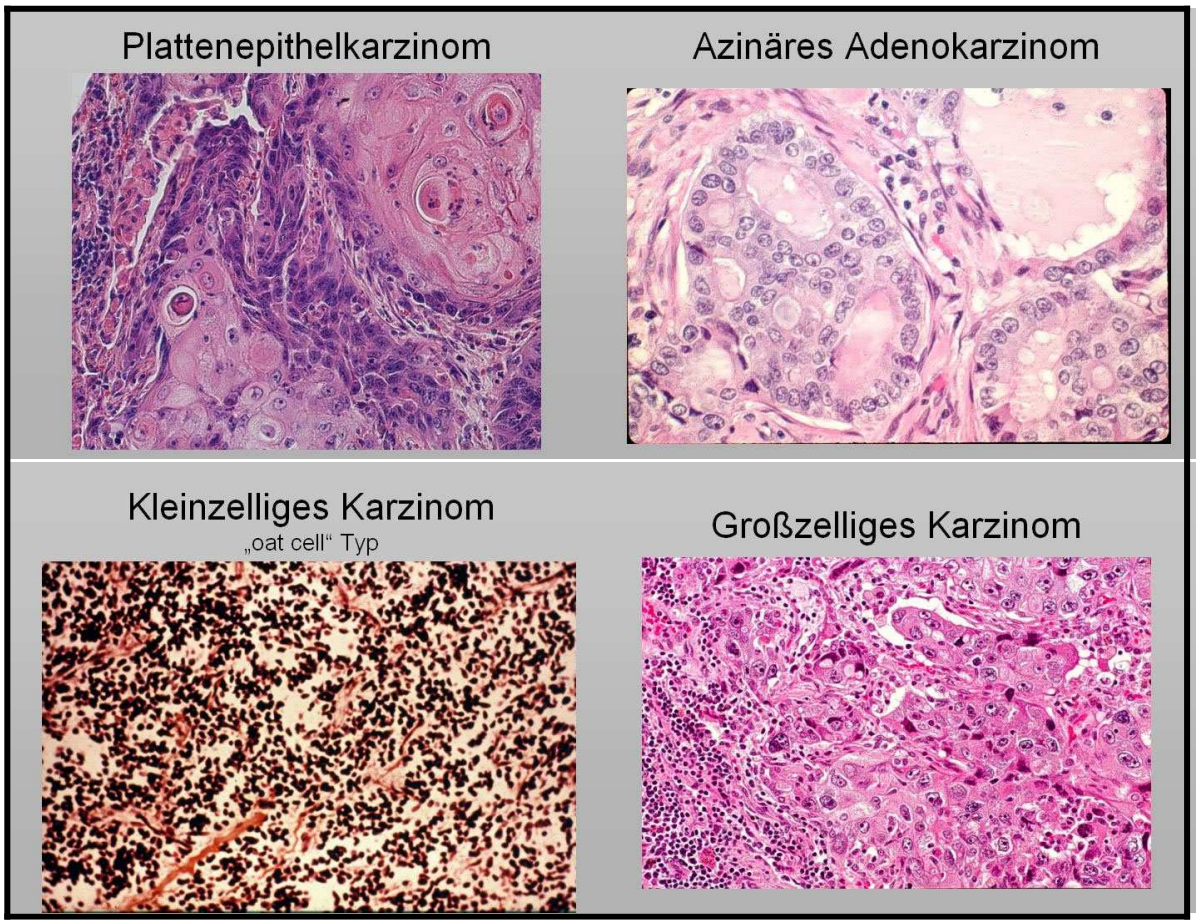
C) Lymphoproliferative Tumoren

D) Mischtumoren

E) Metastasen

Zu den wichtigsten histologischen Typen der malignen Lungenkarzinome gehören folgende Tumoren [103]: das meist zentral gelegene Plattenepithelkarzinom mit einer Häufigkeit von 45%, die Metastasierung erfolgt vor allem lymphogen. Das häufiger in der Peripherie gelegene Adenokarzinom macht einen Anteil von bis zu 25% der Lungentumoren aus, gefolgt vom kleinzelligen Karzinom (20%), welches in der Regel hämatogen metastasiert. Einen geringeren Anteil von ca. 10% stellt das großzellige Karzinom der Lunge dar, das immunhistologisch keine eindeutige Differenzierung zeigt (**Abb.2+3**).

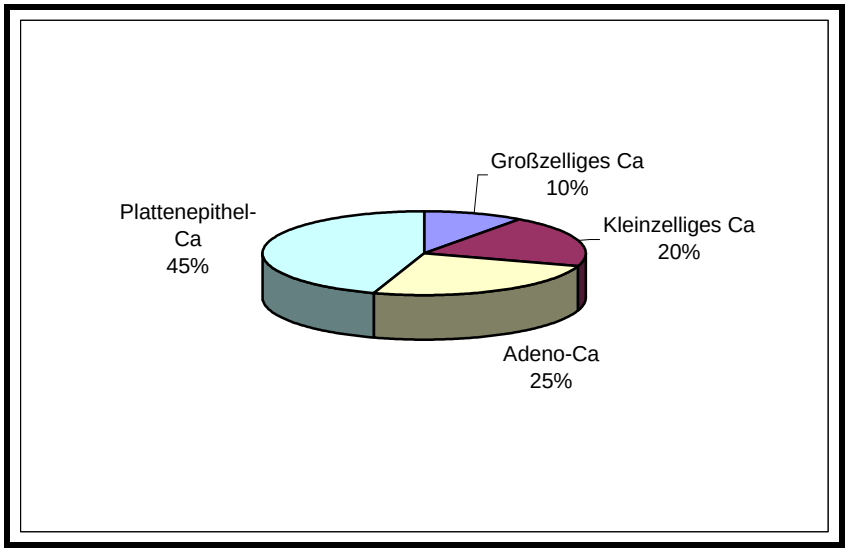
Abbildung 2: Histologie der häufigsten Lungenkarzinome



Quelle: 1998-2003: H. Herbst & J.-H. Hübner

Histologisch differenziert man häufig nur zwischen nicht-kleinzelligen (NSCLC) und kleinzelligen (SCLC) Lungenkarzinomen. Diese Einteilung ist entscheidend für die weitere Therapie und die Prognose.

Abbildung 3: Anteilshäufigkeiten der Lungenkarzinome



1.5. Stadieneinteilung

Die Einteilung der anatomische Ausbreitung von malignen Tumoren erfolgt in der Regel anhand der weltweit einheitlichen TNM-Klassifikation (UICC und AJCC 1987).[59] Daraus wiederum wird die Stadieneinteilung gruppiert. Diese Klassifikationen dienen der Standardisierung des therapeutischen Vorgehens und der prognostischen Beurteilung.

	Klassifikation des Primärtumors nach der TNM-Klassifikation
T	Primärtumor
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden, oder Nachweis von malignen Zellen im Sputum oder Bronchialsekret ohne radiologische oder bronchoskopische Tumorlokalisation
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
T1	Tumor maximal 3 cm im größten Durchmesser, umgeben von Lungengewebe oder viszeraler Pleura, keine Infiltration proximal eines Lappenbronchus
T2	Tumor mit einem der folgenden Kennzeichen: Durchmesser mehr als 3cm Befall des Hauptbronchus, 2cm oder weiter distal der Carina Infiltration der viszeralen Pleura Atelektase oder obstruktive Entzündung bis zum Hilus, aber nicht der ganzen Lunge
T3	Tumor jeder Größe mit direkter Infiltration einer der folgenden Strukturen: Brustwand, Zwerchfell, mediastinale Pleura, parietales Perikard oder Tumor im Hauptbronchus weniger als 2 cm distal der Carina, aber Carina selbst nicht befallen oder Tumor mit Atelektase oder obstruktiver Entzündung der ganzen Lunge
T4	Tumor mit Invasion einer der folgenden Strukturen: Mediastinum, Herz, große Gefäße, Trachea, Ösophagus, Wirbelkörper, Carina oder Tumor mit malignem Pleuraerguß oder vom Primärtumor getrennte Tumorherde im gleichen Lappen
	Klassifikation des Lymphknotenbefalls nach der TNM-Klassifikation
N	regionäre Lymphknoten
NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastasen in ipsilateralen peribronchialen Lymphknoten und/oder ipsilateralen Hiluslymphknoten
N2	Metastasen in ipsilateralen mediastinalen und/oder subcarinalen Lymphknoten
N3	Metastasen in kontralateralen mediastinalen, kontralateralen Hilus-, ipsi- oder kontralateralen Skalenus-oder supraklavikulären Lymphknoten
	Klassifikation der Fernmetastasen nach der TNM-Klassifikation
MX	Vorhandensein von Fernmetastasen kann nicht beurteilt werden
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Die Tumorstadien werden wie folgt gruppiert (nach AJCC/UICC 1996)[59]:

Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium Ia	T1	N0	M0
Stadium Ib	T2	N0	M0
Stadium IIa	T1	N1	M0
Stadium IIb	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium IIIa	T1-T3	N2	M0
	T3	N1	M0
Stadium IIIb	T4	NX	M0
	TX	N3	M0
Stadium IV	TX	NX	M1

Neben der TNM-Klassifikation gibt es für das kleinzellige Lungenkarzinom auch eine einfachere Einteilung nach der Marburger Klassifikation (Wolf und Havemann 1995), die Beachtung in der Klinik gefunden hat.[127]

Very Limited Disease (VLD)	Primärtumor von Lungengewebe oder viszeraler Pleura umgeben mit maximal Atelektase
	Kleiner Winkelerguß ohne maligne Zellen
	Lymphknotenbefall hilär ipsilateral
Limited Disease (LD)	Primärtumor mit Thorax-, mediastinaler Pleura- oder Diaphragmainfiltration
	Totalatelektase einer Lunge
	Lymphknotenbefall mediastinal ipsi- oder kontralateral sowie kontralateral hilär
Extensive Disease I (ED I)	Primärtumor mit Herz-, Ösophagus-oder Wirbelsäuleninfiltration
	Maligner Pleuraerguß
	Maligner Perikarderguß
	Rekurrens-, Phrenikusparese
	Vena Cava Superior-Syndrom
	Lymphknotenbefall supraklavikulär ipsi-oder kontralateral
Extensive Disease IIa (ED IIa)	Hämatogene Fernmetastasen in einem Organ einschließlich kontralateraler Lunge
Extensive Disease IIb (ED IIb)	Hämatogene Fernmetastasen in mehr als einem Organ

1.6. Diagnostik und Staging

Lungenkarzinome sind in den frühen Stadien meistens symptomlos. Oft werden sie als Zufallsbefund bei einer konventionellen Röntgenroutineuntersuchung entdeckt. Symptome wie Nachtschweiß, Gewichtsverlust, Husten, Dyspnoe, Hämoptysen, Brustschmerzen und Pneumonien sind Hinweise für das Vorliegen einer Neoplasie. Hinweise auf ein fortgeschrittenes Stadium können Nervenlähmungen (Recurrensparese, Schulterschmerzen), das Horner Syndrom, epileptische Anfälle (ZNS-Metastasierung) oder paraneoplastische Syndrome (z.B. Lambert-Eaton-Syndrom) sein.[29]

Zur Standarddiagnostik eines Tumors gehören die Anamnese des Patienten und die Erhebung des klinischen Befundes. Klinische Symptome, die auf eine bronchiale Neoplasie hinweisen, lassen sich in drei Gruppen einteilen[36]:

1. Allgemeine Tumorsymptome wie Müdigkeit und/oder Gewichtsverlust
2. lokoregionale Symptome wie Husten, Heiserkeit, Thoraxschmerzen
3. metastasenbedingte Symptome wie Skelettschmerzen, abdominelle Beschwerden oder Kopfschmerzen, Schwindel oder epileptische Anfälle

Die weitere Basisdiagnostik umfasst die Röntgenuntersuchung des Thorax, evtl. unter Durchleuchtung. Da jedoch nicht alle Lungenkarzinome auf einer konventionellen Röntgenaufnahme sichtbar sind, folgt als weiterer Untersuchungsschritt die computertomographische Aufnahme der Lunge sowie die bronchoskopische Untersuchung des Patienten mit gleichzeitiger Probenentnahme zur histologischen Diagnostik der Raumforderungen.[19, 58] Das Tumormaterial kann bei Sichtung direkt oder durch Spülung (Bronchiallavage), Bürstung oder auch invasive Verfahren suspekter Areale gewonnen und aufgearbeitet werden. Ebenso kann Sputum auf das Vorhandensein von abnormen Zellen untersucht werden.[1, 5, 20]

Die weitere Diagnostik der Tumoren dient der Erfassung der lokalen Tumorausdehnung, dem Ausschluss von Metastasen und der Prüfung der allgemeinen Operabilität. So werden Labor, Oberbauchsonografie, Skelettszintigramm, CT-Abdomen, CT-Thorax, CT-Schädel, Elektrokardiogramm, Blutgasanalyse und eine Lungenfunktionsprüfung durchgeführt; in einigen Fällen kann auch eine Beckenkammbiopsie notwendig sein. Bei extrapulmonalen Beschwerden werden gezielte Maßnahmen zum Ausschluß von Fernmetastasen erforderlich.[29]

Diagnoseverfahren, wie die Bestimmung von Tumormarkern, wie NSE, CEA, SCC und CYFRA 21-1, haben sich aufgrund ihrer geringen Tumorspezifizität und aufgrund ihrer Anfälligkeit gegenüber Störfaktoren nicht etabliert. Dennoch können sie zur Kontrolle des Therapieverlaufs eingesetzt werden.[5, 32, 53]

1.7. Therapie

Die Therapie der Lungenkarzinome basiert wie bei anderen soliden Tumoren auf der klassischen onkologischen Trias von Chirurgie, Chemotherapie und Strahlentherapie. Prinzipiell kann zwischen der Therapie von nicht-kleinzelligen und kleinzelligen Lungenkarzinomen unterschieden werden. Die Therapie der nicht-kleinzelligen Karzinome sieht in den Stadien I und II ein operatives Vorgehen vor, sofern die Patienten funktionell operabel sind. Auch im Tumorstadium IIIA kann eine operative, kurative Behandlung angestrebt werden. Zusätzlich kann in diesen Stadien eine kurative oder palliative Strahlentherapie erfolgen. In den Stadien IIIB und IV besteht keine Indikation zur operativen Therapie. Im Stadium IIIB wird zum jetzigen Zeitpunkt eine simultane Radiochemotherapie geprüft; bei bereits fortgeschrittenen Tumoren mit Fernmetastasen ist die Chemotherapie die Therapie der Wahl. Die Weiterentwicklung der Zytostatika führte zu einer Verlängerung der mittleren Überlebenszeit und einer Verbesserung der Lebensqualität. Die Zytostatika-empfindlichkeit ist allerdings geringer als bei den kleinzelligen Lungenkarzinomen. Gute Ansprechraten mit deutlicher Lebensverlängerung finden sich bei einer kombinierten Chemo-/Strahlentherapie.[42]

Folgende ***Therapieschemata*** sind zur Therapie der nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome (NSCLC) zugelassen:

Initialtherapie (first line chemotherapy):

1)Vincristin/Cisplatin[25]

2)Gemcitabin/Cisplatin[91]

3)Gemcitabin: Monotherapie bei älteren Patienten[72]

4)Vinorelbin: Monotherapie bei älteren Patienten[24, 35, 117]

5)Taxol/Carboplatin[79, 105]

6)Taxotere/Cisplatin[12]

7)Cisplatin plus z.B. Vinorelbin plus simultane Radiotherapie[119]

Rezidivtherapie (second line chemotherapy):

1)Docetaxel Mono[94]

2)Pemetrexed[22]

3)Erlotinib[41]

Das kleinzellige Lungenkarzinom unterscheidet sich von den nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen dadurch, dass zum Zeitpunkt der Diagnosestellung in fast allen Fällen bereits eine Fernmetastasierung vorliegt und in der Regel eine Operabilität nicht mehr gegeben ist. Nur in sehr frühen Tumorstadien (Stadium I-II) kommt bei dieser Tumorart eine operative Therapie in Frage. Im Anschluss erfolgt dann eine adjuvante Chemotherapie, da das kleinzellige Lungenkarzinom sehr chemosensibel ist. Alle anderen Tumorstadien indizieren die primäre Chemotherapie oder eine simultane Chemo- und Radiotherapie, soweit der körperliche Zustand des Patienten es zulässt. Bei einer frühzeitigen Therapie können selbst im Stadium IV Verlängerungen der Überlebenszeit von bis zu 12 Monaten erreicht werden.[29]

Für die Durchführung einer aggressiven Kombinationschemotherapie gibt es folgende Vorraussetzungen:

-Alter unter 70 Jahre

-Karnofsky-Index >60%

-Gewichtsverlust <10 bis 15%

-keine schwerwiegenden Funktionsstörungen von KM, Niere, Herz und Leber

Sind diese Bedingungen nicht erfüllt kann, auf eine weniger aggressive Therapie umgestellt werden. Als „Standardtherapie“ gelten heute folgende Kombinationen, die mit einer entsprechenden supportiven Therapie durchgeführt werden:

Initialtherapie (first line chemotherapy):

1)Adriamycin, Cyclophosphamid, Vincristin[33]

2)Cisplatin, Etoposid[123]

3)Etoposid, Ifosfamid, Cisplatin[21]

4)Epirubicin, Cyclophosphamid, Vincristin[116]

5)Taxol/Etoposid/Cisplatin[82]

Rezidivtherapie (second line chemotherapy):

1)Topotecan[73]

2)Adriamycin, Cyclophosphamid, Vincristin[32]

Zumeist werden 4-6 Zyklen durchgeführt, die alle 3 Wochen wiederholt werden. Bei Nichtanspechen der Therapie nach 2 Zyklen sollte auf ein anderes Schema gewechselt werden. Im Falle einer kompletten Remission des Tumors der Lunge kann eine prophylaktische palliative Bestrahlung des Neurokraniums oder des Mediastinums durchgeführt.

Tab. 1: Therapieschemata bei Lungenkarzinomen

primär operativ	SCLC I + IIA	NSCLC I, II + (IIIA)
Chemotherapie-und/ oder Strahlentherapie	IIB, IIIA + B, IV	IIIB + IV

Häufige Nebenwirkungen der Chemotherapie sind Übelkeit, Erbrechen sowie Haarausfall und eine Schädigung des Knochenmarks mit folgender Panzytopenie. Dadurch bedingte Veränderungen des Therapieintervalls oder eine Dosisreduktion können zur Regeneration der Tumorpopulation und damit zu einer geringeren Ansprechrate auf die Chemotherapie führen. Durch den Einsatz von neuen Medikamenten aus dem Bereich der Zytokine, wie Wachstumsfaktoren (z.B. G-CSF=Neupogen) lässt sich dieses Risiko reduzieren.[114] Weitere Komplikationen, wie Sekundärinfektionen treten seltener auf. In Studien wird zur Zeit getestet, inwieweit das Wachstumshormon für Erythrozyten (Erythropoetin; z.B. NeoRecormon) zu einer Verbesserung der Lebensqualität und Optimierung und dem Ansprechen der Therapie führt.[96]

Für die nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome werden zurzeit neue Behandlungsansätze aus der Immuntherapie und Antikörpertherapie in einigen Studien auf ihre Wirksamkeit erprobt. Vielversprechende Ergebnisse gibt es bei der Anwendung von EGFR – Tyrosinkinaseinhibitoren, wie Erlotinib (Tarceva®). Studien für die Zweitlinientherapie zeigten Ansprechraten von 8,9%[56]; in einer Subgruppe von Patienten mit NSCLC im Stadium III/IV wurde sogar ein Überlebensvorteil von 12 Monaten nachgewiesen.[41] Aber auch Antikörper gegen das Proto-Onkogene Her2/neu -Herceptin/Trastuzumab- werden zurzeit in Phase II/III Studien auf ihre Wirksamkeit bei Patienten mit NSCLC getestet.[54] In Zelllinienversuchen zeigte Trastuzumab in Subgruppen einen signifikanten zytotoxischen Effekt.[62] Ein weiteres neues Medikament ist Bevacizumab, ein monoklonaler Antikörper gegen VEGF gerichtet, der die Gefäßneubildung des Tumors hemmt.[88] In Phase II/III Studien zeigten sich in Kombination mit Paclitaxel und Carboplatin Ansprechraten bis zu 27% mit einem verbesserten Gesamtüberleben der Patienten.[88]

Auch für die Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom wird die zielgerichtete Hemmung von tumoralen Rezeptoren wie z.B. c-kit (CD117) durch die sogenannten kleinmolekularen Inhibitoren bereits in Phase II Studien untersucht.[30] Eine andere Therapiemöglichkeit stellt die Kombination aus Chemotherapie und autologer Blut-Stamm-Zell Transplantation dar. Hieraus ergeben sich je nach Stadium in ersten Studien 5-Jahresüberlebensraten von bis zu 55%.[47]

1.8. Prognose

Die Prognose für den erkrankten Patienten ist von dem jeweils vorliegenden Tumortyp aber vor allem auch vom Tumorstadium abhängig. Ebenso spielt die Tumorlokalisation eine wichtige Rolle. Prognostisch ungünstige Kriterien sind ein Karnofsky-Index <60%, eine erhöhte LDH sowie ein Gewichtsverlust von mehr als 5% des Körpergewichts und andere Beschwerdesymptomatiken. Diese Patienten haben eine Lebenserwartung von 5-7 Monaten, die man durch eine Chemo- oder Strahlentherapie nur marginal verlängern kann. Hier sollte eine Therapie entsprechend der Richtlinien der „best supportive care“ erwogen werden.

Die Prognose aller Patienten mit Lungentumoren ist schlecht, die 5-Jahresüberlebensrate liegt unter 5%. Die nachfolgende Auflistung zeigt die Überlebensdaten von nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen (**Tabelle 2**).[63]

Tab. 2: Überlebensdaten von Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom

Stadium	Mediane Überlebenszeit (Monate)	5-Jahresüberlebensrate(%)
Stadium Ia		75-80
Stadium Ib		55-60
Stadium IIa		55-60
Stadium IIb	36	35-45
Stadium IIIa (T3 N1 M0)	36	30-40
Stadium IIIa (T1-3 N2 M0)	16	15
Stadium IIIb	10-12	5
Stadium IV	6	<1

Die kleinzelligen Lungenkarzinome haben unbehandelt die schlechteste Prognose mit einer 1-Jahresüberlebensrate von 4-6%. Ohne Therapie beträgt die durchschnittliche Überlebenszeit der Patienten etwa 3 Monate. Eine Übersicht über die Überlebensraten gibt die folgende Auflistung, die sich an der Stadieneinteilung kleinzelliger Lungentumoren nach der Marburger Klassifikation orientiert (**Tabelle 3**).[18]

Tab. 3: Überlebensdaten von Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom

	Ohne Therapie	Mit Chemo-/Radiotherapie	
		Limited Disease	Extensive Disease
Mediane Überlebenszeit (Monate)	3-5	90-95	70-80
Überlebensraten in (%)			
● 1 Jahr	4-5	40-70	20-40
● 2 Jahre		15-30	10-20
● 5 Jahre		5-15	0-5
●10 Jahre		0-5	

1.9. Molekulare Prognosemarker bei Lungenkarzinomen

Die schlechte Prognose und die geringen 5-Jahresüberlebensraten der Patienten mit Lungenkarzinom zeigen, wie wichtig ein optimales multimodales Therapiekonzept ist. Weiterhin steht in der Diskussion, in welchem Stadium abhängig vom histologischen Typ, eine neoadjuvante oder adjuvante Chemo- oder Strahlentherapie erfolgen soll, wann eine Palliativsituation vorliegt und ob die Histologie einen Einfluss auf die Wahl der Chemotherapeutika hat.

Gelänge es, prognostische Marker zu identifizieren, so könnten Patientengruppen identifiziert werden, die eine günstige bzw. ungünstige Prognose haben. Damit ließe sich von Therapiebeginn an die Therapie optimieren und intensivieren. Weiterhin gäbe es die Möglichkeit eines therapeutischen Vorgehens gegen die molekularen Zielstrukturen. Ein bekannter prognostischer molekularer Marker mit der Funktion eines Onkogens ist die Tyrosinkinase c-kit.[6] Rohr et al. wies bei 203 Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom einen signifikanten Überlebensvorteil für Patienten mit positiver c-kit-Expression nach.[85] Daher ist es von großer Bedeutung, weitere Gene zu identifizieren, die einen Einfluss hinsichtlich des Überlebens von Patienten mit Lungenkarzinomen ausüben. In dieser Studie wurden zwei interessante Gene immunhistochemisch untersucht und ihr Einfluss auf die Prognose der Patienten ermittelt.

FHIT (Fragile histidine triad)

Molekulare Analysen haben einen Verlust der Heterozygotie am Chromosom 3p bei 90%-100% der kleinzelligen Lungenkarzinome und bei 50%-80% der nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome gezeigt.[125, 126] Mindestens 3 Regionen mit diesen Mutationen wurden beschrieben: 3p25, 3p21.3 und 3p14. Das „fragile histidine triad“ (FHIT) gene wird auf dieser Region 3p14.2 kodiert. Es wird vermutet, dass es an der Entwicklung von Lungenkarzinomen beteiligt ist.[67] Das 16,8 kDa große FHIT-Protein besteht aus 146 Aminosäuren. Es handelt sich hierbei um das menschliche Homolog des spaltbaren Hefe-Proteins *Schizosaccaromyces pombe*, eine Diadenosine 5´,5-P_1P_4-tetraphosphathydrolase.[68] Obwohl die exakte molekulare Signalübermittlung von FHIT unbekannt ist, so scheint doch der FHIT-Substrat-Komplex als Signalmolekül[71] an der Regulation der p53 unabhängigen Apoptose[4] und der Zell-

Zyklus-Kontrolle beteiligt zu sein.[90] Eine Wiederherstellung der FHIT-Expression führt zu einer Apoptoseinduktion und zu einer Hemmung der Tumorentstehung in Lungenkarzinomzelllinien in vitro[86] und in vivo.[50] Gut dokumentiert ist die FHIT-Expression in nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen. Innerhalb der nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome (NSCLC) zeigten immunhistochemische Untersuchungen der FHIT-Expression häufiger einen Verlust der Heterozygotie in Plattenepithelkarzinomen als in Adenokarzinomen. Dabei korrelierte ein Verlust der Heterozygotie mit einer höheren Proliferationsrate der Tumorzellen, einem niedrigeren Apoptoseindex und einem signifikant verkürzten Überleben der Patienten.[112] Dagegen sind bisher nur 19 kleinzellige Lungenkarzinome und 28 SCLC Zelllinien auf eine FHIT-Expression untersucht worden. Zwischen 30%-50% der Primärtumoren und zwischen 20%-47% der SCLC Zelllinien zeigten eine positive FHIT-Expression.[70, 80, 101] Da bisher nur eine sehr geringe Anzahl von kleinzelligen Lungenkarzinomen auf die Expression von FHIT untersucht worden ist, lassen diese Daten keinen Rückschluss auf den Einfluss von FHIT auf das Gesamtüberleben eines Patienten zu.

PTTG-1 (Pituitary tumor transforming gene-1)

Beim zweiten untersuchten Gen handelt es sich um das „pituitory tumor-transforming gene“ (*PTTG-1*). Im Jahr 1997 wurde dieses neue Proto-Onkogene in hormon-sezernierenden malignen Hypophysentumoren entdeckt.[74] Daher resultiert auch der Name „pituitory tumor transforming-gene“ (PTTG-1). Das 23 kDa große Protein besteht aus 202 Aminosäuren und ist auf dem Chromosom 5q33 lokalisiert. Dieser Genort scheint mit der Progression von Lungenkarzinomen zu korrelieren; Hosoe et al. wies bereits 1994 in 59 Lungenkarzinomen vermehrt Deletionen im langen Arm des Chromosoms 5 (5q) in den fortgeschrittenen Tumorstadien nach.[45, 46, 128] PTTG-1 wird auch physiologischerweise in normalen Geweben verschiedener Organe, wie Hodengewebe, dem Kolon und der Lunge, exprimiert. Hingegen wurde eine Überexpression in einigen malignen Tumoren und Krebszelllinien, einschließlich Karzinome des Magen-Darm-Traktes, der Brust, der Lunge, als auch in Lymphomen und leukämischen Zellen nachgewiesen.[57, 75, 95, 121] Hinweise, die belegen, dass es sich bei PTTG-1 um ein Proto-Onkogen in vivo handelt, wurden bestätigt, als die kodierende Sequenz von PTTG-1 in NIH 3T3 Fibroblasten transfiziert wurde. Die Transfektion von PTTG-1 führte zu morphologischen Veränderungen und zu

Änderungen im Wachstumsverhalten der Fibroblasten. Als die genetisch veränderten Fibroblasten in Labormäuse injiziert wurden, entstanden in 4 von 5 Tieren Tumore. Obwohl damit die Funktion von PTTG-1 als Onkogen verdeutlicht wurde, ist der eigentliche Mechanismus der Tumorinduktion unklar. Möglicherweise spielt PTTG-1 eine Rolle in der Regulation der Transkription[17,27] oder Induktion des wachstumsfördenden bFGF „fibroblast growth factor“[133] oder Aktivierung des Proto-Onkogens c-Myc.[107] Dies führt zu einem Anstieg der Angiogenese und Zellproliferation. Weiterhin ist PTTG-1 mit Zell-Zyklus Genen assoziiert und kann, abhängig vom Zelltyp, Apoptose induzieren.[11, 38, 76]

1.10. Zielsetzung der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, neue molekulare Prognosemarker für Patienten mit kleinzelligen– oder mit nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen zu identifizieren. Dazu wurden zwei Gene –FHIT und PTTG-1- herausgesucht, um deren prognostischen Wert auf das Überleben der Patienten zu ermittelt. Tumorproben der Patienten wurden formalin-fixiert, in Paraffin eingebettet und retrospektiv auf die Expression von FHIT oder PTTG-1 immunhistochemisch untersucht. Die Expressionsstärke der Tumorzellen und der Anteil der Tumorzellen, der eine Expression für FHIT oder PTTG-1 aufwies, wurden ermittelt. Anschließend wurde der Einfluss dieser Gene für das Überleben der Patienten in Uni- und Multivariatanalysen berechnet. Zusätzlich wurden klinische Parameter hinsichtlich einer Korrelationen mit der FHIT –oder PTTG-1-Expression untersucht.

II. Patienten und Methoden

2.1. Patienten im Überblick

In dieser Studie wurden Tumorproben von drei Patientengruppen immunhistochemisch untersucht: 225 Patienten mit einem kleinzelligen Lungenkarzinom auf die Expression des FHIT-Gens und 227 Patienten (136 kleinzellige Lungenkarzinome und 91 nicht-kleinzellige Lungenkarzinome) auf die Expression des PTTG-1-Gens. Die Patientengruppen wurden aus dem Universitätsklinikum Düsseldorf und den kooperierenden Lehrkrankenhäusern ermittelt, bei denen ein Lungenkarzinom diagnostiziert worden war. Von diesen Patienten wurde vor Therapiebeginn mittels Bronchoskopie oder CT-gesteuerter Punktion eine Biopsie aus der Tumorregion entnommen. Von zwei Pathologen des Instituts für Pathologie der Universität Düsseldorf wurde unabhängig voneinander die Diagnose eines Lungenkarzinoms gestellt. Diese basierten auf dem immunhistochemischen Nachweis von lungentumortypischen Mustern von Zytokeratin- und Chromogranin A, Synaptophysin- und des Thyroid transcription factor-1. Anschließend erfolgte die immunhistochemische Auswertung der Proben hinsichtlich der Expression des „fragile histidine triad“ (FHIT) Protein oder der Expression des „pituitary tumor transforming gene-1“ (PTTG-1). Die klinischen Daten wurden retrospektiv ermittelt.

Das Überleben der Patienten wurde in Tagen ab dem histologischen Diagnosedatum berechnet. Der Allgemeinzustand der Patienten ist nach den Kriterien der WHO (volle Aktivität entspricht Grad 0 bis moribund Grad IV) ermittelt worden. Ebenso erfolgte die Einteilung der Tumorausdehnung nach der TNM-Klassifikation,[99] wie oben erläutert, und die Zuordnung der Karzinome in die entsprechenden Stadien I-IV.[59] Von allen Patienten wurden außerdem die Labordaten bezüglich Hämoglobinwert, Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl und LDH-Wert zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ermittelt.

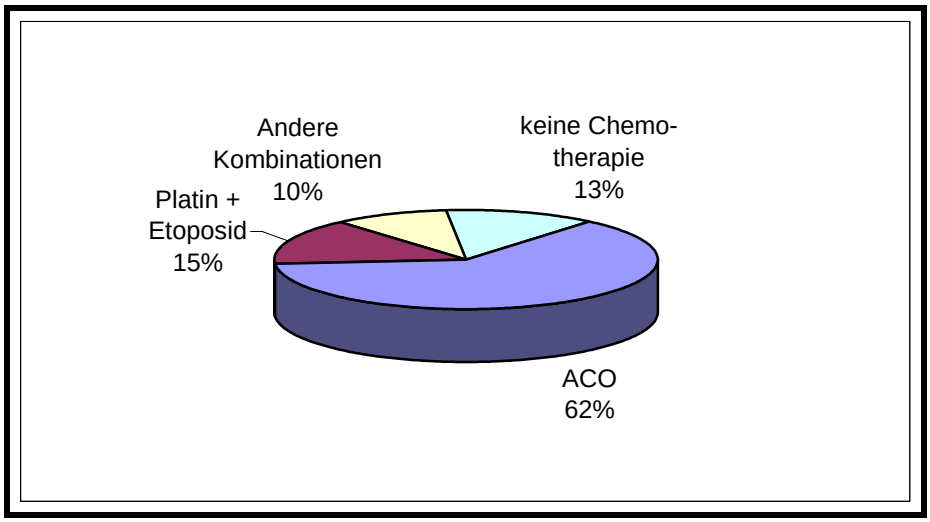
Die folgende **Tabelle 4** gibt einen Überblick über die Basisdaten der Patienten in der Gruppe I:

Tabelle 4: Untersuchung von 225 Patienten mit SCLC auf FHIT-Expression

Patienten SCLC: FHIT (n=225)	
Durchschnittsalter (in Jahren)	62,6±9,9
Geschlecht	162 männlich (72%)
	63 weiblich (28%)
Raucher/Ex-Raucher	171 (76%)
Nicht-Raucher	22 (9,8%)
Unbekannt	32 (14,2%)
Allgemeinzustand	
WHO 0	60 (31,4%)
WHO I	89 (46,6%)
WHO II	33 (17,3%)
WHO III	9 (4,7%)
Unbekannt	34 (15%)
Stadium	
Ia,b	5 (2,9%)
IIa,b	10 (5,8%)
IIIa,b	41 (24%)
IV	115 (67,3%)
Unbekannt	54 (24%)
LDH (Units/liter)	376±339
Hämoglobin (g/dl)	13.6±1.8
Thrombozyten (µl)	322410±115270
Leukozyten (µl)	9614±3448

In der *Gruppe I* (225 Patienten mit SCLC) wurde in 87,3% der auswertbaren Patienten eine primäre Chemotherapie durchgeführt; im Durchschnitt wurden 4 Chemotherapiezyklen verabreicht (Median: 5,0 ± 2,8 Zyklen; Spannweite: 1-12). In 62,4% der Fälle wurde die Kombinationschemotherapie Etoposid 120mg/m² d1, Adriamycin 45 mg/m² d1 oder Epirubicin 65mg/m² d1, Cyclophosphamid 1000mg/m² d1 (ACO) durchgeführt. Eine Therapie auf Platinbasis (Cisplatin 90mg/m² dl oder Carboplatin 300 mg/m² d1) kombiniert mit Etoposid (150mg/m² d1, alle 3 Wochen) wurde in 15,2% der Fälle verabreicht. Andere Therapiekombinationen wurden bei 9,7% der Patienten verwendet **(Abb.4).**

Abbildung 4: Chemotherapie in der Gruppe I



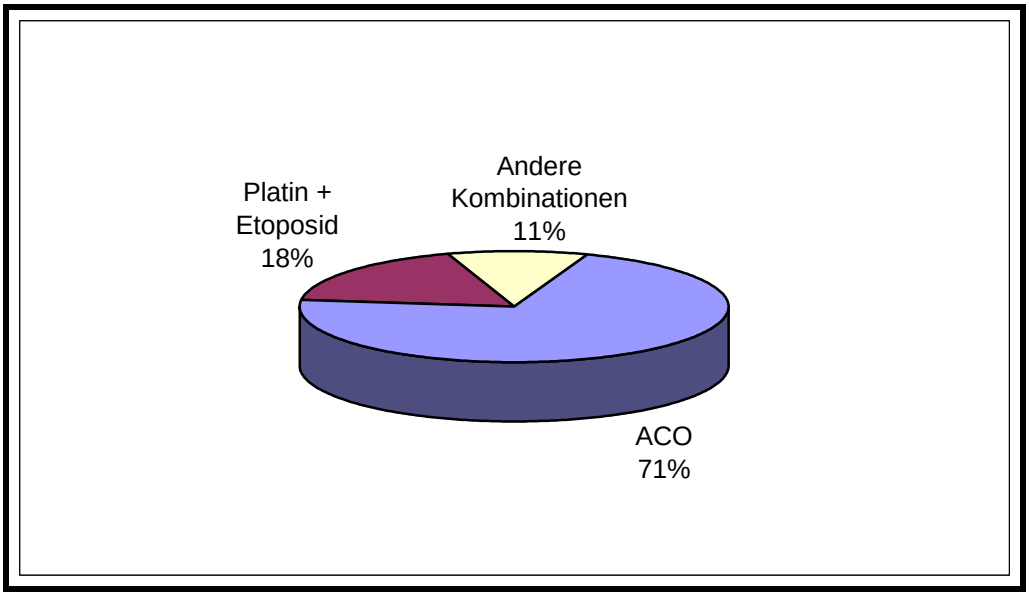
Die folgende **Tabelle 5** gibt einen Überblick über die Patienten der Gruppe II:

Tabelle 5: Untersuchung von 136 Patienten mit SCLC auf PTTG-1-Expression

Patienten SCLC: PTTG-1 (n=136)	
Durchschnittsalter (in Jahren)	60,8 ± 9,5
Geschlecht	103 männlich (75,7%)
	33 weiblich (24,3%)
Raucher/ Ex-Raucher	120 (88,2%)
Nichtraucher	6 (4,4%)
Unbekannt	10 (7,4%)
Allgemeinzustand	
WHO 0	48 (35,3%)
WHO I	61 (44,9%)
WHO II	18 (13,2%)
WHO III	2 (1,5%)
Unbekannt	7 (5,1%)
Stadium	
Ia,b	1 (0,7%)
IIa,b	7 (5,1%)
IIIa,b	43 (31,6%)
IV	82 (60,3%)
Unbekannt	3 (2,2%)
LDH (Units/L)	333,2 ± 233,3
Hämoglobin (g/dl)	13,4 ± 1,7
Thrombozyten (µl)	322416,7 ± 114639,9
Leukozyten (µl)	9208,9 ± 3017,9

In *Gruppe II* (136 SCLC) erhielten alle Patienten (100%) eine primäre Chemotherapie, mit durchschnittlich 3,5 Therapiezyklen (Median: 3 ± 1,9 Zyklen; Spannweite:1-12 Zyklen). Die bevorzugte Chemotherapiekombination bestand bei 71% der Patienten aus Cyclophosphamid (1000mg/m^2 d1), Epirubicin (65 mg/m^2 d1) oder Adriamycin (45 mg/m^2) und Etoposid (120 mg/m^2/ ACO). In 18% der Fälle wurde eine Chemotherapie auf Platinbasis durchgeführt: Cisplatin (90 mg/m^2) oder Carboplatin (300 mg/m^2) in Kombination mit Etoposid (150 mg/m^2). Andere Therapiekombinationen wurden in 11% der Fälle verabreicht **(Abb.5).**

Abbildung 5: Chemotherapie in der Gruppe II



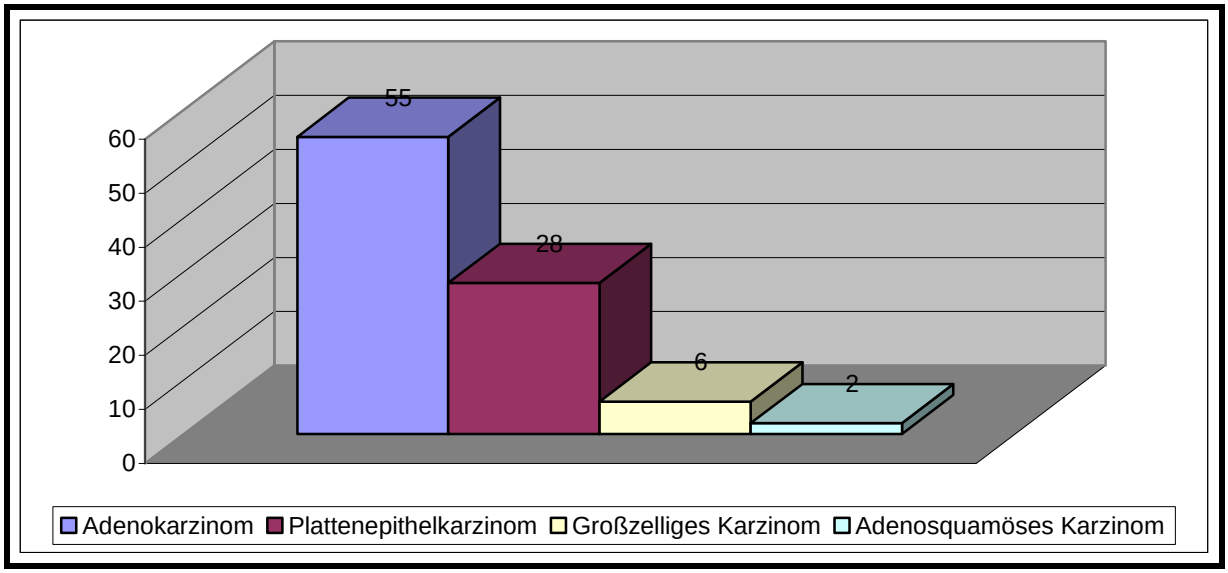
Die folgende **Tabelle 6** gibt einen Überblick über die Patienten der Gruppe III:

Tabelle 6: Untersuchung von 91 Patienten mit NSCLC auf PTTG-1-Expression

Patienten NSCLC: PTTG-1 (n=91)	
Durchschnittsalter (in Jahren)	62,6 ± 10,9
Geschlecht	67 männlich (73,6%)
	24 weiblich (26,4%)
Raucher/ Ex-Raucher	84 (92,3%)
Nichtraucher	5 (5,5%)
Unbekannt	2 (2,2%)
Allgemeinzustand	
WHO 0	34 (37,4%)
WHO I	45 (49,5%)
WHO II	10 (11,0%)
Unbekannt	2 (2,2%)
Stadium	
Ia,b	3 (3,3%)
IIa,b	4 (4,4%)
IIIa,b	27 (29,7%)
IV	57 (62,6%)
LDH (Units/L)	229,7 ± 142,1
Hämoglobin (g/dl)	13,4 ± 1,7
Thrombozyten (µl)	320736,3 ± 178681,1
Leukozyten (µl)	10319,8 ± 4925,3

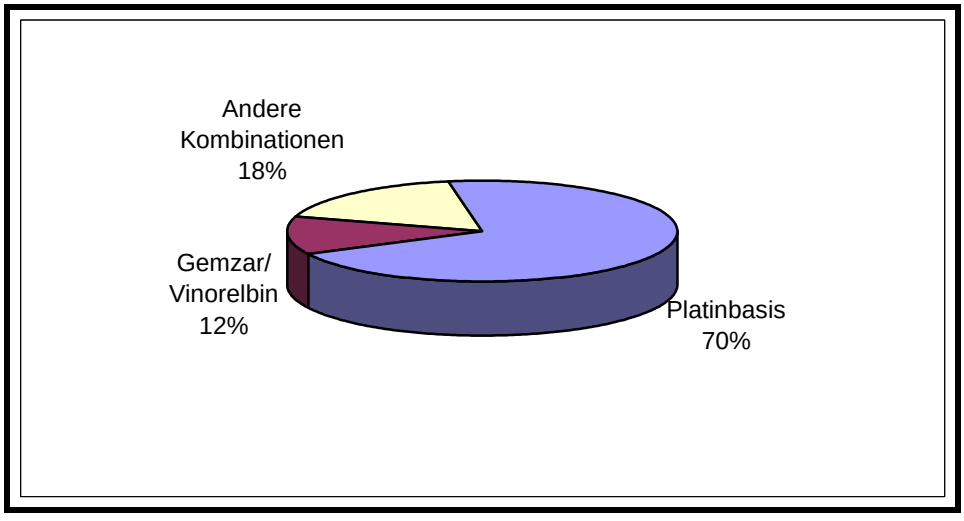
Die *Gruppe III* bestand aus Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom. Die exakte Aufschlüsselung in die verschiedenen Subtypen zeigt folgende Abbildung 6:

Abbildung 6: Subtypen der Patienten mit NSCLC



In *Gruppe III* erhielten 93,4% der Patienten mit nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen eine primäre Chemotherapie, 6,6% der Patienten erhielten die Chemotherapie beim Auftreten des Rezidivs; durchschnittlich wurden 3,1 Zyklen verabreicht (Median: 3 ± 2,1 Zyklen; Spannweite: 1-11 Zyklen). In 70,3% der chemotherapierten Patienten bestand diese aus einer Kombination eines platinhaltigen Präparates mit einer weiteren Substanz: Etoposid (100 mg/m2), Paclitaxel (175 mg/m2) oder Vinorelbin (30 mg/m^2). 12,1% der Patienten erhielten eine Therapie aus Gemcitabin (1000 mg/m^2) und Vinorelbin (30 mg/m^2); andere Kombinationen wurden in 17,6% verabreicht **(Abb.7).**

Abbildung 7: Chemotherapie in der Gruppe III



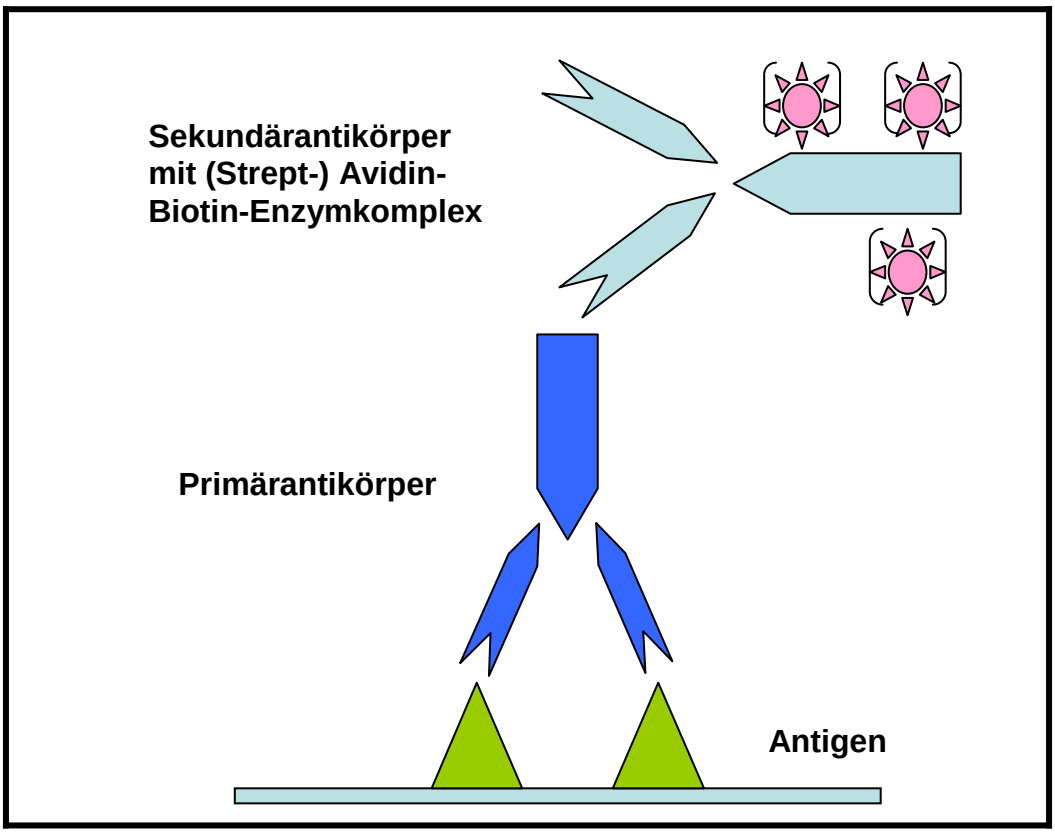
2.2. Immunhistochemie

Wie von Ramp et al.[81] beschrieben wurden zum Nachweis von FHIT polyklonale Antikörper (Zymed, San Francisco, CA) verwendet, die die gesamte Länge (17kDa) des menschlichen FHIT-Proteins erkennen. Zur immunhistochemischen Darstellung der PTTG-1-Expression wurde nach Saez et al.[87] die polyklonalen Antikörper der Firma U.S.Biological (Massachusetts, USA) eingesetzt.

Die Biopsate der Tumore wurden unmittelbar nach der Probeentnahme formalin-fixiert, in 2-4 µm dicke Schnitte geschnitten und auf Poly-L-Lysine Objektträger aufgetragen. Anschließend folgte das Entparaffinisieren in Xylol (15 min.). Anschließend wurden die Schnitte in einer absteigenden Ethanolreihe (100%, 96% und 70%) rehydriert und für 5 Minuten in PBS gewaschen. Zur Antigendemaskierung wurden die Schnitte in Zitratpuffer (pH 6) für 15 Minuten im Schnellkochtopf erhitzt. Zur Eliminierung der endogenen Peroxidase sind die Präparate in 3%iger Wasserstoffperoxidlösung (H_2O_2) für 15 Minuten inkubiert worden. Die endogenen Enzyme Biotin und Avidin wurden mit einer speziellen Blocklösung (Dako, Hamburg, Deutschland), die über 15 Minuten einwirkte, inaktiviert. In einem nächsten Waschvorgang von 5 Minuten wurden die Präparate in 1%iger „bovine serum albumine“ Lösung (Sigma, St.Louis, MO) inkubiert, um unspezifische Bindungen des Primärantikörpers zu verhindern. Anschließend sind die Primärantikörper für eine Stunde auf die entsprechenden Präparate aufgetragen worden: der anti-FHIT-Primärantikörper (Zymed, San Francisco, CA) in einer Konzentration von 1:200; der anti-PTTG-1-Antikörper (U.S.Biological, Massachuchets, USA) in einer Konzentration von 1:100. Nach einem erneuten Waschvorgang wurde ein Streptavidin Meerrettich Peroxidase Detection Kit (DAKO) mit 3,3`-diaminobenzidin Lösung als Substrat für die weitere immunhistochemische Aufarbeitung entsprechend den Richtlinien der Firma verwendet **(Abb.8).**

In jedem Lauf wurde eine Positivkontrolle mitgefärbt: einerseits Material aus der menschlichen Niere für den Nachweis von FHIT, andererseits Proben aus menschlichem Hoden und Kolonkarzinomen für den Nachweis von PTTG-1. Alle Präparate wurden unter dem Mikroskop von mir ausgewertet und zusätzlich von einem Pathologen getrennt evaluiert.

Abbildung 8: Schema der immunhistochemischen Methode (ABC-Methode)



Die Färbeintensität für FHIT und PTTG-1 wurde semiquantitativ ausgewertet, indem 3 Gruppen erstellt wurden. Die erste Gruppe zeigte eine gleiche oder stärkere zytoplasmatische Färbeintensität wie die Positivkontrolle. Die zweite Gruppe besaß eine schwächere Färbeintensität für FHIT oder PTTG-1 verglichen mit der Positivkontrolle und die dritte Gruppe zeigte keinen Nachweis einer FHIT- oder PTTG-1-Expression. In den meisten Präparaten war die Stärke der FHIT-oder PTTG-1-Expression einheitlich, bei den Fällen unterschiedlicher Färbeintensität wurde die stärkste Expression innerhalb der Präparate zur Bewertung herangezogen. Die Verteilung der in einer Tumorprobe positiv gefärbten Zellen wurde semiquantitativ ausgewertet, indem verschiedene Gruppen gebildet wurden. In der Auswertung der FHIT-positiven Zellen waren dies fünf Gruppen: (I) kein Nachweis einer FHIT-Expression, (II) FHIT-Expression zwischen 1% und 25%, (III) zwischen >25% und 50%, (IV) zwischen >50% und 75% und (V) mehr als 75% der Zellen zeigen eine Expression für FHIT. Bei der Auswertung der PTTG-1-positiven Zellen wurden vier Gruppen gebildet: (I) keine PTTG-1-Expression, (II) PTTG-1-Expression zwischen 1% und 50%, (III) zwischen >50% und 75% und (IV) mehr als 75% der Zellen zeigen eine Expression für PTTG-1.

2.3. Statistische Methoden

Zur statistischen Auswertung wurde das Programm SPSS 12.0 verwendet. Als signifikant wurde ein Wert von $p < 0,05$ definiert. Nach Kaplan-Meier sind die Überlebenskurven für verschiedene Variablen mit dem Log-rank Test verglichen worden. Zum Vergleich der immunhistochemisch FHIT oder PTTG-1-positiven mit der FHIT oder PTTG-1-negativen Gruppe wurde der zweiseitige t-test herangezogen. Zur Multivariatanalyse von biologischen und klinischen Parametern ist das Cox-Regressionsmodell verwendet worden. Die folgenden Variablen sind in die Analyse mit einbezogen worden: Geschlecht (männlich versus weiblich), Alter (≤ 60 Jahre versus >60 Jahre), Allgemeinzustand (WHO 0 versus I versus II versus III), Tumorstadium (WHO Klassifikation), Hämoglobin-Wert (<12 g/dl versus ≥12 g/dl), Thrombozyten-Anzahl (< 150.000 Zellen/µL, 150.000-400.000 Zellen/µL, > 400.000 Zellen/µL), Leukozyten-Anzahl (≤11.000 Zellen/µL versus >11.000 Zellen/µL) und LDH-Wert (≤240 Units/L versus >240 Units/L), die qualitative Expressionsstärke von FHIT und PTTG-1, wie auch die quantitative Verteilung der Expression auf die Tumorzellen. Mögliche Korrelationen zwischen der FHIT- oder PTTG-1-Expression und klinischen Parametern der Patienten wurden mit dem Korrelationskoeffizient nach Pearson ermittelt.

III. Ergebnisse

3.1. Fragile histidine triad

3.1.1. FHIT-Expression in kleinzelligen Lungenkarzinomen

In 139 (61,8%) von 225 Tumorproben wurde eine FHIT-Expression nachgewiesen. Von diesen 139 positiven Proben zeigten 71 (51,1%) eine schwache und 68 (48,9%) eine starke zytoplasmatische FHIT-Intensität. Keine FHIT-Expression fand sich in 86 (38,2%) Fälle**(Abb. 9).**

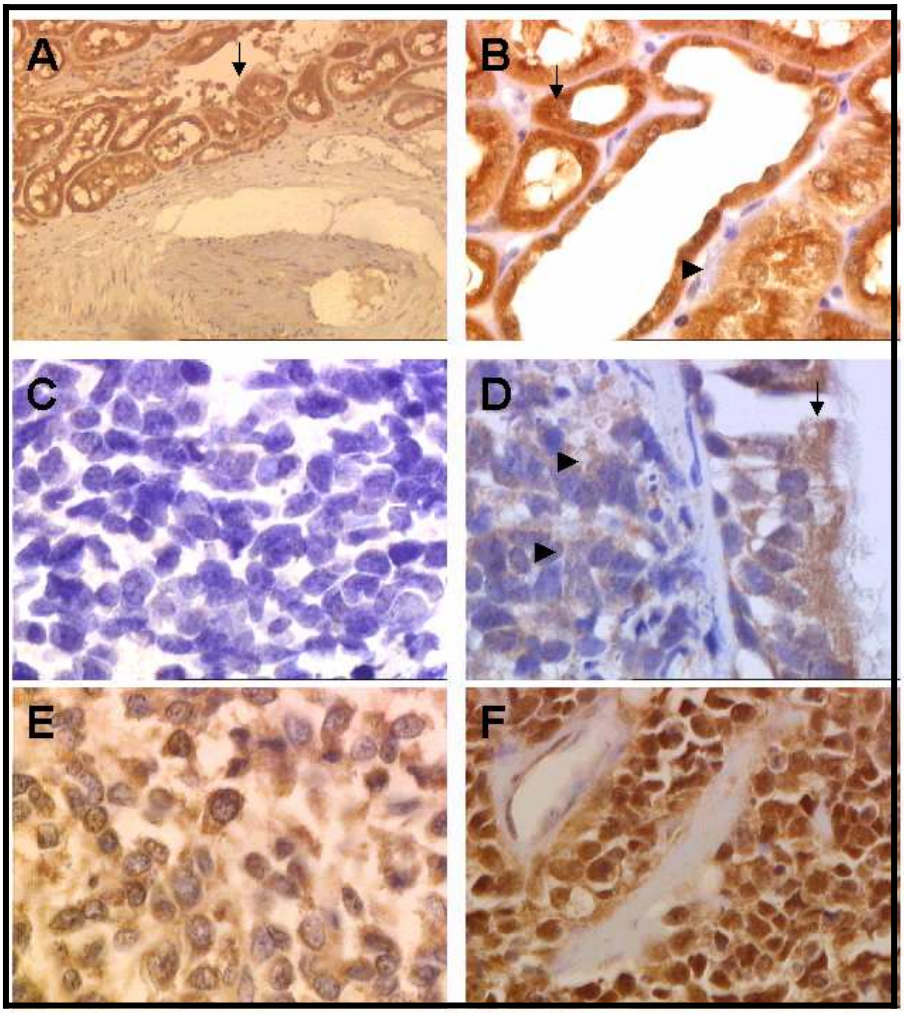


Abb.9:**FHIT-Expression in Normalgewebe und Lungenkarzinomen** (A+B): Positivkontrolle: Nierentubuluszellen zeigen eine positive FHIT-Expression (schwarze Pfeile); die Stromazellen zwischen den Tubuli sind FHIT-negativ (Pfeilspitze); (C)*:* SCLC ohne FHIT-Expression; (D+E): SCLC mit schwacher FHIT-Expression, normales Bronchialepithel zeigt positive FHIT-Cytoplasmareaktion; (F)*:* SCLC mit starker FHIT-Expression. (A: 10er Objektiv; B: 40er Objektiv; C-F: 63er Objektiv)

Da in 21% der Tumorproben eine inhomogene Verteilung der FHIT-Expression gefunden wurde, wurde auch die Verteilung der positiven Zellen in allen 225 Proben bestimmt. Ein Anteil von 1% bis 25% positiver Tumorzellen wurde in 6 (2,7%) Fällen, ein Anteil zwischen >25% und 50% in 12 (5,3%) Fällen, ein Anteil zwischen >50% und 75% in 30 (13,3%) Fällen und ein Anteil über 75% in 91 (40,5%) Fällen gefunden, wobei 86 (38,2%) der Proben negativ waren **(Abb. 10)**.

Abb. 10: FHIT-Expression in SCLC

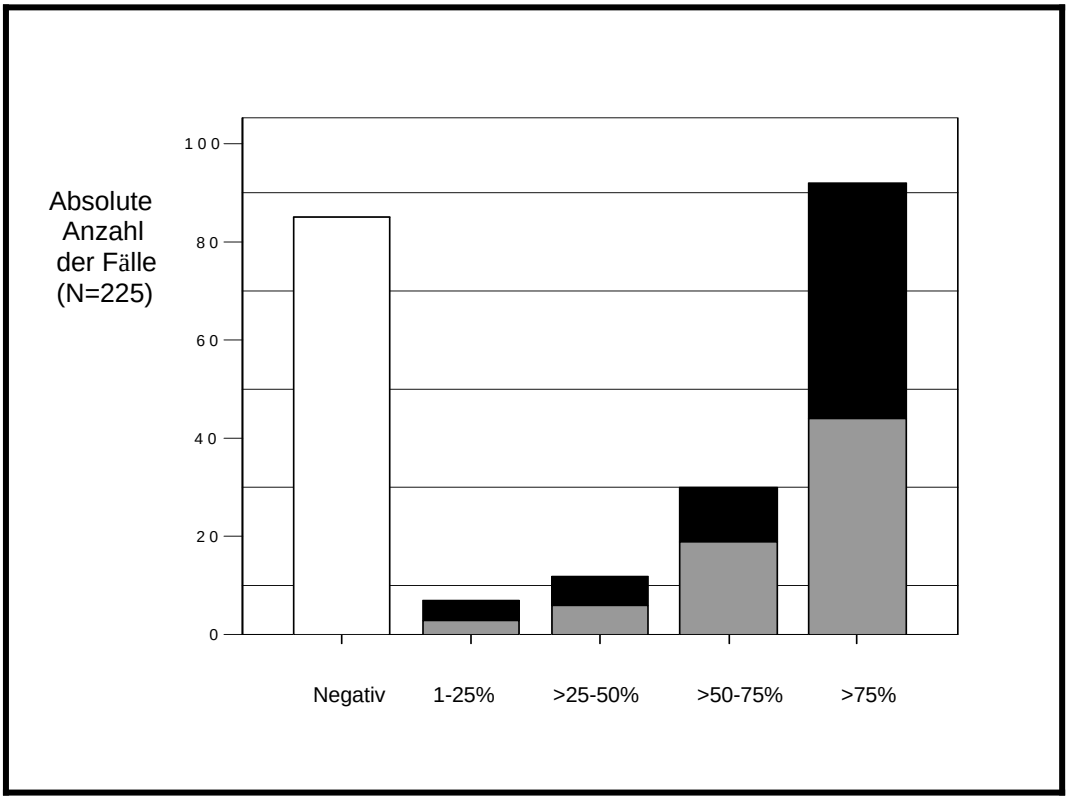


Abb.10: Anteil der FHIT-positiven Tumorzellen und der Expressionsstärke von FHIT in SCLC in Prozent (N=225). Weiße Säule, FHIT-negative Fälle; hellgraue und schwarze Säulen entsprechen einer schwachen bzw. starken Färbeintensität der SCLC Tumoren.

3.1.2. Prognostische Bedeutung der FHIT-Expression für Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom

Für die Analyse der Überlebensdaten in Abhängigkeit von der FHIT-Expression wurden die Kaplan-Meier Überlebenskurven zur Berechnung verwendet. Der Median und der Mittelwert der Überlebenszeit für alle 225 Patienten lag bei 194 ± 16 Tagen bzw. bei 321 ± 43 Tagen; die 1-Jahres-und 5-Jahresüberlebensrate betrug 23,9% bzw. 2,6%. Es wurden drei Gruppen mit negativer, schwacher oder starker FHIT-Expression gebildet, um den Einfluss der FHIT-Expression auf das Überleben zu analysieren. Unabhängig von der Stärke der FHIT-Expression in den Tumorzellen war ein kompletter Verlust von FHIT mit der schlechtesten Prognose assoziiert ($0,012<p<0,033$). Keine signifikanten Unterschiede wurden zwischen den Überlebenskurven der Patienten mit schwacher und starker FHIT-Expression festgestellt (medianes Überleben: 208 ± 17 Tage versus 234 ± 34 Tage; $p=0,665$). Daher wurden alle FHIT-positiven Fälle für weitere Analysen gruppiert. So hatte die Patientengruppe, deren Tumoren einen kompletten Verlust von FHIT zeigten mit 157 ± 18 Tagen eine kürzere mediane Überlebenszeit im Vergleich zu 210 ± 18 Tagen in der Patientengruppe, deren Tumoren FHIT exprimierten ($p=0,0061$, **Abb. 11)**

Abb. 11: Einfluss der FHIT-Expressionsstärke auf das Überleben

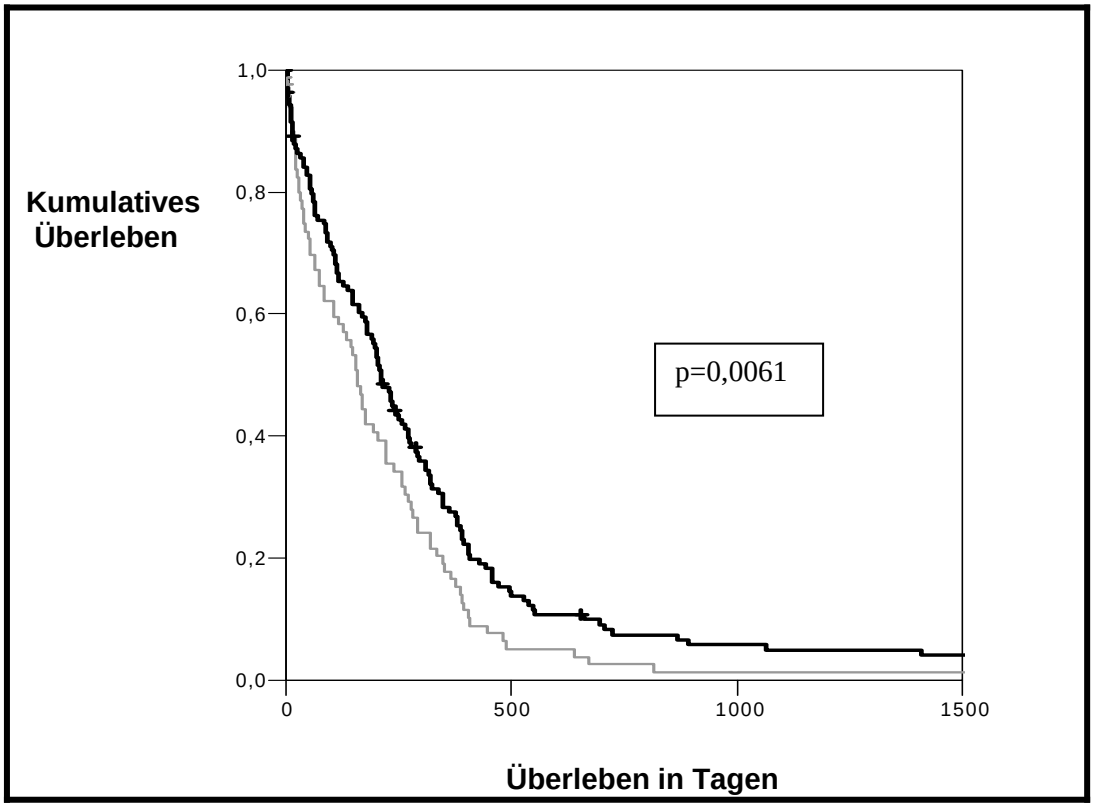


Abb.11: FHIT-Expressionsstärke und das Überleben der Patienten mit SCLC: Patienten ohne Nachweis einer FHIT-Expression (graue Linie) wiesen ein signifikant geringeres Gesamtüberleben auf als Patienten mit positiver FHIT-Expression (schwarze Linie).

Zwischen der FHIT-negativen und FHIT-positiven Patientengruppe wurden keine Unterschiede in folgenden klinischen Kategorien gefunden: Geschlecht (männlich versus weiblich, p=0,563), Alter (Mittelwert: 63,3 versus 62,2 Jahre; p=0,447), Raucherstatus (Nichtraucher versus Raucher, p=0,605), Allgemeinzustand (WHO 0 versus I versus II versus III, p=0,809), Tumorstatus (I versus II versus III versus IV, p=0,441), Mittelwert der Anzahl der Chemotherapiezyklen (3,51 ± 3,06 versus 4,35 ± 3,1 Zyklen; p=0,11), Mittelwert Hämoglobin (13,47 ± 1,8 versus 13,72 ± 1,68 g/dL; p=0,383), Mittelwert Thrombozytenzahl (319,770 ± 115,450 versus 323,940 ± 115,630 Zellen/µL; p=0,812) Mittelwert Leukozytenzahl (9,490 ± 3,360 versus 9,690 ± 3,510 Zellen/µL; p=0,696) und Mittelwert LDH (394 ± 329 versus 365 ± 346 Units/L; p=0,595).

Als nächstes wurde ein möglicher Einfluss der quantitativen Verteilung der FHIT-positiven Tumorzellen auf das Überleben der Patienten untersucht. Patienten mit einer Verteilung von 1-25% FHIT-exprimierender Tumorzellen hatten eine ähnlich schlechte Prognose mit einer medianen Überlebenszeit von 87 ± 80 Tagen wie Patienten, deren Tumorzellen einen vollständigen Verlust von FHIT zeigten: mediane Überlebenszeit 157 ± 18 Tagen (p=0,165). Dagegen zeigte sich eine verlängerte mediane Überlebenszeit, wenn mehr als 25% der Tumorzellen eine FHIT-Expression aufwiesen. Zwischen den Gruppen mit einer Verteilung der FHIT-Expression zwischen (I) >25 bis 50%, (II) >50 bis 75% und (III) >75% wurde eine ähnlich mediane Überlebenszeit festgestellt: 203 ± 40, 210 ± 52 und 217 ± 25 Tage (0,644 < p <0,934; **Abb. 12).**

Abb. 12: Einfluss des Anteils FHIT-positiver Tumorzellen auf das Überleben

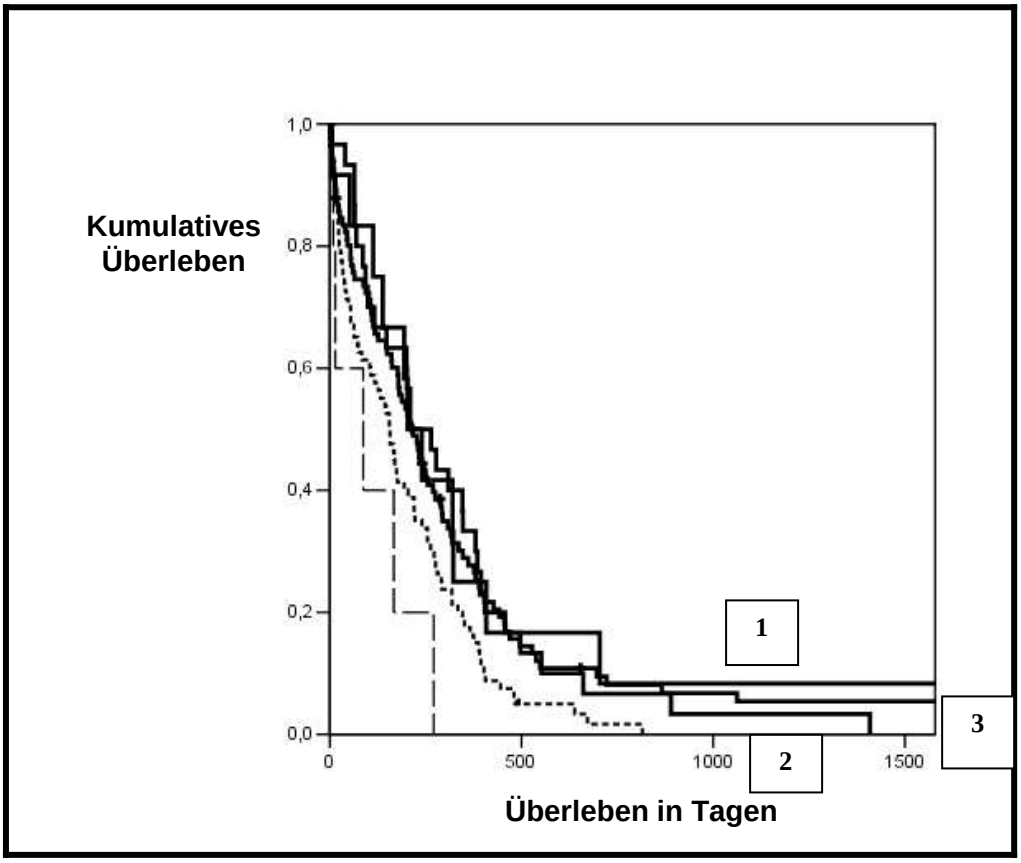


Abb.12: Darstellung der Überlebenskurven von Patienten mit SCLC nach dem Anteil der FHIT-exprimierenden Zellen. Patienten, deren Tumore FHIT-negativ (gepunktete Linie) oder weniger als ≤25% (gestrichelte Linie) FHIT-exprimierende Tumorzellen aufwiesen, hatten die schlechteste Prognose mit 157 ± 18 bzw. 87 ± 80 Tagen (p=0,165). Das Überleben war signifikant verlängert, wenn der Anteil an FHIT-exprimierenden Tumorzellen über 25% lag (schwarze Linien). Für die Patienten mit einem FHIT-Anteil >25%-50% (schwarze Linie; Nr.1), >50%-75% (schwarze Linie, Nr.2) und >75% (schwarze Linie, Nr.3) wurde kein Unterschied im medianen Überleben gefunden. *Tage*: 203 ± 40, 210 ± 52 bzw. 217 ± 25 (0,644 < p < 0,934).

Demzufolge wurden zwei große Gruppen gebildet, um den quantitativen Einfluss der FHIT-Expression auf das Überleben zu vergleichen: Tumoren mit einer Verteilung von FHIT-positiven Zellen ≤ 25% versus > 25%. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der medianen Überlebenszeit von 155 ± 21 Tagen versus 217 ± 19 Tagen (p=0,0016; **Abb. 13).** Beide Gruppen wiesen keine Unterschiede in den folgenden klinischen Parametern auf: Geschlecht, Alter, Raucherstatus, Allgemeinzustand, Tumorstadium, Anzahl der Chemotherapiezyklen, Hb-Wert, Thrombozytenzahl, Leukozytenzahl und LDH-Level.

Abb. 13: Einfluss des Anteils FHIT-positiver Tumorzellen auf das Überleben

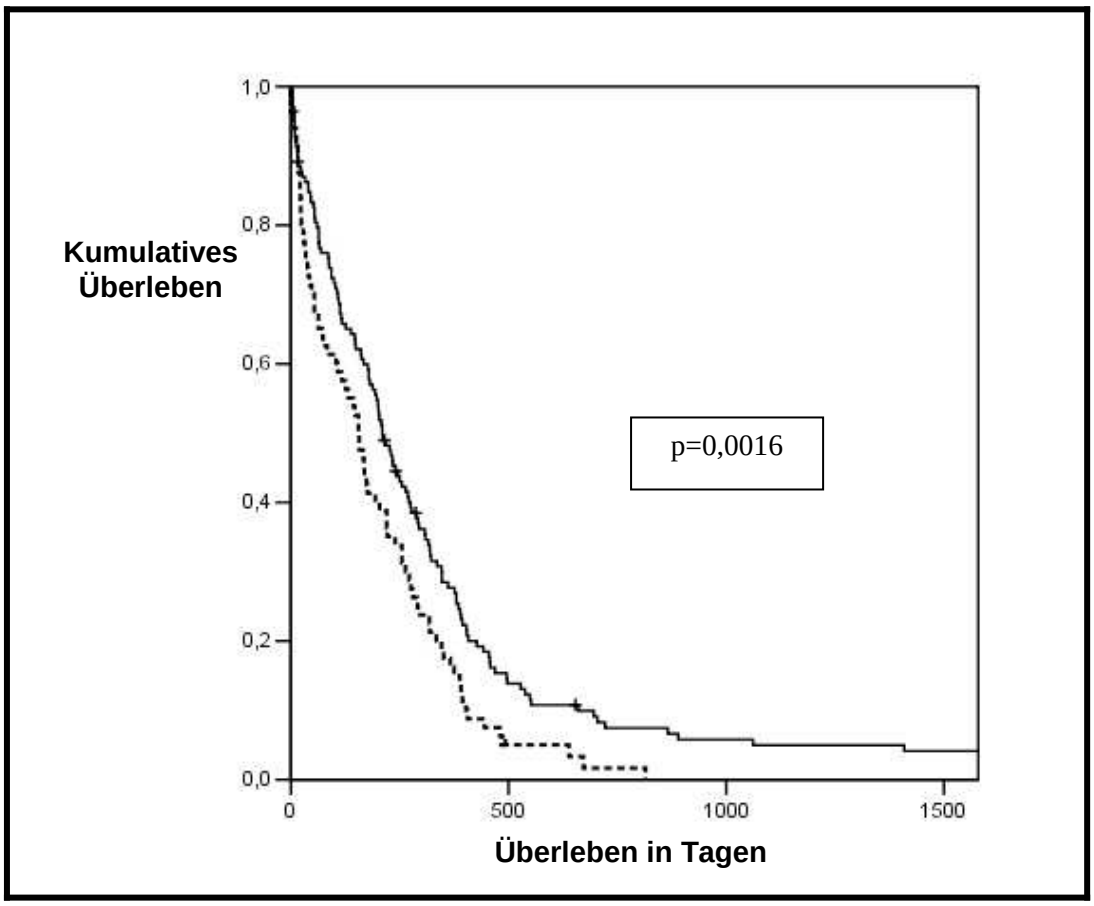


Abb.13: Vergleich der Überlebenskurven von Patienten mit einem Anteil von FHIT-exprimierenden Zellen ≤ 25% inklusive negativer Fälle (gestrichelte Linie) versus > als 25% (durchgehende Linie).

3.1.3. Korrelation der FHIT-Expression mit klinischen Parametern in kleinzelligen Lungenkarzinomen

Neben dem FHIT-Status hatten auch andere klinische Parameter, wie der Allgemeinzustand (p<0,0000), der LDH-Wert (p=0,0005), die Leukozytenzahl (p=0,0017) und das TNM-Stadium (p=0,0016) in der Log-rank Analyse nach Kaplan-Meier einen auf Einfluss auf das Gesamtüberleben der Patienten. Die Korrelationsanalyse nach Pearson zeigte keine signifikante Korrelation zwischen der FHIT-Expression und klinischen Variablen. Zur Klärung der Frage, ob FHIT ein unabhängiger Prognosemarker ist, wurde die Multivariatanalyse nach dem Cox-Regressionsmodell verwendet. Die folgenden 11 Variablen wurden in der Multivariatanalyse berücksichtigt: Geschlecht (Männlich vs. Weiblich), Alter (≤ 60 Jahre vs. > 60 Jahre), Raucherstatus (Raucher vs. Nichtraucher), Allgemeinzustand (unterteilt in WHO 0 vs. 1 vs. 2 vs. 3), Tumorstadium (unterteilt in TNM I vs. II vs. III vs. IV), Hämoglobin-Wert (<12 vs. ≥ 12mg/dl), Thrombozytenzahl (<150.000/µL, 150.000 – 400.000/µL, and > 400.000/µL) und die Leukozytenzahl (<3.500/µL, 3.500-11.000/µL, >11.000/µL), LDH-Wert (Serumwerte <240 vs. ≥240 Units/L) ebenso wie die qualitative FHIT-Expression (positive vs. negative) als auch die quantitative FHIT-Expression (Anzahl der FHIT-exprimierenden Tumorzellen ≤25% vs. >25%). Es zeigte sich, dass nur der Anteil der FHIT-exprimierenden Tumorzellen (p=0,028), der LDH-Wert (p=0,012), das Tumorstadium (p=0.001) und der Allgemeinzustand der Patienten (p<0,0001) als unabhängige prognostische Variablen vom Cox-Regressionsmodell identifiziert wurden (**Tabelle 7**). Interessanterweise war die Expressionsstärke von FHIT auch signifikant (p<0,05), wurde aber im Cox-Regressionsmodell nicht als unabhängiger Faktor berücksichtigt. Die anderen Faktoren, wie der Hämoglobin-Wert, die Thrombozytenzahl, das Geschlecht, das Alter und der Raucherstatus waren hinsichtlich des Gesamtüberlebens nicht signifikant.

Tabelle 7: SCLC FHIT

		p-Wert
	Anteil der FHIT-exprimierenden Tumorzellen [a]	0,028
	Tumorstadium[b]	0,001
	Allgemeinzustand[c]	<0,0001
	LDH-Wert[d]	0,012
	[a]-Anteil FHIT-positiver Zellen ≤25% versus >25%	
	[b]-erstellt nach dem TNM-System: Stadium I vs.II vs.III vs. IV;	
	[c]-Allgemeinzustand erstellt nach der WHO-Klassifikation 0 vs. I vs. II vs. III	
	[d]-LDH Serumwert ≤ 240 vs. > 240 Units/L	

3.2. Pituitary tumor transforming gene-1

3.2.1. PTTG-1-Expression in kleinzelligen Lungenkarzinomen

Eine PTTG-1-Expression wurde in 87 von 136 untersuchten kleinzelligen Lungenkarzinome nachgewiesen (64%). Eine schwache zytoplasmatische Färbeintensität zeigte sich in 60 Tumoren (44,1%) und eine starke Zytoplasmaanfärbung in 27 Fällen (19,9%). Kein Nachweis von PTTG-1 fand sich in 49 (36%) Fällen (**Abb. 14**).

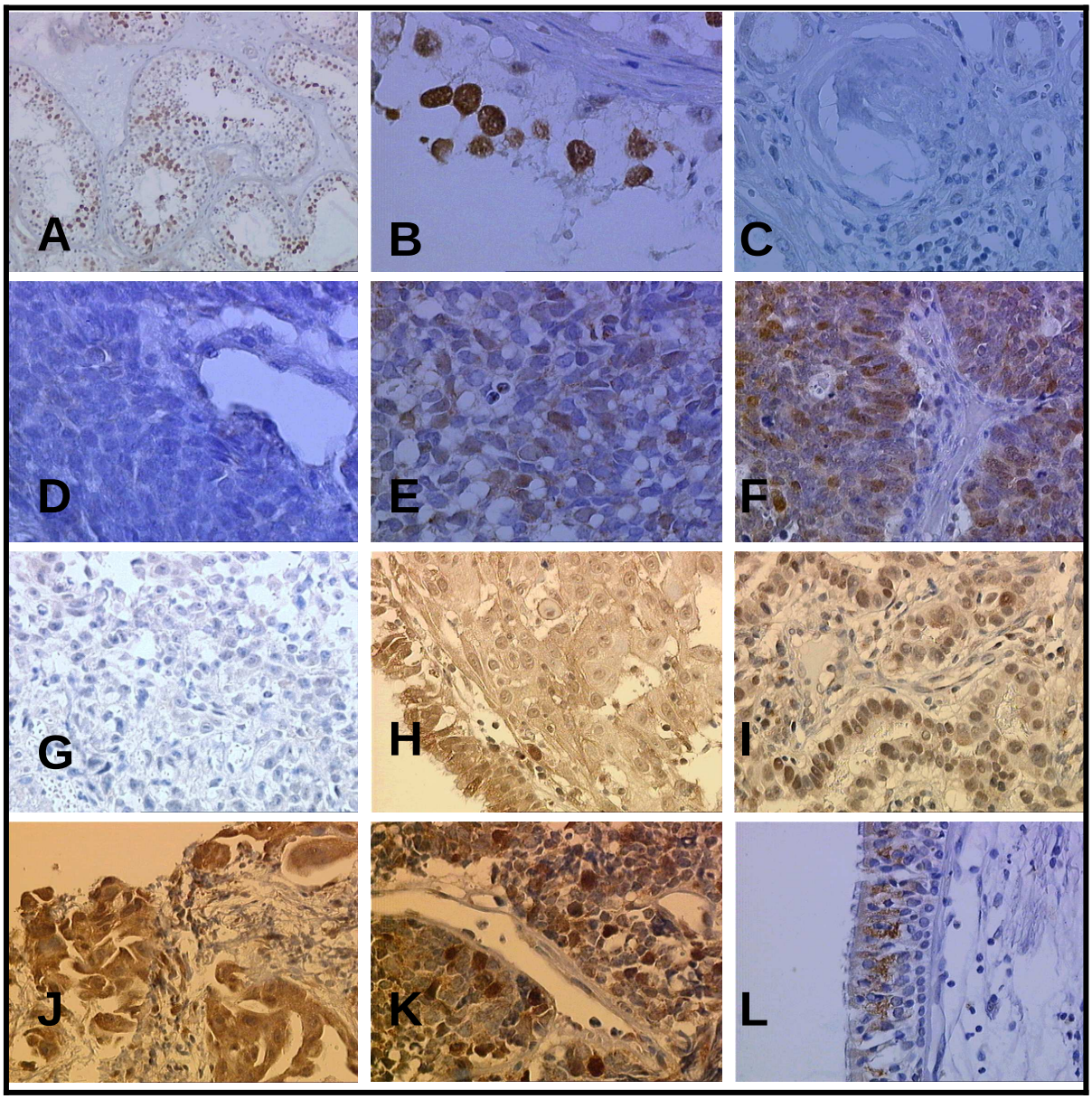


Abb.14: PTTG-1-Expression in Normalgewebe und Lungenkarzinomen (A + B) Positivkontrolle: Keimzellen des Hodens; (C) Negativkontrolle: Nierentubuli und Glomeruli; *SCLC* mit negativer PTTG-1-Expression (D); schwache PTTG-1-Expression (E) und starke PTTG-1-Expression (F). *Adenokarzinom* (NSCLC) mit negativer PTTG-1-Expression (G), schwache PTTG-1-Expression (H) und starker PTTG-1-Expression (I). Plattenepithelkarzinom (NSCLC) mit schwacher PTTG-1-Expression (J) und starker PTTG-1-Expression (K). (L), das normale Bronchialepithel zeigte ebenfalls eine schwache positive Färbung des Zytoplasmas. (A,C:40er Objektiv; B,D-L: 63er Objektiv)

Die PTTG-1-positiven Präparate wiesen in der Regel mehr als 75% gefärbte Zellen auf (64/136; 47,1%). Eine PTTG-1-Verteilung im Präparat zwischen 1% und 50%, zwischen 51% und 75% wurde in 7 (5,1%) bzw. 16 (11,8%) der Patienten nachgewiesen. 49 (36%) der Fälle waren PTTG-1-negativ **(Abb. 15).**

Abbildung 15: PTTG-1-Expression in SCLC

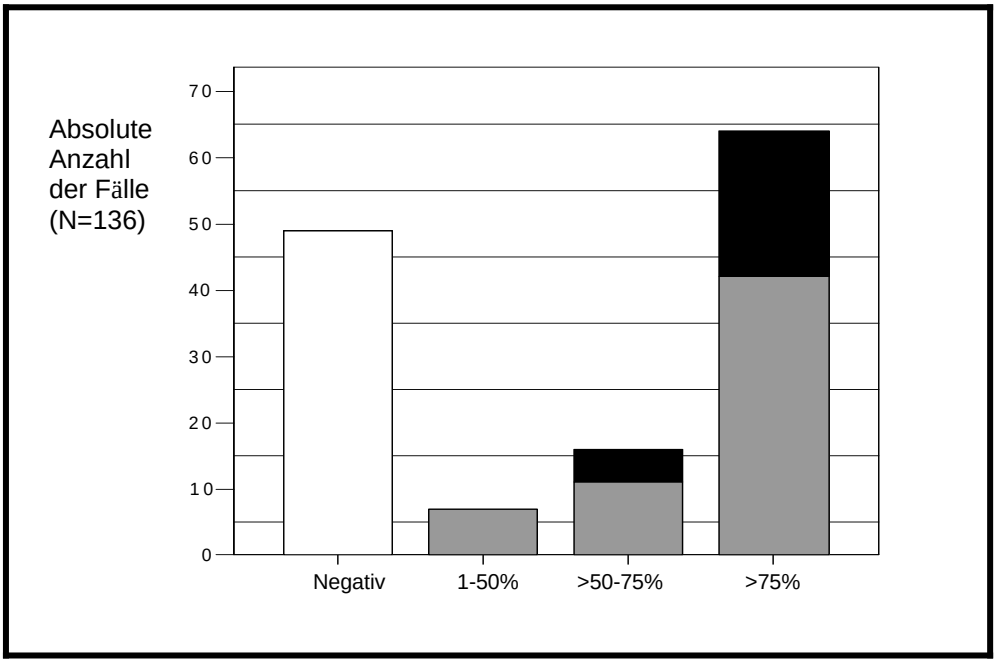


Abb.15: Anteil der PTTG-1-positiven Tumorzellen und der Expressionsstärke von PTTG-1 in SCLC in Prozent. Weiße Säule: PTTG-1-negative Fälle; hellgraue und schwarze Säulen entsprechen einer schwachen bzw. starken Färbeintensität der SCLC Tumoren.

3.2.2. Prognostische Bedeutung der PTTG-1-Expression für Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom

Die mediane und mittlere Überlebenszeit für alle 136 Patienten mit kleinzelligen Lungenkarzinomen lag bei 255 ± 16 Tagen bzw. 287 ± 20 Tagen. Die 1-Jahresüberlebensrate und die 5-Jahresüberlebensrate betrugen 26,9% und 0%. Um den Einfluss der PTTG-1-Expressionsstärke auf das Überleben zu untersuchen, wurden die Überlebenskurven der drei Gruppen mit negativer, schwacher und starker PTTG-1-Expression miteinander verglichen. Bis zu einem Überleben von 300 Tagen wurde kein Unterschied im Überleben in Abhängigkeit von der Expressionsstärke gefunden **(Abb. 16).**

Abb. 16: Einfluss der PTTG-1-Expressionsstärke auf das Überleben

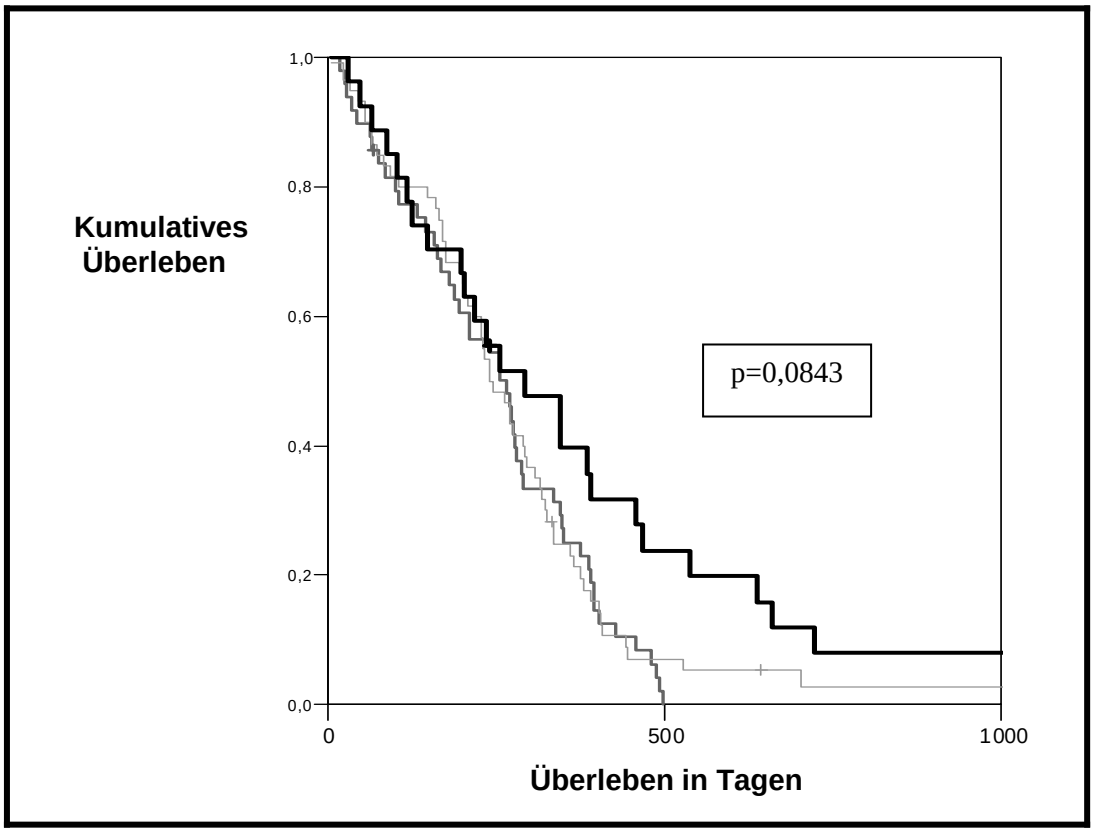


Abb.16: PTTG-1-Expressionsstärke und das Überleben der Patienten mit SCLC: Es wurde kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen dem Überleben und der PTTG-1-Expression (negativ vs. schwach vs. stark) gefunden (p=0,0843)

Betrachtet man aber das Überleben der Patienten nach 300 Tagen, so findet sich ein signifikant verlängertes Überleben innerhalb der Gruppe mit starker PTTG-1-Expression im Gegensatz zu der Gruppe mit negativer oder schwacher PTTG-1-Expression. Zwischen der Patientengruppe mit negativer oder schwacher PTTG-1-Expression ist kein signifikanter Unterschied im Überleben nachgewiesen worden, sodass diese zwei Gruppen für die weiteren Berechnungen zu einer Gruppe zusammengefasst worden sind (Mittelwert Überleben: 249 ± 20 Tage versus 278 ± 29 Tage, p=0,7026). Es zeigte sich eine signifikant verkürzte Überlebenszeit von 265 ± 18 Tagen (p=0,0291) für die Patienten, deren Tumoren eine negative/schwache PTTG-1-Expression zeigten, im Vergleich zu 379 ± 66 Tagen bei Patienten, deren Tumoren eine starke PTTG-1-Expression aufwiesen (**Abb. 17**).

Abb. 17: Einfluss der PTTG-1-Expressionsstärke auf das Überleben

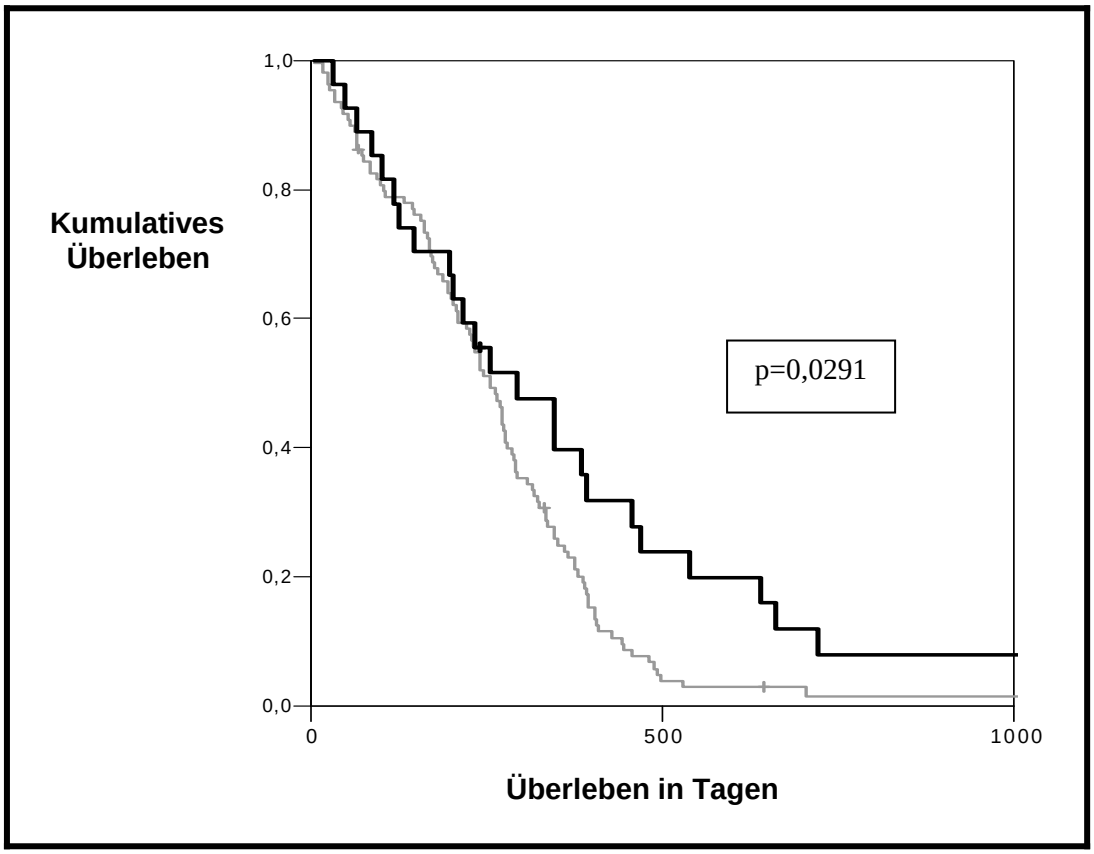


Abb.17: PTTG-1-Expressionsstärke und das Überleben der Patienten mit SCLC. Ein statistisch signifikanter Unterschied (p=0,0291) in der Überlebenszeit hat sich beim Vergleich von Patienten mit negativer/schwacher PTTG-1-Expression (graue Linie) versus Patienten mit starker PTTG-1-Expression (schwarze Linie) gezeigt. Die Patienten mit einer starken PTTG-1-Expression (schwarze Linie) hatten statistisch eine längere mittlere Überlebenszeit von 379 ± 66 Tagen im Vergleich zu 265 ± 18 Tagen für Patienten mit keiner/schwacher PTTG-1-Expression (graue Linie).

Zwischen den beiden Gruppen (PTTG-1-negativ/schwach versus PTTG-1-stark) wurde kein signifikanter Unterschied für die folgenden klinischen Parameter gefunden: Geschlecht, Alter, Nikotinabusus, Allgemeinzustand, Tumorstadium, Anzahl der Chemotherapiezyklen, Strahlentherapie, Hb-Wert, Thrombozytenzahl, Leukozytenzahl und LDH-Wert.

3.2.3. Korrelation der PTTG-1-Expression mit klinischen Parametern in kleinzelligen Lungenkarzinomen

Neben dem Status der PTTG-1-Expression waren andere klinische Parameter, wie der Allgemeinzustand des Patienten (WHO 0/1 vs. II/III; p=0,0007), das Tumorstadium (I/II vs. III/IV; p=0,0117) und der LDH-Wert (Serumwerte ≤240 Units/L vs. >240 Units/L; p=0,0246) mit dem Überleben der Patienten assoziiert. Eine Korrelation von PTTG-1 mit anderen klinischen Parametern fand sich nicht. Um festzustellen, ob PTTG-1 als unabhängiger prognostischer Marker angesehen werden kann, wurde die Multivariatanalyse nach dem Cox-Regressionsmodell durchgeführt. Es zeigte sich, dass die Expressionstärke von PTTG-1 (p=0,047), das Tumorstadium (p=0,051), der Allgemeinzustand des Patienten (p=0,015), der Hb-Wert (p=0.011) und der LDH-Wert (p=0,001) als unabhängige Prognosefaktoren identifiziert wurden (**Tabelle 8).** Dagegen waren die quantitative Verteilung PTTG-1 positiver Zellen in einem Präparat, die Thrombozytenzahl, die Leukozytenzahl, das Geschlecht und das Alter für das Überleben der Patienten irrelevant.

Tabelle 8: SCLC

	p-Wert
Expressionsstärke von PTTG-1[a]	0,047
Tumorstadium[b]	0,051
Allgemeinzustand[c]	0,015
LDH-Wert[d]	0,001
Hämoglobinwert[e]	0,011

[a]-negative/schwache PTTG-1-Expression vs. starke PTTG-1-Expression der Tumorzellen

[b]-erstellt nach dem TNM-System: Stadium I/II vs. III/IV;

[c]-Allgemeinzustand erstellt nach der WHO-Klassifikation 0 vs. I vs. II vs. III;

[d]-LDH Serumwerte ≤ 240 units/l vs. > 240 units/l;

[e]-Hämoglobinwerte ≤12 g/dl vs. >12 g/dl

3.2.4. PTTG-1-Expression in nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen

Eine Expression von PTTG-1 zeigte sich in 89 der 91 untersuchten Tumore (97,8%). Eine schwache zytoplasmatische PTTG-1-Expression lag in 52 (57,1%) der Tumore und eine starke Zytoplasmaanfärbung in 37 (40,7%) der Tumore vor. In 2 (2,2%) der Tumoren konnte PTTG-1 nicht detektiert werden (**Abb. 14).**

In den PTTG-1-positiven Tumorpräparaten fand sich meistens eine Verteilung von mehr als 75% positiver Tumorzellen (68/91; 74,7%). Der Anteil von Tumoren mit PTTG-1-positiven Tumorzellen zwischen 1% und 50% und zwischen 51% und 75% lag bei 6 (6,6%) bzw. 15 (16,5%). Lediglich 2 (2,2%) der Tumore waren PTTG-1-negativ (**Abb. 18).**

Abbildung 18: PTTG-1-Expression in NSCLC

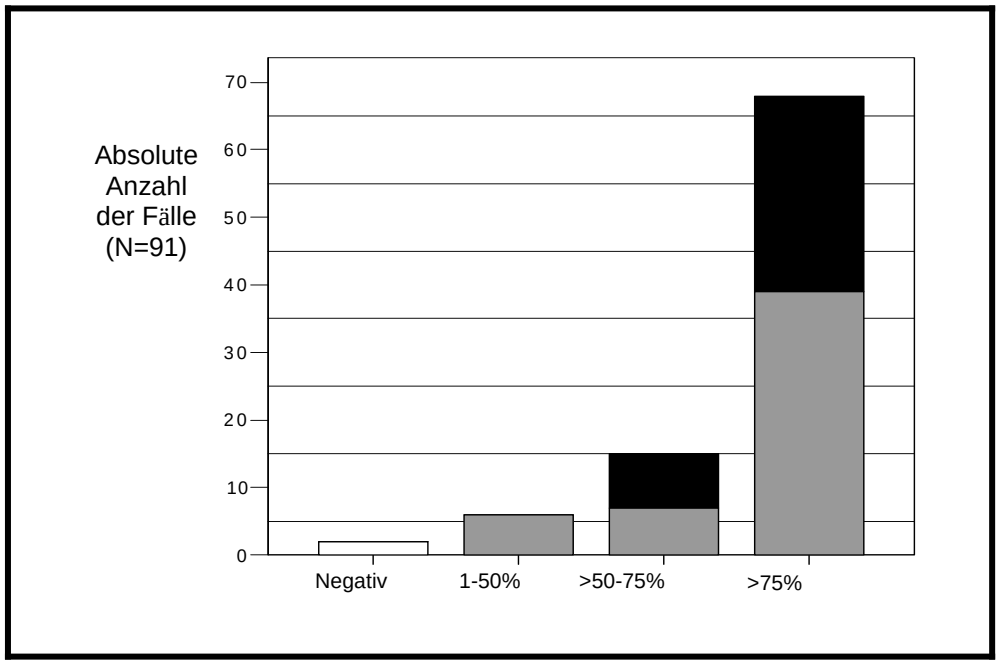


Abb.18: Anteil der PTTG-1-positiven Tumorzellen und der Expressionsstärke von PTTG-1 in NSCLC in Prozent (N=91). Weiße Säule: PTTG-1-negative Fälle; hellgraue und schwarze Säulen entsprechen einer schwachen bzw. starken Färbeintensität der NSCLC Tumoren.

3.2.5. Prognostische Bedeutung der PTTG-1-Expression für Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom

Die mediane und mittlere Überlebenszeit für alle 91 Patienten mit nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom betrug 401 ± 41 Tage bzw. 325 ± 66 Tage. Patienten mit diesen Tumoren hatten eine 1-Jahresüberlebensrate und eine 5-Jahresüberlebensrate von 46,6% bzw. 1,2%. Wie bei den Patienten mit kleinzelligen Lungenkarzinomen zeigte sich kein signifikanter Unterschied im medianen und mittleren Überleben zwischen den Tumorpatienten mit negativer bzw. schwacher PTTG-1-Expression (p=0,3063). So wurden die negativen oder PTTG-1-schwach positiven Fälle für weitere Analysen zusammengruppiert. Dabei war eine starke PTTG-1-Expression mit einer ungünstigen Prognose für den Patienten vergesellschaftet. Im Gegensatz dazu wiesen Patienten mit einer schwachen oder negativen PTTG-1-Expression eine signifikant längere mittlere Überlebenszeit auf (306 ± 58 Tage versus 463 ± 55 Tage; p=0,0386; **Abb.19**).

Abb. 19: Einfluss der PTTG-1-Expressionsstärke auf das Überleben

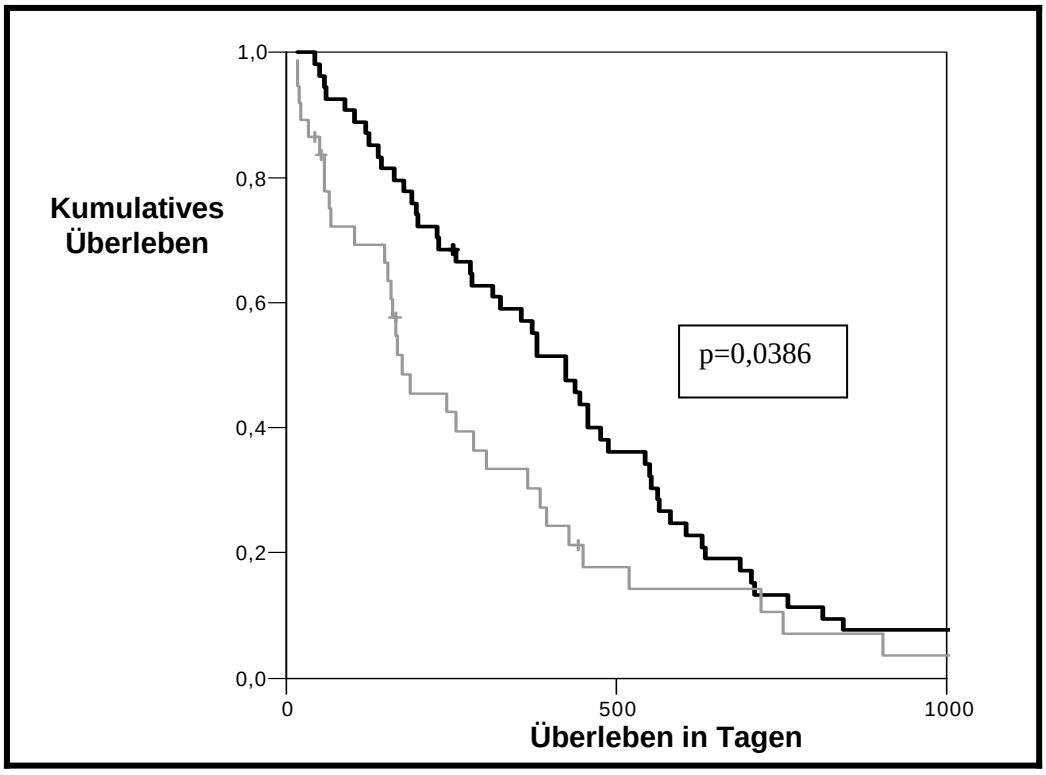


Abb.19: PTTG-1-Expression und Überleben in Patienten (N=91) mit NSCLC. Es wurde ein statistisch signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit zwischen Patienten mit negativer/schwacher PTTG-1-Expression (schwarze Linie) und Patienten mit starker PTTG-1-Expression (graue Linie) festgestellt. Patienten mit starker PTTG-1-Expression hatten eine signifikant kürzere Überlebenszeit (p=0,0386).

Um einen möglichen Fehler durch unterschiedliche Therapieverfahren zwischen den Patienten auszuschließen, wurden Patienten, die primär operativ behandelt worden waren aus der weiteren Überlebensanalyse ausgeschlossen, da diese ein signifikant verlängertes Gesamtüberleben (p=0,0001) zeigten. Betrachtet man nun die Untergruppe der Patienten in Stadium IIIB und IV (n=76), die chemotherapeutisch behandelt wurden, wurde dennoch ein signifikanter Unterschied im Überleben (p=0,0229) abhängig vom Grad der PTTG-1-Expression beobachtet **(Abb.20).** Patienten, deren Tumoren keine oder eine schwache PTTG-1-Expression aufwiesen, hatten mit 372 ± 36 Tagen eine bessere Überlebenszeit, als Patienten, deren Tumoren eine starke PTTG-1-Expression aufwiesen, deren mittlere Überlebenszeit 238 ± 40 Tage betrug.

Abb. 20: Einfluss der PTTG-1-Expressionsstärke auf das Überleben

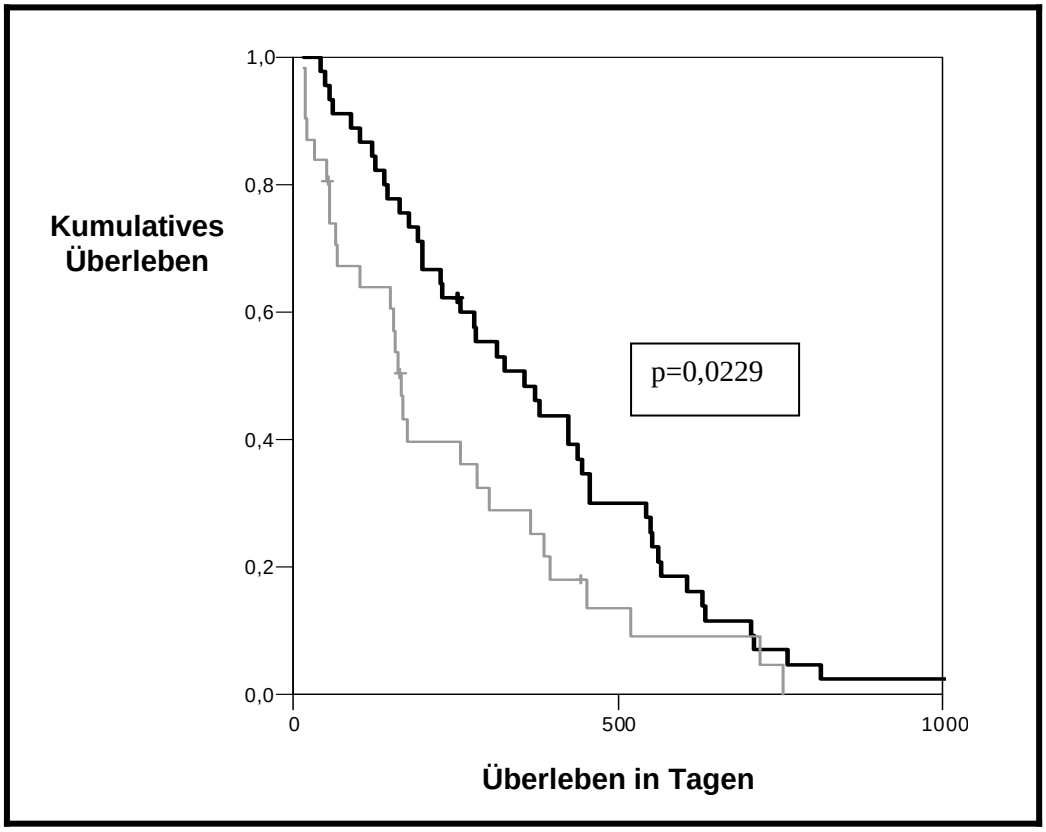


Abb.20: PTTG-1-Expression und das Überleben in der Subgruppe von Patienten (N=76) mit NSCLC. Patienten mit schwacher/negativer PTTG-1-Expression hatten mit 372 ± 36 Tagen ein signifikant (p=0,0229) besseres Überleben als die Patienten, deren Tumoren eine starke PTTG-1-Expression aufwiesen (238 ± 40 Tagen).

Zur Analyse möglicher Korrelationen zwischen der PTTG-1-Expression und klinischen Parametern wurde der zweiseitige t-test benutzt. Vergleicht man nun die Patientengruppe mit starker PTTG-1-Expression mit der Patientengruppe mit negativer/schwacher PTTG-1-Expression, so finden sich signifikante Unterschiede für folgende Variablen: LDH-Wert (p=0,005), Leukozytenzahl (p=0,016) und Tumorstadium (p=0,021). Bei der Durchführung einer Korrelationsanalyse nach Pearson (p<0,05) wurde deutlich, dass eine starke PTTG-1-Expression mit einem erhöhten LDH-Wert, vermehrten Lymphknotenmetastasen und vermehrten Fernmetastasen assoziiert war. Dagegen wurde für die folgenden klinischen Variablen keine Korrelation gefunden: Alter, Nikotinabusus, Allgemeinzustand, Anzahl der Chemotherapiezyklen, Strahlentherapie, Erythropoetinsubstitution, Hb-Wert und Thrombozytenanzahl.

3.2.6. Korrelation der PTTG-1-Expression mit klinischen Parameten in nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen

Folgende klinische Parameter hatten ebenfalls in der Log-rank-Analyse nach Kaplan-Meier einen Einfluss auf die Überlebenszeit: Allgemeinzustand (p=0,0003), LDH-Wert (0,0461), Leukozytenzahl (p=0,0035) und das Tumorstadium (p=0,0001). Die Analyse nach Pearson zeigte Korrelationen zwischen der PTTG-1-Expression und einem erhöhten LDH-Wert (p<0,01), einer erhöhten Leukozytenanzahl (p<0,05), einer hohen Anzahl an Lymphknotenmetastasen (p<0,05) und vermehrten Fernmetastasen (p<0,01). Zur Klärung der Frage, ob die PTTG-1-Expression ein unabhängiger Prognosefaktor ist, wurde die Multivariatanalyse nach dem Cox-Regressionsmodell für die Patienten im Stadium IIIB und IV (n=76) durchgeführt. Es zeigte sich, dass nur die PTTG-1-Expressionsstärke (p=0,025), das Tumorstadium (p=0,044) und der Allgemeinzustand (p=0,016) unabhängige Prognoseparameter darstellen (**Tabelle 9).** Im Gegensatz dazu waren folgende Variablen nach dem Log-rank Test als prognostische Parameter irrelevant: das Geschlecht, das Alter, der Hb-Wert, die Thrombozytenzahl, die Leukozytenzahl, der LDH-Wert und die Verteilung der PTTG-1-Expression in den Tumorzellen (p>0,05).

Tabelle 9: NSCLC

		p-Wert
	Expressionsstärke von PTTG-1[a]	0,025
	Tumorstadium[b]	0,044
	Alllgemeinzustand[c]	0,016
	[a]-negative/schwache PTTG-1-Expression vs. starke PTTG-1-Expression der Tumorzellen	
	[b]-erstellt nach dem TNM-System: Stadium I-III vs. IV;	
	[c]-Allgemeinzustand erstellt nach der WHO-Klassifikation 0 vs. I vs. II	

V. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Expression des Tumorsuppressorgens FHIT und des Tumoronkogens PTTG-1 in Lungenkarzinomen untersucht.

Mehrere aktuelle Studien beschreiben FHIT funktionell als ein Tumorsuppressorgen. In einer Studie entwickelten 53% Prozent der Labormäuse mit einem homozygoten Verlust von FHIT (-/-) innerhalb von 2 Jahren spontane Tumoren. In der Kontrollgruppe, die das „wild-type“ FHIT exprimierten, belief sich die spontane Tumorentstehungsrate auf 8%.[132] Weitere Beweise für die Rolle von FHIT als Tumorsuppressorgen basieren auf Gentransferexperimenten. In Lungenkarzinomzellinien, die einen Verlust des FHIT-Gens aufwiesen, wurde mit einem Vektor (Adenovirus) das „wild-type“ FHIT-Gen transfiziert (Ad-FHIT). Das Wachstum der Karzinomzelllinie wurde signifikant bis zu 80% reduziert, wobei das normale, menschliche Bronchialepithel unbeeinflusst blieb. [50]

Desweiteren wurde das Wachstum von Lungenkarzinomen in Nacktmäusen (nude mice) um 85-90% im Vergleich zu Kontrollgruppen reduziert, indem man intratumorale Injektionen von Ad-FHIT durchführte. Obwohl bekannt ist, dass die Wachstumshemmung durch FHIT mit einem G0-G1 Arrest und Apoptoseinduktion in Lungentumorzellen assoziiert ist, bleibt der exakte molekulare Ablauf der FHIT-Interaktionen unklar. Kürzlich wurde gezeigt, dass FHIT der physiologische Angriffspunkt der Proteinkinase Src ist.[77] Weiterhin ist eine p53-unabhängige Induktion der Apoptose durch Freisetzung des Cytochrom c Proteins durch FHIT beschrieben worden.[4] Das FHIT-Protein ist eine Diadenosine-tetraphosphat Hydrolase; es hydrolisiert Diadenosinnukleotide in ADP und AMP. Alle Histidingruppen des FHIT-Proteins werden für die volle Aktivität benötigt und die zentrale Histidingruppe der Triade ist unabdingbar für die Hydrolaseaktivität.[7] Überraschenderweise konnte eine FHIT-Mutante, die keine Hydrolaseaktivität mehr besaß, die Tumorentstehung in Zelllinien und Nacktmäusen weiterhin unterdrücken.[97] Wegen dieser Ergebnisse wurde vermutet, dass FHIT an einen weiteren unbekannten Effektor bindet oder mit einem Protein interagiert und so einen Komplex bildet, der als Tumor-Suppressormolekül wirkt und Apoptose,[77, 90] DNA-Zytoskelettzusammensetzung[16] und Reparaturmechanismen[3] beeinflussen kann.

In unserer Untersuchung zeigten 61,8% der immunhistochemisch getesteten kleinzelligen Lungenkarzinome eine Expression von FHIT. Nach jetzigem Wissensstand finden sich in der Literatur nur wenige Berichte über die Expression von FHIT in kleinzelligen Lungenkarzinomen. Sozzi et al.[101] untersuchte 13 primäre kleinzellige Lungenkarzinome und 10 Zelllinien mit Hilfe des Western blots oder immunhistochemischer Methoden; 4 (30%) der Primärtumoren und 2 (20%) der Zelllinien zeigten eine FHIT-Expression. In zwei weiteren Berichten von Pylkkänen et al.[80] und Ottersen et al.[70] fand sich eine prozentual höhere Expression von FHIT in SCLC`s: 13 (46,4%) von 28 Zelllinien kleinzelliger Lungenkarzinome und 2 (50%) von primären kleinzelligen Lungenkarzinomen waren positiv. In unserem untersuchten Kollektiv waren 61,8% der Tumoren FHIT-positiv. Somit stützt sie die Ergebnisse von Pylkkänen et al. und Ottersen et al. Die prozentuale Verteilung der FHIT-Expression in kleinzelligen Lungenkarzinomen ist ähnlich der von Adenokarzinomen der Lunge. Dort wurde eine FHIT-Expression zwischen 43% und 71% gefunden.[102, 112, 113, 115] Dabei scheint die FHIT-Expression unter den nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen von dem histologischen Subtyp abhängig zu sein, da eine signifikant niedrigere FHIT-Expression zwischen 3,6% und 42% in Plattenepithelkarzinomen nachgewiesen wurde.[102, 112, 113, 115]

Als nächstes wurde der Einfluss von FHIT auf das Überleben der Patienten mit kleinzelligen Lungenkarzinomen untersucht. Ein Verlust der FHIT-Expression war signifikant mit einer schlechteren Prognose der Patienten assoziiert. Interessanterweise gab es keinen statistischen Unterschied im Überleben der Gruppe mit schwacher oder starker FHIT-Expression. Dieses Ergebnis lässt den Schluss zu, dass die Expressionsstärke von FHIT irrelevant für die Prognose ist. Daraus resultiert, dass die Gruppe mit der schwach positiven FHIT-Expression als FHIT-positiv gewertet werden kann, um FHIT als prognostischen Marker zu verwenden. Weiter wurde der Einfluss der Verteilung der FHIT-Expression innerhalb der Tumorzellen auf das Überleben der Patienten untersucht. Patienten mit einer FHIT-Verteilung ≤ 25% hatten mit einer medianen Überlebenzeit von 5 Monaten die schlechteste Prognose verglichen mit der Patientengruppe, deren Tumoren eine FHIT-Verteilung größer als 25% aufwiesen und die eine medianen Überlebenszeit von 7 Monaten zeigten. Die prognostische Signifikanz der FHIT-Expression auf das Überleben wurde mit der Multivariatanalyse nach dem Cox-Regressionsmodell

bestätigt. Hierbei bestätigte sich neben dem Allgemeinzustand der Patienten, dem Tumorstadium und dem LDH-Level die Expression von FHIT als ein unabhängiger prognostischer Faktor (p=0.028). Auf den ersten Blick erscheint die Überlebensdifferenz von 2 Monaten zwischen der FHIT-positiven und der FHIT-negativen Patientengruppe relativ gering. Dabei ist zu beachten, dass die mittlere Überlebenszeit von Patienten mit kleinzelligen Lungenkarzinomen lediglich 6,5 Monate beträgt. In diesem Zusammenhang könnte ein prognostischer Marker wie FHIT entscheidend bei der Frage weiterhelfen, ob ein Patient im Stadium Very limited Disease (VLD) nach einer histologisch gesicherten R0-Resektion mit einer adjuvanten Chemotherapie und/oder Strahlentherapie behandelt werden sollte. Ähnlich zu meinen Ergebnissen fand Toledo et al.[106] bei seiner Untersuchung von 98 primär nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen einen Überlebensnachteil der Patientengruppe, die einen Verlust von FHIT aufwiesen. Tomizawa et al.[107] berichtete über eine signifikante Korrelation zwischen der FHIT-Expression und einem verlängerten Überleben bei seiner Untersuchung von 105 nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen. Diese und meine Daten unterstreichen die Rolle von FHIT als ein wichtiges Gen in der Biologie der Lungenkarzinome mit einem Einfluss auf das Überleben der Patienten, unabhängig vom histologischen Subtyp.

Beim zweiten von uns untersuchten Gen handelt es sich um PTTG-1. In unserer Studie haben wir eine hohe Prävalenz für die Expression von PTTG-1 in Lungenkarzinomen gefunden. In 64% der kleinzelligen Lungenkarzinome und in 97,8% aller untersuchten nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome fand sich eine Expression von PTTG-1. Bisher gibt es in der Literatur nur wenige Berichte, die die Anwesenheit von PTTG-1 in Lungenkarzinomen untersucht haben. Übereinstimmend mit den Ergebnissen in unserer Studie wurde eine Expression von PTTG-1 in 9 von 10 primären Adenokarzinomen der Lunge mittels immunhistochemischer Techniken nachgewiesen.[3] Eine weitere Studie von Honda et al.[44] untersuchte die mRNA PTTG-1 in nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen mit Hilfe der RT-PCR. Er wies eine PTTG-1-Expression in 12 von 14 Fällen nach. Interessanterweise zeigten Plattenepithelkarzinome tendenziell eine stärkere Expression von PTTG-1 als die Adenokarzinome.

Im Folgenden haben wir die prognostische Bedeutung der PTTG-1-Expression für die Patienten mit Lungenkarzinomen untersucht. Eine starke PTTG-1-Expression war signifikant mit einer günstigen Prognose unter den Patienten mit kleinzelligen Lungenkarzinomen assoziiert; diese Patienten hatten eine durchschnittlich längere Überlebenszeit von 3,5 Monaten. Dagegen hatten die Patienten mit nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen und einer starken PTTG-1-Expression eine ungünstigere Prognose, mit einer durchschnittlichen Reduktion des Gesamtüberlebens um 5,2 Monaten im Vergleich zu der Patientengruppe mit negativer/schwacher PTTG-1-Expression. Auf den ersten Blick erscheint dieses Ergebnis widersprüchlich, dennoch gibt es in der Literatur zahlreiche Hinweise die belegen, dass die Rolle von PTTG-1 in verschiedenen Geweben durchaus unterschiedlich sein kann.

Einerseits belegen Studien, dass eine Überexpression von PTTG-1 eine Zellhemmung bewirken kann. Der Grund hierfür liegt in der Fähigkeit von PTTG-1 eine Apoptose auszulösen. So zeigte sich bei Karzinomen der Brustdrüse und bei Nierenkarzinomen eine p53 abhängige oder unabhängige Apoptose durch PTTG-1.[38, 131] Auch bei der Lungenkarzinomzelllinie A549 führte eine Transfektion von PTTG-1 zu einer Inaktivierung des Zellwachstums über eine Aktivierung von p21.[60]

Andererseits belegen Studien, dass eine Überexpression von PTTG-1 mit einer gesteigerten Tumorwachstumsrate und -aggressivität vergesellschaftet ist. Die Arbeiten von Bernal et al.[11] zeigten, dass in der Lungenkarzinomzelllinie H1299 (Ursprung: Adenokarzinom) beispielsweise der p53 abhängige Zelltod durch PTTG-1 verhindert wurde, indem PTTG-1 die spezifische Bindung von p53 an die DNA blockierte und die Transkriptionsfunktion von p53 nicht stattfand. In einer weiteren aktuellen Studie von Solbach et al.[100] wurde mit Hilfe von antisense-ODNs PTTG-1 blockiert; in der untersuchten Zervixkarzinomzelllinie kam es zu einem Wachstumsstillstand und einer erhöhten Apoptoserate. Weiterhin war eine Überexpression von PTTG-1 mit vermehrter chromosomaler Instabilität, vermehrten Auftreten von Fernmetastasen, und vermehrter Gefäßneubildung sowie mit einem erhöhten Invasionspotential des Tumors assoziiert.[40, 95, 121]

Die Ergebnisse meiner Arbeit zeigen, dass eine hohe PTTG-1-Expression bei Patienten mit nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen mit einem signifikanten Überlebensnachteil korreliert waren. Diese Patienten wiesen eine vermehrte Lymphknotenmetastasierung, ein erhöhtes Vorhandensein von Fernmetastasen sowie prognostisch ungünstige erhöhte LDH-Werte auf. Vergleicht man die Patienten mit starker PTTG-1 mit den Patienten mit schwacher und negativer PTTG-1-Expression, so zeigte sich ein Unterschied im Überleben von 5,2 Monaten, obwohl die Patienten sich hinsichtlich der Behandlung und des Stadiums nicht unterschieden. Der Unterschied der Überlebenszeiten ist beachtlich, da die mittlere Überlebenszeit dieses Kollektivs bei 10 Monaten liegt. Auch in der Univariat- und Multivariatanalyse war die PTTG-1-Expression ein statistisch signifikanter Parameter für das Überleben der Patienten. Das lässt den Schluss zu, dass PTTG-1 nach prospektiver Bestätigung dieser Daten als ein Biomarker für Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungekarzinom eingesetzt werden könnte.

Zusammenfassend konnte anhand der vorliegenden Daten gezeigt werden, dass sowohl ein Verlust des Tumorsuppressorgens „fragile histidine triad“ (FHIT), als auch das Vorhandensein des Tumoronkogens „pituitary tumor transforming gene“ (PTTG-1) einen signifikanten Einfluss auf das Überleben der Patienten mit Lungenkarzinomen hatten. Somit sind zwei neue Prognosemarker identifiziert worden, die eine Vorhersage über den Verlauf der Tumorerkrankung erlauben. Bei der Auswahl einer geeigneten Therapie für die Patienten könnten diese Informationen in Zukunft eine wichtige Rolle spielen, da eine individuelle Risikostratifizierung durchgeführt werden könnte.

VI. Literaturverzeichnis

1. Abdel-Salam M, Mayall BH, Chew K, Silvermann S et al (1988) Predicition of malignant transformation in oral epithelial lesions by image cytometry. Cancer 62: 1981-1987

2. An Q, Liu Y, Gao Y et al (2002) Deletion of tumor suppressor genes in Chinese non-small cell lung cancer. Cancer Lett 184 (2): 189-95

3. Andachi H, Yashima K, Koda M et al (2002) Reduced Fhit expression is associated with mismatch repair deficiency in human advanced colorectal carcinoma. Br J Cancer 87: 441-5

4. Askari MR, Vo-Dinh T (2004) Implication of mitochondrial invovement in apoptotic activity of fragile histidine triad gene: application of synchronous luminescence spectroscopy. Biopolymers 73: 510-23

5. Athanassiadou P, Psyhoyou H, Kyrkou K et al (1995) Expression of keratins and carcinoembryonic antigen in bronchial squamous metaplasia and lung carcinoma. Acta Cytologica 39-6: 1161-1166

6. Bai CG, Liu XH, Xie Q et al (2005) A novel gain of function mutant in C-kit gene and its tumorigenesis in nude mice. World J Gastroenterol 11(45): 7104-8.

7. Barnes LD, Garrison PN, Siprashvili Z et al (1996) Fhit, a putative tumor suppressor in humans, is a dinucleoside 5',5'''-P1,P3-triphosphat hydrolase. Biochemistry 35: 11529-35

8. Beasley MB, Brambilla E, Travis WD (2005) The 2004 World Health Organisation classification of lung tumors. Semin Roentgenol 40(2): 90-7

9. Becker N, Wahrendorf J: Kapitel 9: Lunge: 306-336; Krebsatlas der BRD 1981-1990, 3.Auflage (1994), Springer Verlag, Berlin

10. Bell DW, Gore I, Okimoto RA et al (2005) Inherited susceptibility to lung cancer may be associated with the T790M drug resistance mutation in EGRF. Nat Genet 37(12): 1315-6

11. Bernal JA, McGarry J, Luna R et al (2002) Human securin interacts with p53 and modulates p53-mediated transcriptional activity and apoptosis. Nat Genet 32: 222-224

12. Betticher D, Tötsch M (2003) Mediastinal lymph node clearance after docetaxel-cisplatin neoadjuvant chemotherapy is prognostic of survival in patients with stage IIIA pN2 non-small cell lung cancer: a multicenter phase II trial. J Clin Oncol 21: 1752-1759

13. Böcking A, Giroud F, Reith A (1995) Consensus report of the ESCAP task force on standardization of diagnostic DNA image cytometry. Anal Cell Pathol 8: 67-74

14. Breuer K (1966) Growth rate and radiosensitivity of human tumours. Eur J Cancer 2: 157-171

15. Carbone DP (1997) The biology of lung cancer. Semin Oncol 24(4): 388-401

16. Chaudhuri AR, Khan IA, Prasad V et al (1999) The tumor suppressor protein Fhit. A novel interaction with tubulin. J Biol Chem 274: 24378-82

17. Chien W, Pei L (2000) A novel binding factor facilitates nuclear translocation and transcriptional activation function of the pituitary tumor-transforming gene product. J Biol Chem 275: 19422-19427

18. Chute JP, Venzon DJ, Hankins L et al (1997) Outcome of patients with small cell lung cancer during 20 years of clinical research at the US National Cancer Institute. Mayo Clin Proc 72:901-912

19. Cohen MH: Diagnosis, staging and therapy. Lung Biology in Health and Disease, Vol.10 (1978) edited Curtis C.Harris: 1504-1527; Marcel Dekker, New York

20. Cortese DA (1992) Prognostic value of sputum. Chest 102-5: 1315-1316

21. Czownicki Z, Pasz P, Michalek A et al (2000) [Use of etoposide, ifosfamide and cisplatin (EIP) for treatment of inoperable non-small cell lung cancer]. Pneumonol Alergol Pol 68(9-10): 411-6

22. De Marinis F, De Petris L (2004) Pemetrexed in second-line treatment of non-small cell lung cancer. Oncology 18: 38-42

23. Delbrück H: Lungenkrebs, S.23, 3.Auflage (2003) Kohlhammer Verlag

24. Depierre A, Lemarie E, Dabouis G et al (1991) A phase II study of Navelbine (vinorelbine) in the treatment of non-small-cell lung cancer. Am J Clin Oncol 14(2): 115-9

25. Depierre A, Chastang C, Quoix E et al (1994) Vinorelbine versus vinorelbine plus cisplatin in advanced non-small cell lung cancer: a randomized trial. Ann Oncol 5(1): 37-42

26. Doll R, Hill AB (1952) A study of the etiology of carcinoma of the lung. British Medical Journal 2: 1271-1286

27. Dominguez A, Ramos-Morales F, Romero F et al (1998) hPTTG, a human homologue of rat PTTG, is overexpressed in hematopoetic neoplasms. Evidence for a transcriptional activation funtion of hPTTG. Oncogene 17: 2187-2193

28. Drings P (1986) Bronchialkarzinom. Neue Erkenntnisse zur Epidemiologie und Klinik. Therapiewoche 36: 1628-1632

29. Duale Reihe: Innere Medizin, Sonderausgabe (2001), Tumoren der Bronchien und der Lunge, S.502-510, Georg Thieme Verlag, Stuttgart

30. Dy GK, Miller AA, Mandrekar SJ et al (2005) A phase II trial of imatinib (ST1571) in patients with c-kit expressing relapsed small-cell lung cancer: a CALGB and NCCTG study. Ann Oncol 16(11): 1811-6

31. Eddy DM (1989) Screening for lung cancer. Ann Intern Med 111-3: 232-237

32. Franklin WA: The biology of bronchial premalignancy. Semin Resp Crit Care Med 17-4: 309-321

33. Giaccone G, Rodriguez JA (2005) EGFR inhibitors: what have we learned from the treatment of lung cancer? Nat Clin Pract Oncol 2(11): 554-61

34. Greco FA, Richardson RL, Snell et al (1979) Small cell lung cancer. Complete remission and improved survival. Am J Med 66(4): 625-30

35. Gridelli C, Perrone F, Gallo C et al (1997) Vinorelbine is well tolerated and active in the treatment of elderly patients with advanced non-small cell lung cancer. A two-stage phase II study. Eur J Cancer 33(3): 392-7

36. Gückel C (1995) Stagingstrategie beim nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom unter besonderer Berücksichtigung bildgebender Verfahren. Akt.Radiol 5: 79-86

37. Häußlinger K, Hubert RM: Bronchialkarzinom (1996) Pneumologie 50: 599-603

38. Hamid T, Kakar SS (2004) PTTG/securin activates expression of p53 and modulates its function. Mol Cancer 3:18

39. Hammond EC (1966) Smoking in relation to the death rates of one million men and women. Natl Cancer Inst Monogr 19: 127-204

40. Heaney AP, Singson R, McCabe CJ et al (2000) Expression of pituitary tumor transforming gene in colorectal tumors. Lancet 355: 716-719

41. Herbst RS, Prager D, Hermann R et al (2005) TRIBUTE: a phase III trial of erlotinib hydrochloride (OSI-774) combined with carboplatin and paclitaxel chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 23(25): 2892-9

42. Herold G: Innere Medizin, Bronchialkarzinom S. 329-339 (2002)

43. Ho WL, Chang JW, Tseng RC et al (2002) Loss of heterozygosity at loci of candidate tumor suppressor genes in microdissected primary non-small cell lung cancer. Cancer Detect Prev 26(5): 343-9

44. Honda S, Hayashi M, Kobayashi Y et al (2003) A role for the pituitary tumor transforming gene in the genesis and progression of non-small cell lung carcinomas. Anticancer Res 23: 3775-82

45. Hosoe S, Ueno K, Shigedo Y et al (1994) A frequent deletion of chromosime 5q21 in advanced small cell and non-small cell carcinoma of the lung. Cancer Research 54: 1787-1790

46. Hosoe S (1996) Search for the tumor-suppressor gene(s) on chromosome 5q. which may play an important role for the progression of lung cancer. Nippon Rinsho 54: 482-486

47. Iwasaki Y, Nagata K, Nakanishi M et al (2005) Double-cycle, high-dose ifosfamide, carboplatin, and etoposide followed by peripheral blood stem-cell transplantation for small cell lung cancer. Chest 128 (4): 2268-73

48. Jahn I, Jöckel KH, Ahrens W et al (1990) Ergebnisse der Epidemiologie des Lungenkrebses bei Frauen. Pneumologie 44: 114-123

49. Janerich DT, Thompson DW, Varela LR et al (1990) Lung cancer and exposure to tobacco smoke in the household. N Engl J Med 323-10: 632-636

50. Ji L, Fang B, Yen N et al (1999) Induction of apoptosis and inhibition of tumorigenicity and tumor growth by adenovirus vector-mediated fragile histidine triad (FHIT) gene overexpression. Cancer Res 59: 3333-9

51. Joseph WL, Morton DL, Atkins PC (1971) Prognostic significance of tumour doubling time in evaluating operability in pulmonary metastatic disease. J Thorac Cardiovasc Surg 61-1: 23-32

52. Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE et al (2005) Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. Cell 121(6): 823-35

53. Kirschner J, Korbmacher T, Müller R et al (1999) Tumormarker im Serum und in der bronchialalveolären Lavageflüssigkeit beim Bronchialkarzinom. Atemwegs- und Lungenkrankheiten 25-1: 24-32

54. Krug LM, Miller VA, Patel J et al (2005) Randomized phase II study of weekly docetaxel plus trastuzumab versus weekly paclitaxel plus trastuzumab in patients with previously untreated advanced nonsmall cell lung carcinoma. Cancer 104(19):2149-55

55. Lampert T, Burger M (2004) Rauchgewohnheiten in Deutschland – Ergebnisse des telefonischen Bundes-Gesundheitssurveys 2003. Das Gesundheitswesen 66: 511-517

56. Massarelli E, Herbst RS (2006) Use of novel second-line targeted therapies in non-small cell lung cancer. Semin Oncol 33(1): 9-16

57. McCabe CJ, Gittoes NJ (1999) PTTG- a new pituitary tumor transforming gene. J Endocrinol 162: 163-6

58. Mori K, Yanase Y, Kaneko M et al (1989) Diagnosis of peripheral lung cancer in cases of tumors 2 cm or less in size. Chest 95: 304-308

59. Mountain CF (1997) Revisions in the international system for staging lung cancer. Chest 111:1710-7

60. Mu YM, Oba K, Yanase T et al (2003) Human pituitary tumor transforming gene (hPTTG) inhibits human lung cancer A549 cell growth through activation of p21 (WAF1/CIP1). Endocr J 50: 771-81

61. Müller KM (1988) Die Bronchialschleimhaut im Vorfeld des Lungenkrebses,. Atemwegs- und Lungenerkrankungen 14-8: 370-374

62. Nakamura H, Takamori S, Fujii T et al (2005) Cooperative cell-growth inhibition by combination treatment with ZD1839 (Iressa) and trastuzumab (Herceptin) in non-small-cell lung cancer. Cancer Lett 230(1): 33-46

63. Naruke T, Goya T, Tsuchiyar R et al (1998) Prognoses and survival in resected lung carcinoma based on the new international staging system. J Clin Oncol 10:1927-1932

64. Natale RB (2004) Inhibition of epidermal growth factor receptor and symptom improvement in advanced non-small cell lung cancer. Semin Respir Crit Care Med 25 Suppl 1: 29-32

65. Netter FH: Das Bronchialkarzinom, Farbatlanten der Medizin (1982) Band 4: Atmungsorgane: 158-171; Thieme-Verlag, Stuttgart

66. Niemiec J, Kolodziejski L, Dyczek S et al (2004) Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in surgically treated sqamous cell lung cancer patients. Folia Histochem Cytobiol 42(2): 111-8

67. Nishizaki M, Sasaki J, Fang B et al (2004) Synergistic tumor suppression by coexpression of FHIT and p53 coincides with FHIT-mediated MDM2 inactivation and p53 stabilisation in human non-small cell lung cancer cells. Cancer Res 64(16):5745-52

68. Ohta M, Inoue H, Cotticelli MG et al (1996) The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t(3;8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers. Cell 84: 587-97

69. Osann KE (1998) Epidemiology of lung cancer. Curr Opin Pulm Med 4(4): 198-204

70. Otterson GA, Xiao GH, Geradts J et al (1998) Protein expression and functional analysis of FHIT gene in human tumor cells. J Natl Cancer Inst 90: 426-32

71. Pace HC, Garrison PN, Robinson AK et al (1998) Genetic, biochemical, and crystallographic characterization of FHIT-substrate complexes as the active signaling form of Fhit. Proc Natl Acad Sci USA 95: 5484-9

72. Parra H (2002) Superiority of three-week versus four-week schedule of cisplatin and gemcitabine: Results of a randomized phase II study. World Conference on Lung cancer. Abstract Book #155

73. Pawel J v, Gatzemeier U, Pujol J-L et al (2001) Phase II Comparator Study of oral versus intravenous Topotecan in Patients with chemosensitive small-cell lung cancer. J Clin Oncol 19(6): 1743-1749

74. Pei L and Melmed S (1997) Isolation and characterization of a pituitary tumor - transforming gene (PTTG). Mol Endocrinol 11: 433-441

75. Pei L (1998) Genomic organization and identification of an enhancer element containing binding sites for multiple proteins in rat pituitary tumor-transforming gene. J Biol Chem 273: 5219-5225

76. Pei L (2001) Identification of c-Myc as a down-stream target for pituitary tumor - transforming gene. J Biol Chem 276: 8484-8491

77. Pekarsky Y, Garrison PN, Palamurchak A et al (2004) Fhit is a physiological target of the protein kinase Scr. Proc Natl Acad Sci USA 101: 3775-9

78. Perez CA, Brady LW (1987) Principles and Practice of Radiation Oncology, Vol 34, pp 650-683. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, London, Mexico City

79. Pisters K, Ginsberg R, Giroux D et al (2001) Phase II bimodalty lung oncology team (BLOT) trial of induction paclitaxel/carboplatin (PC) in early stage non-small cell lung cancer (NSCLC): Effekt of number of unduction cycles, sites of relapse and survival. Proc ASCO 20: abstr 1288

80. Pylkänen L, Wolff H, Stjernvall T et al (2002) Reduced Fhit protein expression and loss of heterozygosity at FHIT gene in tumors from smoking and asbestos-exposed lung cancer patients. Int J Oncol 20: 285-90

81. Ramp U, Caliskan E, Ebert T et al (2002) FHIT expression in clear cell renal carcinomas :versatility of protein levels and correlation with survival. J Pathol 196: 430-6

82. Reck M, von Pawel J, Macha H et al (2003) Randomized phase III trial of paclitaxel, etoposide, and carboplatin versus carboplatin, etoposide, and vincristine in patients with small-cell lung cancer. J Natl Cancer Inst 95: 1118–27

83. Riede U-N, Schäfer H-E: Allgemeine und spezielle Pathologie: 648-652, 4.Auflage (1995), Thieme Verlag, Stuttgart

84. Robert Koch-Institut: www.rki.de/

85. Rohr U-P, Rehfeld N, Pflugfelder L et al (2004) Expression of the tyrosine kinase c-kit is an independent prognostic factor in patients with small cell lung cancer. Int J Cancer 111: 259-263

86. Roz L, Gramegna M, Ishii H et al (2002) Restoration of fragile histidine triad (FHIT) expression induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in lung and cervical cancer cell lines. Proc Natl Acad Sci USA 99: 3615-20

87. Saez C, Japon MA, Ramos-Morales F et al (1999) hpttg is over-expressed in pituitary adenomas and other primary epithelial neoplasias. Oncogene 18: 5473-5476

88. Sandler AB, Gray R, Brahmer J et al (2005) Randomized phase II/III trial of paclitaxel (P) plus carboplatin (C) with or without bevacizumab (NSC #704865) in patients with advanced non-squamous non-small cell lung cancer (NSCLC): An Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) Trial – E4599. Proc. ASCO, abstr. LBA 4

89. Sanz-Ortega J, Saez MC, Sierra E et al (2001) 3p21, 5q21, and 9p21 allelic deletions are frequently found in normal bronchial cells adjacent to non-small-cell lung cancer, while they are unusual in patients with no evidence of malignancy. J Pathol 195(4):429-34

90. Sard L, Accornero P, Tornielli S et al (1999) The tumor-suppressor gene FHIT is involved in the regulation of apoptosis and in cell cycle control. Proc Natl Acad Sci USA 96: 8489-92

91. Schiller JH, Harrington D, Belani CP et al (2002) Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. N Engl J Med 10;346(2): 92-8

92. Schneider J, Popp W, Woitowirtz HJ (1997) Berufskrankheit Lungenkrebs. Atemwegs- und Lungenkrankheiten 23(12): 708-716

93. Schwartz AG, Ruckdeschel JC (2006) Familiar lung cancer: genetic susceptibility and relationship to chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Med 173(1): 16-22

94. Shepherd FA Dancey J, Ramlau R et al (2001) Prospective randomized trial of docetaxel versus best supportive care in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with platinum-based chemotherapy. J Clin Oncol 19(7): 2108-09

95. Shibata Y, Haruki N, Kuwabara Y et al (2002) Expression of PTTG (Pituitary Tumor Transforming Gene) in esophageal cancer. Jpn J Clin Oncol 32: 233-7

96. Sigounas G, Sallah S, Sigounas VY (2004) Erythropoietin modulates the anticancer activity of chemotherapeutic drugs in a murine lung cancer model. Cancer Lett 214(2): 171-9

97. Siprashvili Z, Sozzi G, Barnes LD et al (1997) Replacement of Fhit in cancer cells suppresses tumorigenicity. Proc Natl Acad Sci USA 94: 13771-6

98. Slevin ML, Clark PI, Joel SP et al (1989) A randomized trial to evaluate the effect of schedule on the activity of etoposide. J Clin Oncol 7:1333-1340

99. Sobin LH, Wittekind CH: TNM classification of malignant tumors, 6th ed. (2002), New York, Wiley-Liss., Inc.,(published by UICC)

100. Solbach C, Roller M, Peters S et al (2005) Pituitary Tumor-transforming Gene (PTTG): A Novel Target for Anti-tumor Therapy. Anticancer Res 25:121-126

101.97. Sozzi G, Tornielli S, Tagliabue E et al (1997) Absence of Fhit protein in primary lung tumors and cell lines with FHIT gene abnormalities. Cancer Res 57:5207-12

102. Sozzi G, Pastorino U, Moiraghi L et al (1998) Loss of FHIT function in lung cancer and preinvasive bronchial lesions. Cancer Res 58: 5032-7

103. Sridhar KS, Raub WJ, Duncan RC et al (1991) Lung carcinoma in 1,336 patients. Am J Clin Oncol 14(6): 496-508

104. Statistisches Bundesamt Stand 2003, www-Seiten des Statistischen Bundesamt Deutschland („www-genesis.destatis.de/genesis/online“)

105. Strauss GM, Herndon J, Maddaus MA et al for CALGB Radiation Therapy Oncology Group, and North Central Cancer Treatment Group (2004) Randomized clinical trial of adjuvant chemotherapy with paclitaxel and carboplatin following resection in Stage IB non-small cell lung cancer (NSCLC): Report of Cancer and Leukemia Group B (CALGB) Prot 9633. Proc ASCO, abstr 7019

106. Strauss MJ, Moran RE (1982) Cell cycle kinetics of human lung cancer. Seminars in Respiratory Medicine 3-3: 194-199

107. Strauss MJ, Moran RE, Shackey SE (1983) Growth characteristics of lung cancer. Lung cancer-clinical diagnosis and treatment :21-33.

108. Swank PR, Greenberg SD, Hunter NR et al (1989) Identification of features of metaplastic cells in sputum for the detection of squamous cell carcinoma of the lung. Diag Cytopathol 5: 98-103

109. Szabo E, Mulshine J (1993) Epidemiology, prognostic factors and prevention of lung cancer. Curr Opin Oncol 5: 302-309

110. Ten Have-Opbroek AA, Benfield JR, van Krieken JH et al (1997) The alveolar type II cell is a pluripotent stem cell in the genesis of human adenocarcinomas and squamous cell carcinomas. Histol Histopathol 12(2): 319-36

111. Thiberville L, Payne P, Vielkinds J (1995) Evidence of cumulative gene losses with progression of premalignant epithelial lesions to carcinoma of the bronchus. Cancer Res 55(22): 5133-9

112. Toledo G, Sola JJ, Lozano MD et al (2004) Loss of FHIT protein expression is related to high proliferation, low apoptosis and worse prognosis in non-small-cell lung cancer. Mod Pathol 17: 440-8

113. Tomizawa Y, Nakajima T, Kohno T et al (1998) Clinicopathological significance of Fhit protein expression in stage I non-small cell lung carcinoma. Cancer Res 58: 5478-83

114. Trillet-Lenoir V, Soler P, Arpin D et al (1996) The limits of chemotherapy dose intensification using granulocyte colony stimulating factor alone in extensive small cell lung cancer. Lung Cancer 14(2-3): 331-41

115. Tseng JE, Kemp BL, Khuri FR et al (1999) Loss of FHIT is frequent in stage I non-small cell lung cancer and in the lungs of chronic smokers. Cancer Res 59: 4798-803

116. Veronesi A, Cartei G, Crivellari D et al (1994) Cisplatin and etoposide versus cyclophosphamide, epirubicin and vincristine in small cell lung cancer: a randomised study. Eur J Cancer 30A(10): 1474-8

117. Veronesi A, Crivellari D, Magri MD et al (1996) Vinorelbine treatment of advanced non-small cell lung cancer with special emphasis on elderly patients. Eur J Cancer 32A(10): 1809-11

118. Vollset SE, Tverdal A, Gjessing HK (2006) Smoking and deaths between 40 and 70 years of age in women and men. Ann Intern Med 144(6): 381-9

119. Vokes E, Herndon II J, Crawford J et al (2002) Randomized phase II study of cisplatin with gemcitabine or paclitaxel or vinorelbine as induction chemotherapy followed by concomitant chemoradiotherapy for stage IIIB non-small cell lung cancer: Cancer and Leukemia Group B study 9431. J Clin Oncol 20: 4191-4198

120. Weiss W (1997) Cigarette smoking and lung cancer, trends – A light at the End of the Tunnel. Chest 111: 1414-1416

121. Wen CY, Nakayama T, Wang AP et al (2004) Expression of pituitary tumor transforming gene in human gastric carcinoma. World J Gastroenterol 10: 481-3

122. Wilde J (1989) A ten year follow-up of semi-annual screening for early detection of lung cancer in the Erfurt County. Eur Respir J 2: 656-662

123. Wilke H, Achrerrath W, Schmoll HJ et al (1988) Etoposide and split-dose cisplatin in small-cell lung cancer. Am J Clin Oncol 11(5): 572-8

124. Wingo PA, Ries LAG, Rosenberg HM et al (1998) Cancer incidence and mortality 1973-1995. Cancer 82-6: 1197-1207

125. Wistuba II, Behrens C, Virmani AK et al (2000) High resolution chromosome 3p allelotyping of human lung cancer and preneoplastic/preinvasive bronchial epithelium reveals multiple, discontinuous sites of 3p allele loss and three regions of frequent breakpoints. Cancer Res 60: 1949-60

126. Wistuba II, Gazdar AF, Minna JD (2001) Molecular genetics of small cell lung carcinoma. Semin Oncol 28: 3-13

127. Wolf M, Havemann K: Kleinzellige Bronchialkarzinome. (Hrsg) Therapiekonzepte Onkologie. 2., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage (1995), pp 420-445, Springer, Berlin Heidelberg New York

128. Wu X, Hsu TC, Annegers JF et al (1995) A case-control study of nonrandom distribution of bleomycin-induced chromatid breaks in lymphocytes of lung cancer cases. Cancer Research 55: 557-561

129. Wynder EL, Graham EA (1950) Tobacco smoking as a possible etiologic factor in Bronchogenetic Carcinoma; a study of 684 proved cases. J Am Assoc 143(4): 329-338

130. Wynder EL (1982) The Etiology, epidemiology and prevention of lung cancer. Seminars in Respiratory Medicine 3-3: 135-139

131. Yu R, Heaney AP, Lu W et al (2000) Pituitary tumor transforming gene causes aneuploidy and p53-dependent and p53-independent apoptosis. J Biol Chem 275: 36502-36505

132. Zanesi N, Fidanza V, Fong LY et al (2001) The tumor spectrum in FHIT-deficient mice. Proc Natl Acad Sci U S A 98: 10250-5

133. Zhang X, Horwitz G, Heaney AP et al (1999) Human pituitary tumor transforming gene (PTTG): structure, function and expression in pituitary tumors. Mol Endocrinol 13: 156-166

Eigene Publikationen aus der Arbeit:

Rohr UP, Rehfeld N, Geddert H, Pflugfelder L, Bruns I, Neukirch J, Astrid Rohrbeck, Grote HJ,Steidl U, Fenk R, Opalka B, Gabbert HE, Kronenwett R, and Haas R (2005) Prognostic relevance of Fragile Histidine Triad Protein Expression in Patients with Small Cell Lung Cancer. Clin Cancer Research 11:180-185

Rehfeld N, Geddert H, Atamna A, Rohrbeck A, Garcia G, Kliszewski S, Neukirchen J, Bruns I, Steidl U, Fenk R, Gabbert HE, Kronenwett R, Haas R, Rohr UP (2006) The influence of the pituitary tumor transforming gene-1 (PTTG-1) on survival of patients with small cell lung cancer and non-small cell lung cancer. J Carcinog 5(1): 4

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei den zahlreichen Personen bedanken, die am Zustandekommen dieser Arbeit beteiligt waren. Zunächst danke ich meinem Betreuer Dr. med. Ulrich Rohr für die persönliche und intensive Betreuung, für die guten Ratschläge und das stets offene Ohr für alle Probleme bei der Erstellung dieser Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. med. Helene Geddert für die fachliche Unterstützung und die oftmals langwierige Auswertung der immunhistochemischen Präparate, bei der sie mehr als einmal ihre Freizeit opferte.

Insbesondere danke ich PD Dr. med. Ralf Kronenwett, meinem Doktorvater und Referenten, für die aufmerksame Durchsicht und Korrektur der Arbeit.

Prof. Dr. med. Rainer Haas danke ich für die Möglichkeit, in seiner Klinik eine Promotion anzustreben.

Mein großer Dank gilt auch Sabine Schneeloch und Claire Feldhoff für ihre fachliche und persönliche Unterstützung während der Laborarbeiten. Ebenso danke ich allen Mitarbeitern des Instituts für Pathologie, die mich sehr freundlich aufnahmen.

Curriculum vitae

Nina Katrin Atamna

04.09.1979	: Geburt in Potsdam-Babelsberg
1986-1999	: Schulausbildung
1999	: Allgemeine Hochschulreife
1999 – 2000	: Eintritt in die Bundeswehr als SanOA Grundausbildung und Offizierlehrgang
2000 - 2006	: Studium der Medizin (Examen) an der Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf
2001 – 2005	: Studentische Hilfskraft an der Heinrich-Heine-Universität (Zentrum für Anatomie und Hirnforschung)
2002 - 2006	: Arbeit an der Dissertation „Der Einfluss des Tumor- suppressorgens FHIT und des Tumoronkogens PTTG-1 auf das Überleben von Patienten mit kleinzelligem oder nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom“ (Betreuer: Dr. U.-P. Rohr)
2005 – 2006	: Praktisches Jahr an dem Evangelischen Krankenhaus, Düsseldorf (Wahlfach: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde; Direktor: Prof. Dr. A. Kurzeja)
Mai 2006	: Medizinisches Staatsexamen und Appropation

Der Einfluss des Tumorsuppressorgens FHIT und des Tumoronkogens PTTG-1 auf das Überleben von Patienten mit kleinzelligem oder mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom

Zusammenfassung der Dissertation von Nina Katrin Atamna

In dieser Arbeit wurde die Expression des „fragile histidine triad“ (FHIT) Gens -ein Tumorsupressorgen- und des „pituitary tumor transforming genes“ (PTTG-1) -ein Protoonkogen– in Lungenkarzinomen untersucht. Weiter wurde durch Korrelation der Expressionsstärke mit dem Überleben der Patienten analysiert, ob diese Parameter unabhängige prognostische Faktoren darstellen.

Die Tumorproben von 225 Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom wurden retrospektiv auf die Expression von FHIT immunhistochemisch untersucht. Ebenso wurden 136 Tumorproben von Patienten mit kleinzelligen Lungenkarzinomen und 91 Tumorproben von Patienten mit nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen auf die Expression von PTTG-1 retrospektiv immunhistochemisch ausgewertet. Zur statistischen Auswertung in der Univariat- und Multivariatanalyse wurde jeweils die Stärke als auch der Anteil positiver Zellen in einer Tumorprobe herangezogen.

Eine Expression von FHIT wurde in 61,8% der kleinzelligen Lungenkarzinome gefunden. Ein Fehlen des FHIT-Proteins war mit einer signifikant verkürzten Überlebenszeit der Patienten assoziiert, deren medianes Überleben bei 5,2 Monaten lag, im Vegleich zu 7 Monaten bei Patienten mit FHIT-positiven Tumoren. Patienten mit einem Anteil FHT-positiver Zellen ≤25% hatten mit 5,2 Monaten das schlechteste Überleben verglichen mit Patienten, die einen Anteil FHIT-positiver Zellen >25% aufwiesen, deren Überleben 7,2 Monate betrug. Es fand sich kein signifikanter Unterschied in den Überlebenszeiten zwischen den Gruppen mit schwacher bzw. starker FHIT-Expression. In der Multivariatanalyse nach dem Cox-Regressionsmodell zeigte sich, dass neben dem Anteil der FHIT-Expression, der Allgemeinzustand der Patienten, das Tumorstadium und der LDH-Wert prognostischen Einfluss auf das Überleben der Patienten hatten.

Eine Expression von PTTG-1 wurde in 64% der kleinzelligen Lungenkarzinome und in 97,8% der nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome gefunden. Bei den Patienten mit kleinzelligen Lungenkarzinomen war eine negative oder schwache PTTG-1-Expression mit einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert, verglichen mit den Patienten mit starker PTTG-1-Expression (8,8 Monate vs. 12,6 Monate). In dem Cox-Regressionsmodell der Multivariatanalyse wurde die Expression von PTTG-1 neben dem Allgemeinzustand der Patienten, dem Tumorstadium, dem LDH- und Hb-Wert als signifikanter prognostischer Marker für das Überleben der Patienten identifiziert. Im Gegensatz dazu wurde bei den Patienten mit nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen eine inverse Korrelation gefunden. Eine starke PTTG-1-Expression war mit einer kürzeren Überlebenszeit von 10,2 Monaten assoziiert, verglichen mit 15,4 Monaten für Patienten mit keiner oder schwacher PTTG-1-Expression. Weiter korrelierte die PTTG-1-Expression mit einem aggressiveren Phänotyp für die nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome: es fand sich ein fortgeschrittenes pathologisches Stadium, vermehrt Lymphknotenmetastasen und Fernmetastasen, ebenso ein erhöhter LDH-Wert. Die Multivariatanalyse nach dem Cox-Regressionsmodell identifizierte die PTTG-1- Expression als unabhängigen prognostischen Marker neben dem Allgemeinzustand der Patienten und dem Tumorstadium.

Sowohl das Tumorsuppressorgen FHIT, als auch das Tumoronkogen PTTG-1 spielen eine Rolle in der Pathophysiologie des Lungenkarzinoms. Das Vorhandensein von FHIT war mit einer besseren Prognose der Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom assoziert. Die Funktion von PTTG-1 war dagegen vom histologischen Subtyp des Lungenkarzinoms abhängig: so war die Expression von PTTG-1 mit einer besseren Prognose bei Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom assoziert, hingegen mit einer schlechteren Prognose bei Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom. Die Bedeutung der Arbeit liegt in dem Einsatz der beiden Proteine als Biomarker zur Einschätzung der individuellen Prognose der Patienten, um die Therapie entsprechend des Patientenprofils zu stratifizieren.