www.hno-marburg.de

EGFR-Stimulation von HNSCC Zelllinien führt zu einer Hochregulation von Bcl-x_L und zeigt Abhängigkeiten vom jeweiligen Zelltyp

Robert Mandic, Vanessa E. Wennekes, Jessica Rüddel, Jochen A. Werner

Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Philipps Universität Marburg,
Deutschhausstrasse 3, 35037 Marburg

Einleitung.

Charakteristisch für Plattenepithelkarzinome des Kopf- und Halsbereiches („head and neck squamous cell carcinomas“, HNSCC) ist ihre frühe vorwiegend lymphogene Metastasierung sowie stark reduzierte Prognose bei Vorliegen von Lymphknotenmetastasen. Nach operativer Versorgung des Primärtumors sowie gegebenenfalls Durchführung einer „Neck Dissection“, um vorliegende Lymphknotenmetastasen mit zu entfernen, schließt sich regelmäßig eine Radio(chemo)therapie an mit dem Ziel, verbliebene Tumorzellen durch Einleitung von Apoptose zu zerstören. Nicht selten zeigt sich hierbei jedoch eine Apoptose-Resistenz des Tumors bedingt durch Überexpression anti-apoptotischer Proteine, wie zum Beispiel Bcl-2 und Bcl-x_L (Gallo *et al.*, 1999). Es wurde gezeigt, dass Tumoren, welche den „Epidermal Growth Factor Receptor“ (EGFR, ErbB, HER) überexprimieren eine deutlich schlechtere Prognose aufweisen als solche, welche diesen Rezeptor nicht überexprimieren (Chung *et al.*, 2004). Es war daher von Interesse zu untersuchen, ob es bei Plattenepithelkarzinomen des Kopf- und Halsbereiches zu einer EGFR-abhängigen Beeinflussung anti-apoptotischer Proteine kommt.

Material und Methoden.

Acht zuvor etablierte HNSCC Zelllinien wurden für die Untersuchungen herangezogen (Lansford *et al.*, 1999; Mandic *et al.*, 2004). Die UM und UT Zelllinien wurden freundlicherweise von Tom E. Carey (University of Michigan, USA) und Reidar Grønman (University of Turku, Finland) zur Verfügung gestellt. Stimulation mit steigenden EGF (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) Konzentrationen (0; 0,1; 1; 10; 100ng/ml) erfolgte für jeweils 13h. Western Blot Analysen der Zelllysate (35µg) wurden unter Standardbedingungen angefertigt (Laemmli, 1970; Towbin *et al.*, 1979). Aktin diente als Kontrolle. Bcl-2 und Bcl-x_L Antikörper waren von Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Alle übrigen Antikörper waren von Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, USA).

Literatur

- Chung *et al.*, Cancer Cell 2004;5:489-500.
Gallo O *et al.*, Int J Cancer. 1999;84:573-579.
Laemmli UK. Nature. 1970 15;227:680-685.
Lansford C *et al.*, 1999. Human Cell Culture Vol 2. 185p.
Mandic R *et al.*, Anticancer Res. 2004;24:973-979.
Towbin H *et al.*, PNAS. 1979;76:4350-4354.

A

B

Abbildung 1

Western Blot Analyse der Expression von Bcl-2 und Bcl-x_L in HNSCC Zelllinien nach Stimulation mit 0 oder 100ng/ml EGF (A). Western Blot Analyse der Expression von Bcl-x_L in HNSCC Zelllinien nach Stimulation mit 0; 0,1; 1; 10 oder 100ng/ml EGF (B).

Resultate.

Stimulation des EGF-Rezeptors mit seinem natürlichen Liganden EGF (100ng/ml) zeigte eine deutliche Zunahme der Bcl-x_L Expression in allen untersuchten Zelllinien (Abb. 1A, untere Reihe). Die Expression von Bcl-2 blieb nach Stimulation des EGF-Rezeptors unverändert (Abb. 1A, obere Reihe). Dieser Effekt zeigte unterschiedliche Ausprägungen zwischen den untersuchten Zelllinien. UM-SCC-27 zeigte schon bei niedrigen EGF Konzentrationen (0,1ng/ml) einen deutlichen Anstieg der Bcl-x_L Expression, während bei UM-SCC-14A (1-10ng/ml) und UM-SCC-1 (10-100ng/ml) deutlich höhere Konzentrationen an EGF erforderlich waren.

Schlussfolgerung.

Stimulation des EGF-Rezeptors führt zu einer, zwischen den untersuchten Zelllinien teilweise variablen, Hochregulation von Bcl-x_L, einem anti-apoptotischen Protein. Da verschiedene Zelllinien unterschiedlich auf EGF-Stimulation reagieren ist zu vermuten, dass es zwischen verschiedenen Tumoren *in vivo* ebenfalls deutliche Unterschiede im Grad der EGFR-abhängigen Bcl-x_L Expression gibt. Dies kann zumindest teilweise die häufig beobachtete, bei verschiedenen Patienten oft unterschiedlich starke, Apoptose-Resistenz und damit schlechte Prognose von EGFR-positiven Kopf-Hals Tumoren erklären. Weiterführende Untersuchungen werden auf die zugrunde liegenden Mechanismen der EGFR abhängigen Bcl-x_L Hochregulation, die Auswirkungen auf das Tumorstadium sowie Entdeckung anderer beteiligter Proteine zielen.

Danksagung.

Die Autoren bedanken sich für die exzellente technische Unterstützung von Frau Peldszus und Frau Sadowski. Teile der Untersuchungen wurden finanziert durch die Alfred und Ursula Kulemann Stiftung der Philipps Universität Marburg.