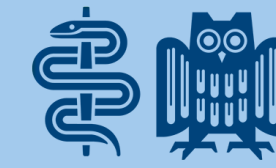


Vergleichende Untersuchungen der miRNAs let-7d, miR-98 und miR-218 in Kopf-Hals-Tumoren

Kulas P, Lerner C, Wemmert S, Schick B

Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde, Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar



UKS
Saarland University
Medical Center

Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde

Einleitung

MicroRNAs (miRNAs) sind nicht-kodierende RNAs mit einer Länge von etwa 22 Nukleotiden, welche die Genexpression auf posttranskriptioneller Ebene durch ihre Interaktion mit der mRNA beeinflussen und zur Initiation und Progression von Tumoren beitragen können. Die Bedeutung der miRNAs als diagnostische und prognostische Tumormarker wird bereits in verschiedenen Tumorentitäten diskutiert [1].

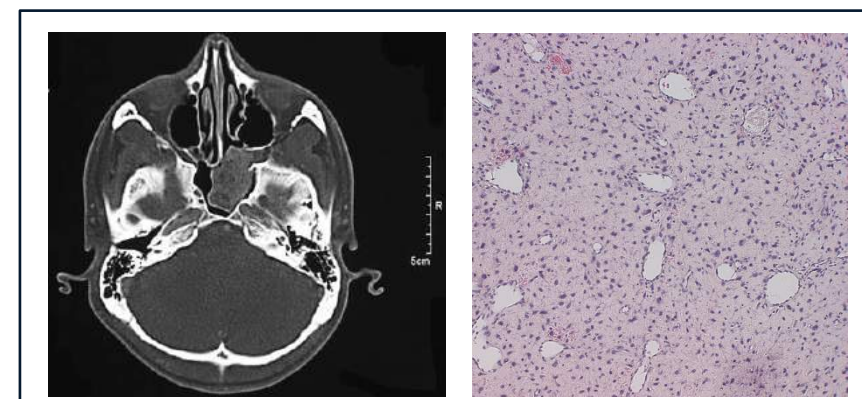


Abbildung 1: Röntgenbild und HE-Färbung eines Angiofibroms.

Plattenepithelkarzinome der Kopf-Hals-Region (HNSCCs) gehören zu den häufigsten malignen Tumoren weltweit, wobei sich das 5-Jahres-Überleben von etwa 50% in den letzten Jahren nicht signifikant verbessert hat [1]. Gerade im Hinblick auf eine individualisierte Therapie sind jedoch die klinischen Prognosekriterien bisher nicht ausreichend.

Das Hämangioperizytom ist ein seltener mesenchymaler, potentiell maligner Gefäßtumor, der eine hämatogene oder lymphogene Metastasierung aufweisen kann. Der Ursprung dieses Tumors liegt in den Perizyten der Gefäßwand und aufgrund seines vaskulären Charakters wird er gerne mit dem Hämangiom (HA) verwechselt, welches die häufigste benigne Tumorentität im Kindesalter darstellt.

Das juvenile Angiofibrom (AF) ist ebenfalls ein seltener fibro-vaskulärer Tumor, welcher nahezu ausschließlich bei männlichen Jugendlichen auftritt. Obwohl er histologisch als benigne klassifiziert wird, ist er durch sein destruierendes Wachstum und eine Vielzahl an irregulären Gefäßstrukturen gekennzeichnet (Abb. 1) [2].

Während in Plattenepithelkarzinomen bereits eine Vielzahl an Veränderungen auf miRNA-Ebene beschrieben wurde [1], ist die Datenlage diesbezüglich anderer Kopf-Hals-Tumorentitäten unzureichend und sollte im Rahmen der vorliegenden Arbeit näher untersucht werden.

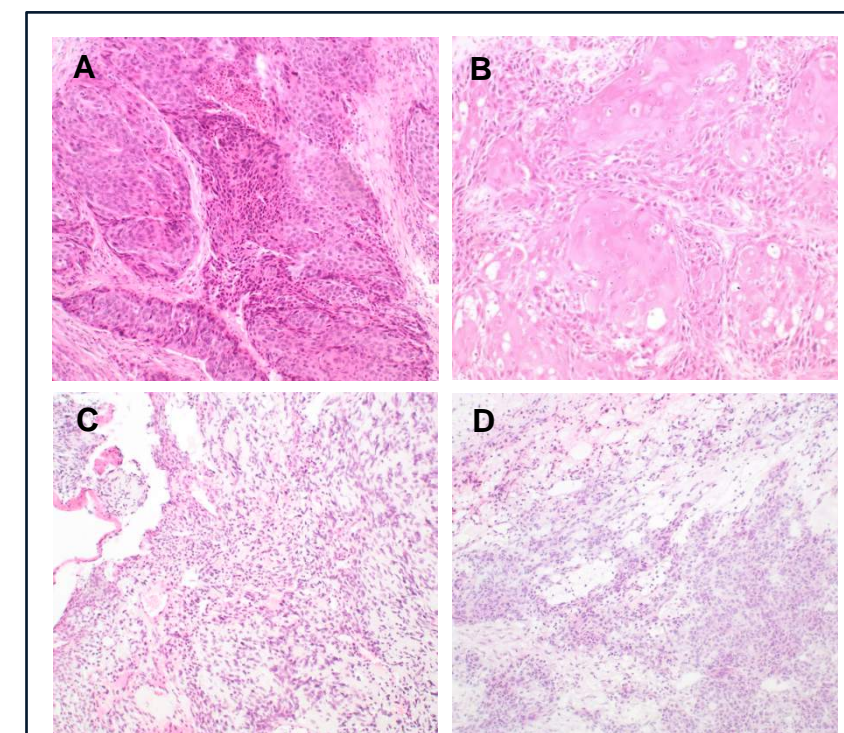


Abbildung 2: HE-Färbungen von zwei HNSCCs (A, B), einem Hämangioperizytom (C) und einem Hämangiom (D).

Material & Methoden

Mittels quantitativer Real-Time PCR wurde die Expression der miRNAs let-7d, miR-98 und miR-218 von 29 HNSCCs, 13 AF, 4 Hämangiomen und einem Hämangioperizytom untersucht. Die miRNA wurde mit dem miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden) isoliert und deren Expressionsanalyse mittels TaqMan® MicroRNA Reverse Transcription Kit, TaqMan® miRNA Assays (RNU48 als endogene Kontrolle, miRNAs hsa-let-7d, hsa-miR-98 und hsa-miR-218) sowie dem TaqMan® Gene Master Mix (Applied Biosystems® Life Technologies, Darmstadt) in Triplikaten gemäß den Herstellerangaben durchgeführt. Parallel zu jedem Assay wurde eine Negativkontrolle mitgeführt. Die erhobenen Daten wurden mittels der effizienz-korrigierten relativen Quantifizierung (REST© 2009 V2.0.13, Qiagen; SPSS Statistics Version 20, IBM, Armonk, USA) ausgewertet.

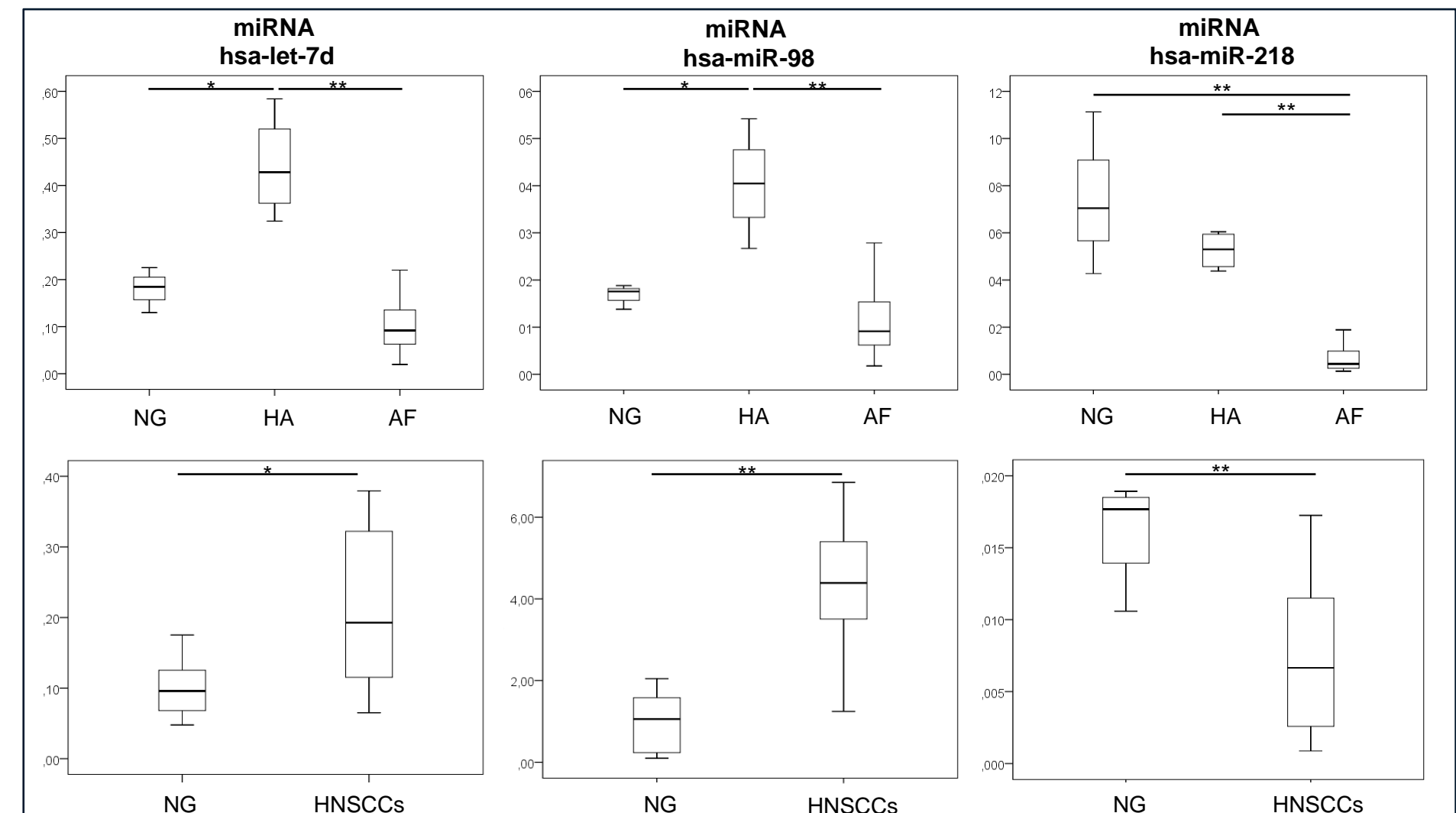


Abbildung 3: Normalisierte miRNA-Expression von let-7d, miR-98 und miR-218 in HNSCCs, Hämangiomen/ Hämangioperizytom (HA) und Angiofibromen (AF). Als Referenzgewebe wurden gesundes Plattenepithel und geschälte Nasenmuscheln verwendet (NG). Die mittels Real-Time PCR ermittelte Expression wurde auf die endogene Kontrolle RNU48 normalisiert und bei p-Werten < 0.05 als signifikant gewertet (Mann-Whitney U-Test; *p<0,05; **p<0,01).

Ergebnisse

Sowohl im Gewebe der Plattenepithelkarzinome als auch der Hämangiome und dem Hämangioperizytom ließ sich eine gesteigerte Expression der miRNA let-7d (p=0.039 bzw. p=0.034) als auch der miR-98 (p=0.006 bzw. p=0.034) nachweisen (Abb. 3), jedoch nicht in Angiofibromen.

Demgegenüber war eine verminderte miR-218 Expression im Gewebe von Plattenepithelkarzinomen als auch in Angiofibromen (p=0.009 und p=0.009) und nicht in Hämangiomen sowie dem Hämangioperizytom nachweisbar (Abb. 3).

Schlussfolgerung

Die bereits für eine Vielzahl von Tumorentitäten beschriebene deregulierte Expression der beiden miRNAs let-7d und miR-98 konnte auch in den von uns untersuchten HNSCCs sowie Hämangiomen und einem Hämangioperizytom gezeigt werden.

Interessanterweise zeigten sowohl die HNSCCs als auch die Angiofibrome eine verminderte Expression der miR-218. Diese wird mit einer verstärkten Migration und Invasion in Verbindung gebracht und führt darüber hinaus zu einer Stabilisierung und nukleären Akkumulation von β -Catenin, welches bekanntermaßen eine wichtige Rolle in der Tumorbologie von Plattenepithelkarzinomen als auch Angiofibromen spielt [3-5].

Quellenangaben/ Literatur

- [1] Nagadia et al. Cell Oncol 2013; 36:1-7.
- [2] Lund et al. Rhinology Suppl 2010; 22: 1-143
- [3] Uesugi et al. Cancer Res 2011; 71:5765-78.
- [4] Katoh & Katoh. Cancer Biol Ther 2006; 5:1059-64.
- [5] AlQurashi et al. Int J Mol Sci 2013; 14: 3874-900.