

1 Einleitung

1.1 Herleitung der Aufgabenstellung

Die Inzidenz des Zervixkarzinom liegt in Deutschland bei 15 von 100 000 Frauen pro Jahr; jährlich werden um die 7000 Neuerkrankungen registriert (Tumorregister München). 2600 Frauen sterben jedes Jahr an einem Zervixkarzinom, wobei das mittlere Sterbealter bei 70,5 Jahren liegt und damit 8,3 Jahre unter dem durchschnittlichen Sterbealter. Dennoch sind die Patientinnen zum Zeitpunkt der Diagnose nicht selten sehr jung. In den Ländern der Dritten Welt liegt die Inzidenz sogar bei bis zu 45 von 100 000 Frauen pro Jahr.

In der Pathogenese des Zervixkarzinoms spielen vor allen Dingen exogene Faktoren eine wichtige Rolle. Frauen welche früh sexuell aktiv werden haben häufiger Zervixkarzinome. Darüber hinaus sind oft wechselnde Sexualpartner, Zigarettkonsum, vorangegangene venerische Erkrankungen, HPV-Infekte, CIN (cervicale intraepitheliale Neoplasie) oder VIN (vulväre intraepitheliale Neoplasie) sowie ein niedriger sozioökonomischer Status als Risikofaktoren anzusehen, welche die Entstehung eines Zervixkarzinoms begünstigen können.

Das humane Papillomavirus (insbesondere die Subtypen HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58 und 59) spielt eine wichtige Rolle bei der Karzinogenese. Die Tumorigenität der HPV-Viren beruht auf der Expression der viralen Proteine E6 und E7. Diese werden in die Wirtszelle eingeschleust und binden an die Suppressorgene p53 und Rb, welche normalerweise das Fortschreiten des Zellzyklus inhibieren, und inaktivieren diese (Cannistra et al. 1996, Jones et al. 1996). Zusätzlich wird Umweltfaktoren und genetischen Faktoren, wie zum Beispiel den Wachstumsfaktoren eine entscheidende Bedeutung in der Entstehung des Zervixkarzinoms zugeschrieben.

Das Zervixkarzinom nimmt von der Grenzzone zwischen dem Drüsenepithel der Endozervix und dem originären Plattenepithel der Ektozervix (Transformationszone) seinen Ausgang. Ungefähr 90% der Zervixkarzinome sind Plattenepithelkarzinome. In ca. 10% handelt es sich wiederum um von den Zervixdrüsen ausgehende Adenokarzinome, adenosquamöse Karzinome, mesonephroide und gemischte Tumore sowie Klarzellkarzinome. Die

Plattenepithelkarzinome zeigen grundsätzlich ein günstigeres 5-Jahresüberleben als die Adenokarzinome, was zum Teil auf die geringere Strahlensensibilität der Adenokarzinome zurückgeführt wird.

Die systemische Therapie des Zervixkarzinoms liefert bisher unbefriedigende Ergebnisse und ist mit einer hohen Rate an Nebenwirkungen verbunden (Percy et al. 2002, Loizzi et al. 2003). Bei niedrigeren Tumorstadien ist daher die operative Therapie weiterhin Methode der Wahl. Bei fortgeschrittenen Tumorstadien, welche einer Bestrahlung bedürfen, wurden die vielversprechendsten Ergebnisse mit einer Kombination aus Bestrahlung und Cisplatin erzielt (Nias et al. 1985, Dewit et al. 1987). Hierbei konnte eine Verlängerung des Überlebens bei 30 Prozent der Patientinnen erreicht werden. Die Zeit bis zur Progression betrug allerdings nur sechs Monate (Morris et al. 1999).

Mit dem seit 2000 auch in Deutschland zugelassenen humanisierten Antikörper Trastuzumab (*Herceptin™*) eröffnen sich prinzipiell neue Möglichkeiten einer vergleichsweise nebenwirkungsarmen systemischen Therapie bei Karzinomen. Es wurden bereits eine Vielzahl von Studien mit diesem Antikörper beim Mammakarzinom (Slamon et al. 2001, Eiermann et al. 2001) durchgeführt. Substrat von Trastuzumab ist der HER2-Rezeptor, ein Mitglied der Familie der epidermalen Wachstumsfaktorrezeptoren (EGF-Rezeptoren).

Ziel der Arbeit ist es, das Expressionsmuster der Familie der EGF-Rezeptoren im Plattenepithelkarzinom der Zervix zu untersuchen und eventuell vorhandene klinische Zusammenhänge mit der Prognose aufzuzeigen. Dahinter steht die Absicht, für das Zervixkarzinom neue Therapieansätze bzw. Prognosefaktoren zu erschließen.

1.2 Die Familie der erb B-Rezeptoren

Die EGF-Rezeptoren gehören zur erb B-Typ-1-Rezeptor-Tyrosinkinase-Familie. Die Mitglieder dieser Familie spielen eine wichtige Rolle sowohl bei der normalen Zellmauserung als auch bei der Entstehung und der Progression von menschlichen Neoplasien (Salomon et al. 1995).

Man unterscheidet derzeit vier verschiedene Vertreter, nämlich EGFR/erb B, c-erb B2, c-erb B3 und c-erb B4 (Hynes et al. 1994, Kraus et al. 1989, Rajkumar et al. 1994, Plowman et al.

1993). Geläufig ist auch die Bezeichnung HER1-4 (HER= Human Epidermal Growth Factor-like Receptor). Die Rezeptorproteine dieser Familie sind glykosyliert und haben alle eine ausgeprägte Strukturhomologie.

Sie bestehen aus einer extrazellulären Domäne (an die Liganden binden können), einer kurzen Juxtamembransequenz, einer hydrophoben Transmembrandomäne und einer intrazellulären Region mit einer Tyrosinkinaseaktivität, an die ein hydrophiles Carboxylende gekoppelt ist. Diese carboxyterminale Region besitzt Tyrosin-Autophosphorylierungsmotive und dient als Bindungsstelle für verschiedene zytoplasmatische Signalproteine (Mason et al. 1995).

Die extrazelluläre Domäne der Rezeptoren ist jeweils unterschiedlich, sodass jeweils andere Wachstumsfaktoren bevorzugt an sie binden. Als Wachstumsfaktoren bezeichnet man lokalwirkende Peptide, deren Expression durch verschiedene Hormone und Zytokine geregelt wird. Sie spielen eine Rolle bei der Regulation von Zellteilung und Differenzierung sowie bei der Initiation und Erhaltung der zellulären Transformation (Aaronson et al. 1991, Goustin et al. 1986). Karzinomzellen besitzen im Gegensatz zu nicht transformierten Zellen oft eine verminderte Abhängigkeit von exogenen Wachstumsfaktoren (Brandt et al. 1998), was zum Teil auf die Fähigkeit der Tumorzellen zurückgeführt wird, endogene Wachstumsfaktoren zu bilden und sich autokrin zu stimulieren (Sporn et al. 1992). Auch können diese von Tumoren gebildeten Wachstumsfaktoren über verschiedene Mechanismen auf die Zellteilung und Differenzierung anderer Zellen wirken, wenn diese über entsprechende Rezeptoren verfügen (Gullick et al. 1998). Andererseits kann eine Überexpression von Wachstumsfaktorrezeptoren die Karzinomzelle auch für niedrigere körpereigene oder von der Zelle selbst gebildete Wachstumsfaktoren hypersensibilisieren. Diese Effekte können das Resultat einer Aktivierung von Onkogenen sein (Bishop et al. 1991, Hunter et al. 1991, Marshall et al. 1991). Die EGF-verwandten Peptide bilden eine der größten bekannten Familien von Wachstumsfaktoren, wobei die Vertreter dieser Familie durch das Vorhandensein einer oder mehrerer Kopien des sogenannten EGF-Motives charakterisiert sind (Salomon et al. 1995). Das EGF-Motiv, eine dreischleifige Struktur, ist für die biologische Aktivität essentiell. Es besteht aus einer Sequenz von Cysteinen, welche in der Lage sind, drei intramolekulare Disulfidbrücken zu bilden (Campbell et al. 1993, Groenen et al. 1994). Die Proteine dieser Superfamilie spielen während der frühen Embryonalentwicklung des Nervensystems und des Herzens (Kornblum et al. 2000) sowie bei der Regulation der Stammzellregeneration in adultem Gewebe eine wichtige Rolle (Perrimon et al. 1997).

Einige dieser Wachstumsfaktoren sind zellassoziiert und können so als Adhäsionsmoleküle wirken, was auf eine regulierende Funktion bei der Zellmigration und bei der Kontrolle der Kolonisierung spezifischer Organe im Rahmen der Metastasierung schließen lässt (Campbell et al. 1993, Massague et al. 1993).

Zu den Wachstumsfaktoren der EGF-Familie gehören der Epidermale Wachstumsfaktor (EGF), der Transforming Growth Factor α (TGF α), Heparin-binding-EGF (HB-EGF), Amphiregulin (AR), Betacellulin (BTC), Epiregulin (EPR) sowie Neuregulin (NRG). Zur Neuregulin-Subfamilie gehören α - und β -Hereguline (HRG), welche man hauptsächlich in mesenchymalen und neuronalen Geweben findet, und andere Vertreter, die eher in Epithelzellen zu finden sind (Alroy et al. 1997, Falls et al. 1993, Holmes et al. 1992, Marchionni et al. 1993, Peles et al. 1993, Riese et al. 1998, Salomon et al. 1992).

Liganden für den EGF-Rezeptor sind die Wachstumsfaktoren EGF, TGF α , Epiregulin, HB-EGF, BTC und AR. EPR, HB-EGF und BTC binden sowohl an den EGFR als auch an HER3 und HER4 (Baulida et al. 1996, Alimandi et al. 1997). Im Gegensatz dazu binden die NRG ausschließlich an HER3 oder HER4.

<u>Ligand</u>	<u>Rezeptor</u>
Epidermal growth factor receptor (EGF)	EGFR
Heparin-binding EGF (HB-EGF)	EGFR und HER4
Transforming growth factor α (TGF α)	EGFR
Amphiregulin (AR)	EGFR
Betacellulin (BTC)	EGFR, HER3, HER4
Epiregulin (EPR)	EGFR und HER4
Neuregulin α und β (HRG)-1	HER3 und HER4

Tabelle 1: EGF-verwandte Liganden und ihre Rezeptoren

Ein EGF-verwandtes Peptid kann also an verschiedene, definierte erbB-Rezeptoren binden und umgekehrt kann ein bestimmter erbB-Rezeptor verschiedene EGF-verwandte Liganden akzeptieren, was für ein sehr komplexes Signaltransduktionsschema spricht (Hunter et al.

1998). Die Regulierung dieses komplexen Signalsystems der erb B-Familie erfolgt durch bestimmte Rezeptor-Ligand aber auch Rezeptor-Rezeptor Affinitäten (Gilbertson et al. 1998).

Obwohl bis jetzt noch kein EGF-verwandter Ligand bekannt ist, welcher an den HER2-Rezeptor bindet, spielt dieser Rezeptor eine zentrale Rolle.

Von entscheidender Wichtigkeit ist die Fähigkeit der erbB-Typ-1-Rezeptorfamilie nach erfolgter Ligandenbindung Heterodimere zu bilden, wobei besonders HER2 erwähnenswert ist, da er als Ko-Rezeptor und bevorzugter Heterodimerisierungs-Partner für die anderen Rezeptoren fungiert (Graus-Porta et al. 1997, Karunagaran et al. 1996, Klapper et al. 1999). Die Aktivierung von zwei verschiedenen Rezeptoren durch Tyrosintransphosphorylierung führt dabei zu einer großen Anzahl verschiedener biologischer Antworten, was durch Bindung unterschiedlicher SH-2-enthaltender Proteine an diese Rezeptorkomplexe möglich ist (Alroy et al. 1997).

Ligandenaktivierte Heterodimere mit einem beteiligten HER2-Rezeptor zeigen im Gegensatz zu aktivierten Homodimeren eine eher verlängerte Signalantwort, was auf die veränderte Internalisierung der HER2-Rezeptoren zurückzuführen ist (Baulida et al. 1996). Außerdem führt die Heterodimerisierung mit HER2 zu einer erhöhten Affinität der entsprechenden Liganden für EGFR, HER3 und HER4 (Karunagaran et al. 1996, Alroy et al. 1997).

Abgesehen von der Affinitätsmodulation können durch die Heterodimerisierung auch neue Ligandenbindungsstellen geschaffen werden, welche in Homodimeren nicht möglich wären. So kann zum Beispiel eine Überexpression von HER2 in Verbindung mit HER3 und HER4 zu einer EGF- oder TNF α -Bindung an HER3 und HER4 führen (Alimandi et al. 1997, Ling-Mei et al. 1998, Weiss et al. 1997). Dies deutet darauf hin, dass EGF-verwandte Liganden in ihrer Bindungskapazität eine gewisse Bivalenz aufweisen, die mit dem hochaffinen Aminoterminus und dem niederaffinen Carboxyterminus zusammenhängen dürfte.

Nach Dimerisierung erfolgt durch Bindung von Signalproteinen die Aktivierung verschiedener intrazellulärer Messengerskaskaden, welche zu einer malignen Transformation der Zelle führen können.

Der Abbau der EGF-Rezeptoren erfolgt unterschiedlich. EGF besetzte EGFR-Homodimere werden endozytotisch in die Zelle aufgenommen und anschließend in Lysosomen abgebaut (Baulida et al. 1996). Dadurch wird der Gehalt von membrangebundenem EGFR und damit die Signalpotenz reduziert. Bei EGFR/HER2-Ko-Expression, jedoch werden die gebildeten

Heterodimere recycled, welches den durch HER2-Koexpression gesteigerten mitogenen Effekt erklärt (Prenzel et al. 2001). HER3 und HER4 werden nach Endozytose wieder an die Zelloberfläche transportiert. Weiterhin gibt es Hinweise auf eine sogenannte sekundäre Dimerisierung zwischen EGF-Rezeptoren (Gamett et al. 1997). In diesem Fall resultiert die Rezeptoraktivierung in einer Dissoziation des ursprünglichen Rezeptordimers, woraufhin die phosphorylierten Monomere wiederum mit anderen Rezeptorpartnern interagieren und ein neues Rezeptorpaar bilden können. Diese zweite Phase der Signaltransduktion kann die ursprünglichen Effekte entweder verlängern oder abschwächen, was eine zusätzliche Kontrolle für das Primärsignal darstellt.

Dieses komplexe Signalsystem macht deutlich, dass die Aktivierung mehrerer EGF-Rezeptoren in Tumoren zu synergistischen oder völlig neuen Arten biologischer Reaktionen auf verschiedene Liganden führen kann. Diese Interaktion der Rezeptoren macht es unerlässlich, bei der Untersuchung der Expression eines Rezeptors jeweils auch die übrigen Mitglieder zu berücksichtigen.

Die Bedeutung der erb B-Rezeptoren in der molekular-onkologischen Forschung resultiert aus ihrem Einfluss auf Wachstum, Proliferation, Motilität und Differenzierung der Zelle. Für die anomale Aktivierung der EGF-Rezeptoren sind verschiedene Mechanismen wie Überexpression des Rezeptorproteins, Amplifikation des Gens oder eine ligandenunabhängige Daueraktivierung des mutierten Rezeptors verantwortlich (Prenzel et al. 2001).

1.2.1 Der erb B2-Rezeptor (HER2)

Robert A. Weinberg entdeckte 1982 das neu-Onkogen in Ratten. Nach der Behandlung mit Karzinogenen kam es bei den Ratten zur Entstehung von Neuroglioblastomen. Die daraufhin durchgeführte Gensequenzierung ergab eine Mutation auf dem neu-Gen. Das menschliche Äquivalent auf Chromosom 17q21 wurde 1985 identifiziert und erfolgreich geklont. Aufgrund der Ähnlichkeit mit erb B wurde der von diesem Gen kodierte Rezeptor erb B2 oder HER2 genannt (King et al. 1985, Coussens et al. 1985). HER2 besitzt ein Molekulargewicht von 185 kDa und wird in einigen Epithelien exprimiert, unter anderem in der Haut, den Bronchien und im Uterus. Eine Überexpression findet sich in verschiedenen Tumoren, z.B. in Gastrointestinal- und Bronchialkarzinomen, aber auch in Brust- und Ovarialmalignomen. 1987 konnte die Rolle von HER2 als Onkogen anhand von Studien an

Zellkulturen von Mammaepithelzellen bewiesen werden. Eine HER2-Amplifikation führte dabei zur malignen Transformation (Di Fiore et al. 1987, Hudziak et al. 1987). Die Zellen proliferierten, ihre Apoptoserate nahm ab und ihre zelluläre Adhäsivität wurde gehemmt. Versuche an MCF 7 Zellen bestätigten, dass eine HER2-Überexpression die Zerstörung von Mikrogefäßen induziert, welches letztlich die Gefäßinvasion und Metastasierung ermöglichen könnte (Carter et al. 2001). Ebenfalls konnte ein direkter Zusammenhang zwischen einer Amplifikation des HER2-Gens mit dem Fortschreiten der Krankheit und einer schlechteren Prognose aufgezeigt werden (Slamon et al. 1987). Die immunhistologische Färbung zur Darstellung einer HER2-Expression zeigt eine deutliche Membranfärbung (Rajkumar et al. 1993). Probleme bei der Auswertung sind allerdings die schwer zu objektivierende Interpretation immunhistologischer Präparate und das Fehlen standardisierter Verfahren, bedingt durch die Verwendung unterschiedlicher Antikörper. In den meisten Fällen entsteht diese Überexpression durch eine Onkogen-Amplifikation (Zwick et al. 2000).

Diese Amplifikation, häufig das Resultat einer genetischen Instabilität, ist neben einer Änderung der Transkription, der Translation oder einer Punktmutation oftmals der Auslöser für eine erhöhte Tyrosinkinaseaktivität, welche wiederum mit der Entstehung, bzw. einer Progression von Karzinomen einher gehen kann (Chazin et al. 1992). Nachgewiesen wird diese HER2-Genamplifikation mittels Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH).

Die Expression von HER2 im Zervixgewebe wird von verschiedenen Autoren mit sehr unterschiedlichen Prozentangaben, welche zwischen 19 bis 100 Prozent liegen, beschrieben (Berchuck et al. 1990, Brumm et al. 1990, Hale et al. 1992 und 1993, Costa et al. 1995, Langlois et al. 1996).

In 100 Prozent der CIN und in 75 Prozent der Plattenepithelkarzinome konnte zumindest fokal eine Expression gefunden werden (Brumm et al. 1990). Vor allem die basalen Schichten des Plattenepithels der Ektozervix zeigen eine HER2-Expression. In der Endozervix färbt sich das Drüsenepithel an. Nur ein Präparat von 26 Zervixkarzinomen zeigte eine Überexpression von HER2 und dieses war interessanterweise dasjenige einer Patientin, welche zum Zeitpunkt der Diagnose schon Lungenmetastasen aufwies (Berchuck et al. 1990).

Eine Genamplifikation von HER2 konnte bei 14 Prozent der untersuchten Zervixkarzinome beschrieben werden (Mittra et al. 1994). In einer anderen Untersuchung konnte in 19 Prozent

der Fälle eine HER2-Überexpression, die zudem mit einer schlechteren Prognose verbunden war, nachgewiesen werden (Oka et al. 1994).

In einer weiteren retrospektiven Studie wurde eine Membranfärbung bei 38,7 Prozent von 62 Fällen gefunden (Hale et al. 1992).

Insgesamt konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer HER2-Überexpression und einer schlechten Prognose für Patientinnen mit Plattenepithelkarzinomen und Adenokarzinomen ohne Lymphknotenmetastasen gezeigt werden. Bei den Plattenepithelkarzinomen mit nicht nachweisbarem Lymphknotenbefall war eine HER2-Überexpression mit einer schlechten Prognose assoziiert. Bei den Adenokarzinomen zeigte sich eine zusätzliche signifikante Korrelation zwischen dem Lymphknotenstatus und der HER2-Expression. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass es hilfreich sein könnte, bei Patientinnen mit einem negativen Lymphknotenstatus durch eine HER2-Bestimmung diejenigen zu identifizieren, welche von einer frühen adjuvanten Therapie profitieren könnten. In einer immunhistochemischen retrospektiven Studie zeigten 34 von 150 (22 Prozent) Zervixkarzinomen eine HER2-Expression, wobei jedoch keine Korrelation zu Histologie, Grading oder dem Alter der Patientinnen gefunden werden konnte (Ndubisi et al. 1997). Auch beeinflusste die HER2-Expression nicht das 5-Jahres-Überleben der Patientinnen. In dieser Studie nahm nur das FIGO-Stadium zum Zeitpunkt der Diagnose Einfluss auf den Verlauf und das Gesamtüberleben.

Bei einer anderen Studie wurde in gesundem Zervixgewebe eine hohe HER2- und EGFR-Expression in 83,3 Prozent bzw. 86,6 Prozent von 150 Fällen beschrieben (Lakshmi et al. 1997). In der Gruppe der invasiven Karzinome hingegen wurde eine HER2- und EGFR-Expression in 96,8 bzw. 93,7 Prozent der Fälle gefunden.

Außerdem änderte sich die Expression von EGFR und HER2 in den verschiedenen Zellschichten. Im gesunden Zervixgewebe war die EGFR-Expression zunächst auf die basalen und parabasalen Schichten beschränkt, was eine Abnahme der EGFR-Expression während der terminalen Phase der Zelldifferenzierung, wie schon oben beschrieben, vermuten lässt. In der CIN fand sich eine stärkere Expression in den dysplastischen Zellen.

Eine signifikante Korrelation konnte zwischen der HER2-Überexpression und dem Lymphknotenstatus gefunden werden, denn alle Fälle mit einem Lymphknotenbefall zeigten eine HER2-Überexpression. Insgesamt 12 Prozent waren HER2-positiv, es konnte jedoch

kein Zusammenhang zur Länge des rezidivfreien Intervalls aufgezeigt werden (Kristensen et al. 1996).

Für das Plattenepithelkarzinom der Zervix scheint die Anwendbarkeit der HER2-Bestimmung als Prognosefaktor jedoch nicht so klar gegeben zu sein (Hale et al. 1992) wie beim Adenokarzinom (Altavilla et al. 1996). Bei 64 Patientinnen mit Plattenepithelkarzinomen, die eine Bestrahlungstherapie erhalten hatten, wurde in 42,4 Prozent eine HER2-Überexpression gefunden vor allem in fortgeschritteneren Stadien. Es gab jedoch keinen Zusammenhang in Bezug auf die histologischen Subtypen. Die 5-Jahres-Überlebensrate für die Patientinnen mit HER2-exprimierenden, bzw. HER2-nicht exprimierenden Tumoren waren 44,4 Prozent bzw. 74,8 Prozent, was die signifikant schlechtere Prognose impliziert. Betrachtete man einzig die Gruppe der Patientinnen mit FIGO-Stadium III war die Tendenz ähnlich. Hier betrug die 5-Jahres-Überlebensrate bei Patientinnen mit HER2-überexprimierenden Tumoren 44,4 Prozent und bei den Patientinnen mit HER2-nicht exprimierenden Tumoren 69 Prozent.

Die 5-Jahres-Rezidivrate war nach Bestrahlung mit 37,3 Prozent bei den Patientinnen mit HER2-überexprimierenden Tumoren signifikant höher als bei denjenigen mit HER2-nicht exprimierenden Tumoren mit 8,3 Prozent. Dieses galt wiederum ebenso für Patientinnen im FIGO-Stadium III. Außerdem war eine HER2-Überexpression häufig mit einer Resistenz gegen eine Bestrahlung assoziiert (Nakano et al. 1997).

Die Untersuchung einer Genamplifikation beim Zervixkarzinom mit Hilfe der Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) erfolgte bisher in nur wenigen Studien mit meist nur geringen Fallzahlen. Beim Mammakarzinom konnte eine Amplifikation in ca. 25-30 Prozent nachgewiesen werden; sie wies zudem einen deutlichen Zusammenhang mit einer schlechteren Prognose auf (Kury et al. 1990, Prost et al. 1994, Mark et al. 1999).

Mark et al. untersuchten eine Gruppe von 23 Zervixkarzinomen, in der sie nur bei 2 Präparaten (8,7 Prozent) Amplifikationen fanden. In beiden Fällen handelte es sich um Adenokarzinome, die a priori mit einer schlechteren Prognose vergesellschaftet sind als Plattenepithelkarzinome (Mark et al. 1999).

Mitra et al. fanden mittels Southern Blot eine DNA-Amplifikation in 7 von 50 Tumoren (14 Prozent). Alle Tumore mit einer Genamplifikation hatten einen mäßigen bis guten Differenzierungsgrad (Mitra et al. 1994), jedoch konnte bei dem gleichen Kollektiv mit der Non Fluoreszenz in situ Hybridisierung bei 22 von 60 Tumoren (36,6 Prozent) eine

Amplifikation gefunden werden (Sharma et al. 1999). Eine Tumorzelle mit Amplifikationen wurde als solche bezeichnet, wenn sie mehr als 5 Genkopien aufwies.

Jedoch gibt es auch Studien, welche mittels FISH keine Genamplifikation nachweisen konnten (Rosty et al. 2004), wobei hier aber nur fünf HER2-exprimierende Tumore untersucht wurden.

Einer anderen Technik als der Fluoreszenz in situ Hybridisierung um eine Genamplifikation nachzuweisen bedienten sich Wong et al., in dem sie Karzinomgewebe mit der PCR-Methode (Polymerase Chain Reaction) untersuchten. Sie fanden in 11 von 70 invasiven Plattenepithelkarzinomen (16 Prozent) eine Amplifikation des HER2-Gens, wobei kein Zusammenhang zum Grading oder dem Tumorstadium gefunden werden konnte. Es konnte zwar im Gegensatz zu den noch lebenden Patientinnen bei denen, die am Tumor verstorben waren, häufiger eine Genamplifikation nachgewiesen werden. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant (Wong et al. 1996).

Hierbei muss allerdings berücksichtigt werden, dass es eine Rezeptorüberexpression auch ohne eine Genamplifikation gibt. Dies konnte sowohl bei Tumoren der Mamma als auch des Ovars gezeigt werden (Slamon et al. 1989, Parkes et al. 1990).

Die Tatsache, dass HER2 beim Mammakarzinom selektiv nur im maligne entarteten Brustgewebe überexprimiert wird, macht den Rezeptor zu einem Angriffspunkt in der immunologischen Tumorthherapie. Im Zervixkarzinom sind diese Verhältnisse nicht so eindeutig, denn auch im gesunden Plattenepithel der Portio findet sich eine deutliche HER2-Expression. Eine HER2-Überexpression hingegen ist ein eher seltenes Ereignis. Hinzu kommt, dass bisher kein eindeutiger Zusammenhang einer HER2-Überexpression mit einer schlechteren Prognose für das Zervixkarzinom aufgezeigt werden konnte, welches den Versuch einer immunologischen Therapie rechtfertigen würde. Studien mit größeren Fallzahlen stehen jedoch bisher noch aus.

1.2.2 Der erb B1-Rezeptor (HER1/EGFR)

EGFR ist ein transmembranäres 170 kDa schweres Glykoprotein, dessen Gen auf dem Chromosom 7q21 lokalisiert ist (Beerli et al. 1996). Das Gen konnte 1984 aus einer Zellkultur

von EGFR-überexprimierenden Zervixkarzinomen erfolgreich geklont werden (Ullrich et al. 1984). Dabei wurden Ähnlichkeiten mit dem v-erb B, einem transformierenden Protein des Avian-Erythroblastosis-Virus entdeckt (Yamamoto et al. 1983). Erb B ist demnach das erste Beispiel für die Konvertierung eines normalen Gens in ein Onkogen und das erste Molekül, welches als mögliches Ziel in der Krebstherapie identifiziert wurde.

Der immunhistochemische EGFR-Nachweis zeigt eine deutliche Membranfärbung in verschiedenen epithelialen Zellen, zum Beispiel in der Haut, den Bronchien, dem Ösophagus, dem Uterusepithel und im Endothel.

Wachstumsfaktoren spielen eine Rolle als Stimulatoren der Proliferation und können die Wahrscheinlichkeit einer malignen Entartung erhöhen. EGFR verstärkt konzentrationsabhängig das Wachstum von Zervixkarzinomzellen, wobei diese Stimulation indirekt durch eine Reduzierung von inhibitorisch wirkenden Insulin-like growth factor Rezeptoren zustande kommt (Steller et al. 1996). Dies könnte erklären, warum bisher keine Amplifikation von EGFR-Genen in Zervixkarzinomen nachgewiesen werden konnte.

Eine Überexpression von EGFR wurde als ein generelles Charakteristikum von Plattenepithelkarzinomen interpretiert (Ozanne et al. 1986, Pfeiffer et al. 1989). Im Gegensatz dazu konnte in Zervixkarzinomen eher eine Unterexpression von EGFR im Vergleich zum normalen Zervixepithel gesehen werden (Kimmig et al. 1997). Dies lässt vermuten, dass eine Entdifferenzierung der Zellen im Verlauf der malignen Transformation zu einer Reduktion von EGFR führt. In normalem Zervixgewebe wird EGFR hauptsächlich in den basalen oder parabasalen Schichten gefunden; in den oberen, differenzierten Zellschichten lässt sich eine EGFR-Expression nicht mehr nachweisen. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass es in den letzten Stadien der Plattenepitheldifferenzierung zu einer Inhibition der EGFR-Expression kommt (Goepfingier et al. 1989). Bei Carcinomata in situ konnte hingegen eine gleichmäßig starke EGFR-Expression über die ganze Ausdehnung des Epithels gefunden werden (Berchuck et al. 1990).

Bei den Untersuchungen der EGFR-Expression im Zervixkarzinom mit Hinblick auf die Prognose der Patientinnen variieren die Ergebnisse stark.

In retrospektiven Studien wurde eine EGFR-Expression in 34 Prozent der invasiven Zervixkarzinomen gefunden, genauer gesagt in 50 Prozent der untersuchten Plattenepithelkarzinome, 33 Prozent in adenosquamösen Karzinomen und 19 Prozent in

Adenokarzinomen. Insgesamt war eine EGFR-Expression mit einer schlechteren Prognose verbunden. In den histologischen Subgruppen aber zeigte sich ein anderes Bild. Hier konnte nur beim adenosquamösen Karzinom eine signifikante Korrelation zwischen EGFR-Expression und Mortalität aufgezeigt werden, sowohl insgesamt als auch bei den Patientinnen ohne Lymphknotenmetastasen. Waren schon Lymphknotenmetastasen vorhanden, konnte diese Korrelation nicht bestätigt werden. Bei den Adenokarzinomen wiederum gab es einen Zusammenhang zwischen einer EGFR-Expression und Lymphknotenmetastasen (Hale et al. 1992 und 1993). Für Plattenepithelkarzinome konnte dies nicht gezeigt werden (Hayashi et al. 1991).

Das Maß der EGFR-Expression scheint ein Indikator für die Aggressivität bei Zervixkarzinomen zu sein. Von 54 Patientinnen zeigten 43 Prozent der Tumore erhöhte EGFR-Level, zwei Fälle wiesen eine sehr starke Expression auf. Diese Patientinnen starben im Verlauf an der Krankheit (Berchuck et al. 1990). Eine andere Studie fand eine EGFR-Überexpression in 25,8 Prozent der Tumore, des Weiteren war das rezidivfreie Intervall für diese Patientinnen kürzer. In einer Subgruppe mit Plattenepithelkarzinomen, deren Tumorgöße kleiner als 2 cm war und welche keine EGFR-Expression zeigten, konnte bemerkenswerterweise kein Rückfall verzeichnet werden (Kristensen et al. 1996).

Eine andere Studie fand einen Zusammenhang der Tumorgöße mit der EGFR-Expression: Bei 40 invasiven Zervixkarzinomen zeigten 72,5 Prozent eine Überexpression (Kim et al. 1991). Läsionen, die größer waren als 4 cm, hatten signifikant höhere Level von EGFR als die Tumore unter 4 cm.

Zervixkarzinome, die EGFR überexprimieren, repräsentieren also eher eine kleine Subgruppe mit erhöhter Aggressivität, was eine schlechtere Prognose nach sich zieht (Kimmig et al. 1997). Entsprechend wird die Rolle von EGFR als Prognosefaktor diskutiert (Pfeiffer et al. 1989). Eine gesteigerte EGFR-Expression scheint also die Initiation von Tumoren zu begünstigen (Maruo et al. 1992).

EGFR stellt ähnlich wie HER2 einen möglichen Angriffspunkt der Krebstherapie dar. Verschiedene Medikamente zur Blockade der EGFR-vermittelten Signalantwort bei EGFR überexprimierenden Tumoren wurden bereits entwickelt. Es konnte nachgewiesen werden, dass es zu einem verminderten Karzinomwachstum kommt, wenn der EGFR-Signaltransduktionsweg durch unterschiedliche therapeutische Interventionen ausgeschaltet

wird, z.B. E6/E7 antisense mRNA (Hamade et al. 1996), anti-HER1 Antikörper (Rusch et al. 1996) oder Inhibitoren der EGFR-Tyrosinkinase (Brunton et al. 1994).

Der monoklonale IgG-Antikörper IMC-C-225 bindet an die extrazelluläre Domäne von EGFR. In klinischen Phase II und III Studien wurde bei kaum auftretenden Nebenwirkungen Ansprechraten von bis zu 70% beobachtet (Ciardiello et al. 2001, Kim et al. 2001). Die weniger spezifischen kleinmolekularen Hemmstoffe OSI-774 und ZD 1839 blockieren die EGFR-Tyrosinkinase. Phase I und II Studien zeigten, dass beide bei akzeptabler Verträglichkeit therapeutisch wirksam sind (Hidalgo et al. 2001, Pegram et al. 2001). Eine andere Möglichkeit der gezielten Therapie von EGFR exprimierenden Karzinomen stellt die Kopplung von Toxinen an die Liganden des EGFR dar. Diese Ligand-Toxin-Konjugate gelangen mittels Endozytose in die Tumorzelle und lysieren diese durch Hemmung der Proteinsynthese (Prenzel et al. 2001).

1.2.3 Der erb B3-Rezeptor (HER3)

Der Rezeptor wurde 1989 zuerst von Kraus et al. beschrieben, im Jahr darauf führte die Arbeitsgruppe um Plowman et al. Untersuchungen der HER3-Proteinexpression durch (Plowman et al. 1990).

Kodiert wird das 160 kDa schwere Rezeptorprotein von einem Gen auf Chromosom 12q13. Da HER3 keine aktive Tyrosinkinase besitzt muss er zur Signaltransduktion mit einem anderen erb B-Rezeptor Heterodimere bilden (Witton et al. 2001). Die extrazelluläre Domäne ist derjenigen des HER4-Rezeptors sehr ähnlich, welches das Binden von Betacellulin und Neuregulin an beide Rezeptoren erklärt.

Eine Expression von HER3 findet sich unter anderem in differenziertem menschlichen Geweben wie Niere und Gehirn sowie in einigen fetalen Geweben (Kraus et al. 1989, Prigent et al. 1992). Eine deutliche Expression zeigt sich jedoch auch in der Epidermis und im Epithel des Gastrointestinal-, Harn- und Respirationstraktes sowie im Hoden, im Ovar und in der Plazenta. Auch im Endometrium sowie in Endometriumkarzinomen konnte eine HER3-Expression beschrieben werden (Srinivasan et al. 1999). Auch verschiedene andere Tumore, wie z.B. Mammakarzinome (Lemoine et al. 1992), Magenkarzinome, Prostatakarzinome (Poller et al. 1992) oder Pankreaskarzinome (Lemoine et al. 1992) exprimieren den Rezeptor, wobei bisher wenige größer angelegte Studien durchgeführt wurden und die Rolle des

Rezeptors noch unklar ist. Auffallend ist das unterschiedliche Expressionsmuster im Sinne einer fehlenden Expression von HER3 in proliferierendem Gewebe im Gegensatz zu EGFR und HER2. Außerdem zeigte sich im Gegensatz zur Membranfärbung von EGFR und HER2 bei HER3 eine überwiegend zytoplasmatische Färbung (Prigent et al. 1992, Quinn et al. 1994, Lemoine et al. 1992). Dies scheint für einen transmembranären Rezeptor zunächst verwunderlich, ist jedoch durch eine Aufnahme des Rezeptormoleküls in das Innere der Zelle im Rahmen metabolischer Prozesse zu erklären.

Insgesamt scheint in den verschiedenen Tumoren eher eine Überexpression zu bestehen, obwohl eine alleinige HER3-Überexpression offensichtlich keine maligne Transformation auslöst (Gullick et al. 1996). Eine Studie beschreibt eine Überexpression im Vergleich zum gesunden Epithel von HER3 bei Zervixkarzinomen in 24 Prozent der Fälle (17 von 72 Tumoren), wobei kein Zusammenhang zu Stadium, Grading oder Histologie gefunden werden konnte, ebenso wenig in Bezug auf das Gesamtüberleben (Rajkumar et al. 1995). Das gesunde ektozervikale und endozervikale Epithel wurde bei dieser Studie zumeist nicht angefärbt oder zeigte nur eine schwache Expression. Die Tumore waren sehr heterogen gefärbt, was die Anzahl der angefärbten Tumorzellen sowie die Intensität der Färbung betrifft. Keiner der Tumore zeigte eine Membranfärbung. Die Färbungen waren überwiegend zytoplasmatisch, was diese Autoren vermuten ließ, dass die Expression eher moderat war. Im Gegensatz zur EGFR- und HER2-Expression, die mit zunehmender Differenzierung abnimmt, blieben im normalen Zervixepithel bei der HER3-Färbung die basalen Zellen negativ, die Zellen an der Oberfläche zeigten allenfalls eine schwach positive Färbung.

Eine weitere Studie wies bei 29 Prozent der Tumore eine starke HER3-Färbung nach (21 von 62) (Hunt et al. 1995).

In keiner der bisherigen Studien konnte eine Genamplifikation nachgewiesen werden (Gullick et al. 1996, Lemoine et al. 1992), was eine erhöhte Gentranskription vermuten lässt.

Es konnte also beim Zervixkarzinom bisher kein Zusammenhang mit dem Überleben aufgezeigt werden, weshalb die HER3-Bestimmung als prognostischer Marker bislang nicht in Erwägung gezogen wurde. Bei Untersuchungen an Mammakarzinomen wurde der Verdacht geäußert, dass HER3 ebenso wie EGFR und HER2 als Marker für aggressives Tumorwachstum und eine schlechte Prognose dienen könnte (Witton et al. 2001). Eine andere Studie wiederum meint einen Zusammenhang der HER3-Überexpression mit einem

verlängerten Gesamtüberleben aufzeigen zu können (Quinn et al. 1994). Dementsprechend steht die Abklärung der klinischen Bedeutung von HER3 vor allem für das Zervixkarzinom noch aus.

1.2.4 Der erb B4-Rezeptor (HER4)

1993 erfolgte durch Plowman et al. die Klonierung des HER4-Gens auf Chromosom 2q33, welches ein 180 kDa Rezeptorprotein kodiert. Wie bereits erwähnt, ähnelt die extrazelluläre Domäne der von HER3. Die zytoplasmatische Region jedoch ist der von EGFR und HER2 verwandt (Gullick et al. 1998).

Die Expression von HER4 wurde bisher vor allem an Mammakarzinomen untersucht. Nachgewiesen wird es ebenfalls im normalen Brustdrüsengewebe des Menschen (Gullick et al. 1998, Srinivasan et al. 1998) und der Maus (Yang et al. 1995). Auch das Epithel des Gastrointestinal-, Harn-, Respirations- und Geschlechtstraktes exprimiert HER4 (Plowman et al. 1993).

In der immunhistologischen Färbung findet sich eine zytoplasmatische und eine nukleäre Färbung, seltener eine Membranfärbung (Kew et al. 2000). Die Kernfärbung überrascht zwar, wurde aber durch verschiedene Antikörper bestätigt, sodass eine unspezifische Färbung unwahrscheinlich ist (Srinivasan et al. 1998). Wie die Kernfärbung von HER4 zustande kommt, ist bisher noch nicht gänzlich geklärt. Vermutet wird eine Internalisierung des Rezeptors nach Ligandenbindung und Aktivierung, da Heregulin-1- β nach rascher Internalisierung im Zellkern zu finden ist (Li et al. 1996).

Eine ähnliche Erklärung vermuten Srinivasan et al., welcher potentielle „nukleäre Lokalisations-Signale“ in der zytoplasmatischen HER4-Domäne nachweisen konnte, über welche eine Bindung des Proteins an den Zellkern erfolgen könnte (Srinivasan et al. 1998). Sie fanden bei der Untersuchungen verschiedener normaler Gewebe und neun verschiedener Tumore vereinzelte Kernfärbungen in Form einer HER4-Expression, vor allem in der Niere im Epithel des distalen Tubulus und in den Ductus der Brust. Hauptsächlich waren die Färbungen jedoch zytoplasmatisch und fanden sich vor allem in den suprabasalen Kompartimenten des Plattenepithels mit hoher Differenzierung. Somit ist das Expressionsmuster ähnlich wie bei HER3 und gegensätzlich zu EGFR und HER2, die eher in der Proliferationszone zu finden sind. Ebenso fand sich auch beim Plattenepithel der Zervix

die stärkste Färbung in den oberen zwei Dritteln des Epithels. In den Plattenepithelkarzinomen konnte keine HER4-Überexpression im Vergleich zum Normalgewebe gefunden werden, jedoch in 10-20 Prozent der Adenokarzinome. Die Membranfärbung ebenso wie die zytoplasmatische Färbung zeigten, getrennt ausgewertet, keinen Zusammenhang mit dem Grading, der Histologie oder einer Expression von anderen Rezeptoren der erb B-Familie. Es konnte jedoch eine signifikante Korrelation zwischen einer HER4-Kernfärbung von über 25% und höher differenzierten Tumoren sowie einer HER3-Expression und EGFR-Expression gezeigt werden. Weder die Kern- noch die Membran- oder die zytoplasmatische Färbung stand in irgendeinem Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben.

Anderen Studien zufolge ist nur eine membrangebundene HER4-Färbung mit einer günstigen Prognose assoziiert (Kew et al. 2000).

Insgesamt zeigten die verschiedenen Tumore im Gegensatz zu normalem Gewebe eher eine HER4-Unterexpression (Srinivasan et al. 1998) im Vergleich zum angrenzenden gesunden Gewebe. Zu diesem Ergebnis kam ebenfalls eine andere Studie über Prostatakarzinome, bei der in gesundem Prostatagewebe eine starke HER4-Expression gefunden werden konnte im Gegensatz zu einer HER4-Expression bei nur 23 Prozent der Prostatakarzinome (Lyne et al. 1997). Eine andere Studie wiederum zeigte eine HER4-Überexpression in Medulloblastomen bei Kindern (Gilbertson et al. 1997). Auch Endometriumkarzinome zeigten eine HER4-Überexpression (Srinivasan et al. 1999).

Offensichtlich divergieren auch hier wieder die Angaben zur Expression von HER4 bei Wachstum und Differenzierung der Zelle. Die meisten Studien beschreiben jedoch einen prognostisch günstigen Effekt im Sinne einer Differenzierungssteigerung durch HER4 und vergleichen die Funktion von HER4 mit der eines Tumorsuppressorgens (Kew et al. 2000). Zum Beispiel kam es durch Aktivierung von HER4 zu einem antiproliferativen Effekt in Brustkrebszellen (Sartor et al. 2001).

Anscheinend weisen aggressive, undifferenzierte Tumorzelllinien eine geringere HER4-Expression auf als differenzierte Tumorzelllinien (Suo et al. 1998). Im Gegensatz dazu sprechen andere Untersuchungen mit HER2, HER3 und HER4 koexprimierenden

Brustkrebszellen eher für einen mitogenen und entdifferenzierenden Effekt von HER4 (Cohen et al. 1998).

Um die klinische Bedeutung einer HER4-Expression im Zervixkarzinom klären zu können, fehlen umfassende Studien.

1.2.5 Koexpression der Rezeptoren

Die komplexe Interaktion der Rezeptoren untereinander macht es unerlässlich, das Expressionsmuster der gesamten erb B-Familie zu betrachten. Wie bereits erwähnt, spielt hierbei HER2 trotz Fehlen eines direkten Liganden eine entscheidende Rolle. So haben in vitro Versuche gezeigt, dass die EGFR/HER2-Koexpression die zelluläre Transformation verstärkt (Hynes et al. 1994). Auch geht die Ko-Überexpression beider Rezeptoren mit einer schlechteren Prognose einher als das alleinige Vorkommen nur eines der beiden Rezeptoren (Osaki et al. 1992).

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Studien, welche die Ko-Expression von HER2 und HER3 untersuchten. HER3 induzierte hierbei alleine keine maligne Transformation. Bei einer Ko-Transfektion von HER2 und HER3 in Mammaepithelzellen potenzierte sich jedoch die onkogene Wirkung von HER2: Es kam zu einer stärkeren Transformation als nach alleiniger Transfektion mit HER2 (Alimandi et al. 1997). Auch andere Untersuchungen konnten zeigen, dass HER3 alleine nicht als Onkogen agiert, aber eine Überexpression dann zur Transformation führt, sobald moderate Level von HER2 hinzukommen (Weiss et al. 1997, Alimandi et al. 1995).

In einer Studie über die HER4-Überexpression in Medulloblastomen konnte gezeigt werden, dass eine Koexpression HER4 und HER2 in über 50 Prozent der Fälle auftrat und mit einer schlechteren Prognose verbunden war als die Expression der einzelnen Rezeptoren (Gilbertson et al. 1997).

Beim Mammakarzinom fand eine Arbeitsgruppe ein unterschiedliches Verhalten der Rezeptoren je nachdem, ob eine Koexpression vorlag, wobei es hier auch Unterschiede gab je nachdem mit welchem anderen Rezeptor der erb B-Familie die Rezeptoren gemeinsam exprimiert wurden (Cohen et al. 1998). So stieg zum Beispiel die ligandenabhängige

Phosphorylierungsrate bei einer Koexpression von EGFR und HER3, bei der Kombination von EGFR und HER4 und ebenfalls bei einer Koexpression von HER2 und HER3. Bei der Untersuchung der Transformationsaktivität konnte durch eine Koexpression der Rezeptoren ein Wachstum in Softagar provoziert werden, welches nicht auftrat, wenn nur ein Rezeptor exprimiert wurde.

Zur Klärung der genauen Interaktion der Rezeptoren sowie der klinischen Bedeutung der verschiedenen Kombinationen der Koexpression bedarf es vor allem für das Zervixkarzinom noch weiterer Forschung.

1.3 Klinische Implikation

Es wird als gesichert angesehen, dass die differentielle Expression von EGFR oder HER2 in epithelialen Malignomen der Mamma als klinischer Marker für ein kürzeres krankheitsfreies Intervall oder Gesamtüberleben Verwendung finden kann (Pegram et al. 1998). Somit sind diese Rezeptoren, die entsprechenden Wachstumsfaktoren selbst oder andere Signalproteine des EGF-Signaltransduktionsweges potentielle Kandidaten für selektive neue Therapieansätze (Powis et al. 1991, Garner et al. 1992, Rusch et al. 1996, Baselga et al. 1997).

Da alle Mitglieder der HER-Familie über eine für die Signaltransduktion essentielle intrazelluläre Tyrosinkinase verfügen, liegt es auf der Hand, hier einen Ansatzpunkt der Intervention zu suchen. Es gibt spezielle Inhibitoren, z.B. aus der Gruppe der Tryphostine oder Quinazolonderivate, die potentiell als Chemotherapeutika anzusehen sind (Fry et al. 1998).

Die Weiterentwicklung spezifischer Inhibitoren der mitogen-aktivierten Proteinkinase (MAPK, p42/44) sowie der Phosphatidylinositol-3 Kinasen (PI-3), also von Kinasen, die in der erb B-Signaltransduktion eine wichtige Rolle spielen, eröffnen nunmehr die Möglichkeit, diese Moleküle als Kandidaten für spezifische Therapieansätze anzusehen (Powis et al. 1991). In Zukunft wird es auch möglich sein, synthetische Peptidanaloga der Transmembrandomäne von erb B-Rezeptoren herzustellen, die eine wesentliche Rolle in der Rezeptor-Heterodimerisierung spielen, um somit diesen essentiellen Vorgang unterbinden zu können.

Dieser hypothetische Mechanismus konnte durch die Expression dominant-negativer Rezeptormutante, welche die Rezeptorfunktion hemmen, bestätigt werden (Lofts et al. 1993).

Die Konjugation von Toxinen, Radionukliden oder Zytostatika an Wachstumsfaktoren oder anti-EGF-Antikörper birgt nicht nur therapeutische, sondern auch diagnostische Ansätze, in dem die Substanz an oder in erb B-Rezeptor-überexprimierende Tumore gebracht werden kann (Theuer et al. 1993, Forminaya et al. 1998, Yang et al. 1998).

Monoklonale Anti-Rezeptor-Antikörper bieten eine Möglichkeit der therapeutischen Intervention, da sie das Binden der EGF- oder HRG-Liganden an ihre Rezeptoren blockieren können. Es konnte gezeigt werden, dass dieser Therapieansatz in Tumoren effektiv ist, welche den EGF-Rezeptor überexprimieren (Hamade et al. 1996, Rusch et al. 1996, Brunton et al. 1994).

Ein bekanntes Beispiel für solch einen Antikörper ist Trastuzumab (*HerceptinTM*), welcher selektiv die HER2-Signaltransduktion blockiert. (Baselga et al. 1996, Pegram et al. 1998, Agus et al. 1999, Shak et al. 1999).

In einer internationalen Phase III Studie wurde Trastuzumab als Monotherapie und in Kombination mit einer Chemotherapie an mehr als 1000 Frauen mit HER2-überexprimierendem, metastasiertem Mammakarzinom getestet (Shak et al. 1999, Slamon et al. 2001). Je ausgeprägter die HER2-Überexpression war, desto mehr profitierten die Patientinnen von der Therapie. Trastuzumab als Monotherapie bei vorbehandelten Patientinnen mit progredientem Karzinom führte bei 15 Prozent zu objektivem, ca. 9 Monate andauerndem Ansprechen (Cobleigh et al 1999). Durch Zugabe von Trastuzumab zu einer Chemotherapie in der Erstlinientherapie konnten die Ansprechraten und die Zeit bis zum Progress signifikant gesteigert und das Gesamtüberleben um 25% verlängert werden (Eiermann et al. 2001, Slamon et al. 2001). Nebenwirkungen waren selten und milde. In Kombination mit Anthrazyklinen wurden jedoch vereinzelt kardiale Nebenwirkungen beobachtet. Unter Berücksichtigung von klinischem Nutzen und unerwünschten Nebenwirkungen zeigte die Kombination von Paclitaxel mit Trastuzumab die größte therapeutische Effizienz.

Auch in Studien zur Behandlung des Prostatakarzinoms mit *Herceptin*TM war ein Ansprechen auf das Therapeutikum zu beobachten (Agus et al. 1999).

Der Zusammenhang zwischen einer HER2-Überexpression und einer schlechteren Prognose ist beim Zervixkarzinom von einigen Studien belegt worden (Hale et al. 1993, Kersemakers et al. 1999), von anderen wiederum nicht (Kristensen et al. 1997, Oka et al. 1994). Diese Diskrepanz und die Möglichkeit eines eventuellen Profitierens der Patientinnen von einer Therapie mit Trastuzumab führen zu folgender Fragestellung:

1.4 Fragestellung

Ziel unserer Untersuchung ist es, herauszufinden, ob die Expression der HER-Rezeptorfamilie in einem Zusammenhang mit dem klinischen Verhalten von Plattenepithelkarzinomen der Zervix steht.

Untersucht wurden im Einzelnen:

- Wo im gesunden Epithel und wo im invasiven Karzinom werden die verschiedenen Rezeptoren exprimiert?
- Wie wirkt sich die Rezeptorexpression der HER-Familie auf das Überleben aus?
- Gibt es eine Koexpression der einzelnen Rezeptoren? Gibt es bevorzugte Heterodimerisierungspartner und welchen Einfluss hat die Expression dieser Paare wiederum auf das Überleben der Patientinnen?
- Gibt es einen Zusammenhang der Rezeptorexpression mit dem FIGO-Stadium oder dem Grading, dem Lymphknotenstatus oder dem Alter der Patientinnen?
- Kommt es im Zervixkarzinom zu einer Genamplifikation des HER2/neu-Gens? Hat diese einen Einfluss auf die Prognose der Patientinnen?
- Lassen sich durch die Bestimmung des Rezeptorstatus mittels Immunhistochemie oder der Genamplifikation mit der Fluoreszenz in situ Hybridisierung prognostische Aussagen bei Patientinnen mit einem Zervixkarzinom treffen und welche Methode ist die aussagekräftigere?