

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Genetische Polymorphismen in den DNA-
Reparaturenzymen ERCC1, XPC, XPF und
PCNA und ihre Assoziation zu
Larynxkarzinomen**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr.med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Elisabeth Weber
aus Hamburg

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. I. Roots
 2. Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. I. Cascorbi
 3. Prof. Dr. rer. nat. R. Schäfer

Datum der Promotion: 21.12.2007

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	6
1 EINLEITUNG	7
1.1 DAS LARYNXKARZINOM	7
1.1.1 Häufigkeit, Lokalisation und Pathologie	7
1.1.2 Risikofaktoren	8
1.2 MEHRSTUFENKONZEPT DER KREBSENTSTEHUNG	9
1.2.1 Chemische Karzinogenese	10
1.3 DNA-REPARATUR	11
1.3.1 Nucleotide excision repair (NER)	12
1.4 ERBLICHE POLYMORPHISMEN IN DNA-REPARATURENZYMEN DER NER	13
1.4.1 Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)	14
1.4.2 Excision repair cross complementation group 1 (ERCC1)	14
1.4.3 Xeroderma pigmentosum group F (XPF(ERCC4))	14
1.4.4 Xeroderma pigmentosum group C (XPC)	15
1.5 GENETISCHE VARIABILITÄT DER DNA-REPARATURKAPAZITÄT	15
1.6 FRAGESTELLUNG UND ZIELSETZUNG	17
2 MATERIAL UND METHODEN	18
2.1 PATIENTEN	18
2.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien	18
2.1.2 Datenerhebung	19
2.1.3 Tumorklassifikation	20
2.2 GENOTYPISIERUNG	21
2.2.1 Verwendete Geräte, Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Lösungen	21
2.2.2 DNA-Extraktion und DNA-Konzentrationsbestimmung	23
2.2.3 Polymerasekettenreaktion	24
2.2.3.1 Optimierung der Reaktionsbedingungen	27
2.2.4 DNA-Sequenzierung	28
2.2.5 Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus (RFLP)	29
2.2.6 Agarosegelelektrophorese	31
2.2.6.1 Herstellung des Agarosegels	31
2.2.6.2 Elektrophoresebedingungen	32
2.2.7 Nachweis der Genvarianten in PCNA, ERCC1 und XPF(ERCC4)	32
2.2.8 Nachweis des Poly-AT-Polymorphismus in XPC	35
2.3 STATISTIK	36

3	ERGEBNISSE	37
3.1	DEMOGRAPHISCHE ANGABEN ZU LARYNXKARZINOM- UND KONTROLLKOLLEKTIV.....	37
3.2	HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DER DNA-REPARATURENZYMPOLYMORPHISMEN IN LARYNXKARZINOM- UND KONTROLLKOLLEKTIV	38
3.3	HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DER POLYMORPHISMEN IN ABHÄNGIGKEIT VON WEITEREN INDIVIDUELLEN FAKTOREN.....	41
3.3.1	Geschlecht	41
3.3.2	Alter.....	42
3.3.3	Tabakkonsum	43
3.3.4	Alkoholkonsum	47
3.3.5	Berufliche Schadstoffexposition	50
3.3.6	Tumorlokalisation	51
3.3.7	Tumorstadium	56
3.4	HAPLOTYPENREKONSTRUKTION FÜR DIE VARIANTEN A ₁₉₀₀₇ G UND C ₈₀₉₂ A IN ERCC1, SOWIE G ₁₇₁₀₃ A UND A ₃₀₁₄₇ G IN XPF(ERCC4).....	57
4	DISKUSSION	59
4.1	CHARAKTERISTIKA VON PATIENTEN- UND KONTROLLGRUPPE.....	60
4.2	EINFLUSS DER GENVARIANTEN IN PCNA, ERCC1, XPF UND XPC AUF DIE ENTWICKLUNG VON LARYNXKARZINOMEN	61
4.2.1	PCNA	61
4.2.2	ERCC1.....	62
4.2.3	XPF(ERCC4)	64
4.2.4	XPC	65
4.3	EINFLUSS DER GENVARIANTEN AUF DIE ENTSTEHUNG VON LARYNXKARZINOMEN IN ZUSAMMENHANG MIT WEITEREN INDIVIDUELLEN RISIKOFAKTOREN	66
4.3.1	Tabakkonsum	67
4.3.2	Alkoholkonsum	68
4.3.3	Geschlecht	70
4.3.4	Alter.....	70
4.3.5	Berufliche Schadstoffexposition	71
4.3.6	Tumorlokalisation	72
4.3.7	Tumorstadium	72
4.4	HAPLOTYPANALYSE	73
4.5	ERBLICHE POLYMORPHISMEN IN DNA-REPARATURENZYMEN IN ZUSAMMENHANG MIT VARIABLER DNA-REPARATURKAPAZITÄT	73
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	75

LITERATURVERZEICHNIS	77
DANKSAGUNG.....	84
LEBENS LAUF	85
ERKLÄRUNG.....	87

Abkürzungsverzeichnis

Sofern es keine deutsche Entsprechung gab, wurde auf die in der Literatur geläufige lateinische oder englische Version zurückgegriffen. In Klammern befindet sich die deutsche Übersetzung.

3'-UTR	3' <i>untranslated region</i> (3' nichttranslatierte Region)
6-4-PP	6-4- <i>photoproduct</i> (6-4-Photoprodukt)
add.	Additiv
ATP	Adenosintriphosphat
BER	<i>base excision repair</i> (Basenexzisions-Reparatur)
bp	Basenpaare
BSA	Bovines Serumalbumin
Ca	Karzinom
CPD	Cyclobutan-Pyrimidin-Dimer
CSA	Cockayne-Syndrom A
CSB	Cockayne-Syndrom B
DDB1	<i>Damaged DNA binding protein 1</i> (an geschädigte DNA bindendes Protein 1)
DDB2	<i>Damaged DNA binding protein 2</i> (an geschädigte DNA bindendes Protein 2)
DNA	<i>Desoxyribonucleic acid</i> (Desoxyribonukleinsäure)
dATP	Desoxyadenosintriphosphat
dCTP	Desoxycytosintriphosphat
ddNTPs	Didesoxyribonukleosidtriphosphate
dGTP	Desoxyguanosintriphosphat
dNTPs	Desoxyribonukleosidtriphosphate
dTTP	Desoxythymidintriphosphat
dom.	Dominant
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ERCC1	<i>Excision repair cross complementation group 1</i>
F	<i>Forward</i> (vorwärts-)
GGR	<i>Global genome repair</i> (global operierende Genomreparatur)
HNO	Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
MMR	<i>Mismatch repair</i>
NER	<i>Nucleotide excision repair</i> (Nukleotidexzisions-Reparatur)
OR	<i>Odds-Ratio</i>
PAT	Poly-AT (Poly-Adenin-Thymin)
PAK	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe
PCNA	<i>Proliferating cell nuclear antigen</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (Polymerasekettenreaktion)
PJ	Packungsjahr
Pol δ	Polymerase δ
Pol ϵ	Polymerase ϵ
R	<i>Reverse</i> (rückwärts-)
rez.	Rezessiv
RFLP	Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus
RNA	<i>Ribonucleic acid</i> (Ribonukleinsäure)
RPA	<i>Replication protein A</i>
SNPs	<i>single nucleotide polymorphisms</i> (Einzelnukleotid-Polymorphismen)
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE	Tris-Borat-EDTA (Ethylendiamintetraacetat)
TCR	<i>Transcription coupled repair</i> (transkriptions-gekoppelte Reparatur)
TFIIH	<i>Transcriptional factor II H</i> (Transkriptionsfaktor II H)
Tris	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
UV	Ultraviolett
VB	Vertrauensbereich
XP	Xeroderma pigmentosum
XPA-XPG	<i>Xeroderma pigmentosum complementation group A-G</i>
XPF(ERCC4)	<i>Xeroderma pigmentosum complementation group F (Excision repair cross complementation group 4)</i>

Danksagung

Meinen besonderen Dank richte ich an Herrn Prof. Dr. Ivar Roots für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und die günstigen Arbeitsbedingungen am Institut für Klinische Pharmakologie.

Besonders herzlich möchte ich mich bei Herrn Mark Goldammer bedanken, der die Arbeit mit außerordentlichem Engagement und großer Hilfsbereitschaft betreute.

Für die Zusammenstellung der Kontrollgruppe und zusätzliche Betreuung danke ich Herrn Dr. Mrozikiewicz.

Ganz ausdrücklich bedanke ich mich bei Frau Dr. Gabriele Laschinski und Herrn Dr. Andreas Johné für aufmerksames Korrekturlesen, wertvolle Kritik und zahlreiche konstruktive Ratschläge, sowie bei Herrn Dr. Uwe Malzahn und Herrn Dr. Werner Terhalle, die mir sehr bei der statistischen Auswertung halfen.

Den HNO-Tumorzentren der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte und Virchow-Klinikum danke ich für die Überlassung der Proben.

Für die angenehme Arbeitsatmosphäre im Labor möchte ich mich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Labors für Molekulargenetik, insbesondere bei Frau Hannelore Maszynski, bedanken.

Meine Eltern unterstützten mich zu jeder Zeit meines Studiums großzügig und begleiteten meine Arbeit an der Dissertation mit Interesse und großer Anteilnahme. Ihnen, Max Ehwald und meinen Freunden gilt mein ganz persönlicher Dank.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Erklärung

Ich, Elisabeth Weber, erkläre, dass ich die vorliegende Dissertation „Genetische Polymorphismen in den DNA-Reparaturenzymen ERCC1, XPC, XPF und PCNA und ihre Assoziation zu Larynxkarzinomen“ selbst und ohne unzulässige Hilfe Dritter verfasst habe, dass sie auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig angegeben sind.

Berlin, 12.06.2007

Elisabeth Weber