

Charité-Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin  
Labor für molekulare Onkologie  
(Leiter: Priv.Doz. Dr. med. Dr. phil. A.D. Ebert)  
der  
Frauenklinik und Poliklinik  
(Kommissarischer Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. W. Kühn)

**Expression der Wachstumsfaktoren CR-1,  
TGF $\alpha$  und des Rezeptors erbB-2 im  
zervikalen Normalgewebe, der Cervicalen  
Intraepithelialen Neoplasie und im  
Plattenepithelkarzinom  
der humanen Zervix uteri**

**Inaugural-Dissertation**

**zur**

**Erlangung der medizinischen Doktorwürde**

**der Charité-Universitätsmedizin Berlin**

**Campus Benjamin Franklin**

**vorgelegt von Jens Maria Stieler**

**aus**

**Boston, Massachusetts, USA**

**Referent:** Privatdozent Dr. med Dr. phil. Andreas D. Ebert

**Korreferent:** Professor Dr. med. Werner Lichtenegger

**Gedruckt mit Genehmigung der  
Charité Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin**

**Promoviert am:** 3.9.2004

## Abkürzungsverzeichnis

### **Abkürzungsverzeichnis:**

ActRIIb	Typ IIb Activin Rezeptor
AGO	Arbeitsgemeinschaft gynäkologische Onkologie
AIDS	Acquired Immundeficiency Syndrome
ADP	Adenosindiphosphat
AKT	Synonym Proteinkinase B
ALK	Activin-receptor like kinase
AL	Afterload
APAAP	Alkalische Phosphatase Anti Alkalische Phosphatase
ATP	Adenosintriphosphat
Bhdl	Behandlung
CA 125	Cancer Antigen 125
CDK	Cyclin dependent Kinase
CEA	Carcinoembryonales Antigen
CFC	Cryptic-FRL-1-Cripto Proteinfamilie
CIN	Cervikale intraepitheliale Neoplasie
CR-1	Cripto-1
c-myc	Oncogen des MC29 avian myelocytomatosis virus
DNA	Desoxynucleinic acid
E	Early (im Zusammenhang mit HPV-Genom)
E2F	Elongationsfaktor 2F
EGF	Epidermal Growth Factor
EGF-CFC	Familie von Wachstumsfaktoren
EGF-R	EGF-Rezeptor
FIGO	Fédération internationale de gynécologie et d'obstétrique
G0	Ruhephase des Zellzyklus
G1	Ruhephase des Zellzyklus
GDF-1	Growth Differentiation Factor 1
GPI	Glycerolphosphoinositol

## Abkürzungsverzeichnis

GSK-3 beta	Glykogen Synthase Kinase 3 beta
HCC	hepatocellular carcinoma
HE	Hämatoxylin Eisen
HPV	Human Papillomavirus
HIV	Human Immundeficiency Virus
HLA	Human Leucocyte Antigen
IRS	Immunreaktiver Score
KaM	Kaninchen anti Maus
Kb	Kilobasen
KD	Kilodalton
Komb.Rad	kombinierte Radiatio (perkutan und Afterloading)
Kum.	Kumulativ
L	Late (im Zusammenhang mit HPV-Genom)
LEEP	Loop electro excisional procedure
MAPK	Mitogen aktivierte Proteinkinasen
M-Phase	Mitosephase des Zellzyklus
MHC	Major Histocompatibility Complex
mRNA	messenger RNA
NIH3T3	murine Fibroblastenzelllinie
NTERA2	humane Teratokarzinomzelllinie
PI-3	Phosphoinositol-3
Ras	Oncogen; Name leitet sich her von rat sarcoma
Rb	Retinoblastoma-Genprodukt
RNA	Ribonucleic Acid
SKBR3	Mammakarzinomzelllinie
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SMAD	Signalübertragungsprotein; die Abkürzung ist eine Fusion aus den Nematoden Genen SMA 2,3 und 4 sowie dem Drosophilagen mad (mothers against decapentaplegic), unterschieden werden inhibitorische (I-)

## Abkürzungsverzeichnis

	SMAD, Rezeptor- (R-) SMAD und Co-SMADs
URR	Upstream Regulatory Region
SCC	Squamous cell carcinoma antigen
S-Phase	Synthese Phase des Zellzyklus
TNM	Tumor Nodi Metastasis
TGF	Transforming Growth Factor
TRIS	Trishydroxymethylaminoethan
UFIGO	FIGO-Substadien

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
1.1	<i>Epidemiologie des Zervixkarzinoms</i>	1
1.2	<i>Histologische Einteilung</i>	1
1.3	<i>Risikofaktoren</i>	2
1.4	<i>Präkanzerosen und Latenzzeit der Karzinomentstehung</i>	2
1.5	<i>Prognosefaktoren</i>	4
1.5.1	Klinische Prognosefaktoren	4
1.5.2	Biologische Marker	4
1.6	<i>Bedeutung von Wachstumsfaktoren</i>	5
1.6.1	Cripto-1 (CR-1)	6
1.6.2	Transforming Growth Factor $\alpha$ (TGF $\alpha$ )	9
1.6.3	Der Rezeptor erbB-2 (HER-2/neu)	10
1.7	<i>Ziel der Untersuchung</i>	10
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>12</b>
2.1	<i>Einteilung und Ausbreitung der Karzinome mit Überblick über Therapieoptionen</i>	12
2.2	<i>Das Patientenkollektiv</i>	13
2.3	<i>Altersverteilung der Kollektive</i>	16
2.3.1	Gegenüberstellung der Altersverteilung von Karzinom- zu CIN III und Kontrollgruppenpatientinnen ( <i>Abbildung 1</i> )	16
2.3.2	Altersverteilung der Karzinome in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium ( <i>Abbildung 2</i> )	16
2.3.3	Altersverteilung in Abhängigkeit vom Grading ( <i>Abbildung 3</i> )	17
2.4	<i>Immunhistochemie</i>	18
2.4.1	Schneiden und Entparaffinisierung der Präparate	18
2.4.2	Vorbehandlung	19
2.4.2.1	CR-1	19
2.4.2.2	TGF $\alpha$	20
2.4.2.3	erbB-2	20
2.4.3	Abdecken unspezifischer Bindungsstellen	20
2.4.4	Inkubation mit dem Primärantikörper	20
2.4.4.1	Primärantikörper CR-1	20
2.4.4.2	Primärantikörper TGF $\alpha$	21
2.4.4.3	Primärantikörper erbB-2	21
2.4.5	Anwendung von Brückenantikörpern	21
2.4.5.1	Brückenantikörper für CR-1	22
2.4.5.2	Brückenantikörper für TGF $\alpha$ und erbB-2	22
2.4.6	Entwicklung	23
2.5	<i>Kontrollen</i>	24
2.5.1	Spezifität der Antikörper	24
2.5.1.1	CR-1-Primärantikörper	24
2.5.1.2	TGF $\alpha$ Primärantikörper und erbB-2 Primärantikörper	24
2.5.2	Positivkontrollen und Negativkontrollen	24
2.6	<i>Auswertung</i>	27
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>29</b>
3.1	<i>5-Jahresüberleben der Tumorpatientinnen</i>	29
3.1.1	FIGO-Stadien und Gesamtüberleben	29
3.1.2	Überleben nach Grading ( <i>Tabelle 9,Abbildung 5</i> )	30

## Inhaltsverzeichnis

3.1.3	Überleben nach Primärtherapie (Tabelle 10, Abbildung 6)	31
3.1.4	Überleben nach Lymphknotenstatus (Tabelle 11, Abbildung 7)	33
3.2	<i>Ergebnisse in Abhängigkeit von den nachgewiesenen Antigenen</i>	34
3.2.1	CR-1-Expression in den verschiedenen Geweben	34
3.2.1.1	Normales Plattenepithel der Zervix (Bild 4, Bild 5, Bild 6, Bild 7)	34
3.2.1.2	Cervikale Intraepitheliale Neoplasie (Bild 8, Bild 9)	36
3.2.1.3	Plattenepithelkarzinom der Zervix (Bild 10, Bild 11, Bild 12)	36
3.2.1.4	Vergleich der CR-1-Expressionsstärke in Normalgewebe, CIN und Plattenepithelkarzinom (Abbildung 8)	39
3.2.1.5	Korrelation der CR-1-Expression mit klinischen Parametern	40
3.2.2	TGF $\alpha$ -Expression in den verschiedenen Geweben	46
3.2.2.1	Normales Plattenepithel der Zervix (Bild 13)	46
3.2.2.2	Cervikale Intraepitheliale Neoplasie (Bild 14)	47
3.2.2.3	Plattenepithelkarzinom der Zervix (Bild 15, Bild 16)	48
3.2.2.4	Vergleich der TGF $\alpha$ -Expressionsstärken in Normalgewebe, CIN und Plattenepithelkarzinom (Abbildung 16)	50
3.2.2.5	Korrelation der TGF $\alpha$ - Expression mit klinischen Parametern	51
3.2.3	erbB-2-Expression in den verschiedenen Geweben	56
3.2.3.1	Normales Plattenepithel der Zervix (Bild 17, Bild 18)	56
3.2.3.2	Cervikale Intraepitheliale Neoplasie (Bild 19, Bild 20)	58
3.2.3.3	Plattenepithelkarzinom der Zervix (Bild 21)	59
3.2.3.4	Vergleich der erbB-2-Expressionstärke in Normalgewebe, CIN und Karzinom (Abbildung 24)	59
3.2.3.5	Korrelation der erbB-2-Expression mit klinischen Parametern	61
3.3	<i>Koexpressionen der untersuchten Antigene</i>	66
3.3.1	Koexpressionen im Normalgewebe	67
3.3.2	Koexpressionen in der CIN III	69
3.3.3	Koexpressionen im Karzinom	70
3.3.4	Überleben abhängig von der Koexpression von TGF $\alpha$ und erbB-2	73
4	<b>Diskussion</b>	75
4.1	<i>Das Kollektiv und das Überleben ohne Berücksichtigung der untersuchten Antigene</i>	75
4.2	<i>CR-1</i>	78
4.3	<i>TGF<math>\alpha</math></i>	86
4.4	<i>erbB-2</i>	89
4.5	<i>Koexpression von TGF<math>\alpha</math> und erbB-2</i>	96
5	<b>Zusammenfassung</b>	98
6	<b>Ausblick</b>	99
	<b>Danksagung</b>	100
	<b>Lebenslauf</b>	101
7	<b>Literaturverzeichnis</b>	102