

1 EINLEITUNG

1.1 Das Plattenepithelkarzinom des Mundbodens – ein allgemeiner Überblick

Mit über 80 % machen Plattenepithelkarzinome den größten Anteil der Tumoren von Mundhöhle, Zunge und Lippen aus (Atula *et al.*, 1996). Im Mundboden entstehen sie typischerweise im vorderen Teil der Mundbodenrinne (Sulcus glosso-alveolaris) und stellen sich in über 90 % der Fälle als in die Umgebung einwachsende Geschwüre mit glatten, verhärteten und eingerollten Rändern dar. Sie infiltrieren rasch Zunge und Mundbodenmuskulatur. Die Metastasierung erfolgt frühzeitig in die regionär gelegenen submandibulären und submentalen Lymphknoten; später werden die tiefen Lymphknoten entlang der V. jugularis interna befallen. Bei Tumorsitz im vorderen Mundbereich erfolgt in den meisten Fällen eine beidseitig lymphogene Metastasierung. Hämatogene Metastasen, die vor allem Lunge, Leber und Knochen betreffen, treten in 15 % der Fälle auf (Jakse *et al.*, 2003).

Von solch einem Karzinom betroffen sind vor allem Männer zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr, die eine langjährige Tabak- und Alkoholanamnese aufweisen. Unter diesen anerkannten Faktoren ist das Malignomrisiko im Kopf-Hals-Bereich im Vergleich zum Nichtraucher oder Nichttrinker um das 15-fache erhöht, wobei der kombinierte Genuss ein sich multiplizierendes Risiko birgt (Llewellyn *et al.*, 2001). Weitere begünstigende Faktoren sind mangelhafte Mundhygiene, Ernährungsdefizite in Form von Vitamin A- und C-Mangel, chronische Traumen durch Zahnkanten oder schlecht sitzende Prothesen (Jakse *et al.*, 2003). Auch Rasse, Geschlecht und Alter werden mit unterschiedlicher Inzidenz, Mortalität, Lokalisation, Differenzierung und histologischem Typ in Zusammenhang gebracht (Funk *et al.*, 2002). Llewellyn *et al.* (2001) beschreiben, dass in den letzten Jahren eine deutliche Neuerkrankungszunahme bei alten (> 80 Jahre) und jungen (< 40 Jahre) Menschen beobachtet wurde. Ein Großteil der unter 40-jährigen gab an, nie geraucht oder Alkohol in übermäßigem Ausmaß konsumiert zu haben. Im Vergleich zu älteren Patienten wäre die Zeitdauer für eine maligne Zelltransformation viel zu kurz. Es besteht bisher keine Einigkeit, ob die Pathogenese oraler Karzinome von jungen Menschen der von älteren Patienten gleicht (Llewellyn *et al.*, 2001). Beobachtungen an der Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum, zeigten in den vergangenen Jahren weiterhin, dass zunehmend Frauen einen Großteil des neuen Patientenguts ausmachen. Ohne

offensichtliche Risikofaktoren nachweisen zu können, präsentierten sie auffallend häufig besonders aggressive und therapieresistente Formen von Mundbodenkarzinomen.

1.2 Das Östrogen 17- β -Estradiol – Bedeutung in der Pathogenese von Mundbodenkarzinomen?

Diese Beobachtung stellte den Einfluss von Hormonen in der Pathogenese von Mundbodenkarzinomen in den Mittelpunkt weiterer Untersuchungen. Eines der bedeutendsten ist das zu den Steroidhormonen zählende Östrogen 17- β -Estradiol, welches aufgrund seines vorwiegend wachstumsstimulierenden Effekts auf Gewebe bereits als Karzinogen in der Entstehung von Mammakarzinomen anerkannt ist. Verschiedene Mechanismen werden diesbezüglich diskutiert. Zum einen kann es in der Fetalzeit bei übermässiger Exposition als Präinitiator wirken, zum anderen kann es in späteren Lebensphasen zur DNA-Schäden induzierenden freien Radikalbildung beitragen oder mitogenen Einfluss auf bereits existente maligne Zellen nehmen (Platet *et al.*, 2004).

Aber auch andere Zellverbände erfahren unter 17- β -Estradiol einen Proliferationsreiz. In Ovar und Endometrium führt es zu Hyperplasie, wodurch das Risiko einer malignen Entartung steigt (American Society for Reproductive Medicine, 2004). Nacktmäusen subkutan implantierte humane vestibuläre Schwannoma zeigen ebenfalls deutlich verstärktes Wachstum unter Östrogeneinfluss (Stidham *et al.*, 1999). Auch Osteoblasten stehen unter positiver Beeinflussung, was in der Osteoporosetherapie genutzt wird. Stabile *et al.* (2004) zitieren Studien, in welchen Frauen eine höhere Morbidität an tabakinduzierten Lungentumoren zugeschrieben wird als Männern. Sie schreiben das dem höheren Östrogenspiegel zu, der einen stimulierenden Einfluss auf das Lungentumorgewebe hat. In Vaginalschleimhaut führt der Wegfall der ovariellen Östrogenproduktion in der Menopause zu Epithelatrophy und verminderter Produktion des schützenden Mukus. Es resultieren entzündliche Veränderungen, welche mit Östrogenpräparaten behandelt werden (Valimaa *et al.*, 2004). Gleiches Phänomen ist in Mundschleimhaut, welche ähnlich der Vaginalmukosa aus mehrschichtigem, unverhorntem Plattenepithel besteht, zu beobachten. Auch hier kommt es in der Menopause zu Atrophie und vermehrter Anfälligkeit für Entzündungen. Valimaa *et al.* (2004) berichten, dass die Hormongabe betroffene Frauen von den Beschwerden befreit. Die östrogenprotektive Wirkung auf Mundschleimhaut wird durch die Beobachtung von Dietrich *et al.* (2004) unterstrichen, dass Männer an oraler Leukoplakie, der häufigsten Präkanzerose des oralen Plattenepithelkarzinoms, weit häufiger erkranken als Frauen.

Für Frauen, die zusätzlich unter hormoneller Therapie standen, konnte kein einziger Fall beschrieben werden. Ebenso beobachteten Hashibe *et al.* (2000) eine inverse Relation zwischen BMI (*body mass index*) und oraler Leukoplakie in einer großen indischen Population. Sie schrieben das der stärkeren Östrogenproduktion bei vermehrtem Fettgewebe, höherem BMI, zu. Das zeigt, dass zirkulierende Östrogene nicht nur einen protektiven Effekt auf Vaginal-, sondern auch auf Oralmukosa haben (Leimola-Virtanen *et al.*, 2000).

1.3 Die Östrogenrezeptoren – Angriffspunkte für Östrogene und Antiöstrogene

Die am besten untersuchten zellulären Angriffspunkte des 17- β -Estradiol sind die Östrogenrezeptoren α und β . Zu den nukleären Steroidhormonrezeptoren zählend machen sie nach Ligandenbindung eine Rezeptordimerisierung mit ausgedehnter Konformationsänderung durch, um anschließend als Transkriptionsfaktoren an östrogenresponsiven Elementen der DNA zu binden. Gewebs- und zellabhängig bewirken sie in den meisten Fällen eine Stimulation von Genexpression und Zellproliferation, wobei in der Regel viele Stunden bis zum Eintreten der Effekte vergehen (Osborne *et al.*, 2000). Song *et al.* (2005) und Thomas *et al.* (2005) beschreiben auch schnelle östrogenhormonale Wirkungen, die sie auf das Vorhandensein von Zelloberflächenformen des Östrogenrezeptors und der direkten Hormoninteraktion mit zytosolischen Signalproteinen im Sinne nicht-genomischer Signalwege zurückführen. In unveränderter Mundschleimhaut machten Valimaa *et al.* (2004) den Östrogenrezeptor β als den vorherrschenden Subtypen aus und schreiben ihm die Vermittlung der physiologischen Östrogenwirkung zu. In oralen Plattenepithelkarzinomen wurden beide Rezeptorsubtypen durch Kushlinskii *et al.* (1988) und Carey *et al.* (persönliche Kommunikation, Thomas E. Carey) nachgewiesen.

1.4 Die Antiöstrogene Tamoxifen und ICI 182,780 (Faslodex)

Neben den physiologisch vorkommenden Östrogenen agieren auch synthetische Substanzen über die erwähnten Rezeptoren. So hemmt das Triphenylethylen Tamoxifen durch kompetitiven Antagonismus in Mammakarzinomzellen die östrogenen Effekte auf wachstumsregulierende Gene, was zu einem G₁-Zellzyklusblock mit konsekutiver Minderung der malignen Zellproliferation führt (Osborne, 1998; Dhingra, 1999). Aus diesem Grund wird es seit Ende der 70-iger Jahre erfolgreich in der adjuvanten und chemopräventiven Therapie östrogenrezeptorpositiver Mammakarzinome eingesetzt. In Geweben wie Knochen oder Endometrium wirkt es

dagegen östrogenagonistisch, was klinische Bedeutung in der Osteoporoseprophylaxe hat bzw. ein erhöhtes Risiko einer Endometriumhyperplasie und -entartung birgt. Insgesamt ist die Wirkweise des Tamoxifens abhängig von Spezies, Gewebe, Zelle und Zielgen, weshalb man es zu den selektiven Östrogenrezeptormodulatoren zählt (Osborne *et al.*, 2000). Für Larynxtumoren beschrieben Shapira *et al.* (1986) eine Wachstumsinhibition durch Tamoxifen. Gleiches konnten Tavassoli *et al.* (2002) für verschiedene Kopf-Hals-Tumoren zeigen. Dabei werden neben den Östrogenrezeptoren weitere Wirkmechanismen des Tamoxifen diskutiert. Es soll die Proteinkinase C, Calmodulin und das Enzym CDP hemmen, woraus Zytotoxizität resultiert. Es stimuliert außerdem die Sekretion des auf einige epitheliale Malignome antiproliferativ wirkenden TGF- β (*tumor growth factor*), supprimiert in Mammakarzinomen die autostimulierte TGF- α -Produktion und induziert in anderen Tumorzellarten den programmierten Zelltod (Ellis *et al.*, 1997; Osborne, 1998).

Ausschließlich antagonistisch an den Östrogenrezeptoren wirkt dagegen ICI 182,780 (Faslodex) in allen bisher untersuchten Zellen (Morris *et al.*, 2002). Es verhindert die Rezeptordimerisierung und induziert dessen Degradierung, was zu einer Reduktion der Rezeptorkonzentration um mehr als 90 % führt (Fawell *et al.*, 1990; Dauvois *et al.*, 1992). In den USA wird es seit 2002 bei Patientinnen mit hormonsensitivem, fortgeschrittenem oder metastasierendem Mammakarzinom eingesetzt, die unter Tamoxifen eine Therapieresistenz entwickelten (Morris *et al.*, 2002).

1.5 Integrine in Karzinomen – eine ätiopathologische Betrachtung

Grundlegend involviert in die Pathogenese von Plattenepithelkarzinomen sind die physiologisch vorkommenden Integrine. Diese zu den Zelladhäsionsmolekülen zählenden Rezeptoren verleihen Epithelzellverbänden einerseits mechanische Festigkeit durch „Verkleben“ der Zellen untereinander, andererseits durch „Verkleben“ der Zellen mit extrazellulären Matrixproteinen. Durch zusätzliche Verankerung mit intrazellulären Proteinen stellen sie eine Schnittstelle zwischen Innen- und Außenwelt der Zelle her. Sie modulieren das Aktinzytoskelett und initiieren als Signaltransduktionsmoleküle eine Vielzahl intrazellulärer Signalkaskaden. Auf diese Weise steuern sie essentielle Prozesse wie Zelldifferenzierung, -adhäsion und -migration und beeinflussen grundlegend zelluläre Lebens- und Überlebensvorgänge (van der Flier *et al.*, 2001; Ginsberg *et al.*, 2005).

Aufgebaut sind Integrinrezeptoren aus zwei nicht-kovalent miteinander gebundenen α - und β -Untereinheiten, welche jeweils eine transmembranäre, eine extra- und eine intrazelluläre Domäne aufweisen und in ihrer Struktur Glykoproteine darstellen (Abb. 1.1). Die extrazellulären Domänen bilden gemeinsam eine Ligandenbindungstasche, welche vor allem extrazelluläre Matrixproteine wie Laminine, Kollagene oder Vitronectine bindet. Die intrazellulären Domänen interagieren mit zytoplasmatischen Signalmolekülen und Proteinen des Zytoskeletts. Bisher sind mehr als 20 Integrine beschrieben, die aus 8 β - und 18 α -Untereinheiten gebildet werden und spezifische Funktionen wahrnehmen (Kuphal *et al.*, 2005).

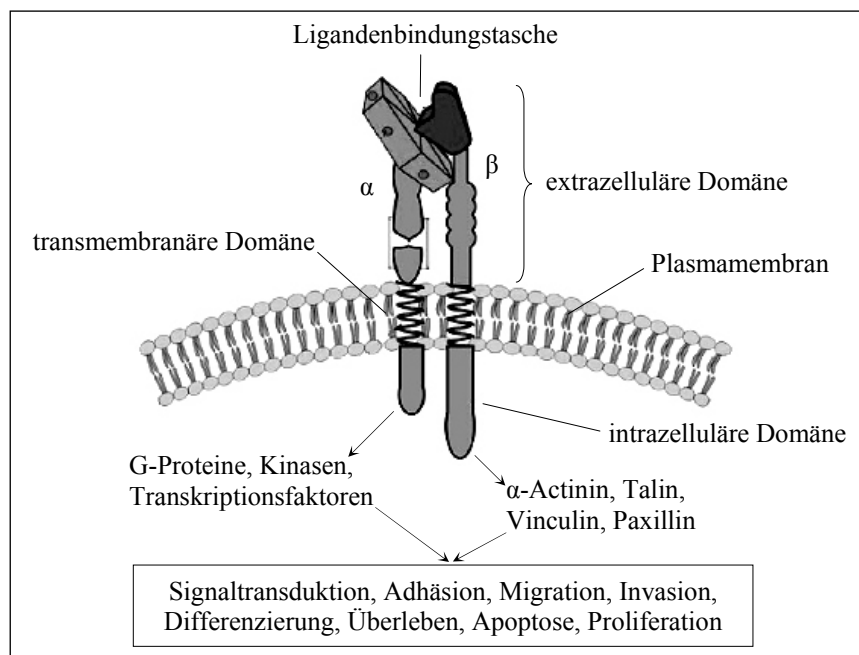


Abbildung 1.1: **Schematische Darstellung eines Integrinrezeptors**
Erläuterungen siehe Text (modifiziert nach Kuphal *et al.*, 2005)

1.6 Zwei bedeutende Vertreter – die Integrine $\alpha6\beta4$ und $\alpha6\beta1$

Zwei bedeutende Vertreter der Integrinfamilie sind die Integrine $\alpha6\beta4$ und $\alpha6\beta1$. Ersteres ist essentieller Bestandteil epithelialer Hemidesmosomen, welche das Aktinzytoskelett mit Lamininen der Basalmembran verknüpfen. Auf diese Weise trägt es grundlegend zu Organisation und Stabilität der epithelialen Architektur bei (Mercurio *et al.*, 2001). Verdeutlicht wird diese Eigenschaft durch die Beobachtung, dass Defekte der $\beta4$ -Untereinheit sowohl in $\beta4$ -defizienten *knock out*-Mäusen als auch beim Menschen zu epidermaler Blasenbildung mit teilweise kompletter Ablösung der Epidermis führen (Vidal *et al.*, 1995; Dowling *et al.*, 1996; van der Neut *et al.*, 1996). Weiterhin kann es die Polymerisation des Zytoskeletts initiieren,

wodurch Zellformveränderungen und die Ausbildung fingerförmiger Ausläufer induziert werden. Diese Zellausläufer, reich an Aktinfilamenten und aktinassoziierten Proteinen wie Myosin, bewirken ähnlich einer Muskelzelle Kontraktionen. Dadurch gewinnt die Zelle die Fähigkeit zur aktiven Migration. Unterstützt wird der Vorgang durch den alternierenden Auf- und Abbau integrinvermittelter Adhäsionskontakte an Zellfront und Zellende. Es resultiert eine aktive Translokation des Zellkörpers nach klettverschlussähnlichem Prinzip. Gleichzeitig werden über $\alpha 6 \beta 4$ intrazelluläre Signalmoleküle aktiviert. Zu diesen zählen die cAMP-spezifische PDE (*Phosphodiesterase*), welche den cAMP-Spiegel senkt. Das fördert die chemotaktische Zellmigration und die Ausbildung und Stabilisierung der erwähnten Zellausläufer (Rabinovitz *et al.*, 1997; O'Connor *et al.*, 1998; Horwitz *et al.*, 1999).

Hingegen steuert das Integrin $\alpha 6 \beta 1$ vorwiegend die terminale Differenzierung von Epithelzellen. Es wird exprimiert von Stammzellen, die über $\alpha 6 \beta 1$ den Kontakt zu Basalmembranlamininen herstellen. Expressionsabnahme und eine eingeschränkte Ligandenbindung veranlassen die Zellen, ihr Kompartiment zu verlassen und in höhere Zellschichten zu migrieren. Das Integrin $\alpha 6 \beta 1$ verliert bei diesen Prozessen vollständig die Fähigkeit der Ligandeninteraktion und in Folge durchlaufen die Epithelzellen die terminalen Differenzierungsprozesse (Adams *et al.*, 1990; Hotchin *et al.*, 1992). Bei weiterbestehender suprabasaler $\beta 1$ -Expression konnten Carroll *et al.* (1995) neben einer gestörten Keratinozytendifferenzierung eine epidermale Hyperproliferation beobachten. In einigen Zelltypen werden dem Verlust der $\beta 1$ -vermittelten Zelladhäsion an der Basalmembran weiterhin eine zelluläre Wachstumshemmung und die Apoptoseeinleitung, welche im Rahmen der Anoikis das Absiedeln von Zellen in fernen Organen verhindern soll, zugesprochen. In diesem Zusammenhang beobachteten Wewer *et al.* (1997) in $\alpha 6 \beta 1$ -defizienten Brustkarzinomzelllinien eine deutliche Wachstumssuppression mit stark erhöhter Apoptoserate im Vergleich zu einer exprimierenden Kontrollgruppe. Ebenso konnten Boudreau *et al.* (1995) durch spezifische $\beta 1$ -Integrinantikörper den programmierten Zelltod in Mammaepithelzellen induzieren.

1.6.1 Die Integrine $\alpha 6 \beta 1$ und $\alpha 6 \beta 4$ – zwei grundlegende Faktoren der Karzinogenese

In der Karzinogenese von Plattenepithelkarzinomen sind die Integrine $\alpha 6 \beta 1$ und $\alpha 6 \beta 4$ an definierten Schritten – wie dem Einbruch der Karzinomzellen in die Basalmembran – beteiligt. Die Tumorzellen binden über sie selektiv am umgebenden Stroma, woraufhin eine gerichtete zelluläre Sekretion von verschiedenen proteolytischen Enzymen eingeleitet wird. Diese bewirken

eine Lyse von Basalmembran und umgebender extrazellulärer Matrix. Durch Umstrukturierung des Aktinzytoskeletts erfolgt die Ausbildung der fingerförmigen Zellausläufer, wodurch die aktive Migration im neu erschlossenen Gewebekompartiment beginnt. Durch gleichzeitige Signaltransduktion der veränderten Umgebungsbedingungen in das Zellinnere kann die Zelle adäquat reagieren und sich den neuen Gegebenheiten anpassen (Mercurio *et al.*, 2001; Ziober *et al.*, 2001). Dabei spielt die durch $\alpha 6\beta 4$ aktivierbare PI3-K (*Phosphoinositid-3-OH-Kinase*) eine wichtige Rolle. Durch Regulation einer Vielzahl untergeordneter Moleküle fördert sie das Invasionspotential von Karzinomzellen und hemmt deren programmierten Zelltod, welcher unter proapoptischen Bedingungen wie der häufig bestehenden Hypoxie in Tumorgewebe, eingeleitet wird (Franke *et al.*, 1997; Datta *et al.*, 1999).

Für eine Tumorprogression wurde vielfach eine verstärkte Expression der Integrine $\alpha 6\beta 4$ und $\alpha 6\beta 1$ verantwortlich gemacht. In normalen Thyreozyten nicht nachweisbar beschrieben Serini *et al.* (1996) in invasiven Schilddrüsenkarzinomzellen eine *de novo*-Expression von $\alpha 6\beta 4$. Durch exogene Expression des gleichen Integrins konnten Chao *et al.* (1996) in $\beta 4$ -defizienten Kolonkarzinomzellen verstärkte Adhäsion und Invasivität induzieren. Ebenso wurde die verstärkte $\alpha 6\beta 4$ -Expression mit der Progression von Plattenepithel- und ovariellen Karzinomen in Zusammenhang gebracht (Kimmel *et al.*, 1986; Bottini *et al.*, 1993). In einer prospektiven Studie mit 119 Frauen, die an einem invasiven Mammakarzinom erkrankt waren, wurde die Expression der Integrinuntereinheit $\alpha 6$ mit verminderter Überlebenszeit korreliert. Es wurde beobachtet, dass Patientinnen ohne $\alpha 6$ -Expression (24 %) nicht an der Erkrankung verstarben (Friedrichs *et al.*, 1995). Bonaccorsi *et al.* (2000) hemmten die Invasivität von Prostatakarzinomzellen durch $\alpha 6\beta 4$ -supprimierende Androgenrezeptorexpression. In Mammakarzinomzellen konnten Lipscomb *et al.* (2003) eine starke Hemmung von Migration und Invasion erreichen, indem sie die $\alpha 6$ - und $\beta 4$ -Integrinuntereinheiten durch *short interfering RNA* (siRNA), welche Transkriptionsprodukte spezifisch degradiert, ausschalteten. Ebenfalls in Brustkarzinomzellen beobachteten Schehr *et al.* (1997) neben einer Neuorganisation des Aktinzytoskeletts eine terminale Zelldifferenzierung der entdifferenzierten Tumorzellen bei $\beta 1$ -Blockade. Im Vergleich zur umgebenden Mukosa fanden Eriksen *et al.* (2004) eine signifikant erhöhte $\beta 1$ - und $\beta 4$ -Expression in Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen. Gleiches zeigten Guszczyn *et al.* (2004) für die $\beta 1$ -Expression von Magenkarzinomen. In Larynxkarzinomen sehen Charalabopoulos *et al.* (2005) die erhöhte Expression des Integrins $\alpha 5\beta 1$ als negativen prognostischen Faktor. Diese Beobachtungen und Versuche weisen darauf hin, dass durch

Modulation der Integrinexpression eine Alteration der Tumormalignität im Sinne einer Progression oder Regression zu erreichen ist.

1.7 17- β -Estradiol – ein Modulator der Integrinexpression in östrogenresponsiven Geweben

Für wenige östrogenresponsive Gewebe wurde ein Einfluss von 17- β -Estradiol auf die Integrinexpression bereits beschrieben. In humanen Trophoblastzellen des ersten Trimester induzierte die Behandlung mit diesem Östrogen die Expression der Integrinuntereinheiten $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 6$ und αv sowohl auf mRNA- als auch auf Proteinebene, während die Expression der $\beta 1$ -Untereinheit unverändert blieb (Das und Basak, 2003). In kultivierten, sich in der proliferativen Phase befindenden Endometriumstromazellen verstärkte sie dagegen die $\beta 1$ -Expression (Yoshimura *et al.*, 1998). In humanen Umbilicalvenenendothelzellen stimulierte 17- β -Estradiol die mRNA-Expression der Untereinheiten $\beta 1$, $\alpha 5$ und $\alpha 6$ (Cid *et al.*, 1999); ebenso in Mammagewebe von Ratten die Expression des Integrins $\alpha 2\beta 1$ (Iype *et al.*, 2001). In der Mammakarzinomzelllinie MCF-7 beobachteten Swiatecka *et al.* (2000) unter 17- β -Estradiolgabe neben vermehrter Kollagensynthese ebenfalls eine verstärkte $\beta 1$ -Expression.

1.8 Die Zelllinien UM-SCC 14A, 14B und 14C – progrediente Tumorstadien eines T1N0M0-Plattenepithelkarzinoms des Mundbodens

Ein *in vitro*-Modell eines Plattenepithelkarzinoms des Mundbodens sind die Zelllinien UM-SCC 14A, 14B und 14C. Sie wurden Anfang der 80-iger Jahre an der University of Michigan (Ann Arbor, MI, USA) aus progredienten Stadien eines T1N0M0(G3)-Plattenepithelkarzinoms des Mundbodens einer 58-jährigen Patientin etabliert (Carey, 1994). Die Zelllinie UM-SCC 14A stellt das erste Rezidiv nach chirurgischer Resektion und postoperativer Bestrahlung des Primärtumors dar. Die Zelllinie UM-SCC 14B stellt das zweite Rezidiv nach erneuter chirurgischer Behandlung dar. Die Zelllinie UM-SCC 14C wurde aus diesem Rezidiv nach palliativer Chemotherapie mit 5-Fluorouracil, Velbam und Methotrexat, unter welcher keine Rezidivregression zu erreichen war, etabliert. Bereits in jener Zeit wiesen Carey *et al.* die Östrogenrezeptoren α und β in diesen Tumorzelllinien nach (persönliche Kommunikation, Thomas E. Carey).

1.8.1 17- β -Estradiol, Tamoxifen und ICI 182,780 (Faslodex) – Modulatoren der Integrinexpression in einem progredienten Tumorleiden?

Erste Versuche bezüglich der Integrinexpression, des Adhäsions- und Invasionsverhaltens unter dem Einfluss von 17- β -Estradiol, Tamoxifen und ICI 182,780 (Faslodex) führten Nelson *et al.* vor kurzer Zeit durch (persönliche Kommunikation, Katja Nelson). Mit Progression der Tumorerkrankung von UM-SCC 14A über 14B zu 14C und zunehmender Entdifferenzierung zeigten die unbehandelten Zelllinien eine Zunahme der Adhäsion gegenüber den extrazellulären Matrixproteinen Laminin 1, Fibronectin, Kollagen I und Kollagen IV. Die Behandlung mit 17- β -Estradiol führte zu einer signifikanten Adhäsionsminderung in allen drei Zelllinien. Lediglich die Laminin 1-Adhäsion der UM-SCC 14B-Zellen wurde durch die Östrogengabe nicht beeinflusst.

In den Zelllinien UM-SCC 14B und 14C wurde die Adhäsion weiterhin durch ICI 182,780 (Faslodex) und Tamoxifen signifikant gemindert. Sie hatten keinen Einfluss auf das Adhäsionsverhalten der Zelllinie UM-SCC 14A. Das höchste Invasionspotential konnte für die Zelllinie UM-SCC 14B nachgewiesen werden. Ausschließlich die Gabe von ICI 182,780 (Faslodex) bewirkte eine signifikante Suppression.

Die zelluläre Oberflächenexpression der Untereinheiten α_6 , β_1 und β_4 wurde mittels Immunfluoreszenz und FACS-Analyse (*fluorescence activated cell sorting*) untersucht. Es zeigte sich, dass alle drei Zelllinien diese Untereinheiten gleichsam exprimieren. Die anschließende Behandlung mit Östrogenen und Antiöstrogenen resultierte in einer signifikanten β_1 -Oberflächensuppression in der Zelllinie UM-SCC 14A unter dem Einfluss von ICI 182,780 (Faslodex). In den anderen Zelllinien hatten 17- β -Estradiol, ICI 182,780 (Faslodex) und Tamoxifen keinen Einfluss auf die Proteinexpression der Integrinuntereinheiten α_6 , β_1 und β_4 .

1.9 Zielsetzung und Aufbau dieser Arbeit

In Vorversuchen wurde gezeigt, dass das Östrogen 17- β -Estradiol und die Antiöstrogene ICI 182,780 (Faslodex) und Tamoxifen das Adhäsions- und Invasionsverhalten der Plattenepithelkarzinomzelllinien UM-SCC 14A, 14B und 14C signifikant beeinflussen. Grundlegend involviert in diese Prozesse sind die Integrine $\alpha 6\beta 1$ und $\alpha 6\beta 4$. Eine Regulation der Untereinheit $\beta 1$ auf Proteinebene in der Zelllinie UM-SCC 14A durch ICI 182,780 (Faslodex) ist bewiesen. In dieser Arbeit soll geklärt werden, ob die $\beta 1$ -Proteinsuppression durch Modulationen der Transkription initiiert wird. Gleichzeitig soll gezeigt werden, dass die Integrinuntereinheiten $\alpha 6$ und $\beta 4$ auf dieser Ebene keiner Regulation durch 17- β -Estradiol, ICI 182,780 (Faslodex) und Tamoxifen unterliegen. Als Versuchsmodell werden die Plattenepithelkarzinomzelllinien UM-SCC 14A, 14B und 14C eingesetzt, die aufgrund ihrer Progredienz eine zunehmend aggressive Therapie – Chirurgie, Bestrahlung und Chemotherapie – erfahren haben. Sie werden mit jeweils 1 μ M und mit 5 μ M 17- β -Estradiol, ICI 182,780 (Faslodex) und Tamoxifen behandelt. Mögliche Transkriptionsveränderungen werden auf mRNA-Ebene mittels Northern Blot-Analyse und quantitativer *real time* PCR dargestellt. Abbildung 1.2 gibt die zentralen Arbeitsschritte für die durchzuführende Methodik wieder.

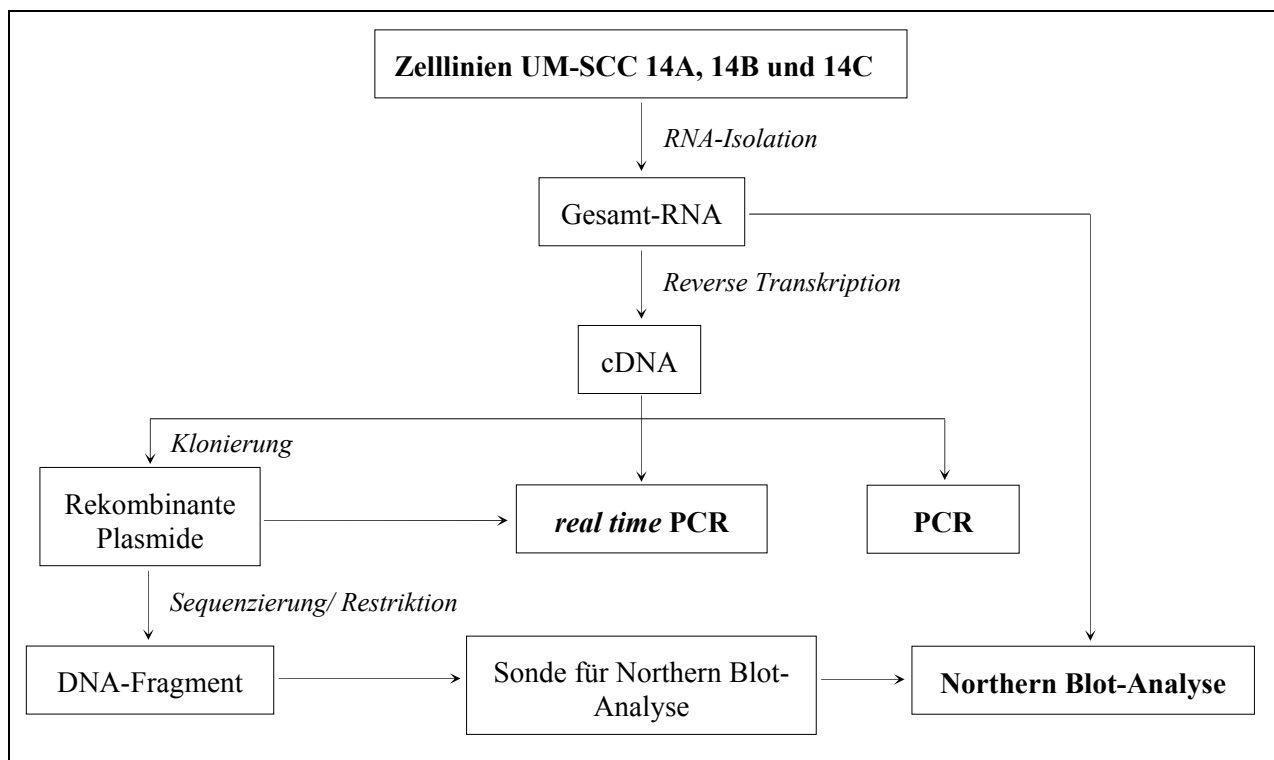


Abbildung 1.2: **Zentrale Arbeitsschritte der in dieser Arbeit eingesetzten Methoden**