

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin II
des Universitätsklinikums Halle (Saale)
(Direktor: Prof. Dr. med. M. Girndt)
und
der Klinik für Innere Medizin II des Krankenhauses Martha-Maria Dölau
(Chefarzt: PD Dr. med. W. Schütte)

***Verteilung von ERCC1 auf prognostisch relevante Faktoren
des Bronchialkarzinoms***

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Konrad Wiermann
geboren am 03. April 1984 in Halle/Saale

Gutachter: 1. Prof. Dr. Schütte (Halle)
2. Prof. Dr. Silber (Halle)
3. Prof. Dr. Hammerschmidt (Leipzig)

07.05.2013

03.03.2014

Referat

ERCC1 ist eine Nuklease, welche eine wesentliche Rolle bei der Nukleotid-Exzisions-Reparatur von Tumorzellen spielt. Relevant ist dieser Mechanismus bei der Reparatur von Interstrang-Quervernetzungen der DNA, wie sie beispielsweise im Rahmen einer platinbasierten Chemotherapie entstehen. Zielstellung dieser Arbeit war es, charakteristische Verteilungsmuster von ERCC1 auf prognostisch relevante Faktoren bei Bronchialtumoren zu finden. Im einzelnen wurde dabei die Tumorhistologie, das Tumorstadium, der Raucherstatus, das Geschlecht und das Alter der Patienten untersucht. Untersuchungsgut waren insgesamt 153 Patienten, bei denen in den Jahren 2008 und 2009 eine operative Bronchialtumorentfernung durchgeführt wurde. Bei all diesen Patienten wurde anschließend das Resektat immunhistochemisch auf ERCC1 untersucht. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Verteilung dieser Befunde auf die oben genannten Faktoren analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass vor allem Plattenepithelkarzinome mit 50% deutlich häufiger ERCC1-positive Befunde aufwiesen als andere Histologien. So zeigten Adenokarzinome 25%, Großzellige Karzinome 33% und Neuroendokrine Tumore 25% ERCC1-positive Tumore. Ebenso verringerte sich der Anteil ERCC1-positiver Tumore von 47,1% im Stadium I auf 26,5% im Stadium IIIA. Beim Raucherstatus, Alter und Geschlecht konnten nur geringfügig bis keine Verteilungsunterschiede festgestellt werden. So hatten Raucher 37,8% und Nichtraucher 44,4%, Männer 38,7% und Frauen 37,9%, Patienten unter 65 Lebensjahren 31,6% und ältere Patienten 42,7% ERCC1-positive Tumore. Zusammenfassend kann kein zweifelsfreier Unterschied in der Verteilung von ERCC1 auf die verschiedenen prognostisch relevanten Faktoren des Bronchialkarzinoms nachgewiesen werden.

Wiermann, Konrad: *Verteilung von ERCC1 auf prognostisch relevante Faktoren des Bronchialkarzinoms*

Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 36 Seiten, 2013

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Allgemeines	1
1.2 Histologien	4
1.3 Stadien	4
1.4 Therapie	6
1.4.1 Therapie des Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms	6
1.4.2 Therapie kleinzelliger Bronchialtumore	7
1.4.3 Platinderivate	8
1.5 ERCC1	9
1.5.1 Molekulare Wirkung von ERCC1	9
1.5.2 Klinische Bedeutung von ERCC1	10
1.5.3 ERCC1 als prognostischer Faktor und prediktiver Biomarker	11
2. Patienten und Methodik	13
2.1 Patientencharakterisierung	13
2.2 Immunhistochemische ERCC1-Bestimmung	15
2.3 Statistische Methoden	15
3. Ergebnisse	16
3.1 Zusammenfassung der ERCC1-Befunde im Patientenkollektiv	16
3.2 Verteilung der ERCC1-Befunde auf die Histologien	17
3.3 Verteilung der ERCC1-Befunde auf die Stadien	18
3.3.1 Stadienabhängige ERCC1-Verteilung bei Adeno- und Plattenepithelkarzinomen	20
3.3.2 Stadienabhängige ERCC1-Verteilung bei großzelligen Tumoren und NET	23
3.4 Verteilung von ERCC1 auf das Alter der Patienten	24
3.5 Verteilung von ERCC1 auf das Geschlecht der Patienten	26
3.6 Verteilung von ERCC1 auf Raucher und Nichtraucher	26
4. Diskussion	28
5. Zusammenfassung	31
Literaturverzeichnis	32
Thesen	36

Abkürzungen und Symbole

AC:	Adenokarzinome
CI:	Konfidenzintervall
GZ:	Großzellige Karzinome
NET:	Neuroendokrine Tumore
NR:	Nichtraucher
PE:	Plattenepithelkarzinome
R:	Raucher

1. Einleitung

1.1 Allgemeines

Bronchialkarzinome sind weit verbreitet in westlichen Industrienationen. So betrug 2006 die standardisierte Inzidenz weltweit 41,1 bei den Männern und 16,6 bei den Frauen pro 100.000 Einwohner. Allein in Europa lag sie im selben Jahr in der männlichen Bevölkerung bei ca. 60,8 und in der weiblichen Bevölkerung bei ca. 23,7 pro 100 000 Einwohner (GEKID 2010). Im Jahr 2004 waren sie bezüglich der Neuerkrankungen die dritthäufigste Tumorart in Europa und gleichzeitig jene mit der höchsten Mortalität (Matthys H, 2008). In der Bundesrepublik gab es im Jahr 2010 laut dem deutschen Krebsatlas 43.008 Fälle von Bronchialkarzinomen, 29.381 Fälle waren in der männlichen Bevölkerung zu verzeichnen und 13.627 bei der weiblichen Bevölkerung. Bei den Männern weisen sie die mit Abstand höchste Mortalität auf, wo hingegen sie bei den Frauen an zweiter Stelle hinter dem Mammakarzinom liegen (siehe Abb. 1.).

Auffallend ist dabei der Umstand, dass die eher sinkenden Mortalitätsraten der Männer mit den zunehmend steigenden Mortalitätsraten der Frauen kontrastieren (siehe Abb. 2), so dass in fernerer Zukunft das Bronchialkarzinom vielleicht auch das Mammakarzinom vom ersten Platz in der Krebsstatistik der Frauen verdrängen könnte.

Risikofaktor Nummer eins für die Bildung von Bronchialkarzinomen ist nach wie vor das Rauchen. Bei den Männern sind vermutlich neun von zehn und bei den Frauen sechs von zehn Lungenkrebserkrankungen auf das aktive Rauchen - insbesondere Zigarettenrauchen - zurückzuführen (Husmann *et al.*, 2010). Betrachtet man die Inzidenz bezogen auf die einzelnen Altersgruppen, so fällt auf, dass das Bronchialkarzinom eine Erkrankung des mittleren bis höheren Lebensalters ist. Dies wird deutlich in einem Diagramm aus dem Jahreskrebsbericht 2007/2008 des Robert-Koch-Instituts (siehe Abbildung 3).

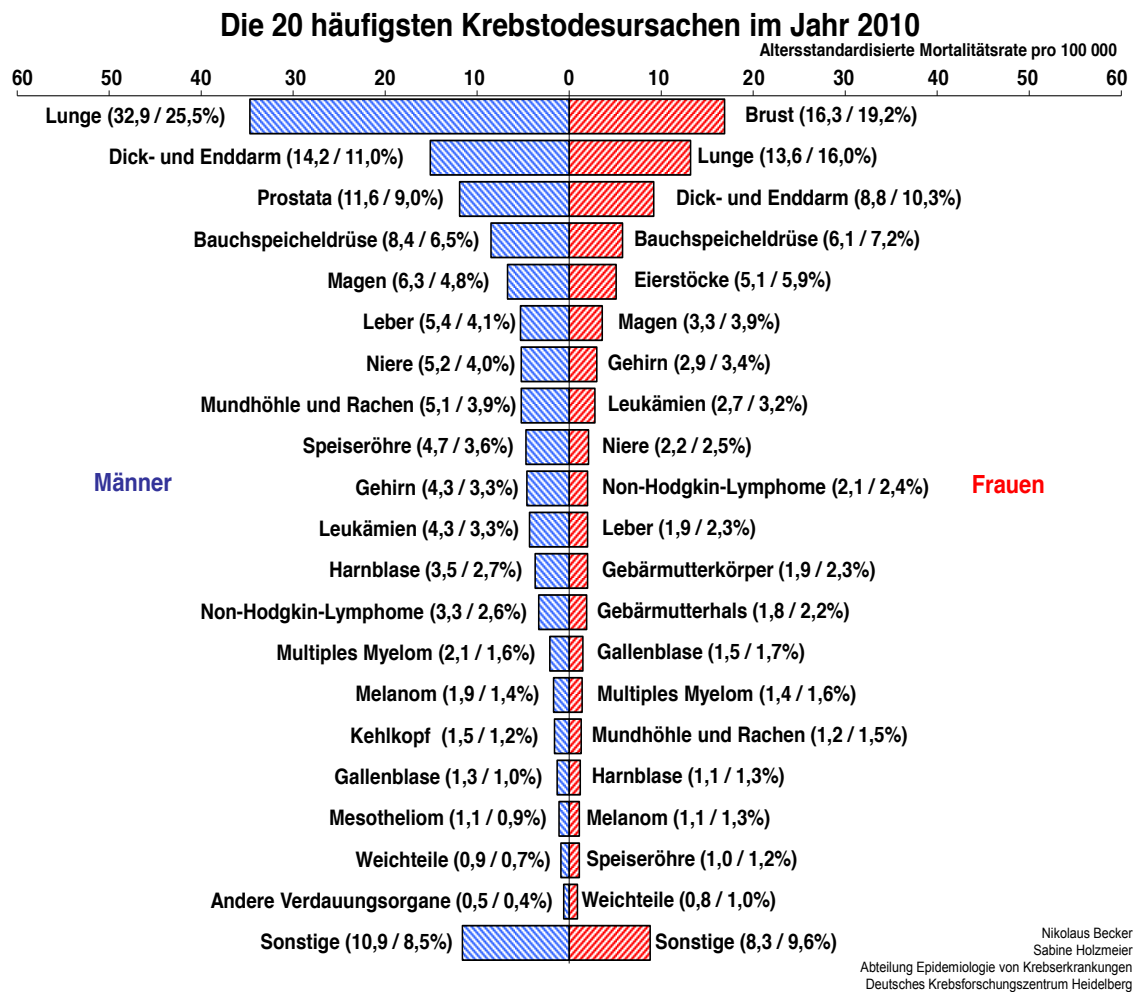


Abb. 1 : Altersstandardisierte Krebsmortalität pro 100.000 (Grafik aus dem deutschen Krebsatlas).

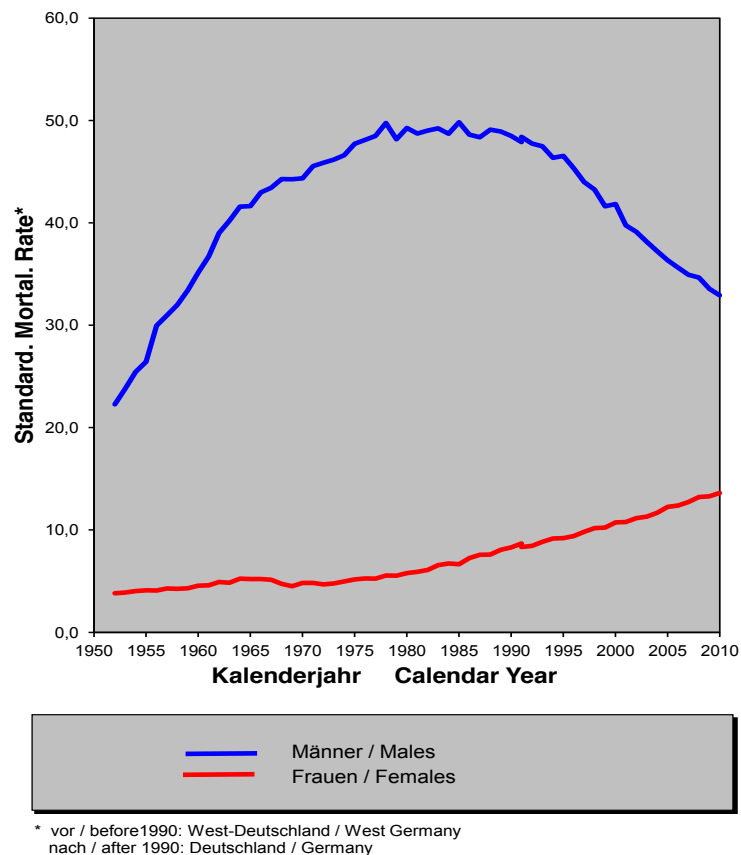


Abb. 2 : Entwicklung der geschlechtsspezifischen Standardmortalitätsrate von Bronchialkarzinomen in Deutschland (Graphik aus dem deutschen Krebsatlas)

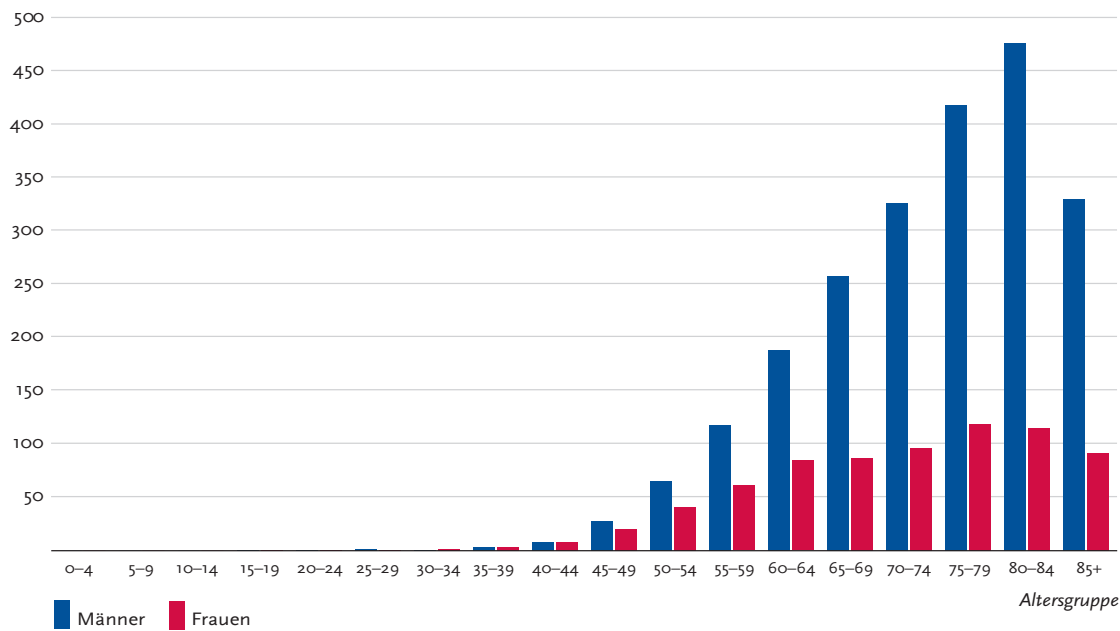


Abb. 3 : Inzidenz von Lungentumoren in unterschiedlichen Altersgruppen bei Männern und Frauen (Graphik aus dem Jahreskrebsbericht 2007/2008 des Robert-Koch-Instituts)

1.2 Histologien

Die Bronchialkarzinome werden histologisch in folgende Gruppen unterteilt (WHO 2004):

- Plattenepithelkarzinome
- kleinzellige Karzinome
- kombiniert kleinzellige Karzinome
- Adenokarzinome
- großzellige Karzinome
- adenosquamöse Karzinome
- sarkomatoide Karzinome
- Karzinoidtumore
- Bronchialdrüsenkarzinome vom Speicheldrüsentyp

Im Hinblick auf die Therapie wird lediglich in zwei große histologische Gruppen unterteilt: die kleinzelligen Bronchialkarzinome und die nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinome (Matthys H, 2008). Dabei umfasst die Gruppe der nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinome vor allem das Plattenepithelkarzinom, das großzellige Karzinom und das Adenokarzinom. Das kleinzellige Bronchialkarzinom hat einen Anteil von 20 - 25% an der Gesamtheit der Bronchialkarzinome. Die nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinome sind dem entsprechend deutlich häufiger vorzufinden. Das Adenokarzinom ist in dieser Gruppe am häufigsten mit 25 - 40% vertreten. Der zweithäufigste nicht-kleinzellige Bronchialtumor ist das Plattenepithelkarzinom mit 17% und der dritthäufigste ist das großzellige Bronchialkarzinom mit 10 - 15%. Die verbleibenden Prozente verteilen sich auf die anderen oben genannten Tumorhistologien (Hammerschmidt und Wirtz, 2009).

1.3 Stadien

Von therapeutischer Relevanz sind die mittels TMN-Klassifikation ermittelten Tumorstadien. Grundlage dieser Stadieneinteilung ist die möglichst genaue Festlegung der lokalen Tumorausdehnung (T-Descriptor), die umfassende Beschreibung des mediastinalen bzw. peribronchialen Lymphknotenstatus (N-Descriptor) sowie die Bewertung hinsichtlich der Fernmetastasierung (M-Status). In Tabelle 1.3.1 ist einmal die Stadieneinteilung des Bronchialkarzinoms dargestellt.

Tab.1.3.1 : Stadieneinteilung mithilfe der TNM-Klassifikation (Matthys H, 2008)

Stadium	Untergruppierung	TNM
I	A	T1 N0 M0
	B	T2 N0 M0
II	A	T1 N1 M0
	B	T2 N1 M0
		T3 N0 M0
III	A	T3 N1 M0
		T1-3 N2 M0
	B	T4 N0-2 M0
		T1-4 N3 M0
IV		M1

Tab. 1.3.2 : Kriterien zur TNM-Klassifikation von Lungentumoren (Matthys H, 2008)

Deskriptor	Ausdehnungsgrad	Beschreibung
T	TX	Zytologischer Malignomnachweis in Sputum oder bronchialer Spülflüssigkeit (Bronchialsekret; bronchoalveoläre Lavage) ohne Tumornachweis in der Bronchoskopie oder Schnittbilddiagnostik
	T0	Kein Primärtumornachweis
	Tis	Carcinoma in situ
	T1	Tumor ≤3 cm, umgeben von Lunge oder viszeraler Pleura; Bronchoskopisch kein Hinweis für eine Infiltration proximal eines Lappenbronchus
	T2	Tumor >3 cm mit – Befall des Hauptbronchus, jedoch ≥2 cm distal der Hauptkarina – Infiltration der viszeralen Pleura – assoziierter Atelektase, aber nicht der ganzen Lunge
	T3	Tumor jeder Größe mit – direkter Infiltration von Brustwand, Zwerchfell parietalem Perikard oder mediastinaler Pleura – Hauptbronchusbefall <2 cm distal der Hauptkarina, jedoch nicht der Hauptkarina selbst – Atelektase der ganzen Lunge
N	T4	Tumor jeder Größe mit – Infiltration von Mediastinum, Herz, großen Gefäßen, Trachea, Ösophagus, Wirbelkörper, Hauptkarina – malignem Pleuraerguss – Satellitenherden im ipsilateralen tumortragenden Lungenlappen
	Nx	Regionale Lymphknoten nicht hinreichend untersucht
	N0	Kein Nachweis regionärer Lymphknotenmetastasen
	N1	Ipsilateral peribronchial/hilär Lymphknotenmetastasen
	N2	Ipsilateral mediastinal und/oder subkarinal Lymphknotenmetastasen
M	N3	Kontralateral mediastinal/hilär Lymphknotenmetastasen, und/oder in ipsi-/kontralateralen Skalenus- oder supraklavikulären Lymphknoten
	Mx	Untersuchungen zum Ausschluss von Fernmetastasen nicht hinreichend durchgeführt
	M0	Keine Fernmetastasen
	M1	Fernmetastasen

1.4 Therapie

1.4.1 Therapie des Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms

Aufgrund der Häufigkeit des Bronchialkarzinoms und vor allem dessen sehr hoher Mortalität, gilt es, schon bestehende Behandlungskonzepte durch neue Erkenntnisse zu optimieren.

Beim nicht kleinzelligen Bronchialkarzinom stehen sowohl örtliche bzw. lokale (Operation und Strahlentherapie), als auch systemische (Chemotherapie und zielgerichtete Therapie) Therapieverfahren zur Verfügung. So wird im Stadium I und II ein kurativer Therapieansatz verfolgt. Bei einem guten Allgemeinzustand des Patienten ist im Stadium I laut den Leitlinien von 2010 die Operation Mittel der Wahl, wobei im Stadium IB eine adjuvante Chemotherapie erwogen werden kann. Postoperativ hat das Stadium IA eine 5-Jahres-Überlebensrate von 69% bis 89% (Mountain, 1997). Im Stadium IB beträgt sie hingegen 52% bis 75% (Okada *et al.*, 2004). Laut den Leitlinien von 2010 sollte, bei gutem Allgemeinzustand des Patienten (ECOG 0-1), nach einer R0-Resektion in den Stadien II bis IIIA1-III A2 eine adjuvante Chemotherapie erfolgen. Mit dieser sollte nach Abschluss der Wundheilung bzw. spätestens 60 Tage nach der OP begonnen werden. Empfohlen wird dabei eine cisplatinhaltige Kombination (v.a. mit Vinorelbin) in 4 Zyklen. In drei randomisierten Studien konnte so eine Steigerung der 5-Jahres-Überlebensrate um 4,1% bis 15% (Arriagada *et al.*, 2004; Winton *et al.*, 2005; Douillard *et al.*, 2006) erzielt werden. So sind 5-Jahres-Überlebensraten von 45% (Mountain, 1997) bis 52% (Okada *et al.*, 2004) für das Stadium IIA, 33% (Mountain, 1997) für das Stadium IIB und 24% (Mountain, 1997) bis 44% (Okada *et al.*, 2004) für das Stadium IIIA möglich. Liegt ein inoperabler Tumor im Stadium I oder II vor, so wird eine definitive Strahlentherapie empfohlen.

Das Stadium III nimmt therapeutisch eine Sonderstellung ein. Früher unterschied hier die TNM-Klassifikation das Stadium IIIA (technisch resektabel – jedoch prognostisch ungünstig) vom Stadium IIIB (technisch inoperablen Erkrankungsausdehnung). Weiterentwicklungen in Staging, Operationstechnik und multimodalen Ansätzen erforderten eine Neubewertung dieser Einteilung. So wurde festgestellt, dass im Stadium IIIA bei N2-Befall die Lage und Größe der befallenen Lymphknoten ein wichtiges prognostisches Kriterium darstellt, welches auch unterschiedliche therapeutische Entscheidungen nach sich zieht. Robinson schlug deswegen eine neue Einteilung dieses Stadiums vor (Robinson *et al.*, 2003; Robinson *et al.*, 2007). Diese unterteilt in Stadium IIIA1 (mediastinale Lymphknotenmetastasen bei der postoperativen histologischen Aufarbeitung in einem Lymphknotenlevel), IIIA2 (intraoperative Feststellung des Befalles eines Lymphknotenlevels), IIIA3 (Befall einer oder mehrere Positionen, präoperativ festgestellt durch Mediastinoskopie, Feinnadelbiopsie oder PET) und IIIA4 („bulky“

oder fixierte Lymphknoten). Unter einem „bulky disease“ verstehen Robinson und seine Koautoren: mediastinale Lymphknoten größer als 2 - 3 cm mit extrakapsulärer Infiltration; Befall mehrerer N2-Lymphknotenpositionen; Gruppen multipler, positiver kleinerer (1 bis 2 cm) Lymphknoten. Die Stadien IIIA1 und IIIA2 werden primär operativ und mit adjuvanter Chemotherapie behandelt. Wobei laut den Leitlinien von 2010 vier Zyklen einer cisplatinhaltigen Kombination empfohlen werden. Liegt jedoch in diesen beiden Stadien ein mediastinaler Lymphknotenbefall vor, so sollte zusätzlich eine postoperative Bestrahlung durchgeführt werden. Diese sollte spätestens vier Wochen nach Beginn der adjuvanten Chemotherapie beginnen und nach CT-gestützter 3-dimensionaler Bestrahlungsplanung mit einer Dosis 50 bis 60 Gy erfolgen. Das günstigste therapeutische Vorgehen im Stadium IIIA3 ist Thema aktueller Forschungen. Laut Leitlinien können Patienten außerhalb von Studien mit Lungentumoren in diesem Stadium mit einem Induktionsprotokoll (Induktionschemotherapie oder Induktionschemostrahlentherapie) behandelt werden. Dieser Behandlungsansatz ermöglicht eine sichere Indikationsstellung und die interdisziplinäre Planung des weiteren therapeutischen Vorgehens. Nach R0-Resektion und alleiniger Induktionschemotherapie sollte postoperativ eine mediastinale Radiotherapie durchgeführt werden. Bei Induktionschemostrahlentherapie sollte keine postoperative Bestrahlung erfolgen. Eine definitive Radio-/Chemotherapie ist das Mittel der Wahl, insbesondere bei Tumoren im Stadium IIIA mit multiplen N2-Befall.

Dies gilt auch für die leitliniengerechte Behandlung von Patienten im Stadium IIIA4/IIIB und IV, sofern es der jeweilige Allgemeinzustand zulässt. Allerdings ist das Stadium IIIB mittlerweile nicht a priori inoperabel. So ist eine primäre Operation bzw. Integration operativer Therapieverfahren bei medizinischer und funktioneller Operabilität auch im Stadium IIIB (T4N0/1) in folgenden Fällen möglich: Karinabefall, minimaler Trachealbefall, minimaler Befall des rechten Atriums, Infiltration der V. cava oder der Pulmonalarterie, ipsilobäre Metastasen im tumortragenden Lungenlappen. Bei Patienten mit einem Stadium IIIB- oder IV-Tumor bei denen eine Indikation zur definitiven Radiatio nicht möglich ist, empfehlen die Leitlinien - falls erforderlich - eine zeitnahe Intervention vor Beginn einer systemischen Therapie. Dabei sind grundsätzlich immer interdisziplinäre Entscheidungsfindungen anzustreben.

1.4.2 Therapie kleinzelliger Bronchialtumore

In der Therapie des kleinzelligen Bronchialkarzinoms steht die Chemotherapie im Mittelpunkt. Im Gegensatz zum nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom sollte fast immer eine Chemotherapie

erfolgen, da es schon sehr früh zu einer systemischen Streuung kommt (Matthys H, 2008). So ist eine alleinige Operation im Stadium I nicht ausreichend. Die Leitlinien von 2010 unterscheiden - wie die Großzahl der vorliegenden Studien auch - das kleinzellige Bronchialkarzinom nach „limited disease“ (LD) und „extensiv disease“ (ED).

Als LD wird ein auf den initialen Hemithorax begrenzter Tumor verstanden. Dieser muss mit oder ohne ipsi- oder kontralaterale mediastinale Lymphknotenmetastasen oder ipsilaterale supraklavikuläre Lymphknotenmetastasen vorliegen. Der Tumor wird trotzdem als LD bezeichnet, auch wenn ein ipsilateraler Pleuraerguss diagnostiziert wurde. Dabei ist die Einteilung unabhängig vom zytologischen Befund des Pleurapunktats. Allerdings werden kontralaterale supraklavikuläre Lymphknotenmetastasen und zytologisch maligner Pleuraerguss von einigen Studiengruppen auch dem Stadium „extensive disease“ zugerechnet.

Das ED umfasst somit jede Ausbreitung des Tumors, welche über das LD hinausreicht. Diese Einteilung hat unmittelbar therapeutische Konsequenzen. So wird ein operatives Vorgehen mit adjuvanter oder neoadjuvanter Chemotherapie (oft mit einer Kombination aus Cisplatin/Etoposid) empfohlen, welcher sich eine Radiatio des Schädels anschließen sollte. Prinzipiell wird dabei ein kurativer Behandlungsansatz verfolgt. Dem gegenüber steht beim ED die palliative Therapie im Mittelpunkt, wobei die Standardtherapie zunächst die Durchführung einer systemischen Chemotherapie ist. Auch hier wird eine Kombination aus Platin und Etoposid empfohlen. Allerdings sollte aufgrund der besseren Verträglichkeit Carboplatin gegenüber Cisplatin präferiert werden.

1.4.3 Platinderivate

In Bezug auf das Thema dieser Arbeit, sollte noch einmal kurz auf die Wirkungsweise von platinbasierten Chemotherapeutika eingegangen werden. Im Allgemeinen gibt es acht Substanzgruppen von Zytostatika (Gruyter, 2004):

- Alkylanzien
- Antimetabolite
- Mitosehemmstoffe
- Antibiotika mit hemmender Wirkung auf DNA-abhängige RNA-Polymerase
- Enzyme
- Topoisomerasehemmer

- Aromatasehemmer
- andere Substanzen

Eine zentrale Rolle in der Therapie des Bronchialkarzinoms nehmen die Platinanaloga aus der Gruppe der Alkylanzien ein (siehe oben). Laut den Leitlinien von 2010 haben mehrere Studien ergeben, dass es unter platinhaltiger Kombinationschemotherapie eine höhere Ansprechrates und ein besseres Überleben zu verzeichnen gibt als unter platinfreier Kombinationschemotherapie. Zu Platinanaloga zählen das Cisplatin und das Carboplatin. Cisplatin wirkt durch Vernetzung von DNA-Strängen. „Aufgrund der hohen Nucleophilie des Aquo-Cisplatin-Komplexes reagiert bevorzugt das N-7 von Guanin und Adenin. Es entstehen so Verknüpfungen innerhalb eines DNA-Strangs (Intrastrang-Quervernetzung) und zwischen benachbarten DNA-Strängen (Interstrang-Quervernetzungen). Der Wirkungsmechanismus von Carboplatin entspricht dem von Cisplatin. Jedoch ist die Umwandlung in die aktive Form bedeutend langsamer als bei Cisplatin, so dass die Wirkung langsamer einsetzt und die Substanz weniger aktiv ist“ (Aktories K, 2004).

Um die Wirksamkeit der Zytostatikatherapie noch weiter erhöhen zu können, ist es notwendig, nach Wegen zu suchen, die einen gezielteren und individuelleren Einsatz dieser Substanzen ermöglichen. Eine dieser Möglichkeiten wurde in den letzten Jahren im ERCC1 entdeckt.

1.5 ERCC1

1.5.1 Molekulare Wirkung von ERCC1

ERCC1 (Excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1) ist eine Nuklease, die Abbrüche der zytotoxischen DNA-Addukte während der Nukleotid-Exzisions-Reparatur (NER) vornimmt (Gauler, 2007). Dessen Gen ist eines von 16 Genen, welches die Proteine des NER-Komplexes inkodiert. Diese Form der DNA-Reparatur spielt sowohl bei sich-teilenden, als auch bei sich-nicht-teilenden Zellen eine Rolle (Rahn *et al.*, 2010). Allerdings ist ihre Bedeutung in nicht-teilungsaktiven Zellen eher gering (Rahn *et al.*, 2010). Der Hauptanteil der Reparatur von Interstrang-Quervernetzungen findet in der S-Phase des Zellzyklus statt (Rahn *et al.*, 2010). Bei beiden Varianten scheint ERCC1 eine wichtige Rolle zu spielen, wobei dessen genaue Funktionen noch Gegenstand wissenschaftlicher Kontroversen sind (Rahn *et al.*, 2010). Beim Ablauf der NER-Reparatur und dem Wirken von ERCC1 in der S-Phase gibt es zwei Modelle. Trifft nun eine Replikationsgabel auf die Interstrang-Quervernetzung gibt es zum einen die Möglichkeit, dass ERCC1 die Läsion am 5'-

Ende und 3'-Ende aus dem DNA-Strang schneidet, oder dass erst ein Enzym namens MUS81 - EME1 einen Schnitt am 3' - Ende macht und der anschließende 5' - Schnitt durch das ERCC1 erfolgt (siehe Abbildung 4). Das zweite Modell wird jedoch als wahrscheinlicher angesehen (Olaussen *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2008; Koh *et al.*, 2010; Rahn *et al.*, 2010).

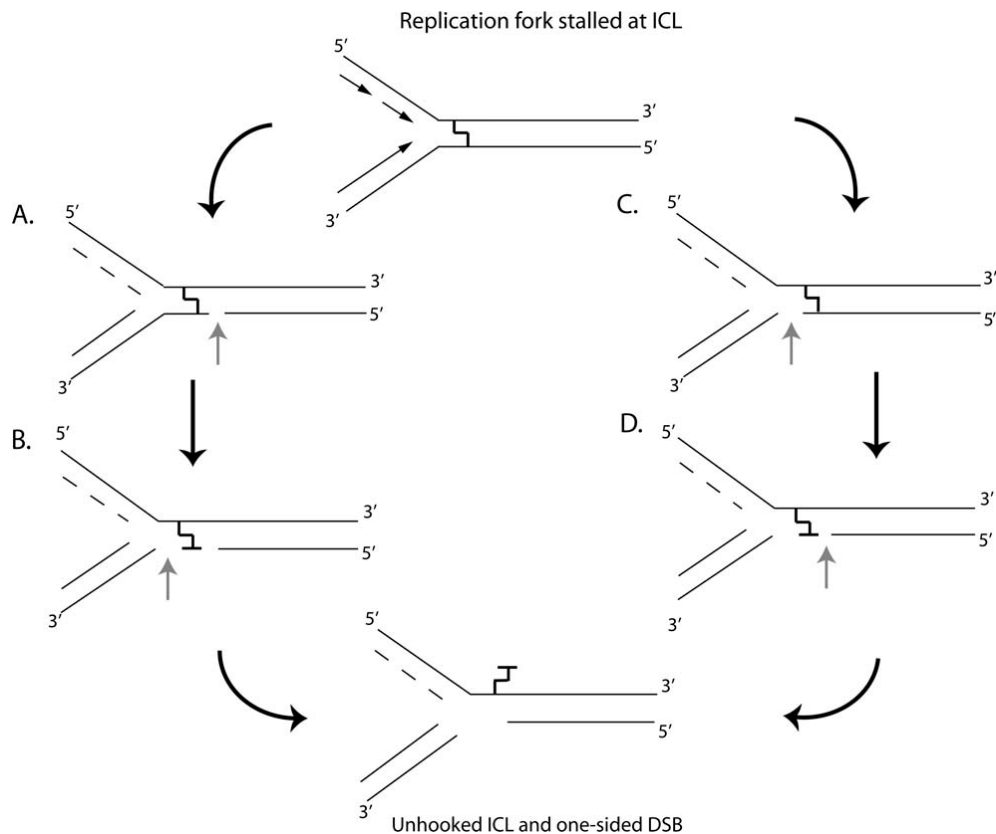


Abb. 4: Möglichkeiten der Mitwirkung von ERCC1 bei der Reparatur von Interstrang-Quervernetzungen

1.5.2 Klinische Bedeutung von ERCC1

DNA-Reparaturmechanismen sind von großer Bedeutung bei der Entstehung von Resistenzen gegenüber Cisplatin (Olaussen *et al.*, 2006). Die durch Platinanaloga induzierten Interstrang-Quervernetzungen können mittels des NER-Pathways repariert werden, welcher maßgeblich durch ERCC1-gesteuert wird (Rahn *et al.*, 2010). So konnte in mehreren klinischen retrospektiven Studien an Patienten mit Ovar-, Cervix-, Hoden-, Blasen- und nicht-kleinzelligen Lungenkrebs nachgewiesen werden, dass es einen Zusammenhang zwischen ERCC1-mRNA und

Resistenz gegenüber Platinverbindungen geben muss (Dabholkar *et al.*, 1992; Dabholkar *et al.*, 1994; Metzger *et al.*, 1998; Reed *et al.*, 2000; Shirota *et al.*, 2001; Lord *et al.*, 2002; Rosell *et al.*, 2002; Altaha *et al.*, 2004; Warnecke-Eberz *et al.*, 2004; Joshi *et al.*, 2005; Langer *et al.*, 2005).

Eine der bisher größten Studien bezogen auf das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom ist der „International Adjuvant Lung Trial“ (IALT). Ziel war es, Faktoren zu identifizieren, welche den Erfolg einer platinbasierten Chemotherapie vorhersagen können. Dabei konnte ERCC1 als ein solcher identifiziert werden. Das Tumormaterial von 761 Patienten war ausreichend um die ERCC1-Expression zu evaluieren. In dieser randomisierten Studie wurden ERCC1-positive und -negative Tumore hinsichtlich ihres Ansprechens auf eine adjuvante platinbasierte Chemotherapie untersucht. Dabei hatten Patienten mit ERCC1-negativen Tumoren eine signifikante Verbesserung des medianen Überlebens unter Chemotherapie im Vergleich zu solchen Patienten, die nur observiert wurden (HR 0,65 und $p < 0,009$). Bei den Patienten mit ERCC1-positiven Tumoren führte eine Chemotherapie sogar zu einer Verschlechterung des Gesamtüberlebens. Abschließend wurde daraus geschlossen, dass Patienten mit komplett resezierten ERCC1-negativen Tumoren scheinbar bessere Kandidaten für eine Cisplatin-basierte adjuvante Chemotherapie sind (Olaussen *et al.*, 2006).

Einige weitere Studien haben diesen Zusammenhang bestätigen können (siehe 1.5.3). Zur Zeit wird versucht, diese Erkenntnisse im klinischen Alltag zu implementieren. Dabei wird vielfach die Immunhistochemie als praktikable Methodik angewandt. Die optimale valide diagnostische Methodik zur ERCC1-Bestimmung wurde leider bisher noch nicht gefunden. Die viel versprechenden Ergebnisse müssen in unabhängigen Studien bestätigt werden. Einigkeit herrscht darüber, dass die ERCC1-Expression im Primarius und den Metastasen identisch ist. Was bisher hingegen weniger untersucht wurde, ob es vielleicht charakteristische Verteilungen von ERCC1-Level-Erhöhungen auf die einzelnen Tumorentitäten von kleinzelligen und nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen gibt. Gegenstand dieser Arbeit soll es sein, dieser Frage nachzugehen und eventuell weitere charakteristische Verteilungsmuster auf prognostisch relevante Faktoren, wie Alter Geschlecht, Raucherstatus und Tumorstadium aufzuzeigen.

1.5.3 ERCC1 als prognostischer Faktor und prediktiver Biomarker

Die Frage, ob ERCC1 ein prognostischer Faktor ist, wurde in den letzten Jahren viel diskutiert. 2010 haben Allingham-Hawkins und seine Kollegen sieben Studien identifiziert, die dieser Fragestellung nachgegangen sind (Allingham-Hawkins *et al.*, 2010). Fünf von ihnen konnten einen statistisch signifikanten Überlebensvorteil von ERCC1-positiven gegenüber ERCC1-

negativen Patienten feststellen (George R. Simon, 2005; Zheng *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2009; Koh *et al.*, 2010). So betrug zum Beispiel das Gesamtüberleben bei Olausson *et al.* für positive Patienten 46% und für negative Patienten 39%. Lediglich zwei Studien konnten keinen signifikanten Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen nachweisen (Okuda *et al.*, 2008; Bartolucci *et al.*, 2009). Diese Ergebnisse zeigen, dass ERCC1 nach dem bisherigen Kenntnisstand durchaus als prognostischer Faktor angesehen werden kann.

Wesentlich mehr Studien widmen sich der Fragestellung, inwiefern ERCC1 als prädiktiver Biomarker für eine platinbasierte Chemotherapie verwendbar ist. Allingham und Kollegen haben insgesamt 17 Arbeiten zu diesem Thema gefunden (Allingham-Hawkins *et al.*, 2010). Elf von ihnen zeigten ein erhöhtes Gesamtüberleben für ERCC1-negative Patienten unter platinbasierter Chemotherapie (Lord *et al.*, 2002; Ceppi *et al.*, 2006; Azuma *et al.*, 2007; Hwang *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2008; Okuda *et al.*, 2008; Azuma *et al.*, 2009a; Azuma *et al.*, 2009b; Ikeda *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2009; Ota *et al.*, 2009). Weitere zwei Arbeiten zeigten ähnliche Trends, ohne jedoch signifikante Ergebnisse erzielt zu haben (Rosell *et al.*, 2004a; Fujii *et al.*, 2008). Lediglich vier Arbeiten konnten keinen Unterschied im Überleben feststellen (Rosell *et al.*, 2004b; Booton *et al.*, 2007; Simon *et al.*, 2007; Hsu *et al.*, 2008). Somit kann auch hier davon ausgegangen werden, dass ERCC1 ein prädiktiver Biomarker für eine platinbasierte Chemotherapie ist.

2. Patienten und Methodik

2.1 Patientencharakterisierung

Untersucht wurden Patienten des Krankenhauses Martha-Maria-Dölau in Halle (Saale), die sich in den Jahren 2008 und 2009 einer operativen Bronchialtumorentfernung unterziehen mussten. Damit ergab sich eine Population von insgesamt 153 Patienten, davon waren 124 Männer und 29 Frauen.

Vor der operativen Entfernung im Krankenhaus Martha-Maria Dölau in Halle wurden die Biopate der jeweiligen Tumore zur histologischen Untersuchung in das dortige Institut für Pathologie gebracht. Diese wurden dabei standardmäßig mittels Immunhistochemie auf ERCC1 untersucht, sofern es die Menge des gewonnenen Biopsiematerials zuließ. Diese Befunde und die jeweiligen Patientenakten bilden die Grundlage dieser Arbeit.

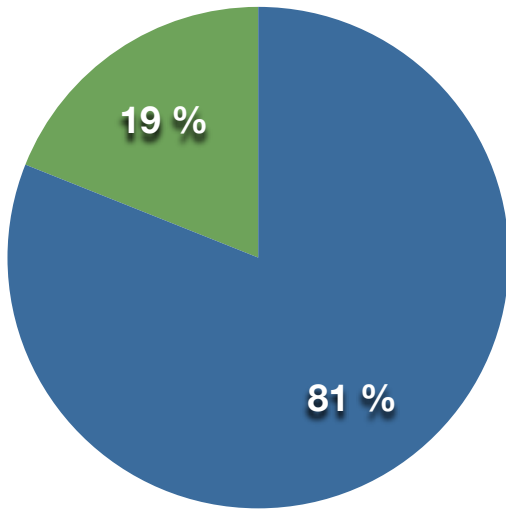
Aus den Akten aller 153 Patienten wurden die Daten bezüglich des Alters, Geschlechts, Raucherstatus, des Tumorstadiums und der Tumorhistologie gewonnen.

Um die Verteilung von ERCC1 auf das Alter besser auswerten zu können, wurden zwei Altersgruppen gebildet: „weniger als 65 Jahre“ und „65 Jahre und älter“. Diese Gruppeneinteilung ist durchaus üblich, da zum Untersuchungszeitpunkt das Renteneintrittsalter bei 65 Jahren lag. Die Altersgruppe „65 Jahre und älter“ war mit 97 Patienten am häufigsten vertreten (siehe Tabelle 2.1.1 und Abbildung 6)

Auch beim Raucherstatus wurden zwei Gruppen gebildet, um eine bessere Auswertbarkeit zu gewährleisten. Dabei wurden die Patienten, die niemals in ihrem Leben geraucht haben, als Nichtraucher definiert und alle anderen als Raucher zusammengefasst, unabhängig davon, ob sie z. B. nur 1 Jahr oder gar 40 Jahre lang geraucht haben. Da dies eine retrospektive Arbeit ist, konnten aufgrund der bestehenden Datenlage für dieses Item keine genaueren Gruppen definiert werden. Die Entscheidung, solch allgemein gefasste Gruppen zu bilden, musste auf Grund der unterschiedlichen Angaben zum Raucherstatus getroffen werden. So wurden in einigen Akten die Packyears angegeben und in den meisten nur vermerkt, ob der Patient jemals geraucht hat oder nicht.

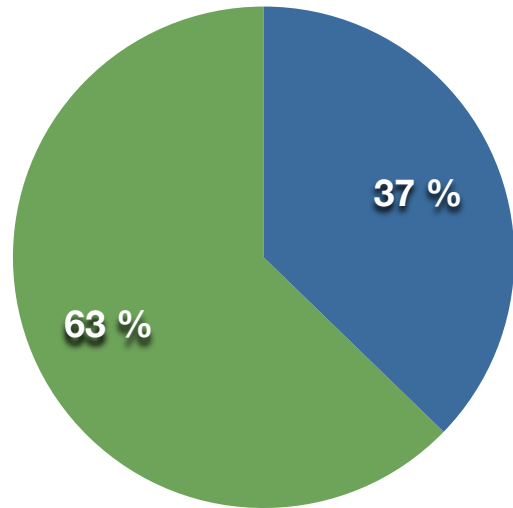
Die Angaben zum Tumorstadium befanden sich ebenfalls in den Akten der jeweiligen Patienten. Aus diesen wurden dann auch die entsprechenden Gruppen gebildet: Stadium I, II, IIIA, IIIB und IV.

In Tabelle 2.1.1 und Abbildung 5 bis Abbildung 8 ist zu sehen, wie sich die einzelnen Items auf die untersuchten Patienten verteilen.



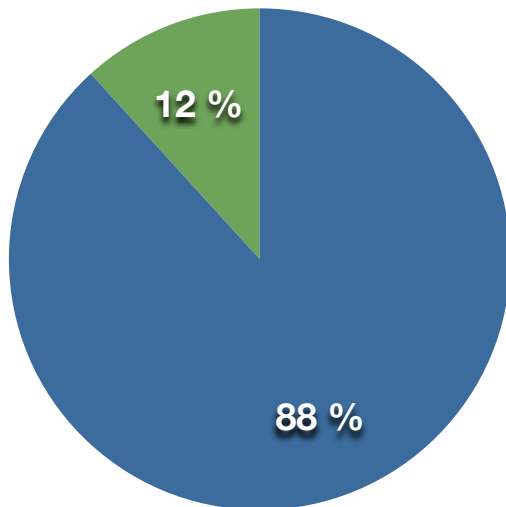
● Männer ● Frauen

Abb. 5: Geschlechterverteilung



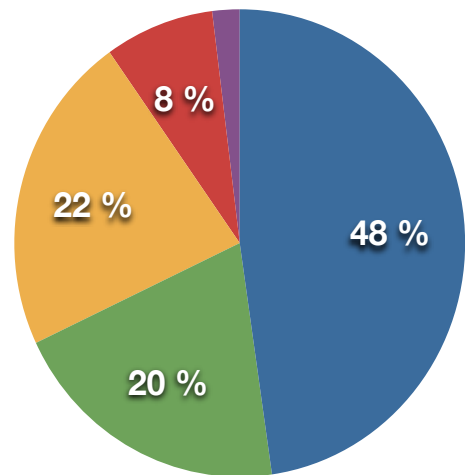
● < 65 Jahre ● ≥ 65 Jahre

Abb. 6: Altersverteilung



● Raucher ● Nichtraucher

Abb. 7 : Raucherverteilung



● Stadium I ● Stadium II
 ● Stadium IIIA ● Stadium IIIB
 ● Stadium IV

Abb. 8 : Stadienverteilung

Tab. 2.1.1 : Patientencharakteristik

<i>Item</i>	<i>N</i>	<i>(%)</i>
Männer	124	81,05
Frauen	29	18,95
< 65 Jahre	57	37,25
≥ 65 Jahre	96	62,75
Raucher	135	88,24
Nichtraucher	18	11,76
Stadium I	73	41,71
Stadium II	31	20,26
Stadium IIIA	34	22,22
Stadium IIIB	12	7,84
Stadium IV	3	1,96

2.2 Immunhistochemische ERCC1-Bestimmung

Die immunhistochemische Bestimmung von ERCC1 in den Biopaten der untersuchten Patienten fand im Institut für Pathologie im Krankenhaus Martha-Maria-Dörlau statt. Sie wurde mithilfe eines Färbe-/Eindeckautomaten vorgenommen. Nach Entparaffinierung wurden die histologischen Präparate unter saurem pH gekocht. Anschließend wurden sie mit einem monoklonalen Mausantikörper (clone 8F1 IgG2b von Zytomed) versetzt. Das dann hinzugefügte polymere Meeretichperoxidase HRP-Linker-Antikörper-Konjugatssystem (Bond™ Polymer Refine Detection) diente der Bindung des ERCC1-Maus-IgG2b-Komplex und ermöglichte die anschließende Färbung mittels DAB (3,3'-Diaminobenzidin). Sie bewirkte eine Braunfärbung des Komplexes. Zur Färbung des Zellkerns wurde Hämatoxylin (blau) verwendet.

2.3 Statistische Methoden

Wie oben beschrieben, wurde das Patientenkollektiv nach verschiedenen prognostischen Kriterien sortiert: Alter, Geschlecht, Tumorhistologie, Tumorstadium und Raucherstatus. In diesen Gruppen wurden die relativen Häufigkeiten der ERCC1-positiven und -negativen Befunde bestimmt. Das Hauptaugenmerk lag dabei in der Beurteilung der ERCC1-Verteilung in den Tumorhistologiegruppen. Dabei kamen ausschließlich deskriptive statistische Methoden zum Einsatz. Zur Beurteilung von möglichen Störgrößen (Confoundern) wurden die Ergebnisse stratifiziert. Alle Berechnungen und die graphische Darstellung in den Balkendiagrammen erfolgten mit dem Statistikprogramm SPSS®.

3. Ergebnisse

3.1 Zusammenfassung der ERCC1-Befunde im Patientenkollektiv

In Abbildung 9 ist einmal die Verteilungen von ERCC1-Befund im untersuchten Patientenkollektiv dargestellt. Es fällt zunächst auf, dass es - mit 61 Prozent - mehr ERCC1-negative als -positive Tumore gibt. Tabelle 3.1.1 gibt einen Gesamtüberblick über die erhobenen Items und deren Anzahl an ERCC1-positiven und -negativen Befunden.

Tab. 3.1.1 : ERCC1-Verteilung auf prognostisch relevante Faktoren des Bronchialkarzinoms in der untersuchten Population

ERCC1	Sex		Alter (J.)		Stadien					Histologie			Nikotin		
	m.	w	< 65	≥ 65	I	II	IIIA	IIIB	IV	AC	PE	GZ	NET	R	NR
positiv	48	11	18	41	37	8	9	4	1	14	39	5	1	51	8
negativ	76	18	39	55	36	23	25	8	2	42	39	10	3	84	10
Σ	124	29	57	96	73	31	34	12	3	56	78	15	4	135	18

AC: Adenokarzinome; PE: Plattenepithelkarzinome; GZ: Großzellige Karzinome; NET: Neuroendokrine Tumore; R: Raucher; NR: Nichtraucher

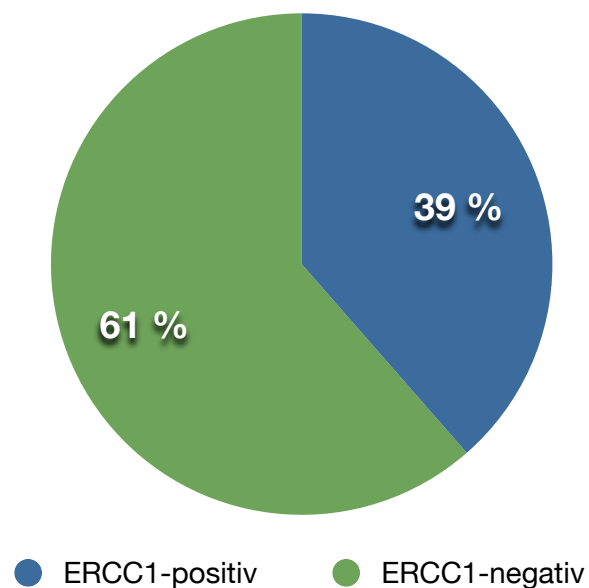


Abb. 9 : ERCC1-Verteilung

3.2 Verteilung der ERCC1-Befunde auf die Histologien

Der Hauptfragestellung dieser Arbeit folgend, wurde zunächst untersucht, wie sich ERCC1 auf die einzelnen Tumorentitäten verteilt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 10 und Abbildung 11 zusammengefasst. Dabei wurden Karzinoide, kleinzellige und intermediärzellige Bronchialtumore aufgrund der geringen Fallzahlen (Karzinoide: N=1, kleinzelligen Bronchialtumore: N=2, intermediärzelligen Bronchialtumore: N=1) als Gruppe der neuroendokrinen Tumore zusammengefasst.

Auffällig ist, dass die Hälfte aller Plattenepithelkarzinome und lediglich 25 Prozent aller Adenokarzinome ERCC1-positiv sind. Auch die großzelligen und neuroendokrinen Tumore haben mit 33 und 25 Prozent einen geringeren Anteil an ERCC1-positiven Befunden. Somit sind in dem untersuchten Patientenkollektiv die Plattenepithelkarzinome am häufigsten ERCC1-positiv.

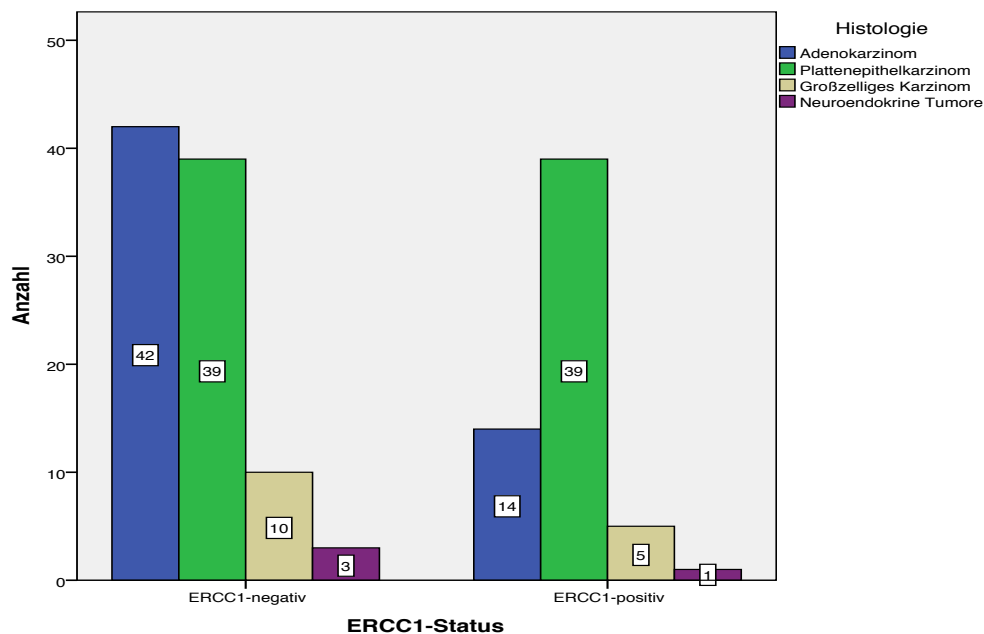


Abb. 10 : Absolutverteilung der ERCC1-Befunde auf die Tumorhistologien

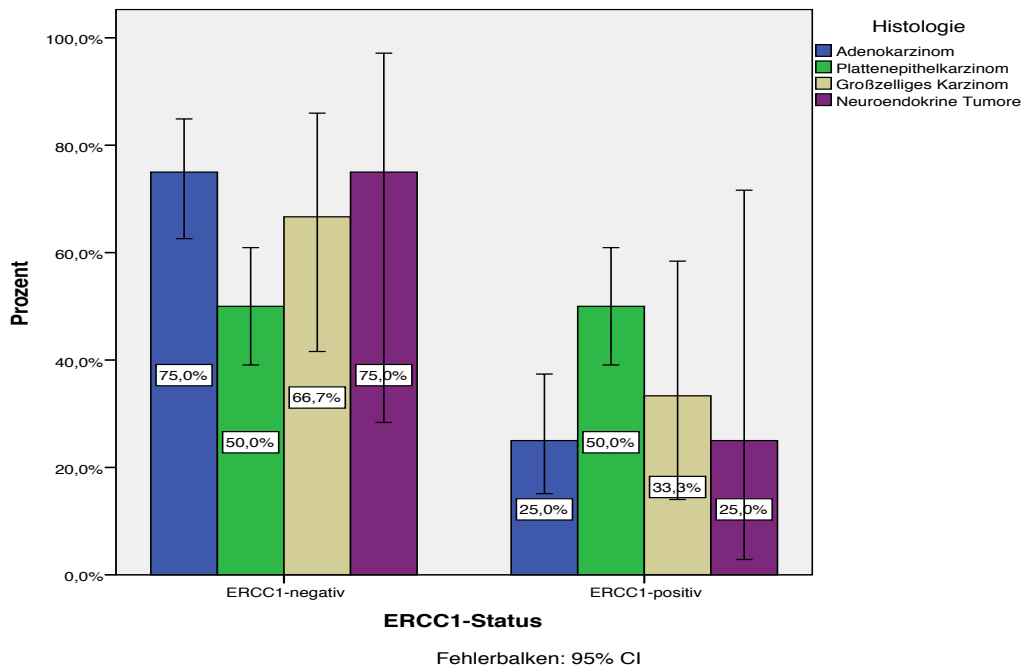


Abb. 11: Relative Häufigkeiten der ERCC1-Befunde in den Tumorhistologien

3.3 Verteilung der ERCC1-Befunde auf die Stadien

Bei der Analyse der Verteilung der ERCC1-Befunde auf das Tumorstadium, zeigte sich ein auffälliges Verteilungsmuster. Abbildung 12 zeigt deren absolute Häufigkeiten. Zu sehen ist, dass der Großteil der untersuchten Tumore in den Stadien I bis IIIA zu finden ist, die meisten davon im Stadium I. Außerdem zeigt sich, dass dieses Stadium die mit Abstand meisten ERCC1-positiven Befunde aufweist. Ihre Anzahl nimmt in den höheren Stadien drastisch ab. Noch deutlicher wird dies in Abbildung 13 welche die relativen Häufigkeiten der ERCC1-Befunde in den jeweiligen Stadien zeigt. Allerdings fällt auf, dass der Anteil positiver Befunde im Stadium IIIB und IV wieder zunimmt. Bei Fallzahlen von 12 im Stadium IIIB und 3 im Stadium IV ist aber eine Aussage über die tatsächlichen relativen Häufigkeiten kaum möglich.

Nun stellte sich die Frage, ob die kontinuierliche Abnahme ERCC1-positiver Befunde von Stadium I bis IIIA ausschließlich durch das Stadium hervorgerufen wurde oder, ob sie möglicherweise durch eine ungünstige Verteilung der Histologien auf die jeweiligen Stadien zustande kommt. Dazu wurde zunächst die Verteilung der Histologien in den Stadien I bis IV analysiert. Abbildung 14 zeigt, dass im Stadium I der Anteil an Plattenepithel- und Adenokarzinomen nahezu gleich ist. Die großzelligen und die neuroendokrinen Bronchialtumore machen lediglich einen geringen Anteil aus. Im Stadium II und IIIA steigt der Anteil an Plattenepithelkarzinomen, welche am häufigsten ERCC1-positive Befunde aufweisen. Da jedoch mit Höhe des Stadiums der Anteil ERCC1-positiver Befunde sinkt, liegt es nahe, dass die Verteilung der Histologien auf

die jeweiligen Stadien keinen Einfluss zu haben scheint. Um diese Schlussfolgerung weiter untermauern zu können, wurde jede Histologie einzeln betrachtet und deren ERCC1-Befunde in den jeweiligen Stadien untersucht (siehe Kapitel 3.3.1 und 3.3.2).

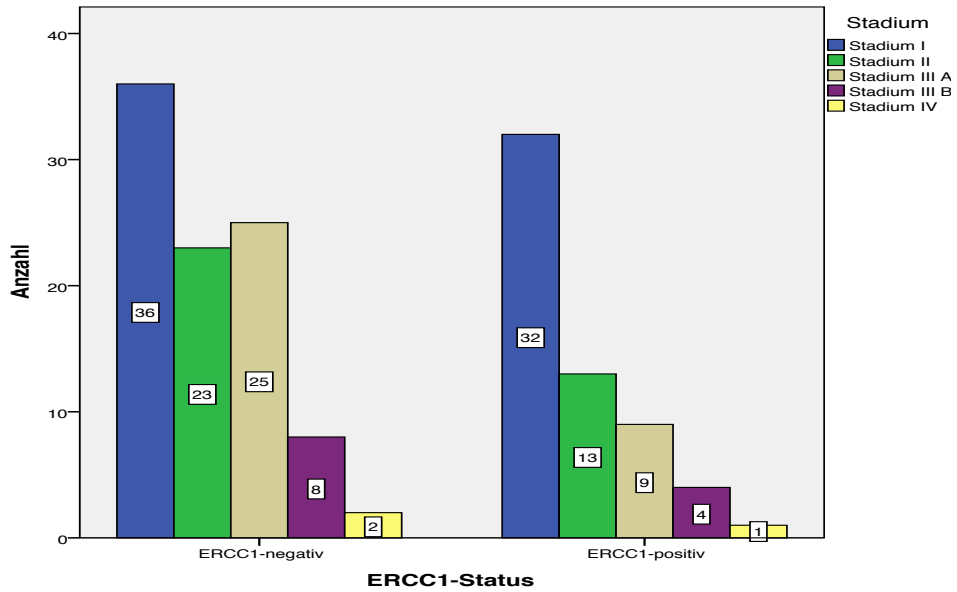


Abb. 12 : Absolutverteilung der ERCC1-Befunde auf die Tumorstadien

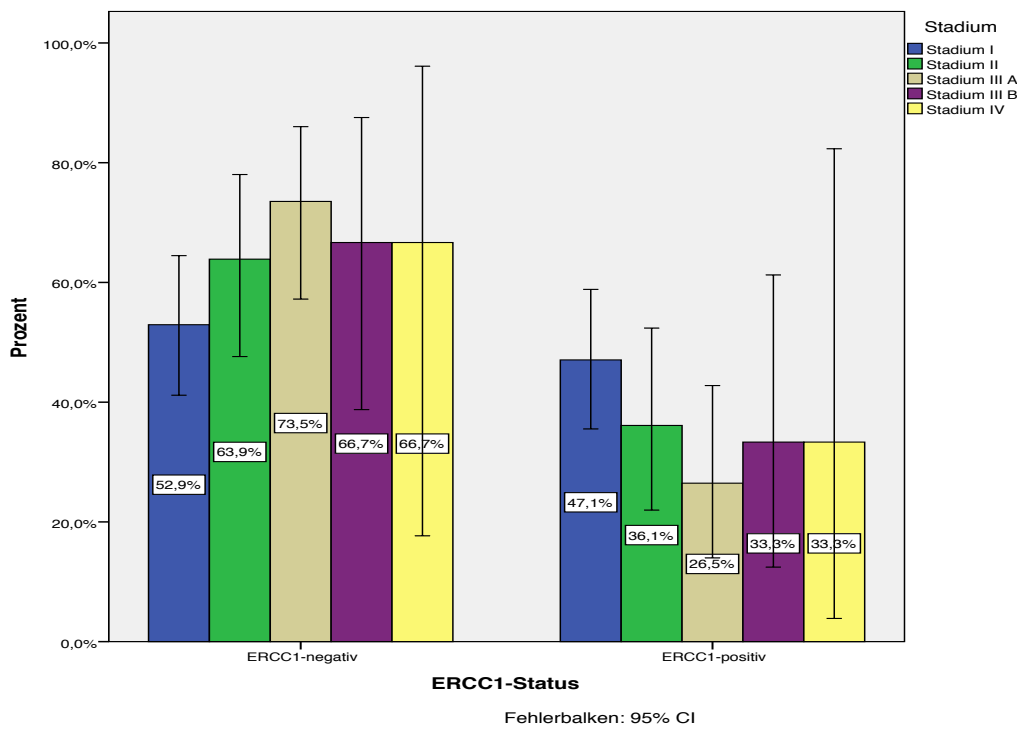


Abb. 13 : Relative Häufigkeiten der ERCC1-Befunde in den Tumorstadien

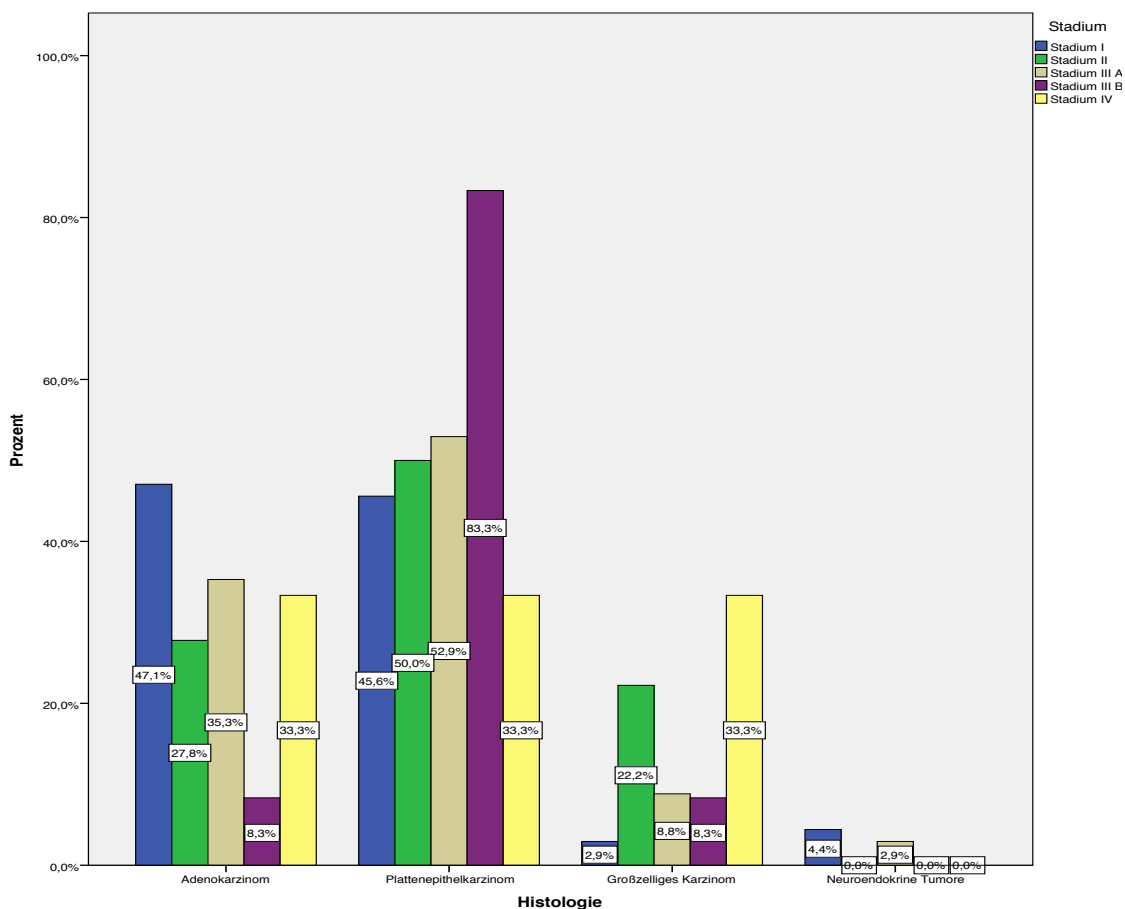


Abb. 14 : Anteil der einzelnen Histologien an den Stadienbefunden

3.3.1 Stadienabhängige ERCC1-Verteilung bei Adeno- und Plattenepithelkarzinomen

Die häufigsten Tumore im untersuchten Patientenkollektiv sind die Adenokarzinome und die Plattenepithelkarzinome. Deren Verteilung auf die Stadien I bis VI sind in Tabelle 3.3.1.1 und Tabelle 3.3.1.2 zu finden. Die graphischen Darstellungen entsprechen Abbildung 15 und Abbildung 16. Aufgrund der niedrigen Fallzahlen in den höheren Stadien, vor allem der Stadien III B und IV, mussten zwei große Stadiengruppen gebildet werden (Stadium I-II und Stadium IIIA-IV), um eine statistische Tendenzen aufzeigen zu können. Die graphische Darstellung in Abbildung 15 zeigt, dass es tendenziell mehr ERCC1-positive Adenokarzinome in den Stadien I bis II gibt, als in den höheren Stadien. Gleiches ist auch bei den Plattenepithelkarzinomen zu beobachten (siehe Abbildung 16).

Es ist schwierig zu sagen, ob der große Anteil an ERCC1-positiven Befunden im Stadium I eher von den Plattenepithelkarzinomen bestimmt wurde. Diese machen - mit 35 Patienten - etwas weniger als 50 Prozent aller Befunde in diesem Stadium aus. Von diesen Patienten sind 23 ERCC1-positiv. Mit 33 Patienten ist das Adenokarzinom in diesem Stadium fast genauso häufig vertreten. Es weist jedoch nur 12 ERCC1-positive Befunde auf. Zu sehen ist jedoch auch, dass sowohl bei Plattenepithel- als auch bei Adenokarzinomen der Anteil an ERCC1-positiven Befunde mit der Höhe des Tumorstadiums abnimmt (siehe Abb. 15 und Abb. 16).

Tab. 3.3.1.1 : Stadienabhängige Verteilung von ERCC1 beim Adenokarzinom

<i>ERCC1</i>	<i>I</i>		<i>II</i>		<i>IIIA</i>		<i>IIIB</i>		<i>IV</i>	
	(N)	(%)	(N)	(%)	(N)	(%)	(N)	(%)	(N)	(%)
<i>positiv</i>	12	36	0	0	2	17	0	0	0	0
<i>negativ</i>	21	64	9	100	10	83	1	100	1	100
Σ	33	100	9	100	12	100	1	100	1	100

Tab. 3.3.1.2 : Stadienabhängige Verteilung von ERCC1 beim Plattenepithelkarzinom

<i>ERCC1</i>	<i>I</i>		<i>II</i>		<i>IIIA</i>		<i>IIIB</i>		<i>IV</i>	
	(N)	(%)	(N)	(%)	(N)	(%)	(N)	(%)	(N)	(%)
<i>positiv</i>	23	66	5	36	7	39	3	30	1	100
<i>negativ</i>	12	34	9	64	11	61	7	70	0	0
Σ	35	100	14	100	18	100	10	100	1	100

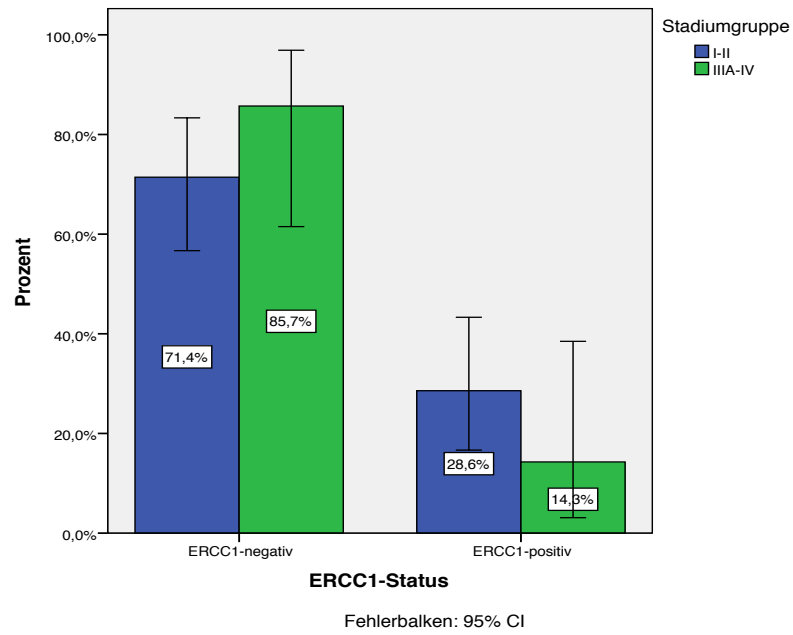


Abb. 15 : ERCC1-Verteilung in den Tumorstadien bei Adenokarzinomen

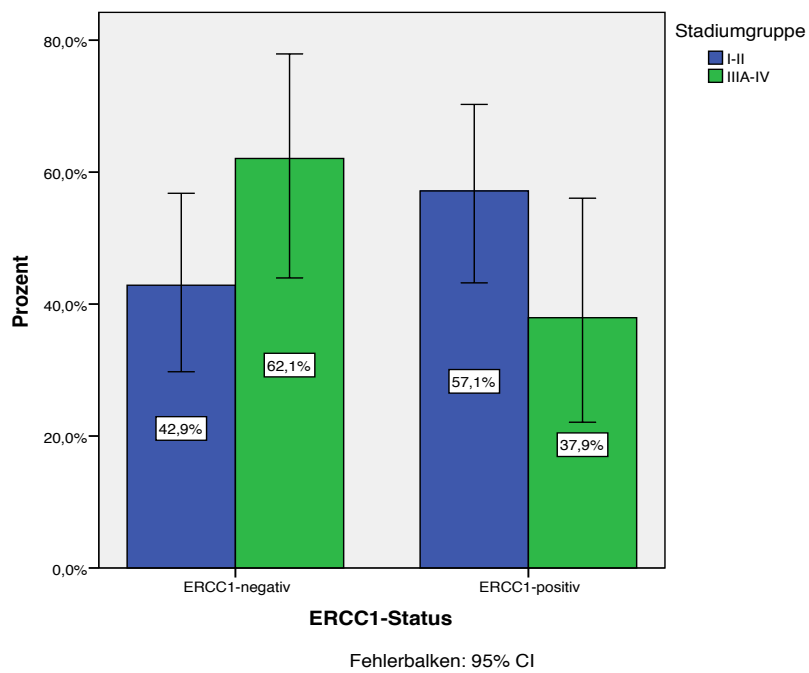


Abb. 16 : ERCC1-Verteilung in den Tumorstadien bei Plattenepithelkarzinomen

3.3.2 Stadienabhängige ERCC1-Verteilung bei großzelligen Tumoren und NET

Ebenso wie bei den Adeno- und Plattenepithelkarzinomen, war auch hier eine Einteilung in Stadiengruppen nötig, da die Fallzahlen vor allem in den höheren Stadien unzureichend zur Beurteilung waren (siehe Tabelle 3.3.2.1). Wie in Abbildung 14 zu sehen, haben die großzelligen Bronchialkarzinome und die neuroendokrinen Tumore nur einen relativ geringen Anteil an der Gesamtzahl der erhobenen Befunde. Tabelle 3.3.2.1 zeigt, dass es bei den großzelligen Bronchialkarzinomen insgesamt fünf ERCC1-positive und zehn ERCC1-negative Befunde gab. Bei den neuroendokrinen Tumoren lagen hingegen nur ein positiver und drei negative Befunde vor. Abbildung 17 und Abbildung 18 stellen die Verteilung dieser beiden Tumorentitäten auf die Stadiengruppen I-II und IIIA-IV grafisch dar. Auch hierbei ist auffällig, dass mehr ERCC1-positive Befunde in den niedrigeren als in den höheren Stadien vorzufinden sind. Somit scheint ERCC1 auch in den Tumorstadien eine charakteristische Verteilung zu haben. Je höher das Tumorstadium, desto geringer der Anteil ERCC1-positiver Befunde.

Tab. 3.3.2.1 : ERCC1-Verteilung auf die Stadiengruppen von Großzellern und Neuroendokrine Tumore (NET)

ERCC1	Großzeller		NET	
	I-II	IIIA-IV	I-II	IIIA-IV
positiv	4	1	1	0
negativ	6	4	2	1
Σ	10	5	3	1

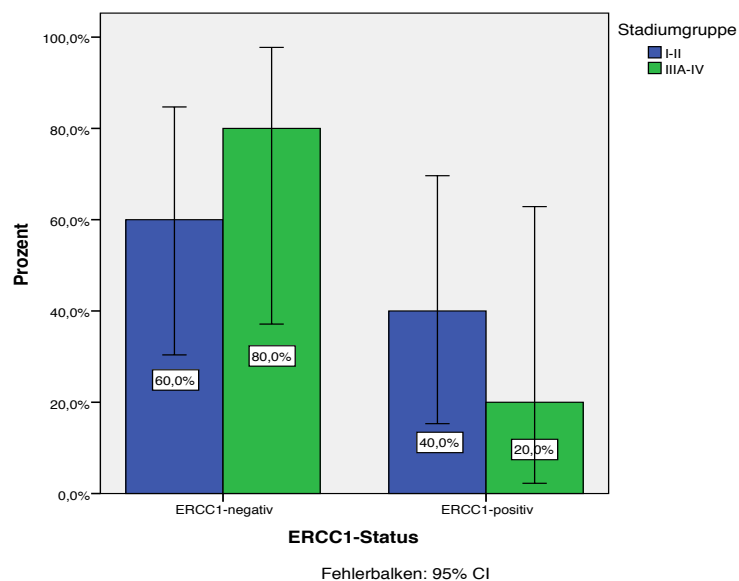


Abb. 17 : ERCC1-Verteilung in den Tumorstadien bei großzelligen Bronchialtumoren

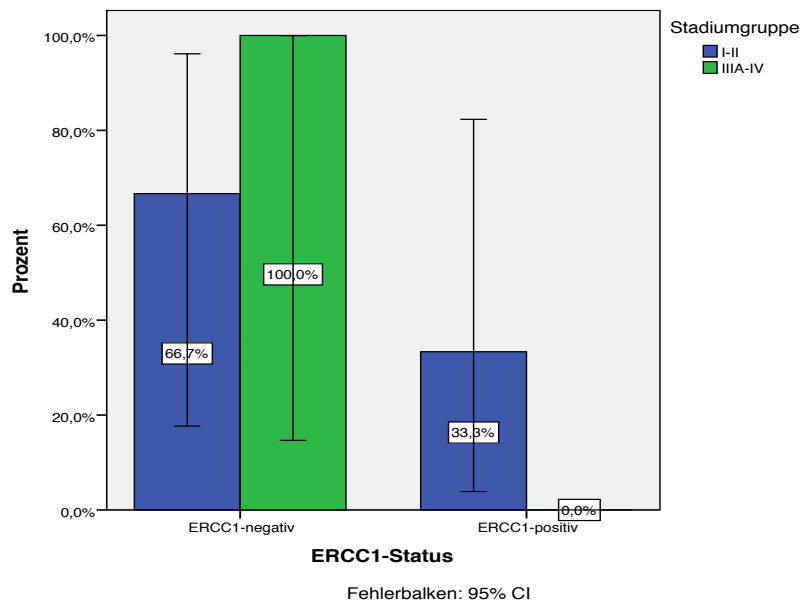


Abb. 18 : ERCC1-Verteilung in den Tumorstadien bei neuroendokrinen Bronchialtumoren

3.4 Verteilung von ERCC1 auf das Alter der Patienten

Um ein auswertbares Ergebnis zur Altersabhängigkeit von ERCC1 zu erhalten, wurden die Patienten in zwei große Altersgruppen unterteilt. Dabei wurden Patienten die jünger als 65 Jahre sind von denen unterschieden, die 65 Jahre und älter sind. Die Grenze von 65 Jahren orientiert sich am durchschnittlichen Renteneintrittsalter in Deutschland. Tabelle 3.1.1 und Abbildung 19 zeigen einen leicht erhöhten Anteil an ERCC1-positiven Befunden bei Patienten im fortgeschritteneren Lebensalter.

Auch hier stellt sich die Frage, ob der Effekt des Alters auf ERCC1 wirklich durch das Alter hervorgerufen wird oder, ob er nicht durch eine ungünstige Verteilung der Tumorhistologien in den Altersgruppen begründbar ist. In Abbildung 20 ist dieser Zusammenhang einmal dargestellt.

Aus ihr wird ersichtlich, dass der große Anteil an Plattenepithelkarzinomen in der Gruppe der 65-jährigen und älteren die gehäuften ERCC1-positiven Befunde begründen könnte. Es wäre also möglich, dass es nur einen „Scheinzusammenhang“ zwischen Alter und ERCC1-Expression gibt.

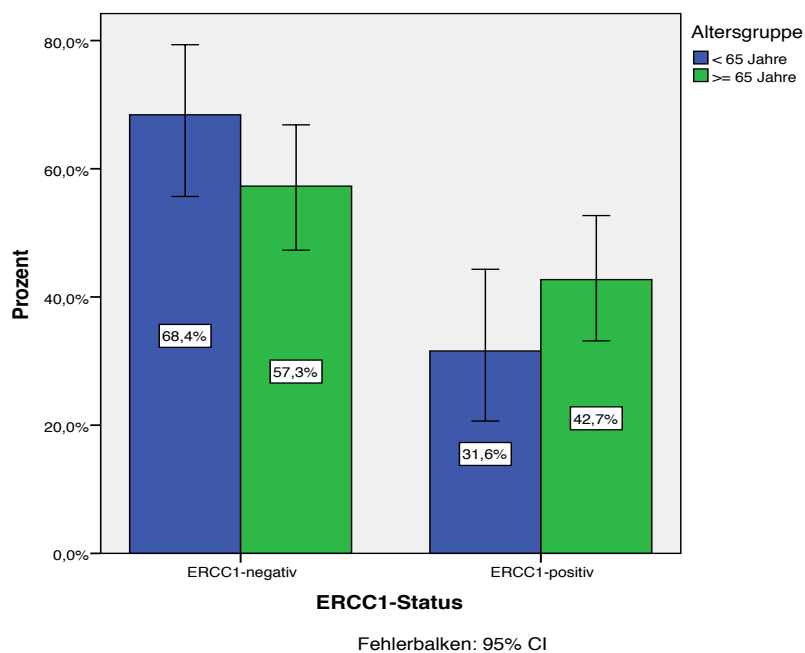


Abb. 19 : ERCC1-Verteilung auf das Alter der Patienten

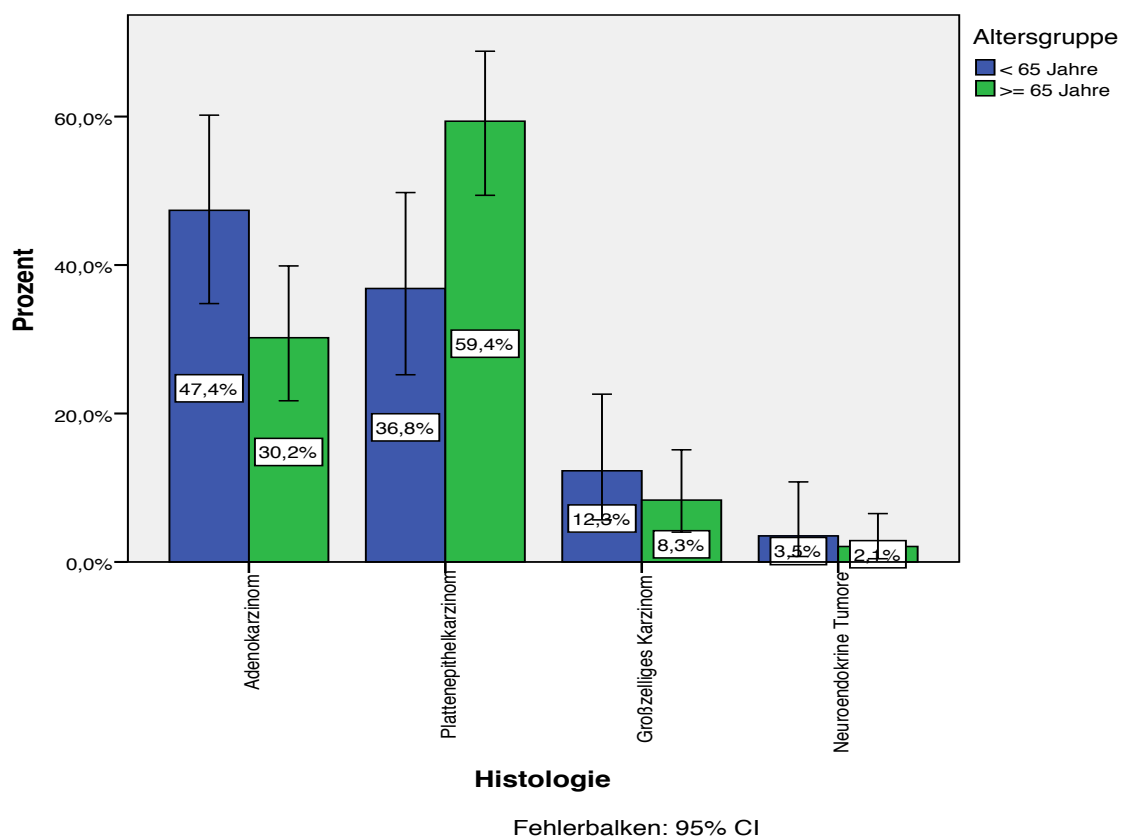


Abb. 20 : Histologieverteilung in den Altersgruppen

3.5 Verteilung von ERCC1 auf das Geschlecht der Patienten

Tabelle 3.1.1 und Abbildung 21 zeigen die ERCC1-Verteilung auf das Geschlecht in der untersuchten Patientenpopulation.

Wie zu sehen, ist ERCC1 bei den Männern und Frauen nahezu gleich verteilt. Somit lässt sich vermuten, dass es keinen Zusammenhang zwischen ERCC1-Expression im Tumorgewebe und dem Geschlecht der Patienten gibt.

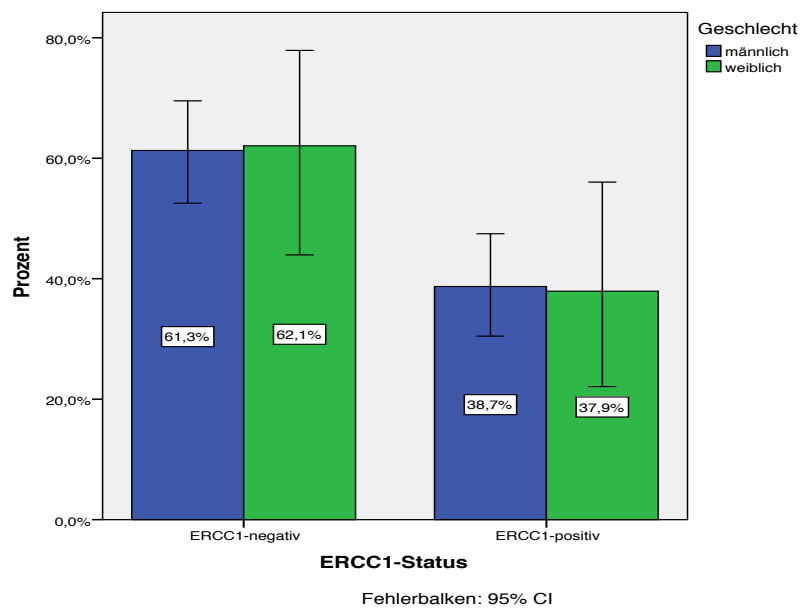


Abb. 21 : ERCC1-Verteilung auf das Geschlecht

3.6 Verteilung von ERCC1 auf Raucher und Nichtraucher

Ähnliches gilt auch für die Abhängigkeit von ERCC1 zum Nikotinstatus. So zeigt Abbildung 22 und Tabelle 3.1.1 eine leicht erhöhte Häufigkeit von ERCC1-positiven Befunden bei den Nichtrauchern. Um eine Beeinflussung dieses Ergebnisses durch die Tumorstadien auszuschließen, wurde ihre Verteilung auf die Gruppe der Raucher und Nichtraucher untersucht. Das Ergebnis zeigt Abbildung 23. Dabei ist zu sehen, dass der Anteil an Plattenepithelkarzinomen bei den Rauchern deutlich höher liegt als bei den Nichtrauchern. Somit scheint eine „ungünstige“ Verteilung der Histologien nicht der Grund für das vermehrte Auftreten von ERCC1-positiven Befunden bei den Nichtrauchern zu sein. Es bleibt aufgrund

der niedrigen Fallzahlen in dieser Gruppe jedoch schwierig zu beurteilen, ob es Unterschiede in der ERCC1-Verteilung gegenüber den Rauchern gibt.

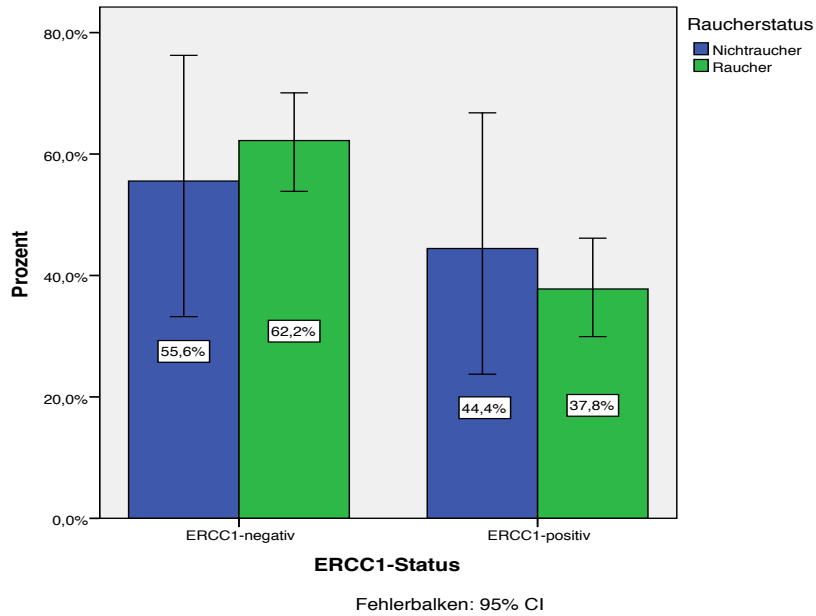


Abb. 22 : ERCC1-Verteilung auf den Raucherstatus

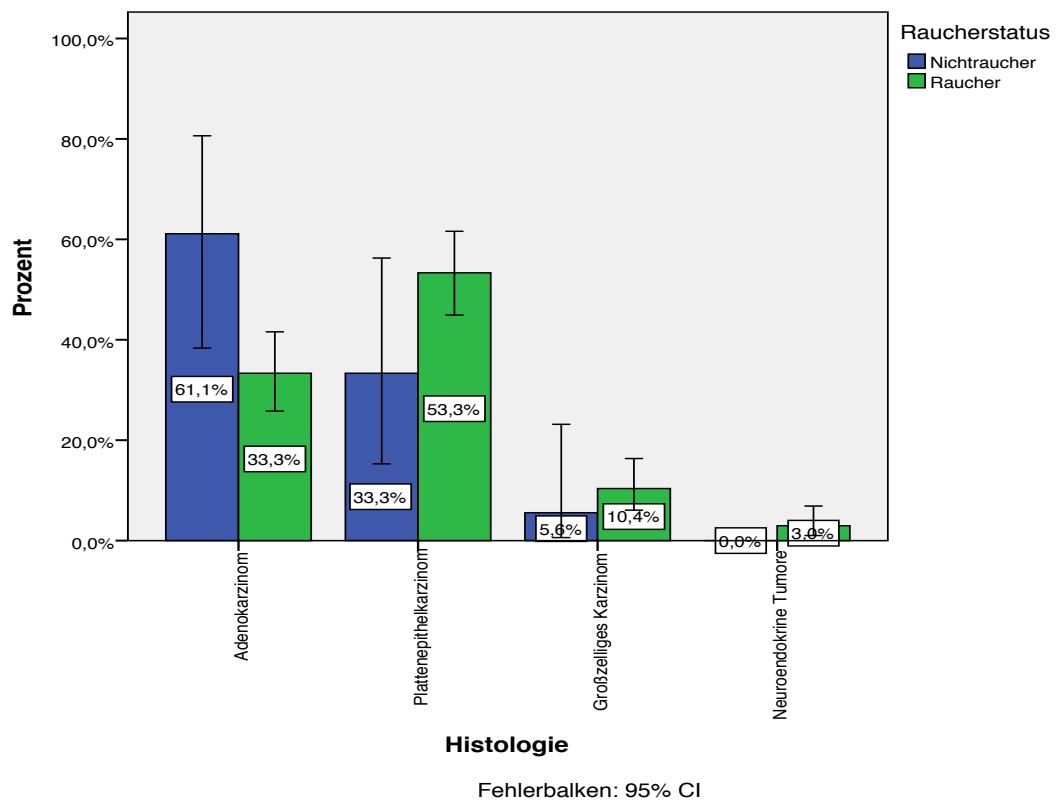


Abb. 23 : Verteilung der unterschiedlichen Histologien die Raucherstatus

4. Diskussion

Zielstellung dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob es eine charakteristische Verteilung von ERCC1 auf prognostische Faktoren beim Lungentumor gibt. Dies war nicht in allen Bereichen gleichermaßen gut möglich.

Grundsätzlich kann ERCC1 mittels zweier unterschiedlicher Methoden bestimmt werden, zum einen durch eine PCR (Polymerasekettenreaktion) und zum anderen durch immunhistochemische Färbung. Im Rahmen dieser Arbeit wurde bei den immunhistochemischen Untersuchungen lediglich zwischen positiven und negativen ERCC1-Befunden unterschieden. Wie stark jedoch die Anfärbbarkeit des jeweiligen Tumorgewebes war, wurde nur sehr selten dokumentiert, sodass die semiquantitativen Bewertungen nicht in die hiesigen Betrachtungen einfließen konnten. Es wäre sicherlich sinnvoll, wenn dies zukünftige Arbeiten zu diesem Thema berücksichtigen würden.

In der zur Zeit laufenden ITACA-Studie wird die Genexpression von ERCC1 mittels einer Polymerasekettenreaktion untersucht. Dabei wird zwischen hoher und niedriger Expression unterschieden. Dies ist in hohem Maße entscheidend für die Zuteilung der jeweiligen Patienten zu einem bestimmten Therapieregime (Humke und Wakelee, 2011). Aufgrund der langen Studiendauer von 12 Jahren und der großen Anzahl an untersuchten Patienten, könnten die dort erhobenen Daten als Grundlage dienen, die hier untersuchte Fragestellung genauer zu untersuchen.

Allerdings wird derzeit noch kontrovers diskutiert, ob eine genetische Untersuchung von ERCC1 einer immunhistochemischen Bestimmung überlegen ist (Vilmar *et al.*, 2012). Beide Verfahren sind von ausreichendem Tumorgewebe in den untersuchten Proben abhängig. Vilmar *et al.* haben 2011 eine Untersuchung veröffentlicht, in der sie diese beiden Methoden miteinander verglichen haben. Dabei zeigte sich ein besserer prädiktiver Wert für die immunhistochemische Bestimmung von ERCC1 (Vilmar *et al.*, 2012). Dies wird darauf zurückgeführt, dass es eine mangelnde Korrelation zwischen dem ERCC1-Gen-Transkript und dem jeweiligen Protein gibt.

In dieser Arbeit wurde zuerst die ERCC1-Verteilung auf die Tumorhistologie und das Tumorstadium untersucht. Hierbei zeigte sich, dass bei den Plattenepithelkarzinomen der Anteil ERCC1-positiver Befunde höher war als bei allen anderen Histologien. Es folgen die großzelligen Bronchialkarzinome mit 33,3 Prozent. Mit 25 Prozent haben die Adenokarzinome und neuroendokrinen Bronchialkarzinome den niedrigsten Anteil an ERCC1-positiven Befunden. Die Diagnose großzelliges Bronchialkarzinom kam bei den untersuchten Patienten insgesamt 15 mal vor. Diese muss allerdings kritisch hinterfragt werden, da sie eine absolute Ausschlussdiagnose

darstellt (Petersen, 2011). In den letzten Jahren wuchs das Wissen um die Biologie und Genetik nicht-kleinzelliger Bronchialtumorzellen stetig (Saintigny und Burger, 2012), sodass möglicherweise die in dieser Arbeit diagnostizierten großzelligen Bronchialkarzinome in Zukunft anderen Tumorentitäten zugeordnet werden könnten. Dies ist jedoch nur Spekulation.

Bei den Stadien ergab sich hinsichtlich der Fallzahlen ein ähnliches Problem. Dadurch dass die Patienten im Rahmen einer chirurgischen Intervention untersucht wurden, sind die fortgeschrittenen Tumorstadien im Sinne der Fallzahlen (Stadium IIIB: N=12; Stadium IV: N=3) unterrepräsentiert. So ist über die Stadien I bis IIIA noch recht gut eine Aussage über die ERCC1-Verteilung zu treffen, wohingegen das bei den Stadien IIIB und IV nur bedingt möglich ist. Dies ist an den Fehlerbalken in Abbildung 13 gut zu sehen. Daraus ergibt sich, dass die Anzahl der ERCC1-positiven Befunde von Stadium I bis IIIA abnimmt. Ob sich dieser Trend in die höheren Stadien fortsetzt, kann mit dieser Arbeit nicht abschließend beurteilt werden.

Unter der Voraussetzung, dass ERCC1 - genau wie das Tumorstadium auch - ein prognostischer Faktor ist, lassen sich Vermutungen über Gründe für dieses Phänomen anstellen. Da ERCC1 letztendlich ein Zellprodukt ist, zu dessen Synthese demzufolge einigermaßen geordnete Transkriptions- und Translationsvorgänge nötig wären, wäre es nicht unwahrscheinlich, dass ERCC1 in höheren Tumorstadien vermindert exprimiert werden würde. Diesen Spekulationen könnten sich vielleicht zukünftige Experimente und Studien widmen.

Gibt es einen Unterschied in der ERCC1-Expression zwischen unter 65-jährigen und älteren Patienten? Bei jüngeren Patienten schien es weniger ERCC1-positive Befunde zu geben als bei den älteren. Dennoch war es nicht möglich, diese Frage in dieser Arbeit eindeutig zu beantworten. Das Problem waren hier weniger die Fallzahlen, sondern eher die Verteilung der Histologien in den untersuchten Altersgruppen (siehe Abbildung 20). So gab es bei den jüngeren Patienten mehr Adenokarzinome und bei den älteren Patienten deutlich mehr Plattenepithelkarzinome. Es bleibt eine Vermutung, anzunehmen, dass der Unterschied in den ERCC1-Befunden beider Altersgruppen eher durch die oben beschriebene Histologieverteilung hervorgerufen wird.

In dieser Arbeit ist die Gruppe der Frauen (N=29) deutlich kleiner als die der Männer (N=129). Dennoch ist es, wie in Abbildung 21 gezeigt, anzunehmen, dass die ERCC1-Expression geschlechtsunspezifisch ist.

Schwierig zu beurteilen ist, ob Nichtraucher häufiger ERCC1-positive Tumore aufweisen als Raucher. Der Vergleich der relativen Häufigkeiten in dieser Arbeit würde diese These stützen (siehe Abbildung 22). Ob sich dieser Trend bei einer höheren Anzahl an Patienten (vor allem der Nichtraucher) fortsetzen würde, muss offen bleiben.

Leider gibt es derzeit nur eine Arbeit, die einer ähnlichen Fragestellung wie in dieser Promotion nachgegangen ist. So wurde im Januar 2012 ein Artikel veröffentlicht, in dem die Verteilungsunterschiede verschiedener DNA-Reparaturproteine in Lungentumoren und deren Effekt auf eine adjuvante Cisplatin-basierte Chemotherapie beschrieben wurden (Pierceall *et al.*, 2012). Eines dieser Reparaturproteine war ERCC1. Es konnte, wie in dieser Arbeit, gezeigt werden, dass ERCC1 häufiger in Plattenepithelkarzinomen als in Adenokarzinomen zu finden ist (64% versus 53%). Ein prognostischer Effekt von ERCC1 konnte lediglich für Plattenepithelkarzinome gefunden werden. Lag bei ihnen eine starke Expression von ERCC1 vor, so war dies mit einem längeren krankheitsfreien Überleben assoziiert bei gleichzeitig schlechterer Wirksamkeit der Cisplatin-basierten Chemotherapie. Bei niedriger Expression zeigte sich hingegen eine bessere Wirksamkeit dieser adjuvanten Chemotherapie. So lässt dieser Artikel die Schlussfolgerung zu, dass Patienten mit ERCC1-positiven Plattenepithelkarzinomen durch Verzicht auf eine adjuvante Cisplatin-basierter Chemotherapie profitieren könnten.

Die meisten Arbeiten befassen sich jedoch mit dem Unterschied in der Wirksamkeit verschiedener Chemotherapiestrategien bei ERCC1-positiven und -negativen Bronchialtumoren. Aussagen über unterschiedliche Verteilungsmuster von ERCC1 sind nur indirekt zu finden. So konnte die Beobachtung, dass ERCC1 in unterschiedliche Lungentumorhistologien unterschiedlich häufig ist, in einer Studie von Vilmar *et al.* von 2010 ebenfalls gemacht werden (Vilmar *et al.*, 2010). In ihr wurden zwei Chemotherapiestrategien und deren Wirksamkeit auf ERCC1-positive und ERCC1-negative Tumore im fortgeschrittenen Stadium (IIIA bis IV) untersucht. Trotz dieser Zielstellung, wurden einige Erkenntnisse gewonnen, die im Zusammenhang mit dieser Arbeit interessant sind. Dabei zeigte sich, dass von insgesamt 264 untersuchten Patienten 74,7% aller Plattenepithelkarzinome ERCC1-positiv, während die Mehrzahl aller Adenokarzinome (71,3%) ERCC1-negativ waren. Bei den großzelligen Bronchialkarzinomen waren 55,6% der Befunde positiv. Es konnte also ein ähnlicher Trend wie in dieser Arbeit beobachtet werden. Interessant ist, dass er sich auch in den höheren Stadien fortzusetzen scheint. Somit stellen die Ergebnisse von Vilmar *et al.* eine gute Ergänzung zu den Ergebnissen dieser Promotion dar. Auch in der Verteilung von ERCC1-Befunden auf das Geschlecht konnten zumindest bei den Frauen ähnliche Verteilungen wie in dieser Arbeit beobachtet werden. So hatten in der Studie von Vilmar *et al.* 65% der weiblichen und 44% der männlichen Patienten ERCC1-negative Tumore. Allerdings unterscheidet sich das Ergebnis bei den Männern von den hier erhobenen 61% ERCC1-negativen Befunden. Über die Gründe für diesen doch recht deutlichen Unterschied können meinerseits nur Vermutungen angestellt werden.

Vorausgesetzt das Tumorstadium hat Einfluss auf die Expression von ERCC1, so könnte es möglich sein, dass sie in den - in dieser Arbeit hauptsächlich betrachteten - niedrigeren Stadien

geschlechterunabhängig ist. Je höher das Stadium jedoch ist, desto geschlechterabhängiger wird die ERCC1-Expression. Jedoch sind all diese Überlegungen rein spekulativer Natur und müssten somit durch weitere Arbeiten auf diesem Gebiet bestätigt oder widerlegt werden.

Allerdings muss gesagt werden, dass jeder Vergleich mit Arbeiten, die einer anderen Grundfragestellung nachgehen, statistisch problematisch ist. So sind mitunter die Patientenpopulationen anderer Publikationen auf verschiedenste Art und Weise vorselektiert, so dass ein Vergleich mit den Patienten in dieser Arbeit kaum möglich ist.

5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass es Verteilungsunterschiede von ERCC1 gibt. Vor allem im Hinblick auf die Histologie ist ein Trend nachzuweisen. So weisen Plattenepithelkarzinome häufiger ERCC1-positive Befunde auf als Adenokarzinome, großzellige oder neuroendokrine Bronchialtumore.

Außerdem zeigte sich, dass die Häufigkeit ERCC1-positiver Befunde mit der Höhe des Tumorstadiums tendenziell abnimmt. Am ehesten konnte das für die Stadien I bis IIIA gezeigt werden.

Bei Patienten mit einem Alter über 65 Jahre wurden geringfügig mehr ERCC1-positive Bronchialtumore diagnostiziert als bei den unter-65-Jährigen.

In dieser Arbeit scheint es keinen Zusammenhang zwischen Geschlecht und ERCC1-Status zu geben, wo hingegen es bei den Nichtrauchern geringfügig mehr ERCC1-positive Befunde gibt.

Aufgrund der Anzahl der hier untersuchten Patienten können lediglich Trends aufgezeigt werden. Vielleicht können andere Arbeiten, durch die Ausweitung der Patientenpopulation und durch Einbeziehung semiquantitativer ERCC1-Bestimmung die Ergebnisse dieser Arbeit verifizieren und/oder besser einordnen.

Literaturverzeichnis

- Aktories K, Unger C: *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 9. Aufl., Urban & Fischer, München, 2004, 934
- Allingham-Hawkins, D., Lea, A. & Levine, S. ERCC1 Expression Analysis to Guide Therapy in Non-Small Cell Lung Cancer. *PLoS Curr* **2**, RRN1202 (2010).
- Altaha, R., Liang, X., Yu, J. J. & Reed, E. Excision repair cross complementing-group 1: gene expression and platinum resistance. *Int J Mol Med* **14**, 959-970 (2004).
- Arriagada, R., Bergman, B., Dunant, A., Le Chevalier, T., Pignon, J. P. & Vansteenkiste, J. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* **350**, 351-360 (2004).
- Azuma, K., Komohara, Y., Sasada, T., Terazaki, Y., Ikeda, J., Hoshino, T., Itoh, K., Yamada, A. & Aizawa, H. Excision repair cross-complementation group 1 predicts progression-free and overall survival in non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Cancer Sci* **98**, 1336-1343 (2007).
- Azuma, K., Sasada, T., Kawahara, A., Hattori, S., Kinoshita, T., Takamori, S., Ichiki, M., Imamura, Y., Ikeda, J., Kage, M., Kuwano, M. & Aizawa, H. Expression of ERCC1 and class III beta-tubulin in non-small cell lung cancer patients treated with a combination of cisplatin/docetaxel and concurrent thoracic irradiation. *Cancer Chemother Pharmacol* **64**, 565-573 (2009a).
- Azuma, K., Sasada, T., Kawahara, A., Takamori, S., Hattori, S., Ikeda, J., Itoh, K., Yamada, A., Kage, M., Kuwano, M. & Aizawa, H. Expression of ERCC1 and class III beta-tubulin in non-small cell lung cancer patients treated with carboplatin and paclitaxel. *Lung Cancer* **64**, 326-333 (2009b).
- Bartolucci, R., Wei, J., Sanchez, J. J., Perez-Roca, L., Chaib, I., Puma, F., Farabi, R., Mendez, P., Roila, F., Okamoto, T., Taron, M. & Rosell, R. XPG mRNA expression levels modulate prognosis in resected non-small-cell lung cancer in conjunction with BRCA1 and ERCC1 expression. *Clin Lung Cancer* **10**, 47-52 (2009).
- Booton, R., Ward, T., Ashcroft, L., Morris, J., Heighway, J. & Thatcher, N. ERCC1 mRNA expression is not associated with response and survival after platinum-based chemotherapy regimens in advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* **2**, 902-906 (2007).
- Ceppi, P., Volante, M., Novello, S., Rapa, I., Danenberg, K., Danenberg, P., Cambieri, A., Selvaggi, G., Saviozzi, S., Calogero, R., Papotti, M. & Scagliotti, G. ERCC1 and RRM1 gene expressions but not EGFR are predictive of shorter survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin and gemcitabine. *Annals of Oncology* **17**, 1818-1825 (2006).
- Dabholkar, M., Bostick-Bruton, F., Weber, C., Bohr, V. A., Egwuagu, C. & Reed, E. ERCC1 and ERCC2 expression in malignant tissues from ovarian cancer patients. *J Natl Cancer Inst* **84**, 1512-1517 (1992).
- Dabholkar, M., Vionnet, J., Bostick-Bruton, F., Yu, J. J. & Reed, E. Messenger RNA levels of XPAC and ERCC1 in ovarian cancer tissue correlate with response to platinum-based chemotherapy. *J Clin Invest* **94**, 703-708 (1994).
- Douillard, J. Y., Rosell, R., De Lena, M., Carpagnano, F., Ramlau, R., Gonzales-Larriba, J. L., Grodzki, T., Pereira, J. R., Le Groumellec, A., Lorusso, V., Clary, C., Torres, A. J., Dahabreh, J., Souquet, P. J., Astudillo, J., Fournel, P., Artal-Cortes, A., Jassem, J., Koubkova, L., His, P., Riggi, M. & Hurteloup, P. Adjuvant vinorelbine plus cisplatin versus observation in patients with completely resected stage IB-IIIa non-small-cell lung cancer (Adjuvant Navelbine International Trialist Association [ANITA]): a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* **7**, 719-727 (2006).
- Fujii, T., Toyooka, S., Ichimura, K., Fujiwara, Y., Hotta, K., Soh, J., Suehisa, H., Kobayashi, N., Aoe, M., Yoshino, T., Kiura, K. & Date, H. ERCC1 protein expression predicts the response of cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy in non-small-cell lung cancer.

- Lung Cancer* **59**, 377-384 (2008).
- Gauler, T. C. Individualisierte Therapie des Lungenkarzinoms. **2010**, Molecular Analysis-Based Treatment Strategies for Non-Small Cell Lung Cancer (2007).
- George R. Simon, M. D., FCCP, Swati Sharma, MS; Alan Cantor, PhD; Prudence Smith, MD; and Gerold Bepler, MD, PhD. ERCC1 Expression Is a Predictor of Survival in Resected Patients With Non-small Cell Lung Cancer. *Chest* **978-983** (2005).
- Gruyter, W. D. Pschyrembel. Klinisches Wörterbuch, 260. Auflage. Berlin (2004).
- Hammerschmidt, S. & Wirtz, H. Lungenkarzinom—aktuelle Diagnostik und Therapie. *Dt Ärztebl* **49**, 809-818 (2009).
- Hsu, C., Kuo, S. H., Hu, F. C., Cheng, A. L., Shih, J. Y., Yu, C. J., Lin, C. C., Huang, T. C., Yang, P. C. & Yang, C. H. Gemcitabine plus conventional-dose epirubicin versus gemcitabine plus cisplatin as first-line chemotherapy for stage IIIB/IV non-small cell lung carcinoma—a randomized phase II trial. *Lung Cancer* **62**, 334-343 (2008).
- Humke, E. W. & Wakelee, H. The Evolving Role of Chemotherapy and Predictive Markers in Early-stage Non-small-cell Lung Cancer. (2011).
- Husmann, G., Kaatsch, P., Katalinic, A., Bertz, J., Haberland, J., Kraywinkel, K. & Wolf, U. Krebs in Deutschland 2005/2006: Häufigkeiten und Trends. Berlin: Robert Koch-Institut (2010).
- Hwang, I. G., Ahn, M. J., Park, B. B., Ahn, Y. C., Han, J., Lee, S., Kim, J., Shim, Y. M., Ahn, J. S. & Park, K. ERCC1 expression as a prognostic marker in N2(+) nonsmall-cell lung cancer patients treated with platinum-based neoadjuvant concurrent chemoradiotherapy. *Cancer* **113**, 1379-1386 (2008).
- Ikeda, S., Takabe, K. & Suzuki, K. Expression of ERCC1 and class IIIbeta tubulin for predicting effect of carboplatin/paclitaxel in patients with advanced inoperable non-small cell lung cancer. *Pathol Int* **59**, 863-867 (2009).
- Joshi, M. B., Shirota, Y., Danenberg, K. D., Conlon, D. H., Salonga, D. S., Herndon, J. E. n., Danenberg, P. V. & Harpole, D. H. J. High gene expression of TS1, GSTP1, and ERCC1 are risk factors for survival in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer. *Clin Cancer Res* **11**, 2215-2221 (2005).
- Koh, Y., Jang, B., Han, S. W., Kim, T. M., Oh, D. Y., Lee, S. H., Kang, C. H., Kim, D. W., Im, S. A., Chung, D. H., Kim, Y. T., Kim, T. Y., Kim, Y. W., Kim, J. H., Heo, D. S. & Bang, Y. J. Expression of class III beta-tubulin correlates with unfavorable survival outcome in patients with resected non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* **5**, 320-325 (2010).
- Langer, R., Specht, K., Becker, K., Ewald, P., Bekesch, M., Sarbia, M., Busch, R., Feith, M., Stein, H. J., Siewert, J. R. & Hofler, H. Association of pretherapeutic expression of chemotherapy-related genes with response to neoadjuvant chemotherapy in Barrett carcinoma. *Clin Cancer Res* **11**, 7462-7469 (2005).
- Lee, H. W., Choi, Y. W., Han, J. H., Kim, J. H., Jung, J. H., Jeong, S. H., Kang, S. Y., Choi, J. H., Oh, Y. T., Park, K. J., Hwang, S. C. & Sheen, S. S. Expression of excision repair cross-complementation group 1 protein predicts poor outcome in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based doublet chemotherapy. *Lung Cancer* **65**, 377-382 (2009).
- Lee, K. H., Min, H. S., Han, S. W., Oh, D. Y., Lee, S. H., Kim, D. W., Im, S. A., Chung, D. H., Kim, Y. T., Kim, T. Y., Heo, D. S., Bang, Y. J., Sung, S. W. & Kim, J. H. ERCC1 expression by immunohistochemistry and EGFR mutations in resected non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* **60**, 401-407 (2008).
- Li, X. Q., Li, J., Shi, S. B., Chen, P., Yu, L. C. & Bao, Q. L. Expression of MRP1, BCRP, LRP and ERCC1 as prognostic factors in non-small cell lung cancer patients receiving postoperative cisplatin-based chemotherapy. *Int J Biol Markers* **24**, 230-237 (2009).
- Lord, R. V., Brabender, J., Gandara, D., Alberola, V., Camps, C., Domine, M., Cardenal, F., Sanchez, J. M., Gumerlock, P. H., Taron, M., Sanchez, J. J., Danenberg, K. D., Danenberg, P. V. & Rosell, R. Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* **8**, 2286-2291 (2002).
- Matthys H, Seeger W: *Klinische Pneumologie. 4. Aufl., Springer, Berlin, Heidelberg, 2008, S.*

- Metzger, R., Leichman, C. G., Danenberg, K. D., Danenberg, P. V., Lenz, H. J., Hayashi, K., Groshen, S., Salonga, D., Cohen, H., Laine, L., Crookes, P., Silberman, H., Baranda, J., Konda, B. & Leichman, L. ERCC1 mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric cancer patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* **16**, 309-316 (1998).
- Mountain, C. F. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest* **111**, 1710-1717 (1997).
- Okada, M., Nishio, W., Sakamoto, T., Uchino, K., Yuki, T., Nakagawa, A. & Tsubota, N. Evolution of surgical outcomes for nonsmall cell lung cancer: time trends in 1465 consecutive patients undergoing complete resection. *Ann Thorac Surg* **77**, 1926-30; discussion 1931 (2004).
- Okuda, K., Sasaki, H., Dumontet, C., Kawano, O., Yukiue, H., Yokoyama, T., Yano, M. & Fujii, Y. Expression of excision repair cross-complementation group 1 and class III beta-tubulin predict survival after chemotherapy for completely resected non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* **62**, 105-112 (2008).
- Olaussen, K. A., Dunant, A., Fouret, P., Brambilla, E., Andre, F., Haddad, V., Taranchon, E., Filipits, M., Pirker, R., Popper, H. H., Stahel, R., Sabatier, L., Pignon, J. P., Tursz, T., Le Chevalier, T. & Soria, J. C. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* **355**, 983-991 (2006).
- Ota, S., Ishii, G., Goto, K., Kubota, K., Kim, Y. H., Kojika, M., Murata, Y., Yamazaki, M., Nishiwaki, Y., Eguchi, K. & Ochiai, A. Immunohistochemical expression of BCRP and ERCC1 in biopsy specimen predicts survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin-based chemotherapy. *Lung Cancer* **64**, 98-104 (2009).
- Petersen, I. The morphological and molecular diagnosis of lung cancer. *Dtsch Arztebl Int* **108**, 525-531 (2011).
- Pierceall, W. E., Olaussen, K. A., Rousseau, V., Brambilla, E., Sprott, K. M., Andre, F., Pignon, J. P., Le Chevalier, T., Pirker, R., Jiang, C., Filipits, M., Chen, Y., Kutok, J. L., Weaver, D. T., Ward, B. E. & Soria, J. C. Cisplatin benefit is predicted by immunohistochemical analysis of DNA repair proteins in squamous cell carcinoma but not adenocarcinoma: theranostic modeling by NSCLC constituent histological subclasses. *Ann Oncol* (2012).
- Rahn, J. J., Adair, G. M. & Nairn, R. S. Multiple roles of ERCC1-XPF in mammalian interstrand crosslink repair. *Environ Mol Mutagen* **51**, 567-581 (2010).
- Reed, E., Dabholkar, M., Thornton, K., Thompson, C., Yu, J. J. & Bostick-Bruton, F. Evidence for the appearance of mRNAs of nucleotide excision repair genes, in human ovarian cancer tissues. *Oncol Rep* **7**, 1123-1128 (2000).
- Robinson, L. A., Ruckdeschel, J. C., Wagner, H., Jr. & Stevens, C. W. Treatment of non-small cell lung cancer-stage IIIA: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* **132**, 243S-265S (2007).
- Robinson, L. A., Wagner, H., Jr. & Ruckdeschel, J. C. Treatment of stage IIIA non-small cell lung cancer. *Chest* **123**, 202S-220S (2003).
- Rosell, R., Lord, R. V., Taron, M. & Reguart, N. DNA repair and cisplatin resistance in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* **38**, 217-227 (2002).
- Rosell, R., Danenberg, K. D., Alberola, V., Bepler, G., Sanchez, J. J., Camps, C., Provencio, M., Isla, D., Taron, M., Diz, P. & Artal, A. Ribonucleotide reductase messenger RNA expression and survival in gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res* **10**, 1318-1325 (2004a).
- Rosell, R., Felip, E., Taron, M., Majo, J., Mendez, P., Sanchez-Ronco, M., Queralt, C., Sanchez, J. J. & Maestre, J. Gene expression as a predictive marker of outcome in stage IIB-III A-III B non-small cell lung cancer after induction gemcitabine-based chemotherapy followed by resectional surgery. *Clin Cancer Res* **10**, 4215s-4219s (2004b).
- Saintigny, P. & Burger, J. A. Recent advances in non-small cell lung cancer biology and clinical management. *Discov Med* **13**, 287-297 (2012).
- Shirota, Y., Stoehlmacher, J., Brabender, J., Xiong, Y. P., Uetake, H., Danenberg, K. D., Groshen, S., Tsao-Wei, D. D., Danenberg, P. V. & Lenz, H. J. ERCC1 and thymidylate

- synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* **19**, 4298-4304 (2001).
- Simon, G., Sharma, A., Li, X., Hazelton, T., Walsh, F., Williams, C., Chiappori, A., Haura, E., Tanvetyanon, T., Antonia, S., Cantor, A. & Bepler, G. Feasibility and efficacy of molecular analysis-directed individualized therapy in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* **25**, 2741-2746 (2007).
- Vilmar, A., Garcia-Foncillas, J., Huarritz, M., Santoni-Rugiu, E. & Sorensen, J. B. RT-PCR versus immunohistochemistry for correlation and quantification of ERCC1, BRCA1, TUBB3 and RRM1 in NSCLC. *Lung Cancer* **75**, 306-312 (2012).
- Vilmar, A. C., Santoni-Rugiu, E. & Sorensen, J. B. ERCC1 and histopathology in advanced NSCLC patients randomized in a large multicenter phase III trial. *Ann Oncol* **21**, 1817-1824 (2010).
- Warnecke-Eberz, U., Metzger, R., Miyazono, F., Baldus, S. E., Neiss, S., Brabender, J., Schaefer, H., Doerfler, W., Bollschweiler, E., Dienes, H. P., Mueller, R. P., Danenberg, P. V., Hoelscher, A. H. & Schneider, P. M. High specificity of quantitative excision repair cross-complementing 1 messenger RNA expression for prediction of minor histopathological response to neoadjuvant radiochemotherapy in esophageal cancer. *Clin Cancer Res* **10**, 3794-3799 (2004).
- Winton, T., Livingston, R., Johnson, D., Rigas, J., Johnston, M., Butts, C., Cormier, Y., Goss, G., Inculet, R., Vallieres, E., Fry, W., Bethune, D., Ayoub, J., Ding, K., Seymour, L., Graham, B., Tsao, M. S., Gandara, D., Kesler, K., Demmy, T. & Shepherd, F. Vinorelbine plus cisplatin vs. observation in resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* **352**, 2589-2597 (2005).
- Zheng, Z., Chen, T., Li, X., Haura, E., Sharma, A. & Bepler, G. DNA synthesis and repair genes RRM1 and ERCC1 in lung cancer. *N Engl J Med* **356**, 800-808 (2007).

Thesen

1. ERCC1 ist eine Nuklease, die Abbrüche zytotoxischer DNA-Addukte während der Nukleotid-Exzisions-Reparatur vornimmt.
2. ERCC1-negative Bronchialtumore haben eine signifikante Verbesserung des medianen Überlebens unter Chemotherapie als ERCC1-positive Bronchialtumore.
3. Patienten mit ERCC1-positiven Tumoren zeigen unter Cisplatin-basierter Chemotherapie sogar eine Verschlechterung des medianen Überlebens im Vergleich zu Patienten, die nur observiert werden.
4. ERCC1 kann als prognostischer Faktor für eine platinbasierte Chemotherapie gesehen werden.
5. In dieser Arbeit ist nicht zweifelsfrei zu belegen, dass Verteilungsunterschiede von ERCC1 auf prognostische Faktoren des Bronchialkarzinoms existieren. Es konnten jedoch Tendenzen aufgezeigt werden.
6. Plattenepithelkarzinome haben mit 50% die häufigsten ERCC1-positiven Befunde verglichen mit den anderen Tumorhistologien.
7. Adenokarzinome und neuroendokrine Tumore haben jeweils mit 25% die wenigsten ERCC1-positiven Befunde.
8. Die Häufigkeit ERCC1-positiver Befunde nimmt vom Stadium I (47,1%) bis zum Stadium IIIA (26,5%) ab. Stadium IIIB und IV haben jeweils 33,3% ERCC1-positive Befunde.
9. Ältere Patienten haben mit 42,7% geringfügig mehr ERCC1-positive Tumore als jüngere Patienten (31,6%).
10. Zwischen Männern (38,7%) und Frauen (37,9%) gibt es nahezu keine Unterschiede in der Häufigkeit ERCC1-positiver Tumorhistologien.
11. Nichtraucher haben mit 44,4% geringfügig mehr ERCC1-positive Befunde als Raucher mit 37,8%.

Tabellarischer Lebenslauf:

Personendaten

Vor- und Zunahme: Konrad Wiermann
Geburtsdatum: 03.April 1984
Geburtsort: Halle (Saale)
Familienstand: verheiratet
Hauptwohnsitz: Goethestraße 22, 06114 Halle (Saale)

Schulbildung

1991-1995 Glaucha-Grundschule Halle/Saale
1995-2004 Erwerb der Hochschulreife am Europaschule Torgymnasium Halle/Saale

Studium

2004-2012 Studium der Humanmedizin an der MLU Halle-Wittenberg

Halle, den

Konrad Wiermann

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Ich versichere, dass ich für die inhaltliche Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten (Promotionsberater oder anderer Personen) in Anspruch genommen habe. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für die Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorliegenden Dissertation stehen.

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Die Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Halle, den

Konrad Wiermann

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt PD Dr. med. Wolfgang Schütte für die Ermöglichung der Promotion und die konstruktive Kritik bei der Durchsicht des Manuskriptes.

Herrn Prof. Dr. med. Matthias Steiner danke ich für die Überlassung relevanter Daten sowie seinen Anregungen und Hinweisen zur Realisierung der Arbeit.

Ebenso danke ich PD Dr. med. Jörg Buchmann für das zur Verfügung gestellte Informationsmaterial und sein stets offenes Ohr für alle Fragen bezüglich der Pathologie.

Außerdem möchte ich mich beim Institut für medizinische Epidemiologie, Biometrie und Informatik der MLU-Halle-Wittenberg für die Ermöglichung der SPSS®-Benutzung bedanken. Besonders möchte ich mich in diesem Zusammenhang bei Dr. rer. medic. Alexander Kluttig für seine Unterstützung bei der statistischen Auswertung bedanken.

Darüber hinaus danke ich allen denjenigen, die direkt und indirekt zum Gelingen der Arbeit beitragen, indem sie mir durch ihren Rat und ihre Unterstützung behilflich waren.

Danken möchte ich auch meiner Familie, insbesondere meinen Eltern und meiner Frau, die mir die gesamte Zeit über Kraft und Motivation gespendet haben.