DNS-Ploidie bei Basaliomen des Kopfes

J.		Hemmer
J.		Kreidler
S.		Haase

Abteilung Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Universität Ulm

Sonderdruckbestellungen an: Dr. rer. nat. Jörg Hemmer, Abteilung Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Universität Ulm, Postfach 1220, D-7900 Ulm

Einleitung

Die Durchflußzytometrie hat sich als eine außerordentlich einfach durchzuführende Technik für die Bestimmung des DNS-Gehaltes von Tumorzellpopulationen erwiesen. Während normale Gewebe ausschließlich diploide Kerne aufweisen, wurden Zellen mit aneuploidem DNS-Gehalt bei alien Arten maligner Tumore mit unterschiedlicher Häufigkeit nachgewiesen [3]. Vielfach konnte eine im Vergleich zu diploiden Tumoren signifikante Verschlechterung der Prognose bei Vorhandensein aneuploider Zelllinien festgestellt werden [3]. Da außerdem bei benignen Neoplasien und Präkanzerogenesen Aneuploidien nur ausnahmsweise gefunden werden [2], dürfte der durchflußzytometrischen Bestimmung des Ploidiestatus einer fraglichen Probe eine erhebliche Bedeutung für die Beurteilung der Dignität zukommen. Die Untersuchung des zellulären DNS-Gehaltes bei Basaliomen, die aufgrund nur ausnahmsweise beobachteter Metastasierung in Bezug auf ihre Dignität eine Sonderstellung in der Gruppe der malignen Tumoren einnehmen, ist daher auch von großem Interesse für die allgemeine Beurteilung der Bedeutung der Ploidie bei Tumoren.

Material und Methode

Es wurden 28 Patienten mit Basaliomen im Gesichtsbereich untersucht. Bis auf einen Fall eines metatypischen, verwilderten Basalioms handelte es sich um typische solide Basaliome.

Unmittelbar nach Resektion der Tumore wurden Gewebeproben in einigen Tropfen 0,9% NaCl mit Hilfe von Skalpellern zerkleinert und anschließend 5 min in 0,5% Pepsinlösung (pH 1,5) bei 20°C unter vorsichtigem Rühren inkubiert. Die Zellsuspension wurde von Gewebsfragmenten mit Hilfe eines Nylonnetzes mit 0,05 mm Porendurchmesser abgetrennt, zentrifugiert und in 70% Äthanol fixiert und bei -20°C gelagert.

Für die Durchflußzytometrie wurden die Zellen abzentrifugiert und 3 min in 0,5% Pepsinlösung (pH 1,5) inkubiert; anschließend wurden sie in einer DNS-spezifischen Fluoreszenzfarbstoff-Lösung (10 mg Ethidiumbromid, 4 mg Mithramycin, 500 mg MgCl₂ in 1000 ml TRIS-Puffer, pH 7,5) resuspendiert. Die Analyse des zellulären DNS-Gehaltes wurde mit einem PAS II Durchflußzytometer der Firma PARTEC (Arlesheim, Schweiz) durchgeführt.

Ergebnisse

Die durchflußzytometrische Analyse von 28 Basaliomen ergab in 26 Fällen ausschließlich Zellen mit normalem diploi-

dem DNS-Gehalt (Abb. 1). Auch das metatypische Basaliom gehörte dieser Gruppe an. In zwei Fällen wurde zusätzlich zu den in der Probe enthaltenen normalen diploiden Zellen jeweils eine Zelllinie mit aneuploidem DNS-Gehalt festgestellt. Der DNS-Index, der sich als Quotient der Modalwerte der Gipfel der jeweiligen aneuploiden und diploiden Zelllinie berechnet, betrug 1,6 (Abb. 2) und 1,7.

1000

500

0

100 200

300

Kanal-Nummer

Abb. 1. DNS-Histogramm eines diploiden Basaliom. Der relative DNS-Gehalt jeder einzelnen Zelle wird automatisch analysiert und als Histogramm in kleinen Verteilungsintervallen (Meßkanäle) dargestellt. Der Gipfel bei Kanal 100 repräsentiert die Zellen mit diploidem Interphasekern (G₁), der zweite, erheblich kleinere Gipfel bei Kanal 200 gibt die tetraploiden G₂- und Mitose-Kerne wider. Zellen in der DNS-Synthesephase zeigen einen intermediären DNS-Gehalt.

Hemmer et al.: DNS-Ploidie bei Basaliomen des Kopfes

103

Kurzmitteilungen I Short Communications

Kanal-Nummer

Abb. 2. DNS-Histogramm eines aneuploiden Basaliom. Zusätzlich zu den in jeder Tumorseite enthaltenen diploiden Zellen (Modalwert des Gipfels: 95) ist eine aneuploide Zelllinie (Modalwert des Gipfels: 145) deutlich ausgeprägt. Die G₂/M-Gipfel befinden sich bei Kanal 180 und Kanal 290.

nachgewiesen werden (unveröffentlichte Ergebnisse). Bei Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle ist die Häufigkeit von Fällen mit aneuploidem DNS-Gehalt hochsignifikant mit der Tumorgroße korreliert. Sie steigt von 1/41 bei T₁-Tumoren über 3/43 bei T₂-Karzinomen auf 3/4 bei T₃-Karzinomen an [1]. Es erscheint daher naheliegend, das Vorhandensein aneuploider Zelllinien bei Neoplasien als Hinweis einer fortgeschrittenen Tumorentwicklung zu werten. Das Auftreten aneuploider Zelllinien in den hier geschilderten beiden Fällen solider Basaliome legt daher den Verdacht auf eine Verschlechterung der Prognose bei diesen Patienten nahe. Die betreffenden Patienten stehen unter regelmäßiger klinischer Kontrolle, die 19 bzw. 23 Monate nach Resektion noch keine Anzeichen einer Rezidivierung oder gar Metastasierung ergeben hat. Obwohl eine statistische Absicherung der prognostischen Bedeutung der DNS-Ploidie bei Basaliomen aufgrund der im Verhältnis zur Gesamtzahl geringen Häufigkeit aneuploider Fälle und kurzen Beobachtungszeit zur Zeit nicht möglich ist, sollten allein schon diese

Verdachtsmomente eine besonders intensive klinische Nachkontrolle rechtfertigen. Da Anomalien des DNS-Gehaltes offensichtlich auf eine veränderte pathologische Situation bei den betreffenden Patienten hinweisen, erscheint uns die routinemäßige DNS-Analyse operativen Materials zusätzlich zur histologischen Diagnostik als eine angemessene Technik, die dem klinisch tätigen Onkologen eine Zuordnung von Patienten zu Risikogruppen, die einer besonders intensiven postoperativen klinischen Kontrolle bedürfen, erleichtern kann.

Literatur

Diskussion

Offensichtlich ist das Auftreten aneuploider Zelllinien bei soliden Basaliomen ein seltenes Ereignis. In ihrem Ploidiestatus unterscheiden sich diese Tumoren kaum von benignen Neoplasien, die ebenfalls bis auf seltene Ausnahmen diploide DNS-Gehalte aufweisen [2]. Vergleicht man diese Ergebnisse mit Ploidiemessungen hoch-maligner Tumore, die in einem engen pathologischen Zusammenhang mit Basaliomen stehen, so bieten sich hier die spinocellulären Karzinome an. Tatsächlich konnten bei drei von bislang vier untersuchten Spinaliomen aneuploide Zelllinien

Hemmer, J.; Kreidler, J.: Flow cytometric DNA ploidy analysis of squamous cell carcinomas of the oral cavity. Comparison with clinical staging and histological grading. Cancer (in press).
Mauro, F.; Teodori, L.; Schumann, J.; Göhde, W.: Flow cytometry as a tool for the prognostic assessment of human neoplasia. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 12: 625-636 (1986).
M. Merkel, D. E.; Dressier, L. G.; McGuire, W. L.: Flow cytometry, cellular DNA content, and prognosis in human malignancy. J. Clin. Oncol. 5: 1690-1703 (1987).