Anwendung der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) als Zusatzdiagnostik in der Gynäko-Onkologie

K.F.		Czerwenka
R.		Zeillinger
F.		Kury
M.		Manavi
P.		Speiser
M.		Peschke
U.		Steinhart
J.W.		Hosmann
E.		Kubista

I. Univers.-Frauenklinik Wien (Stellv. Vorst.: Prof. Dr. E. Kubista)

Dr. K. F. Czerwenka, I. Univers.-Frauenklinik, Spitalgasse 23, A-1090 Wien

In dieser Pilotstudie wurde der Amplifikationsgrad des Onkogens c-erbB-2 mittels PCR unter Anwendung von „Oncogene-Analysis-System“ (Fa. Vienna Lab.) in primären Brustdrüsenkarzinomen in Korrelation zu der Expression des c-erbB-2 Onkoproteins untersucht und die routinemäßige Anwendbarkeit dieses Assays überprüft. Zusätzlich zu diesen Ergebnissen konnten die Östrogen(ER)-, Progesteron(PR)- und Epidermis-Wachstumsfaktor (EGF)-Rezeptoren sowie der Tumortyp, der Grad und das Tumorstadium verglichen werden.

Material und Methoden

Primäre Brustdrüsenkarzinome von 28 Patienten fanden in dieser Studie Anwendung.

Die Tumorklassifikation erfolgte in invasive, duktale Karzinome (IDC) und in die Gruppe der nicht-invasiven, dukталen Karzinome (NON-IDC).

Immunhistochemischer Assay: Das immunhistochemische Färbeverhalten von c-erbB-2-Onkogenprodukt wurde an 6 µm dicken Gefrierschnitten mittels der Peroxidase-Antiperoxidase-Technik (Fa. Triton) getestet. Die ER- und PR-Rezeptorbestimmung wurde mit der Dextran-coated charcoal-Methode bei simultaner Inkubation mit Jod-125-markiertem Ostradiol und 3H-markiertem R-5020 als Ligandenassay durchgeführt (DDV-Diagnostica Heidelberg).

EGFR-Assay: Die EGFR-Werte wurden durch einen Verdrängungs-Ligandenassay mit Jod-125-markiertem EGF bestimmt (Zeillinger et al., 1989).

Probenpräparation: Gefrierschnitte wurden in Lysepuffer eingebracht und die denaturierten zellulären Proteine abgetrennt (DNA-Extraction System III, Fa. Vienna Lab.). Das c-erbB-2 „Primer set“ und die Oligonukleotid-Probensequenzen wurden aus: „Oncogene-Analysis-System“ verwendet. Die PCR erfolgte nach dem methodischen Prinzip von Saiki (1985); 30 Zyklen wurden mit dem Thermo-Zykler (Fa. Biomed) angeschlossen.

Resultate

In 13 von den 28 (46,4%) Brustdrüsenkarzinomen konnte ein erhöhter Amplifikationsgrad bestimmt werden.

C-erbB-2-Onkogene als „single copy“ waren in 25/28 (98,2%) der Fälle nachweisbar. Amplifikation in 7 von 28 Fällen (25,0%) war mäßiggradig (2 bis 5 c-erbB-2- Kopien). Freie Vorträge (Posterdemonstration)

379

Eine starke Amplifikation über 5 Kopien des c-erbB-2-Onkogens ließ sich in 6 von 28 (21,4%) Tumoren nachweisen.

Immunhistochemisch zeigte sich eine c-erbB-2-Onkogenexpression in 6 Fällen und korrelierte mit den stark amplifizierten c-erbB-2-Brustdrüsenkarzinomen.

In der Auswertung fand sich eine statistische Signifikanz ($p = 0,05$) gegenüber dem PR-Rezeptor, wobei kein Unterschied zwischen PR-Rezeptor positiv und negativ gemacht werden konnte. Keine statistische Signifikanz war erkennbar, vergleicht man die c-erbB-2-amplifizierten primären Brustdrüsenkarzinome in Abhängigkeit zur Lymphknotenmetastasierung.

Die Korrelation zwischen der c-erbB-2-Onkogen-Amplifikation und dem EGF-Rezeptor war statistisch nicht signifikant.

Diskussion

Die hier vorgestellten Beobachtungen machen verständlich, daß die c-erbB-2-Onkogen-Amplifikation einen unabhängigen prognostischen Faktor in den Brustdrüsenkarzinomen darstellt. Angenommen wird auch, daß Brustdrüsenkarzinome mit stark amplifiziertem c-erbB-2-Onkogen und dem zugehörigen Onkogenprodukt den aggressiven Tumortypen zuzuordnen sind (Slamon et al., 1987).

Der „Oncogene-Analysis-System-Assay“ eignet sich als routinemäßige Methode zur Quantifizierung von amplifizierten c-erbB-2-Onkogenen.

Literatur

Saiki, R. K.; Scharf, S.; Faloona, F.; Mullis, K. B.; Horn, G. T.; Erlich, H. A.; Arnheim, N.: Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science 230: 1350–1354 (1985).

Slamon, D. J.; Clark, G. M.; Wong, S. G.; Levin, W. J.; Ullrich, A.; McGuire, W. L.: Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. Science 235: 177–182 (1987).

Gynäkol Rundsch 1991;31(Suppl 2): 378–379 Zeillinger

R.; Kury

F.; Czerwenka

K. F.; Kubista. E.; Sliutz

G.; Knogler

W.; Huber

J.; Zielinski

C; Reiner

G.; Jakesz

R.; Staffen

A.; Reiner

A.; Wrba

F.; Spona

J.: HER-2 amplification steroid receptors and epidermal growth factor receptor in primary breast cancer. Oncogene 4: 109–114 (1989).