

**Immunhistochemische Charakterisierung von
sporadischen Basalzellkarzinomen und
Tumoren bei Patienten mit Basalzellnaevus-
(Gorlin-Goltz-) Syndrom**

Marijana Grgic

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Ludwig-
Maximilians-Universität
München

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Thomas Ruzicka

Immunhistochemische Charakterisierung von sporadischen Basalzellkarzinomen und Tumoren bei Patienten mit Basalzellnaevus- (Gorlin-Goltz-) Syndrom

Untersuchung von 33 Patienten mit sporadischen Basalzellkarzinomen und 26 Patienten mit
Gorlin-Goltz-Syndrom

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Marijana Grgic
aus München

2011

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter:

PD Dr. med. Thomas Herzinger

Mitberichterstatter:

PD Dr. med. Ulrich Christoph Schaller

Prof. Dr. med. Elfriede Nößner

Dekan:

Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung:

24.11.2011

Gewidmet

meinen Eltern

Immunhistochemische Charakterisierung von sporadischen Basalzellkarzinomen und Tumoren bei Patienten mit Basalzellnaevus- (Gorlin-Goltz-) Syndrom

Inhaltsverzeichnis	Seite
1. EINLEITUNG	1
1.1. Das Basalzellkarzinom	1
1.1.1. Synonyme und Definition	1
1.1.2. Epidemiologie und Ätiopathogenese	1
1.1.3. Klinik und histologische Einteilung	3
1.1.4. Diagnostik, Therapie und Prognose	5
1.2. Basalzellnaevus-Syndrom	6
1.2.1. Synonyme und Definition	6
1.2.2. Epidemiologie und Ätiopathogenese	7
1.2.3. Klinik und Histopathogenese	8
1.2.4. Diagnostik, Therapie und Prognose	10
1.3. Die Sonic-Hedgehog-/ Patched-Signalkaskade	11
1.3.1. Die Molekularbiologie des Sonic-Hedgehog-Signalweges	11
1.3.2. Die Sonic Hedgehog-/ Patched-assoziierte Tumorgenese	13
1.4. Die 14-3-3-σ-/ IKKα-Signalkaskade	14
1.4.1. 14-3-3- σ - Ein G2/M-Zellzyklus-Checkpoint-Gen	14
1.4.2. IKK α - Eine katalytische Untereinheit des I κ B-Kinase-Komplexes	16
1.4.3. Die 14-3-3- σ -/ IKK α -assoziierte Tumorgenese	18
1.5. Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit	18

2. MATERIALIEN UND METHODEN	20
2.1. Materialien	20
2.1.1. Software	20
2.1.2. Geräte	20
2.1.3. Verbrauchsmaterial	20
2.1.4. Chemikalien und Reagenzien	21
2.1.5. Puffer und Lösungen	22
2.1.6. Antikörper	24
2.1.7. Tumorgewebe und Patientenselektion	24
2.2. Methoden	24
2.2.1. Anfertigung von Paraffinschnitten	24
2.2.2. Ermittlung der optimalen Antikörper-Konzentration mittels Verdünnungsreihe	25
2.2.3. Immunhistochemische Färbung der Gewebeschnitte	25
2.2.3.1. Immunhistochemische Vorbehandlung	25
2.2.3.2. Grundlage der LSAB-Färbemethode	26
2.2.3.3. Durchführung der LSAB-Färbemethode	27
2.2.4. Auswertung	28
2.2.4.1. Mikroskopie	28
2.2.4.2. Bewertungskriterien	28
2.2.5. Fotografie	29
3. ERGEBNISSE	29
3.1. Auswertung der 14-3-3-σ-Expression	29
3.1.1. Sporadische Basalzellkarzinome	29
3.1.2. Basalzellkarzinome bei Basalzellnaevus-Syndrom	35
3.2. Auswertung der IKKα-Expression	41
3.2.1. Sporadische Basalzellkarzinome	41
3.2.2. Basalzellkarzinome bei Basalzellnaevus-Syndrom	46

3.3. Korrelation der Expression von 14-3-3-σ und IKKα	51
3.3.1. Sporadische Basalzellkarzinome	51
3.3.2. Basalzellkarzinome bei Basalzellnaevus-Syndrom	55
4. DISKUSSION	58
4.1. Minderung der 14-3-3-σ- und IKKα-Expression bei sporadischen und hereditären Basalzellkarzinomen	58
4.1.1. 14-3-3- σ -Expression und der Sonic-Hedgehog-Signalweg	58
4.1.2. IKK α -Expression und der Sonic-Hedgehog-Signalweg	61
4.1.3. Gleichläufigkeit der 14-3-3- σ - und IKK α -Expression	63
4.2. Die Sonic-Hedgehog-/ Patched-Signalkaskade und die 14-3-3-σ-/ IKKα-assoziierte Tumorgenese	64
5. ZUSAMMENFASSUNG	65
6. LITERATURVERZEICHNIS	67
7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	81

1. EINLEITUNG

1.1. Das Basalzellkarzinom

1.1.1. Synonyme und Definition

Das Basalzellkarzinom (BCC), früher auch „Basaliom“ und „Epithelioma basocellulare“ genannt, ist der häufigste infiltrierende und destruierend wachsende Tumor der Haut. Aufgrund seiner, von sehr seltenen Ausnahmen abgesehen, fehlenden Fähigkeit zur Metastasierung, wird es auch als semimaligner Tumor bezeichnet [25, 54].

Der Name „Basalzellkarzinom“ rührt daher, dass die Tumorzellen mit ihren großen, ovalen und stark basophilen Zellkernen und der palisadenartigen Anordnung an der Peripherie der Tumorstränge sehr an normale Zellen des Stratum basale der Epidermis und der Haarfollikel erinnern. Die Ähnlichkeit zwischen Tumorzellen des Basalzellkarzinoms und Keratinozyten der Haarfollikel ließ bislang annehmen, dass Basalzellkarzinome von den im Wulst des Haarfollikels gelegenen epidermalen Stammzellen oder undifferenzierten Zellen der äußeren Haarwurzelscheide ihren Ursprung nehmen, womit sich auch das Auftreten der Basalzellkarzinome nahezu ausschließlich an der behaarten Haut erklären ließe [24, 25, 54, 189]. Jüngste Erkenntnisse jedoch zeigen, dass Basalzellkarzinome aus den langfristig angesiedelten Vorläuferzellen der interfollikulären Epidermis und des oberen Infundibulums hervorgehen, wobei die vom Infundibulum abstammenden Basalzellkarzinome weitaus seltener (7%) und kleiner sind als die der interfollikulären Epidermis entspringenden Basalzellkarzinome (93%) [212]. Auch diese These spricht für ein fast ausschließlich auf die behaarte Haut beschränktes Auftreten der Basalzellkarzinome.

1.1.2. Epidemiologie und Ätiopathogenese

Das Basalzellkarzinom ist der häufigste (semi-) maligne Tumor der nördlichen Hemisphäre. Seit den 1960er Jahren steigt die Inzidenz stetig an, mit einer durchschnittlichen Zunahme um 3-8% pro Jahr. Je nach Intensität der Sonnenbestrahlung liegt die Zahl der Neuerkrankungen bei etwa 110 bis 130 pro 100 000 Einwohner in Deutschland und England, und in Australien, dem Land mit der höchsten Inzidenz unter der hellhäutigen

Bevölkerung, liegt sie nahezu 20-fach höher [24, 176]. Auch die Inzidenz in der dunkelhäutigen Bevölkerung (Hauttyp IV-VI), in der Basalzellkarzinome viel seltener auftreten, ist in den letzten 10 Jahren deutlich angestiegen. Bemerkenswert ist, dass bei dunkelhäutigen Betroffenen Basalzellkarzinome öfter an Körperregionen auftreten, die vor UV-Strahlung geschützt sind, was zur Annahme führt, dass sich die Pathogenese von Basalzellkarzinomen bei dunkelhäutigen Patienten von der hellhäutiger unterscheidet [16, 42]. Der Häufigkeitsgipfel liegt zwischen der 6. und 8. Lebensdekade, wobei die Zahl an Neuerkrankungen etwa linear mit dem Lebensalter steigt. Ein Auftreten vor dem 40. Lebensjahr ist relativ selten und kann wegweisend für das Vorliegen einer erblichen Erkrankung (Gorlin-Goltz-Syndrom) sein [24, 25, 54].

Männer und Frauen sind etwa gleich häufig betroffen (m:f = 1,3:1), mit Ausnahme der Lokalisation an der Oberlippe. Hier überwiegt mit einem Verhältnis von etwa 3,5:1 die Anzahl weiblicher Patientinnen [162].

Ätiopathogenetisch spielen für die Entstehung von Basalzellkarzinomen verschiedene Faktoren eine Rolle. Der wesentliche Faktor ist jedoch das UV-Licht, wobei speziell der UV-B-Anteil (290-320 nm) für die Induktion von DNA-Mutationen bedeutsam ist [103]. Folglich sind Patienten mit hellem Hauttyp (Typ I und II nach Fitzpatrick) und Menschen, die in ihrem Leben viel der Sonne ausgesetzt waren, besonders gefährdet. Neben dem natürlichen Sonnenlicht kann auch UV-Strahlung aus künstlichen Bestrahlungsquellen, wie etwa Sonnenbank, Phototherapie oder Photochemotherapie, zur Entstehung von Basalzellkarzinomen beitragen. Eine langdauernde PUVA-Therapie mit hohen kumulativen Gesamtdosen erhöht somit nicht nur das Risiko für Plattenepithelkarzinome, sondern auch das Risiko für Basalzellkarzinome [166]. Dabei muss bis zum Auftreten der Tumore mit langen Latenzzeiten (>15 Jahre) gerechnet werden. Bemerkenswert und unerklärt bleibt allerdings, dass Basalzellkarzinome an den chronisch sonnenexponierten Handrücken sehr selten vorkommen [25]. Weitere Induktoren der Basaliomentstehung sind Immunsuppression mit Beeinträchtigung der T-Zell-vermittelten Immunüberwachung, ionisierende Strahlen, Aufnahme von trivalentem anorganischem Arsen, chronische Hautschädigungen, wie z.B. langbestehende Ulzera, mechanisch beanspruchte Narben und genetische Syndrome wie das Gorlin-Goltz-Syndrom oder Xeroderma pigmentosum [6, 24, 26, 56, 82, 165].

1.1.3. Klinik und histologische Einteilung

Klinisch imponiert das Basalzellkarzinom typischerweise als sogenanntes „Basaliomknötchen“, ein halbkugeliges, bis mehrere Millimeter großes, derbes, hautfarbenes Knötchen mit perlmuttartigem Glanz, von Teleangiektasien durchzogen oder, im Falle größerer Basalzellkarzinome, als Induration mit einem, durch die typisch randständige Anordnung der Basaliomknötchen, perlschnurartigen Randwall. Prädilektionsstelle ist das Gesicht, wobei die Nase mit 30% am häufigsten betroffen ist. Mit abnehmender Häufigkeit folgen Rumpf, unteres Gesichtsdrittel, Kapillitium und die übrigen Hautareale. Basalzellkarzinome entstehen, im Gegensatz zu Plattenepithelkarzinomen, gewöhnlich auf klinisch unauffälliger Haut ohne Vorstufen. Das Tumorwachstum erstreckt sich dabei über mehrere Monate bis Jahre [21, 24, 25, 54]. Klinisch und histologisch lässt sich das Basalzellkarzinom dabei in verschiedene Subtypen unterteilen:

Das noduläre oder solide Basalzellkarzinom stellt den häufigsten Subtyp dar. Klinisch zeigt sich ein scharf begrenzter, der Haut breitbasig aufsitzender, kuppelartiger Tumor von wachsartig-glasiger Farbe und derb-harter Konsistenz. Charakteristisch ist ein perlschnurartig aufgeworfener Randsaum, der von Teleangiektasien durchzogen ist. Häufig findet sich eine zentrale Einsenkung.

Das superfizielle Basalzellkarzinom wird auch oberflächlich multizentrisches, erythematoides, ekzematoides, pagetoides Basalzellkarzinom oder Rumpfhautbasaliom genannt. Es tritt häufig in Mehrzahl auf, wächst langsam und nur sehr oberflächlich und imponiert als scharf, aber unregelmäßig begrenzte erythemato-squamöse, leicht erhabene Plaque. Der Durchmesser variiert dabei von wenigen Millimetern bis zu mehreren Zentimetern. Eine Ulzeration kommt selbst bei großen Tumoren selten vor. Prädilektionsstellen sind der Rumpf und die Extremitäten.

Das zystische Basalzellkarzinom ist ein weicher, der Hautoberfläche breitbasig aufsitzender, bläulich-weißlich durchscheinender, glasiger Tumor, der von Teleangiektasien durchzogen ist und überwiegend im Lid- und oberen Wangenbereich auftritt.

Sklerodermiforme oder Morphea-artige Basalzellkarzinome imponieren klinisch als unscharf begrenzte, atrophische oder leicht erhabene, narbenartige Plaques, die von Teleangiektasien durchzogen sind und nur selten ulzerieren. Überschreitet der Tumor das Hautniveau, kann der Tumor ein keloidiformes Aussehen annehmen. Bevorzugte Lokalisation sind Stirn, Nase und Wangen.

Das ulzerierte Basalzellkarzinom, auch Basalioma exulcerans genannt, tritt häufig im Gesicht und am Kapillitium auf. Dabei unterscheidet man das Ulcus rodens, welches schmerzlos ulzeriert, das Korium nicht überschreitet und zu hämorrhagischer Verkrustung neigt, vom Ulcus terebrans, dem „bohrenden Ulkus“, bei dem die Destruktion tiefer gelegener Gewebsschichten lebensbedrohliche Komplikationen wie Blutungen, Infektionen und Eröffnung der Schädelhöhle verursachen kann.

Das pigmentierte Basalzellkarzinom stellt eine Variante des nodulären Basalzellkarzinoms mit Melanineinlagerungen dar, welches durch eine derbe Konsistenz und einen unterschiedlich hohen Melaningehalt gekennzeichnet ist. Die typischen Merkmale, perlschnurartig aufgeworfener Randsaum und glasige Oberfläche mit Teleangiectasien, können aufgrund der Pigmentierung schwer zu erkennen sein. Die Häufigkeit liegt zwischen 1,1 und 8%. Im Vergleich zur hellhäutigen Bevölkerung erkranken dunkel pigmentierte, wie z.B. lateinamerikanische Patienten, insgesamt häufiger an pigmentiertem Basalzellkarzinom, obwohl sie insgesamt seltener Hauttumore entwickeln [110].

Basalzellkarzinome können auch auf vorgeschädigter Haut und mechanisch beanspruchten Narben entstehen. Hier spricht man dann von Narbenbasalzellkarzinomen. Sie sind typischerweise schmerzlos. Wichtig ist diese von Tumoren abzugrenzen, die in der Narbe eines bereits vorbehandelten Basalzellkarzinoms entstehen [81, 136]

Das Fibroepitheliom, auch Pinkus-Tumor und fibroepitheliales Basalzellkarzinom genannt, stellt mit 0,5 % aller Basaliome eine seltene Variante dar. Es handelt sich dabei um breitbasig aufsitzende, hautfarbene, gelegentlich zart gerötete, meist weiche Knötchen, die klinisch am ehesten an Fibrome erinnern. Histologisch besteht das Fibroepitheliom aus einem teils epithelialen und einem teils mesenchymalen Netzwerk, wobei vermutet wird, dass die fibroepithelialen Basalzellkarzinome von ekkrinen intraepidermalen Gängen abstammen und dann weiter in die Dermis proliferieren [96]. Sie treten überwiegend im unteren Rumpfbereich, in der Leistengegend und an den Oberschenkeln auf.

Das polypoide Basalzellkarzinom, eine seltene klinische Sonderform, zeigt einen exophytischen, gestielt wachsenden Tumor mit glatter oder verruköser Oberfläche. Prädilektionsstelle ist das Kapillitium.

Beim metatypischen Basalzellkarzinom handelt es sich ebenfalls um eine sehr seltene Variante, die histologisch sowohl Anteile eines Basalzellkarzinoms als auch eines Plattenepithelkarzinoms enthält. Klinisch und morphologisch zeigt es zwar die Merkmale eines nodulären Basalzellkarzinoms, zeichnet sich jedoch durch die Fähigkeit zur Metastasierung und ein schnelleres und aggressiveres Wachstum aus [88].

Metastasierende Basalzellkarzinome sind eine große Ausnahme und treten in etwa 0,003-0,1 % der Fälle auf. Entscheidend scheinen hierbei die Beziehung zwischen den Tumorzellen und den stromalen Blutgefäßen, die Invasion in tiefere Gewebsschichten und das perineurale Wachstumsmuster zu sein. Von großer Bedeutung für das Metastasierungsverhalten ist außerdem die Größe des Primärtumors. Bei einem Tumor mit einem Durchmesser > 3 cm kommt es mit einer Wahrscheinlichkeit von 1,9% zur Metastasierung. Bei Tumoren > 10 cm liegt die Metastasierungsrate bereits bei 50%. Die Metastasierung erfolgt dabei zu etwa 40-83% in die regionalen Lymphknoten und nahezu ebenso oft hämatogen, mit bevorzugter Absiedlung in Lunge (35-53%), Knochen (20-28%) und Haut (10-17%) [139].

1.1.4. Diagnostik, Therapie und Prognose

Die Diagnose des Basalzellkarzinoms kann mit den typischen Merkmalen eines wachartigen Tumors mit perlschnurartigem Randsaum, Teleangiektasien und gegebenenfalls einer zentralen Einsenkung häufig bereits klinisch gestellt werden. Im Vergleich zum Plattenepithelkarzinom und malignen Melanom ist dabei die diagnostische Genauigkeit beim Basalzellkarzinom am höchsten [69]. In Zweifelsfällen, wenn eine komplette Exzision nur durch einen komplizierten Eingriff zu erzielen ist, muss vor der Therapie eine Probeexzision entnommen und die Diagnose histologisch gesichert werden. Bei einem ulzerierten Knoten, der nicht weiter einzugrenzen ist, kann eine zytologische Untersuchung, bei einer pigmentierten Veränderung die Dermatoskopie sehr hilfreich sein [24, 25].

Zur Therapie des Basalzellkarzinoms steht eine Vielzahl an Methoden zur Verfügung. Dabei wird in Abhängigkeit von der Größe, der Lokalisation und dem klinisch-histologischen Subtyp des Basalzellkarzinoms über die Therapieform entschieden. Wichtig hierfür sind zusätzlich auch der Allgemeinzustand und der Wunsch des Patienten sowie die persönlichen Fähigkeiten des Arztes. Goldstandard in der Behandlung des Basalzellkarzinoms ist die Exzision mit anschließender histologischer Untersuchung [138]. Die Exzision entlang des natürlichen Tumorrandes zeigt dabei im Vergleich zur Exzision mit einem Sicherheitsabstand von 3-10 mm keinen statistisch signifikanten Unterschied in der Rate der unvollständigen Resektionen [194]. Die mikrographisch kontrollierten chirurgischen

Techniken (MKC) werden besonders bei sklerodermiformen und rezidivierenden Basalzellkarzinomen am Kopf und an den distalen Extremitätenabschnitten sowie bei sehr großen Tumoren und Tumoren in Problemlokalisationen wie Nase, Auge und Ohr angewandt. Die Strahlentherapie stellt eine nicht-invasive und effektive Alternative zur Exzision dar und findet insbesondere bei soliden und aggressiven Basalzellkarzinomen älterer Patienten und zur Weiterbehandlung bei nicht im Gesunden exzidierten Tumoren ihren Einsatz. Als Alternative können die CO₂-Laser-Ablation und die PDT, ebenso wie die Kürettage, die Elektrodesikkation, die Kryotherapie und die zytostatische Behandlung mit 5-Fluorouracil nur zur Behandlung superfizieller Basalzellkarzinome eingesetzt werden. Die Immuntherapie mit Imiquimod stellt eine zusätzliche Behandlungsoption für kleine superfizielle Basalzellkarzinome dar [25, 43, 138].

Die Prognose des Basalkarzinoms ist insgesamt sehr gut. Die Heilungsraten nach Therapie liegen bei etwa 95-99%, für Rezidivtumore bei etwa 90%. Die Rezidivrate und das Risiko eines weiteren Primärtumors sind in den ersten 3 Jahren am höchsten [24, 25]. Für das Risiko, weitere Basalzellkarzinome zu entwickeln, ist die Kombination aus Lokalisation des Primärtumors und seinem histologischen Subtyp von Bedeutung. Patienten mit einem am Rumpf lokalisierten, superfiziellen Basalzellkarzinom sind dabei am häufigsten vom Befall weiterer Primärtumore betroffen [123]. Patienten, die sowohl an einem Basalzell- als auch an einem Plattenepithelkarzinom erkrankt sind, entwickeln seltener weitere Primärtumore als Patienten, die lediglich an Basalzellkarzinomen leiden [157].

1.2. Das Basalzellnaevus-Syndrom

1.2.1. Synonyme und Definition

Das Basalzellnaevus-Syndrom (BCNS), auch nävoïdes Basalzellkarzinom-Syndrom (NBCCS) und Gorlin-Goltz-Syndrom genannt, wurde erstmals 1960 von Gorlin und Goltz beschrieben [63]. Diese Erkrankung wird mit hoher Penetranz und variabler Expressivität autosomal-dominant vererbt, wobei etwa 40% der Krankheitsfälle durch Neumutationen entstehen [38]. Das Syndrom ist durch das Auftreten multipler Basalzellkarzinome bereits im frühen Erwachsenenalter sowie durch Fehlbildungen verschiedener Organsysteme

gekennzeichnet ist. Das Manifestationsalter liegt zwischen der 2. und 4. Lebensdekade [25, 54].

1.2.2. Epidemiologie und Ätiopathogenese

Die Prävalenz variiert stark in Abhängigkeit von der Region und liegt in England bei etwa 1/55.600 [50], in Australien bei 1/164.000 [167] und in Italien bei etwa 1/256.000 [118]. Männer und Frauen sind gleichermaßen betroffen (m:f = 1:1). Bis zu 60% aller Betroffenen haben kein am Basalzellnaevus-Syndrom erkranktes Familienmitglied [22].

Hervorgerufen wird das Syndrom durch heterozygote Keimbahnmutationen in dem auf Chromosom 9 (q22.3-q31) lokalisierten Ptch-Tumorsuppressorgen, einem humanen Analog des „patched“-Gens der Fruchtfliege (*Drosophila*) [1, 115, 116]. Das Ptch-Gen kodiert für ein Transmembranprotein mit 12 hydrophoben membranständigen Domänen, intrazellulären carboxy- und aminoterminalen (C- und N-terminalen) Regionen und zwei großen extrazellulären Schleifen, die die Sonic-Hedgehog-Ligandenbindung vermitteln. Dieses Rezeptormolekül wirkt normalerweise hemmend auf den Sonic-Hedgehog-Signalweg, der essentiell ist während der Embryogenese und der Differenzierung adulter Gewebe und somit für die normale Entwicklung des Skeletts, des Zentralnervensystems und der Haut eine wichtige Rolle spielt [12, 25, 148]. Die Molekularbiologie der im Rahmen des Gorlin-Goltz-Syndroms entstehenden Karzinome ist ähnlich der des Retinoblastoms und wird durch die Knudson-Two-Hit-Hypothese gestützt. Die sogenannte Multi-Mutationen-Theorie besagt, dass betroffene Zellen mindestens zwei aufeinander folgende DNA-Mutationen benötigen, bevor sie zur Tumorentwicklung befähigt sind [93]. Die Patienten weisen zunächst in einer von zwei Kopien des Ptch-Gens, welches hier als klassisches Tumorsuppressorgen agiert, einen anlagebedingten Keimbahndefekt in der DNA-Sequenz auf. Man spricht von einer Haploinsuffizienz, bei der eine von zwei Kopien eines diploiden Gens durch eine vererbte Mutation funktionsunfähig geworden ist. Die andere funktionierende Kopie des Gens ist nicht in der Lage eine ausreichende Menge des Genproduktes herzustellen und führt damit zum Ausbruch der Erbkrankheit. Die beim Gorlin-Goltz-Syndrom auftretenden Entwicklungsanomalien sind demnach Folge der Haploinsuffizienz [202]. Ein Defekt in lediglich einer der beiden Kopien führt allerdings noch nicht zur Ausbildung eines Karzinoms. Mutanten auf einem Allel begünstigen jedoch

die gleiche Mutation auf dem zweiten Allel durch eine mitotische Rekombination oder durch ein Copy-Choice bei der DNA-Replikation. Kommt es somit postnatal zu einem zweiten DNA-Schaden oder zum Verlust des gesunden Allels im gleichen Genlocus (The Second Hit), kann die betroffene Zelle maligne werden und ein Karzinom entstehen. Dieser durch inaktivierende Mutationen im Ptc-Gen hervorgerufene Verlust der Heterozygotie führt somit zu unkontrollierter Aktivität des Signalweges und ist in etwa 90% der im Rahmen des Gorlin-Goltz-Syndroms auftretenden, hereditären Basalzellkarzinome, in 70% der odontogenen Kieferzysten und in der Mehrheit der ovariellen Fibrome bei Basalzellnaevus-Syndrom nachzuweisen [2, 13, 168]. Dieser Verlust wurde auch bei sporadischen Basalzellkarzinomen und Basalzellkarzinomen bei Patienten mit Xeroderma pigmentosum, im Medulloblastom und in sporadisch auftretenden, odontogenen Kieferzysten beobachtet [20, 61, 119, 130, 153]. Dadurch werden Störungen in der Regulation von Zellzyklus und Apoptose verursacht, die in Fehlbildungen und Tumoren resultieren.

1.2.3. Klinik und Histopathogenese

Klinisch imponiert das Basalzellnaevus-Syndrom durch eine Vielfalt an Symptomen. Zu den diagnostischen Hauptkriterien zählen dabei das Auftreten multipler Basalzellkarzinome (50-97%) und odontogener Kieferzysten (65-75%) bereits ab der 1. Lebensdekade, multiple grubchenförmige Einsenkungen an Palmae und Plantae, sog. „pits“ (60-90%) und Verkalkungen der Falx cerebri (37-79%) [50, 148].

Die Basalzellkarzinome treten bevorzugt in lichtexponierten Arealen, typischerweise im Gesicht und am Rumpf auf. Dunkelhäutige erkranken insgesamt sehr selten am Basalzellnaevus-Syndrom und machen weniger als 5% der Fälle aus [66]. Im Falle eines Basalzellnaevus-Syndroms treten bei nur 40% der dunkelhäutigen Patienten Basalzellkarzinome auf, was auf die vermehrte Pigmentierung und den damit verbundenen Schutzmechanismus der Haut vor UV-Strahlung zurückgeführt wird [59]. Eine Ausnahme bilden dunkelhäutige Patienten, die mit Radiotherapie behandelt wurden. Hier kommt es im Bereich der Bestrahlung, bedingt durch die erhöhte Strahlensensibilität bei Patienten mit Basalzellnaevus-Syndrom [14], ebenfalls zum Auftreten multipler Basalzellkarzinome.

Klinisch verhalten sich die Basalzellkarzinome beim Gorlin-Goltz-Syndrom genauso wie sporadisch auftretende Basalzellkarzinome und weisen meist erst nach der Pubertät ein aggressives und lokal destruierendes Wachstum auf [50]. Auch histopathologisch unterscheiden sich die Basalzellkarzinome eines Basalzellnaevus-Syndroms nicht von den spontan auftretenden. Alle Formen des Basalzellkarzinoms kommen vor, wobei 30% der Patienten sogar zwei oder mehrere Subtypen (sklerodermiform, solid, superfiziell, zystisch, fibroepithelial) gleichzeitig aufweisen [60]. In circa 30-50% der Fälle treten außerdem, sowohl in der tumorösen als auch in der gesunden Haut, neben Basalzellinseln kalzifizierte Herde auf [60]. Eine Kalzifizierung gilt jedoch nicht als zuverlässiges Zeichen.

Weitere Fehlbildungen des Basalzellnaevus-Syndroms sind kongenitale Skelettanomalien, wie z.B. Verschmelzung der Wirbelkörper, Kyphoskoliose, Spina bifida, Rippenfehlbildungen, Hohlbrust oder Poly- und Syndaktylie. Auch Hochwuchs konnte mit dem Gorlin-Goltz-Syndrom in Verbindung gebracht werden. Die durchschnittliche Körpergröße von Basalzellnaevus-Syndrom-Patienten liegt mit 1,83 m bei Männern und 1,74m bei Frauen über dem Durchschnitt. Etwa 15% aller Patienten sind extrem hochgewachsen [60, 127]. Veränderungen im Kopfbereich, die zu einer typischen Fazies führen, sind eine Makrozephalie mit weitem frontooccipitalem Umfang, eine Vorwölbung der Stirn mit Stirnhöckern, ein okulärer Hypertelorismus sowie Spaltbildungen des Gaumens und der Lippe. Intrakraniell lassen sich neben der Verkalkung der Falx cerebri auch Verkalkungen des Tentorium cerebelli und der Dura mater sowie bei 10% der Betroffenen eine Agenesie des Corpus callosum nachweisen [25, 54, 116]. Zusätzlich haben Patienten mit Basalzellnaevus-Syndrom ein erhöhtes Risiko für andere benigne und maligne Tumoren. Die Inzidenz eines Medulloblastoms infolge eines Basalzellnaevus-Syndroms liegt bei etwa 5% und mindestens 10% treten bereits vor dem 2. Lebensjahr auf, während der Häufigkeitsgipfel bei spontan auftretenden Medulloblastomen zwischen dem 4. und 9. Lebensjahr liegt [39]. Ein frühes Auftreten dieses Tumors, vor allem des desmoplastischen Subtyps [7], ebenso wie die Entstehung multipler Basalzellkarzinome im Bestrahlungsfeld nach kraniospinaler Radiotherapie, kann somit bereits das erste Zeichen eines vorliegenden Basalzellnaevus-Syndroms sein. Umgekehrt entwickeln etwa 3% aller an einem Medulloblastom erkrankten Patienten im weiteren Verlauf ein Basalzellnaevus-Syndrom [7]. Den häufigsten benignen, mit dem Syndrom assoziierten Tumor, stellt bei den weiblichen Patientinnen das Ovarialfibrom (24%) dar [50].

1.2.4. Diagnostik, Therapie und Prognose

Die Diagnose des Basalzellnaevus-Syndroms kann durch Zusammenschau der vorhandenen Symptome gestellt werden. Dabei gilt die Diagnose als gesichert, wenn zwei Hauptkriterien oder ein Hauptkriterium und zwei Nebenkriterien erfüllt sind [53, 90].

Hauptkriterien

1. Multiple (> 2) BCCs oder ein BCC vor dem 20. Lebensjahr
2. Odontogene Kieferzysten, histopathologisch gesichert
3. Palmoplantare Pits (> 2)
4. Verkalkung der Falx cerebri
5. Rippenanomalien
6. Verwandte 1. Grades mit BCNS

Nebenkriterien

1. Angeborene Skelettanomalien, zum Beispiel Spina bifida, Hemivertebrae
2. Frontookzipitaler Kopfumfang > 97. Perzentile
3. Kardiale und ovariale Fibrome
4. Medulloblastom
5. Kongenitale Fehlbildung: Lippen-Kiefer-Gaumenspalte, Polydaktylie, Katarakt, Iriskolobom

Bei positiver Familienanamnese sollte unmittelbar nach der Geburt eine eingehende Untersuchung erfolgen. Dabei sollte vor allem auf einen vergrößerten Kopfumfang mit prominenter Stirn und das Vorhandensein einer Lippen- oder Gaumenspalte [172] sowie auf Anomalien im Bereich der Augen und der Wirbelsäule und das Bestehen einer Gabelrippe geachtet werden [62, 90]. Um frühzeitig ein Medulloblastom diagnostizieren zu können, sind neurologische Kontrollen im Abstand von sechs Monaten indiziert. Zwischen dem 3. und 7. Lebensjahr können diese jährlich erfolgen. Danach ist das Auftreten eines Medulloblastoms sehr unwahrscheinlich. Zusätzlich werden jährliche Röntgenaufnahmen

des Kiefers ab einem Alter von 8 Jahren und jährliche dermatologische Kontrollen mit Beginn der Pubertät empfohlen [50, 117].

Diagnostisch beweisend und hilfreich als präsymptomatische Diagnostik sind auch molekularbiologische Untersuchungen (Genmutation auf Chromosom 9q22-31).

Die Behandlung des Basalzellnaevus-Syndroms beruht auf der spezifischen Therapie des jeweiligen klinischen Befundes. Die Therapie der im Rahmen des Syndroms auftretenden Basalzellkarzinome unterscheidet sich nicht wesentlich von der Therapie der sporadischen Basalzellkarzinome. Die chirurgische Exzision ist bei Patienten mit einer begrenzten Anzahl an Basalzellkarzinomen Therapie der Wahl. Alternativen, die bei multiplen Basaliomen eingesetzt werden, sind die photodynamische Therapie, die auch problemlos großflächig angewandt werden kann [32], die CO₂-Laser-Ablation, die Elektrodesikkation, die Kryotherapie und eine lokale oder systemische Behandlung mit Retinoiden. Die topische Immuntherapie mit 5% Imiquimod allein oder in Kombination mit vorangegangener Kürettage stellen eine ebenfalls sehr wirksame Behandlungsmethode dar [52, 142, 178]. Die Röntgenweichstrahlentherapie ist aufgrund der erhöhten Strahlensensibilität der Patienten kontraindiziert [14, 90]. Zur Prophylaxe ist auch ein konsequenter Lichtschutz anzuraten.

Das mit dem Syndrom assoziierte Medulloblastom ist zwar selten, kann jedoch zu einer verkürzten Lebenszeit, gegebenenfalls sogar zum Tod im Kindesalter führen. Die im Rahmen des Basalzellnaevus-Syndroms auftretenden desmoplastischen Medulloblastome haben aber in der Regel eine bessere Prognose als die sporadisch auftretende klassische Form [97, 116].

1.3. Die Sonic-Hedgehog-/ Patched-Signalkaskade

1.3.1. Die Molekularbiologie des Sonic-Hedgehog-Signalweges

Der Sonic-Hedgehog-Signalweg ist einer der wichtigsten Signalübertragungswege in der Embryogenese und ist essentiell für die Entwicklung des Neuralrohres, des axialen Skeletts, der Extremitäten, der Lunge, der Haare, Haut und Zähne [11, 17, 68, 72, 129, 174].

Die während eines Mutationsscreenings gefundenen Gene Hedgehog (Hh) und Patched (Ptch) wurden 1980 erstmals in *Drosophila melanogaster* beschrieben [143]. Der Name Hedgehog rührt von der phänotypischen Veränderung der Fliegenlarven-Mutante. Durch die

vermehrter Borstenbildung brachte die an einen Igel erinnernde *Drosophila*-Mutante dem Gen schlussendlich den Namen Hedgehog ein. Im Vergleich zu *D. melanogaster* wurden in Vertebraten drei zu Hh und drei zu Ptc homologe Gene identifiziert. Zu den Homologen des Hedgehog Gens zählen Sonic Hedgehog (Shh), Desert Hedgehog (Dhh) und Indian Hedgehog (Ihh), wobei Shh mit seinem Einfluss auf die Entwicklung von Gehirn, Rückenmark, Achsenskelett und Gliedmaßen die größte Rolle spielt [36]. Zu den Ptc-Homologen zählen Patched (Ptch), Patched 2 (Ptch2) und Translocation in renal carcinoma in chromosome 8 (Trc8). Das wichtigste und in Vertebraten am besten untersuchte Homolog ist hier Patched (Ptch), welches bei Mutation zu zahlreichen kongenitalen Defekten führt [65]. Shh und Ptch sind in den gemeinsamen Sonic-Hedgehog-/ Patched-Signalweg involviert, bei dem Ptch der Rezeptor für Shh ist [128, 179]. Ein weiteres, für den Signalweg wichtiges Gen ist Smoothed (Smo), welches als Trigger der intrazellulären Signaltransduktion und der anschließenden Aktivierung der Zielgene dient [203]. In Abwesenheit von Shh bindet Ptch an Smo und blockiert somit dessen Aktivität. Diese Blockade wird dabei durch eine katalytische Interaktion zwischen Ptch und Smo hervorgerufen [182]. Die Hemmung der Aktivität von Smo bewirkt, dass die Transkriptionsfaktoren der Gli-Familie, die essentiell sind während der Embryogenese und der Differenzierung adulter Gewebe [201], über eine Reihe zytoplasmatischer Proteine gebunden bleiben und keine transkriptionelle Funktion ausüben können. Bindet Shh an Ptch, so wird Ptch in seiner Funktion blockiert, Smo wird aktiviert und ist zur Signaltransduktion befähigt. Dies führt zur Freisetzung der zytoplasmatisch gebundenen Gli-Proteine, welche daraufhin in den Nukleus transportiert werden und die Expression ihrer Zielgene aktivieren [76, 140]. Nach erfolgter Stimulation des Sonic-Hedgehog-/ Patched-Signalweges durch Shh führt die Gli-abhängige Expression von Ptch zu einer negativen Autoregulation der Signalwegsaktivität, wodurch die Kaskade wieder in ihren unstimulierten Zustand zurückversetzt wird. Bereits ein Ptch-Molekül reicht aus, um eine fast 80%ige Aktivitätshemmung von Smo zu bewirken [182]. Dies verdeutlicht, wie wichtig die Expression von funktionellem Ptch für die Regulierung des Shh-/ Ptch- Signalweges ist.

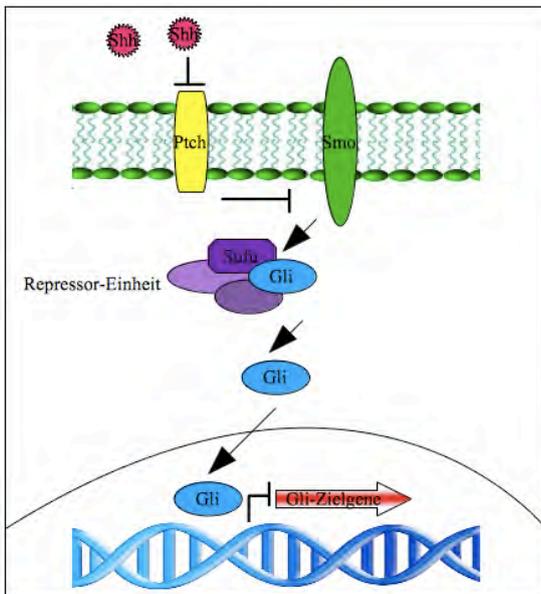


Abbildung 1.1. Diagramm des Sonic-Hedgehog-Signalweges. Durch die Bindung von Sonic Hedgehog an den Patched-Rezeptor wird das für den Signalweg wichtige Gen Smoothened aktiviert. Dies führt zur Freisetzung der zytosolatisch gebundenen Gli-Proteine, die daraufhin in den Zellkern transportiert werden und mit der Transkription ihrer Zielgene beginnen können. Sufu ist ein intrazelluläres Molekül und bildet eine Repressor-Einheit, welche die Gli-Aktivität hemmt.

1.3.2. Die Sonic-Hedgehog-/ Patched-assoziierte Tumorgenese

Einige der Bestandteile des Shh-/Ptch-Signalweges konnten mit Tumorgenese und dysmorphen Syndromen in Verbindung gebracht werden. So zum Beispiel das zur Gli-Familie gehörende Gli1, welches erstmals im menschlichen Glioblastom isoliert und mit dessen Entstehung in Zusammenhang gebracht werden konnte [37, 91]. Das humane Patched-Gen wurde erstmalig mit Tumorgenese assoziiert, als heterozygote Keimbahnmutationen in Ptch als Ursache für das Basalzellnaevus-Syndrom nachgewiesen wurden [65, 80].

In Abwesenheit eines funktionellen Ptch kann Smo nicht mehr durch Ptch inhibiert werden. Folge ist eine, von der negativen Autoregulation unabhängige, durchgehende Aktivität von Smo, die zur Überexpression der Zielgene und des Patched-Gens führt [179]. Dies resultiert in einer vermehrten Proliferation auf Kosten der Zelldifferenzierung. Eine dauerhaft hochregulierte Ptch-Transkription konnte sowohl bei Basalzellkarzinomen des Basalzellnaevus-Syndroms als auch bei 12-38% der sporadischen Basalzellkarzinome nachgewiesen werden [10, 57, 193]. Dem Patched-Gen wurde dabei die Rolle des

„Gatekeepers“ zugeschrieben, in diesem Fall einem Tumorsuppressorgen, das an der Regulation der Zellteilung beteiligt ist und durch seine Inaktivierung zur Entstehung von Basalzellkarzinomen führt [92, 169]. Da jedoch auch eine Aktivierung von Smo, ebenso wie eine Inaktivierung von Ptch, zu einer vermehrten Transkription der Zielgene führt, und aktivierende Smo-Mutationen in sporadischen Basalzellkarzinomen nachgewiesen wurden [206], sollte man eher den Rezeptorkomplex bestehend aus Ptch und Smo als „Gatekeeper“ betrachten.

Insgesamt findet sich eine Fehlregulation des Sonic-Hedgehog-Signalweges, bedingt durch die Inaktivierung von Ptch oder die onkogene Aktivierung von Smo, in fast allen Basalzellkarzinomen.

Gegenwärtig ist bekannt, dass auch mit Xeroderma pigmentosum assoziierte Basaliome [20], Medulloblastome [145] und Rhabdomyosarkome [190] durch somatische Mutationen in Ptch entstehen. Auch in vielen anderen Tumoren, wie beispielsweise in Tumoren der Brustdrüse [94] und der Harnblase [67], sind Mutationen in Ptch gefunden worden. Darüber hinaus können Fehlregulationen des Signalweges, bedingt durch Mutationen in anderen Genen der Shh-/ Ptch-Signalkaskade oder auch durch die Überexpression von Shh selbst [147], zu den oben genannten Tumoren sowie zusätzlich zu Tumoren des Verdauungstraktes [18], des Pankreas [188] und der Lunge [200] führen.

1.4. Die 14-3-3- σ -/ IKK α -Signalkaskade

1.4.1. 14-3-3- σ - Ein G2/M-Zellzyklus-Checkpoint-Gen

Bei den Mitgliedern der 14-3-3-Familie handelt es sich um homo- und heterodimere Proteine, die in allen eukaryotischen Zellen zu finden sind [3, 55, 204]. Diese Familie ubiquitärer und hoch konservierter Proteine beinhaltet 7 Isotypen, die in der menschlichen Zelle durch Bindung an diverse Proteine für eine Vielfalt zellulärer Prozesse verantwortlich sind [207]. Zu den Signaltransduktionswegen, die von den Proteinen der 14-3-3-Familie gesteuert werden, zählen unter anderem die Ras/MAPK-Signalkaskade, bei der durch Bindung von 14-3-3 an das Serin-phosphorylierte Raf die Aktivität der Raf-Kinase reguliert wird [160, 191]. Weitere Funktionen der 14-3-3-Proteine sind die mit einem Mitglied der

Bcl-2 Familie, BAD, assoziierte Kontrolle der Apoptose [215] und die Steuerung des Zellzyklus-Checkpoints am G2/M-Übergang durch Bindung an Cdc25C [122, 154].

14-3-3- σ , auch Stratifin oder HME-1 (Human Mammary Epithelium-Specific Marker-1) [156] genannt, ist einer der 7 Isotypen der 14-3-3-Familie. Die σ -Isoform kommt speziell in Keratinozyten und Epithelzellen vor [44, 104] und spielt neben der Regulierung der Signaltransduktion und der zellulären Differenzierung besonders in der Kontrolle des Zellzyklus eine entscheidende Rolle [45, 149, 196]. Das Tumorsuppressorgen p53, welches als eine der wichtigsten Kontrollinstanzen für das Zellwachstum gilt, erhöht infolge eines DNA-Schadens die Expression von 14-3-3- σ -mRNA [71]. Die Zunahme von 14-3-3- σ führt zu einem G2/M-Arrest, bei dem 14-3-3- σ als negativer Regulator des Zellzyklus an die Proteine Cdc2 und Cyclin B1, die für die Einleitung der Mitose verantwortlich sind bindet, und durch deren Sequestrierung ihren Eintritt in den Nukleus hemmt. Der Zellzyklus-Arrest ermöglicht den Zellen genetischen Schaden zu reparieren und sich somit vor Mutagenese und genomischer Instabilität zu schützen [30, 71]. Untersuchungen zeigten, dass 14-3-3- $\sigma^{-/-}$ Zellen außerstande waren einen G2/M-Checkpoint-Arrest aufrechtzuerhalten. Nach Behandlung mit Adriamycin trat schließlich die mitotische Katastrophe, ein durch eine Mitoseaberration hervorgerufener Zelltod, ein [29]. Weiter konnte gezeigt werden, dass eine Inaktivierung des 14-3-3- σ -Gens zur Immortalisierung von menschlichen Keratinozyten führt [44]. Weitere Studien haben gezeigt, dass 14-3-3- σ durch seine Bindung an die Cyclin-abhängige-Kinase 2 (CDK2) und die damit verbundene Inhibition der Cyclin-CDK-Aktivität auch Einfluss auf den Verlauf der G1/S-Phase zu haben scheint [99]. Die genannten experimentellen Beobachtungen machen verständlich weshalb 14-3-3- σ an der Entwicklung von Tumoren beteiligt ist. In vielen epithelialen Tumoren des Menschen, beispielsweise dem Mamma- oder Prostatakarzinom, kann eine deutlich verminderte 14-3-3- σ -Expression nachgewiesen werden [51, 99, 120]. Umgekehrt führt ein Anstieg von 14-3-3- σ in den menschlichen Brustkrebszellen zu einer Hemmung der Tumorgenität der HER2-transformierten Tumorzellen [195, 211]. Auch das Basalzellkarzinom zeigt eine teilweise beziehungsweise vollständige Minderung der 14-3-3- σ -Expression, wohingegen andere hyperproliferative Krankheitsbilder wie Psoriasis vulgaris, Condylomata acuminata, aktinische Keratosen und das spinozelluläre Karzinom die gleiche 14-3-3- σ -Expression wie die normale angrenzenden Epidermis aufweisen [121]. Verantwortlich für die Inaktivierung von 14-3-3- σ in humanen Krebszellen ist die epigenetische Hypermethylierung der CpG-Inseln in der 5'-Region des Promotors [51]. Die CpG-Inseln, die der Regulation der Genexpression dienen, verlieren durch die Methylierung die Fähigkeit das zugehörige Gen

zu exprimieren, wodurch es zur Stilllegung der Gene (Gen-Silencing) kommt. Ferner konnte gezeigt werden, dass die Hypermethylierung der 5'-Region mit einer verminderten Expression von 14-3-3- σ in den Krebszellen korreliert. Durch eine Behandlung mit dem Methyltransferase-Inhibitor 5-Aza-2'-Deoxycytidin kann die DNA-Hypermethylierung aufgehoben und die Genreaktivierung eingeleitet werden. Des Weiteren zeigten sich in Krebszellen, infolge einer Inaktivierung von 14-3-3- σ durch Hypermethylierung, sowohl Schäden in der Kontrolle des G2-Checkpoints als auch Beeinträchtigungen der Funktion des Tumorsuppressorgens p53 [181]. Umgekehrt fand man heraus, dass das Protein 14-3-3- σ die Stabilität und die transkriptionelle Aktivität von p53 erhöht und damit das Tumorstadium unterdrückt [211]. 14-3-3- σ , das G2/M-Zellzyklus-Checkpoint-Gen, spielt demnach mit seiner tumorsuppressiven Aktivität und der stimulierenden Wirkung auf den Tumorsuppressor p53 in der Prävention der Tumorentstehung eine entscheidende Rolle.

1.4.2. IKK α - Eine katalytische Untereinheit des I κ B Kinase-Komplexes

Nuklearer Faktor- κ B (NF- κ B), ein Transkriptionsfaktor, der in nahezu jedem Zelltyp vorhanden ist, nimmt bei Entzündungsprozessen und in der Tumorentstehung eine Schlüsselstellung ein [85]. NF- κ B spielt in der Embryonalentwicklung, bei der Koordinierung von Entzündungs- und Immunantworten und bei der Zellteilung eine entscheidende Rolle [134]. Physiologischerweise wird NF- κ B im nicht-aktivierten Zustand von Proteinen der I κ B-Familie im Zytoplasma zurückgehalten. Durch die Stimulation mit Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α), einem Zytokin, welches als Folge von entzündlichen Prozessen, Infektionen oder Verletzungen produziert wird [15], werden diese inhibitorischen Proteine durch den I κ B-Kinase- (IKK-) Komplex phosphoryliert. Die sich anschließende Ubiquitinierung und Degradierung der I κ B-Proteine hat zur Folge, dass NF- κ B frei im Zytoplasma vorliegt und nun ungehindert in den Zellkern eintreten und dort die Transkription von Zytokingenen aktivieren kann [86]. Der IKK-Komplex stellt somit einen entscheidenden Faktor der NF- κ B-Regulierung und eine wichtige Komponente des TNF- α -Signaltransduktionsweges dar.

Der I κ B-Kinase-Komplex besteht aus zwei katalytischen Untereinheiten, IKK α und IKK β , [46, 135, 214] und einer regulatorischen Untereinheit IKK γ oder NEMO (NF- κ B essenzieller Modulator) [161, 208]. Trotz der ähnlichen Struktur und der Tatsache, dass

sowohl IKK α als auch IKK β zur in vitro Phosphorylierung von I κ B befähigt sind [213], unterscheiden sich die zwei katalytischen Untereinheiten in ihrer Funktion. Maßgebend für die Aktivierung des I κ B-Kinase-Komplexes und die Regulierung der NF- κ B-Aktivität ist dabei IKK β , während IKK α in Abwesenheit von IKK β für die Aktivatoren des IKK-Komplexes unempfindlich ist und somit einen Verlust von IKK β nur teilweise kompensieren kann [109, 185]. IKK α hat demnach zwar geringen Einfluss auf die Regulierung der NF- κ B-Aktivität, spielt jedoch eine signifikante Rolle in der von seiner Proteinkinase- und der NF- κ B-Aktivität unabhängigen epidermalen Differenzierung von Keratinozyten und in der Skelett-Morphogenese [73, 74, 108, 183]. Neugeborene IKK $\alpha^{-/-}$ Mäuse präsentieren sich mit fehlerhafter epidermaler Differenzierung in Form von glänzender, transparenter und verdickter Haut. Die Epidermis ist durch eine stark proliferierte basale und suprabasale Zellschicht und ein komplettes Fehlen von Stratum granulosum und corneum gekennzeichnet. Diese Mäuse sterben kurz nach der Geburt. Die Reexpression von IKK α oder eines Kinase-inaktiven IKK α führt zur Induktion der terminalen Differenzierung von Keratinozyten und zur Hemmung der Hyperproliferation in vitro und in vivo [74, 170]. Zusätzlich weisen die Mäuse multiple, das Skelett betreffende morphologische Defekte und eine abnorme kraniofaziale Morphogenese auf [73, 183]. Untersuchungen diesbezüglich zeigten, dass IKK α in der Epidermis die Ausschüttung von FGF (Fibroblast Growth Factor) Proteinen hemmt und somit neben der Epidermogenese, auch die Morphogenese des vom Mesoderm ausgehenden Knochengewebes reguliert [170]. Eine weitere wichtige Rolle, die IKK α nach neuesten Erkenntnissen zugewiesen werden kann, ist die Prävention von Hautkrebs. Durch Unterbindung einer vermehrten Mitose, Induktion der terminalen Differenzierung und durch Unterdrückung des Epidermal-Growth-Factor-Receptor- (EGFR-) gesteuerten autokrinen Regelkreises, ist IKK α befähigt die Entstehung von Hauttumoren zu verhindern [113]. In der Mehrzahl aller humanen Plattenepithelkarzinome konnten IKK α -Mutationen im Exon 15 und eine verminderte IKK α -Expression nachgewiesen werden. Zwischen der Expression von IKK α und der Aggressivität des Tumors wurde ein gegenläufiger Zusammenhang ermittelt. Bei Mäusen führte eine Überexpression von IKK α durch Unterdrückung der mitogenetischen und angiogenetischen Aktivität zu einer Hemmung der Tumor- und Metastasenentstehung [112]. IKK α ist demnach ein wichtiger Faktor in der Aufrechterhaltung der epidermalen Homöostase und der Prävention von Hautkrebs.

1.4.3. Die 14-3-3- σ / IKK α -assoziierte Tumorgenese

Während bereits bekannt ist, dass 14-3-3- $\sigma^{-/-}$ Zellen nicht in der Lage sind einen G2/M-Arrest aufrechtzuerhalten, konnten jüngst auch bei IKK α -defizienten Keratinozyten Defekte im G2/M-Zellzyklus-Arrest nachgewiesen werden [216]. Ursächlich war auch hierfür die, durch einen DNA Schaden und durch die anschließende Hypermethylierung verursachte Inaktivierung von 14-3-3- σ . Das Histon H3, eines der fünf Haupt-Histon-Proteine im Chromatin eukaryotischer Zellen, spielt dabei durch seine Beteiligung an der DNA-Methylierung eine entscheidende Rolle [105]. Das trimethylierte Histon H3 Lysin 9 (H3-K9) gilt als Grundvoraussetzung für die Entstehung von DNA-Methylierungsmustern, die für die Unterdrückung der Transkription und das Gen-Silencing verantwortlich sind [78, 105, 184]. Die H3-K9-Trimethylierung wird dabei durch die Trimethyltransferase Suv39h1 reguliert [159, 177]. Zwischen dem Histon H3 des Proteins 14-3-3- σ und der katalytischen Untereinheit des I κ B-Kinase-Komplexes, IKK α , konnte zuletzt eine Verbindung hergestellt werden. Untersuchungen diesbezüglich zeigten, dass IKK α den Zugriff von Suv39h1 auf H3 hemmte und somit 14-3-3- σ vor Hypermethylierung und Inaktivierung schützte. Gestützt wird diese These durch die Tatsache, dass ein Verlust von IKK α zu einer verminderten 14-3-3- σ -Expression in Keratinozyten führte und umgekehrt eine Reaktivierung von IKK α die Ausschüttung von 14-3-3- σ ansteigen ließ [216]. IKK α reguliert demnach indirekt den G2/M-Zellzyklus-Arrest, indem es 14-3-3- σ vor Hypermethylierung und vor Gen-Silencing schützt und bewahrt somit die genomische Stabilität der Keratinozyten.

1.5. Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit

Ziel der Arbeit war es sporadisch auftretende Basalzellkarzinome mit Basalzellkarzinomen, die im Rahmen des Gorlin-Goltz-Syndroms auftreten, unter Verwendung zweier Antikörper immunhistochemisch zu charakterisieren und miteinander zu vergleichen.

Zunächst wurde die Expression des Proteins 14-3-3- σ in sporadischen Basalzellkarzinomen und in Basalzellkarzinomen des Gorlin-Goltz-Syndroms immunhistologisch untersucht, mit der Zielsetzung einen möglichen Zusammenhang zwischen der Sonic-Hedgehog-/ Patched-Signalkaskade und dem 14-3-3- σ -Signaltransduktionsweg aufzudecken. Sporadisch auftretende Basalzellkarzinome gehen mit einer verminderten oder sogar fehlenden

Expression von 14-3-3- σ einher. Die erste Fragestellung unserer Arbeit war somit, ob auch Basalzellkarzinome, die im Rahmen des Sonic-Hedgehog-assoziierten Basalzellnaevus-Syndroms auftreten, ein Silencing von 14-3-3- σ aufweisen. Hierfür wurden 33 Gewebeschnitte von Patienten mit sporadischen Basalzellkarzinomen und 26 Basalzellkarzinom-Schnitte von Patienten mit Gorlin-Goltz-Syndrom angefertigt, mit dem 14-3-3- σ -Antikörper angefärbt und bezüglich der 14-3-3- σ -Expression unter dem Mikroskop beurteilt und miteinander verglichen.

Im Anschluss wollten wir, mit dem Hintergrund, dass IKK α das G2/M-Zellzyklus-Checkpoint-Gen 14-3-3- σ vor Hypermethylierung und somit vor Gen-Silencing schützt, untersuchen ob eine verminderte Expression von 14-3-3- σ in den Basalzellkarzinomen beider Gruppen auch mit einer herunterregulierten Expression von IKK α einhergeht. Dafür wurden unter gleichen Färbebedingungen erneut 33 sporadische Basalzellkarzinome und 26, im Rahmen des Gorlin-Goltz-Syndroms auftretende Basalzellkarzinomen mit dem IKK α -Antikörper angefärbt. Unter Berücksichtigung der Befunde der 14-3-3- σ -Expression erfolgte eine Auswertung und ein Vergleich der mikroskopischen Ergebnisse.

2. MATERIALIEN UND METHODEN

2.1. Materialien

2.1.1 Software

AxioVision 3.1	Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Jena
Windows XP	Microsoft Co., Redmond, USA

2.1.2. Geräte

AxioCam MRc5	Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Jena
Axioskop 2	Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Jena
Dampfdrucktopf	Silit Werke GmbH, Burgau
Elektrische Becherwarmhalteplatte „ETW12“	ece - Ing. Ehlers&Co. GmbH, Lüdenscheid
Horizontale Färbebehälter	Thermo Scientific Shandon, Dreieich
Immunfärbeautomat	Dako TechMate 500 Plus, Hamburg
Kochplatte RCT basic	IKA Labortechnik, Janke&Kunkel GmbH, Staufen
Kühlplatte COP 30	Medite Medizintechnik GmbH, Burgdorf
Mikroskop	Leica Microsystems GmbH, Wetzlar
pH-Tester 'Checker'	Hanna Instruments GmbH, Kehl am Rhein
Pipetten (0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl)	Eppendorf AG, Hamburg
Pipettenhalter	Eppendorf AG, Hamburg
Rotationsmikrotom HM 355 s-2	Microm International GmbH, Walldorf
Wasser-Streckbad TFB 45	Medite Medizintechnik GmbH, Burgdorf

2.1.3. Verbrauchsmaterial

Absorbant Pads for TechMate Horizon	Dako Real TM, Hamburg
Capillary Gap Microscope Slides 75 µm	Dako Real TM, Hamburg
Cryo-Spray 400 ml	Medite Medizintechnik GmbH, Burgdorf
Deckgläser für Mikroskopie 24x24 mm	Menzel-Gläser GmbH & Co. KG, Braunschweig

Absorbant Pads for TechMate Horizon	Dako Real TM, Hamburg
Pipettenspitzen 10 µl	Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf
Pipettenspitzen 200 µl gelb, 1000 µl blau	Sarstedt Aktiengesellschaft & Co., Nümbrecht
Pipettenspitzen 50 - 1000 µl ep T.I.P.S.	Eppendorf AG, Hamburg
PS-Röhrchen 12 ml, Schraubverschluss	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen
Reagent Trays	Dako Real TM, Hamburg
Reagiergefäß 1,5 ml	Sarstedt Aktiengesellschaft & Co., Nümbrecht

2.1.4. Chemikalien und Reagenzien

Antibody Diluent 500 ml ready-to-use	Zytomed Systems GmbH, Berlin
AP Substrate Buffer 250 ml	Dako Real TM, Hamburg
Aqua dest.	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Biotinylated Secondary Antibodies 100 ml	Dako Real TM, Hamburg
Blotto non fat dry milk, sc-2325	Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg
Chromogen Red 1-3, 8 ml	Dako Real TM, Hamburg
EZ-DeWax Solution, Concentrated	Bio Genex, San Ramon, CA, USA
Hämalaun nach Mayer	Merck KGaA, Darmstadt
Kaisers Glyceringelatine 100 g	Merck KGaA, Darmstadt
Levamisol 1 ml	Dako Real TM, Hamburg
Salzsäure (HCl)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Streptavidin Alkaline Phosphatase (AP) 100 ml	Dako REAL TM, Hamburg
Tris- (Hydroxymethyl-) Aminomethan	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Tri-Natriumcitrat Dihydrat	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Tween 20	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Zitronensäure	Carl Roth GmbH, Karlsruhe

2.1.5. Puffer und Lösungen

EZ-DeWax Solution:

100 ml DeWax Konzentrat vermischt mit 90 ml Ethanol (96%ig).

Citratpuffer pH 6,0:

Stammlösung A: 5,25 g Zitronensäure in 250 ml Aqua dest. auflösen.

Stammlösung B: 14,7 g Tri-Natriumcitrat Dihydrat in 500 ml Aqua dest. auflösen.

Gebrauchslösung:

18 ml Stammlösung A mit 82 ml Stammlösung B in 1 Liter Aqua dest. mischen. 10 Min. kochen und 10 Min. bei Raumtemperatur abkühlen lassen.

Tris-HCl pH 7,6:

10 x Stammlösung

Salz A: 60,55 g Tris-Base gelöst in 1 Liter Aqua dest.

Salz B: 87,66 g NaCl gelöst in 1 Liter Aqua dest.

Durchführung:

Salze A und B einwiegen und mit Aqua dest. auf ca. 900 ml auffüllen. Den pH-Wert von 7,6 mit ca. 53 ml 25%iger Salzsäure einstellen und anschließend mit Aqua dest. auf 1 Liter auffüllen.

Gebrauchslösung:

100 ml Tris-Puffer-Stammlösung (10x) auf 1 Liter mit Aqua dest. auffüllen. Anschließend 500 µl Tween zugeben.

Blockierungsreagenz mit non fat dry milk (Blotto):

500 ml 0,1% Tris-HCl-Puffer (Gebrauchslösung siehe oben) mit 0,5 g Milchpulver mischen.

Chromogen-Substrat:

Die Substrat-Arbeitslösung (CHROM) wird angesetzt indem AP-Substrat-Puffer und Chromogen Red 1, 2 und 3 in genau dieser Reihenfolge in Abhängigkeit vom Endvolumen (siehe Tabelle 1.1.) zugegeben werden. Wird erwartet, dass die endogene Phosphatase eine unerwünschte unspezifische Färbung hervorruft, kann durch Zugabe von 1 Tropfen Levamisol auf 10 ml Substrat AP eine Blockade der endogenen alkalischen Phosphatase

erfolgen. Levamisol muss dabei vor Zugabe der Chromogen Red Komponenten zugegeben und gemischt werden. Die Substrat-Arbeitslösung erst 20 Minuten vor Gebrauch ansetzen!

Tabelle 1.1. Chromogen-Ansatz bei der AP-Methode

Endvolumen (ml)	0,10	0,20	0,25	0,30	0,40	0,50	0,60	0,75	0,90
AP-Puffer (µl)	100	200	250	300	400	500	600	750	900
Chr. Red 1(µl)	4	8	10	12	16	20	24	30	36
Chr. Red 2(µl)	4	8	10	12	16	20	24	30	36
Chr. Red 3(µl)	4	8	10	12	16	20	24	30	36

Endvolumen (ml)	1,00	1,25	1,50	1,75	2,00	2,25	2,50	2,75	3,00
AP-Puffer(ml)	1,00	1,25	1,50	1,75	2,00	2,25	2,50	2,75	3,00
Chr. Red 1(µl)	40	50	60	70	80	90	100	110	120
Chr. Red 2(µl)	40	50	60	70	80	90	100	110	120
Chr. Red 3(µl)	40	50	60	70	80	90	100	110	120

Endvolumen (ml)	3,25	3,50	3,75	4,00	4,25	4,50	4,75	5,00	5,25
AP-Puffer(ml)	3,25	3,50	3,75	4,00	4,25	4,50	4,75	5,00	5,25
Chr. Red 1(µl)	130	140	150	160	170	180	190	200	210
Chr. Red 2(µl)	130	140	150	160	170	180	190	200	210
Chr. Red 3(µl)	130	140	150	160	170	180	190	200	210

Endvolumen (ml)	5,50	5,75	6,00	6,25	6,50	6,75	7,00	7,25	7,50
AP-Puffer(ml)	5,50	5,75	6,00	6,25	6,50	6,75	7,00	7,25	7,50
Chr. Red 1(µl)	220	230	240	250	260	270	280	290	300
Chr. Red 2(µl)	220	230	240	250	260	270	280	290	300
Chr. Red 3(µl)	220	230	240	250	260	270	280	290	300

Endvolumen (ml)	7,75	8,00	8,25	8,50	8,75	9,00	9,25	9,50	9,75
AP-Puffer(ml)	7,75	8,00	8,25	8,50	8,75	9,00	9,25	9,25	9,75
Chr. Red 1(µl)	310	320	330	340	350	360	370	380	390
Chr. Red 2(µl)	310	320	330	340	350	360	370	380	390
Chr. Red 3(µl)	310	320	330	340	350	360	370	380	390

2.1.6. Antikörper

Anti-Human 14-3-3-σ Rabbit IgG Affinity Purified (1:200)	IBL International GmbH, Hamburg
IKKα-Antibody Rabbit (M-110) (1:50)	Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg

2.1.7. Tumorgewebe und Patientenselektion

Es wurden 33 Patienten mit der Diagnose sporadisches Basalzellkarzinom und 26 Gorlin-Goltz-Patienten, die in ihrer Krankengeschichte multiple Basalzellkarzinome aufwiesen, aus einer Datei histopathologischer Befunde herausgesucht und die jeweiligen Paraffinblöcke aus dem Archiv der Histologie entnommen. Dabei waren sowohl verschiedene Tumor-Lokalisationen, als auch unterschiedliche Altersklassen vertreten.

2.2. Methoden

2.2.1. Anfertigung von Paraffinschnitten

Die ausgewählten Paraffinblöcke wurden zunächst etwa 15 Minuten lang auf eine Kühlplatte gelegt. Im Anschluss wurden mit Hilfe des Rotationsmikrotoms 4-6 µm dicke Schnitte angefertigt und nach Streckung im Wasser-Streckbad flach und faltenfrei auf saubere Objektträger gezogen. Die Paraffinschnitte trockneten anschließend 12-24 Stunden bei Raumtemperatur, bevor mit der Färbung begonnen werden konnte.

2.2.2. Ermittlung der optimalen Antikörper-Konzentration mittels Verdünnungsreihe

Um die ideale Konzentration der bestellten Antikörper zu bestimmen, wurden Positiv- und Negativkontrollen mit verschiedenen Verdünnungen des jeweiligen Antikörpers angefärbt. (Färbemethode siehe 2.2.3.). Die Auswertung der gefärbten Schnitte und somit die Entscheidung über die optimale Verdünnung des Antikörpers erfolgte unter dem Mikroskop. Die Konzentration des Antikörpers Anti-Human 14-3-3- σ Rabbit IgG Affinity Purified wurde auf 1:200 festgelegt, die des Antikörpers IKK α -Antibody Rabbit auf 1:50. Zur Verdünnung der Antikörper benutzten wir ein Antikörper-Diluent.

2.2.3. Immunhistochemische Färbung der Gewebeschnitte

2.2.3.1. Immunhistochemische Vorbehandlung

Bevor mit der Färbung der Gewebeschnitte begonnen werden konnte, musste zunächst eine hierfür spezifische Vorbehandlung durchgeführt werden.

Zu Beginn wurden die Gewebeschnitte entparaffiniert. Hierfür mussten die Objektträger bei Raumtemperatur 5 Minuten lang in EZ-DeWax inkubiert werden, das Bad einmal gewechselt und die Inkubation in einem frischen EZ-DeWax-Bad für weitere 5 Minuten wiederholt werden. Die Objektträger wurden anschließend in Leitungswasser gespült. Die Entparaffinierung dient dabei der Freilegung der Epitope für die nachfolgende immunhistochemische Prozedur und verhindert durch vollständiges Entfernen des Paraffins das Auftreten unspezifischer Färb-Ergebnisse.

Im nächsten Schritt erfolgte die Antigendemaskierung (Antigen Retrieval). Um die Epitopstruktur des Gewebes wiederherzustellen und die Antikörperbindung freizulegen, wurde das Verfahren der hitzeinduzierten Epitopdemaskierung (HIER) angewandt. Die Objektträger wurden hierfür etwa 10 Minuten lang in einem mit Citratpuffer pH 6,0 gefüllten Dampfdrucktopf gekocht. Wichtig dabei war, die Objektträger-Halterung komplett mit Objektträgern zu beladen, auch wenn nicht alle Objektträger Gewebe enthielten. Hierdurch konnte eine einheitliche Erwärmung der Schnitte bei jedem einzelnen Durchlauf gewährleistet werden. Anschließend wurde der Topf unter kaltes Wasser gehalten und geöffnet. Die Schnitte blieben zur Abkühlung 25 Minuten lang in der Pufferlösung.

Um eine Färbung des Hintergrundes und eine damit verbundene Ergebnis-Verfälschung oder ein zu hohes Hintergrundsignal zu verhindern, wurden im nächsten Schritt die Objektträger 10 Minuten lang in einem Gemisch aus Milch (Blotto non fat dry milk) und Detergens geblockt. Danach waren die Gewebeschnitte für die Inkubation mit dem Antikörper bereit.

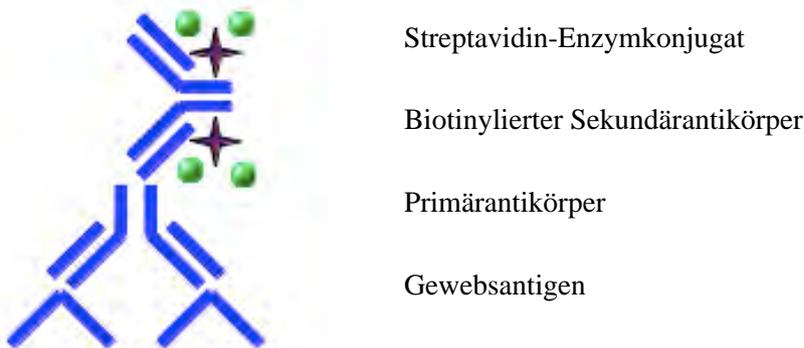
2.2.3.2. Grundlage der LSAB-Färbemethode

Die Färbung der Gewebeschnitte beruht auf der sogenannten Labelled-Streptavidin-Biotin- (LSAB-) Methode, einem indirekten Streptavidin-Biotin-Färbeverfahren, dessen Prinzip auf der starken Affinität von Streptavidin, einem Glykoprotein, das aus dem Bakterium *Streptomyces avidinii* extrahiert wird, zum Vitamin Biotin basiert. Streptavidin besteht aus vier identischen Untereinheiten, die jeweils über eine Biotin-Bindungsstelle verfügen. Nachdem die Bindung eines unkonjugierten Primärantikörpers an das Gewebsantigen erfolgt ist, wird eine Inkubation mit einem biotinylierten Sekundärantikörper durchgeführt. Im dritten Schritt kann nun ein enzymmarkierter Streptavidinkomplex an die Biotinmoleküle des Sekundärantikörpers binden.

Die grundsätzliche Abfolge der Reagenzien bei dieser Methode lautet somit:

1. unkonjugierter Primärantikörper, 2. biotinmarkierter (biotinylierter) Sekundärantikörper und 3. enzymmarkiertes Streptavidin.

Als Enzyme kommen Peroxidase oder die hier verwendete alkalische Phosphatase (AP) in Frage, die für die Farbreaktion bei der Umwandlung eines Substrates verantwortlich sind. Die alkalische Phosphatase zeichnet sich aufgrund ihrer höheren Substrat-Umsatzrate im Vergleich zur Peroxidase durch eine höhere Sensitivität aus. Hierbei muss das Problem der endogenen alkalische Phosphatase-Aktivität berücksichtigt werden, welche durch eine vorherige Zugabe von Levamisol blockiert werden kann.



Streptavidin-Enzymkonjugat

Biotinylierter Sekundärantikörper

Primärantikörper

Gewebsantigen

Abbildung 1.2. Schema der LSAB-Methode mit Darstellung des Gewebsantigens, des Primärantikörpers, des biotinylierten Sekundärantikörpers und des Streptavidin-Enzymkonjugats

2.2.3.3. Durchführung der LSAB-Färbemethode

Die sich der immunhistochemischen Vorbehandlung (2.2.3.1.) anschließenden Arbeitsschritte wurden je nach Anzahl der zu färbenden Objektträger entweder manuell oder mit Hilfe des Immunfärbeautomaten durchgeführt. Bei der manuellen Färbung wurde zur Inkubation der Schnitte eine Feuchtkammer verwendet.

Die Gewebeschnitte wurden zunächst 25 Minuten lang mit dem Primärantikörper (14-3-3- σ -AK oder IKK α -AK) beschichtet. Anschließend folgte eine je fünfminütige Inkubation mit dem biotinylierten Sekundärantikörper gegen Maus- oder Kaninchen-Immunglobuline und der Streptavidin Alkaline Phosphatase (AP) bei Raumtemperatur. Nach jedem einzelnen Inkubations-Schritt wurde drei mal mit Tris-HCl pH 7,6, einer Lösung, die die Oberflächenspannung herabsetzt und die unspezifische Antikörper-Protein-Interaktion absättigt, gespült.

Um die Antikörper-Reaktion sichtbar zu machen wurden die Gewebeschnitte anschließend mit dem zuvor frisch angesetzten Chromogen-Substrat (siehe 2.1.5.) beschichtet und 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die Spülung der Schnitte erfolgte mit destilliertem Wasser. Zuletzt führten wir eine Kern-Gegenfärbung durch. Hierbei wurde 20 Sekunden lang in Mayers Hämalaunlösung gefärbt und im Anschluss 5 Minuten lang in Leitungswasser gebläut. Zum Schluss folgte die Eindeckung der Gewebeschnitte mit Glycerin-Gelatine in wässrigem Medium.

2.2.4. Auswertung

2.2.4.1. Mikroskopie

Die Auswertung der immunhistochemisch gefärbten Gewebeschnitte erfolgte unter dem Mikroskop. Besonderes Augenmerk galt dabei der Antikörperanreicherung im Bereich des Basalzellkarzinoms im Vergleich zur angrenzenden normalen Epidermis. Auch andere Strukturen wie Haarfollikel, Talg- und Schweißdrüsen wurden zur Gegenüberstellung und Bewertung der Antikörperanreicherung begutachtet. Zu Vergleichszwecken, um das Basalzellkarzinom und die angrenzende gesunde Haut im mikroskopischen Bild besser nebeneinander beurteilen zu können, wurde eine geringe Vergrößerung (5,0- bis 10,0-fach Zoom) gewählt.

2.2.4.2. Bewertungskriterien

Eine Rotfärbung, die eine Positivreaktion in den entsprechenden Bereichen der Gewebeschnitte darstellt, spricht für eine Anreicherung des getesteten Antikörpers und somit seines jeweiligen Antigens. Um das Ausmaß der Anreicherung beziehungsweise des Verlustes des Antikörpers abzustufen, wurde die Rotfärbung und somit die 14-3-3- σ - und die IKK α -Expression im Bereich des Basalzellkarzinoms im Vergleich zur angrenzenden normalen Epidermis und Strukturen wie Haarfollikeln, Talg- und Schweißdrüsen beurteilt. Die Auswertung erfolgte semiquantitativ (positiv oder negativ). Eine verminderte Rotfärbung beziehungsweise ein Antikörperverlust im Bereich des Basalzellkarzinoms im Vergleich zur gesunden Haut wurde demnach als negativ (-) und eine im Vergleich zur angrenzenden normalen Epidermis gleiche oder sogar stärkere Rotfärbung, somit eine Antikörperanreicherung, als positiv (+) gewertet. Die Bewertung der Antikörperexpression im Bereich des Tumors richtete sich dabei nicht nach einem festgelegten Score, sondern erfolgte nach einem „internen Standard“, bei dem das Ausmaß der Anreicherung beziehungsweise des Verlustes des Antikörpers stets im Bezug auf die gesunde Epidermis und die Hautanhangsgebilde des jeweiligen Gewebeschnittes beurteilt wurde.

2.2.5. Fotografie

Zur digitalen Aufnahme der mikroskopischen Bilder wurde eine Mikroskop-Kamera verwendet. Die Einstellung wurde dabei so gewählt, dass Basalzellkarzinom und angrenzende normale Epidermis und gegebenenfalls andere Strukturen wie Talg- und Schweißdrüsen nebeneinander abgebildet und beurteilbar waren.

3. ERGEBNISSE

3.1. Auswertung der 14-3-3- σ -Expression

3.1.1. Sporadische Basalzellkarzinome

Tabelle 1.2. 14-3-3- σ -Expression im Bereich der sporadischen Basalzellkarzinome im Vergleich zur angrenzenden normalen Epidermis

	verminderte oder fehlende 14-3-3- σ -Expression	gleiche 14-3-3- σ -Expression
Sporadische BCC	29 / 33 (88%)	4 / 33 (12%)

Von den insgesamt 33 sporadischen Basalzellkarzinom-Schnitten zeigten 29 Gewebeschnitte im Bereich des Basalzellkarzinoms eine im Vergleich zur angrenzenden gesunden Epidermis verminderte oder fehlende 14-3-3- σ -Expression (88%). 4 der 33 Gewebeschnitte wiesen im Abschnitt des Basalzellkarzinoms keine verminderte Rotfärbung auf und präsentierten sich somit mit einer der angrenzenden normalen Epidermis äquivalenten 14-3-3- σ -Expression (12%).

Tabelle 1.3. Verminderte oder fehlende 14-3-3- σ -Expression (-) bzw. gleiche 14-3-3- σ -Expression (+) im Bereich der sporadischen Basalzellkarzinome im Vergleich zur normalen angrenzenden Epidermis: Abhängigkeit von der Tumorlokalisation

Lokalisation	Patienten Nr.	14-3-3- σ -Expression
Gesicht	1	-
	2	-
	3	-
	4	-
	5	-
	6	-
	7	-
	8	+
	9	-
	10	+
	11	-
	12	-
	13	+
	14	-
	15	-
	16	-
	17	-
Kapillitium	18	-
	19	-
Rumpf	20	-
	21	-
	22	+
	23	-
	24	-
	25	-

	26	-
	27	-
	28	-
Extremitäten	29	-
	30	-
	31	-
	32	-
	33	-

Eine im Vergleich zur angrenzenden gesunden Epidermis, verminderte oder fehlende 14-3-3- σ -Expression zeigte sich bei 14 von 17 sporadischen Basalzellkarzinomen im Bereich des Gesichtes (82%), bei 2 von 2 Basalzellkarzinomen des Kapillitiums (100%), bei 8 von 9 sporadischen Basalzellkarzinomen im Bereich des Rumpfes (89%) und bei 5 von 5 Basalzellkarzinomen im Bereich der oberen und unteren Extremitäten (100%).

Folgende Abbildungen zeigen Ausschnitte von sporadischen Basalzellkarzinomen, die mit dem Antikörper Anti-Human 14-3-3- σ Rabbit IgG Affinity Purified angefärbt wurden. In Anbetracht der 14-3-3- σ -Expression der angrenzenden gesunden Epidermis und anderer Strukturen, wie Haarfollikeln und Talgdrüsen, zeigen diese eine deutlich geringere Antikörperanreicherung (Rotfärbung) im Bereich des Tumors und präsentieren sich somit mit einer verminderten 14-3-3- σ -Expression.

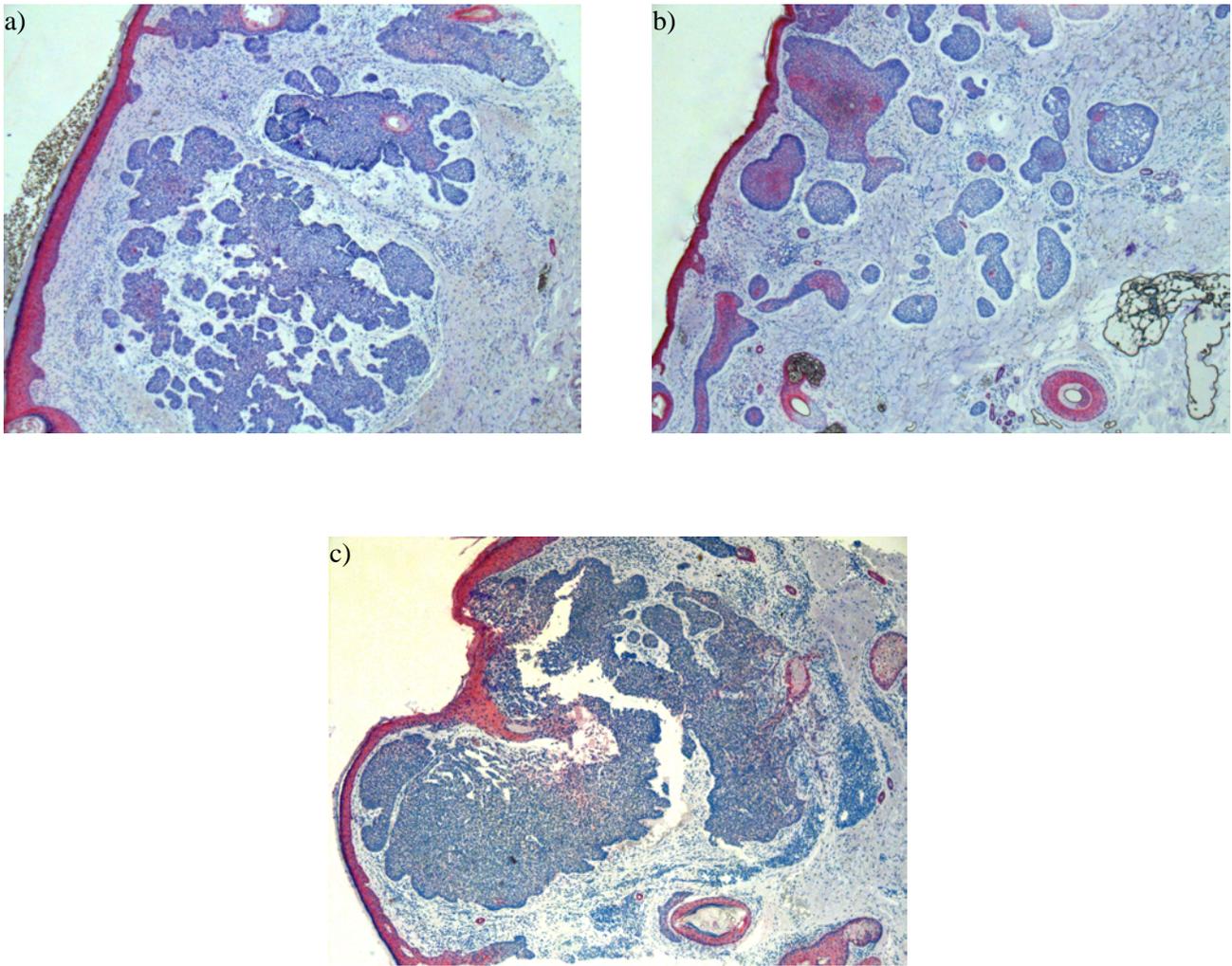


Abbildung 1.3. a)-c) Solide Basalzellkarzinome, Lokalisation: Stirn rechts **a)** medial, **b)** und **c)** lateral

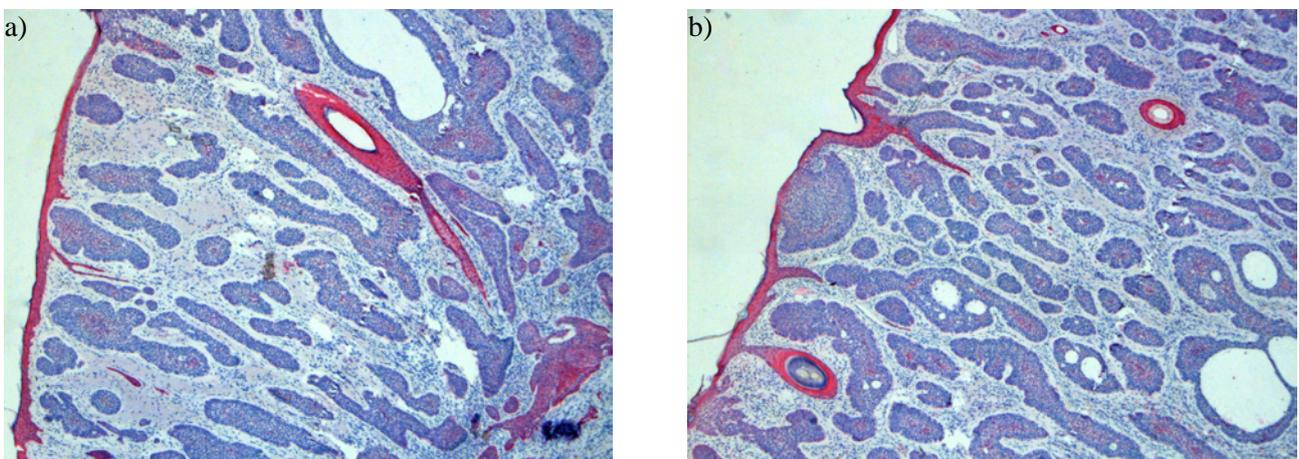


Abbildung 1.4. a)-b) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Wange rechts

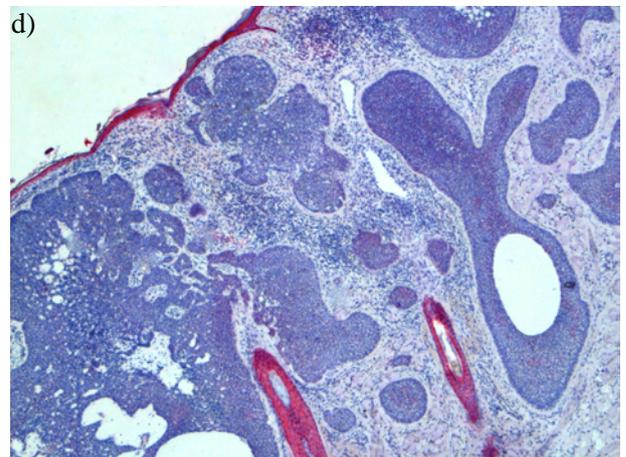
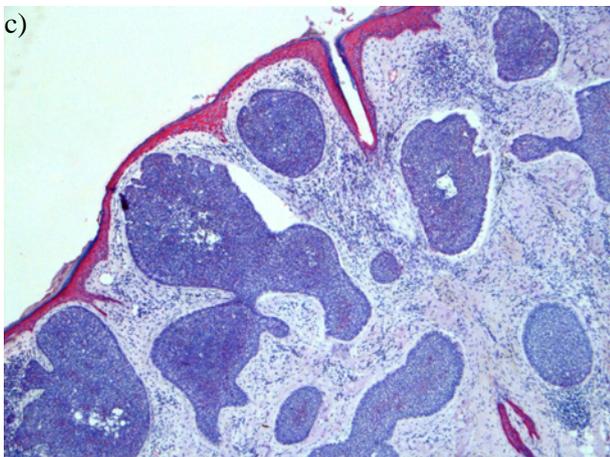
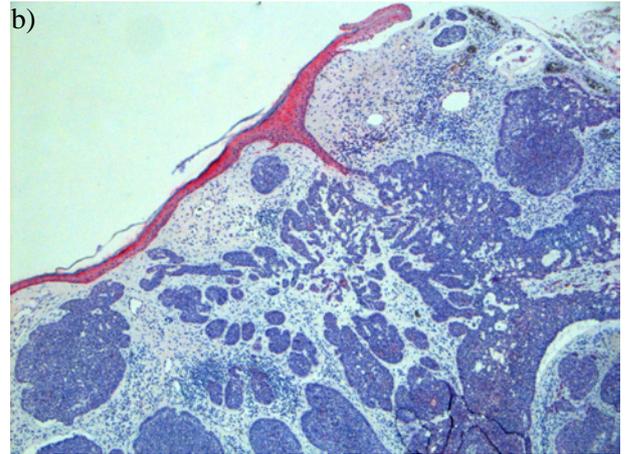
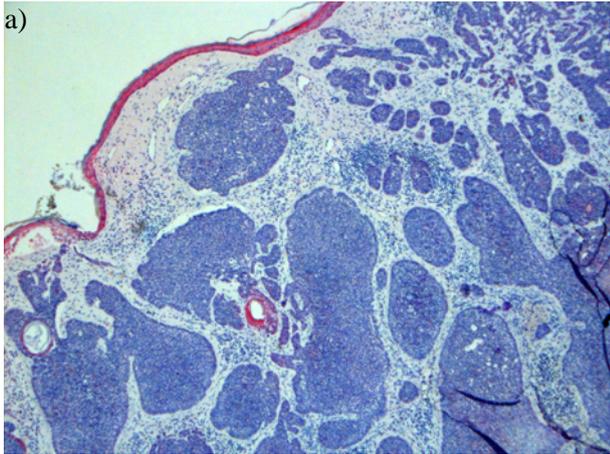


Abbildung 1.5. a)-d) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Kapillitium rechts temporal

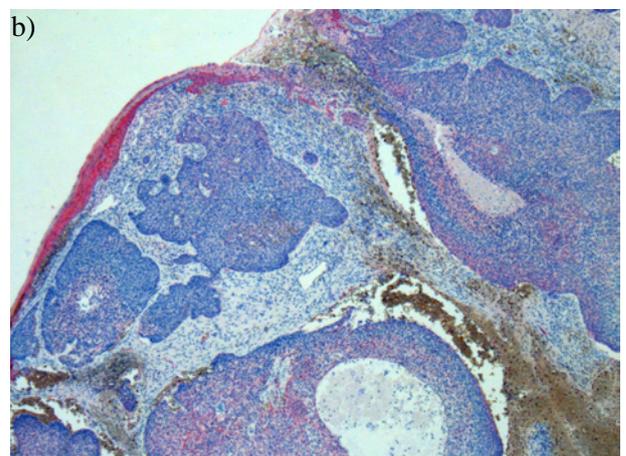
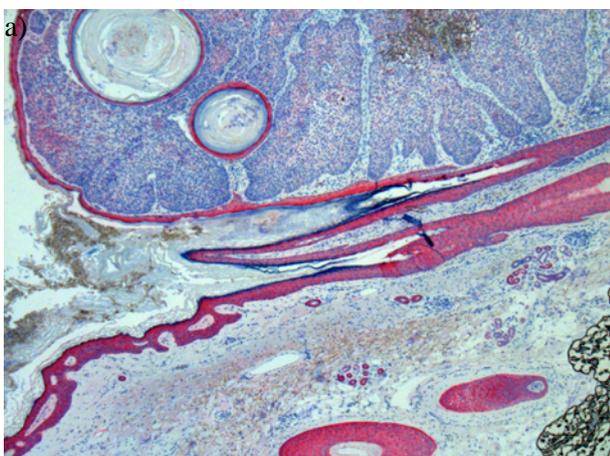


Abbildung 1.6. a)-b) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Kapillitium frontal

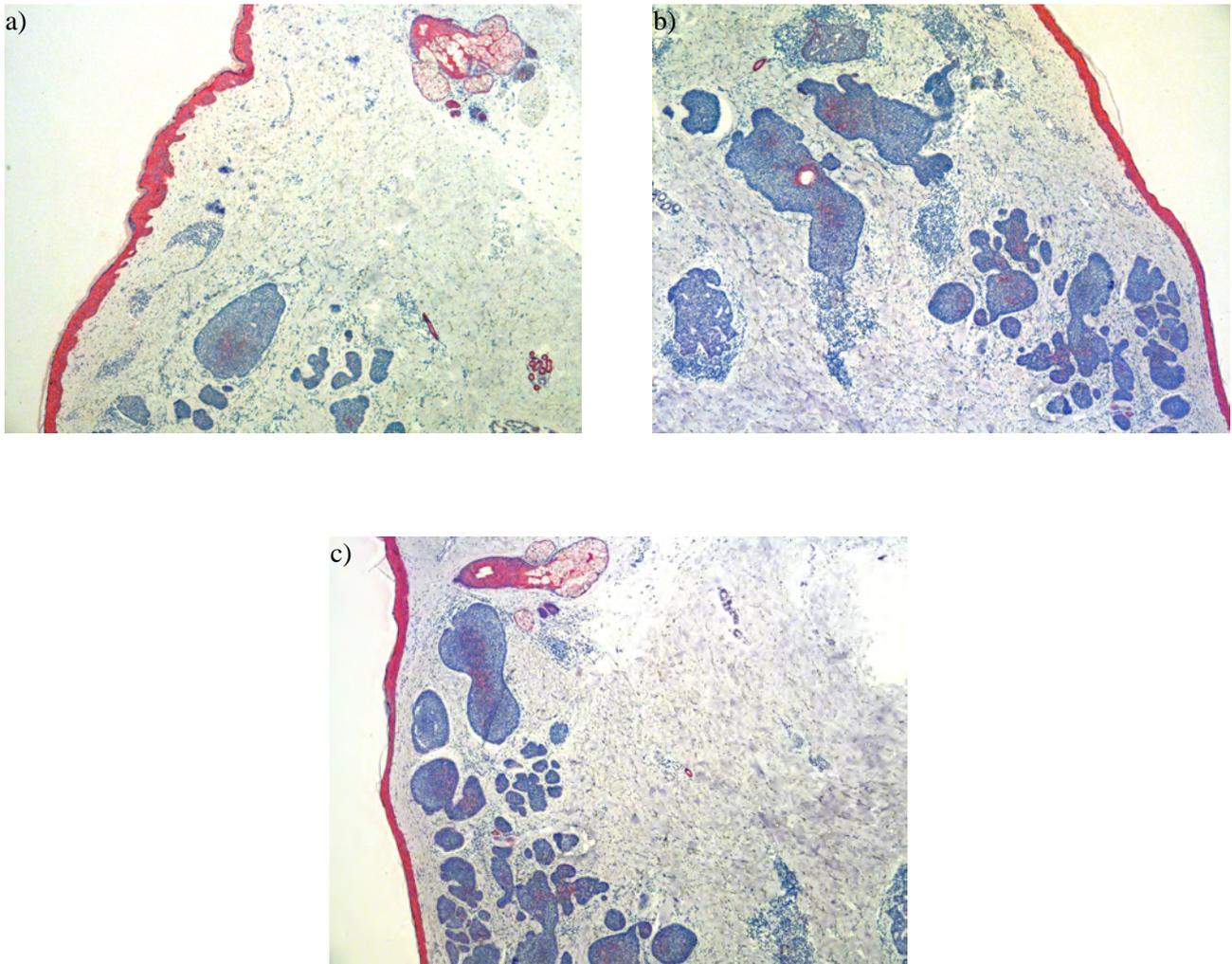


Abbildung 1.7. a)-c) Solides Basalzellularkarzinom, Lokalisation: Brust rechts

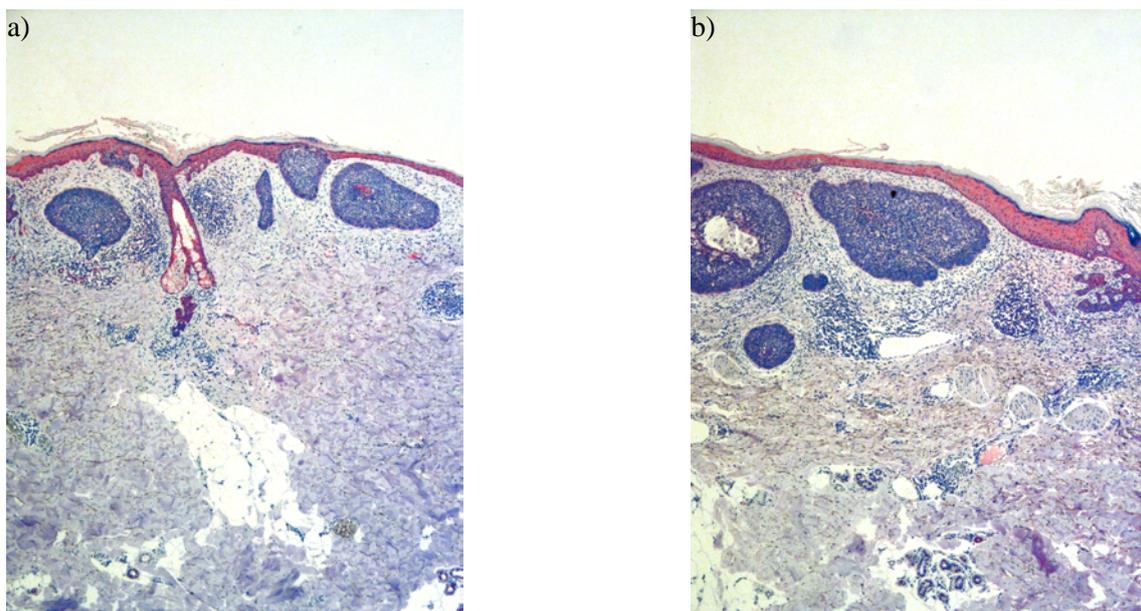


Abbildung 1.8. a)-b) Solides Basalzellularkarzinom, Lokalisation: Oberarm links

3.1.2. Basalzellkarzinome bei Basalzellnaevus-Syndrom

Tabelle 1.4. 14-3-3- σ -Expression im Bereich der Basalzellkarzinome bei Basalzellnaevus-Syndrom im Vergleich zur angrenzenden normalen Epidermis

	verminderte oder fehlende 14-3-3- σ -Expression	gleiche 14-3-3- σ -Expression
Basalzellnaevus-Syndrom	24 / 26 (92%)	2 / 26 (8%)

Von den insgesamt 26 Gewebeschnitten bei im Rahmen des Basalzellnaevus-Syndroms auftretenden Basalzellkarzinomen wiesen im Bereich des Karzinoms 24 Schnitte eine im Vergleich zur angrenzenden gesunden Epidermis verminderte oder fehlende 14-3-3- σ -Expression auf (92%). 2 der 26 Gewebeschnitte zeigten im Abschnitt des Basalzellkarzinoms die gleiche 14-3-3- σ -Expression wie die angrenzende normale Epidermis (8%).

Tabelle 1.5. Verminderte oder fehlende 14-3-3- σ -Expression (-) bzw. gleiche 14-3-3- σ -Expression (+) im Bereich der Basalzellkarzinome des Basalzellnaevus-Syndroms im Vergleich zur normalen angrenzenden Epidermis: Abhängigkeit von der Tumorlokalisation

Lokalisation	Patienten Nr.	14-3-3- σ -Expression
Gesicht	1	+
	2	-
	3	-
	4	-
	5	-
	6	-
	7	-
	8	-

	9	-
	10	-
	11	-
	12	-
	13	-
	14	-
	15	-
Kapillitium	16	-
	17	-
	18	-
	19	+
	20	-
Rumpf	21	-
	22	-
	23	-
Extremitäten	24	-
	25	-
	26	-

Im Vergleich zur angrenzenden normalen Epidermis wiesen 14 von 15 Gewebeschnitten bei im Rahmen des Basalzellnaevus-Syndroms auftretenden Basalzellkarzinomen im Bereich des Gesichtes eine verminderte oder fehlende 14-3-3- σ -Expression auf (93%). 4 von 5 Basalzellkarzinomen im Bereich des Kapillitiums (80%), 3 von 3 Basalzellkarzinomen des Rumpfes (100%) und der oberen und unteren Extremitäten (100%) präsentierten sich ebenfalls mit einer im Tumorabschnitt verminderten oder fehlenden 14-3-3- σ -Expression.

Folgende Abbildungen zeigen Ausschnitte von im Rahmen des Gorlin-Goltz-Syndroms auftretenden Basalzellkarzinomen, die mit dem 14-3-3- σ -Antikörper angefärbt wurden und im Bereich des Tumors eine im Vergleich zur angrenzenden normalen Epidermis verminderte 14-3-3- σ -Expression aufweisen.

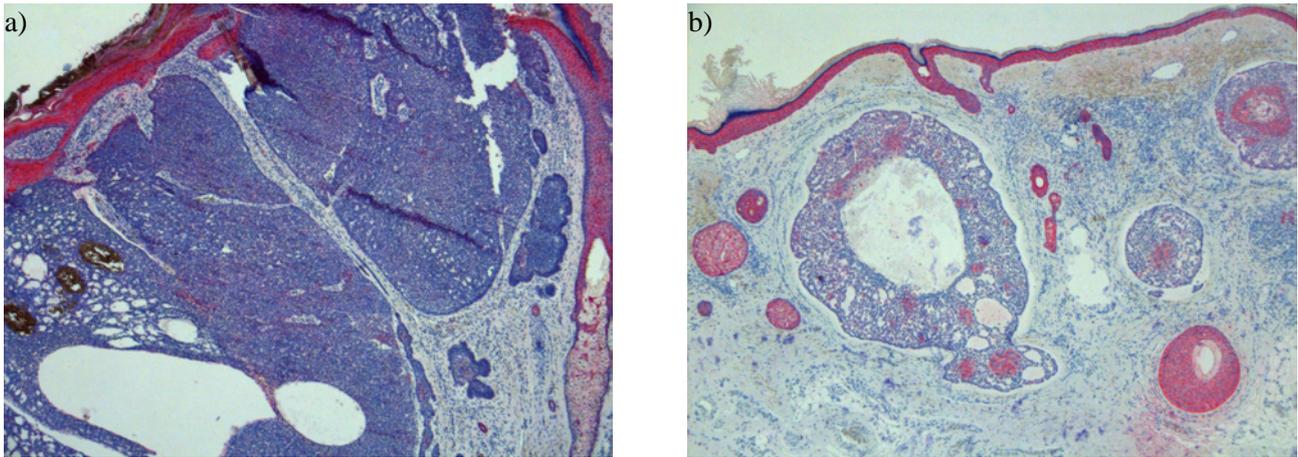


Abbildung 1.9. a)-b) Solide Basalzellkarzinome, Lokalisation: Stirn rechts **a)** medial und **b)** lateral

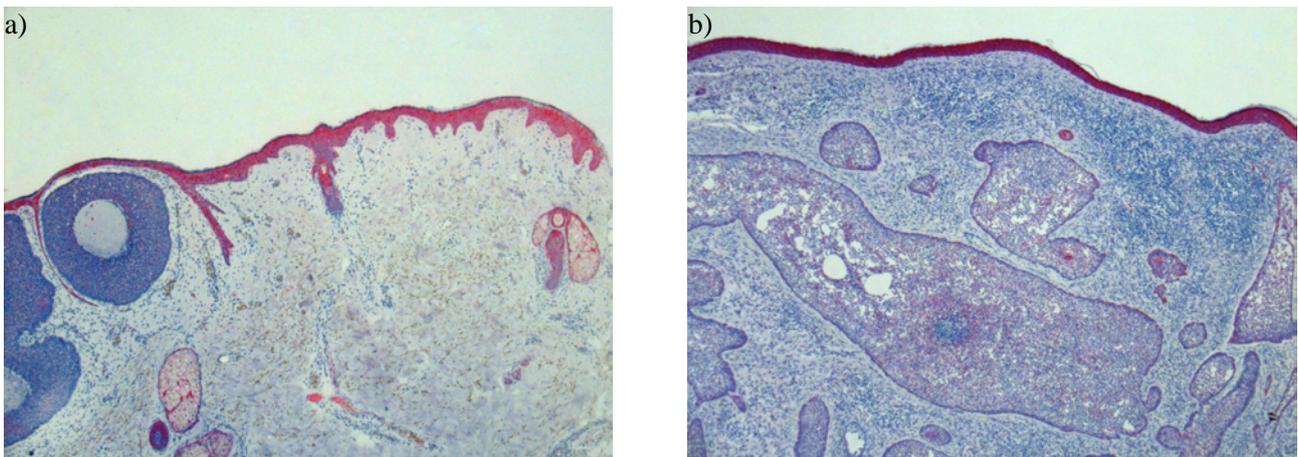


Abbildung 2.1. a)-b) Solide Basalzellkarzinome, Lokalisation: Wange links

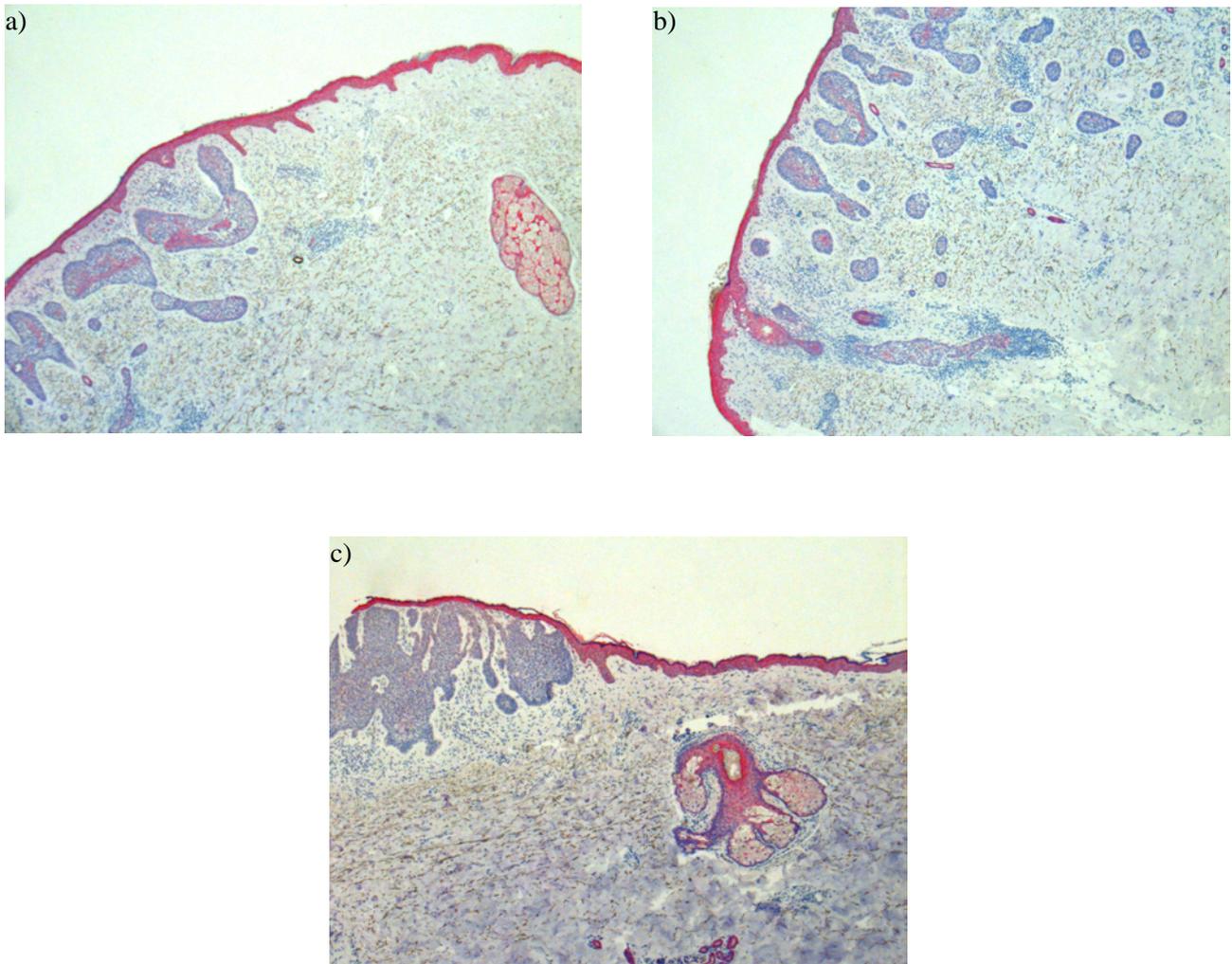


Abbildung 2.2. a)-c) Solide Basalzellkarzinome, Lokalisation: Wange rechts

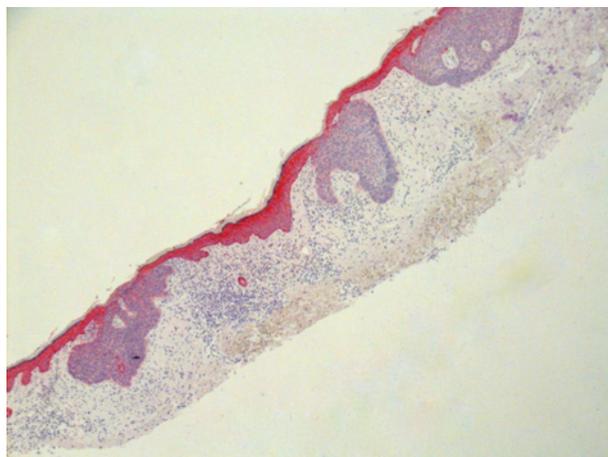


Abbildung 2.3. Oberflächlich-multizentrisches Basalzellkarzinom, Lokalisation: Wange rechts

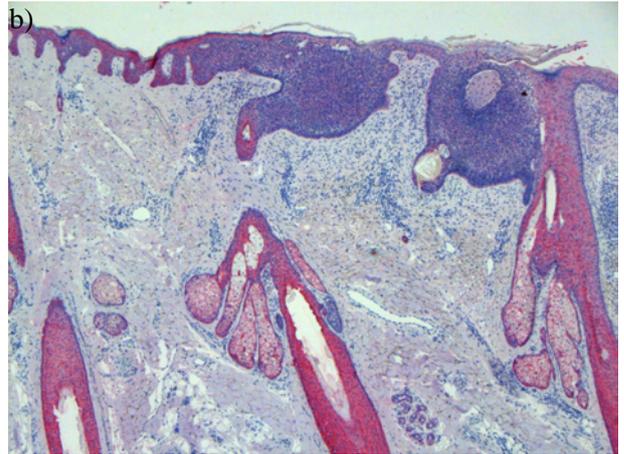
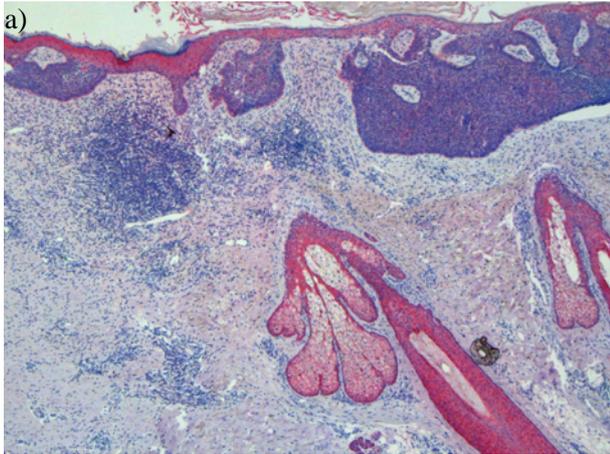


Abbildung 2.4. a)-b) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Kapillitium links parietal

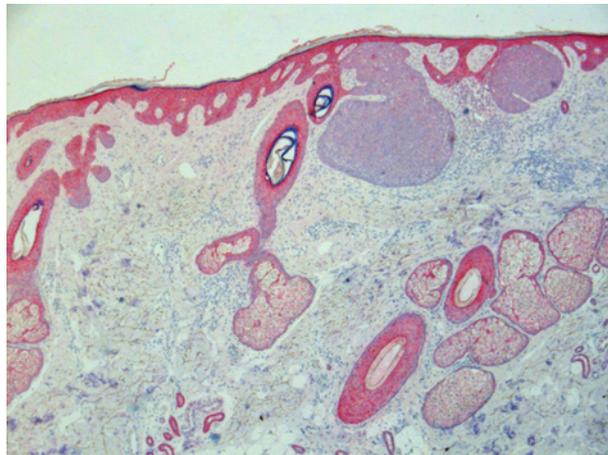


Abbildung 2.5. Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Kapillitium links temporal

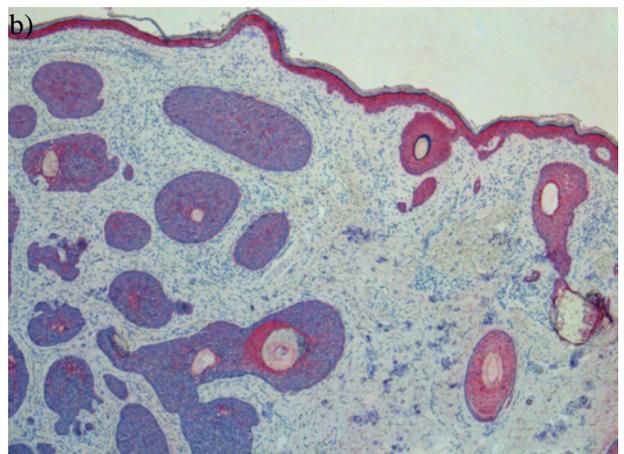
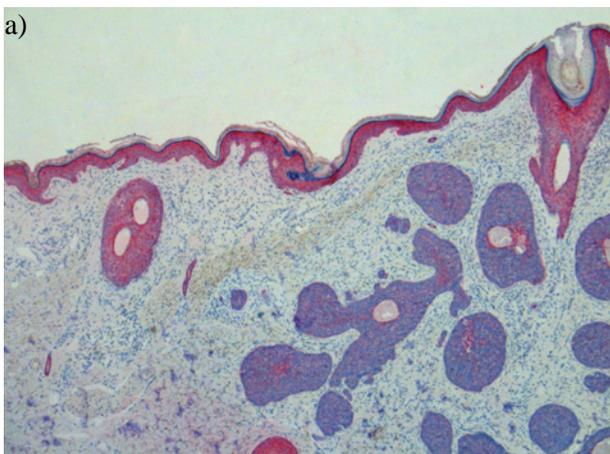


Abbildung 2.6. a)-b) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Kapillitium rechts temporal

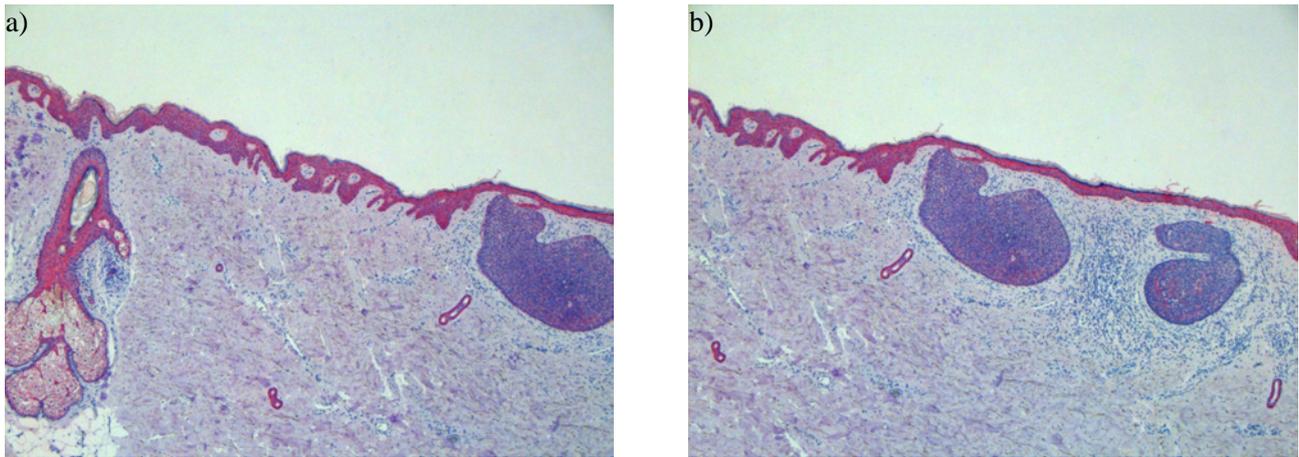


Abbildung 2.7. a)-b) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Brust rechts sternal

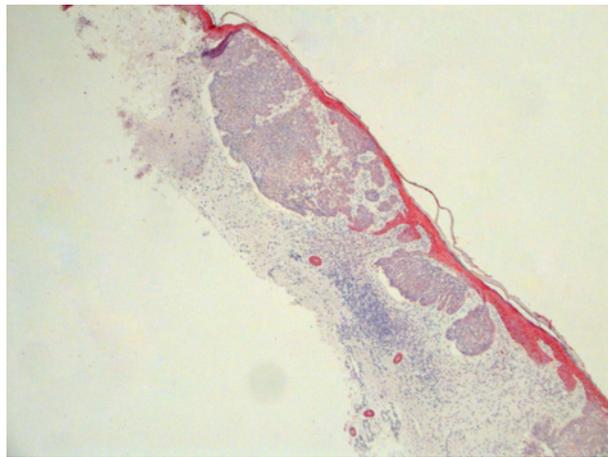


Abbildung 2.8. Oberflächlich-multizentrisches Basalzellkarzinom, Lokalisation: Oberarm rechts

3.2. Auswertung der IKK α -Expression

3.2.1. Sporadische Basalzellkarzinome

Tabelle 1.6. IKK α -Expression im Bereich der sporadischen Basalzellkarzinome im Vergleich zur angrenzenden normalen Epidermis

	verminderte oder fehlende IKK α -Expression	gleiche IKK α -Expression
Sporadische BCC	27 / 33 (82%)	6 / 33 (18%)

27 der insgesamt 33 sporadischen Basalzellkarzinomen, die mit dem Antikörper IKK α -Antibody Rabbit angefärbt wurden, wiesen im Bereich des Tumors eine, verglichen mit der angrenzenden gesunden Epidermis und Strukturen wie Haarfollikeln und Talgdrüsen, verminderte oder sogar fehlende IKK α -Expression auf (82%). Von den insgesamt 33 Gewebeschnitten zeigten 6 Basalzellkarzinome die identische IKK α -Expression wie die angrenzende normale Haut (18%).

Tabelle 1.7. Verminderte oder fehlende IKK α -Expression (-) bzw. gleiche IKK α -Expression (+) im Bereich der sporadischen Basalzellkarzinome im Vergleich zur normalen angrenzenden Epidermis: Abhängigkeit von der Tumorlokalisation

Lokalisation	Patienten Nr.	IKK α -Expression
Gesicht	1	-
	2	-
	3	-
	4	-
	5	-
	6	-
	7	-

	8	+
	9	-
	10	-
	11	-
	12	+
	13	+
	14	-
	15	-
	16	-
	17	-
Kapillitium	18	-
	19	-
Rumpf	20	-
	21	+
	22	-
	23	-
	24	-
	25	-
	26	+
	27	-
	28	-
Extremitäten	29	+
	30	-
	31	-
	32	-
	33	-

Eine im Vergleich zur angrenzenden gesunden Epidermis verminderte IKK α -Expression zeigte sich bei 15 von 17 sporadischen Basalzellkarzinomen im Bereich des Gesichtes (82%) und bei 2 von 2 Basalzellkarzinomen im Bereich des Kapillitiums (100%). 7 von 9 sporadischen Basalzellkarzinomen des Rumpfes (78%) und 4 von 5 Basalzellkarzinomen der oberen und unteren Extremitäten (80%) präsentierten sich ebenfalls mit einer verminderten IKK α -Expression.

Folgende Abbildungen zeigen Ausschnitte von sporadischen Basalzellkarzinomen, angefärbt mit dem IKK α -Antikörper, die im Bereich des Tumors eine Abnahme der Antikörperanreicherung und somit eine verminderte IKK α -Expression aufweisen.

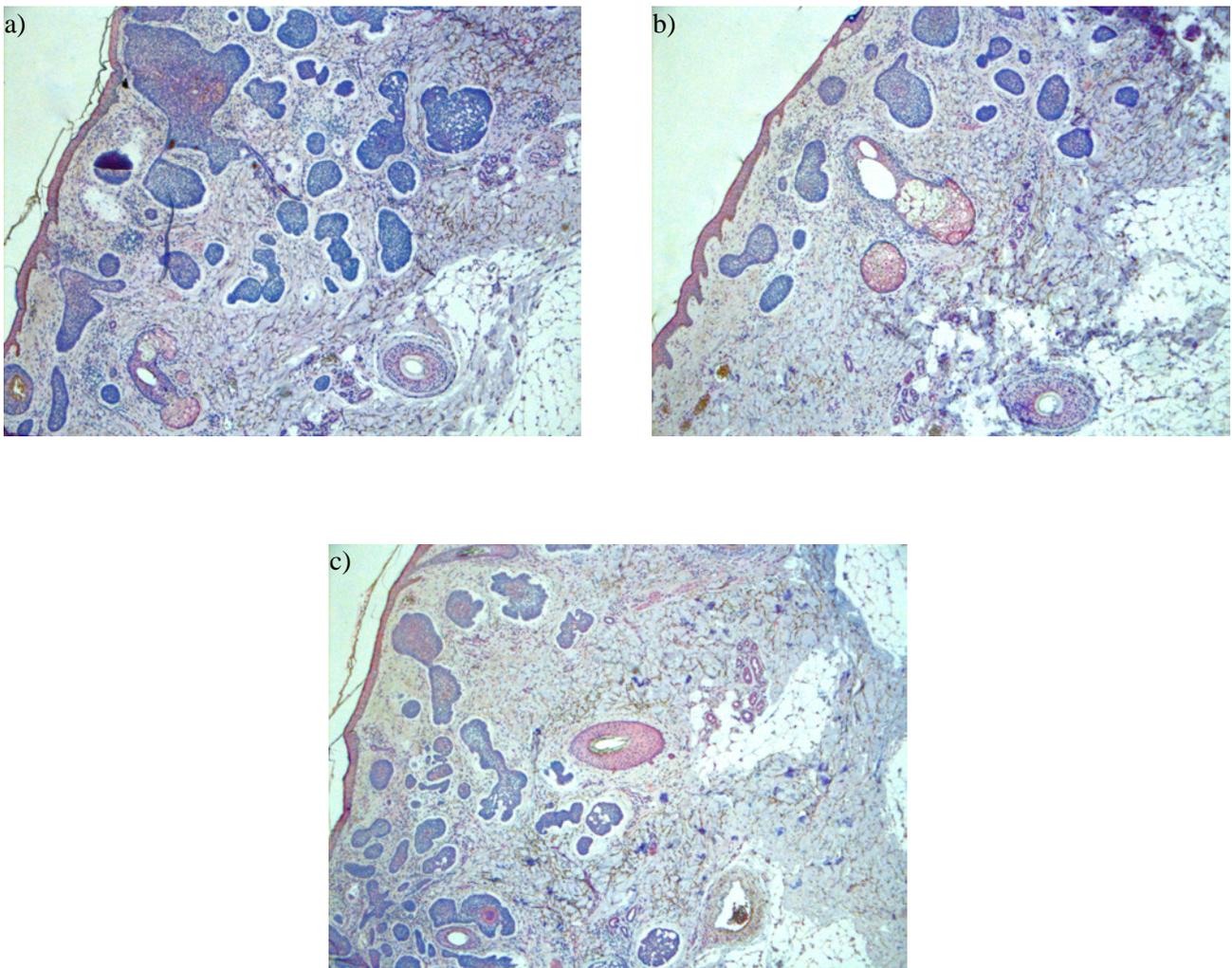


Abbildung 2.9. a)-c) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Stirn rechts lateral

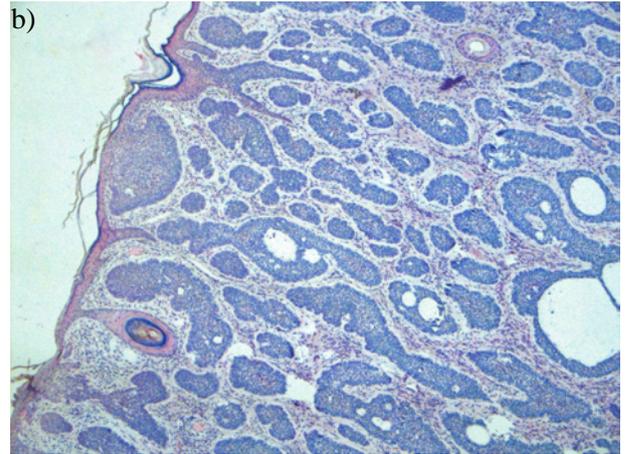
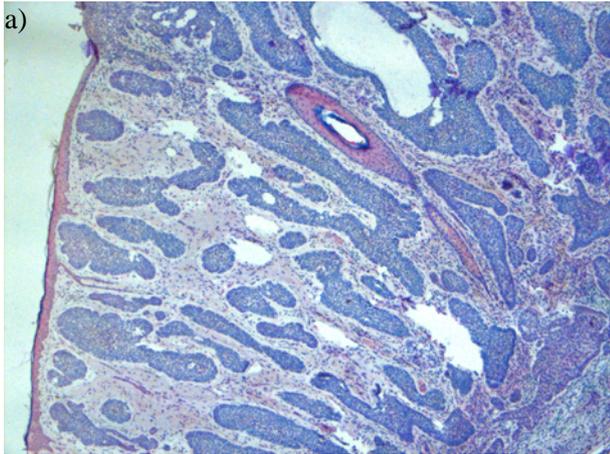


Abbildung 3.1. a)-b) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Wange rechts

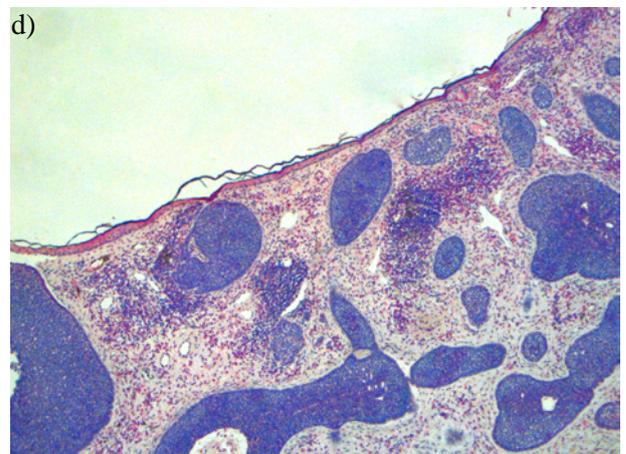
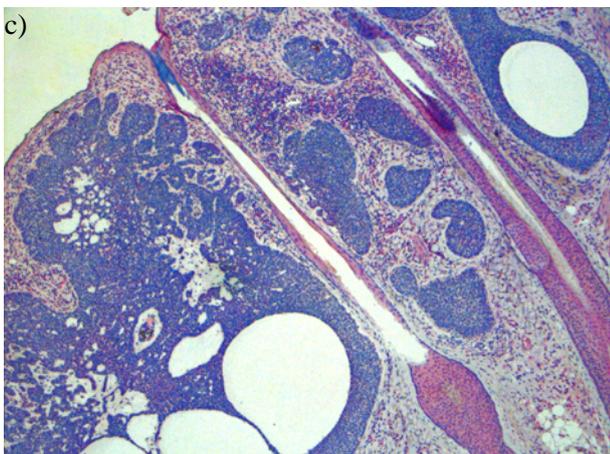
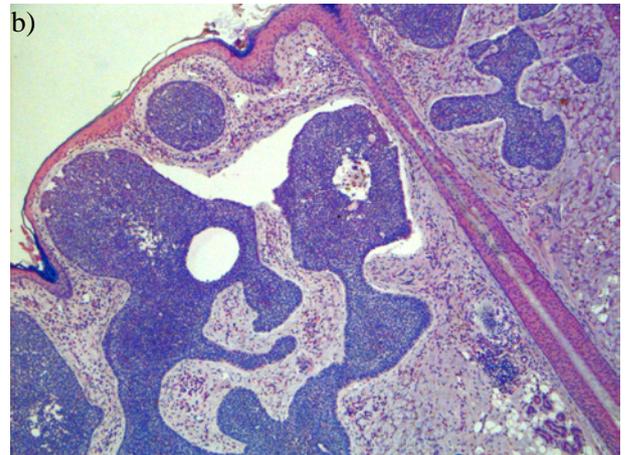
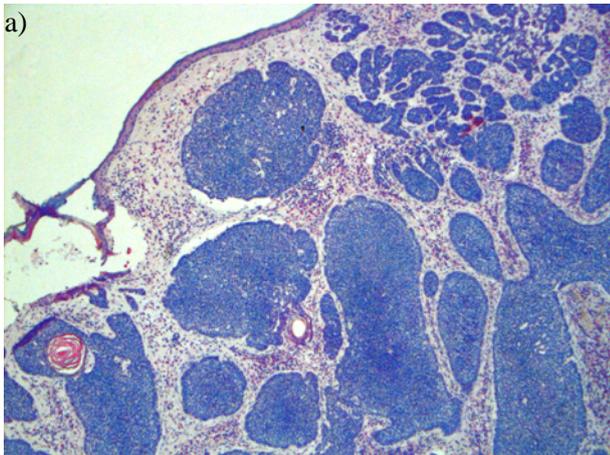


Abbildung 3.2. a)-d) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Kapillitium rechts temporal

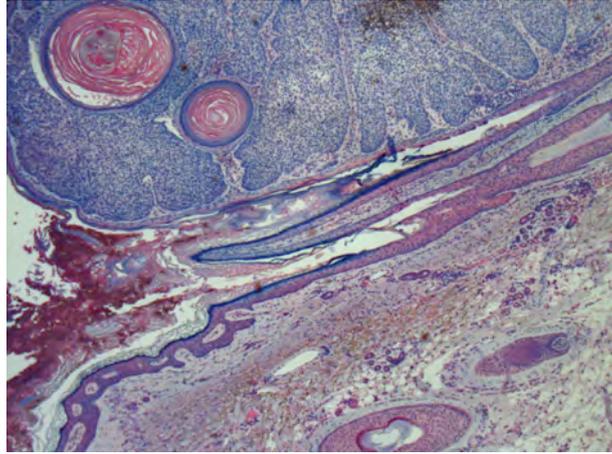


Abbildung 3.3. Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Kapillitium frontal

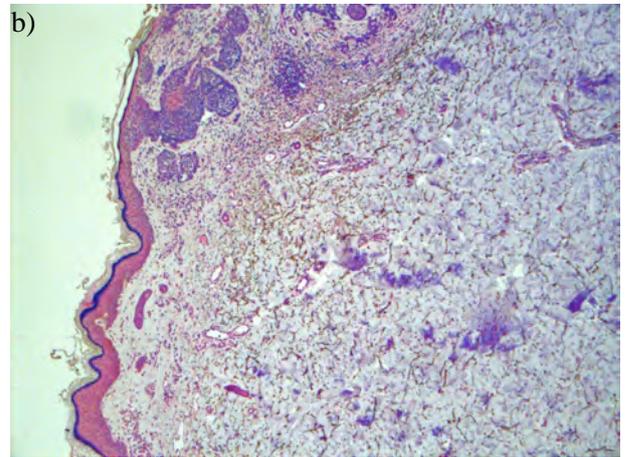
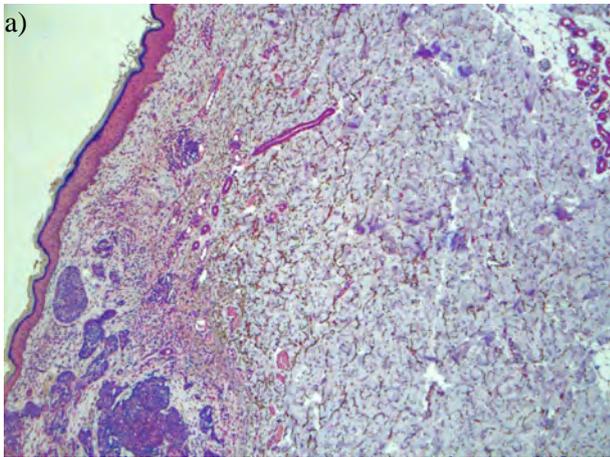


Abbildung 3.4. a)-b) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Brust rechts

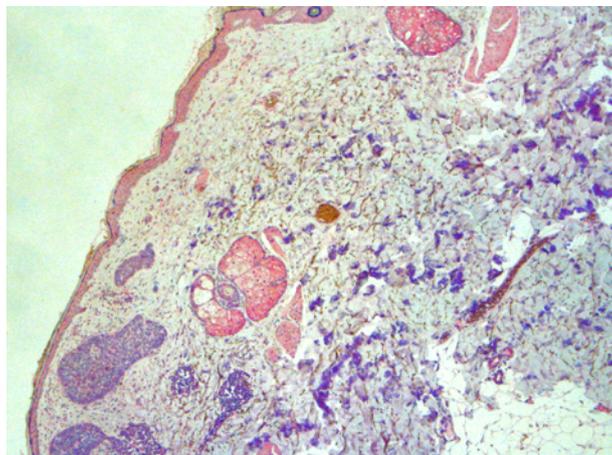


Abbildung 3.5. Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Oberarm links

3.2.2. Basalzellkarzinome bei Baszellnaevus-Syndrom

Tabelle 1.8. IKK α -Expression im Bereich der Basalzellkarzinome des Baszellnaevus-Syndroms im Vergleich zur angrenzenden normalen Epidermis

	verminderte oder fehlende IKK α -Expression	gleiche IKK α -Expression
Baszellnaevus-Syndrom	22 / 26 (85%)	4 / 26 (15%)

Von den insgesamt 26 im Rahmen des Gorlin-Goltz-Syndroms aufgetretenen Basalzellkarzinomen, die mit dem Antikörper IKK α -Antibody Rabbit angefärbt wurden, präsentierten sich 22 mit einer verminderten oder fehlenden IKK α -Expression im Bereich des Tumors (85%). 4 von 26 Basalzellkarzinomen zeigten die gleiche IKK α -Expression wie die angrenzende gesunde Epidermis oder Hautanhangsgebilde, wie Haarfollikel und Talgdrüsen (15%).

Tabelle 1.9. Verminderte oder fehlende IKK α -Expression (-) bzw. gleiche IKK α -Expression (+) im Bereich der Basalzellkarzinome des Baszellnaevus-Syndroms im Vergleich zur normalen angrenzenden Epidermis: Abhängigkeit von der Tumorlokalisierung

Lokalisation	Patienten Nr.	IKK α -Expression
Gesicht	1	+
	2	+
	3	-
	4	-
	5	-
	6	-
	7	-
	8	-

	9	-
	10	-
	11	-
	12	-
	13	-
	14	-
	15	-
Kapillitium	16	-
	17	-
	18	-
	19	+
	20	-
Rumpf	21	-
	22	-
	23	+
Extremitäten	24	-
	25	-
	26	-

Im Bereich des Gesichtes zeigten 13 von 15 Basalzellkarzinomen bei Basalzellnaevus-Syndrom eine im Vergleich zur angrenzenden normalen Epidermis verminderte oder sogar fehlende IKK α -Expression (87%), ebenso wie 4 von 5 Basalzellkarzinomen im Bereich des Kapillitiums (80%), 2 von 3 Basalzellkarzinomen des Rumpfes (67%) und 3 von 3 Basalzellkarzinomen im Bereich der oberen und unteren Extremitäten (100%).

Folgende Abbildungen zeigen Ausschnitte von Basalzellkarzinomen im Rahmen des Gorlin-Goltz-Syndroms, die, angefärbt mit dem IKK α -Antikörper, im Bereich des Tumors eine geringere Antikörperanreicherung aufweisen als die angrenzende gesunde Haut und sich somit im Abschnitt des Basalzellkarzinoms mit einer verminderten IKK α -Expression präsentieren.

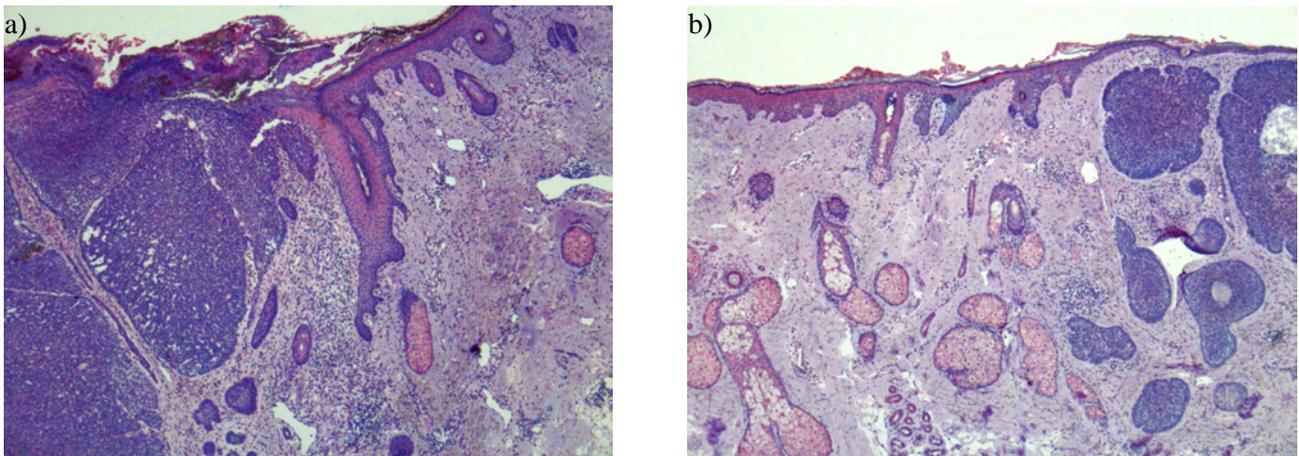


Abbildung 3.6. a)-b) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Stirn rechts a) medial und b) lateral

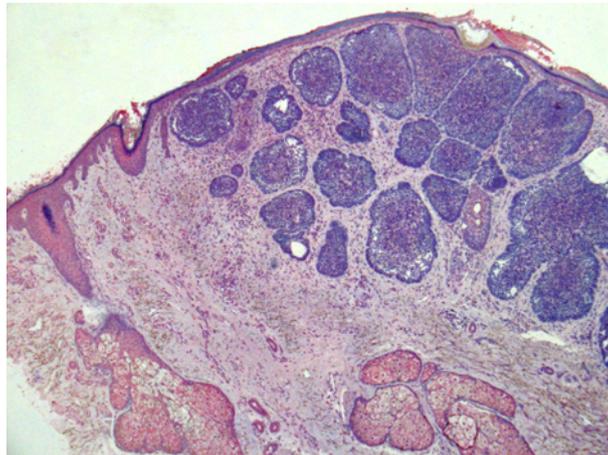


Abbildung 3.7. Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Stirn links

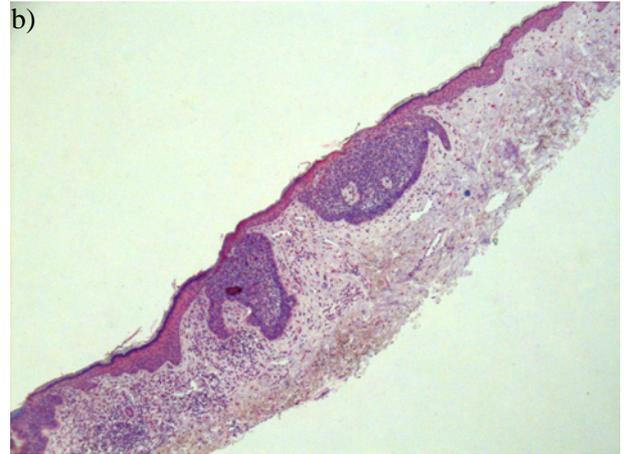
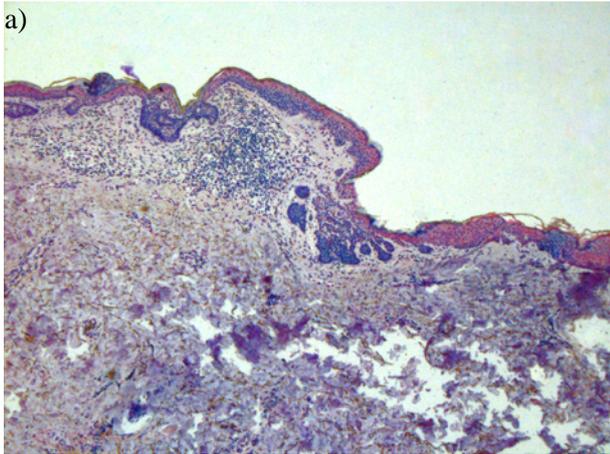


Abbildung 3.8. a)-b) Oberflächlich-multizentrische Basalzellkarzinome, Lokalisation: Wange rechts

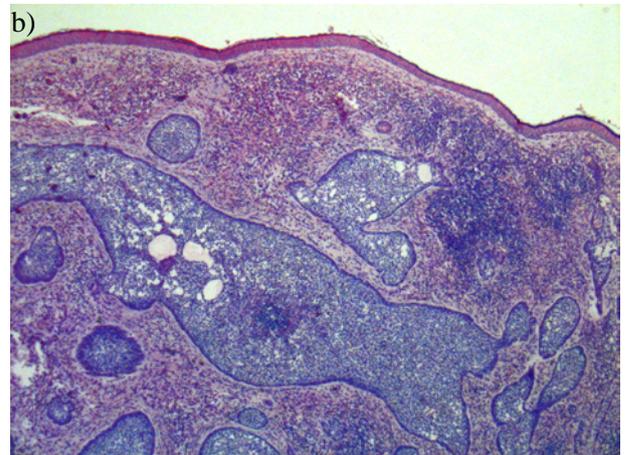
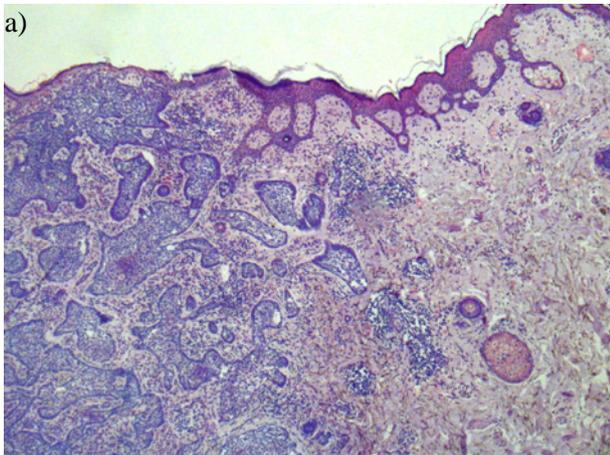


Abbildung 3.9. a)-b) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Wange links

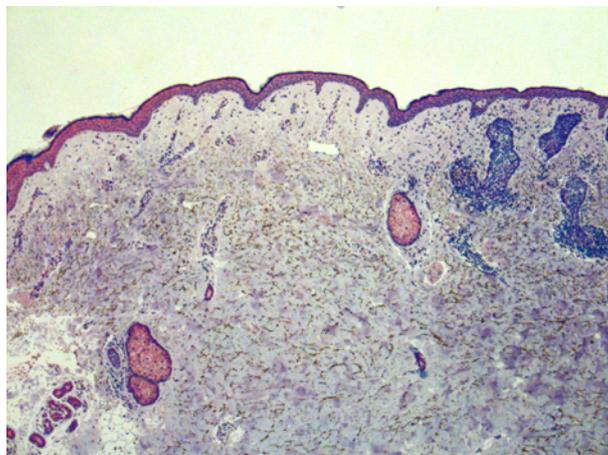


Abbildung 4.1. Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Wange rechts

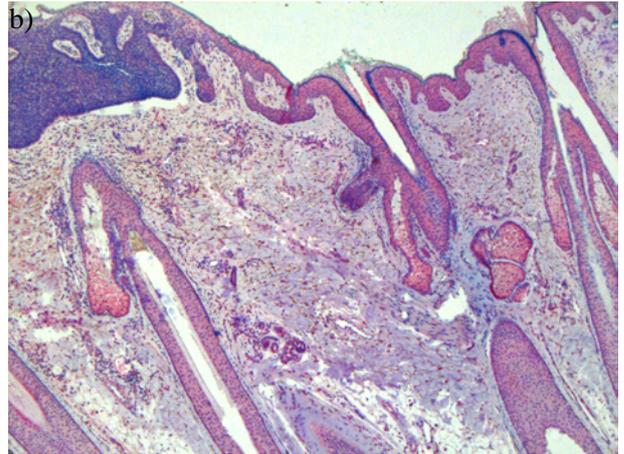
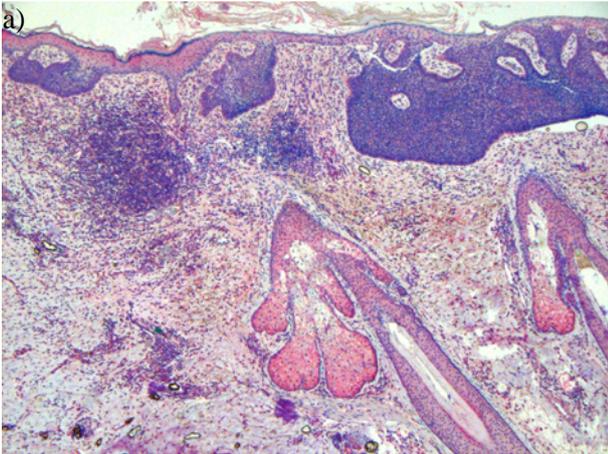


Abbildung 4.2. a)-b) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Kapillitium links parietal

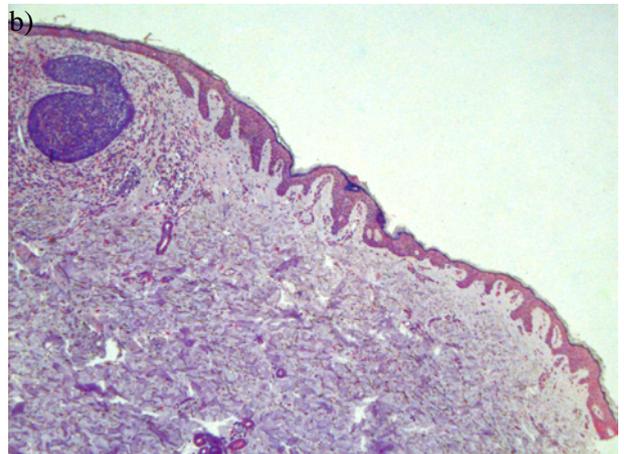
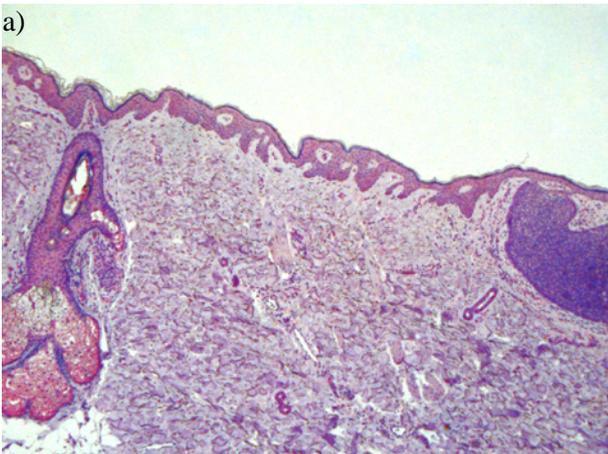


Abbildung 4.3. a)-b) Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Brust rechts sternal

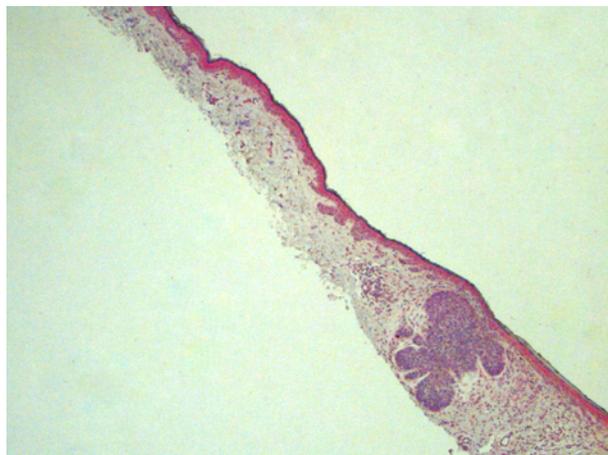


Abbildung 4.4. Solides Basalzellkarzinom, Lokalisation: Oberarm rechts

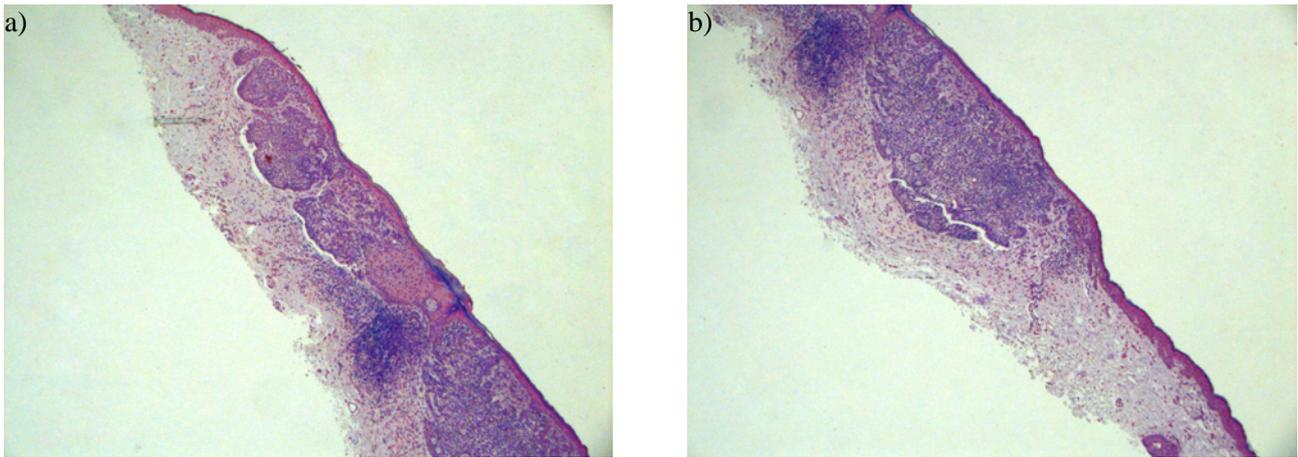


Abbildung 4.5. a)-b) Oberflächlich-multizentrisches Basalzellkarzinom, Lokalisation: Oberarm rechts

3.3. Korrelation der Expression von 14-3-3- σ und IKK α

3.3.1. Sporadische Basalzellkarzinome

Tabelle 2.1. Positive (+) bzw. negative (-) Korrelation zwischen 14-3-3- σ - und IKK α -Expression im Bereich der sporadischen Basalzellkarzinome

Patienten Nr.	Sporadische Basalzellkarzinome		
	14-3-3- σ -Expression	IKK α -Expression	Korrelation
1	-	-	+
2	-	-	+
3	-	-	+
4	-	-	+
5	-	-	+
6	-	-	+
7	-	-	+
8	+	+	+
9	-	-	+
10	+	-	-

11	-	-	+
12	-	+	-
13	+	+	+
14	-	-	+
15	-	-	+
16	-	-	+
17	-	-	+
18	-	-	+
19	-	-	+
20	-	-	+
21	-	+	-
22	+	-	-
23	-	-	+
24	-	-	+
25	-	-	+
26	-	+	-
27	-	-	+
28	-	-	+
29	-	+	-
30	-	-	+
31	-	-	+
32	-	-	+
33	-	-	+

Von den insgesamt 33 sporadischen Basalzellkarzinomen zeigten 27 Basalzellkarzinome eine im Vergleich zur angrenzenden gesunden Epidermis übereinstimmende 14-3-3- σ - und IKK α -Expression. Eine positive Korrelation war somit bei 82% der sporadischen Basalzellkarzinome zu verzeichnen. Eine negative Korrelation zwischen der 14-3-3- σ - und der IKK α -Expression wiesen 6 von 33 sporadischen Basalzellkarzinomen auf (18%).

Tabelle 2.2. Korrelation zwischen 14-3-3- σ - und IKK α -Expression bei sporadischen Basalzellkarzinomen

	positive Korrelation zwischen 14-3-3- σ - und IKK α -Expression	negative Korrelation zwischen 14-3-3- σ - und IKK α -Expression
Sporadische BCC	27 / 33 (82%)	6 / 33 (18%)

Folgenden Abbildungen zeigen analoge Ausschnitte von sporadischen Basalzellkarzinomen, die jeweils mit dem 14-3-3- σ - beziehungsweise dem IKK α -Antikörper angefärbt wurden. Verglichen mit der normalen angrenzenden Epidermis lassen sie im Bereich des Tumors eine verminderte Expression des jeweiligen Antigens erkennen und zeigen somit Beispiele für eine positive Korrelation zwischen der 14-3-3- σ - und der IKK α -Expression bei sporadischen Basalzellkarzinomen auf.

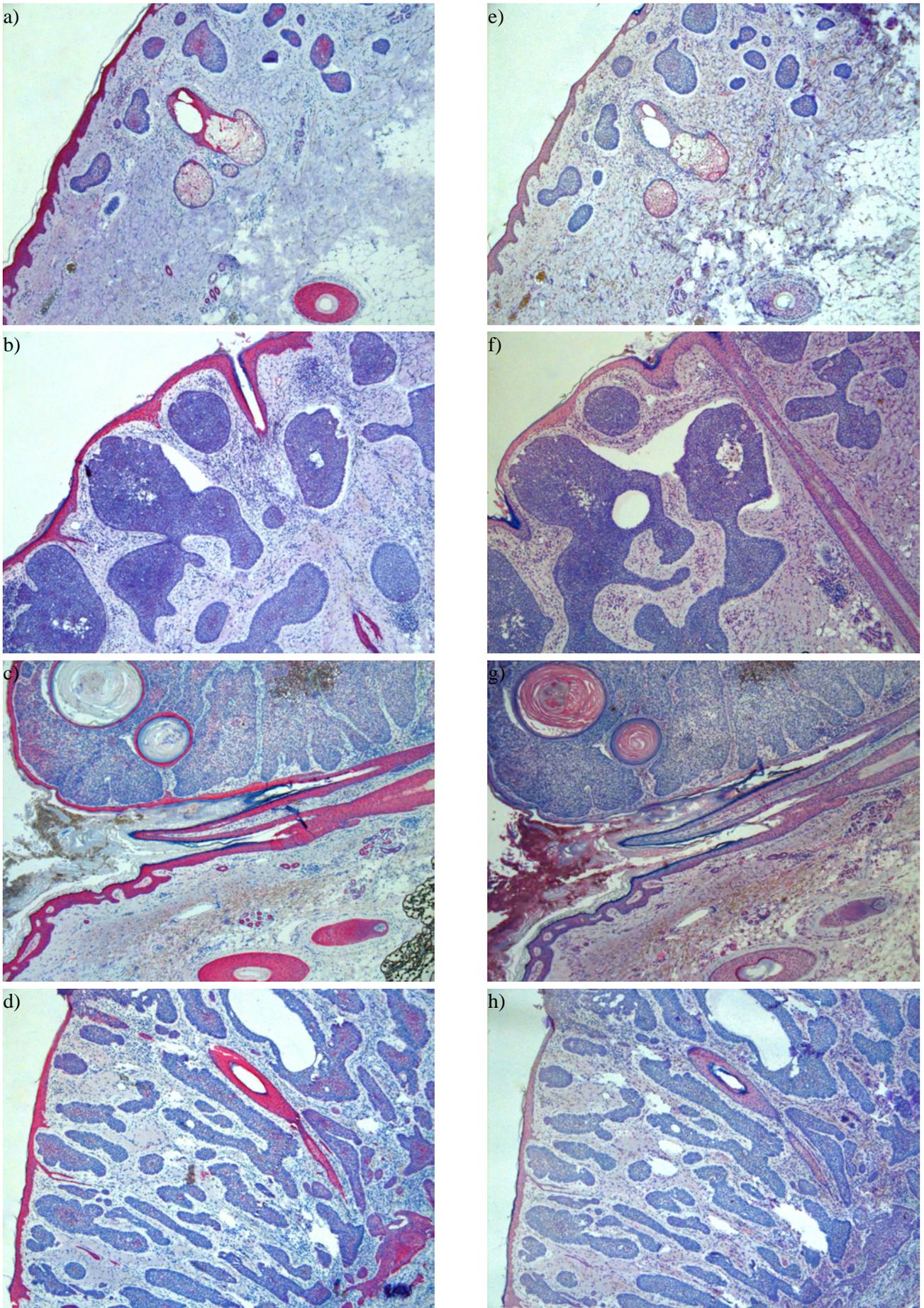


Abbildung 4.6. a)-h) Sporadische Basalzellkarzinome, Expression von a)-d) 14-3-3- σ und e)-h) IKK α

3.3.2. Basalzellkarzinome bei Basalzellnaevus-Syndrom

Tabelle 2.3. Positive (+) bzw. negative (-) Korrelation zwischen 14-3-3- σ - und IKK α -Expression im Bereich der Basalzellkarzinome bei Basalzellnaevus-Syndrom

Patienten Nr.	Basalzellnaevus-Syndrom		
	14-3-3- σ -Expression	IKK α -Expression	Korrelation
1	+	+	+
2	-	+	-
3	-	-	+
4	-	-	+
5	-	-	+
6	-	-	+
7	-	-	+
8	-	-	+
9	-	-	+
10	-	-	+
11	-	-	+
12	-	-	+
13	-	-	+
14	-	-	+
15	-	-	+
16	-	-	+
17	-	-	+
18	-	-	+
19	+	+	+
20	-	-	+
21	-	-	+
22	-	-	+
23	-	+	-
24	-	-	+

25	-	-	+
26	-	-	+

Von den insgesamt 26 im Rahmen des Gorlin-Goltz-Syndroms auftretenden Basalzellkarzinomen wiesen 24 eine im Vergleich zur angrenzenden gesunden Epidermis übereinstimmende 14-3-3- σ - und IKK α -Expression auf. Eine positive Korrelation zwischen der Expression von 14-3-3- σ und IKK α zeigte sich somit in 92% der Fälle. Eine negative Korrelation konnte bei 2 von 26 Basalzellkarzinomen bei Basalzellnaevus-Syndrom verzeichnet werden (8%).

Tabelle 2.4. Korrelation zwischen 14-3-3- σ - und IKK α -Expression bei Basalzellkarzinomen bei Basalzellnaevus-Syndrom

	positive Korrelation zwischen 14-3-3- σ - und IKK α -Expression	negative Korrelation zwischen 14-3-3- σ - und IKK α -Expression
Basalzellnaevus-Syndrom	24 / 26 (92%)	2 / 26 (8%)

Folgende Abbildungen zeigen entsprechende, jeweils mit dem 14-3-3- σ - beziehungsweise dem IKK α -Antikörper angefärbte Ausschnitte von Basalzellkarzinomen bei Basalzellnaevus-Syndrom, die, verglichen mit umliegenden Strukturen wie Haarfollikeln oder Talgdrüsen und der normalen angrenzenden Epidermis, eine verminderte Expression des jeweiligen Antigens im Bereich des Tumors aufweisen. Sie zeigen somit Beispiele für positiv korrelierende 14-3-3- σ - und IKK α -Expression bei Basalzellkarzinomen im Rahmen des Gorlin-Goltz-Syndroms.

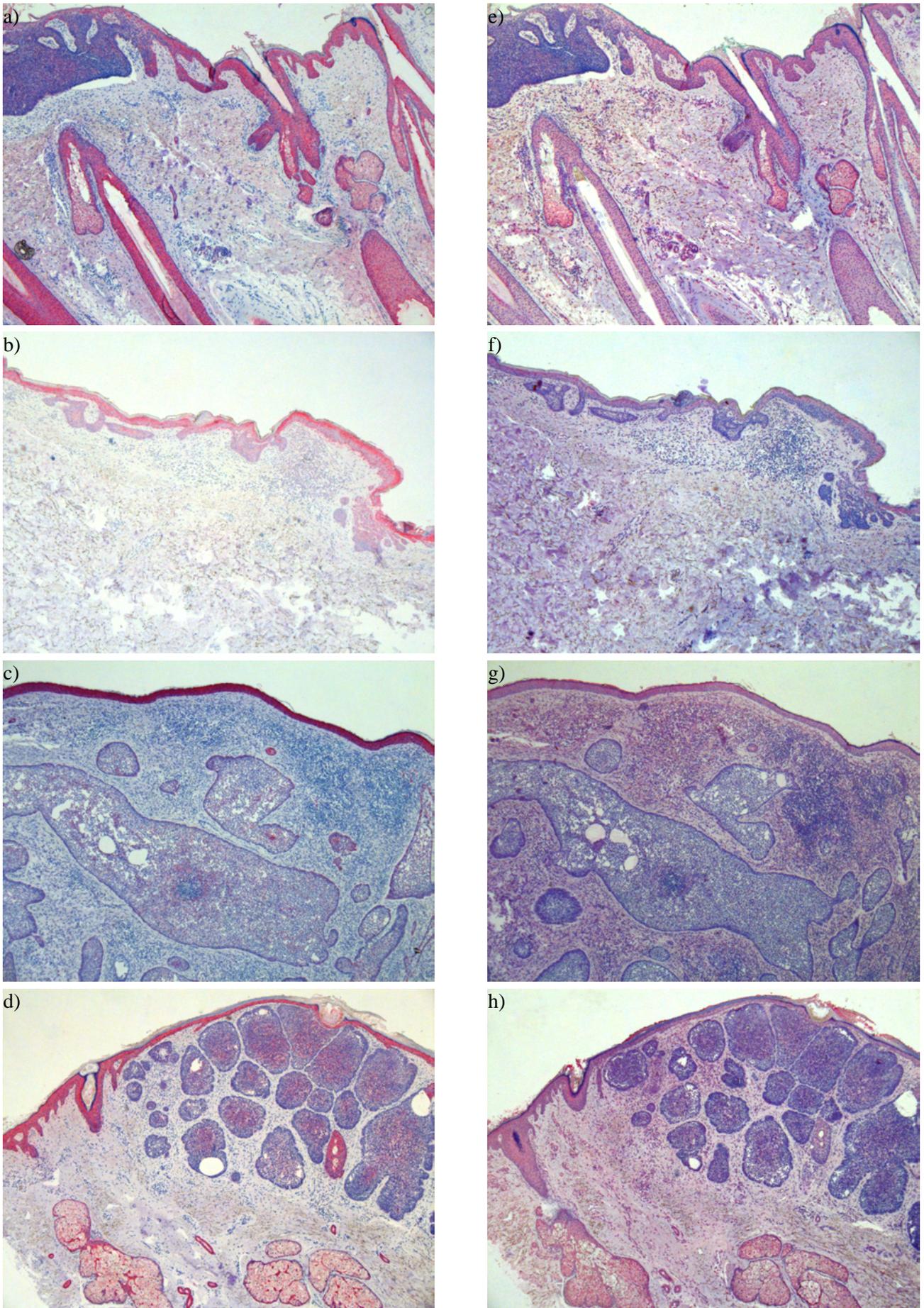


Abbildung 4.7. a)-h) Basalzellkarzinome bei BCNS, Expression von a)-d) 14-3-3- σ und e)-h) IKK α

4. DISKUSSION

4.1. Minderung der 14-3-3- σ - und IKK α -Expression bei sporadischen und hereditären Basalzellkarzinomen

4.1.1. 14-3-3- σ -Expression und der Sonic-Hedgehog-Signalweg

Untersuchungen zeigen, dass das Protein 14-3-3- σ , welches neben der Regulierung der Signaltransduktion und der zellulären Differenzierung vor allem in der Kontrolle des Zellzyklus [45, 149, 196] und in der Prävention der Tumorentstehung [210] eine entscheidende Rolle spielt, an der Entstehung zahlreicher Tumore beteiligt ist [120, 205]. Beispielsweise im Mamma- oder Prostatakarzinom konnte eine deutlich verminderte 14-3-3- σ -Expression nachgewiesen werden [51, 99, 120]. Auch in sporadischen Basalzellkarzinomen ist eine teilweise bis vollständige Minderung der 14-3-3- σ -Expression zu beobachten [121]. Diese Beobachtung kann anhand der Daten und Ergebnisse unserer Arbeit ebenfalls bestätigt werden. In 88% der von uns untersuchten Fälle ist eine im Vergleich zur angrenzenden normalen Epidermis verminderte bis fehlende 14-3-3- σ -Expression zu beobachten.

Hereditäre Basalzellkarzinome im Rahmen eines Gorlin-Goltz-Syndroms, welche durch inaktivierende Keimbahnmutationen im Ptch-Tumorsuppressorgen hervorgerufen werden [1, 115, 116], wurden bislang noch nicht in Hinsicht auf die 14-3-3- σ -Expression untersucht. Unsere Ergebnisse zeigen, dass Basalzellkarzinome, die im Rahmen eines Basalzellnaevus-Syndroms auftreten, in 92% der Fälle mit einer im Vergleich zur angrenzenden gesunden Epidermis verminderten bis fehlenden 14-3-3- σ -Expression einhergehen. Andererseits konnten vorangegangene Studien zeigen, dass die bei den hereditären Basalzellkarzinomen des Basalzellnaevus-Syndrom beschriebenen, inaktivierenden Mutationen im Ptch-Gen mit Verlust der Heterozygotie auch bei sporadischen Basalzellkarzinomen vorzufinden sind [28, 61, 130, 153]. Demnach spielen vermutlich sowohl bei den sporadischen als auch bei den hereditären Basalzellkarzinomen des Gorlin-Goltz-Syndroms die Hypermethylierung der CpG-Inseln in der 5'-Region, die zum Silencing von 14-3-3- σ führt, und die heterozygoten Keimbahnmutationen im Ptch-Gen mit Dysregulation des Sonic-Hedgehog-Signalweges als Ursache für die Tumorentstehung eine wesentliche Rolle. Es ist somit von einem gemeinsamen

Mechanismus der Tumorentstehung bei sporadischen und hereditären Basalzellkarzinomen des Gorlin-Goltz-Syndroms auszugehen.

In Hinsicht auf die Tumorgenese der sporadischen und hereditären Basalzellkarzinome ist somit ein Zusammenhang zwischen dem 14-3-3- σ -Signalweg und der Sonic-Hedgehog-Signalkaskade ebenfalls sehr wahrscheinlich. Eine Fehlregulation des Sonic-Hedgehog-Signalweges, durch Inaktivierung des Ptch-Gens, durch Mutationen in anderen Genen der Signalkaskade oder durch die Überexpression von Shh selbst wurde nicht nur in fast allen Basalzellkarzinomen, sondern auch in Tumoren der Brustdrüse [41, 94, 173, 197], in Leberzellkarzinomen [35, 146, 155], in Tumoren des Gastrointestinaltraktes [133, 164, 186, 187], des Ovars [19, 40, 107], der Prostata [8, 31, 34] der Lunge [75, 126, 200] und in Pankreaskarzinomen [47, 48, 89, 188] gefunden. Korrelierend dazu konnte in diversen Studien gezeigt werden, dass auch der Signalweg des Zellzyklus-Checkpoint-Gens 14-3-3- σ in zahlreichen epithelialen Tumoren gestört ist. In Mammakarzinomen [51, 124, 131, 171, 192, 217], ebenso wie in Leberzellkarzinomen [70, 77, 181], Magen- [181] und Lungenkarzinomen [23, 120], Pankreas- [95, 180], Ovarial- [4, 84] und Prostatakarzinomen [120, 158] konnte mehrfach ein durch Hypermethylierung vermitteltes Silencing und somit eine verminderte Expression von 14-3-3- σ nachgewiesen werden. Genannte Tumore weisen demnach sowohl eine Mutation im Sonic-Hedgehog-Signalweg, als auch eine verminderte 14-3-3- σ -Expression auf, ebenso wie die von uns immunhistochemisch untersuchten Basalzellkarzinome des Gorlin-Goltz-Syndroms. In Zusammenschau mit den genannten Daten würde sich ein Zusammenhang zwischen beiden Signalwegen somit als wahrscheinlich erweisen, eine direkte Verbindung konnte bislang jedoch nicht gezeigt werden. Es stellt sich die Frage ob die verminderte Expression von 14-3-3- σ eine mögliche Ursache für eine Fehlregulation der Sonic-Hedgehog-Signalkaskade ist oder ob das Silencing von 14-3-3- σ womöglich die Folge von Mutationen im Sonic-Hedgehog-Signalweg ist.

Die Proteine der 14-3-3-Familie sind an der Steuerung zahlreicher Signaltransduktionswege beteiligt, unter anderem an der Ras/MAPK-Signalkaskade [49, 137, 160, 191, 199], welche an der Regulation des Zellwachstums, der Zellproliferation und der Differenzierung beteiligt ist und in 30% aller Karzinome hyperaktiviert ist [58, 198]. Auch für den Sonic-Hedgehog-Signalweg konnten Verbindungen zur Ras/MAPK-Signalkaskade nachgewiesen werden. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass Hedgehog/Ras-Interaktionen das frühe Stadium von Pankreaskarzinomen regulieren [152], dass das onkogene KRAS als Bestandteil der Ras/MAPK-Signalkaskade direkt in die Aktivierung des Sonic-Hedgehog-

Signalweges in duktalem Adenokarzinomen des Pankreas involviert ist [79], und dass der Synergismus zwischen der Ras- und der Sonic-Hedgehog-Signalkaskade neben der Bedeutung in der Tumorentstehung des Pankreas auch an der Karzinogenese von Lunge und Colon beteiligt zu sein scheint [100]. Auch in Melanomen konnte eine Interaktion zwischen Gli1, einem mit Tumorgenese assoziierten Bestandteil des Sonic-Hedgehog-Signalweges, und der Ras-Signalkaskade nachgewiesen werden. In der Entstehung von Ras-induzierten Tumoren spielt demnach der Sonic-Hedgehog-Signalweg ebenfalls eine essentielle Rolle [175].

Nuklearer Faktor- κ B (NF- κ B), ein Transkriptionsfaktor, der bei Entzündungsprozessen und in der Tumorentstehung eine Schlüsselstellung einnimmt [85], und in der Embryonalentwicklung, bei der Koordinierung von Entzündungs- und Immunantworten und bei der Zellteilung eine entscheidende Rolle spielt, [134] konnte ebenfalls mit beiden Signalwegen in Verbindung gebracht werden. In mehreren Studien wurde gezeigt, dass NF- κ B die Expression von Sonic Hedgehog reguliert. Es konnte eine vermeintliche NF- κ B-Bindungsstelle in der humanen Shh-Promoterregion identifiziert werden, die speziell an NF- κ B-Komplexe bindet. Durch eine NF- κ B-vermittelte Shh-Expression steuert der Sonic-Hedgehog-Signalweg somit zur Apoptoseresistenz und Proliferation und dadurch zum Tumorwachstum bei [87]. Als Beispiel hierfür zeigten zwei Arbeiten, dass in Zellen von Pankreaskarzinomen der Transkriptionsfaktor NF- κ B zur Überexpression von Shh beisteuert und der dadurch aktivierte Sonic-Hedgehog-Signalweg die Proliferation in Krebszellen des Pankreas fördert [141, 209]. Auch zwischen den Proteinen der 14-3-3-Familie und dem Transkriptionsfaktor NF- κ B konnte ein Zusammenhang hergestellt werden. Es zeigte sich, dass MEKK3, eine Proteinkinase, die für die Aktivierung von NF- κ B relevant ist, an 14-3-3-Proteine bindet und dadurch die Aktivierung des nukleären Faktors- κ B negativ reguliert [132].

Zudem konnte in einer Arbeit von *Asaoka et al.* bereits eine direkte Verbindung zwischen dem Sonic-Hedgehog-Signalweg und den Proteinen der 14-3-3-Familie nachgewiesen werden. Es zeigte sich eine Interaktion zwischen 14-3-3- ϵ , einer Isoform der 14-3-3-Familie, die in der neuronalen Entwicklung und in der Tumorgenese eine wichtige Rolle spielt, und den Gli-Proteinen, Transkriptionsfaktoren und Bestandteile der Sonic-Hedgehog-Signalkaskade, denen ebenfalls eine signifikante Bedeutung in der Tumorentstehung eingeräumt wird. Man fand heraus, dass 14-3-3- ϵ , das neu identifizierte Gli-Interaktions-Protein, den Sonic-Hedgehog-Signalweg durch Gli2 und Gli3 negativ reguliert und demnach unterdrückt [9].

Fakt ist, dass beide Signalwege 14-3-3- σ und Sonic Hedgehog in der zellulären Differenzierung, in der Zellproliferation und in der Tumorentstehung eine wesentliche Rolle spielen. Beide Signalkaskaden sind an der Karzinogenese derselben Organe beteiligt, interagieren und kollaborieren mit den selben Signalkaskaden und konnten bereits direkt miteinander in Verbindung gebracht werden, was demnach eine gemeinsame Strecke beider Signalwege in der Tumorentstehung sehr wahrscheinlich macht.

4.1.2. IKK α -Expression und der Sonic-Hedgehog-Signalweg

IKK α , eine von zwei katalytischen Untereinheiten des I κ B-Kinase-Komplexes, spielt neben der Regulierung des Nukleären Faktors- κ B (NF- κ B) und des Signaltransduktionsweges von Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) [33, 64, 86, 101, 102] vor allem in der epidermalen Differenzierung von Keratinozyten, in der Skelett-Morphogenese [73, 74, 108, 114, 183], in der Aufrechterhaltung der epidermalen Homöostase und somit in der Prävention von Hautkrebs eine entscheidende Rolle [112, 113]. Neben NF- κ B- sind allerdings auch β -Catenin-Proteine, die als onkogene Transkriptionsfaktoren für die Entstehung einiger Krebsarten verantwortlich sind, wichtige Regulatoren der Genexpression und der Zellproliferation. Studien konnten zeigen, dass IKK α die transkriptionelle Aktivität von β -Catenin erhöht [98]. Eine IKK α -vermittelte Phosphorylierung von β -Catenin führt zur Hemmung der β -Catenin Ubiquitinierung und Degradierung, damit zur Stimulierung der Expression des Cyclin-D1-Gens, welches wichtige Regulatoren der Zellproliferation kodiert, die schließlich die Tumorphiliferation fördern [5, 27]. Eine IKK α -vermittelte Zellproliferation konnte bei Mammakarzinomen [111, 151] und Prostatakarzinomen [125] nachgewiesen werden. In humanen Plattenepithelkarzinomen konnten IKK α -Mutationen und eine verminderte IKK α -Expression aufgezeigt werden [113, 150].

Unsere Arbeit untersuchte unter anderem die IKK α -Expression in sporadischen und hereditären Basalzellkarzinomen des Basalzellnaevus-Syndroms, welche bislang noch nicht erforscht worden ist. Es zeigte sich entsprechend den Ergebnissen bei humanen Plattenepithelkarzinomen sowohl in den sporadischen (82%) als auch in den hereditären Basalzellkarzinomen (85%) eine deutlich verminderte Expression von IKK α . Somit stellt sich auch hier die Frage nach Parallelen zum Sonic-Hedgehog-Signalweg, welcher wie

bereits erwähnt, ebenfalls bei der Entstehung von Basalzellkarzinomen, Mamma- und Prostatakarzinomen eine wichtige Rolle spielt.

Ebenso wie bei Patienten mit Gorlin-Goltz-Syndrom und einer somit dysregulierten Sonic-Hedgehog-Signalkaskade durch Keimbahnmutationen des Ptch-Tumorsuppressorgens, finden sich auch bei Mäusen mit mangelndem IKK α das Skelett betreffende morphologische Defekte [73]. Zu den klinischen Manifestationen im muskuloskelettalen Bereich zählen bei Patienten mit Basalzellnaevus-Syndrom unter anderem zweigeteilte, eingeschmolzene, gespreizte oder fehlende Rippen, eine Spina bifida und Skoliosis, Wirbelkörperverwachsungen, eine Sprengel Deformität, eine prominente Stirn mit einem überdurchschnittlichen frontookzipitalen Kopfumfang, Polydaktylien und Syndaktylien [106, 115, 116, 148]. Der Knock-out von IKK α in Mäusen führt zu perinataler Letalität und ausgeprägten Entwicklungsdefekten. Das Skelett betreffende Abnormitäten waren getrennte Sternebrae sowie unvollständig ausgebildete, in die Haut eingewickelte Extremitäten und Schwänze, die nicht regelrecht aus dem Körperstamm heraus ragten [108, 183]. Zwischen der klinischen Manifestation von skelettalen Anomalien bei Patienten mit gestörtem Sonic-Hedgehog-Signalweg und Mäusen mit mangelndem IKK α fehlen demnach direkte Analogien, in Bezug auf das stomatologische System konnten jedoch gleichartige Defekte nachgewiesen werden. Sowohl Gorlin-Goltz-Patienten als auch die in den Studien untersuchten IKK $\alpha^{-/-}$ Mäuse wiesen eine Lippen-Gaumenspalte sowie deformierte Zähne auf [108, 116, 163, 172]. Es konnte gezeigt werden, dass IKK α an der ontogenetischen Entwicklung der Zähne beteiligt ist. Durch die Regulierung von NF- κ B ist IKK α in die Bildung der Zahnhöcker involviert, eine NF- κ B-unabhängige Rolle spielt IKK α in der epithelialen Entwicklung der Schneidezähne. In Schneidezahn-Epithelien von IKK α -Mutanten konnten Veränderungen der Shh-Expression nachgewiesen werden, so dass anzunehmen ist, dass diese Funktion in der Zahnentwicklung unter anderem durch den Sonic-Hedgehog-Signalweg vermittelt wird [144]. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass eine Störung des IKK-vermittelten NF- κ B-Signalweges in humanen Hepatozyten die Proliferation der Zellen hemmt, jedoch die Produktion von Sonic-Hedgehog-Liganden fördert [83]. IKK α konnte in der Vergangenheit somit bereits mit der Sonic-Hedgehog-Signalkaskade in Verbindung gebracht werden.

Zudem interagieren, wie oben bereits erwähnt, sowohl der Sonic-Hedgehog-Signalweg als auch IKK α mit dem Transkriptionsfaktor NF- κ B. Der Nukleäre-Faktor- κ B bindet an Sonic Hedgehog, reguliert damit seine Expression und bewirkt in Krebszellen eine zunehmende Apoptoseresistenz, Proliferation, und fördert somit das Tumorwachstum [87, 141, 209].

IKK α , welches neben der zweiten katalytischen Untereinheit IKK β eine Schlüsselrolle in der NF- κ B-Regulierung einnimmt, ist der NF- κ B-vermittelten Sonic-Hedgehog-Expression somit vorgeschaltet und demnach ebenfalls an der Steuerung der Shh-Expression beteiligt. IKK α konnte folglich mit der Entstehung von Tumoren, bei denen auch die Sonic-Hedgehog-Signalkaskade von ausschlaggebender Bedeutung ist, in Verbindung gebracht werden. Es konnten Parallelen zu den morphologischen Defekten bei Patienten mit Basalzellnaevus-Syndrom gezogen werden und in der Vergangenheit konnte anhand der ontogenetischen Zahnentwicklung und der Untersuchung von Leberzellschäden ein Zusammenhang zwischen IKK α und Shh hergestellt werden. Des Weiteren bestätigt die Tatsache, dass IKK α NF- κ B-vermittelt die Sonic-Hedgehog-Expression reguliert, die durch die Ergebnisse unserer Arbeit gestützte Annahme, dass IKK α und die Sonic-Hedgehog-Signalkaskade miteinander interagieren.

4.1.3. Gleichläufigkeit der 14-3-3- σ - und IKK α -Expression

Bisherige Studien haben gezeigt, dass IKK α indirekt den G2/M-Zellzyklus-Arrest reguliert, indem es 14-3-3- σ vor Hypermethylierung und somit vor Gen-Silencing schützt. Der Verlust von IKK α führte zu einer verminderten 14-3-3- σ -Expression in Keratinozyten, und umgekehrt kam es nach Reaktivierung von IKK α zu einer vermehrten Ausschüttung von 14-3-3- σ [216]. Diese Daten finden ihre Entsprechung in den Ergebnissen unserer Arbeit. Im Falle sporadischer Basalzellkarzinome zeigte sich in 82% aller untersuchten Fälle eine gleichläufige Expression von 14-3-3- σ und IKK α . Bei den hereditären Basalzellkarzinomen des Gorlin-Goltz-Syndroms lag die Korrelation der 14-3-3- σ - und IKK α -Expression bei 92%. Demnach kann angenommen werden, dass sowohl in sporadischen als auch in hereditären Basalzellkarzinomen ein Mangel an IKK α und somit der fehlende Schutz vor Hypermethylierung und Inaktivierung von 14-3-3- σ die Ursache für eine verminderte 14-3-3- σ -Expression und die damit verbundene Tumorentstehung ist.

Eine verminderte IKK α -Expression im Vergleich zur angrenzenden gesunden Epidermis konnte in vorangegangenen Studien in der Mehrzahl aller humaner Plattenepithelkarzinome nachgewiesen werden [112], wohingegen die 14-3-3- σ -Expression im Bereich des Plattenepithelkarzinoms verglichen mit der normalen Epidermis keine Minderung aufwies [121]. Anzunehmen ist folglich, dass 14-3-3- σ , im Gegensatz zu IKK α , nicht an der

Tumorentstehung von spinözellulären Karzinomen beteiligt ist und hier ein anderer pathogenetischer Mechanismus vorliegt als bei der Bildung von Basalzellkarzinomen. In Mamma- und Prostatakarzinomen, die mit einer verminderten 14-3-3- σ -Expression einhergehen [51, 124, 158], konnte andererseits bislang zwar über eine IKK α -vermittelte Tumorproliferation, jedoch nicht über eine verminderte Expression der Proteinkinase IKK α berichtet werden. Die Tatsache, dass IKK α in Keratinozyten 14-3-3- σ vor Hypermethylierung schützt, und vermehrte Hypermethylierung von 14-3-3- σ sowohl in Mamma- als auch in Prostatakarzinomen nachgewiesen werden konnte, wirft die Frage auf, ob IKK α seine Schutzfunktion auch in nicht-epidermalen Karzinomen aufrecht hält. Diesbezüglich und auch in Hinsicht auf eine therapeutische Konsequenz wäre eine Untersuchung der IKK α -Expression in genannten, und weiteren, mit einer verminderten 14-3-3- σ -Expression einhergehenden Karzinomen von großem Interesse.

Fakt ist, dass 14-3-3- σ und IKK α miteinander interagieren und durch einen gemeinsamen Signalweg den G2/M-Zellzyklus regulieren. Im Falle einer Mutation oder Minderexpression der vorgeschalteten Protein-Kinase IKK α kommt es zum Gen-Silencing von 14-3-3- σ und nachfolgend zur Karzinogenese.

4.2. Die Sonic-Hedgehog-/ Patched-Signalkaskade und die 14-3-3- σ -/ IKK α -assoziierte Tumorgenese

Letztlich konnte gezeigt werden, dass sowohl 14-3-3- σ als auch IKK α in sporadischen und hereditären Basalzellkarzinomen vermindert ist, dass beide Proteine in der Tumorgenese von Basalzellkarzinomen Teil eines gemeinsamen Signalweges sind, der für die genomische Stabilität in Kertinozyten, für die Aufrechterhaltung der epidermalen Homöostase und für die Prävention von Hautkrebs eine entscheidende Rolle spielt. Es ist anzunehmen, dass sowohl 14-3-3- σ als auch IKK α mit der Sonic-Hedgehog-/ Patched-Signalkaskade interagieren, so dass der gemeinsame 14-3-3- σ -/
IKK α -Signalweg und die Sonic-Hedgehog-/ Patched-Signalkaskade, die beide an der Entstehung von sporadischen und hereditären Basalzellkarzinomen im Rahmen des Gorlin-Goltz-Syndroms beteiligt sind, womöglich eine gemeinsame Strecke in der Karzinogenese der Basalzellkarzinome ausmachen. Der unmittelbare empirische Nachweis einer solchen Verbindung ist bislang jedoch nicht erbracht worden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Basalzellkarzinome sind die häufigsten infiltrierenden und destruierend wachsenden Tumore der Haut, bei denen UV-Licht den wesentlichen Faktor für die Entstehung ausmacht. Basalzellkarzinome können auch hereditär im Rahmen eines genetischen Syndroms, wie zum Beispiel eines Basalzellnaevus- (Gorlin-Goltz-) Syndroms auftreten. Dem Basalzellnaevus-Syndrom liegt eine heterozygote Keimbahnmutation des P_{tc}-Tumorsuppressorgens und somit eine Dysregulation des Sonic-Hedgehog-Signalweges zugrunde, die neben einer Vielfalt an kongenitalen, muskuloskelettalen, stomatologischen und intrakraniellen Symptomen auch multiple, überwiegend an den lichtexponierten Arealen auftretende Basalzellkarzinome hervorruft. Eine Dysregulation des Sonic-Hedgehog-/ Patched-Signalweges konnte neben den Basalzellkarzinomen eines Gorlin-Goltz-Syndroms auch mit sporadischen Basalzellkarzinomen in Verbindung gebracht werden. An der Entstehung von sporadischen Basalzellkarzinomen beteiligt ist auch 14-3-3- σ , ein G2/M-Zellzyklus-Checkpoint-Gen, das speziell in Keratinozyten und Epithelzellen vorkommt und in der Signaltransduktion, der zellulären Differenzierung und in der Prävention der Tumorentstehung von essentieller Bedeutung ist. IKK α , eine katalytische Untereinheit des I κ B-Kinase-Komplexes, hat Einfluss auf die Regulierung des Nuklearen Faktors- κ B, ist jedoch primär an der epidermalen Differenzierung von Keratinozyten beteiligt. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass IKK α indirekt den G2/M-Zellzyklus-Arrest reguliert, indem es 14-3-3- σ vor Hypermethylierung und somit vor Gen-Silencing schützt.

Ziel der Arbeit war es sporadisch auftretende Basalzellkarzinome mit Basalzellkarzinomen, die im Rahmen des Gorlin-Goltz-Syndroms auftreten, immunhistochemisch zu charakterisieren und zu vergleichen. Die Fragestellung bestand darin zu untersuchen, ob 14-3-3- σ auch in Basalzellkarzinomen des Basalzellnaevus-Syndroms eine verminderte Expression aufweist, ob IKK α seiner Rolle als Schutzmechanismus vor 14-3-3- σ -Gen-Silencing in den untersuchten Basalzellkarzinomen gerecht wird, und letztlich ob ein Zusammenhang zwischen der Sonic-Hedgehog- /Patched-Signalkaskade und dem 14-3-3- σ -/ IKK α -Signaltransduktionsweg zu eruieren ist.

Es erfolgte die immunhistochemische Färbung der ausgewählten Gewebeschnitte sporadischer und hereditärer Basalzellkarzinome mittels der sogenannten Labelled-Streptavidin-Biotin- (LSAB-) Methode mit den jeweiligen Antikörpern Anti-Human 14-3-3- σ Rabbit IgG Affinity Purified und IKK α -Antibody Rabbit. Anschließend wurden anhand eines internen Standards unter Berücksichtigung der Antikörperanreicherung und somit der

Antigenexpression im Bereich des Basalzellkarzinoms die Gewebeschnitte unter dem Mikroskop ausgewertet und letztlich die korrelierenden Abschnitte in der jeweiligen 14-3-3- σ - und IKK α -Färbung miteinander verglichen.

Von den insgesamt 33 untersuchten Gewebeschnitten sporadischer Basalzellkarzinome zeigten 29 (88%) und von den 26 Gewebeschnitten mit Basalzellkarzinomen im Rahmen eines Gorlin-Goltz-Syndroms zeigten 24 (92%) eine im Vergleich zur angrenzenden normalen Epidermis verminderte oder fehlende 14-3-3- σ -Expression im Bereich des Tumors. Eine im Bereich des Karzinoms verminderte oder fehlende IKK α -Expression im Vergleich zur angrenzenden gesunden Epidermis konnte in 27 von 33 (82%) untersuchten Fällen sporadischer Basalzellkarzinome und in 22 von 26 (84%) Basalzellkarzinomen eines Gorlin-Goltz-Syndroms nachgewiesen werden. Eine übereinstimmende 14-3-3- σ - und IKK α -Expression zeigten 27 von 33 (82%) sporadischen und 24 von 26 (92%) Basalzellkarzinomen eines Basalzellnaevus-Syndroms.

Die Ergebnisse der Arbeit konnten somit zum einen zeigen, dass sowohl sporadische als auch hereditäre Basalzellkarzinome des Gorlin-Goltz-Syndroms eine im Vergleich zur gesunden angrenzenden Epidermis teilweise bis vollständige Minderung der 14-3-3- σ -Expression aufweisen. Zum anderen konnte nachgewiesen werden, dass sich IKK α gleichläufig zur Expression von 14-3-3- σ verhält und somit ebenfalls in der Mehrheit der untersuchten sporadischen und hereditären Basalzellkarzinome eine im Vergleich zur normalen angrenzenden Epidermis verminderte Expression aufzeigt. Es ist folglich bei der Entstehung von Basalzellkarzinomen von einem gemeinsamen 14-3-3- σ - /IKK α - Signalweg auszugehen. Auch die Sonic-Hedgehog-Signalkaskade ist durch inaktivierende Keimbahnmutationen im Ptch-Tumorsuppressorgen an der Entstehung sowohl sporadischer als auch hereditärer Basalzellkarzinome des Basalzellnaevus-Syndroms beteiligt. Der Sonic-Hedgehog-Signalweg konnte in bisherigen Studien indirekt sowohl mit 14-3-3- σ als auch mit IKK α in Verbindung gebracht werden. Es konnte gezeigt werden, dass 14-3-3- σ und IKK α an der Entstehung von Tumoren beteiligt sind, bei denen auch die Sonic-Hedgehog-Signalkaskade eine Schlüsselrolle einnimmt. Zudem konnten bei beiden Signalkaskaden Interaktionen und Kollaborationen mit den gleichen Signalwegen nachgewiesen werden, so dass anzunehmen ist, dass der 14-3-3- σ - /IKK α - und der Sonic-Hedgehog- / Patched-Signalweg miteinander in Verbindung stehen und bei der Karzinogenese der Basalzellkarzinome eine gemeinsame Strecke ausmachen.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Acocella A, Sacco R, Bertolai R, Sacco N (2009) Genetic and clinicopathologic aspects of Gorlin-Goltz syndrome (NBCCS): presentation of two case reports and literature review. *Minerva Stomatol* 58: 43-53
2. Agaram NP, Collins BM, Barnes L, Lomago D, Aldeeb D, Swalsky P, Finkelstein S, Hunt JL (2004) Molecular analysis to demonstrate that odontogenic keratocysts are neoplastic. *Arch Pathol Lab Med* 128: 313-317
3. Aitken A (1996) 14-3-3 and its possible role in co-ordinating multiple signalling pathways. *Trends Cell Biol* 6: 341-347
4. Akahira J, Sugihashi Y, Suzuki T, Ito K, Niikura H, Moriya T, Nitta M, Okamura H, Inoue S, Sasano H, Okamura K, Yaegashi N (2004) Decreased expression of 14-3-3 sigma is associated with advanced disease in human epithelial ovarian cancer: its correlation with aberrant DNA methylation. *Clin Cancer Res* 10: 2687-2693
5. Albanese C, Wu K, D'Amico M, Jarrett C, Joyce D, Hughes J, Hulit J, Sakamaki T, Fu M, Ben-Ze'ev A, Bromberg JF, Lamberti C, Verma U, Gaynor RB, Byers SW, Pestell RG (2003) IKKalpha regulates mitogenic signaling through transcriptional induction of cyclin D1 via Tcf. *Mol Biol Cell* 14: 585-599
6. Altmeyer P, Dirschka T, Hartwig R (1998) *Klinikleitfaden Dermatologie*, 1. Auflage. Gustav Fischer Verlag, Ulm
7. Amlashi SF, Riffaud L, Brassier G, Morandi X (2003) Nevoid basal cell carcinoma syndrome: relation with desmoplastic medulloblastoma in infancy. A population-based study and review of the literature. *Cancer* 98: 618-624
8. Anton Aparicio LM, Garcia Campelo R, Cassinello Espinosa J, Valladares Ayerbes M, Reboredo Lopez M, Diaz Prado S, Aparicio Gallego G (2007) Prostate cancer and Hedgehog signalling pathway. *Clin Transl Oncol* 9: 420-428
9. Asaoka Y, Kanai F, Ichimura T, Tateishi K, Tanaka Y, Ohta M, Seto M, Tada M, Ijichi H, Ikenoue T, Kawabe T, Isobe T, Yaffe MB, Omata M (2010) Identification of a suppressive mechanism for Hedgehog signaling through a novel interaction of Gli with 14-3-3. *J Biol Chem* 285: 4185-4194
10. Aszterbaum M, Rothman A, Johnson RL, Fisher M, Xie J, Bonifas JM, Zhang X, Scott MP, Epstein EH, Jr. (1998) Identification of mutations in the human PATCHED gene in sporadic basal cell carcinomas and in patients with the basal cell nevus syndrome. *J Invest Dermatol* 110: 885-888
11. Bale AE (2002) Hedgehog signaling and human disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 3: 47-65
12. Bale AE, Yu KP (2001) The hedgehog pathway and basal cell carcinomas. *Hum Mol Genet* 10: 757-762
13. Barreto DC, Gomez RS, Bale AE, Boson WL, De Marco L (2000) PTCH gene mutations in odontogenic keratocysts. *J Dent Res* 79: 1418-1422
14. Bassukus ID, Schell H, Arai A, Hofmann P (1990) Hyposensitivity of basal cell naevus syndrome dermal fibroblasts to ultraviolet A. *Lancet* 336: 825
15. Baud V, Karin M (2001) Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell Biol* 11: 372-377

16. Beckenstein MS, Windle BH (1995) Basal cell carcinoma in black patients: the need to include it in the differential diagnosis. *Ann Plast Surg* 35: 546-548
17. Bellusci S, Furuta Y, Rush MG, Henderson R, Winnier G, Hogan BL (1997) Involvement of Sonic hedgehog (Shh) in mouse embryonic lung growth and morphogenesis. *Development* 124: 53-63
18. Berman DM, Karhadkar SS, Maitra A, Montes De Oca R, Gerstenblith MR, Briggs K, Parker AR, Shimada Y, Eshleman JR, Watkins DN, Beachy PA (2003) Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours. *Nature* 425: 846-851
19. Bhattacharya R, Kwon J, Ali B, Wang E, Patra S, Shridhar V, Mukherjee P (2008) Role of hedgehog signaling in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 14: 7659-7666
20. Bodak N, Queille S, Avril MF, Bouadjar B, Drougard C, Sarasin A, Daya-Grosjean L (1999) High levels of patched gene mutations in basal-cell carcinomas from patients with xeroderma pigmentosum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 5117-5122
21. Boecker W, Denk H, Heitz PU, Moch H (2008) *Pathologie*, 4. Auflage. Urban & Fischer Verlag, München
22. Bonifas JM, Bare JW, Kerschmann RL, Master SP, Epstein EH, Jr. (1994) Parental origin of chromosome 9q22.3-q31 lost in basal cell carcinomas from basal cell nevus syndrome patients. *Hum Mol Genet* 3: 447-448
23. Bortner JD, Jr., Das A, Umstead TM, Freeman WM, Somiari R, Aliaga C, Phelps DS, El-Bayoumy K (2009) Down-regulation of 14-3-3 isoforms and annexin A5 proteins in lung adenocarcinoma induced by the tobacco-specific nitrosamine NNK in the A/J mouse revealed by proteomic analysis. *J Proteome Res* 8: 4050-4061
24. Braun-Falco O, Plewig G, Woff HH, Burgdorf WHC, Landthaler M (2009) *Dermatology*, Third Edition. Springer Medizin Verlag, Heidelberg
25. Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH, Burgdorf WHC, Landthaler M (2005) *Dermatologie und Venerologie*, 5. Auflage. Springer Medizin Verlag, Heidelberg
26. Breuninger H, Garbe C (1998) Basalzellkarzinom. *Hautarzt (Leitlinien)* 10: 15-19
27. Carayol N, Wang CY (2006) IKK α stabilizes cytosolic beta-catenin by inhibiting both canonical and non-canonical degradation pathways. *Cell Signal* 18: 1941-1946
28. Caro I, Low JA (2010) The role of the hedgehog signaling pathway in the development of basal cell carcinoma and opportunities for treatment. *Clin Cancer Res* 16: 3335-3339
29. Chan TA, Hermeking H, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B (1999) 14-3-3 σ is required to prevent mitotic catastrophe after DNA damage. *Nature* 401: 616-620
30. Chan TA, Hwang PM, Hermeking H, Kinzler KW, Vogelstein B (2000) Cooperative effects of genes controlling the G(2)/M checkpoint. *Genes Dev* 14: 1584-1588
31. Chang HH, Chen BY, Wu CY, Tsao ZJ, Chen YY, Chang CP, Yang CR, Lin DP (2011) Hedgehog overexpression leads to the formation of prostate cancer stem cells with metastatic property irrespective of androgen receptor expression in the mouse model. *J Biomed Sci* 18: 6
32. Chapas AM, Gilchrest BA (2006) Broad area photodynamic therapy for treatment of multiple basal cell carcinomas in a patient with nevoid basal cell carcinoma syndrome. *J Drugs Dermatol* 5: 3-5

33. Chariot A (2009) The NF-kappaB-independent functions of IKK subunits in immunity and cancer. *Trends Cell Biol* 19: 404-413
34. Chen G, Goto Y, Sakamoto R, Tanaka K, Matsubara E, Nakamura M, Zheng H, Lu J, Takayanagi R, Nomura M (2011) GLI1, a crucial mediator of sonic hedgehog signaling in prostate cancer, functions as a negative modulator for androgen receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 404: 809-815
35. Chen XL, Cheng QY, She MR, Wang Q, Huang XH, Cao LQ, Fu XH, Chen JS (2010) Expression of sonic hedgehog signaling components in hepatocellular carcinoma and cyclopamine-induced apoptosis through Bcl-2 downregulation in vitro. *Arch Med Res* 41: 315-323
36. Chiang C, Litingtung Y, Lee E, Young KE, Corden JL, Westphal H, Beachy PA (1996) Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking Sonic hedgehog gene function. *Nature* 383: 407-413
37. Clement V, Sanchez P, de Tribolet N, Radovanovic I, Ruiz i Altaba A (2007) HEDGEHOG-GLI1 signaling regulates human glioma growth, cancer stem cell self-renewal, and tumorigenicity. *Curr Biol* 17: 165-172
38. Cohen MM, Jr. (2003) The hedgehog signaling network. *Am J Med Genet A* 123A: 5-28
39. Cowan R, Hoban P, Kelsey A, Birch JM, Gattamaneni R, Evans DG (1997) The gene for the naevoid basal cell carcinoma syndrome acts as a tumour-suppressor gene in medulloblastoma. *Br J Cancer* 76: 141-145
40. Cretnik M, Musani V, Oreskovic S, Leovic D, Levanat S (2007) The Patched gene is epigenetically regulated in ovarian dermoids and fibromas, but not in basocellular carcinomas. *Int J Mol Med* 19: 875-883
41. Cui W, Wang LH, Wen YY, Song M, Li BL, Chen XL, Xu M, An SX, Zhao J, Lu YY, Mi XY, Wang EH (2010) Expression and regulation mechanisms of Sonic Hedgehog in breast cancer. *Cancer Sci* 101: 927-933
42. Dahl E, Aberg M, Rausing A, Rausing EL (1992) Basal cell carcinoma. An epidemiologic study in a defined population. *Cancer* 70: 104-108
43. Dawe RS (2009) Treatment options for non-melanoma skin cancer. *G Ital Dermatol Venereol* 144: 453-458
44. Dellambra E, Golisano O, Bondanza S, Siviero E, Lacal P, Molinari M, D'Atri S, De Luca M (2000) Downregulation of 14-3-3sigma prevents clonal evolution and leads to immortalization of primary human keratinocytes. *J Cell Biol* 149: 1117-1130
45. Dellambra E, Patrone M, Sparatore B, Negri A, Ceciliani F, Bondanza S, Molina F, Cancedda FD, De Luca M (1995) Stratifin, a keratinocyte specific 14-3-3 protein, harbors a pleckstrin homology (PH) domain and enhances protein kinase C activity. *J Cell Sci* 108 (Pt 11): 3569-3579
46. DiDonato JA, Hayakawa M, Rothwarf DM, Zandi E, Karin M (1997) A cytokine-responsive IkappaB kinase that activates the transcription factor NF-kappaB. *Nature* 388: 548-554
47. Dimou A, Syrigos K, Saif MW (2011) Rationale for inhibition of the hedgehog pathway paracrine loop in pancreatic adenocarcinoma. *JOP* 12: 1-5

48. Dosch JS, Pasca di Magliano M, Simeone DM (2010) Pancreatic cancer and hedgehog pathway signaling: new insights. *Pancreatology* 10: 151-157
49. Dumaz N, Marais R (2003) Protein kinase A blocks Raf-1 activity by stimulating 14-3-3 binding and blocking Raf-1 interaction with Ras. *J Biol Chem* 278: 29819-29823
50. Evans DG, Ladusans EJ, Rimmer S, Burnell LD, Thakker N, Farndon PA (1993) Complications of the naevoid basal cell carcinoma syndrome: results of a population based study. *J Med Genet* 30: 460-464
51. Ferguson AT, Evron E, Umbricht CB, Pandita TK, Chan TA, Hermeking H, Marks JR, Lambers AR, Futreal PA, Stampfer MR, Sukumar S (2000) High frequency of hypermethylation at the 14-3-3 sigma locus leads to gene silencing in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 6049-6054
52. Ferreres JR, Macaya A, Jugla A, Muniesa C, Prats C, Peyri J (2006) Hundreds of basal cell carcinomas in a Gorlin-Goltz syndrome patient cured with imiquimod 5% cream. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 20: 877-878
53. Freyschmidt J (2008) *Skeletterkrankungen: Klinisch-radiologische Diagnose und Differentialdiagnose*, 3. Auflage. Springer Verlag, Heidelberg
54. Fritsch P (2004) *Dermatologie Venerologie*, 2. Auflage. Springer Medizin Verlag, Heidelberg
55. Fu H, Subramanian RR, Masters SC (2000) 14-3-3 proteins: structure, function, and regulation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 40: 617-647
56. Furie B, Cassileth PA, Atkins MB, Mayer RJ (2003) *Clinical Hematology and Oncology: Presentation, Diagnosis, and Treatment*. Churchill Livingstone, Pennsylvania
57. Gailani MR, Stahle-Backdahl M, Leffell DJ, Glynn M, Zaphiropoulos PG, Pressman C, Unden AB, Dean M, Brash DE, Bale AE, Toftgard R (1996) The role of the human homologue of *Drosophila* patched in sporadic basal cell carcinomas. *Nat Genet* 14: 78-81
58. Garnett MJ, Marais R (2004) Guilty as charged: B-RAF is a human oncogene. *Cancer Cell* 6: 313-319
59. Goldstein AM, Pastakia B, DiGiovanna JJ, Poliak S, Santucci S, Kase R, Bale AE, Bale SJ (1994) Clinical findings in two African-American families with the nevoid basal cell carcinoma syndrome (NBCC). *Am J Med Genet* 50: 272-281
60. Gorlin RJ (2004) Nevoid basal cell carcinoma (Gorlin) syndrome. *Genet Med* 6: 530-539
61. Gorlin RJ (1999) Nevoid basal cell carcinoma (Gorlin) syndrome: unanswered issues. *J Lab Clin Med* 134: 551-552
62. Gorlin RJ (1995) Nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Dermatol Clin* 13: 113-125
63. Gorlin RJ, Goltz RW (1960) Multiple nevoid basal-cell epithelioma, jaw cysts and bifid rib. A syndrome. *N Engl J Med* 262: 908-912
64. Hacker H, Karin M (2006) Regulation and function of IKK and IKK-related kinases. *Sci STKE* 2006: re13
65. Hahn H, Wicking C, Zaphiropoulos PG, Gailani MR, Shanley S, Chidambaram A, Vorechovsky I, Holmberg E, Unden AB, Gillies S, Negus K, Smyth I, Pressman C,

- Leffell DJ, Gerrard B, Goldstein AM, Dean M, Toftgard R, Chenevix-Trench G, Wainwright B, Bale AE (1996) Mutations of the human homolog of *Drosophila* patched in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Cell* 85: 841-851
66. Hall J, Johnston KA, McPhillips JP, Barnes SD, Elston DM (1998) Nevoid basal cell carcinoma syndrome in a black child. *J Am Acad Dermatol* 38: 363-365
67. Hamed S, LaRue H, Hovington H, Girard J, Jeannotte L, Latulippe E, Fradet Y (2004) Accelerated induction of bladder cancer in patched heterozygous mutant mice. *Cancer Res* 64: 1938-1942
68. Hardcastle Z, Mo R, Hui CC, Sharpe PT (1998) The Shh signalling pathway in tooth development: defects in *Gli2* and *Gli3* mutants. *Development* 125: 2803-2811
69. Heal CF, Raasch BA, Buettner PG, Weedon D (2008) Accuracy of clinical diagnosis of skin lesions. *Br J Dermatol* 159: 661-668
70. Herath NI, Leggett BA, MacDonald GA (2006) Review of genetic and epigenetic alterations in hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 21: 15-21
71. Hermeking H, Lengauer C, Polyak K, He TC, Zhang L, Thiagalingam S, Kinzler KW, Vogelstein B (1997) 14-3-3 sigma is a p53-regulated inhibitor of G2/M progression. *Mol Cell* 1: 3-11
72. Hockman D, Cretokos CJ, Mason MK, Behringer RR, Jacobs DS, Illing N (2008) A second wave of Sonic hedgehog expression during the development of the bat limb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 16982-16987
73. Hu Y, Baud V, Delhase M, Zhang P, Deerinck T, Ellisman M, Johnson R, Karin M (1999) Abnormal morphogenesis but intact IKK activation in mice lacking the IKKalpha subunit of IkappaB kinase. *Science* 284: 316-320
74. Hu Y, Baud V, Oga T, Kim KI, Yoshida K, Karin M (2001) IKKalpha controls formation of the epidermis independently of NF-kappaB. *Nature* 410: 710-714
75. Huang S, Yang L, An Y, Ma X, Zhang C, Xie G, Chen ZY, Xie J, Zhang H (2010) Expression of hedgehog signaling molecules in lung cancer. *Acta Histochem*
76. Ingham PW, McMahon AP (2001) Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles. *Genes Dev* 15: 3059-3087
77. Iwata N, Yamamoto H, Sasaki S, Itoh F, Suzuki H, Kikuchi T, Kaneto H, Iku S, Ozeki I, Karino Y, Satoh T, Toyota J, Satoh M, Endo T, Imai K (2000) Frequent hypermethylation of CpG islands and loss of expression of the 14-3-3 sigma gene in human hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 19: 5298-5302
78. Jackson JP, Lindroth AM, Cao X, Jacobsen SE (2002) Control of CpNpG DNA methylation by the KRYPTONITE histone H3 methyltransferase. *Nature* 416: 556-560
79. Ji Z, Mei FC, Xie J, Cheng X (2007) Oncogenic KRAS activates hedgehog signaling pathway in pancreatic cancer cells. *J Biol Chem* 282: 14048-14055
80. Johnson RL, Rothman AL, Xie J, Goodrich LV, Bare JW, Bonifas JM, Quinn AG, Myers RM, Cox DR, Epstein EH, Jr., Scott MP (1996) Human homolog of patched, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. *Science* 272: 1668-1671
81. Jones M, Bresch M, Alvarez D, Boer A (2009) Keloidal basal cell carcinoma: not a distinctive clinicopathological entity. *Br J Dermatol* 160: 127-131
82. Jung E (1995) *Dermatologie*, 3. Auflage. Hippokrates Verlag, Stuttgart

83. Jung Y, Witek RP, Syn WK, Choi SS, Omenetti A, Premont R, Guy CD, Diehl AM (2010) Signals from dying hepatocytes trigger growth of liver progenitors. *Gut* 59: 655-665
84. Kaneuchi M, Sasaki M, Tanaka Y, Shiina H, Verma M, Ebina Y, Nomura E, Yamamoto R, Sakuragi N, Dahiya R (2004) Expression and methylation status of 14-3-3 sigma gene can characterize the different histological features of ovarian cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 316: 1156-1162
85. Karin M (2006) NF-kappaB and cancer: mechanisms and targets. *Mol Carcinog* 45: 355-361
86. Karin M, Ben-Neriah Y (2000) Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-[kappa]B activity. *Annu Rev Immunol* 18: 621-663
87. Kasperczyk H, Baumann B, Debatin KM, Fulda S (2009) Characterization of sonic hedgehog as a novel NF-kappaB target gene that promotes NF-kappaB-mediated apoptosis resistance and tumor growth in vivo. *FASEB J* 23: 21-33
88. Kazantseva IA, Bogatyreva, II, Vavilov AM, Parshikova SM (1983) [Differential diagnosis of basalioma and metatypical skin cancer]. *Arkh Patol* 45: 35-39
89. Kelleher FC (2010) Hedgehog signalling and therapeutics in pancreatic cancer. *Carcinogenesis*
90. Kimonis VE, Goldstein AM, Pastakia B, Yang ML, Kase R, DiGiovanna JJ, Bale AE, Bale SJ (1997) Clinical manifestations in 105 persons with nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Am J Med Genet* 69: 299-308
91. Kinzler KW, Ruppert JM, Bigner SH, Vogelstein B (1988) The GLI gene is a member of the Kruppel family of zinc finger proteins. *Nature* 332: 371-374
92. Kinzler KW, Vogelstein B (1997) Cancer-susceptibility genes. Gatekeepers and caretakers. *Nature* 386: 761, 763
93. Knudson AG, Jr. (1971) Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 68: 820-823
94. Kubo M, Nakamura M, Tasaki A, Yamanaka N, Nakashima H, Nomura M, Kuroki S, Katano M (2004) Hedgehog signaling pathway is a new therapeutic target for patients with breast cancer. *Cancer Res* 64: 6071-6074
95. Kuramitsu Y, Baron B, Yoshino S, Zhang X, Tanaka T, Yashiro M, Hirakawa K, Oka M, Nakamura K (2010) Proteomic differential display analysis shows up-regulation of 14-3-3 sigma protein in human scirrhus-type gastric carcinoma cells. *Anticancer Res* 30: 4459-4465
96. Kurokawa I, Yokoyama T, Nishimura K, Hakamada A, Isoda K, Yamanaka K, Tsubura A, Mizutani H (2007) Pinkus tumor may originate from intraepidermal eccrine ducts and proliferate in the dermis. *Oncol Rep* 17: 49-54
97. Lacombe D, Chateil JF, Fontan D, Battin J (1990) Medulloblastoma in the nevoid basal-cell carcinoma syndrome: case reports and review of the literature. *Genet Couns* 1: 273-277
98. Lamberti C, Lin KM, Yamamoto Y, Verma U, Verma IM, Byers S, Gaynor RB (2001) Regulation of beta-catenin function by the IkappaB kinases. *J Biol Chem* 276: 42276-42286

99. Laronga C, Yang HY, Neal C, Lee MH (2000) Association of the cyclin-dependent kinases and 14-3-3 sigma negatively regulates cell cycle progression. *J Biol Chem* 275: 23106-23112
100. Lauth M, Bergstrom A, Shimokawa T, Tostar U, Jin Q, Fendrich V, Guerra C, Barbacid M, Toftgard R (2010) DYRK1B-dependent autocrine-to-paracrine shift of Hedgehog signaling by mutant RAS. *Nat Struct Mol Biol* 17: 718-725
101. Lawrence T, Bebien M (2007) IKKalpha in the regulation of inflammation and adaptive immunity. *Biochem Soc Trans* 35: 270-272
102. Lawrence T, Bebien M, Liu GY, Nizet V, Karin M (2005) IKKalpha limits macrophage NF-kappaB activation and contributes to the resolution of inflammation. *Nature* 434: 1138-1143
103. Lear W, Dahlke E, Murray CA (2007) Basal cell carcinoma: review of epidemiology, pathogenesis, and associated risk factors. *J Cutan Med Surg* 11: 19-30
104. Leffers H, Madsen P, Rasmussen HH, Honore B, Andersen AH, Walbum E, Vandekerckhove J, Celis JE (1993) Molecular cloning and expression of the transformation sensitive epithelial marker stratifin. A member of a protein family that has been involved in the protein kinase C signalling pathway. *J Mol Biol* 231: 982-998
105. Lehnertz B, Ueda Y, Derijck AA, Braunschweig U, Perez-Burgos L, Kubicek S, Chen T, Li E, Jenuwein T, Peters AH (2003) Suv39h-mediated histone H3 lysine 9 methylation directs DNA methylation to major satellite repeats at pericentric heterochromatin. *Curr Biol* 13: 1192-1200
106. Leonardi R, Licciardello V, Santarelli A, Ciavarella D, Bolouri S, Harle F, Caltabiano M, Lo Muzio L (2009) Nevroid Basal cell carcinoma syndrome: a cephalometric study of patients and controls. *J Craniofac Surg* 20: 203-208
107. Levanat S, Musani V, Komar A, Oreskovic S (2004) Role of the hedgehog/patched signaling pathway in oncogenesis: a new polymorphism in the PTCH gene in ovarian fibroma. *Ann N Y Acad Sci* 1030: 134-143
108. Li Q, Lu Q, Hwang JY, Buscher D, Lee KF, Izpisua-Belmonte JC, Verma IM (1999) IKK1-deficient mice exhibit abnormal development of skin and skeleton. *Genes Dev* 13: 1322-1328
109. Li ZW, Chu W, Hu Y, Delhase M, Deerinck T, Ellisman M, Johnson R, Karin M (1999) The IKKbeta subunit of IkappaB kinase (IKK) is essential for nuclear factor kappaB activation and prevention of apoptosis. *J Exp Med* 189: 1839-1845
110. Lin LK, Lee H, Chang E (2008) Pigmented basal cell carcinoma of the eyelid in Hispanics. *Clin Ophthalmol* 2: 641-643
111. Lin SY, Xia W, Wang JC, Kwong KY, Spohn B, Wen Y, Pestell RG, Hung MC (2000) Beta-catenin, a novel prognostic marker for breast cancer: its roles in cyclin D1 expression and cancer progression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 4262-4266
112. Liu B, Park E, Zhu F, Bustos T, Liu J, Shen J, Fischer SM, Hu Y (2006) A critical role for I kappaB kinase alpha in the development of human and mouse squamous cell carcinomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 17202-17207

113. Liu B, Xia X, Zhu F, Park E, Carbajal S, Kiguchi K, DiGiovanni J, Fischer SM, Hu Y (2008) IKK α is required to maintain skin homeostasis and prevent skin cancer. *Cancer Cell* 14: 212-225
114. Liu B, Zhu F, Xia X, Park E, Hu Y (2009) A tale of terminal differentiation: IKK α , the master keratinocyte regulator. *Cell Cycle* 8: 527-531
115. Ljubenovic M, Ljubenovic D, Binic I, Jovanovic D, Stanojevic M (2007) Gorlin-Goltz syndrome. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat* 16: 166-169
116. Lo Muzio L (2008) Nevoid basal cell carcinoma syndrome (Gorlin syndrome). *Orphanet J Rare Dis* 3: 32
117. Lo Muzio L, Nocini P, Bucci P, Pannone G, Consolo U, Procaccini M (1999) Early diagnosis of nevoid basal cell carcinoma syndrome. *J Am Dent Assoc* 130: 669-674
118. Lo Muzio L, Nocini PF, Savoia A, Consolo U, Procaccini M, Zelante L, Pannone G, Bucci P, Dolci M, Bambini F, Solda P, Favia G (1999) Nevoid basal cell carcinoma syndrome. Clinical findings in 37 Italian affected individuals. *Clin Genet* 55: 34-40
119. Lo Muzio L, Staibano S, Pannone G, Bucci P, Nocini PF, Bucci E, De Rosa G (1999) Expression of cell cycle and apoptosis-related proteins in sporadic odontogenic keratocysts and odontogenic keratocysts associated with the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *J Dent Res* 78: 1345-1353
120. Lodygin D, Hermeking H (2006) Epigenetic silencing of 14-3-3 σ in cancer. *Semin Cancer Biol* 16: 214-224
121. Lodygin D, Yazdi AS, Sander CA, Herzinger T, Hermeking H (2003) Analysis of 14-3-3 σ expression in hyperproliferative skin diseases reveals selective loss associated with CpG-methylation in basal cell carcinoma. *Oncogene* 22: 5519-5524
122. Lopez-Girona A, Furnari B, Mondesert O, Russell P (1999) Nuclear localization of Cdc25 is regulated by DNA damage and a 14-3-3 protein. *Nature* 397: 172-175
123. Lovatt TJ, Lear JT, Bastrilles J, Wong C, Griffiths CE, Samarasinghe V, Roebuck J, Ramachandran S, Smith AG, Jones PW, Fryer AA, Strange RC (2005) Associations between ultraviolet radiation, basal cell carcinoma site and histology, host characteristics, and rate of development of further tumors. *J Am Acad Dermatol* 52: 468-473
124. Luo J, Feng J, Lu J, Wang Y, Tang X, Xie F, Li W (2010) Aberrant methylation profile of 14-3-3 σ and its reduced transcription/expression levels in Chinese sporadic female breast carcinogenesis. *Med Oncol* 27: 791-797
125. Luo JL, Tan W, Ricono JM, Korchynskiy O, Zhang M, Gonias SL, Cheresch DA, Karin M (2007) Nuclear cytokine-activated IKK α controls prostate cancer metastasis by repressing Maspin. *Nature* 446: 690-694
126. Maitah MY, Ali S, Ahmad A, Gadgeel S, Sarkar FH (2011) Up-regulation of sonic hedgehog contributes to TGF- β 1-induced epithelial to mesenchymal transition in NSCLC cells. *PLoS One* 6: e16068
127. Marcos MV, Querol X, Armengol A, Hierro FR, Cruz M (1982) [Basal cell nevus syndrome and gigantism]. *An Esp Pediatr* 16: 513-519
128. Marigo V, Davey RA, Zuo Y, Cunningham JM, Tabin CJ (1996) Biochemical evidence that patched is the Hedgehog receptor. *Nature* 384: 176-179

129. Marigo V, Tabin CJ (1996) Regulation of patched by sonic hedgehog in the developing neural tube. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 9346-9351
130. Marsh A, Wicking C, Wainwright B, Chenevix-Trench G (2005) DHPLC analysis of patients with Nevoid Basal Cell Carcinoma Syndrome reveals novel PTCH missense mutations in the sterol-sensing domain. *Hum Mutat* 26: 283
131. Martinez-Galan J, Torres B, Del Moral R, Munoz-Gamez JA, Martin-Oliva D, Villalobos M, Nunez MI, Luna Jde D, Oliver FJ, Ruiz de Almodovar JM (2008) Quantitative detection of methylated ESR1 and 14-3-3-sigma gene promoters in serum as candidate biomarkers for diagnosis of breast cancer and evaluation of treatment efficacy. *Cancer Biol Ther* 7: 958-965
132. Matitau AE, Scheid MP (2008) Phosphorylation of MEKK3 at threonine 294 promotes 14-3-3 association to inhibit nuclear factor kappaB activation. *J Biol Chem* 283: 13261-13268
133. Merchant JL, Saqui-Salces M, El-Zaatari M (2010) Hedgehog signaling in gastric physiology and cancer. *Prog Mol Biol Transl Sci* 96: 133-156
134. Mercurio F, Manning AM (1999) Multiple signals converging on NF-kappaB. *Curr Opin Cell Biol* 11: 226-232
135. Mercurio F, Zhu H, Murray BW, Shevchenko A, Bennett BL, Li J, Young DB, Barbosa M, Mann M, Manning A, Rao A (1997) IKK-1 and IKK-2: cytokine-activated IkappaB kinases essential for NF-kappaB activation. *Science* 278: 860-866
136. Misago N (2008) Keloidal basal cell carcinoma. *Am J Dermatopathol* 30: 87
137. Molzan M, Schumacher B, Ottmann C, Baljuls A, Polzien L, Weyand M, Thiel P, Rose R, Rose M, Kuhenne P, Kaiser M, Rapp UR, Kuhlmann J (2010) Impaired binding of 14-3-3 to C-RAF in Noonan syndrome suggests new approaches in diseases with increased Ras signaling. *Mol Cell Biol* 30: 4698-4711
138. Mosterd K, Arits AH, Thissen MR, Kelleners-Smeets NW (2009) Histology-based treatment of basal cell carcinoma. *Acta Derm Venereol* 89: 454-458
139. Motegi S, Tamura A, Tanaka S, Nagai K, Ishikawa O (2006) Aggressive basal cell carcinoma with pulmonary metastases. *Eur J Dermatol* 16: 585-586
140. Mullor JL, Sanchez P, Ruiz i Altaba A (2002) Pathways and consequences: Hedgehog signaling in human disease. *Trends Cell Biol* 12: 562-569
141. Nakashima H, Nakamura M, Yamaguchi H, Yamanaka N, Akiyoshi T, Koga K, Yamaguchi K, Tsuneyoshi M, Tanaka M, Katano M (2006) Nuclear factor-kappaB contributes to hedgehog signaling pathway activation through sonic hedgehog induction in pancreatic cancer. *Cancer Res* 66: 7041-7049
142. Neville JA, Williford PM, Jorizzo JL (2007) Pilot study using topical imiquimod 5% cream in the treatment of nodular basal cell carcinoma after initial treatment with curettage. *J Drugs Dermatol* 6: 910-914
143. Nusslein-Volhard C, Wieschaus E (1980) Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature* 287: 795-801
144. Ohazama A, Hu Y, Schmidt-Ullrich R, Cao Y, Scheidereit C, Karin M, Sharpe PT (2004) A dual role for Ikk alpha in tooth development. *Dev Cell* 6: 219-227
145. Oliver TG, Read TA, Kessler JD, Mehmeti A, Wells JF, Huynh TT, Lin SM, Wechsler-Reya RJ (2005) Loss of patched and disruption of granule cell

- development in a pre-neoplastic stage of medulloblastoma. *Development* 132: 2425-2439
146. Omenetti A, Choi S, Michelotti G, Diehl AM (2011) Hedgehog signaling in the liver. *J Hepatol* 54: 366-373
 147. Oro AE, Higgins KM, Hu Z, Bonifas JM, Epstein EH, Jr., Scott MP (1997) Basal cell carcinomas in mice overexpressing sonic hedgehog. *Science* 276: 817-821
 148. Ortega Garcia de Amezaga A, Garcia Arregui O, Zepeda Nuno S, Acha Sagredo A, Aguirre Urizar JM (2008) Gorlin-Goltz syndrome: clinicopathologic aspects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 13: E338-343
 149. Ostergaard M, Rasmussen HH, Nielsen HV, Vorum H, Orntoft TF, Wolf H, Celis JE (1997) Proteome profiling of bladder squamous cell carcinomas: identification of markers that define their degree of differentiation. *Cancer Res* 57: 4111-4117
 150. Park E, Zhu F, Liu B, Xia X, Shen J, Bustos T, Fischer SM, Hu Y (2007) Reduction in IkappaB kinase alpha expression promotes the development of skin papillomas and carcinomas. *Cancer Res* 67: 9158-9168
 151. Park KJ, Krishnan V, O'Malley BW, Yamamoto Y, Gaynor RB (2005) Formation of an IKKalpha-dependent transcription complex is required for estrogen receptor-mediated gene activation. *Mol Cell* 18: 71-82
 152. Pasca di Magliano M, Sekine S, Ermilov A, Ferris J, Dlugosz AA, Hebrok M (2006) Hedgehog/Ras interactions regulate early stages of pancreatic cancer. *Genes Dev* 20: 3161-3173
 153. Pastorino L, Cusano R, Nasti S, Faravelli F, Forzano F, Baldo C, Barile M, Gliori S, Muggianu M, Ghigliotti G, Lacaíta MG, Lo Muzio L, Bianchi-Scarra G (2005) Molecular characterization of Italian nevoid basal cell carcinoma syndrome patients. *Hum Mutat* 25: 322-323
 154. Peng CY, Graves PR, Thoma RS, Wu Z, Shaw AS, Piwnicka-Worms H (1997) Mitotic and G2 checkpoint control: regulation of 14-3-3 protein binding by phosphorylation of Cdc25C on serine-216. *Science* 277: 1501-1505
 155. Pereira Tde A, Witek RP, Syn WK, Choi SS, Bradrick S, Karaca GF, Agboola KM, Jung Y, Omenetti A, Moylan CA, Yang L, Fernandez-Zapico ME, Jhaveri R, Shah VH, Pereira FE, Diehl AM (2010) Viral factors induce Hedgehog pathway activation in humans with viral hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. *Lab Invest* 90: 1690-1703
 156. Prasad GL, Valverius EM, McDuffie E, Cooper HL (1992) Complementary DNA cloning of a novel epithelial cell marker protein, HME1, that may be down-regulated in neoplastic mammary cells. *Cell Growth Differ* 3: 507-513
 157. Ramachandran S, Rajaratnam R, Smith AG, Lear JT, Strange RC (2009) Patients with both basal and squamous cell carcinomas are at a lower risk of further basal cell carcinomas than patients with only a basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol* 61: 247-251
 158. Reibenwein J, Pils D, Horak P, Tomicek B, Goldner G, Worel N, Elandt K, Krainer M (2007) Promoter hypermethylation of GSTP1, AR, and 14-3-3sigma in serum of prostate cancer patients and its clinical relevance. *Prostate* 67: 427-432

159. Rice JC, Briggs SD, Ueberheide B, Barber CM, Shabanowitz J, Hunt DF, Shinkai Y, Allis CD (2003) Histone methyltransferases direct different degrees of methylation to define distinct chromatin domains. *Mol Cell* 12: 1591-1598
160. Roberts RL, Mosch HU, Fink GR (1997) 14-3-3 proteins are essential for RAS/ MAPK cascade signaling during pseudohyphal development in *S. cerevisiae*. *Cell* 89: 1055-1065
161. Rothwarf DM, Zandi E, Natoli G, Karin M (1998) IKK-gamma is an essential regulatory subunit of the IkappaB kinase complex. *Nature* 395: 297-300
162. Rowe D, Gallagher RP, Warshawski L, Carruthers A (1994) Females vastly outnumber males in basal cell carcinoma of the upper lip. A peculiar subset of high risk young females is described. *J Dermatol Surg Oncol* 20: 754-756
163. Ruprecht A, Austermann KH, Umstadt H (1987) Cleft lip and palate, seldom seen features of the Gorlin-Goltz syndrome. *Dentomaxillofac Radiol* 16: 99-103
164. Saqui-Salces M, Merchant JL (2010) Hedgehog signaling and gastrointestinal cancer. *Biochim Biophys Acta* 1803: 786-795
165. Schwartz JL, Kopecky KJ, Mathes RW, Leisenring WM, Friedman DL, Deeg HJ (2009) Basal cell skin cancer after total-body irradiation and hematopoietic cell transplantation. *Radiat Res* 171: 155-163
166. Seidl H, Kreimer-Erlacher H, Back B, Soyer HP, Hofler G, Kerl H, Wolf P (2001) Ultraviolet exposure as the main initiator of p53 mutations in basal cell carcinomas from psoralen and ultraviolet A-treated patients with psoriasis. *J Invest Dermatol* 117: 365-370
167. Shanley S, Ratcliffe J, Hockey A, Haan E, Oley C, Ravine D, Martin N, Wicking C, Chenevix-Trench G (1994) Nevoid basal cell carcinoma syndrome: review of 118 affected individuals. *Am J Med Genet* 50: 282-290
168. Shear M (2002) The aggressive nature of the odontogenic keratocyst: is it a benign cystic neoplasm? Part 2. Proliferation and genetic studies. *Oral Oncol* 38: 323-331
169. Sidransky D (1996) Is human patched the gatekeeper of common skin cancers? *Nat Genet* 14: 7-8
170. Sil AK, Maeda S, Sano Y, Roop DR, Karin M (2004) IkappaB kinase-alpha acts in the epidermis to control skeletal and craniofacial morphogenesis. *Nature* 428: 660-664
171. Simooka H, Oyama T, Sano T, Horiguchi J, Nakajima T (2004) Immunohistochemical analysis of 14-3-3 sigma and related proteins in hyperplastic and neoplastic breast lesions, with particular reference to early carcinogenesis. *Pathol Int* 54: 595-602
172. Soekarman D, Fryns JP, Casaer P, Van Den Berghe H (1991) Increased head circumference and facial cleft as presenting signs of the nevoid basal-cell carcinoma syndrome. *Genet Couns* 2: 157-162
173. Souzaki M, Kubo M, Kai M, Kameda C, Tanaka H, Taguchi T, Tanaka M, Onishi H, Katano M (2011) Hedgehog signaling pathway mediates the progression of non-invasive breast cancer to invasive breast cancer. *Cancer Sci* 102: 373-381

174. St-Jacques B, Dassule HR, Karavanova I, Botchkarev VA, Li J, Danielian PS, McMahon JA, Lewis PM, Paus R, McMahon AP (1998) Sonic hedgehog signaling is essential for hair development. *Curr Biol* 8: 1058-1068
175. Stecca B, Mas C, Clement V, Zbinden M, Correa R, Piguet V, Beermann F, Ruiz IAA (2007) Melanomas require HEDGEHOG-GLI signaling regulated by interactions between GLI1 and the RAS-MEK/AKT pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 5895-5900
176. Stenbeck KD, Balanda KP, Williams MJ, Ring IT, MacLennan R, Chick JE, Morton AP (1990) Patterns of treated non-melanoma skin cancer in Queensland--the region with the highest incidence rates in the world. *Med J Aust* 153: 511-515
177. Stewart MD, Li J, Wong J (2005) Relationship between histone H3 lysine 9 methylation, transcription repression, and heterochromatin protein 1 recruitment. *Mol Cell Biol* 25: 2525-2538
178. Stockfleth E, Ulrich C, Hauschild A, Lischner S, Meyer T, Christophers E (2002) Successful treatment of basal cell carcinomas in a nevoid basal cell carcinoma syndrome with topical 5% imiquimod. *Eur J Dermatol* 12: 569-572
179. Stone DM, Hynes M, Armanini M, Swanson TA, Gu Q, Johnson RL, Scott MP, Pennica D, Goddard A, Phillips H, Noll M, Hooper JE, de Sauvage F, Rosenthal A (1996) The tumour-suppressor gene patched encodes a candidate receptor for Sonic hedgehog. *Nature* 384: 129-134
180. Su CH, Zhao R, Zhang F, Qu C, Chen B, Feng YH, Phan L, Chen J, Wang H, Yeung SC, Lee MH (2011) 14-3-3 σ Exerts Tumor-Suppressor Activity Mediated by Regulation of COP1 Stability. *Cancer Res* 71: 884-894
181. Suzuki H, Itoh F, Toyota M, Kikuchi T, Kakiuchi H, Imai K (2000) Inactivation of the 14-3-3 sigma gene is associated with 5' CpG island hypermethylation in human cancers. *Cancer Res* 60: 4353-4357
182. Taipale J, Cooper MK, Maiti T, Beachy PA (2002) Patched acts catalytically to suppress the activity of Smoothened. *Nature* 418: 892-897
183. Takeda K, Takeuchi O, Tsujimura T, Itami S, Adachi O, Kawai T, Sanjo H, Yoshikawa K, Terada N, Akira S (1999) Limb and skin abnormalities in mice lacking IKK α . *Science* 284: 313-316
184. Tamaru H, Zhang X, McMillen D, Singh PB, Nakayama J, Grewal SI, Allis CD, Cheng X, Selker EU (2003) Trimethylated lysine 9 of histone H3 is a mark for DNA methylation in *Neurospora crassa*. *Nat Genet* 34: 75-79
185. Tanaka M, Fuentes ME, Yamaguchi K, Durnin MH, Dalrymple SA, Hardy KL, Goeddel DV (1999) Embryonic lethality, liver degeneration, and impaired NF-kappa B activation in IKK-beta-deficient mice. *Immunity* 10: 421-429
186. Tang JY, So PL, Epstein EH, Jr. (2007) Novel Hedgehog pathway targets against basal cell carcinoma. *Toxicol Appl Pharmacol* 224: 257-264
187. Taniguchi H, Yamamoto H, Akutsu N, Nosho K, Adachi Y, Imai K, Shinomura Y (2007) Transcriptional silencing of hedgehog-interacting protein by CpG hypermethylation and chromatin structure in human gastrointestinal cancer. *J Pathol* 213: 131-139

188. Thayer SP, di Magliano MP, Heiser PW, Nielsen CM, Roberts DJ, Lauwers GY, Qi YP, Gysin S, Fernandez-del Castillo C, Yajnik V, Antoniu B, McMahon M, Warshaw AL, Hebrok M (2003) Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis. *Nature* 425: 851-856
189. Thomas C (1996) *Spezielle Pathologie*. F. K. Verlagsgesellschaft, Stuttgart
190. Tostar U, Malm CJ, Meis-Kindblom JM, Kindblom LG, Toftgard R, Unden AB (2006) Deregulation of the hedgehog signalling pathway: a possible role for the PTCH and SUFU genes in human rhabdomyoma and rhabdomyosarcoma development. *J Pathol* 208: 17-25
191. Tzivion G, Luo Z, Avruch J (1998) A dimeric 14-3-3 protein is an essential cofactor for Raf kinase activity. *Nature* 394: 88-92
192. Umbricht CB, Evron E, Gabrielson E, Ferguson A, Marks J, Sukumar S (2001) Hypermethylation of 14-3-3 sigma (stratifin) is an early event in breast cancer. *Oncogene* 20: 3348-3353
193. Unden AB, Zaphiropoulos PG, Bruce K, Toftgard R, Stahle-Backdahl M (1997) Human patched (PTCH) mRNA is overexpressed consistently in tumor cells of both familial and sporadic basal cell carcinoma. *Cancer Res* 57: 2336-2340
194. Unlu RE, Altun S, Kerem M, Koc MN (2009) Is It Really Necessary to Make Wide Excisions for Basal Cell Carcinoma Treatment? *J Craniofac Surg*
195. Urano T, Saito T, Tsukui T, Fujita M, Hosoi T, Muramatsu M, Ouchi Y, Inoue S (2002) Efp targets 14-3-3 sigma for proteolysis and promotes breast tumour growth. *Nature* 417: 871-875
196. Vellucci VF, Germino FJ, Reiss M (1995) Cloning of putative growth regulatory genes from primary human keratinocytes by subtractive hybridization. *Gene* 166: 213-220
197. Visbal AP, Lewis MT (2010) Hedgehog signaling in the normal and neoplastic mammary gland. *Curr Drug Targets* 11: 1103-1111
198. Wan PT, Garnett MJ, Roe SM, Lee S, Niculescu-Duvaz D, Good VM, Jones CM, Marshall CJ, Springer CJ, Barford D, Marais R (2004) Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell* 116: 855-867
199. Wang Y, Waldron RT, Dhaka A, Patel A, Riley MM, Rozengurt E, Colicelli J (2002) The RAS effector RIN1 directly competes with RAF and is regulated by 14-3-3 proteins. *Mol Cell Biol* 22: 916-926
200. Watkins DN, Berman DM, Burkholder SG, Wang B, Beachy PA, Baylin SB (2003) Hedgehog signalling within airway epithelial progenitors and in small-cell lung cancer. *Nature* 422: 313-317
201. Wetmore C (2003) Sonic hedgehog in normal and neoplastic proliferation: insight gained from human tumors and animal models. *Curr Opin Genet Dev* 13: 34-42
202. Wicking C, Berkman J, Wainwright B, Chenevix-Trench G (1994) Fine genetic mapping of the gene for nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Genomics* 22: 505-511
203. Wicking C, Smyth I, Bale A (1999) The hedgehog signalling pathway in tumorigenesis and development. *Oncogene* 18: 7844-7851

204. Wilker E, Yaffe MB (2004) 14-3-3 Proteins--a focus on cancer and human disease. *J Mol Cell Cardiol* 37: 633-642
205. Wilker EW, van Vugt MA, Artim SA, Huang PH, Petersen CP, Reinhardt HC, Feng Y, Sharp PA, Sonenberg N, White FM, Yaffe MB (2007) 14-3-3sigma controls mitotic translation to facilitate cytokinesis. *Nature* 446: 329-332
206. Xie J, Murone M, Luoh SM, Ryan A, Gu Q, Zhang C, Bonifas JM, Lam CW, Hynes M, Goddard A, Rosenthal A, Epstein EH, Jr., de Sauvage FJ (1998) Activating Smoothed mutations in sporadic basal-cell carcinoma. *Nature* 391: 90-92
207. Yaffe MB (2002) How do 14-3-3 proteins work?-- Gatekeeper phosphorylation and the molecular anvil hypothesis. *FEBS Lett* 513: 53-57
208. Yamaoka S, Courtois G, Bessia C, Whiteside ST, Weil R, Agou F, Kirk HE, Kay RJ, Israel A (1998) Complementation cloning of NEMO, a component of the IkappaB kinase complex essential for NF-kappaB activation. *Cell* 93: 1231-1240
209. Yamasaki A, Kameda C, Xu R, Tanaka H, Tasaka T, Chikazawa N, Suzuki H, Morisaki T, Kubo M, Onishi H, Tanaka M, Katano M (2010) Nuclear factor kappaB-activated monocytes contribute to pancreatic cancer progression through the production of Shh. *Cancer Immunol Immunother* 59: 675-686
210. Yang H, Zhang Y, Zhao R, Wen YY, Fournier K, Wu HB, Yang HY, Diaz J, Laronga C, Lee MH (2006) Negative cell cycle regulator 14-3-3sigma stabilizes p27 Kip1 by inhibiting the activity of PKB/Akt. *Oncogene* 25: 4585-4594
211. Yang HY, Wen YY, Chen CH, Lozano G, Lee MH (2003) 14-3-3 sigma positively regulates p53 and suppresses tumor growth. *Mol Cell Biol* 23: 7096-7107
212. Youssef KK, Van Keymeulen A, Lapouge G, Beck B, Michaux C, Achouri Y, Sotiropoulou PA, Blanpain C (2010) Identification of the cell lineage at the origin of basal cell carcinoma. *Nat Cell Biol* 12: 299-305
213. Zandi E, Chen Y, Karin M (1998) Direct phosphorylation of IkappaB by IKKalpha and IKKbeta: discrimination between free and NF-kappaB-bound substrate. *Science* 281: 1360-1363
214. Zandi E, Rothwarf DM, Delhase M, Hayakawa M, Karin M (1997) The IkappaB kinase complex (IKK) contains two kinase subunits, IKKalpha and IKKbeta, necessary for IkappaB phosphorylation and NF-kappaB activation. *Cell* 91: 243-252
215. Zha J, Harada H, Yang E, Jockel J, Korsmeyer SJ (1996) Serine phosphorylation of death agonist BAD in response to survival factor results in binding to 14-3-3 not BCL-X(L). *Cell* 87: 619-628
216. Zhu F, Xia X, Liu B, Shen J, Hu Y, Person M (2007) IKKalpha shields 14-3-3sigma, a G(2)/M cell cycle checkpoint gene, from hypermethylation, preventing its silencing. *Mol Cell* 27: 214-227
217. Zurita M, Lara PC, del Moral R, Torres B, Linares-Fernandez JL, Arrabal SR, Martinez-Galan J, Oliver FJ, Ruiz de Almodovar JM (2010) Hypermethylated 14-3-3-sigma and ESR1 gene promoters in serum as candidate biomarkers for the diagnosis and treatment efficacy of breast cancer metastasis. *BMC Cancer* 10: 217

7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AP	Alkalische Phosphatase
BAD	Mitglied der Bcl-2 (B-cell lymphoma-2) Familie
BCC	Basalzellkarzinom
BCNS	Basalzellnaevus-Syndrom
CDK	Cyclin-abhängige Kinase
CpG-Inseln	Cytosin-phosphatidyl-Guanosin-Inseln, Regionen im Genom von Eukaryoten mit statistisch erhöhter CpG-Dinukleotid-Dichte
Dhh	Drosophila Hedgehog
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EGFR	Epidermal growth factor receptor
HCl	Chlorwasserstoff
HER2	Human epidermal growth factor receptor 2
Hh	Hedgehog
HME-1	Human mammary epithelium-specific marker-1
H3-K9	Trimethyliertes Histon H3 Lysin 9
Ihh	Indian Hedgehog
IKK	I κ B-Kinase
KRAS	Kirsten rat sarcoma viral oncogene
LSAB	Labelled-Streptavidin-Biotin
MAPK	Mitogen activated protein kinase
MEKK3	MAP/ERK kinase kinase 3, MAP3K3, Mitogen activated protein kinase kinase kinase 3
MKC	Mikrographisch kontrollierte Chirurgie
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
NBCCS	Nävöides Basalzellkarzinom-Syndrom
NEMO	NF- κ B essenzieller Modulator
NF- κ B	Nuklearer Faktor- κ B
PDT	Photodynamische Therapie
Ptch	Patched
PUVA	Psoralen plus UV-A, Photochemotherapie in der Dermatologie
Raf	Rapidly growing fibrosarcoma, Familie von Proteinkinasen, zu den Proteinkinasen der heterogenen Klasse EC 2.7.11.1 zugehörig

Ras	Siehe KRAS
Shh	Sonic Hedgehog
Smo	Smoothened
Sufu	Suppressor of Fused
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
Trc8	Translocation in renal carcinoma in chromosome 8
UV	Ultraviolett

Danksagung

Hiermit möchte ich allen danken, die am Zustandekommen dieser Arbeit beteiligt waren.

Ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater PD Dr. med. Thomas Herzinger für die Bereitstellung des interessanten Themas dieser Doktorarbeit, die fortwährende Betreuung und Unterstützung und die sehr hilfreichen und wegweisenden Anregungen und Diskussionen.

Ein herzlicher Dank gilt meinen Eltern, die mir das Medizinstudium ermöglichten, mir jederzeit und in jeder Hinsicht mit Rat und Tat zur Seite standen und mir letztlich die notwendige Ruhe und Sicherheit für die Erstellung dieser Arbeit gaben. Ihnen widme ich diese Doktorarbeit.