

**Die Expression der Adhäsionsmoleküle E-Cadherin und CD44
in malignen Pleuramesotheliomen
und der Zusammenhang mit Überlebenszeiten**

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin der
Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Roland Raphael SIEFER
aus Essen

2005

Aus dem Medizinischen Zentrum für Pathologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Leiter:

Prof. Dr. med. A. Schulz

Gutachter: Prof. Dr. med. A. Schulz

Gutachter: Prof. Dr. med. H. Morr

Tag der Disputation: 17.11.2006

Inhaltsverzeichnis

	Inhaltsverzeichnis	3
1	Einleitung	6
1.1	Das maligne Pleuramesotheliom	6
1.1.1	Asbest	7
1.1.2	Ätiologie	8
1.1.3	Definition, Morphologie	10
1.1.4	Pathogenese	11
1.1.5	Epidemiologie, Häufigkeit	13
1.1.6	Symptome, Krankheitsverlauf, Wachstum	14
1.1.7	Diagnostik	15
1.1.8	Klassifikation, Staging	17
	<i>Tabelle 1: Staging von Butchard et al. 1976</i>	17
	<i>Tabelle 2: Internationales neues TNM-System</i>	18
	<i>Tabelle 3: TNM-Klassifikation</i>	18
1.1.9	Prognosefaktoren	20
	<i>Tabelle 4: Prognosefaktoren I</i>	20
	<i>Tabelle 5: Prognosefaktoren II</i>	21
1.1.10	Therapie	22
	<i>Tabelle 6: Monotherapien</i>	24
	<i>Tabelle 7: Chemotherapiekombinationen</i>	24
	<i>Tabelle 8: Forschungsansätze in der Gentherapie</i>	26
1.2	Adhäsionsmoleküle und Regulation	29
1.3	Adhäsionsmoleküle und Metastasierung	30
1.4	Cadherine	31
1.4.1	E-Cadherin	32
1.4.2	E-Cadherin und „Downregulation“	33
	<i>Tabelle 9: Studien zur E-Cadherin-Expression in menschlichen Karzinomen</i>	33
1.4.3	E-Cadherin und Prognose	36
1.4.4	E-Cadherin-Expression und Pleuramesotheliom	37
1.5	CD44	38
1.5.1	CD44 auf normalem Gewebe	39
1.5.2	CD44-Expression und Tumorprogression	40
1.5.3	CD44, Tumorprogression und schlechte Prognose	42
1.5.4	CD44 und „Downregulation“	44
1.5.5	CD44-Expression und Pleuramesotheliom	45
1.6	Fragestellung	46
2.0	Material und Methoden	47
	<i>Tabelle 10: Verwendete monoklonale Antikörper</i>	47
2.1	Untersuchungsmaterial	47
	<i>Tabelle 11: Liste der untersuchten malignen Pleuramesotheliome</i>	47
	<i>Tabelle 12: Fälle mit bekannten Überlebenszeiten</i>	50
2.2	Interpretation der Ergebnisse	51
	<i>Tabelle 13: Diagnosescore</i>	51
2.3	Statistische Methoden	52

3.0	Ergebnisse	53
	<i>Tabelle 14: Positive Ergebnisse</i>	53
	<i>Tabelle 15: Überlebenszeiten der Patienten aus der Gimes-Studie</i>	53
	<i>Tabelle 16: Überlebenszeiten</i>	54
3.1	APAAP-Färbung mit Anti-E-Cadherin	55
	<i>Tabelle 17: Positive Ergebnisse E-Cadherin</i>	55
	<i>Tabelle 18: Positive Ergebnisse E-Cadherin</i>	55
	<i>Tabelle 19: Intensität der Färbung</i>	56
	<i>Tabelle 20: E-Cadherin an Zellmembranen und im Zytoplasma</i>	56
	<i>Abbildungen 57ff</i>	
3.2	APAAP-Färbung mit Anti-CD44H	60
	<i>Tabelle 21: Positive Ergebnisse</i>	60
	<i>Tabelle 22: Positive Ergebnisse</i>	60
	<i>Tabelle 23: Intensität der Färbung</i>	61
	<i>Tabelle 24: CD44H an Zellmembranen und im Zytoplasma</i>	61
	<i>Abbildungen 62ff</i>	
3.3	APAAP-Färbung mit Anti-CD44V3	64
	<i>Tabelle 25: Positive Ergebnisse</i>	64
	<i>Tabelle 26: Positive Ergebnisse</i>	64
	<i>Tabelle 27: Intensität der Färbung</i>	65
	<i>Tabelle 28: CD44V3 an Zellmembranen und im Zytoplasma</i>	65
	<i>Abbildungen 66ff</i>	
3.4	APAAP-Färbung mit Anti-CD44V5	68
	<i>Tabelle 29: Positive Ergebnisse</i>	68
	<i>Tabelle 30: Positive Ergebnisse</i>	68
	<i>Tabelle 31: Intensität der Färbung</i>	69
	<i>Tabelle 32: CD44V5 an Zellmembranen und im Zytoplasma</i>	69
	<i>Abbildungen 70ff</i>	
3.5	APAAP-Färbung mit Anti-CD44V6	72
	<i>Tabelle 33: Positive Ergebnisse</i>	72
	<i>Tabelle 34: Positive Ergebnisse</i>	72
	<i>Tabelle 35: Intensität der Färbung</i>	73
	<i>Tabelle 36: CD44V6 an Zellmembranen und im Zytoplasma</i>	73
3.6	APAAP-Färbung mit Anti-CD44V9	74
	<i>Tabelle 37: Positive Ergebnisse</i>	74
	<i>Tabelle 38: Positive Ergebnisse</i>	74
	<i>Tabelle 39: Intensität der Färbung</i>	75
	<i>Tabelle 40: CD44V9 an Zellmembranen und im Zytoplasma</i>	75
	<i>Abbildungen 76ff</i>	
4	Diskussion E-Cadherin	79
4.1	Diskussion CD44H	85
4.2	Diskussion CD44V9	87
4.3	Diskussion CD44V6	88
4.4	Diskussion CD44V5	89

4.5	Diskussion CD44V3	90
5	Zusammenfassung	92
	Summary	94
6	Literaturverzeichnis	96
7	Anhang	108
7.1	Reagenzien	108
7.2	Arbeitsschritte	109
7.3	APAAP-Verfahren	110
7.4	Karnofsky-Index	111
7.5	<i>Tabelle 41: Liste der Ergebnisse für die einzelnen Antikörper</i>	112
7.6	Statistische Tests	115
7.6.1	Chi-Quadrat-Test Diagnose by CD44V9	115
7.6.2	Chi-Quadrat-Test Diagnose by CD44V6	116
7.6.3	Chi-Quadrat-Test Diagnose by CD44V5	117
7.6.4	Chi-Quadrat-Test Diagnose by CD44V3	118
7.6.5	Chi-Quadrat-Test Diagnose by E-Cadherin	119
7.6.6	Chi-Quadrat-Test Diagnose by CD44H	120
7.6.7	Mann-Whitney-U-Test für CD44V9	121
7.6.8	Mann-Whitney-U-Test für CD44V6	122
7.6.9	Mann-Whitney-U-Test für CD44V5	123
7.6.10	Mann-Whitney-U-Test für CD44V3	124
7.6.11	Mann-Whitney-U-Test für E-Cadherin	125
7.6.12	Mann-Whitney-U-Test für CD44H	126
8.0	Erklärung	127
9.0	Lebenslauf	128
10.0	Danksagung	129

1 Einleitung

1.1 Das maligne Pleuramesotheliom

In den vergangenen Jahrzehnten wurde Asbest in zunehmendem Maße in industriellen Produkten verwendet. In gleicher Weise stieg auch die Inzidenz des malignen Pleuramesothelioms. Aus diesem Grunde geriet diese Tumorerkrankung vermehrt in den Fokus wissenschaftlicher Interesse

In den letzten Jahren hat sich unser Verständnis der Ätiologie und Pathologie dieser Erkrankung, aber auch die therapeutischen Möglichkeiten, verbessert. An der schlechten Prognose von Patienten, die am malignen Pleuramesotheliom erkrankt sind, hat sich nur wenig geändert. Das aggressive Verhalten dieses Tumors und seine Resistenz gegenüber gängiger Tumorthherapie haben zeitweise zu einem therapeutischen Nihilismus geführt.

Für die Therapie solider maligner Tumoren ist die Bedeutung einer frühen Diagnostik, eines sorgfältigen Staging sowie die Identifizierung von Prognosefaktoren allgemein akzeptiert (Rusch und Venkatraman, 1996). Beim malignen Pleuramesotheliom ist jedoch die Diagnostik (Liewald 1989), das Staging (Rusch und Venkatraman, 1996) und die Definition von Prognosefaktoren mit Problemen behaftet.

1.1.1 Asbest

Asbest ist eine Sammelbezeichnung für faserförmige Mineralien aus der Gruppe der Silikate. Unterschieden werden Amphibole, zu denen Blauasbest (Krokydolith) gehört, und Serpentine, zu denen Weißasbest (Chrysotil) gehört (Sohrab et al. 1997). Asbestfasern besitzen eine große Beständigkeit gegenüber Hitze und Chemikalien und haben eine hohe Zugfestigkeit. Diese Eigenschaften führten zu einer breiten unkontrollierten industriellen Anwendung in den Jahren zwischen 1940 und 1980 (Bachmann und Vilmar, 1991).

Hauptanwendungsgebiete von Asbest waren in Deutschland Asbestzementprodukte für den Hoch- und Tiefbau, für Brems- und Kupplungsbeläge, Bodenbeläge sowie Asbesttextilien (Bachmann und Vilmar, 1991).

Die zunehmende wissenschaftliche Erforschung des Zusammenhangs zwischen Asbestexposition und dem Ausbruch verschiedener Erkrankungen, die im folgenden Text noch näher erläutert werden, führte zu einer wachsenden Sensibilisierung der Öffentlichkeit. Die Arbeitsschutzvorschriften wurden verschärft, die Asbestverarbeitung wurde drastisch reduziert. Noch 1980 wurden zirka 160 000 Tonnen Asbest in den alten Bundesländern verarbeitet. 1991 waren es weniger als 10 000 Tonnen (Bachmann und Vilmar, 1991).

1.1.2 Ätiologie

Bei Verarbeitung, mechanischer Beanspruchung, Verschleiß und Verwitterung von Asbest entsteht Staub, der kaum sedimentiert, sondern aufgewirbelt und inhaliert werden kann.

Als kritische Abmessungen gelten Faserlängen oberhalb $5\mu\text{m}$, Faserdurchmesser unterhalb $3\mu\text{m}$ und ein Verhältnis von Länge zu Durchmesser oberhalb 3:1 (Bachmann und Vilmar, 1991). Diese Fasern können inhaliert werden.

Bei Immissionsmessungen in Reinluftgebieten wurden 200 Asbestfasern kritischer Abmessung pro Kubikmeter Luft gemessen (Länge $> 5\mu\text{m}$, Durchmesser $< 3\mu\text{m}$, Länge zu Durchmesser $> 3:1$). Messungen in Städten an Straßenkreuzungen ergaben Werte um 1000 Fasern pro Kubikmeter Luft. Immissionsmessungen in der Umgebung von Asbestfabriken ergaben Werte um 2000 Asbestfasern pro Kubikmeter Luft. In Gebäuden mit asbesthaltigen Materialien dagegen konnten bis zu 15000 Asbestfasern pro Kubikmeter Luft erfasst werden. Maximalwerte von 50 Millionen Fasern pro Kubikmeter Luft können nach Arbeiten mit Trennschleifern in Räumen gemessen werden (Müller und Krismann, 1996). Die Asbestexposition entsprechender Arbeitsplätze ist laut Müller und Krismann (1996) im Vergleich zur normalen Umweltgefährdung durch Asbest rund 100 bis 10 000 fach höher.

Für die Praxis und Klinik gilt, dass Asbestexposition am Arbeitsplatz, in der Nachbarschaft von Asbestminen und durch Haushaltskontakte in 90 Prozent Ursache der Entstehung eines malignen Pleuramesothelioms ist. In den verbleibende Fällen muss eine andere Genese, zum Beispiel andere faserförmige Stäube, pathogenetisch diskutiert werden (Müller und Krismann, 1996). Nach Woitowitz und Großgarten (1991) ist das maligne Pleuramesotheliom ein Signaltumor einer zurückliegenden Asbestfaserstaubbelastung.

In einer Übersichtsarbeit von 1983 wiesen Pelnar et al. auf den möglichen Zusammenhang zwischen der Entstehung eines malignen Pleuramesothelioms und der Exposition mit anderen Noxen wie Tuberkelbakterien, Schwermetallen, Traumen, Strahlenbehandlung und Thorotrast hin. Ferner konnten im Tierexperiment maligne Pleuramesotheliome auch durch verschiedene chemische Substanzen, Diatomeenerde und einige Viren erzeugt werden (Woitowitz und Großgarten, 1991). Neben dem malignen Pleuramesotheliom werden durch Asbest folgende Erkrankungen verursacht:

1. Asbestose mit unspezifischer Fremdkörperreaktion und fibrosierenden Veränderungen der Lunge
2. Asbestassoziierte Pleuraveränderungen, zum Beispiel Asbestpleuritis und Hyalinosis complicata der Pleura parietalis, die mit hyalinen oder verkalkten Plaques der Pleura einhergehen
3. Das asbestassoziierte Lungen- und Kehlkopfkarcinom (Sohrab und Hinterthaler, 2000; Müller und Krismann, 1996)

In dieser Arbeit soll es ausschließlich um das maligne Pleuramesotheliom gehen.

Da die kausalpathogenetische Zuordnung einer asbestassoziierten Erkrankung nicht immer einfach ist, hat man in Deutschland für die Berufskrankheitsverfahren den Begriff des Faserjahres eingeführt. Das Faserjahr ist ein Produkt aus Einwirkungsdauer und Faserkonzentration. Bezugsgröße ist eine Achtstundenschicht an fünf Wochentagen. Berechnet wird die prozentuale Expositionszeit über den zur Diskussion stehenden Zeitraum, Messgröße ist die Konzentration von Asbestfasern einer Länge $> 5\mu\text{m}$ pro Kubikmeter Atemluft (Sohrab und Hinterthaler, 2000).

1977 wurde das maligne Pleuramesotheliom als Berufskrankheit unter der Ziffer 4105 der BeKV anerkannt. Seit der Änderung der Berufskrankheitenverordnung von 1992 ist auch das asbestassoziierte maligne Pleuramesotheliom des Perikards unter der Ziffer 4105 anerkannt (Müller und Krismann, 1996).

1.1.3 Definition, Morphologie

Das maligne Pleuramesotheliom ist ein bösartiger Tumor, der von den Mesothelzellen der serösen Häute ausgeht. Betroffen sind Pleura, Perikard, Peritoneum, Tunica vaginalis Testis und Ovar (Stermann et al., 1999).

Das maligne Pleuramesotheliom wird in drei Kategorien eingeteilt:

1. Das lokalisierte benigne Mesotheliom
2. Das lokalisierte maligne Pleuramesotheliom
3. Das diffuse maligne Pleuramesotheliom

In Abhängigkeit von der Morphologie unterscheidet man epitheliale, sarkomatöse und diffuse maligne Pleuramesotheliome (diffuse maligne Pleuramesotheliome sind sowohl epithelial als auch sarkomatös und werden auch biphasisch genannt) (Stermann et al., 1999).

Makroskopisch erscheint das maligne Pleuramesotheliom als ein häufig einseitig auftretender, in der Regel beide Pleurablätter betreffender, flächenhafter Tumor. Dieser imponiert im Frühstadium mit zahlreichen kleinen Knötchen und kann die Lunge später vollständig ummauern. Benachbarte Strukturen wie Lungengewebe, Herzbeutel, Zwerchfell, Leber oder Thoraxwand können infiltriert werden. Die Lunge wird dabei teilweise bis auf Faustgröße komprimiert und das Zwerchfell nach kaudal vorgewölbt (Müller und Krismann, 1996; Hartmann et al., 1985; Boutin et al., 1998).

Mikroskopisch unterscheidet man die drei genannten Zelltypen. Das Wachstumsmuster ist aber ausgesprochen variantenreich. Diese epithelialen, sarkomatösen oder gemischten Zellbilder sind im Idealfall geprägt durch auffällig helle, rund bis ovale, uniforme Zellkerne, die eine kräftige Zellmembran und einen großen Nukleolus besitzen. Innerhalb eines Tumors können verschiedene Zellbilder auftreten und andere Tumoren wie das Adenokarzinom der Lunge oder entzündlich-reaktive Veränderungen imitieren (Müller und Krismann, 1996; Hartmann et al., 1985; Boutin et al. 1998).

1.1.4 Pathogenese

Die Form der Asbestfasern kritischer Abmessung sowie deren biologische Beständigkeit ist laut Woitowitz und Großgarten (1991) als wesentliches pathogenes Prinzip der Tumorinduktion anzusehen.

Asbestfasern kritischer Abmessung erreichen nach Inhalation die Bronchiolen und Alveolen und können durch das pulmonale Interstitium Richtung Pleura wandern. Dort sind sie autoptisch nachweisbar. Mittels radioaktiver Tracertechnik konnten Morgan et al. (1977) die Pleuragängigkeit der Asbestfasern im Tierversuch nachweisen.

Nach Bielefeldt-Ohmann et. al. (1996) ist die Entstehung des malignen Pleuramesothelioms ein multifaktorielles Geschehen. Eine Rolle spielen chronische entzündliche Reaktionen, genetische Veränderungen der Mesothelzellen und eine lokale Ausschaltung des Immunsystems.

Chromosomale Veränderungen wie zum Beispiel eine Deletion der Regionen 1p, 3p, 9p, 6q oder der Verlust von Chromosom 22 können in Zellen des malignen Pleuramesothelioms gefunden werden. Auch der Verlust von Tumorsuppressorgenen wie CDKN2A auf Lokus 9p21 und Neurofibromatose 2 auf Chromosom 22 können zum Tumorwachstum beitragen (Pistolesi et al., 2004).

In den letzten Jahren wurde in einer Reihe von PCR-gestützten Untersuchungen in malignen Pleuramesotheliomen Simian Virus 40-DNA (SV 40) gefunden (Strickler, 2001; Strickler et al., 2003). SV 40 wurde 1960 entdeckt und infiziert normalerweise asiatische Makaken (Meerkatzenaffen). Bei Nagetieren kann das Virus Tumore induzieren. Zwischen 1950 und 1963 war Polioimpfstoff, welcher in Europa und den USA verwendet wurde, durch SV 40 verunreinigt (Strickler et al., 2003). Einige Autoren wiesen darauf hin, dass es einen Zusammenhang zwischen der Infektion durch SV 40 und dem Auftreten des malignen Pleuramesothelioms geben könnte (Strickler, 2001).

Andere Untersuchungen zeigen, dass SV 40 als Cokarzinogen wirken kann, da sich in Zellkulturen die Anzahl von Transformationsherden in Anwesenheit von Asbest und SV 40 erhöht (Strickler et al., 2003).

Derzeit wird jedoch eine wachsende Zahl von Untersuchungen publiziert, in welchen SV 40 in malignen Pleuramesotheliomen nicht nachgewiesen werden kann (Mayall et al., 2003). Es verdichten sich Hinweise für eine Verunreinigung der in den oben

genannten Studien verwendeten PCR-Reagenzien mit SV 40-DNA (Lopez-Rios et al., 2004). Auch tritt in den Impfkohorten das maligne Pleuramesotheliom selten und nicht bei beiden Geschlechtern gleich häufig auf (Strickler et al., 2003). Weitere Untersuchungen zu diesem Thema müssen abgewartet werden.

1.1.5 Epidemiologie, Häufigkeit

Die Anzahl der Männer, welche jedes Jahr an den Folgen eines malignen Pleuramesothelioms versterben, wird sich über die nächsten 20 Jahre laut Peto et al. (1999) nahezu verdoppeln. 1998 verstarben rund 5000 Männer europaweit, 2018 werden es voraussichtlich 9000 sein. In den nächsten 33 Jahren werden also rund 250000 Menschen am malignen Pleuramesotheliom versterben. Erst danach werden die Erkrankungen und Todesfälle in Westeuropa zurückgehen.

Das höchste Risiko haben in Europa Männer, die in den Jahren 1945 bis 1950 geboren sind. In den USA wurde der Gipfel der Inzidenz und Mortalität des malignen Pleuramesothelioms bereits vor dem Jahre 2000 erreicht (Peto et al., 1999).

Diese Zahlen reflektieren einerseits den industriellen Umgang mit Asbest in Westeuropa bis in die achtziger Jahre, andererseits demonstrieren sie die lange Latenzzeit zwischen der Asbestexposition und dem Ausbruch der Erkrankung. Die Latenzzeit liegt für das maligne Pleuramesotheliom bei 35 Jahren, mit einer Schwankungsbreite von acht bis 60 Jahren. Woitowitz und Großgarten sprachen 1991 in diesem Zusammenhang von einer Dreißigjahresregel der Latenzzeit. Die Dauer der Asbestexposition beträgt im Mittel 15 Jahre, im Extremfall nur wenige Wochen. Das Alter von Patienten ist beim Ausbruch der Erkrankung im Mittel 60 Jahre. Männer sind häufiger betroffen als Frauen (Boutin et al., 1998).

1.1.6 Symptome, Krankheitsverlauf, Wachstum

Die klinischen Symptome sind unspezifisch und abhängig von dem Verlauf der Erkrankung. Im frühen Stadium sind allgemeine Symptome wie Müdigkeit, Schwäche und Gewichtsverlust eher selten. Das Auftreten von Schmerzen ist im fortgeschrittenen Stadium häufig, selten dagegen im frühen Krankheitsverlauf. Ein Pleuraerguss ist bei Erstvorstellung der Patienten in 80 Prozent der Fälle vorhanden (Sohrab et al., 2000). Die Tatsache, dass der Erguss nach Punktion und Drainage erst nach Wochen nachläuft, kann zu einer Verschleppung der Diagnose führen. Die häufigsten angegebenen Symptome sind zunehmender Schmerz und Dyspnoe in drei Viertel der Fälle sowie Husten in einem Drittel der Fälle (Sohrab et al., 2000; Loddenkemper, 1991; Boutin et al., 1998).

Das maligne Pleuramesotheliom entwickelt sich über einen langen Zeitraum lokal, bevor es umliegende Organe infiltriert. Lunge und Zwerchfell sind von infiltrativem Wachstum zuerst betroffen. Das Peritoneum und die Leber können ebenfalls betroffen sein. Paraneoplastische Syndrome sind selten (Boutin et al., 1998).

Eine Ausbreitung in die Interkostalräume und die endothorakale Faszie ist besonders häufig (30 bis 50 Prozent) bei Patienten anzutreffen, bei denen diagnostische Punktionen durchgeführt wurden. Metastasierung ist selten. Zielorgane für eine Filialisierung sind Knochen, kontralaterale Lunge, Pleura und Gehirn. Insgesamt ist eine Metastasierung nach chirurgischer Intervention häufiger anzutreffen (Boutin et al., 1998).

1.1.7 Diagnostik

Die Diagnostik des malignen Pleuramesothelioms ist schwierig und erfordert eine enge Zusammenarbeit zwischen Ärzten verschiedener Fachdisziplinen.

Der Anamnese kommt wegen der langen Latenzzeit eine besondere Bedeutung zu. Allerdings ist in der Berufsanamnese eine Asbestbelastung häufig nicht leicht zu eruieren.

Die klinische Symptomatik bietet keine direkten Anhaltspunkte. Bei der körperlichen Untersuchung kann, im fortgeschrittenen Stadium, eine auf der betroffenen Seite verminderte Atemexkursion sowie ein abgeschwächtes Atemgeräusch auffallen (Geroulanos et al., 1990).

In der klinischen Laborroutine gibt es keine spezifischen, auf das maligne Pleuramesotheliom hinweisenden Parameter.

Man kann eine Leukozytose, Thrombozytose, Erhöhung der alkalischen Phosphatase und Laktatdehydrogenase finden. Auch routinemäßig verwendete Tumormarker führen nicht zu einer Diagnose. Das carcinoembryonale Antigen (CEA) kann in niedriger Konzentration angetroffen werden. Das „Tissue Polypeptide Specific Antigen“ (TPS) und Cytokeratinfragment 21-1 (CYFRA 21-1) können in erhöhter Konzentration gefunden werden (Sohrab et al., 2000).

Die Sonographie erlaubt die Darstellung des häufig anzutreffenden Pleuraerguß sowie der Tumorausdehnung und einer möglichen Infiltration von Zwerchfell und Abdomen.

Im Röntgenbild des Thorax imponieren eine diffuse oder knotige Pleuraverdickung oder eine Schrumpfung des Hemithorax. Häufig findet sich im Thoraxbild ein einseitig lokalisierter Pleuraerguss (Sohrab et al., 2000).

Die Computertomographie ist für die Diagnose und Stadieneinteilung des malignen Pleuramesothelioms ein wesentliches diagnostisches Element. Tumorgröße, Infiltrationen der benachbarten Strukturen wie Lunge, Perikard und Brustwand sowie mediastinaler Lymphknoten sind möglich. Die diagnostische Sicherheit zur Stadieneinteilung ist hoch. So korrelieren bei 88 Prozent der Patienten CT-Befunde mit durch Thorakoskopie erhobenen Befunden (Maasilta et al., 1991). Die Magnetresonanztomographie ist dem CT in einigen Fragestellungen überlegen. So wird die Infiltration des Zwerchfells und des Peritoneums, die Tumorausbreitung in die Interlobärspalten und die Zerstörung knöcherner Strukturen besser dargestellt (Knuutila et al., 1998).

Die Pleurapunktion erbringt entweder einen serösen (50 Prozent) oder hämorrhagischen (50 Prozent) Erguss mit erniedrigten Glucose- und pH-Werten (Loddenkemper und Boutin, 1993).

Das maligne Pleuramesotheliom ist mit der blinden Pleurabiopsie schlecht erreichbar. Diese hat eine Sensitivität von unter 50 Prozent (Sohrab et al., 2000).

Die Thorakoskopie hat bei der Diagnostik des malignen Pleuramesothelioms eine große Bedeutung. Auf endoskopischem Wege lässt sich in lokaler oder allgemeiner Anästhesie der betroffene Hemithorax makroskopisch beurteilen. Verwendet werden starre oder flexible Endoskope. Eine Biopsieentnahme ist unter Sicht möglich und führt zu einer Sensitivität dieses Untersuchungsverfahrens von 90 Prozent bis 95 Prozent. Adhäsionen der Pleura können die visuelle Beurteilbarkeit und Probenentnahme allerdings erschweren (Loddenkemper, 1991; Loddenkemper und Boutin, 1993; Boutin et al., 1995).

Eine schwerwiegende Komplikation ist die durch die Thorakoskopie bedingte Aussaat maligner Zellen. Eine prophylaktische dreimalige Bestrahlung zehn bis 15 Tage nach diagnostischer Thorakoskopie oder Biopsie reduziert das Risiko einer Metastasierung beträchtlich und muss als therapeutischer Standard angesehen werden (Boutin et al., 1995).

Die Bronchoskopie hat für die Diagnostik des malignen Pleuramesothelioms keine Bedeutung, kann aber zum Ausschluss eines Bronchialkarzinoms mit Pleuritis carcinomatosa herangezogen werden (Sohrab et al., 2000).

Die Mediastinoskopie und Laparoskopie haben Bedeutung insbesondere zur Stadieneinteilung vor geplanten resezierenden Eingriffen (Sohrab et al., 2000).

Die zytologische Aufarbeitung gewonnener Exsudate ist in 50 Prozent positiv. Die Unterscheidung zwischen Zellen des malignen Pleuramesothelioms und reaktiv-entzündlich veränderten Zellen ist jedoch nicht immer zweifelsfrei möglich (Ordonez, 1997). Auch die lichtmikroskopische Diagnose histologischer Präparate, insbesondere die Unterscheidung zwischen Adenokarzinom und malignem Pleuramesotheliom, ist schwierig. Aus diesem Grunde werden zusätzliche Verfahren wie Immunhistochemie und Elektronenmikroskopie verwendet. Mittels einer Markerkombination aus Calretinin, Keratin, Vimentin und BMA ist auf immunhistochemischem Wege in 90 Prozent der Fälle eine diagnostische Entscheidung möglich.

1.1.8 Klassifikation, Staging

Ein großer Teil der Probleme in der Forschung und Therapie des malignen Pleuramesothelioms hängt mit fehlender Vergleichbarkeit und heterogenen Patientenpopulationen zusammen. In den letzten 20 Jahren wurden allein fünf verschiedene Staging-Systeme vorgeschlagen (Rusch, 1999).

Die erste veröffentlichte Klassifikation wurde von Butchart et al. 1976 vorgeschlagen. Wegen ihrer Einfachheit wird sie vielfach noch verwendet. Allerdings sind frühe Tumorstadien in dieser Klassifikation nicht berücksichtigt (Butchart et al., 1976; Rusch, 1999).

Tabelle 1: Staging von Butchart et al. 1976

Stage	Clinicopathological staging
1	Tumour confined within the "capsule" of the parietal Pleura, i.e., involving only ipsilateral pleura, lung, pericardium, and diaphragm.
2	Tumour involving chest wall or involving mediastinal structures, e.g., esophagus, heart, opposite pleura. Lymphnode involvement within the chest.
3	Tumour penetrating diaphragm to involve peritoneum. Involvement of opposite pleura. Lymph node involvement outside the chest.
4	Distant blood-borne metastases.

Das gängigste Stagingssystem ist die TNM-Klassifikation der International Mesothelioma Interest Group von 1995. Diese Klassifikation beinhaltet eine differenzierte Beschreibung verschiedener Stadien von der isolierten Läsion an der parietalen Pleura bis hin zu fortgeschrittenen Stadien (Rusch und Vankatramen, 1996). Dieses System erlaubt eine deutlich bessere Vergleichbarkeit von Patientenpopulationen und Forschungsergebnissen. Sugarbaker et al. diskutierten in einer Arbeit von 1999 den Stellenwert des Lymphknotenstatus und der Metastasen für das Staging des malignen Pleuramesothelioms. Da Metastasen ein spätes und seltenes Phänomen sind, so die Autoren, spielen sie für eine Klassifikation des malignen Pleuramesothelioms eine eher untergeordnete Rolle.

Rusch und Venkatramen untersuchten 1996 die Überlebenszeiten von 131 operierten Mesotheliompatienten und zeigten, dass sowohl das operative Verfahren als auch der histologische Typ (epitheliales malignes Pleuramesotheliom), T- und N-Status, Stage und adjuvante Therapie Einfluss auf die Überlebenszeit haben, nicht jedoch Alter und Geschlecht. Ferner zeigten sie, dass das Stagingssystem der

International Mesothelioma Interest Group verlässlich Patienten identifiziert, welche eine schlechte Prognose haben und damit einer palliativen Therapie zugeführt werden sollten. Rusch (1999) und Subroto et al. (2004) betonen ferner die Wichtigkeit einer präoperativen Evaluation insbesondere des Ernährungszustandes, des kardialen Status (Echokardiographie), der Lungenfunktion und eines genauen präoperativen Staging mittels invasiver und bildgebender Verfahren.

Tabelle 2: Internationales neues TNM-System

(International Mesothelioma Interest Group 1995)

T1	T1a	Tumour limited to the ipsilateral parietal pleura including mediastinal and diaphragmatic pleura. No involvement of the visceral pleura.
	T1b	Tumour involving the ipsilateral parietal pleura, including mediastinal and diaphragmatic pleura. Scattered foci of tumour also involving the visceral pleura.
T2		Tumour involving each of the ipsilateral surfaces (parietal, mediastinal, diaphragmatic and visceral pleura) with at least one of the following features: Involvement of diaphragmatic muscle, confluent visceral pleural tumour (including the fissure) or extension of the tumour from visceral pleura into the underlying pulmonary parenchyma.
T3		Locally advanced but potentially resectable tumour. Tumour involving all of the ipsilateral pleural surfaces (parietal, mediastinal, diaphragmatic and visceral pleura) with at least one of the following features: Involvement of the thoracic fascia, extension to the mediastinal fat, solitary, completely resectable focus of the tumour extending into the soft tissues of the chestwall, nontransmural involvement of the pericardium.
T4		Locally advanced technically unresectable tumour. Tumour involving all of the ipsilateral pleural surfaces (parietal, mediastinal, diaphragmatic and visceral pleura) with at least one of the following features: Diffuse extension or multifocal masses of tumour in the chestwall, with or without associated rib destruction. Direct transdiaphragmatic extension of the tumour in the peritoneum. Direct extension of the tumour to the contralateral pleura. Direct extension of the tumour to one or more mediastinal organs. Direct extension of the tumour into the spine.

Aus: Rusch u. Vankatramen (1996)

Tabelle 3: TNM-Klassifikation (aus Rusch u. Vankatramen 1996)

N= Lymph nodes	
NX	regional lymph nodes cannot be assessed
N0	no regional lymph node metastases
N1	metastases in the ipsilateral bronchopulmonary or hilar lymph nodes
N2	metastases in the subcarinal or the ipsilateral mediastinal lymphnodes including the ipsilateral internal thoracic nodes.
N3	metastases in the contralateral mediastinal, contralateral internal thoracic, ipsilateral, or contralateral supraclavicular lymph nodes

M= metastases	
MX	presence of distant metastases cannot be assessed
M0	no distant metastases
M1	distant metastases present

Stage 1	T1a N0 Mo
1a	T1b N0 M0
Stage 2	T2 No Mo
Stage 3	Any N0 M0
	Any N1 M0
	Any N2 M0
Stage 4	Any T4
	Any N3
	Any M1

1.1.9 Prognosefaktoren

Ein weiteres Problem in der Erforschung und Therapie des malignen Pleuramesothelioms ist die Identifizierung von Prognosefaktoren. Keine therapeutische Option kann in klinischen Studien effektiv beurteilt werden, wenn nicht Patientengruppen identifiziert werden können, die eine einheitliche Prognose haben (Rusch, 1999). So definierten in der Vergangenheit einige Arbeitsgruppen Prognosefaktoren für das maligne Pleuramesotheliom. Rusch u. Vankatramen wiesen 1996 darauf hin, dass ein epithelialer Zelltyp mit einer besseren Prognose einhergeht. Bestätigung fand diese These in einer Veröffentlichung von Herndon et al. (1998) und Sugarbaker et al. (1998), in der der epitheliale Zelltyp mit einer besseren Prognose vergesellschaftet war. Die letztgenannte Arbeitsgruppe identifizierte ferner tumorfreie Resektionsränder und metastasenfremde, extrapleurale Lymphknoten als weitere Faktoren, die mit einer besseren postoperativen Prognose verbunden sind. Weitere Einzelheiten zu Prognosefaktoren sind in der tabellarischen Übersicht unten zusammengefasst.

Tabelle 4: Prognosefaktoren I

Autor	Herndon	Alberts	Antman	Ruffie	Rusch	Boutin	Rusch
Jahr	1998	1988	1988	1989	1991	1993	1995
Patienten	57	262	136	170	83	188	131
Überleb.-Zeit in Monaten	13	9,6	15	9	10	16	-
Faktoren mit besserer Prognose	Epith. Zelltyp, Alter <65, körp. Status bei Aufn., chirurg. Therapie	Behandl., weiße Hautfarb., Intervall zwischen ersten Sympt. und Diagnose <6 Monate, Stage 1	Epith. Zelltyp, keine Thoraxschmerzen, Intervall zwischen ersten Sympt. und Diagnose <6 Monate, chirurg. Therapie	Stage 1, Thrombozyten normal, kein Gew.-Verlust	Epith. Zell-Typ	Epith. Zelltyp, Stage 1a, körp. Status bei Aufnahme gut, Läsionen <5mm	Epith. Zelltyp, chirurg. Verf., T und N Status, Stage, adjuv. Chem. Therapie

Aus Boutin et al. (1998).

Tabelle 5: Prognosefaktoren II

Autor	CALGB (Cancer and Leuk. Group B)	EORTC (Europ. Organ. For Research and Treatment of Cancer)
Jahr	1998	1998
Faktoren für eine schlechte Prognose	Körperlicher Status, Brustschmerz, Dyspnoe, Thrombozyten >400 000/ Mikroliter, Gewichtsverlust, Alter >75, nicht epithelialer Zelltyp, LDH > 500 IU/l	Leukozytose, männliches Geschlecht, sarkomatöser Zelltyp

Aus : Pistolessi et al. (2004)

Weitere biologische Marker können mit einer schlechten Prognose des malignen Pleuramesothelioms einhergehen. Der Nachweis von SV 40 in Mesotheliomzellen ist ein Co-Faktor für eine schlechte Prognose des malignen Pleuramesothelioms (Procopio et al., 2000). Überexpression bestimmter Marker wie zum Beispiel des Alphafolatrezeptors, und der Cyclooxygenase 2 (Cox 2) können prognostische Relevanz haben.

1.1.10 Therapie

Noch vor wenigen Jahren gab es keine ermutigenden therapeutischen Konzepte zur Behandlung des malignen Pleuramesothelioms. Dies hat sich mit der Einführung multimodaler Therapieansätze und einer differenzierten Patientenselektion geringfügig geändert (Stermann et al., 1999; Eberhardt, 2004).

Die alleinige Strahlentherapie hat sich in allen vorliegenden Studien als Therapie nicht bewährt. Einer der Hauptgründe hierfür ist das große Bestrahlungsfeld, welches neben dem Tumor eine Reihe von lebenswichtigen Organen enthält. Um eine adäquate Wirkung auf die Mesotheliomzellen zu erreichen, muss eine Dosis von 60 Gray (Gy) gewählt werden. Die normale Gewebstoleranz der umgebenden Organe liegt aber weit unter 60 Gray. Die Lunge beispielsweise hat eine Toleranz von 18 bis 20 Gray. Der Zielstrahl muss die gesamte Pleura, das Zwerchfell und das Mediastinum erreichen. So kann es an Herz, kontralateraler Lunge, Leber, Wirbelsäule, Ösophagus zu Strahlenschäden kommen. Begleiterkrankungen sind entsprechend häufig (Stermann et al., 1998; Baldini, 2004).

Die Strahlentherapie scheint jedoch als Zusatz zu chirurgischer Resektion sowohl in Form externer Bestrahlung als auch in Form einer Brachytherapie mit direkter intrapleuraler Instillation von radioaktiven Isotopen erwägenswert zu sein (Stermann et al., 1998). Die lokale prophylaktische Bestrahlung zur Vermeidung der Metastasierung per continuitatem nach Punktionen, Nadelbiopsien, Thorakoskopien hat sich in einer randomisierten Studie als erfolgreich erwiesen. Eine dreimalige Radiatio mit sieben Gray zehn bis 15 Tage nach Thorakoskopie vermag Metastasen an der Punktionsstelle wirksam zu bekämpfen (Boutin et al., 1995).

Für den Strahlentherapeuten gibt es zwei Optionen: Wenn die ipsilaterale Lunge noch intakt ist, muss er eine suboptimale Dosis von 20 bis 40 Gray wählen. Wenn die ipsilaterale Lunge reseziert wurde, kann er eine höhere Dosis von 45 bis 55 Gray wählen. Eine radikale Bestrahlungstherapie ist unter drei verschiedenen Szenarien denkbar: Als primäre Therapie des nicht operationsfähigen malignen Pleuramesothelioms und noch intakter Lunge in Kombination mit einer Chemotherapie, als adjuvante Therapie der ipsilateralen Seite nach Pleurektomie oder Dekortikation mit noch intakter Lunge und als adjuvante Therapie der ipsilateralen Seite nach extrapleuraler Pneumonektomie. All diese Szenarien sind technisch problematisch. Einigermaßen sicher kann aber eine radikale Bestrahlung nur in Situationen erfolgen, in denen auf ipsilateraler Seite kein funktionstüchtiges

Lungengewebe mehr vorhanden ist (Baldini, 2004). Letztendlich kann durch die Bestrahlung im Rahmen multimodaler Therapiekonzepte eine Verminderung lokaler und systemischer Rezidive und eine Besserung der Symptomatik erreicht werden (Baldini, 2004; Subroto et al., 2004).

Für die routinemäßige Anwendung von Chemotherapien mit kurativer Zielsetzung gibt es derzeit keine Indikation. Dies gilt sowohl für die Behandlung mit Einzelsubstanzen als auch für die Polychemotherapie. In den letzten 20 Jahren gab es eine ganze Reihe von Studien, die alle ein schlechtes bis mäßiges Ansprechen auf die bekannten Chemotherapeutika dokumentieren (Stermann et al., 1999; Boutin et al., 1998)

Paclitaxel als Einzelsubstanz hat keine signifikante Wirkung gegen das maligne Pleuramesotheliom, könnte aber als „Radiosensitizer“ dienen. In einzelnen Fällen, in denen ein partielles Ansprechen dieser Substanz dokumentiert werden konnte, wurde dieser Effekt mit kardialen Arrhythmien und peripherer Neuropathie erkauft (Stermann et al., 1998; Stermann et al., 1999). Docetaxel zeigte eine Ansprechrate von nur zehn Prozent. Andere neuere Substanzen haben in kleinen Pilotstudien Aktivität gegen das maligne Pleuramesotheliom gezeigt und Symptome gebessert. Zu diesen Substanzen gehören Gemcitabin und Protein P-30, eine neue Ribonuklease, welche aus den Beinen des Leopardfrosches isoliert wird. Phase II-Studien zeigen aber lediglich eine Ansprechrate von sieben Prozent für diese Substanzen (Pistolesi et al., 2004). Vinorelbine hat unter den Vinkaalkaloiden als Monotherapie die besten Ergebnisse gebracht. Eine wöchentliche Verabreichung von Vinorelbine in Standarddosierung zeigt Ansprechraten von bis zu 24 Prozent. Hochdosierte Gabe von Methotrexat brachte in einer Phase II Studie eine Ansprechrate von 37 Prozent. Diese Daten müssen jedoch durch entsprechende kontrollierte und randomisierte Studien bestätigt werden. Eine Phase II Studie zur Monotherapie mit Raltitrexed wird demnächst veröffentlicht. Unter der Kombination von Oxaliplatin mit Gemcitabine konnten Ansprechraten von 41 Prozent erreicht werden (Schuette, 2002). Vinorelbine und Oxaliplatin hingegen erreichten Ansprechraten, die nur wenig über der Wirkung der Einzelsubstanzen lagen (23 Prozent). Weitere Kombinationen sind in der Tabelle unten zusammengefasst.

Eine vielversprechende Option ist die Substanz Pemetrexed, ein neues Antifolat, welches in Phase II-Studien als Monosubstanz (16 Prozent Ansprechrate) und in Kombination mit Cisplatin (41 Prozent Ansprechrate) bereits untersucht wurde. Diese

Kombination zeigte sowohl eine Besserung der Symptomatik als auch pulmonaler Funktionstests. Diese Kombinationstherapie sollte als Standardtherapie für Patienten mit nicht resektablem malignen Pleuramesotheliom erwogen werden (Pistolesi et al., 2004).

Tabelle 6: Monotherapien

Wirkstoff	Anzahl der Patienten	Ansprechrate %	Quelle
Doxorubicin	51	14	Lerner et al. 1983
Epirubicin	21	5	Magri et al. 1991
Mitomycin C	19	21	Bajorin et al. 1987
Cisplatin alle 21 Tage	35	14	Zidar et al. 1988
Cisplatin wöchentlich	14	36	Planting et al. 1994
Carboplatin	31	16	Raghaven et al. 1994
5-Flourouracil	20	16	Harvey et al 1984
Methotrexat	60	37	Solheim et al. 1992
Paclitaxel	25	0	Van Meerbeeck et al. 1996
Docetaxel	30	10	Vorobiof et al. 2000
Vinorelbin	29	24	Steele et al. 2000
Gemcitabin	27	7	Van Meerbeeck et al. 1999
Ifosfamid	26	4	Andersen et al. 1999
Temozolomid	27	4	Van Meerbeeck et al. 2002
Pemetrexed	65	16	Scagliotti et al. 2003

Aus: Pistolesi et al. 2004

Tabelle 7: Chemotherapiekombinationen

Wirkstoffkombinationen	Anzahl der Patienten	Ansprechraten in %	Überlebenszeit in Monaten (Median)
Doxorubicin/ Cyclophosphamid	36	11	8
Doxorubicin/Cisplatin	59	19	8
Doxorubicin/Cisplatin/Mitomycin	24	21	11
Epirubicin/Interleukin-2	21	5	NA
Cisplatin/Irinotecan	15	27	7
Cisplatin/Vinblastin	20	25	5-19
Cisplatin/Mitomycin C	35	26	7,7
Cisplatin/Mitomycin/Etoposid/Flourouracil	45	38	16
Cisplatin/Etoposid	25	24	9,5
Cisplatin/Gemcitabin	21	48	10
Cisplatin/Gemcitabin	32	15	10
Cisplatin/Pemetrexed	456	41	12.1
Carboplatin/Pemetrexed	27	32	14,8

Aus Pistolesi et al. (2004)

Die Immuntherapie ist eine weitere Therapieoption gegen das maligne Pleuramesotheliom. Proinflammatorische Zytokine sind in der Lage, die Immunresistenz des malignen Pleuramesothelioms zu überwinden. Dies hat zu einer Reihe von klinischen Untersuchungen mit Interferon- α 2a (IFN- α 2a), Interleukin 2 (IL-2), Interferon γ (IFN- γ) und Granulozyten-Makrophagen stimulierenden Faktoren (GM-CSF) geführt. Auf diesem Wege wurden verschiedene Grade der Tumorreduktion erreicht mit im besten Falle Gesamtansprechraten bis 20 Prozent und stadienassoziierten Ansprechraten bis 45 Prozent (Stermann et al., 1999; Boutin et al., 1994). Weitere Ergebnisse müssen hier abgewartet werden.

Die Gentherapie ist ein weiterer neuer experimenteller Therapieansatz im Kampf gegen das maligne Pleuramesotheliom. So wird beispielsweise ein „suicide“-Gen in die Zellen des Tumors eingeschleust. Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen ist ferner die Transduktion von DNA der Herpes Simplex Thymidinkinase (HSVtk) in die Mesotheliomzelle mittels eines Adenovirusvektors. Dadurch wird die Zelle für eine spätere Therapie mit Ganciclovir sensibilisiert. Dabei werden als Nebeneffekt benachbarte Zellen, deren Genom nicht verändert wurde, ebenfalls zerstört. Sowohl in Zellkulturen als auch im Tiermodell wurde von verschiedenen Forschungsgruppen gezeigt, dass abgeschwächte Adenovirus kodierende Herpes Simplex Thymidinkinase effektiv in Zellen des malignen Pleuramesothelioms einzuschleusen ist. Auf diesem Wege wird die Zelle des malignen Pleuramesothelioms für Ganciclovir sensibilisiert (Matthews und Boehme, 1999; Smythe et al., 1999).

Ein weiterer Forschungsansatz ist die Immunmodulation des Mesothelioms mittels intratumoraler Verabreichung von Zytokinen. So wird beispielsweise ein rekombinantes Vakzina Virus als Vektor verwendet, welches in der Lage ist, Interleukin 2 zu produzieren (Stermann et al., 1999). Auch die Immunmodulation mittels eines Gens, welches für das bakterielle „Heat-Shock-Protein“ (HSP-65) kodiert, ist Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen (Stermann et al., 1999). Bisher handelt es sich jedoch um experimentelle Therapieansätze. Weitere Forschungsansätze sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 8: Forschungsansätze in der Gentherapie

Strategie	Gen	Mechanismus	Studienort
„Suizid-Gen“	HSVtk	Übertragung von Enzymen, die toxische Metaboliten nach Ganciclovir-exposition bilden	University of Pennsylvania, Philadelphia
Immunmodulation	Zytokine (IL-2, GM-CSF)	Verstärkung der Immunreaktion gegen den Tumor	Queen Elizabeth 2 Medical Center, Perth, Australia
Kombination Suizid-Gen und Tumor-Vakzine	HSVtk welche durch modifizierte Zelllinien des Karzinoms des Ovars angezüchtet wurden	Übertragung von Enzymen, die toxische Metaboliten nach Ganciclovir-exposition bilden, und Stimulation der Immunreaktion gegen die Tumorzellen	Louisiana State University, New Orleans
Mutations-Kompensation	Antisens SV 40 TAg; wild type p16/p21, wild type p53	Inhibition von dominanten Oncogenen und „Tumorsuppressors“	Kein Protokoll vorhanden
Replizierende Viren	Replikationskompetente Adenoviren mit HSVtk-Gen	Tumorzellauflösung	University of Pennsylvania, Philadelphia

Aus: Sterman et al. 1999

Auch die Photodynamische Therapie (PDT) ist ein experimenteller Ansatz zur Therapie des malignen Pleuramesothelioms. Die PDT basiert auf der systemischen Gabe von lichtsensitiven Molekülen, so genannten „Photosensitizern“, welche sich in neoplastischen Zellen ansammeln und zytotoxische Metaboliten bilden, wenn sie mit Licht einer bestimmten Wellenlänge aktiviert werden (Baas et al., 1997; Pass u. Donongton, 1995). Bisher zeigten Studien wie zum Beispiel eine randomisierte Phase III-Studie von Bass et al. (1997) mit Chemo-Immunotherapie nach chirurgischer Resektion mit und ohne PDT keinen nennenswerten Vorteil in der PDT-Gruppe. In den USA und den Niederlanden laufen einige Phase I-Studien mit einem neuen „Photosensitizer“ (Meta-Tetrahydroxy-Phenylchlorin), der eine bessere Gewebsgängigkeit aufweist.

Eine abschließende Beurteilung dieses neuen Therapiekonzeptes ist nach derzeitiger Datenlage jedoch noch nicht möglich.

Ein weiterer neuer Therapieansatz betrifft den für die Entwicklung des malignen Pleuramesothelioms wichtigen Vascular Endothelial Growthfactor (VEGF). Drei Inhibitoren dieser Wachstumsfaktoren werden derzeit geprüft. Dazu gehören Bevacizumab, SU5416 und Thalidomid (Pistolesi et al., 2004).

Cox-2-Hemmer könnten eine therapeutische Potenz gegen das maligne Pleuramesotheliom haben. Es ist bekannt, dass COX-2-Rezeptoren auf Mesotheliomzellen überexprimiert werden (Pistolesi et al., 2004).

Die chirurgische Therapie des malignen Pleuramesothelioms ist ein tragender Pfeiler im Gebäude der therapeutischen Optionen. Zwei Verfahren spielen hier eine zentrale Rolle: die Pleurektomie mit oder ohne Dekortikation als palliatives Verfahren und die extrapleurale Pneumonektomie als potenziell kuratives Verfahren (Sohrab et al., 2000).

Die Pleurektomie ist das effektivste Mittel zur palliativen Bekämpfung rezidivierender Pleuraergüsse. Sie umfasst die Resektion der parietalen Pleura über eine posterolaterale Thorakotomie. Allerdings können zwerchfellnahe und mediastinale Pleuraanteile nicht reseziert werden.

Die extrapleurale Pneumonektomie (EPP) ist die radikale Alternative, welche parietale Pleura, ipsilaterale Lunge, ipsilaterales Perikard und Hemidiaphragma umfasst. Butchart et al publizierten 1976 Ergebnisse, bei denen die mediane Überlebenszeit von 29 Mesotheliompatienten nach EPP bei nur vier Monaten und die perioperative Mortalität bei 30 Prozent lag. Faber zeigte 1986, dass die EPP mit einem akzeptablen Risiko und mit verbesserten Ergebnissen durchführbar ist. Hier wurde bei 33 Mesotheliompatienten eine EPP durchgeführt. Acht Patienten überlebten mehr als 24 Monate und erreichten damit bei nahezu normaler Aktivität eine gute Palliation. Fünf Patienten verstarben nach 36 Monaten, drei Patienten verstarben nach 59, 60 und 82 Monaten und drei Patienten verstarben bei der Operation. Die Hälfte dieser Patienten erhielt eine postoperative Chemotherapie. Eine wesentliche Schlussfolgerung dieser Arbeitsgruppe war jedoch, die Patienten für die EPP besser zu selektionieren.

Die in der Vergangenheit hohe perioperative Mortalität und Morbidität der kurativen Resektionsverfahren wurde durch verbesserte Operationstechniken, prothetische Rekonstruktion von Zwerchfell und Perikard, verbessertes intra- und postoperatives Monitoring sowie Verbesserungen auf dem Gebiet der Intensivmedizin gesenkt. An einem entsprechenden Zentrum mit erfahrenen Chirurgen kann die Mortalität bei 3,8 Prozent liegen. Die mediane Überlebenszeit der EPP liegt derzeit bei neun bis 19 Monaten (Stermann et al., 1999; Sugarbaker et al., 1999; van Ruth et al., 2003; Chang et al., 2004).

Alle malignen Pleuramesotheliome, die Zwerchfell, Thoraxwand, große Gefäße, Ösophagus, Herz oder Mediastinum infiltrieren, sind primär nicht zu rezidieren (Stermann et al., 1999).

Die palliative Therapie umfasst im Wesentlichen die Schmerzreduktion mittels moderater Strahlentherapie und Gabe von Analgetika. Pleurodese, Pleurektomie und ein pleuroperitonealer Shunt können die rezidivierenden und zu schwerer Dyspnoe führenden Pleuraergüsse lindern (Stermann et al., 1999).

Derzeit erzielen multimodale Therapiekonzepte mit selektierten Patientengruppen die besten Ergebnisse. Die Kombination von chirurgischer Therapie mit Chemotherapie und Radiatio bei Patienten mit epitheliale malignem Pleuramesotheliom, tumorfreien Resektionsrändern und metastasenfremden extrapleuralem Lymphknoten kann zu Überlebenszeiten im Median von 51 Monaten führen. Die Fünf-Jahres-Überlebensrate liegt hier bei 46 Prozent (Sugarbaker et al., 1999; Chang et al., 2004).

Keines der oben genannten therapeutischen Verfahren kann nach derzeitiger Datenlage als „evidence-based“ betrachtet werden, da Studien mit entsprechenden Protokollen noch fehlen (van Ruth et al., 2003).

Nach dem aktuellen Stand umfasst die Therapie des malignen Pleuramesothelioms im Frühstadium die kurative extrapleurale Pneumonektomie mit adjuvanter Radiatio und/oder Chemotherapie. Bei nicht resektablen Tumoren kann die parietale Pleurektomie zur Vermeidung rezidivierender Pleuraergüsse palliativ vorgenommen werden. Bei fortgeschrittenen Tumorstadien kann eine individuelle palliative Therapie oder ein innovatives Verfahren im Rahmen klinischer Studien gewählt werden (Rusch, 1999; Sugarbaker et al., 1999; van Ruth et al., 2003; Chang et al., 2004).

1.2 Adhäsionsmoleküle und Regulation

Adhäsionsmoleküle sind wesentlicher Bestandteil von Zell-Zell-Kontakten und Kontakten zwischen Zellen und extrazellulärer Matrix. Sie sind beteiligt an der Embryogenese, Proliferation, Differenzierung, Tumorinvasion und Metastasierung. Zu den Adhäsionsmolekülen und Rezeptoren gehören Integrine, Cadherine, N-CAM, Immunglobuline, Selectine und CD44 (Albelda, 1993; Honn u. Tang, 1992).

Adhäsionsmoleküle, die an Zell-Zell-Kontakten beteiligt sind, binden entweder spezifisch an ein identisches Adhäsionsmolekül auf der gleichen Zelle (homophile Bindung) oder an ein Molekül einer benachbarten Epithelzelle (homotypische Bindung) (Akiyama und Yamada, 1993). Homophile Bindungen halten die innere Struktur einer epithelialen Basalmembran aufrecht, homotypische Bindungen erhalten die Struktur des Zellverbandes. Eine reduzierte Funktion von Adhäsionsmolekülen führt zu einer leichteren Zellseparation und Migration (Albelda, 1993).

Eine Variation dieses Themas ist die Bindung eines Adhäsionsmoleküls an einen entgegengesetzten Rezeptor. Dieser Mechanismus spielt bei der Interaktion verschiedener Zellen mit Leukozyten eine Rolle (receptor-counter-receptor-pairs).

Die adhäsive Interaktion von Zellen mit der extrazellulären Matrix geschieht über einen Rezeptor, der Integrine, Membranproteoglycane und andere spezifische Rezeptoren enthält (Albelda, 1993; Honn und Tang, 1992).

Nach Mareel et al. 1995 spielt für die Metastasierung das Gleichgewicht zwischen Invasionspromotoren („i-plus“-Genen) und Invasionssuppressoren („i-minus“-Genen) eine Rolle. Diese Gene kodieren die Expression bestimmter Oncogene (i-plus Genprodukte) wie CD44 oder Invasionssuppressoren (i-minus-Genprodukte) wie E-Cadherin.

1.3 Adhäsionsmoleküle und Metastasierung

Metastasierung ist ein kompliziertes multifaktorielles Geschehen, bei dem verschiedene zelluläre Ereignisse stattfinden müssen, bevor es zu einer Tumorzellansiedlung im Zielorgan kommt.

Tumorzellen proliferieren und induzieren die Angiogenese, wachsen in Blutgefäße oder Lymphgefäße ein, lösen sich aus dem Zellverband, überleben im Blutgefäß- oder lymphatischen System, binden an das Endothel des Zielorgans, durchwandern die Gefäßwand und proliferieren im Zielorgan (Zetter, 1993; Akiyama und Yamada, 1993).

Eine positive oder negative Regulation durch Adhäsionsmoleküle ist essentiell für den Ablauf der Metastasierung.

Eine Schlüsselstellung in der Metastasierungskaskade hat die Interaktion zwischen der Tumorzelle und dem Gefäßendothel des Zielorgans. Honn et al. entwickelten 1992 eine "Docking and Locking"-Hypothese zur Charakterisierung dieser Zusammenhänge. Diese These besagt, dass Tumorzellen während des „Docking“ durch Kohlenhydrat-Kohlenhydrat oder Kohlenhydrat-Protein-Erkennung eine initiale Bindung mit der Endothelzelle des Zielorgans eingehen. An diesen Vorgängen sind zunächst Selectine, IgGs oder Zelloberflächenglykokonjugate beteiligt, die auf der Oberfläche der Tumorzelle und/oder der Endothelzelle präsentiert werden. Danach führen Interaktionen zwischen der Tumorzelle und Thrombozyten zur Aggregation, Aktivierung und Freigabe-Reaktionen. Während der aktivierungsabhängigen „Locking“-Phase bilden die Tumorzellen stabile Bindungen mit den Endothelzellen. An diesen Vorgängen sind Integrine und bioaktive Mediatoren beteiligt, welche sowohl von der Tumorzelle als auch von den aktivierten Thrombozyten gebildet werden. Nun induzieren die Tumorzellen einen Rückzug der Endothelzelle und produzieren Enzyme, die wiederum die Extravasation einleiten (Honn et al., 1992; Han et al. 1997).

1.4 Cadherine

Cadherine sind eine wichtige Gruppe von Zelladhäsionsmolekülen, welche an interzellulären Kontakten und an der Aufrechterhaltung des Zellverbandes im Gewebe über homophile Bindungen beteiligt sind (Albelda, 1993; Peralta-Soler et al., 1995; Takeichi, 1991). Cadherine benötigen zur Aufrechterhaltung von Struktur und Funktion ionisiertes Calcium (Albelda, 1993; Mareel et al., 1995; Takeichi, 1991). Alle Cadherine sind transmembranöse Moleküle. Sie besitzen eine extrazelluläre Region mit drei sich wiederholenden Domänen, eine hydrophobe Region, welche als transmembranöser Anker fungiert, und einen relativ langen zytoplasmatischen Anteil (Albelda, 1993; Mareel et al., 1995). Der zytoplasmatische Anteil der Cadherine ist über zytoplasmatische Moleküle (Catenin α , β , γ) mit dem Zytoskelett verbunden (Albelda, 1993; Mareel et al., 1995).

Cadherine wurden zunächst in drei Klassen unterteilt: E-Cadherine (auch uvomorulin, cell CAM 120/80, Arc-1 oder L-CAM genannt), welche in erwachsenen Epithelzellen gefunden werden, N-Cadherine (auch A-CAM oder N-Cal-CAM genannt), welche in erwachsenen Nerven- und Muskelzellen gefunden werden, und P-cadherine, welche in Plazentazellen, Epithelzellen und passager auch in anderen Zellarten während der Embryogenese gefunden werden (Albelda, 1993; Mareel et al., 1992; Oka et al., 1992).

Alle Cadherine haben eine ähnliche Primärstruktur und bestehen aus 723 bis 728 Aminosäuren (Albelda 1993, Siitonen et al. 1995).

1.4.1 E-Cadherin

E-Cadherin kann als ein „Master-Molecule“ bezeichnet werden, welches an der epithelialen Morphogenese und an der inneren Architektur und Integrität epithelialer Gewebe beteiligt ist (Frixen et al., 1991; Mareel et al., 1992; Mareel et al., 1995). E-Cadherin wird durch ein Gen der Cadherinfamilie codiert und ist auf einer Subregion von Band 16q22.1 lokalisiert (Frixen et al., 1991; Mareel et al., 1992; Mareel et al., 1995; Oka et al., 1992).

E-Cadherin wird durch eine 4,5-kb mRNA als ein 135-kDA precursor Polypeptid syntethisiert. In seiner aktiven Form ist E-Cadherin ein 120 kDA transmembranöses Membranglykoprotein, welches an homophilen Bindungen zu anderen E-Cadherin-Adhäsionsmolekülen beteiligt ist (Mareel et al., 1995). E-Cadherin ist wie auch andere Cadherine von ionisiertem Calcium abhängig (Albelda, 1993; Mareel et al., 1995).

1.4.2 E-Cadherin und „Downregulation“

Seit der ersten Veröffentlichung über das Vorkommen von E-Cadherin in menschlichen Tumoren von Eidelmann et al., 1989 sind viele menschliche Tumorformen immunhistochemisch auf das Vorhandensein von E-Cadherin untersucht worden (Mareel et al., 1995).

Tabelle 9: Studien zur E-Cadherin-Expression in menschlichen Karzinomen

Tumortyp	Fallzahl	Ergebnis (Expression) im Vergleich zum Normalgewebe
Brust	20	Reduziert
	61	Reduziert bis nicht nachweisbar
Lunge	44	Vorhanden
Kolon	23	Lokalisation der Färbung unnormal
	38	nicht nachweisbar
Prostata	92	Reduziert bis nicht nachweisbar
Kopf und Hals	32	Reduziert bis nicht nachweisbar
Ösophagus	15	Reduziert, Lokalisation unnormal
Magen	20	Reduziert, Lokalisation unnormal
	54	nicht nachweisbar
	103	Reduziert
W. Geschl. O.	32	Reduziert, Lokalisation unnormal
	38	Heterogen
Meningeom	31	Lokalisation unnormal

Aus: Mareel et al. 1995

In vitro konnte gezeigt werden, dass Nierenepithelzellen von Kaninchen nach Blockierung durch Anti-E-Cadherin-Antikörper Kollagen-Gele und embryonales Myokard durchwandern. Umgekehrt führte die Transfektion E-Cadherin kodierender cDNA in hochmaligne epithelale Nierentumor-Zelllinien zu einem Verlust der invasiven Aktivität im In-vitro-Invasionsmodell. Da durch Zugabe des eben beschriebenen Anti-E-Cadherin-Antikörpers die invasive Aktivität wieder stimuliert werden konnte, zog man daraus den Schluss, dass E-Cadherin ein Invasionssuppressor ist (Behrens et al., 1989; Vleminckx et al., 1991).

Auch Frixen et al. berichteten in einer Publikation von 1991, dass verschiedene Karzinom-Zelllinien mit einem epitheloiden Phänotyp nicht invasiv sind und E-Cadherin exprimieren. Fibroblastoide Zelllinien hingegen hatten die Tendenz zu invasivem Verhalten und wiesen eine reduzierte E-Cadherin-Expression auf. Ein invasives Wachstum der fibroblastoiden Zelllinien konnte durch die Transfektion von E-Cadherin cDNA verhindert werden. Durch die Applikation eines spezifischen

monoklonalen Antikörpers gegen E-Cadherin konnte in diesen Zelllinien erneut invasives Wachstum ausgelöst werden.

Diese Beobachtungen führten zu der These, dass der Verlust der E-Cadherin-Expression mit Entdifferenzierung und invasivem Wachstum vergesellschaftet ist. E-Cadherin ist, so die Autoren, ein Invasions-supressor.

Berghäuser et al. zeigten 1995, dass eine Zelllinie (MMC 70) eines epithelialen malignen Pleuramesothelioms E-Cadherin exprimiert und dass eine andere Zelllinie, die aus epithelialen und sarkomatösen Anteilen bestand (MMC125), kein E-Cadherin präsentiert. Analog zu den Ergebnissen der vorgenannten Arbeitsgruppen wuchs die MMC 70-Zelllinie nach Blockierung mit Anti- E-Cadherin Antikörpern invasiv.

Inoue et al. zeigten 1991 in einer immunhistochemischen Studie die starke Expression von E-Cadherin an Zellmembranen normalen Plattenepithels und Epithel der weiblichen Geschlechtsorgane. An epithelialen Tumoren war E-Cadherin ebenfalls nachweisbar, mit jedoch einer zytoplasmatischen Mitreaktion. Mesenchymale Tumoren zeigten keine Expression. Entdifferenzierte Tumorareale von Adenokarzinomen zeigten eine reduzierte E-Cadherin-Expression.

Schipper et al. untersuchten im gleichen Jahr 32 Plattenepithelkarzinome des Kopfes und Halses immunhistochemisch. Es fand sich eine inverse Korrelation zwischen E-Cadherin-Expression und einem Verlust der Zelldifferenzierung und einer Lymphknotenmetastasierung. Gut differenzierte Karzinome exprimierten E-Cadherin häufig so gut wie das epitheliale Ausgangsgewebe. Karzinome mit einer beginnenden Entdifferenzierung zeigten eine heterogene E-Cadherin-Expression, wohingegen schlecht differenzierte Tumoren einen Verlust von E-Cadherin aufwiesen. Auch Oka et al fanden 1991 bei der Untersuchung von Adenokarzinomen des Magens verschiedener Stadien einen Zusammenhang zwischen zunehmender Tumorentdifferenzierung und einem Rückgang der E-Cadherin-Expression.

Umbas et al. untersuchten 1992 normales Prostatagewebe und Prostatakarzinome auf das Vorhandensein von E-Cadherin und wiesen eine statistisch signifikante Korrelation zwischen einer reduzierten E-Cadherin-Expression und zunehmender Tumorentdifferenzierung nach. Auch Terpe et al. zeigten 1995, dass bei Nierenzellkarzinomen der Verlust der E-Cadherin-Expression mit zunehmender Entdifferenzierung vergesellschaftet ist.

Garcia del Muro et al. untersuchten im Jahre 2000 Harnblasenkarzinome immunhistochemisch. Ziel war es, die Expression von E-Cadherin, Beta- Catenin und

CD44V3 bis CD44V10 zu evaluieren. Es fand sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Verlust der E-Cadherin-Expression, einem fortgeschrittenen Stadium des Tumors und Entdifferenzierung.

1.4.3 E-Cadherin und Prognose

Bei den folgenden Arbeiten konnte zusätzlich ein Zusammenhang zwischen reduzierter E-Cadherin-Expression und schlechter Prognose für die Patienten nachgewiesen werden.

Katagiri et al. berichteten in einer Publikation 1995 über eine immunhistochemische Studie an normalem Nierengewebe und Nierenzellkarzinomen. In dieser Arbeit zeigte sich eine statistisch signifikante Korrelation zwischen zunehmender Tumorentdifferenzierung und Verlust der E-Cadherin-Expression mit einer entsprechenden schlechteren Prognose für die Patienten.

Beim Mammakarzinom liegt eine ähnliche Konstellation vor. Im Jahre 1995 veröffentlichten Siitonen et al. eine Studie, in der gezeigt wurde, dass die Entdifferenzierung von Mammakarzinomzellen mit einem Verlust der E-Cadherin-Expression und einer schlechteren Prognose einhergeht. Gleiche Ergebnisse liegen für das Adenokarzinom der Lunge und das Ösophaguskarzinom vor (Bongiorno et al. 1994). Mikami et al. untersuchten im Jahre 2001 Karzinome der extrahepatischen Gallenwege unter anderem immunhistochemisch. Ziel war es, die Expression von E-Cadherin, Cateninen und CD44-Isoformen mit dem Progress der Karzinome zu korrelieren. E-Cadherin, Alpha-Catenin und Beta-Catenin waren in Karzinomen weniger häufig anzutreffen als in normaler Mukosa. CD44V3 und V6 dagegen waren in Karzinomen deutlich stärker nachweisbar als in normalem Gewebe. Gut differenzierte Karzinome zeigten eine stärkere E-Cadherin-Expression als schlecht differenzierte. E-Cadherin konnte so als prognostischer Faktor für die untersuchten Karzinome identifiziert werden. Eine ausgeprägte E-Cadherin-Expression war insbesondere mit einer papillären Formation der Tumore und einer guten Prognose verbunden. Huang et al. zeigten in einer Veröffentlichung aus dem Jahre 2001, dass E-Cadherin auf nasopharyngealen Karzinomen signifikant schwächer exprimiert wird als auf nicht entartetem Gewebe gleicher Herkunft. Eine schwache E-Cadherin-Expression war mit einem Tumorprogress, Lymphknotenmetastasen und einer schlechteren Prognose vergesellschaftet. Für CD44V3 und V6 konnte eine solche Korrelation nicht festgestellt werden.

1.4.4 E-Cadherin-Expression und Pleuramesotheliom

Die Expression von E-Cadherin auf Zellen des malignen Pleuramesothelioms wurde von verschiedenen Arbeitsgruppen untersucht. Peralta-Soler et al. untersuchten 1995 tiefgefrorene Dünnschnitte von 19 malignen Pleuramesotheliomen, 16 Adenokarzinomen der Lunge und zwei Mesotheliom-Zelllinien immunhistochemisch mittels monoklonaler Antikörper gegen E-Cadherin. Ziel war es, die Expression von N-Cadherin und E-Cadherin zu evaluieren. Mesotheliomzellen waren stark N-Cadherin-positiv und E-Cadherin-negativ. Adenokarzinome der Lunge zeigten eine deutliche E-Cadherin-Expression. In einer späteren Studie konnte diese Arbeitsgruppe 1997 dieses Ergebnis an formalinfixierten malignen Pleuramesotheliomen bestätigen. Hier waren zwölf von 13 malignen Pleuramesotheliomen positiv für N-Cadherin und negativ für E-Cadherin. E-Cadherin und N-Cadherin eignen sich, so die Schlussfolgerung der Autoren, zur differentialdiagnostischen Unterscheidung zwischen malignen Pleuramesotheliomen und Adenokarzinomen der Lunge (Han et al., 1997).

Im Jahre 2000 untersuchten Ordonez et al. 50 epitheliale maligne Pleuramesotheliome und verschiedene Adenokarzinome auf die Expression von E-Cadherin, BG8, CD44. Die Gewebeproben lagen formalinfixiert und in Paraffin eingebettet vor. Nur sechs Prozent von 50 epithelialen malignen Pleuramesotheliomen waren E-Cadherin-positiv. Anders war es bei den Adenokarzinomen der Lunge, hier waren 85 Prozent E-Cadherin-positiv. Nach statistischer Auswertung aller Ergebnisse konnten E-Cadherin und BG8 als Marker zur immunhistochemischen Unterscheidung zwischen epithelialelem und Adenokarzinom der Lunge identifiziert werden.

1.5 CD44

CD44 („cluster of differentiation“-44) wurde zuerst beschrieben von Dalchau et al. 1981. CD44, auch bekannt als „Hermes- Antigen“, H-CAM, pgp-1-Antigen und ECM 3, ist ein Glykoprotein und gehört zu einer weit verbreiteten Familie von Adhäsionsmolekülen (Albelda, 1993; Zetter, 1993). CD44 existiert in verschiedenen Isoformen (mRNA-Splice-Varianten), die sich in der Länge der extrazellulären Domäne unterscheiden (Jackson et al., 1994) und ein unterschiedliches Molekulargewicht zwischen 85 und 160 kd (Albelda 1993, Gallatin et al. 1991, Picker et al. 1998) aufweisen. Die 90-kd-Form herrscht in Leukozyten vor und ist an der Anlockung von Lymphozyten beteiligt (lymphocyte homing) (Albelda, 1993). Die größeren Isoformen werden auf Epithel- und Mesenchymzellen gefunden und fungieren als Rezeptor für Hyaluronsäure (CD44S oder auch genannt CD44H) und Fibronectin (Albelda, 1993; Liao et al., 1993). CD44 ist ferner beteiligt an T-Zellaktivierung, Lymphohämatopoese, Zellmigration und Wundheilung (Underhill, 1992; Haynes et al., 1991). Einige Varianten werden auf der Oberfläche hochmaligner Tumorzellen verschiedenen Typs gefunden. Die Beobachtung, dass Tumormetastasierung eine Interaktion zwischen Tumorzelle, extrazellulärer Matrix und Endothelzellen des Zielorgans voraussetzt, führte zu der These, dass CD44-Isoformen an der Metastasierung beteiligt sind (Zetter, 1993; Seiter et al., 1993). Bislang wird kontrovers diskutiert, inwieweit die Expression von CD44 Auswirkungen auf die Prognose von Tumorerkrankungen hat.

1.5.1 CD44-Expression auf normalem Gewebe

Terpe et al. (a) untersuchten 1994 verschiedene nichtmaligne menschliche Gewebe mittels Immunhistochemie auf die Anwesenheit von CD44-Subtypen. CD44V9 konnte mit nur wenigen Ausnahmen auf fast allen untersuchten Epithelien nachgewiesen werden. CD44V6 wird nur auf Plattenepithel und Drüsenepithel wie zum Beispiel Epidermis, Schweißdrüsen, Ösophagus, Brustdrüsen, Speicheldrüsen und Prostata gefunden. CD44V4 wurde hingegen nur in Ösophagus und Epidermis gefunden. Ferner konnte die Arbeitsgruppe Hyaluronsynthetase in allen untersuchten Geweben nachweisen. Dieselbe Arbeitsgruppe zeigte im gleichen Jahr, dass CD44S auf lymphatischem Gewebe exprimiert wird, die anderen CD44-Varianten jedoch nur schwach nachweisbar sind. Hoch maligne Lymphome hingegen exprimieren CD44 V3, V6, V9 nicht aber V4. Möglicherweise, so Terpe et al., lassen sich mittels CD44 V3 und V6 hochmaligne von weniger malignen Lymphomen immunhistochemisch unterscheiden (Terpe et al., 1994 (b)).

1.5.2 CD44-Expression und Tumorprogression

Günther et al. wiesen 1991 Splice-Varianten des Adhäsionsmoleküls CD44 auf hochmalignen metastasierenden Pankreaskarzinomzellen der Ratte nach und zeigten, dass Antikörper gegen CD44 die Ansiedlung dieser Tumorzellen in Lymphknoten verhindert. Eine Arbeitsgruppe aus demselben Institut fand ein Jahr später heraus, dass Varianten von CD44, welche an Tumormetastasierung beteiligt sind, strukturelle Ähnlichkeit zu Varianten besitzen, welche passager von Makrophagen sowie B- und T-Lymphozyten exprimiert werden. Dies führte zu der These, dass metastasierende Tumorzellen das Verhalten von Lymphozyten imitieren um die Immunantwort des Organismus zu umgehen (Arch et al., 1992).

Cannistra et al. entdeckten 1993, dass CD44-Moleküle auf Karzinomzellen des Ovars, Metastasen des ovariellen Karzinoms sowie normalem Epithelgewebe des Ovars vorhanden sind. Antikörper gegen CD44H waren in der Lage, die Bindung der ovariellen Karzinomzellen an das Mesothel des Peritoneums zu verhindern. Dies führte zu dem Schluss, dass CD44H an der Metastasierung des ovariellen Karzinoms beteiligt ist.

Seiters et al. fanden 1993, dass ein monoklonaler AK (mAb)1.1ASML gegen die für Metastasierung zuständige Domäne von CD44 das Wachstum von LK und Lungenmetastasen der Zelllinie BSp73ASML reduzieren kann. Dieser Antikörper ist aber nur dann effektiv, wenn er vor der Lymphknotenmetastasierung gegeben wird. Diese Reduktion der Metastasierung ist laut Seiters et al. nicht auf Immunmechanismen zurückzuführen. Die Autoren meinen, dass es sich um eine Interaktion proliferierender Tumorzellen handelt, zum Beispiel mittels Blockade der Bindungsliganden.

In einem Tiermodell untersuchten Mitchell et al. 1995 die Expression von CD44V6 und die Anwesenheit von Hyaluronsäure und Hyaluronsynthetase in Kolonkarzinomen. Zu diesem Zweck wurden HT29 Colonkarzinomzellen zwischen die Scapulae immundefizienter Mäuse gespritzt und dort drei Wochen belassen. Die Tumoren metastasierten in die Lunge. Immunhistochemische Untersuchungen zeigten ein verstärktes Vorkommen von Hyaluronsynthetase im Vergleich zum Ausgangstumor. CD44V6 konnte in der Peripherie der Tochtergeschwulste verstärkt nachgewiesen werden, nicht jedoch im Zentrum der Tumore.

Manten-Horst et al. untersuchten 1995 in einer Arbeit die Expression von CD44-Isoformen in progredienten malignen Melanomen. Alle Melanome exprimierten stark

die CD44-Standardform, jedoch kein CD44V6. CD44V5 und V10 wurden heterogen exprimiert. Die Stärke der CD44V5-Expression korrelierte mit wachsender Tumorprogression und Entdifferenzierung. CD44V10 wurde in fast allen normalen Melanozyten, selten jedoch in malignen Melanomen gefunden. CD44V-RNA konnte in malignen und benignen Zellen gleichermaßen gefunden werden.

Domman et al. untersuchten im gleichen Jahr immunhistochemisch die CD44-Expression an kutanen Lymphomen und Non-Hodgkin-Lymphomen. Keines von zehn primären Non-Hodgkin-Lymphomen war CD44V6-positiv. Elf von zwölf kutanen Lymphomen mit systemischer Ausbreitung waren deutlich CD44V6-positiv. Nicht exprimiert wurde CD44V6 an kutanen Lymphomen ohne systemische Ausbreitung. Der Nachweis von CD44V6 war auch hier mit einem aggressiven Verhalten des Tumors vergesellschaftet.

Hong et al. veröffentlichten im Jahr 1995 eine Untersuchung von 103 diffusen und intestinalen Adenokarzinomen des Magens. Ziel war der Nachweis von CD44-Isoformen und deren Korrelation mit klinikopathologischen Befunden. Der intestinale Typus war häufiger CD44S- und CD44V6-positiv als der diffuse Typ, es lag jedoch keine Korrelation mit klinischen und prognostischen Gesichtspunkten vor. Die Expression von CD44V6 war bei den diffusen Adenokarzinomen mit infiltrativem Wachstum, Lymphknotenmetastasen und Fernmetastasen, nicht jedoch mit einer prognostischen Aussage verbunden. Es ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Expression von CD44-Isoformen und geringen Überlebenszeiten finden.

Ilda et al. wiesen 1995 die Expression von CD44-Isoformen auf metastasierenden Mammakarzinomen nach. Auf normalem Brustdrüsengewebe war lediglich CD44E nachzuweisen. Hieraus folgte die Arbeitsgruppe, dass die CD44-Isoformen möglicherweise geeignet seien, den Verlauf einer Mammakarzinomerkrankung zu prognostizieren.

1.5.3 CD44, Tumorprogression und schlechte Prognose

In einer immunhistochemischen Studie an 105 chirurgisch behandelten Plattenepithelkarzinomen der Cervix im Stadium 1B und 2B wiesen Kainz et al. 1995 die Expression von CD44-Isoformen (V5, V6, V7, V8) nach. Die Variante V5 wurde in 70 Prozent, V6 in 67 Prozent, V7 und V8 in 26 Prozent der Fälle exprimiert. Tumore, die V6 exprimierten, hatten signifikant häufiger in die Lymphknoten des Beckens metastasiert, waren häufiger in Gefäße eingebrochen und hatten eine schlechtere Prognose. In Fällen ohne Nachweis von Metastasen in den Lymphknoten des Beckens war die Prognose bei Expression von CD44V6 schlechter.

Ariza et al. untersuchten im gleichen Jahr die CD44-Expression auf Bronchialkarzinomen vom kleinzelligen und vom nicht-kleinzelligen Typus. So gelang der Nachweis von CD44-Isoformen auf Zellen des nicht-kleinzelligen Karzinoms, nicht dagegen auf Zellen des kleinzelligen Bronchialkarzinoms.

In einer Publikation aus dem Jahre 2000 berichteten Ramasami et al. von einer immunhistochemischen Untersuchung an formalinfixierten und paraffinkonservierten primären Adenokarzinomen der Lunge. Ziel war es, die Expression von CD44V6, Beta-Catenin und E-Cadherin mit klinisch-pathologischen Gesichtspunkten zu korrelieren. Die Expression der genannten Adhäsionsmoleküle korrelierte weder mit dem Staging des Tumors noch mit dem Lymphknotenstatus. Die Expression von E-Cadherin und Beta-Catenin hatte keinen Einfluss auf die postoperative Überlebenszeit. Allerdings hatten Patienten mit einer geringen Expression von CD44V6 eine schlechtere postoperative Überlebenszeit als Patienten mit einer starken Expression von CD44V6 unabhängig vom Stadium des Tumors.

Hori et al. zeigten im Jahre 2001 anhand eines Tiermodells zur Untersuchung von Plattenepithelkarzinomen des Ösophagus, dass CD44H an metastasierendem Wachstum beteiligt ist. CD44H-Antikörper reduzierten die Bindungsfähigkeit der Tumorzellen an die extrazelluläre Matrix beträchtlich. E-Cadherin war an besagten Zellen nachweisbar, nicht jedoch CD44V3 und CD44V5.

Leblanc et al. untersuchten im gleichen Zeitraum die Expression von E-Cadherin und CD44-Isoformen immunhistochemisch auf Karzinomen des Endometriums. Die Expression von E-Cadherin war in Karzinomen des Endometriums statistisch schwächer als in normalem Endometrium. Ferner ergab sich ein Zusammenhang zwischen reduzierter E-Cadherin-Expression und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen und lokalen Rezidiven. CD44V3 dagegen ist in

Endometriumkarzinomen im Vergleich zu normalem Endometrium überexprimiert. Zudem ergab sich ein Zusammenhang zwischen gesteigerter CD44V3-Expression und infiltrativem Wachstum. Keine statistischen Zusammenhänge ergaben sich für die Expression von CD44V6.

1.5.4 CD44-Expression und Downregulation

Hong et al. untersuchten 1994 immunhistochemisch Urothel-Zelllinien und gut bis mäßig differenzierte transitionelle Urothelkarzinome auf die Anwesenheit von CD44-Isoformen und E-Cadherin. Die Expression der genannten Adhäsionsmoleküle war sehr ähnlich und korrelierte mit dem histologischen Grading. Schlecht differenzierte Zelllinien hingegen waren E-Cadherin- und CD44V6-negativ. Nachweisbar war hier lediglich die CD44-Standardform. In einer Zusatzarbeit wurden diese Ergebnisse mit klinischen, pathologischen und prognostischen Daten korreliert. Es konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V6, E-Cadherin, Überlebenszeit, Tumorrezidiven und Fernmetastasen hergestellt werden. Hong folgerte, dass sowohl CD44V6 als auch E-Cadherin in den schlecht differenzierten Karzinomen herunterreguliert wird.

Tanabe et al. untersuchten 1995 die CD44-Expression in Kolonkarzinomen. CD44H war auf Zelllinien und frischen Proben nahezu nicht existent. Normale Kolonmukosa dagegen zeigte eine starke Expression von CD44H. Die Transfektion von CD44H in Kolonkarzinomzellen führte zu einer signifikanten Reduktion des Tumorwachstums. Die Entartung von Kolonmukosa ist laut Tanabe et al. mit einer Downregulation von CD44H verbunden.

1.5.5 CD44-Expression und Pleuramesotheliom

Jackson et al. untersuchten 1994 verschiedene Lungenkarzinom-Zelllinien und Pleuramesotheliom-Zelllinien mit dem Ergebnis einer stark schwankenden CD44-Expression. Es zeigte sich, dass die Expression von CD44-Varianten, insbesondere V6, nicht immer mit einer Tumorprogression korreliert. Die Pleuramesotheliom-Zelllinien ergaben bei Untersuchungen mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) positive Ergebnisse für CD44V3, V4, V8 und V10, nicht aber für V5, V6 und V7. Ein ähnliches Muster ergab sich für die PCR bei einer immortalisierten Zelllinie normalen Mesothels. Daraus leiteten die Autoren die Hypothese ab, dass CD44-Isoformen bei der Entwicklung des malignen Pleuramesothelioms keine Rolle spielen. Penno et al. untersuchten 1995 37 formalinfixierte und in Paraffin eingebettete maligne Pleuramesotheliome. Verwendet wurde ein monoklonaler Antikörper gegen eine konstante Region von CD44 und polyklonale Antikörper gegen CD44H. 34 von 37 malignen Pleuramesotheliomen waren stark CD44-positiv (92 Prozent). Das Ausmaß der CD44-Expression war vom histologischen Subtyp der Mesotheliome abhängig. Epitheliale maligne Pleuramesotheliome waren am deutlichsten anzufärben, sarkomatöse maligne Pleuramesotheliome brachten die wenigsten positiven Ergebnisse. Bei sechs Zelllinien maligner Mesotheliome fand sich eine starke Expression von CD44H, bei vier dieser Zelllinien ein starker Gehalt an Hyaluronsäure.

1.6 Fragestellung

Aus der o.g. Literatur zum Thema E-Cadherin geht hervor, dass dieses Adhäsionsmolekül von normalen Zellen verschiedener Organe exprimiert wird und dass es am Zusammenhalt von Zellverbänden beteiligt ist. Entwickeln sich Tumore, kann mit zunehmender Entdifferenzierung E-Cadherin weniger häufig nachgewiesen werden.

Untersuchungen zur Expression von E-Cadherin auf dem malignen Pleuramesotheliom anhand größerer Fallzahlen gibt es in der Literatur bisher nicht.

Wir stellten uns die Frage, wie die Expression von E-Cadherin auf einer größeren Stichprobe maligner Pleuramesotheliome ausfällt und ob es Hinweise für eine „Downregulation“ gibt. Wenn E-Cadherin, wie in der Literatur beschrieben, mit zunehmendem Tumorwachstum weniger häufig exprimiert wird, müsste sich eine prognostische Tendenz mit dem Nachweis von E-Cadherin verbinden lassen.

CD44-Adhäsionsmoleküle wurden auf verschiedensten Epithelien nachgewiesen und sind am Progress von Tumoren beteiligt. Die Expression verschiedener CD44-Subtypen auf Zellen des malignen Pleuramesothelioms wurde in größerem Umfang bisher nicht untersucht. Ob es mit zunehmendem Tumorwachstum zu einer vermehrten oder verminderten Expression von CD44 kommt, wird in der vorliegenden Literatur unterschiedlich beurteilt.

Auch hier stellten wir uns die Frage, in welchem Umfang CD44-Subtypen auf Zellen des malignen Pleuramesothelioms exprimiert werden und ob mit der Expression dieser Marker eine prognostische Aussage verknüpft werden kann.

Sollte E-Cadherin auf Zellen des malignen Pleuramesothelioms, wie in der Literatur beschrieben, nur in geringem Maße nachweisbar sein, könnte es gemeinsam mit anderen Markern die Differentialdiagnose zwischen epithelialen Mesotheliomen und Adenokarzinom der Lunge erleichtern.

Ferner interessierte uns, ob es möglich ist, die genannten Adhäsionsmoleküle mit den entsprechenden monoklonalen Antikörpern auch an formalinfixierten und in Paraffin eingebetteten Gewebeproben mit dem an unserem Institut verwendeten APAAP-Verfahren und der dafür notwendigen Mikrowellentechnik nachzuweisen.

2. Material und Methoden

Die optimale Verdünnung der Antikörper wurde in Versuchsreihen ermittelt.

Tabelle 10: Verwendete monoklonale Antikörper:

Antikörper	Klon	Subklasse	Verdünnung	Herkunft
Anti-Human E-Cadherin	HECD-1	IgG	1:100	TaKaRa
Anti- CD44 H	2C5	mouse IgG1	1:100	Biermann
Anti-Human CD44V3	VFF-327	mouse IgG1	1:250	Biermann
Anti-Human CD44V5	3D2	mouse IgG1	1:300	Biermann
Anti-Human CD44V6	VFF-7	mouse IgG1	1:700	Biermann
Anti-Human CD44V9	1E8	murine IgG1	1:25	Biermann

2.1 Untersuchungsmaterial

Wir untersuchten 131 formalinfixierte, in Paraffin eingebettete maligne Pleuramesotheliome. Von diesem Material fertigten wir 4µm starke Paraffindünnschnitte an, welche auf mit Poly-L-Lysin vorbehandelte Objektträger aufgetragen wurden.

Das Tumormaterial stammt aus der DMM-Studie (DMM: diffuses malignes Mesotheliom) und aus einer Gießener Fallsammlung (Gimes). Alle malignen Pleuramesotheliome wurden von zwei Gutachtern diagnostiziert und die Diagnose mit einer kompletten immunhistochemischen Untersuchung gesichert.

Tabelle 11: Liste der untersuchten malignen Pleuramesotheliome

KlinikNr. = Interne Fallnummer
 GEBDAT = Geburtsdatum
 Monate = Überlebenszeit in Monaten ab Symptombeginn
 TODDIA = Überlebenszeit in Jahren ab Diagnosestellung
 Alter 3 = Alter beim Studienbeitritt

1	KlinikNr.	GEBDAT	Monate	TODDIA	Alter_3
2	8408	08.03.1923	9,36	0,5	68,08
3	8407	29.01.1936	17,04	0,99	55,25
4	8402	12.04.1917			
5	8401	27.01.1925			
6	8396	12.10.1928	4,8	0,22	62,42
7	8395	23.07.1924	15,96	1,16	66,58
8	8384	09.09.1945			
9	8381	10.01.1932	24	1,07	58,83
10	8379	05.02.1945	37,8	2,08	45

11	8371	11.08.1921			
12	8365	30.06.1937	24	1,3	53,5
13	8361	13.06.1960			30,33
14	8356	16.10.1914	27	1,37	76,08
15	8351	09.04.1935	32,04	1,35	55,5
16	8348	21.02.1931	7,68	0,4	59,58
17	8344	02.04.1941	33	1,47	49,5
18	8334	06.09.1909			
19	8327	22.09.1941	9	0,68	48,92
20	8326	15.12.1923	6,12	0,21	66,58
21	8323	27.03.1933	22,92	1,28	57,5
22	8316	18.10.1926	21	1,4	63,58
23	8314	23.08.1929	2,76	0,19	60,75
24	8310	20.02.1914	12,48	0,59	76,33
25	8305	09.12.1921	12	0,76	68,5
26	8304	05.08.1944	21,6	0,28	45,83
27	8293	21.08.1929	10,44	0,61	60,83
28	8287	07.05.1919	9	0,24	70,91
29	8284	19.02.1942			48,08
30	8280	31.01.1936	12,36	0,89	53,83
31	8277	16.02.1929	69	1,98	61,33
32	8276	28.03.1930	5,64	0,11	60,08
33	8273	21.06.1930	12	1	59,83
34	8270	01.10.1914	13,8	1,06	75,5
35	8262	14.07.1938	30	2,17	51,5
36	8258	20.04.1941	10,32	0,62	48,75
37	8252	24.03.1936	24	0,99	53,5
38	8249	05.07.1935			54,42
39	8245	29.09.1924	5,28	0,3	65,33
40	8240	30.10.1925			64,08
41	8239	22.10.1929	12		60,25
42	8238	19.06.1935	15,48	1,08	54,58
43	8237	24.08.1940	10,68	0,64	49,42
44	8234	24.12.1925			63,92
45	8220	22.11.1939	14,28	0,84	49,92
46	8216	02.01.1931	9,36	0,02	58,83
47	8212	18.12.1943	7,08	0,5	45,41
48	8210	29.05.1913			76,33
49	8198	13.06.1940	5,76	0,27	49,08
50	8195	17.04.1920	17,52	1	69,25
51	8194	01.03.1941	14,64	0,92	48
52	8183	09.03.1927	16,68	1,25	62,08
53	8181	14.07.1941	15,24	0,7	47,83
54	8178	29.11.1931	14,4	0,6	57,58
55	8173	20.07.1946	15,96	0,61	42,83
56	8169	18.09.1933	10,92	0,72	56,67
57	8157	19.03.1924	41,4		63,92
58	8153	10.05.1925			63,25
59	8150	31.12.1907	30	2,13	81,33
60	8149	20.06.1950	42	3,3	38,5

61	8142	27.07.1950	18	0,95	37,75
62	8138	20.11.1914	19,92	1,34	74,16
63	8135	22.01.1944	3,84	0,13	45,08
64	8132	14.05.1933	8,04	0,26	55,58
65	8125	23.11.1933	3,6	0,04	55,16
66	8124	11.06.1936			52,5
67	8121	21.06.1933	27,36	2,12	55,5
68	8120	16.05.1922	9	0,65	66,58
69	8107	10.11.1955	28,92	1,33	32,92
70	8105	27.05.1919	11,88	0,65	68,67
71	8094	20.06.1936	32,04	2,57	49,75
72	8044	03.11.1935	5,04	0,33	51,83
73	8040	10.10.1928	13,68	0,83	49,5
74	8035	22.01.1915	11,52	0,5	72,83
75	8145	30.12.1909	18,24	1,43	79,25
76	8072	30.10.1914	48,48	0,57	72,17
77	8070	10.02.1947	12	1	30,67
78	8069	30.06.1925	25,92	0,67	63,08
79	8063	26.06.1924	20,28	1,41	64,92
80	8037	25.09.1938	15,96	0,16	49,5
81	8031	28.06.1937	8,04	0,07	50,5
82	8027	02.10.1920	8,04	0,38	67,42
83	8017	19.01.1917	4,92	0,37	71,08
84	8390	10.01.1929		0	
85	8377	12.11.1943		0	47,17
86	8005	18.10.1941	21	0,7	46,25
87	134/82	21.02.1920			
88	12697/82	04.06.1909			
89	1723/82	25.03.1940			
90	K 4095/82				
91	10117/83	15.05.1910			
92	12432/79	25.05.1934			
93	10595/80	16.07.1927			
94	15683/83	30.09.1926			
95	5282/83	02.03.1929			
96	8727/79				
97	12614/88				
98	10139/88				
99	7091/88	20.06.1914			
100	15403/81				
101	11069/88	22.10.1926			
102	10285/88	14.03.1918			
103	16866/82				
104	K 2726/86				
105	4339/84				
106	5117/87				
107	14934/86	06.01.1920			
108	K 5304/86	27.12.1929			
109	13132/87				
110	K 5/88	28.10.1923			

111	4334/84				
112	3297/86				
113	7892/84				
114	K 1418/86				
115	4034/93	17.01.1912			
116	455/91	13.10.1942			
117	9562/91	09.02.1921			
118	7543/93				
119	1932/93				
120	3567/94	18.01.1942			
121	10135/90	06.09.1929			
122	K 6699/91	05.07.1924			
123	10202/91	09.08.1925			
124	K 7894/92	03.07.1941			
125	6066/91	28.12.1923			
126	3857/90	15.03.1929			
127	6054/93	22.11.1914			
128	5400/91	07.07.1939			
129	5270/93				
130	K 1617/93				
131	10185/91	22.07.1940			

Tabelle 12: Fälle mit bekannten Überlebenszeiten

Epitheliale Pleuramesotheliome	42 (60%)
Sarkomatöse Pleuramesotheliome	1 (1,4%)
Biphasische Pleuramesotheliome	27 (38,5%)
Summe	70

Von 70 Patienten der Gimes-Studie lagen Daten zur Überlebenszeit vor. Dabei handelte es sich um den Zeitraum von der Diagnose bis zum Tod in Jahren (TODDIA) und um den Zeitraum vom Symptombeginn bis zum Tod in Monaten (Monate).

2.2 Interpretation der Ergebnisse

Die gefärbten Objektträger wurden mit konventioneller Lichtmikroskopie untersucht. Das gesuchte Antigen wird leuchtend rot gefärbt und ist unter dem Mikroskop leicht zu erkennen. Zellkerne aller negativer Zellen erscheinen infolge der Gegenfärbung mit Hämatoxylin blau.

Die lichtmikroskopische Auswertung der behandelten Schnitte erfolgte durch zwei Gutachter. Wir bewerteten das Ergebnis nach folgendem Score:

Tabelle 13: Diagnosescore (Bewertung 1 = positiv, 0 = negativ)

	Anfärbung in Prozent der Probe	Anfärbung in Prozent der Probe
Intensität der Färbung	<5%	6%-100%
negativ, schwach positiv	0	0
positiv, stark positiv	0	1

2.3 Statistische Methoden

Die Erfassung der Daten wurde mit Microsoft EXCEL durchgeführt. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte im Institut für medizinische Informatik der JLU-Gießen (Direktor Prof. Dr. J. Dudeck) durch Herrn Dr. Bödecker und Herrn Pabst mittels SAS und SPSS für WINDOWS.

Zusammenhänge zwischen der Diagnose und den Färbungen sowohl an Zellmembranen als auch im Zytoplasma wurden mithilfe des „Chi-Quadrat-Tests“ und „Fischers-exakter-Test“ für Kreuztabellen dargestellt und berechnet. Die Darstellung der Überlebenszeiten der Patienten für E-Cadherin erfolgte mit dem „Box-and-Whiskers-Plot“. Mit dem „Mann-Whitney-U-Test“ untersuchten wir den Zusammenhang zwischen Färbungen und Prognose.

Die Datenanalyse hat explorativen Charakter.

Folgende Daten lagen vor:

- Alter beziehungsweise Geburtsdatum der Patienten in 112 von 131 Fällen.
- Zeitraum von Diagnosestellung bis zum Tod in 70 von 131 Fällen.
- Zeitraum vom Auftreten der Symptome bis zum Tod in 70 von 131 Fällen.
- Karnofsky Index der Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung in 82 von 131 Fällen.
- In 30 von 131 Fällen lag invasives Verhalten der malignen Pleuramesotheliome nach histologisch Kriterien vor.
- Ergebnisse der APAAP-Färbungen mit den monoklonalen Antikörpern gegen E-Cadherin, CD44H, CD44V3, CD44V5, CD44V6, CD44V9.

3 Ergebnisse

In dieser Forschungsarbeit untersuchten wir mittels der APAAP-Methode und unter Zuhilfenahme monoklonaler Antikörper die Expression der Adhäsionsmoleküle E-Cadherin, CD44H, CD44V3, CD44V5, CD44V6 und CD44V9 auf 131 in Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Gewebeproben maligner Pleuramesotheliome. Von diesen 131 Proben wurden 89 (68 Prozent) als epitheliale, zehn (7,6 Prozent) als sarkomatöse und 32 (24,4 Prozent) als biphasische maligne Pleuramesotheliome klassifiziert. Die Antigenität der Gewebeproben ließ sich mit der Mikrowellentechnik nach Ebener und Wehner (1993) wiederherstellen.

Tabelle 14: Positive Ergebnisse

Antikörper	epith.	biph.	sark.	Summe positive Ergebn.	Summe negative Ergebn.	Anzahl der Fälle
E-cadher.	31	14	1	46	77	123
CD44H	42	18	7	67	42	109
CD44V9	24	3	2	29	91	120
CD44V6	16	6	0	22	99	121
CD44V5	16	9	1	26	93	119
CD44V3	17	4	1	22	97	119

Tabelle 15: Überlebenszeiten der Patienten aus der Gimes-Studie

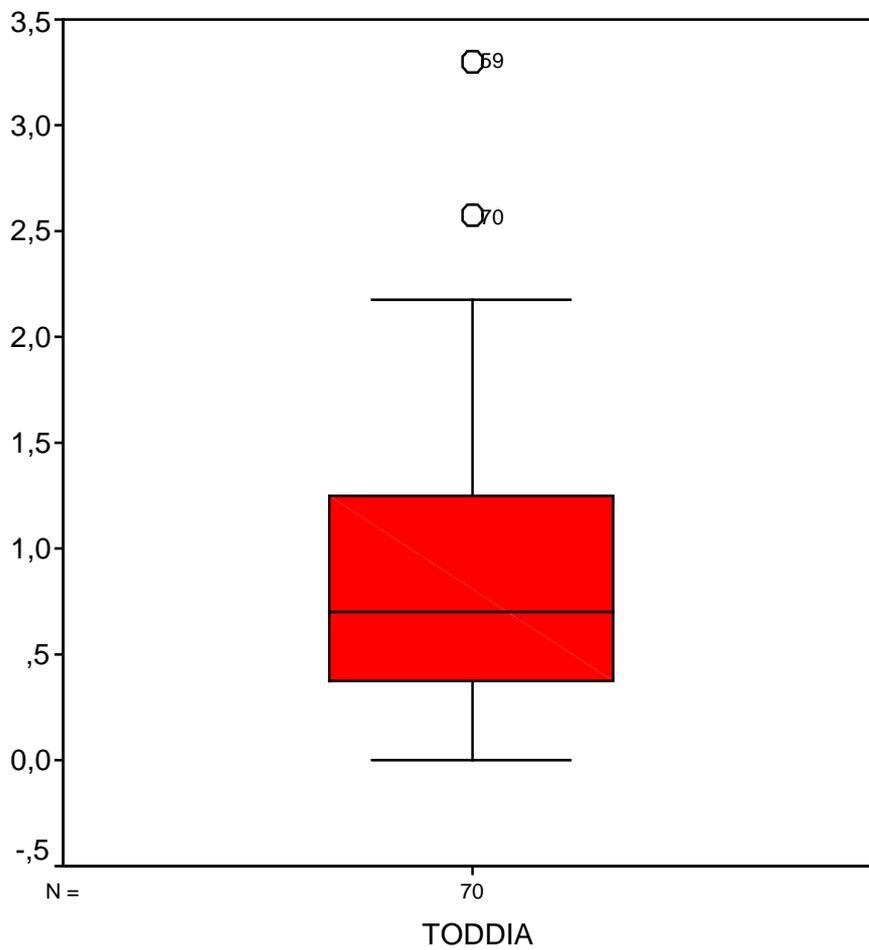
Parameter	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum	Std. abw.	Anzahl
MONATE	17,31	14,34	2,76	69,00	11,87	N= 70
TODDIA	0,86	0,70	0,00	3,30	0,66	N= 70

(Monate: Auftreten der Symptome bis zum Tod, Toddia: Diagnosestellung bis zum Tod in Jahren)

Tabelle 16: Überlebenszeiten (TODDIA in Jahren)

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
TODDIA	70	100,0%	0	,0%	70	100,0%



3.1 APAAP-Färbung mit Anti-E-Cadherin

Von insgesamt 131 malignen Pleuramesotheliomen, die mit dem monoklonalen Antikörper gegen E-Cadherin getestet wurden, konnten 123 maligne Pleuramesotheliome ausgewertet werden. In acht Fällen sind die Paraffindünnschnitte während des APAAP-Verfahrens zerstört worden.

Von diesen 123 malignen Pleuramesotheliomen waren 82 epithelial (66,7 Prozent), neun sarkomatös (7,3 Prozent) und 32 biphasisch (26 Prozent).

Mittels der Lichtmikroskopie und unter Verwendung des oben genannten Diagnosescores konnten bei der Färbung mit E-Cadherin positive Ergebnisse an Zellmembranen und im Zytoplasma erzielt werden. An Zellmembranen und im Zytoplasma zusammengefasst waren von 82 epithelialen malignen Pleuramesotheliomen 31 (37,8 Prozent) positiv. Von neun sarkomatösen malignen Pleuramesotheliomen war eines (11,1 Prozent) positiv und von 32 biphasischen malignen Pleuramesotheliomen waren 14 (43,7 Prozent) positiv.

Zusammengefasst sind das bei N=123 epithelialen, sarkomatösen und biphasischen malignen Pleuramesotheliomen 46 (37,4 Prozent) positive Färbungen an Zellmembranen und im Zytoplasma.

Tabelle 17: Positive Ergebnisse E-Cadherin

Diagnose	Anzahl	positiv
epitheliale	82	31 (37,8%)
gemischte	32	14 (43,7%)
sarkomatöse	9	1 (11,1%)

Tabelle 18: Positive Ergebnisse E-Cadherin (Prozent der Tumorphäche)

Färbung in Prozent des Tumors	Anzahl
≥10%	14
≥20%	11
≥30%	4
≥40%	2
≥50%	5
≥60%	0
≥70%	5
≥80%	5
Anzahl der positiv. Erg.	46
<5% bzw. negativ bewertet	77
Gesamt	123

(Semiquantitative Bewertung bei lichtmikroskopischer Auszählung)

Tabelle 19: Intensität der Färbung E-Cadherin

Intensität der Färbung	Anzahl	Bewertung im Score
negativ	56	0 (negativ)
schwach positiv	21	0 (negativ)
positiv	16	1 (positiv)
stark positiv	30	1 (positiv)
Summe	123	

(Semiquantitative Bewertung bei lichtmikroskopischer Auszählung)

Tabelle 20: E-Cadherin an Zellmembranen und im Zytoplasma

Ausprägung	Zellmembranen positiv	Zytoplasma positiv
epithel.	9	22
biphas.	1	13
sark.	0	1
Summe	10	36

Im „Chi-Quadrat-Test“ für 2 mal 2- Tafeln konnte mit $P = 0,200$ kein regelhafter Zusammenhang zwischen der Expression von E-Cadherin und der Differenzierung der malignen Pleuramesotheliome hergestellt werden.

Auch im „Fischers-exakter-Test“ für 2 mal 2-Tafeln konnte mit $P = 0,226$ kein Zusammenhang zwischen der Expression von E-Cadherin und der Differenzierung der malignen Pleuramesotheliome hergestellt werden (persönliche Mitteilung des Statistikers).

In der statistischen Analyse mittels des „Mann-Whitney-U-Tests“ für den Zusammenhang zwischen positiven oder negativen Ergebnissen mit E-Cadherin und der Überlebenszeit zwischen Diagnose und Tod in Jahren ergab sich mit $P = 0,463$ keine prognostische Tendenz. Für den statistischen Zusammenhang zwischen der Expression von E-Cadherin und dem Zeitraum zwischen dem Auftreten erster Symptome und dem Tod der Patienten in Monaten ergab sich mit $P = 0,76$ keine prognostische Tendenz.

Unabhängig von der Differenzierung exprimieren also 46 (37,4 Prozent) der malignen Pleuramesotheliome E-Cadherin.

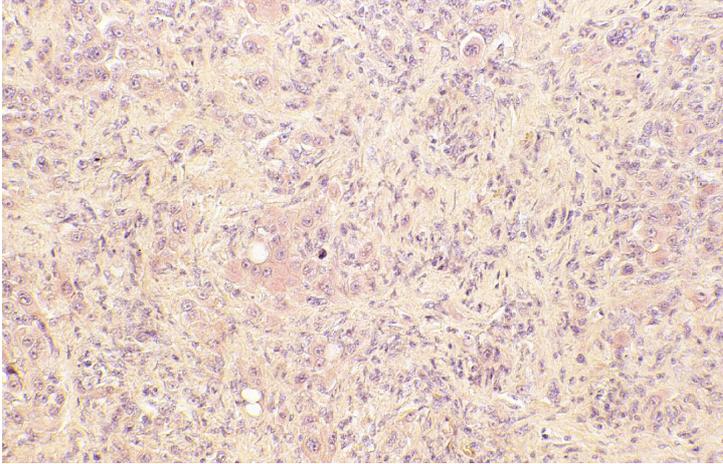


Abbildung 1: Vergrößerung 40- fach

8173: Gem. malignes
Pleuramesotheliom,
E-Cadherinfärbung,
negativ, invasiv.

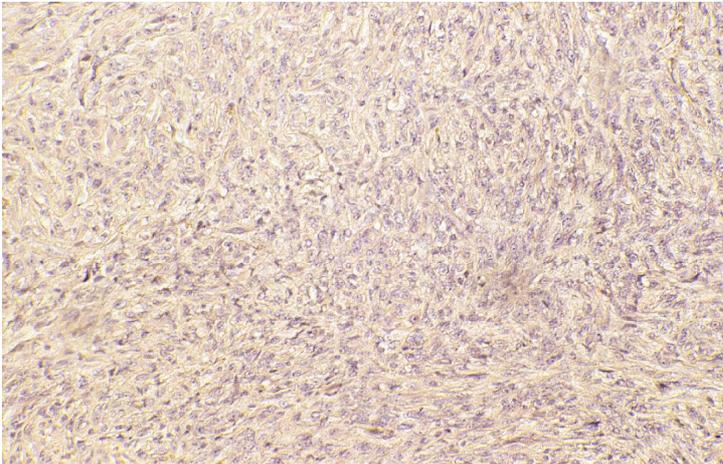


Abbildung 2: Vergrößerung 20- fach.

8173: Gem. malignes
Pleuramesotheliom,
E-Cadherinfärbung,
negativ, invasiv.

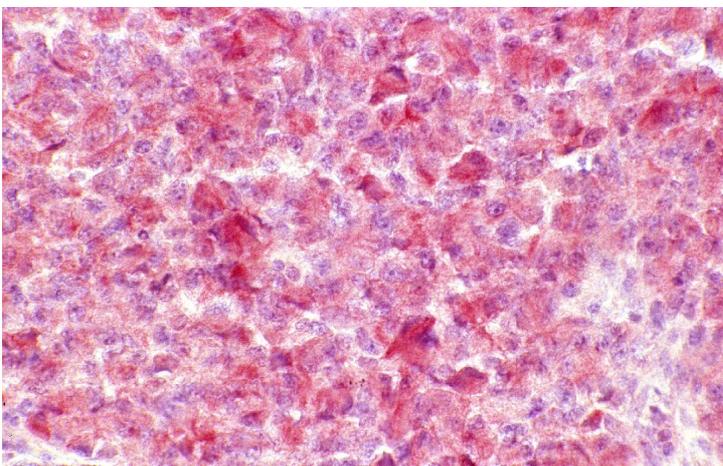


Abbildung 3: Vergrößerung 40-fach.

8250: Epith. malignes
Pleuramesotheliom,
E-Cadherinfärbung,
stark positiv, Zellmembranen und
Zytoplasma

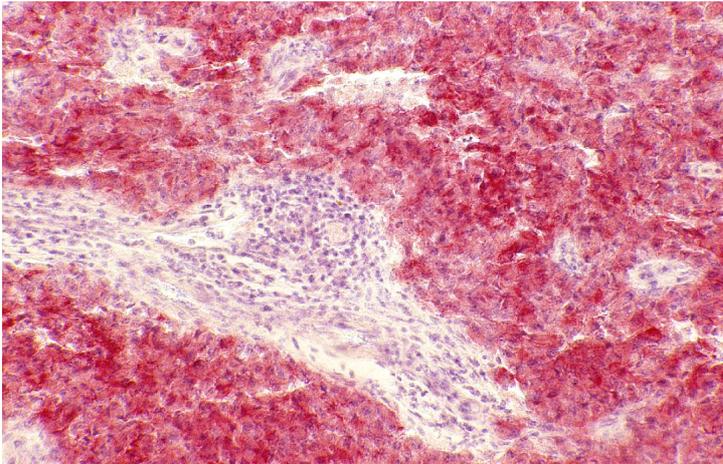


Abbildung 5: Vergrößerung 20-fach.

8250: Epith. malignes
Pleuramesotheliom, E-
Cadherinfärbung,
stark positiv, Zellmembranen und
Zytoplasma

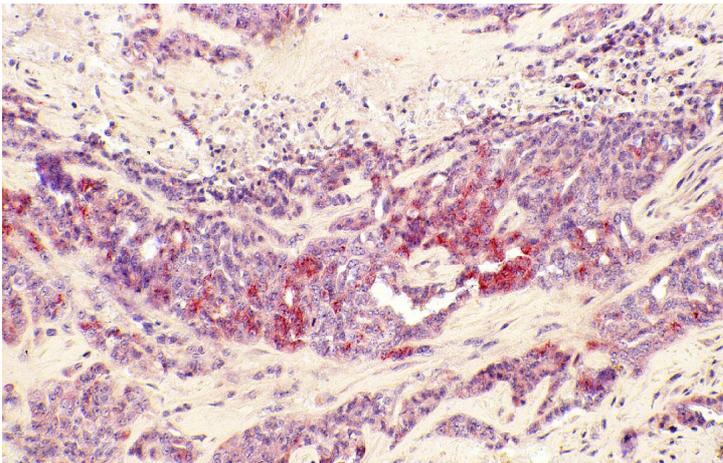


Abbildung 6: Vergrößerung 20-fach.

8132: Gem. malignes
Pleuramesotheliom,
E-Cadherinfärbung,
stark positiv in epith. Anteilen.

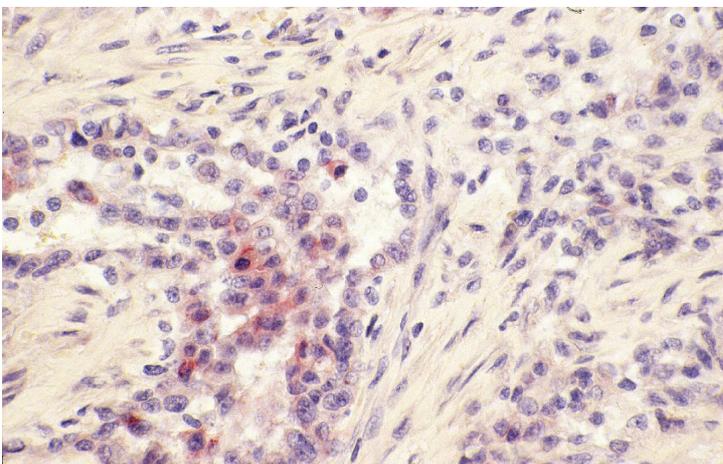


Abbildung 7: Vergrößerung 40-fach.

8132: Gem. malignes
Pleuramesotheliom,
E-Cadherinfärbung,
stark positiv in epith. Anteilen.

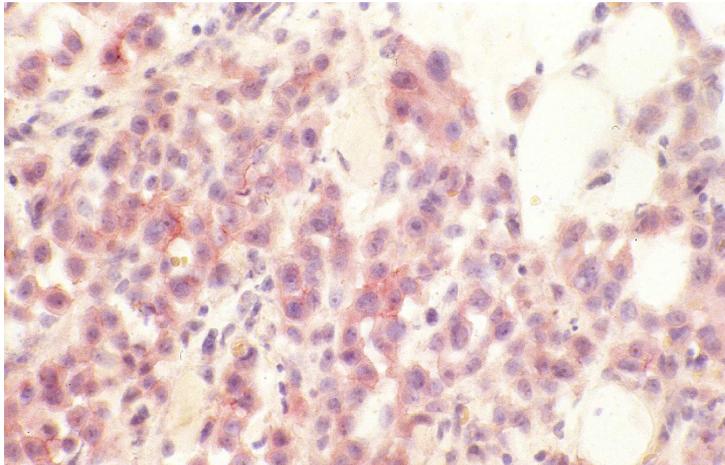


Abbildung 8: Vergrößerung 40-fach.

8069: Epith. malignes
Pleuramesotheliom,
E-Cadherinfärbung,
positiv im Zytoplasma.

3.2 APAAP-Färbung mit Anti-CD44H

Von insgesamt 131 paraffineingebetteten malignen Pleuramesotheliomen, die mit dem monoklonalen Antikörper gegen CD44H behandelt wurden, konnten 109 ausgewertet werden. In 22 der Fälle sind die Semidünnschnitte während des Färbeverfahrens zerstört worden.

Von diesen N = 109 malignen Pleuramesotheliomen waren 76 (69,7 Prozent) epithelial, neun (8,3 Prozent) sarkomatös und 24 (22,0 Prozent) biphasischer Natur. Mittels der Lichtmikroskopie und unter Verwendung des oben genannten Diagnosescores konnten bei der Färbung mit CD44H positive Ergebnisse an Zellmembranen und im Zytoplasma erzielt werden. Alle Ergebnisse (Zellmembranen und Zytoplasma) zusammengenommen waren von 76 epithelialen malignen Pleuramesotheliomen 42 (55,3 Prozent) positiv, von neun sarkomatösen malignen Pleuramesotheliomen waren sieben (77,8 Prozent) positiv und von 24 biphasischen malignen Pleuramesotheliomen waren 18 (75,0 Prozent) positiv.

Zusammengefasst sind das bei N = 109 epithelialen, sarkomatösen und biphasischen Mesotheliomen 67 (61,5 Prozent) positive Färbungen an Zellmembranen und im Zytoplasma.

Tabelle 21: Positive Ergebnisse Anti-CD44H

Diagnose	Anzahl	positiv
epitheliale	76	42 (55,3%)
gemischte	24	18 (75,0%)
sarkomatöse	9	7 (77,8%)

Tabelle 22: Positive Ergebnisse Anti-CD44H (in Prozent der Tumorfläche)

Färbung in Prozent des Tumors	Anzahl
≥10%	5
≥20%	17
≥30%	11
≥40%	12
≥50%	8
≥60%	6
≥70%	2
≥80%	6
Anzahl der positiven Erg.	67
<5% (negativ)	42
Gesamt	109

(Semiquantitative Bewertung bei lichtmikroskopischer Auszählung)

Tabelle 23: Intensität der Färbung Anti-CD44H

Intensität der Färbung	Anzahl	Bewertung im Score
negativ	30	0 (negativ)
schwach positiv	12	0 (negativ)
positiv	29	1 (positiv)
stark positiv	38	1 (positiv)
Summe	109	

(Semiquantitative Bewertung bei lichtmikroskopischer Auszählung)

Tabelle 24: CD44H an Zellmembranen und im Zytoplasma

Ausprägung	Zellmembranen positiv	Zytoplasma positiv
epithel.	3	40
biphas.	1	16
sark.	0	7
Summe	4	63

Im „Chi-Quadrat-Test“ für 2 mal 2-Tafeln konnte mit $P = 0,128$ kein regelhafter Zusammenhang zwischen der Expression von CD44H und der Differenzierung der malignen Pleuramesotheliome hergestellt werden.

Auch im „Fischers-exakter-Test“ für 2 mal 2-Tafeln konnte mit $P = 0,127$ kein Zusammenhang zwischen der Expression von CD44H und der Differenzierung der malignen Pleuramesotheliome hergestellt werden (persönliche Mitteilung des Statistikers).

In der statistischen Analyse mittels des „Mann-Whitney-U-Tests“ für den Zusammenhang zwischen positiven oder negativen Ergebnissen mit CD44H und der Überlebenszeit zwischen Diagnose und Tod in Jahren ergab sich mit $P = 0,9374$ keine prognostische Tendenz.

Auch für den statistischen Zusammenhang zwischen der Expression von CD44H und dem Zeitraum zwischen dem Auftreten erster Symptome und dem Tod der Patienten in Monaten ergab sich mit $P = 0,615$ keine prognostische Tendenz.

Unabhängig von der Differenzierung exprimieren also 67 (61,5 Prozent) der malignen Pleuramesotheliome CD44H.

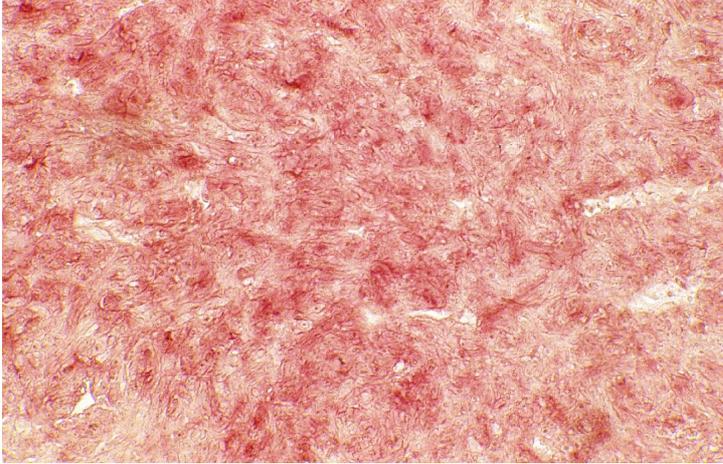


Abbildung 9: Vergrößerung 20-fach.

8396: Sark. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44H,
stark positiv, Zytoplasma.

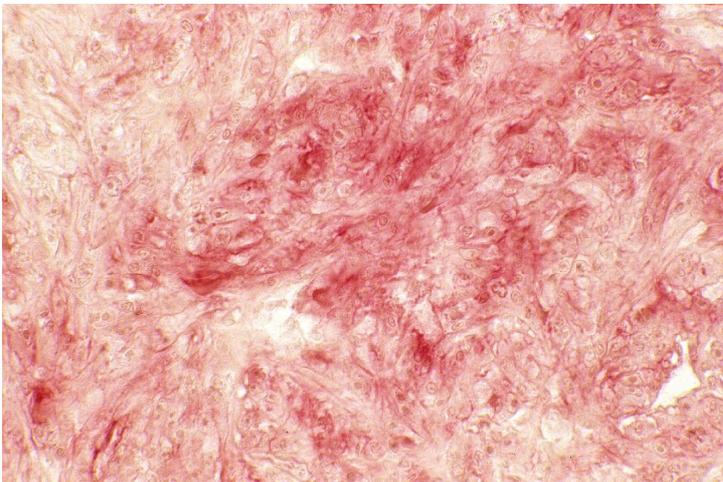


Abbildung 10: Vergrößerung 40-fach.

8396: Sark. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44H,
stark positiv, Zytoplasma.

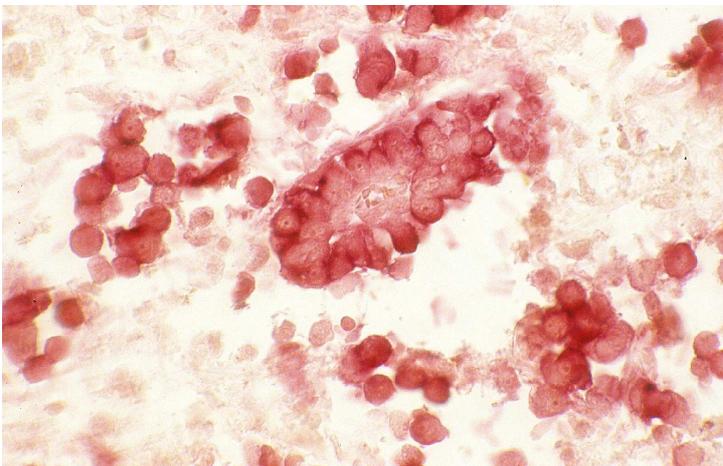


Abbildung 11: Vergrößerung 40-fach.

8402: Epith. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44H,
stark positiv, Zytoplasma.

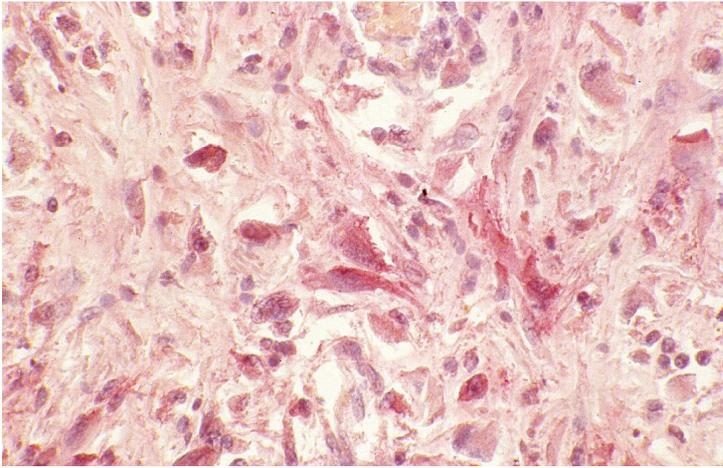


Abbildung 12: Vergrößerung 40-fach.

8371: Sark. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44H,
stark positiv, Zytoplasma.

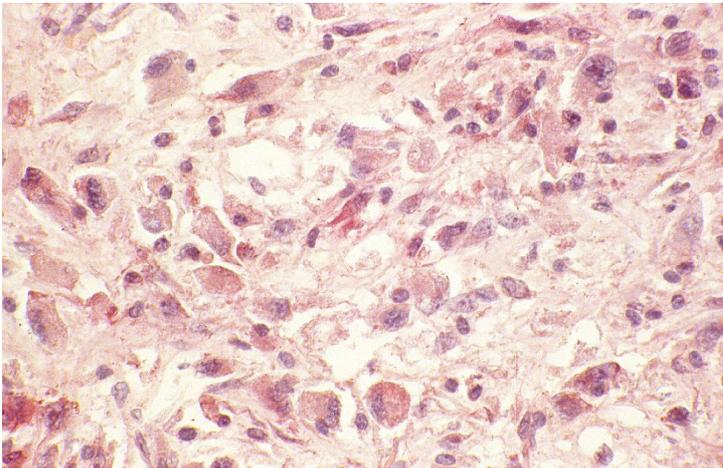


Abbildung 13: Vergrößerung 40-fach.

8371: Sark. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44H,
stark positiv, Zytoplasma

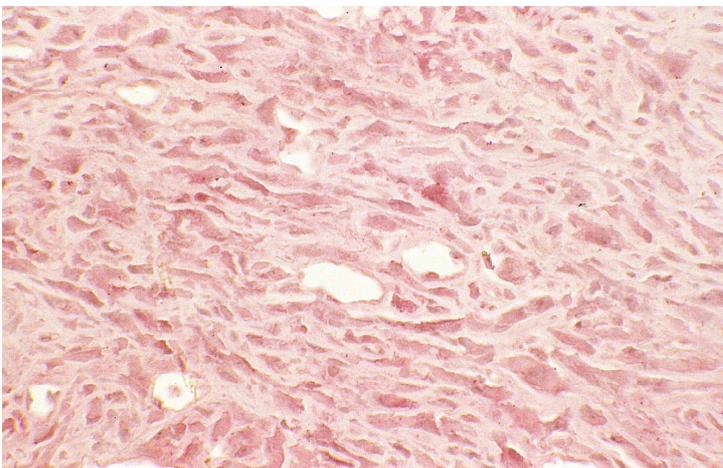


Abbildung 14: Vergrößerung 40-fach.

8285: Sark. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44H,
positiv, Zytoplasma.

3.3 APAAP- Färbung mit Anti-CD44V3

Von insgesamt 131 paraffineingebetteten malignen Pleuramesotheliomen, die mit dem monoklonalen Antikörper gegen CD44V3 behandelt wurden, konnten 119 ausgewertet werden. In zwölf der Fälle sind die Semidünnschnitte während des Färbeverfahrens zerstört worden.

Von diesen N = 119 malignen Pleuramesotheliomen waren 79 (66,4 Prozent) epithelial, neun (7,6 Prozent) sarkomatös und 31 (26,0 Prozent) biphasischer Natur. Mittels der Lichtmikroskopie und unter Verwendung des oben genannten Diagnosescores konnten bei der Färbung mit CD44V3 positive Ergebnisse an Zellmembranen und im Zytoplasma erzielt werden. Alle Ergebnisse (Zellmembranen und Zytoplasma) zusammengenommen waren von 79 epithelialen malignen Pleuramesotheliomen 17 (21,5 Prozent) positiv, von neun sarkomatösen malignen Pleuramesotheliomen war eines (11,1 Prozent) positiv und von 31 biphasischen malignen Pleuramesotheliomen waren vier (12,9 Prozent) positiv.

Zusammengefasst sind das bei N = 119 epithelialen, sarkomatösen und biphasischen malignen Pleuramesotheliomen 22 (18,5 Prozent) positive Färbungen an Zellmembranen und im Zytoplasma.

Tabelle 25: Positive Ergebnisse Anti-CD44V3

Diagnose	Anzahl	positiv
epitheliale	79	17 (21,5%)
gemischte	31	4 (12,9%)
sarkomatöse	9	1 (11,1%)

Tabelle 26: Positive Ergebnisse Anti-CD44V3 (in Prozent der Tumorfläche)

Färbung in Prozent des Tumors	Anzahl
≥10%	8
≥20%	3
≥30%	4
≥40%	5
≥50%	0
≥60%	0
≥70%	0
≥80%	2
Anzahl der positiven Erg.	22
<5% (negativ)	97
Gesamt	119

(Semiquantitative Bewertung bei lichtmikroskopischer Auszählung)

Tabelle 27: Intensität der Färbung Anti-CD44V3

Intensität der Färbung	Anzahl	Bewertung im Score
negativ	88	0 (negativ)
schwach positiv	9	0 (negativ)
positiv	9	1 (positiv)
stark positiv	13	1 (positiv)
Summe	119	

(Semiquantitative Bewertung bei lichtmikroskopischer Auszählung)

Tabelle 28: CD44V3 an Zellmembranen und im Zytoplasma

Ausprägung	Zellmembranen positiv	Zytoplasma positiv
epithel.	4	13
biphas.	1	3
sark.	0	1
Summe	5	17

Im „Chi-Quadrat-Test“ für 2 mal 2-Tafeln konnte mit $P = 0,484$ kein regelhafter Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V3 und der Differenzierung der malignen Pleuramesotheliome hergestellt werden.

Auch im „Fischers-exakter-Test“ für 2 mal 2-Tafeln konnte mit $P = 0,398$ kein Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V3 und der Differenzierung der malignen Pleuramesotheliome hergestellt werden (persönliche Mitteilung des Statistikers).

In der statistischen Analyse mittels des „Mann-Whitney-U-Tests“ für den Zusammenhang zwischen positiven Ergebnissen mit CD44V3 und der Überlebenszeit zwischen Diagnose und Tod in Jahren ergab sich mit $P = 0,199$ keine prognostische Tendenz.

Auch für den statistischen Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V3 und dem Zeitraum zwischen dem Auftreten erster Symptome und dem Tod der Patienten in Monaten ergab sich mit $P = 0,127$ keine prognostische Tendenz.

Unabhängig von der Differenzierung exprimieren also 22 (18,5 Prozent) der malignen Pleuramesotheliome CD44V3.

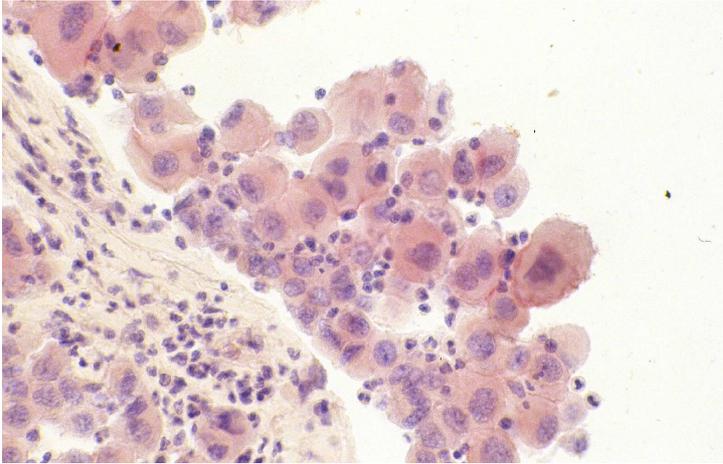


Abbildung 15: Vergrößerung 40-fach.

8344: Epith. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V3,
positiv, Zytoplasma.

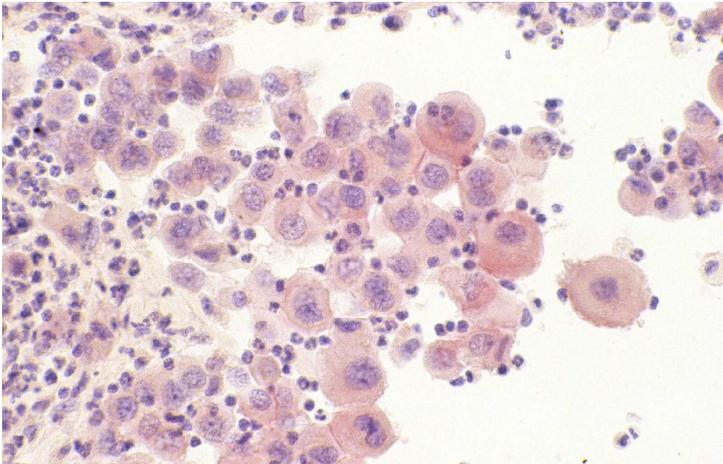


Abbildung 16: Vergrößerung 40-fach.

8344: Epith. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V3,
positiv, Zytoplasma.

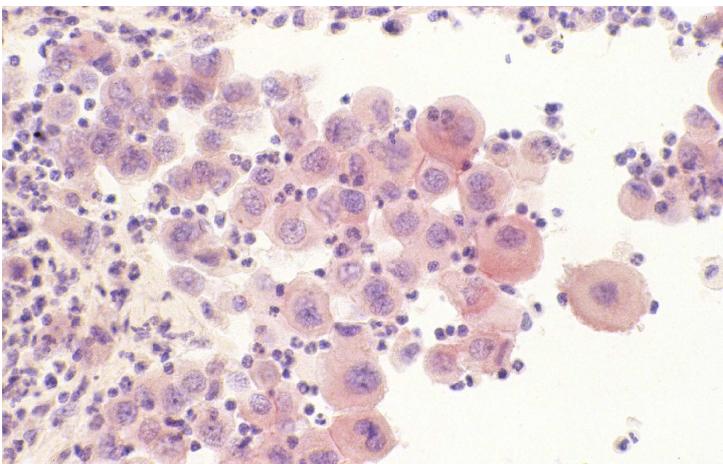


Abbildung 17: Vergrößerung 40-fach.

8344: Epith. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V3,
positiv, Zytoplasma.

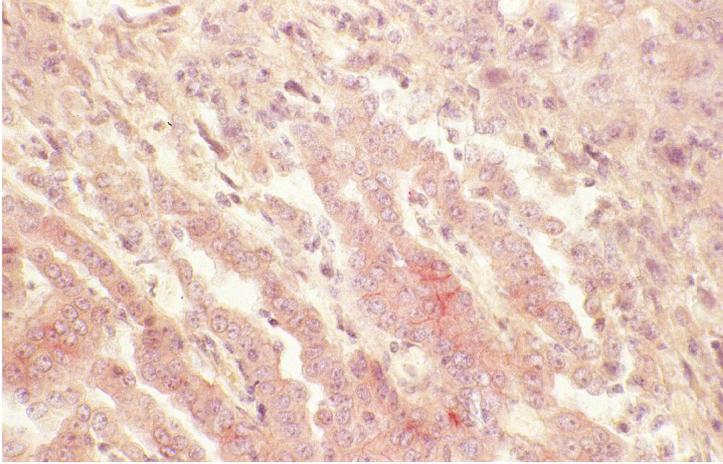


Abbildung 18. Vergrößerung 40-fach.

8304: Gem. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V3,
schwach positiv, Zytoplasma

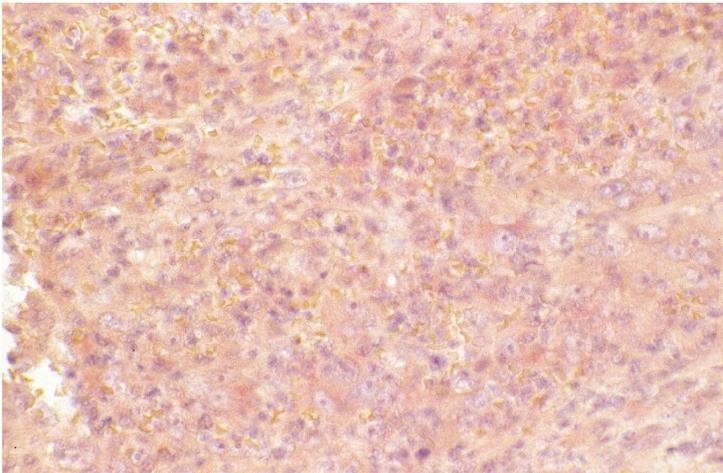


Abbildung 19: Vergrößerung 20-fach.

8304: Gem. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V3,
schwach positiv, Zytoplasma.

3.4 APAAP-Färbung mit Anti-CD44V5

Von insgesamt 131 paraffineingebetteten malignen Pleuramesotheliomen, die mit dem monoklonalen Antikörper gegen CD44V5 behandelt wurden, konnten 119 ausgewertet werden. In zwölf der Fälle sind die Semidünnschnitte während des Färbeverfahrens zerstört worden.

Von diesen N = 119 malignen Pleuramesotheliomen waren 80 (67,2 Prozent) epithelial, neun (7,6 Prozent) sarkomatös und 30 (25,2 Prozent) biphasischer Natur. Mittels der Lichtmikroskopie und unter Verwendung des oben genannten Diagnosescores konnten bei der Färbung mit CD44V5 positive Ergebnisse an Zellmembranen und im Zytoplasma erzielt werden. Alle Ergebnisse (Zellmembranen und Zytoplasma) zusammengenommen waren von 80 epithelialen malignen Pleuramesotheliomen 16 (20,0 Prozent) positiv, von neun sarkomatösen malignen Pleuramesotheliomen war eines (11,1 Prozent) positiv und von 30 biphasischen malignen Pleuramesotheliomen waren neun (30 Prozent) positiv.

Zusammengefasst sind das bei N = 119 epithelialen, sarkomatösen und biphasischen Mesotheliomen 26 (21,8 Prozent) positive Färbungen an Zellmembranen und im Zytoplasma.

Tabelle 29: Positive Ergebnisse Anti-CD44V5

Diagnose	Anzahl	positiv
epitheliale	80	16 (20,0%)
gemischte	30	9 (30%)
sarkomatöse	9	1 (11,1%)

Tabelle 30: Positive Ergebnisse Anti-CD44V5 (in Prozent der Tumorfläche)

Färbung in Prozent des Tumors	Anzahl
≥10%	3
≥20%	5
≥30%	2
≥40%	5
≥50%	4
≥60%	0
≥70%	2
≥80%	5
Anzahl der positiven Erg.	26
<5% (negativ)	93
Gesamt	119

(Semiquantitative Bewertung bei lichtmikroskopischer Auszählung)

Tabelle 31: Intensität der Färbung Anti-CD4V5

Intensität der Färbung	Anzahl	Bewertung im Score
negativ	79	0 (negativ)
schwach positiv	14	0 (negativ)
positiv	11	1 (positiv)
stark positiv	15	1 (positiv)
	119	

(Semiquantitative Bewertung bei lichtmikroskopischer Auszählung)

Tabelle 32: CD44V5 an Zellmembranen und im Zytoplasma

Ausprägung	Zellmembranen positiv	Zytoplasma positiv
epithel.	1	15
biphas.	1	8
sark.	0	1
Summe	2	24

Im „Chi-Quadrat-Test“ für 2 mal 2-Tafeln konnte mit $P = 0,379$ kein regelhafter Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V5 und der Differenzierung der malignen Pleuramesotheliome hergestellt werden.

Auch im „Fischers-exakter-Test“ für 2 mal 2-Tafeln konnte mit $P = 0,226$ kein Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V5 und der Differenzierung der malignen Pleuramesotheliome hergestellt werden (persönliche Mitteilung des Statistikers).

In der statistischen Analyse mittels des „Mann-Whitney-U-Tests“ für den Zusammenhang zwischen positiven oder negativen Ergebnissen mit CD44V5 und der Überlebenszeit zwischen Diagnose und Tod in Jahren ergab sich mit $P = 0,309$ keine prognostische Tendenz. Für den statistischen Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V5 und dem Zeitraum zwischen dem Auftreten erster Symptome und dem Tod der Patienten in Monaten ergab sich mit $P = 0,345$ ebenfalls keine prognostische Tendenz.

Unabhängig von der Differenzierung exprimierten also 26 (21,8 Prozent) der malignen Pleuramesotheliome CD44V5.

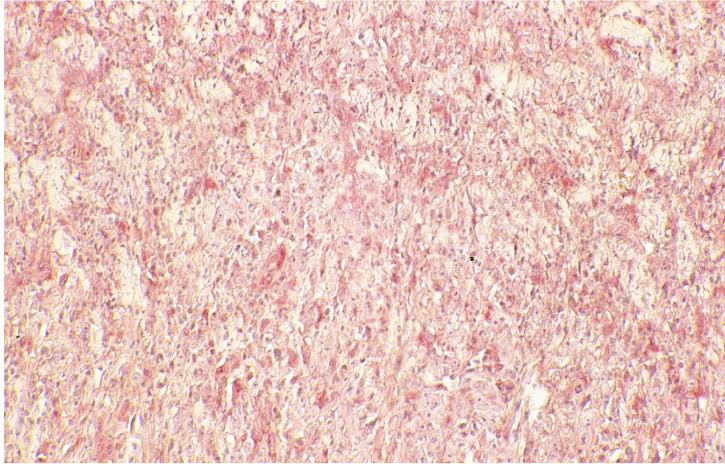


Abbildung 20 : Übersicht

8396: Sark. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V5,
positiv, Zytoplasma

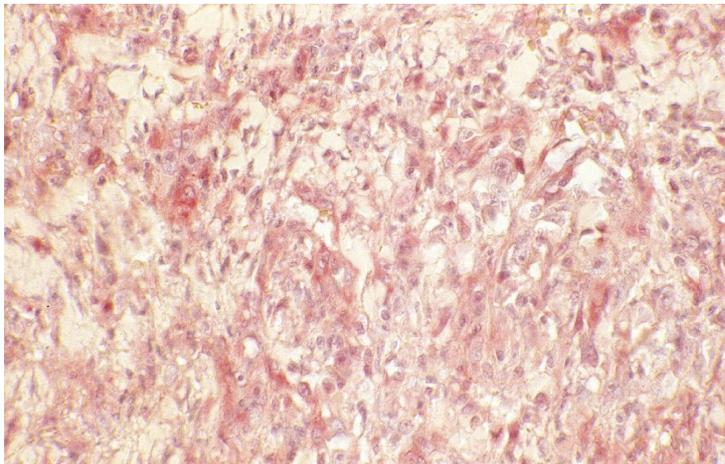


Abbildung 21: Vergrößerung 20-fach.

8396: Sark. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V5,
positiv, Zytoplasma

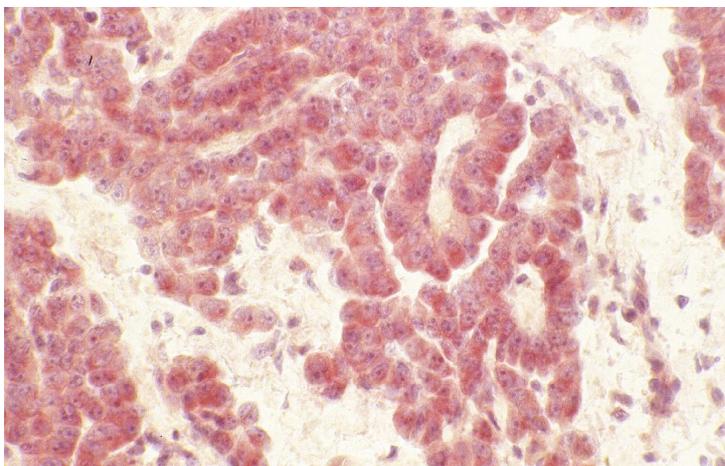


Abbildung 22: Vergrößerung 40- fach.

8277: Epith. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V5,
stark positiv, Zytoplasma.

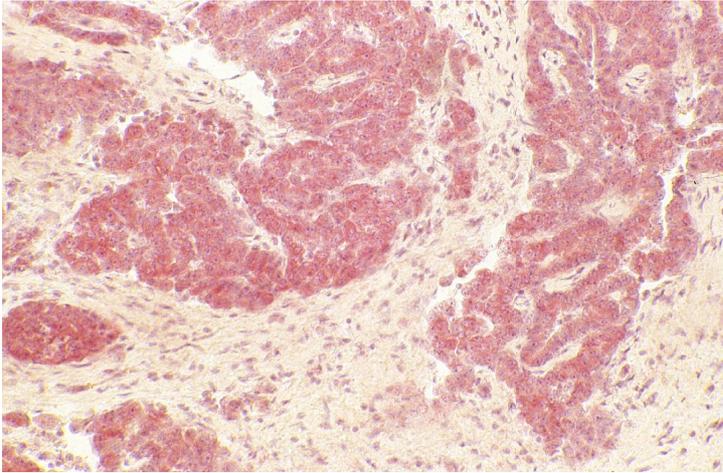


Abbildung 23: Vergrößerung 20-fach.

8277: Epith. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V5,
stark positiv, Zytoplasma.

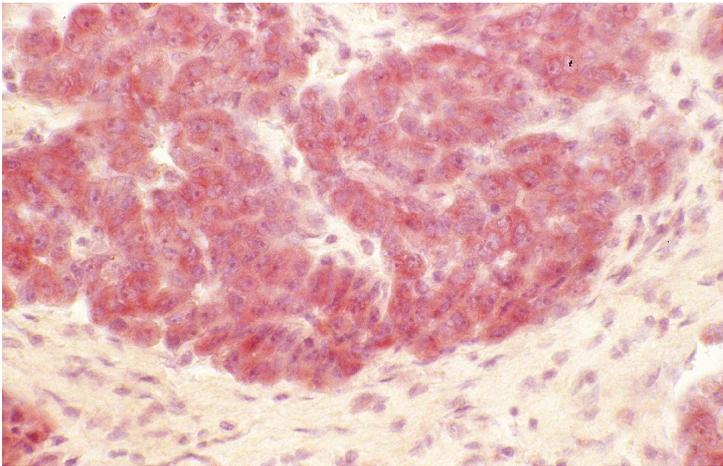


Abbildung 24: Vergrößerung 40-fach.

8277: Epith. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V5,
stark positiv, Zytoplasma.

3.5 APAAP-Färbung mit Anti-CD44V6

Von insgesamt 131 paraffineingebetteten malignen Pleuramesotheliomen, die mit dem monoklonalen Antikörper gegen CD44V6 behandelt wurden, konnten 121 ausgewertet werden. In zehn der Fälle sind die Semidünnschnitte während des Färbeverfahrens zerstört worden.

Von diesen N= 121 malignen Pleuramesotheliomen waren 80 (66,1 Prozent) epithelial, neun (7,5 Prozent) sarkomatös und 32 (26,4 Prozent) biphasischer Natur. Mittels der Lichtmikroskopie und unter Verwendung des oben genannten Diagnosescores konnten bei der Färbung mit CD44V6 positive Ergebnisse an Zellmembranen und im Zytoplasma erzielt werden. Alle Ergebnisse (Zellmembranen und Zytoplasma) zusammengenommen waren von 80 epithelialen malignen Pleuramesotheliomen 16 (20,0 Prozent) positiv, von neun sarkomatösen malignen Pleuramesotheliomen waren null positiv, und von 32 biphasischen malignen Pleuramesotheliomen waren sechs (18,7 Prozent) positiv.

Zusammengefasst sind das bei N = 121 epithelialen, sarkomatösen und biphasischen Mesotheliomen 22 (18,2 Prozent) positive Färbungen an Zellmembranen und im Zytoplasma.

Tabelle 33: Positive Ergebnisse Anti-CD44V6

Diagnose	Anzahl	positiv
epitheliale	80	16 (20,0%)
gemischte	32	6 (18,7%)
sarkomatöse	9	0

Tabelle 34: Positive Ergebnisse Anti-CD44V6 (in Prozent der Tumorfläche)

Färbung in Prozent des Tumors	Anzahl
≥10%	7
≥20%	4
≥30%	3
≥40%	2
≥50%	0
≥60%	0
≥70%	2
≥80%	4
Anzahl der positiven Erg.	22
<5% (negativ)	99
Gesamt	121

(Semi quantitative Bewertung bei lichtmikroskopischer Auszählung)

Tabelle 35: Intensität der Färbung Anti-CD44V6

Intensität der Färbung	Anzahl	Bewertung im Score
negativ	91	0 (negativ)
schwach positiv	8	0 (negativ)
positiv	6	1 (positiv)
stark positiv	16	1 (positiv)
	121	

(Semiquantitative Bewertung bei lichtmikroskopischer Auszählung)

Tabelle 36: CD44 V6 an Zellmembranen und im Zytoplasma

Ausprägung	Zellmembranen positiv	Zytoplasma positiv
epithel.	8	8
biphas.	2	4
sark.	0	0
Summe	10	12

Im „Chi-Quadrat-Test“ für 2 mal 2-Tafeln konnte mit $P = 0,335$ kein regelhafter Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V6 und der Differenzierung der malignen Pleuramesotheliome hergestellt werden.

Auch im „Fischers-exakter-Test“ für 2 mal 2-Tafeln konnte mit $P = 0,47$ kein Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V6 und der Differenzierung der malignen Pleuramesotheliome hergestellt werden (persönliche Mitteilung des Statistikers).

In der statistischen Analyse mittels des „Mann-Whitney-U-Tests“ für den Zusammenhang zwischen positiven Ergebnissen mit CD44V6 und der Überlebenszeit zwischen Diagnose und Tod in Jahren ergab sich mit $P = 0,414$ keine prognostische Tendenz. Auch für den statistischen Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V6 und dem Zeitraum zwischen dem Auftreten erster Symptome und dem Tod der Patienten in Monaten ergab sich mit $P = 0,504$ keine prognostische Tendenz.

Unabhängig von der Differenzierung exprimierten also 22 (18,2 Prozent) der malignen Pleuramesotheliome CD44V6.

3.6 APAAP-Färbung mit Anti-CD44V9

Von insgesamt 131 paraffineingebetteten malignen Pleuramesotheliomen, die mit dem monoklonalen Antikörper gegen CD44V9 behandelt wurden, konnten 120 ausgewertet werden. In elf der Fälle sind die Semidünnschnitte während des Färbeverfahrens zerstört worden.

Von diesen N = 120 malignen Pleuramesotheliomen waren 82 (68,3 Prozent) epithelial, neun (7,5 Prozent) sarkomatös und 29 (24,2 Prozent) biphasischer Natur. Mittels der Lichtmikroskopie und unter Verwendung des oben genannten Diagnosescores konnten bei der Färbung mit CD44V9 positive Ergebnisse an Zellmembranen und im Zytoplasma erzielt werden. Alle Ergebnisse (Zellmembranen und Zytoplasma) zusammengenommen waren von 82 epithelialen malignen Pleuramesotheliomen 24 (29,2 Prozent) positiv, von neun sarkomatösen malignen Pleuramesotheliomen waren zwei (22,2 Prozent) positiv und von 29 biphasischen malignen Pleuramesotheliomen waren drei (10,3 Prozent) positiv.

Zusammengefasst sind das bei N = 120 epithelialen, sarkomatösen und biphasischen Mesotheliomen 29 (24,2 Prozent) positive Färbungen an Zellmembranen und im Zytoplasma.

Tabelle 37: Positive Ergebnisse Anti-CD44V9

Diagnose	Anzahl	positiv
epitheliale	82	24 (29,2%)
gemischte	29	3 (10,3%)
sarkomatöse	9	2 (22,2%)

Tabelle 38: Positive Ergebnisse Anti-CD44V9 (in Prozent der Tumorfläche)

Färbung in Prozent des Tumors	Anzahl
>5%	3
≥10%	7
≥20%	5
≥30%	3
≥40%	4
≥50%	3
≥60%	2
≥70%	0
≥80%	2
Anzahl der positiven Erg.	29
<5% (negativ)	91
Gesamt	120

(Semiquantitative Bewertung bei lichtmikroskopischer Auszählung)

Tabelle 39: Intensität der Färbung Anti-CD44V9

Intensität der Färbung	Anzahl	Bewertung im Score
negativ	91	0 (negativ)
schwach positiv	0	0 (negativ)
positiv	5	1 (positiv)
stark positiv	24	1 (positiv)
	120	

(Semiquantitative Bewertung bei lichtmikroskopischer Auszählung)

Tabelle 40: CD44V9 an Zellmembranen und im Zytoplasma

Ausprägung	Zellmembranen positiv	Zytoplasma positiv
epithel.	13	11
biphas.	1	2
sark.	1	1
Summe	15	14

Im „Chi-Quadrat-Test“ für 2 mal 2-Tafeln konnte mit $P = 0,122$ kein regelhafter Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V9 und der Differenzierung der malignen Pleuramesotheliome hergestellt werden.

Auch im „Fischers-exakter-Test“ für 2 mal 2-Tafeln konnte mit $P = 0,116$ kein Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V9 und der Differenzierung der malignen Pleuramesotheliome hergestellt werden (persönliche Mitteilung des Statistikers).

In der statistischen Analyse mittels des „Mann-Whitney-U-Tests“ für den Zusammenhang zwischen positiven oder negativen Ergebnissen mit CD44V9 und der Überlebenszeit zwischen Diagnose und Tod in Jahren ergab sich mit $P = 0,463$ keine prognostische Tendenz.

Auch für den statistischen Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V9 und dem Zeitraum zwischen dem Auftreten erster Symptome und dem Tod der Patienten in Monaten ergab sich mit $P = 0,870$ keine prognostische Tendenz.

Unabhängig von der Differenzierung exprimierten also 29 (24,2 Prozent) der malignen Pleuramesotheliome CD44V9.

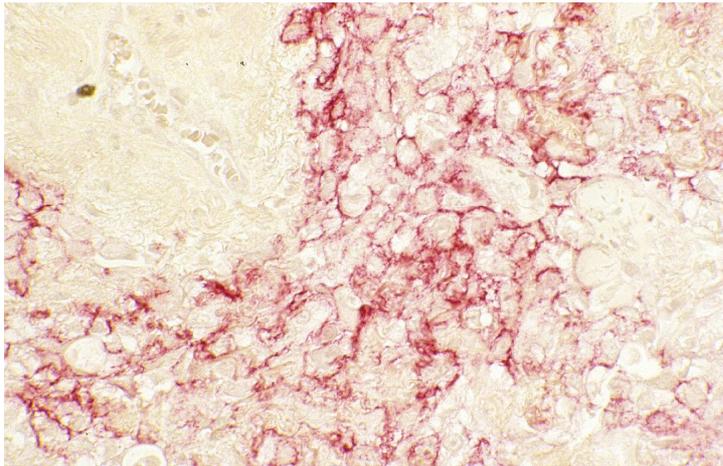


Abbildung 25: Vergrößerung 40-fach.

K 2726/98: Gem. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V9,
stark positiv an Zellmembranen und
Zytoplasma

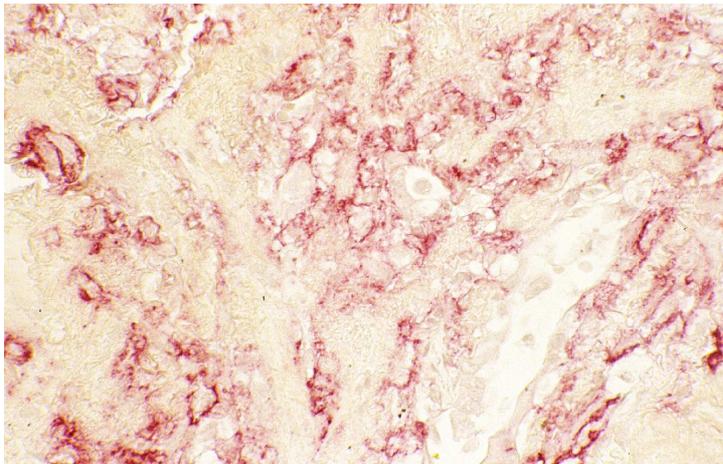


Abbildung 26: Vergrößerung 40-fach

K 2726/98: Gem. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V9,
stark positiv an Zellmembranen und
Zytoplasma

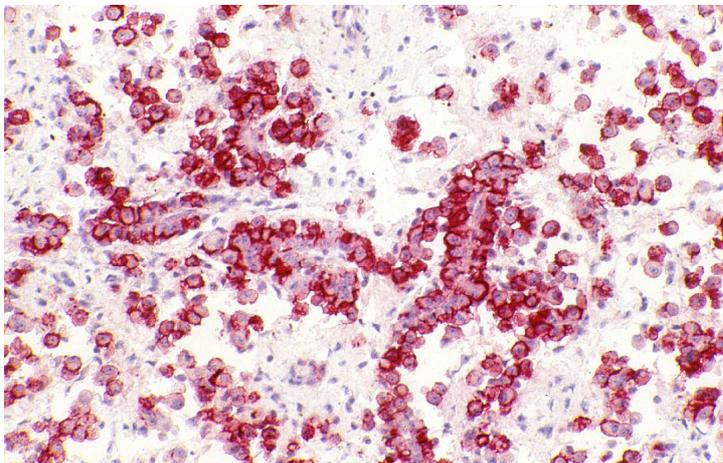


Abbildung 27: Vergrößerung 20-fach

8402: Epith. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V9
stark positiv Zytoplasma und
Zellmembranen

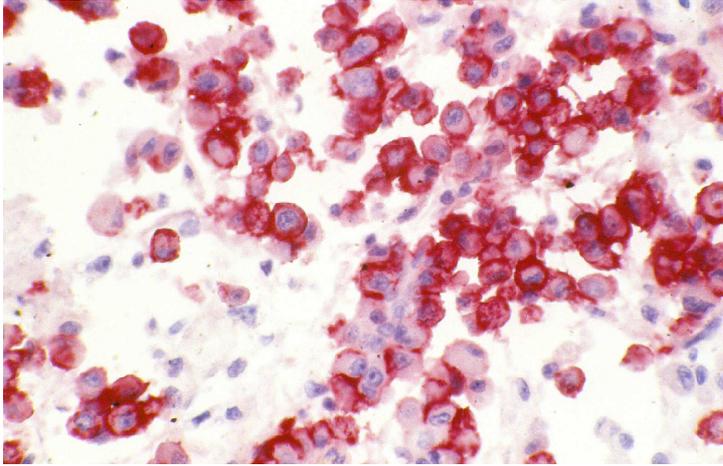


Abbildung 28: Vergrößerung 40-fach.

8402: Epith. Malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V9
stark positiv Zytoplasma und
Zellmembranen

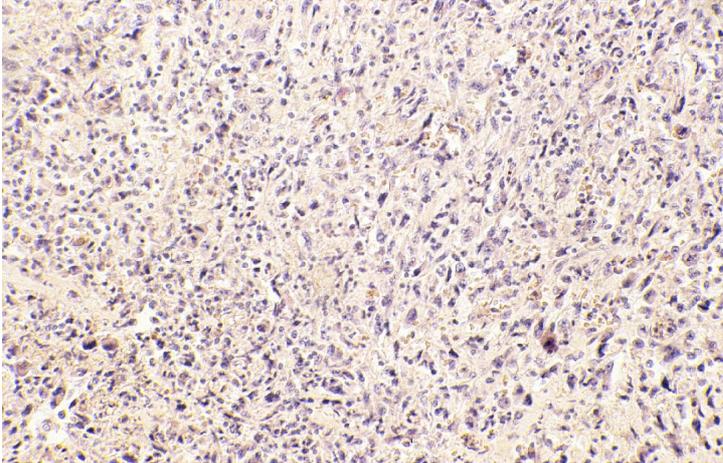


Abbildung 29: Vergrößerung 20-fach.

8094: Sark. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V9
negativ.

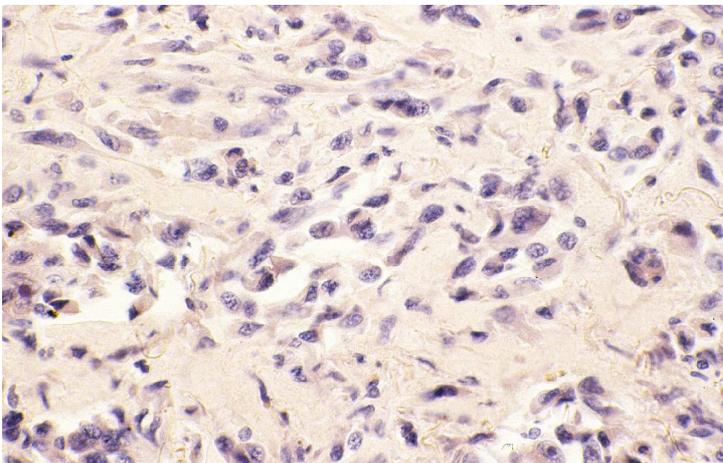


Abbildung 30: Vergrößerung 40-fach.

8094: Sark. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V9,
negativ.

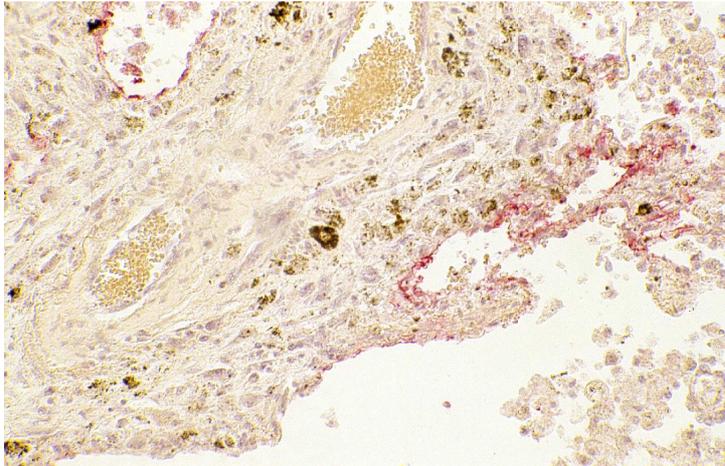


Abbildung 31: Übersicht

8371: Sark. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V9,
negativ.

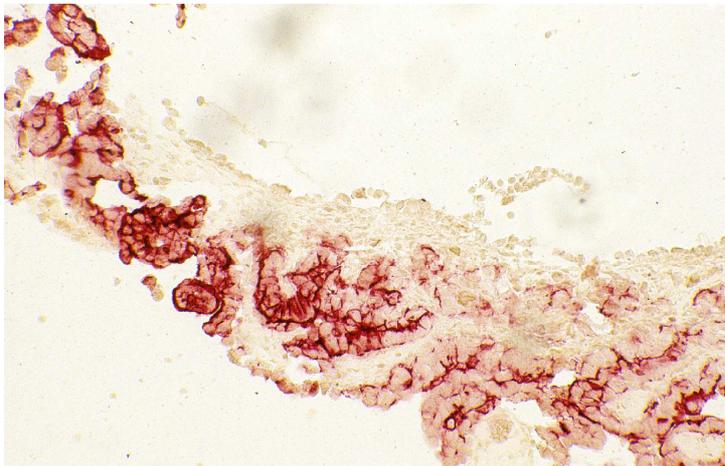


Abbildung 32: Vergrößerung 20-fach.

8361: Epith. malignes
Pleuramesotheliom,
CD44V9,
stark positiv, Zytoplasma.

4.0 Diskussion E-Cadherin

Auf 46 (37,4 Prozent) von 123 formalinfixierten malignen Pleuramesotheliomen konnten wir die Expression von E-Cadherin nachweisen.

Die Datenlage zu diesem Thema ist heterogen. Ein Großteil der Literatur betrifft die Fragestellung, ob mithilfe von E-Cadherin eine Unterscheidung zwischen Adenokarzinom der Lunge und dem malignen Pleuramesotheliom möglich ist.

So untersuchten Peralta-Soler et al. (1995) die Expression von E-Cadherin auf 19 gefrorenen Dünnschnitten maligner Pleuramesotheliome. Verwendet wurde ein anderes immunhistochemisches Verfahren (Avidin-Biotin-Methode) und ein anderer monoklonaler Antikörper (E9 MAb) als in unserer Untersuchung. E-Cadherin war auf malignen Pleuramesotheliomen lediglich in zwei (10,5 Prozent) von 19 Fällen nachweisbar. Vergleichbare Ergebnisse erzielte eine Arbeitsgruppe aus demselben Institut um Han et al. (1997) auf mit Paraffin behandelten Mesotheliomen mit dem Antikörper E9Mab (Immunhistochemie mit indirekter Diaminobenzidin Chromogen Methode). Hier waren alle 13 malignen Pleuramesotheliome negativ. Adenokarzinome hingegen waren stark positiv.

Peralta-Soler et al. (1995) und Han et al. (1997) zogen aus diesen Ergebnissen den Schluss, dass sich E-Cadherin in Kombination mit anderen Markern zur immunhistochemischen Unterscheidung von malignen Pleuramesotheliomen und Adenokarzinom der Lunge eignet.

Eine Arbeitsgruppe um Leers et al. kam 1998 zu ähnlichen Ergebnissen. Mittels der indirekten Immunperoxidasetechnik und dem monoklonalen Antikörper HECD-1 in einer Verdünnung von 1:500 konnte E-Cadherin in drei (15 Prozent) von 20 malignen Pleuramesotheliomen nachgewiesen werden.

Ordonez et al. untersuchten im Jahre 2000 fünfzig epitheliale maligne Pleuramesotheliome mittels indirekter Immunperoxidase und mittels des monoklonalen Antikörpers gegen E-Cadherin 5H9MAb (Verdünnung 1:30). Ziel war es auch hier, einen immunhistochemischen Unterscheidungsmarker für maligne Pleuramesotheliome und Adenokarzinome zu finden. Eine E-Cadherin-Expression war mit sechs Prozent (drei von 50) auf malignen Pleuramesotheliomen nahezu nicht nachweisbar. Auch Müller et al. (2000) berichteten von nur geringfügiger E-Cadherin-Expression auf malignen Pleuramesotheliomen im Gegensatz zu starker Expression auf Adenokarzinomen. Müller et al. untersuchten 44 Mesotheliome mittels Avidin-Biotin-Complex-Färbung. Von 15 epithelialen malignen Pleuramesotheliomen waren

acht (53 Prozent) schwach positiv, von 15 biphasischen malignen Pleuramesotheliomen waren fünf (33 Prozent) schwach positiv, und von 14 sarkomatösen malignen Pleuramesotheliomen waren zwei (14 Prozent) schwach positiv. Insgesamt wurden also 34 Prozent schwach positive Ergebnisse erzielt. Diese qualitativ schwach positiven Färbungen betrafen, so die Autoren, kleine Areale des Tumorgewebes. Alle diese Arbeiten haben gemeinsam, dass sie eine nur geringe Expression von E-Cadherin auf Zellen des malignen Pleuramesothelioms nachweisen.

Bestätigung hingegen finden unsere Ergebnisse durch eine Arbeit von Abutaily et al. (2003). Hier wurden 62 Mesotheliome (26 epitheliale, 14 sarkomatöse, 23 biphasische maligne Pleuramesotheliome) auf immunhistochemischem Wege untersucht (Streptavidin/Biotin Peroxidase Complex, Antikörper HECD-1). E-Cadherin konnte auf 48 Prozent der epithelialen malignen Pleuramesotheliome, zwölf Prozent der biphasischen malignen Pleuramesotheliome und sieben Prozent der sarkomatösen malignen Pleuramesotheliome nachgewiesen werden. Auch die Arbeit von Kitazume et al. (2000) bestätigt die Expression von E-Cadherin auf Zellen des malignen Pleuramesothelioms. Bei der retrospektiven Untersuchung von neun Abstrichen aus Pleuraergüssen mittels Strept-Avidin-Biotin-Methode waren alle neun malignen Pleuramesotheliome positiv für E-Cadherin. In einer Übersichtsarbeit von 1999 zitieren Ordonez et al. eine unveröffentlichte Studie, bei der unter Verwendung eines anderen Antikörpers (Clone 36, Transduction Laboratory, Lexington, KY) von 6 epithelialen malignen Pleuramesotheliomen alle E-Cadherin-positiv waren.

Bei dem Vergleich der verschiedenen Forschungsarbeiten fallen zunächst Unterschiede der Fallzahlen auf. Alle genannten Autoren untersuchten relativ kleine Stichproben, die statistische Variationsbreite der Ergebnisse ist entsprechend hoch. Peralta-Soler et al. (1995) bearbeiteten 19 maligne Pleuramesotheliome, Han et al. (1997) untersuchten 13 maligne Pleuramesotheliome, Leers et al. (1998) kamen auf eine Zahl von 20 malignen Pleuramesotheliomen, Ordonez et al. (2000) arbeiteten mit 50 epithelialen malignen Pleuramesotheliomen, Müller et al (2002) untersuchten 44 maligne Pleuramesotheliome, wir hingegen 123 maligne Pleuramesotheliome.

Bei den zitierten Arbeiten ist die histologische Differenzierung der Mesotheliome sehr unterschiedlich. Ordonez et al. (2000) untersuchten lediglich epitheliale maligne Pleuramesotheliome. Bei Leers et al. (1998) wurde auf eine histologische Unterscheidung der malignen Pleuramesotheliome verzichtet. Müller et al. (2002)

hatten vergleichsweise viele biphasische und sarkomatöse Mesotheliome. Bei Peralta-Soler et al. (1995) lag die Anzahl der biphasischen malignen Pleuramesotheliome sehr hoch (52 Prozent bei Peralta-Soler versus 24 Prozent in unserer Arbeit). In der Literatur wie auch in unserer Arbeit sind die Ergebnisse der verschiedenen histologischen Subtypen der Mesotheliome unterschiedlich. So wurden in unserer Arbeit epitheliale maligne Pleuramesotheliome häufiger positiv angefärbt als beispielsweise biphasische und sarkomatöse maligne Pleuramesotheliome. Eine heterogene Verteilung der positiven Ergebnisse bei den genannten Untersuchungen insbesondere bei Müller et al. (2002) und Peralta-Soler et al. (1995) ist unter zusätzlicher Berücksichtigung der niedrigen Fallzahlen daher nicht verwunderlich.

Ein weiterer Unterschied der Arbeiten betrifft die Diagnosescores. Peralta-Soler et al. (1995) und Leers et al. (1998) bewerteten alle Färbungen > zehn Prozent positiv, Han et al. (1997) alle Färbungen >20 Prozent positiv, wir hingegen alle Färbungen > fünf Prozent positiv. Mit unserer großzügigeren Bewertung positiver Ergebnisse erscheint es zunächst nicht verwunderlich, dass wir eine größere Anzahl positiver Färbungen aufweisen können, zumal aus Tabelle Nr. 18 hervorgeht, dass in unserer Arbeit allein 14 der positiven Ergebnisse für E-Cadherin unter 20 Prozent lagen. Hätten wir beispielsweise einen Diagnosescore von >20 Prozent verwendet, lägen wir jedoch immer noch bei 32 (26 Prozent) positiven Färbungen.

Bei der qualitativen Beurteilung der Färbeintensität waren wir zurückhaltender. Wir werteten im Gegensatz zu den anderen Arbeitsgruppen schwach positiv angefärbte Dünnschnitte negativ. Aus Tabelle Nr. 19 geht hervor, dass wir allein 21 schwach positiv bewertete maligne Pleuramesotheliome der Negativgruppe zuordneten. Unser Diagnosescore erlaubt demnach eine weniger großzügige Bewertung positiver Ergebnisse als es zunächst im Vergleich mit anderen Arbeitsgruppen scheint.

Die oben zitierten Untersuchungen wurden mit verschiedenen monoklonalen Antikörpern durchgeführt.

Peralta-Soler et al. (1995) und Han et al. (1997) verwendeten E9MAb, Ordonez et al. (2000) verwendete 5H9MAb, Müller et al. (2002) verwendete einen Antikörper der Fa. BioGenex in San Remo, wahrscheinlich Clone 36. Abutaily et al. (2003), Leers et al. (1998) und wir verwendeten den monoklonalen Antikörper HECD-1. Abutaily et al. (2003) erzielten in der Tendenz ähnliche Ergebnisse wie wir unter Verwendung eines anderen immunhistochemischen Verfahrens. Leers et al (1998) hingegen erreichte

mit dem auch von uns verwendeten Antikörper nur sechs Prozent positive Färbungen, verwendeten aber auch eine fünfmal geringere Verdünnung des Antikörpers (Leers et al. 1998, 1:500, wir 1:100).

Besonders interessant ist in diesem Zusammenhang eine Arbeit von Ordonez aus dem Jahre 2003. Der Autor untersuchte epitheliale maligne Pleuramesotheliome mit einheitlichen Verfahren, aber drei verschiedenen monoklonalen Antikörpern gegen E-Cadherin. Mit Clone 36 waren 68 Prozent positiv, mit HECD-1 52 Prozent positiv und mit 5h9 MAb waren lediglich 19 Prozent der Färbungen positiv. Mit dem auch von uns verwendeten Antikörper wurden von Ordonez (2003) also durchaus vergleichbare Ergebnisse erzielt. Aus dieser Untersuchung wird deutlich, dass die Unterschiede der Ergebnisse in den genannten Publikationen maßgeblich durch die Wahl des monoklonalen Antikörpers bestimmt wurde.

Auch die verschiedenen immunhistochemischen Verfahren haben zu den unterschiedlichen Ergebnissen beigetragen. Die von uns verwendete APAAP-Färbung ist ein etabliertes immunhistochemisches Verfahren (Cordell et al., 1983). Auch geringe Mengen positiver Elemente stellen sich lichtmikroskopisch klar dar. Das rote Reaktionsprodukt kontrastiert gut mit der blauen Hämatoxylin-Gegenfärbung ohne die unerwünschte Hintergrundfärbung, die man bei Immunperoxidasemethoden beobachten kann. Die APAAP-Methode erlaubt daher eine bessere Detektion angefärbter Zellen.

Die Regulation von E-Cadherin in menschlichen Tumorgewebe wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Die meisten Publikationen zeigen jedoch, dass eine reduzierte E-Cadherin-Expression mit Entdifferenzierung und Metastasierung verschiedener menschlicher Tumorformen einhergeht. E-Cadherin wird von diesen Autoren als ein Molekül bezeichnet, das den epithelialen Zellverband stabilisiert und damit Metastasierung verhindert (Inoue et al., 1991; Schipper et al., 1991; Umbas et al., 1992; Oka et al., 1992; Birchmeier et al., 1993; Katagiri et al., 1995; Terpe et al., 1995; Siitonen et al., 1995; Garcia del Muro et al., 2000; Mikami et al., 2001; Huang et al., 2001).

Unsere Ergebnisse sind in dieser Hinsicht nicht eindeutig. Von 46 E-Cadherin-positiven malignen Pleuramesotheliomen waren 31 in weniger als 50 Prozent der Tumorphäche anzufärben. Dies könnte für eine „Downregulation“ sprechen. Ferner waren epitheliale maligne Pleuramesotheliome in 37,8 Prozent positiv und sarkomatöse maligne Pleuramesotheliome in 11,1 Prozent positiv. Hier könnte also

eine reduzierte E-Cadherin-Expression mit zunehmender fibroblastischer Transformation vorliegen. Diese Tendenz konnten wir bei den biphasischen malignen Pleuramesotheliomen jedoch nicht zeigen. Von 32 biphasischen malignen Pleuramesotheliomen waren 43,7 Prozent positiv. Auch standen uns nur neun sarkomatöse Mesotheliome zur Verfügung. Eindeutiger sind in dieser Hinsicht die Ergebnisse der schon oben zitierten Arbeit von Abutaily et al. aus dem Jahre 2003 (E-Cadherin konnte auf 48 Prozent der epithelialen malignen Pleuramesotheliome, zwölf Prozent der biphasischen malignen Pleuramesotheliome und sieben Prozent der sarkomatösen malignen Pleuramesotheliome nachgewiesen werden).

In Kontrast zu diesen Überlegungen steht eine bereits erwähnte Arbeit von Kitazume et al. (2000), und eine Arbeit von Malle et al. aus dem Jahre 2005. Kitazume et al. untersuchten zytologische Präparate aus Pleuraergüssen (neun maligne Pleuramesotheliome, 16 Proben reaktives Mesothel, 52 Adenokarzinome) auf immunhistochemischem Wege (Streptavidin-Biotin-Methode). Reaktives Mesothel war E-Cadherin-negativ, alle neun malignen Pleuramesotheliome E-Cadherin-positiv. Malle et al. untersuchten im Jahre 2005 zytologische Proben aus Pleuraergüssen von 92 metastasierten Adenokarzinomen, sechs malignen Pleuramesotheliomen und 22 Proben reaktiven Mesothels. Maligne Pleuramesotheliomen waren nur in einem von sechs Fällen anzufärben, reaktives Mesothel in nur einer von 22 Proben. Zwar widersprechen sich beide Arbeiten in der Anzahl der positiven Färbungen für E-Cadherin, stützen sich aber in der Aussage, dass reaktives Mesothel nicht mit E-Cadherin anzufärben war. Bei einer von uns vermuteten „Downregulation“ von E-Cadherin während der malignen Entartung und fibroblastischen Transformation müsste reaktives Mesothel E-Cadherin exprimieren, maligne Pleuramesotheliome hingegen die Fähigkeit zur Expression von E-Cadherin verlieren. Um diesen Sachverhalt genauer zu klären, wäre eine Arbeit nötig, welche die Expression von E-Cadherin an normalem Mesothel und an einer ausgewogenen hohen Fallzahl maligner Pleuramesotheliome vergleicht.

Ob eine differentialdiagnostische Unterscheidung zwischen malignem Pleuramesotheliom und Adenokarzinom der Lunge mithilfe von E-Cadherin möglich ist kann derzeit nicht abschließend geklärt werden. Unsere Untersuchung zeigt jedoch, dass maligne Pleuramesotheliome E-Cadherin in höherem Maße exprimieren als von den oben genannten Arbeitsgruppen vermutet wurde. Eine ausreichende Sensitivität und Spezifität erscheint uns nicht gegeben zu sein. Ob eine solche

Unterscheidung mit anderen Antikörpern gelingt und ob E-Cadherin generell als Marker für eine solche Betrachtung in Frage kommt, muss Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Ein Zusammenhang zwischen Expression und Regulation von E-Cadherin und einem invasiven Verhalten der malignen Pleuramesotheliome ließ sich anhand des vorliegenden Materials nicht überprüfen. In nur 30 von 131 Mesotheliomen war ein invasives Tumorverhalten nach histologischen Kriterien eindeutig zu beurteilen.

Obwohl in der Mehrzahl der Publikationen in Tumoren von einer „Downregulation“ von E-Cadherin berichtet wird, konnte nur in einigen Arbeiten gezeigt werden, dass die verminderte Expression dieses Adhäsionsmoleküls bei humanen Karzinomen mit einer schlechteren Prognose verbunden ist (Katagiri et al., 1995; Siitonen et al., 1995; Bongiorno et al., 1994; Mikami et al., 2001; Huang et al., 2001). In unserer Arbeit konnten wir mit dem „Mann-Whitney-U-Test“ keinen Zusammenhang zwischen der Expression von E-Cadherin und Überlebenszeiten der Patienten herstellen.

4.1 Diskussion CD44H

Mit dem APAAP-Verfahren und dem monoklonalen Antikörper gegen CD44H (2C5, Verdünnung 1:100) konnten wir für formalinfixierte und paraffinkonservierte maligne Pleuramesotheliome positive Ergebnisse erzielen in 67 von 109 Fällen (61,5 Prozent). Ähnliche Ergebnisse zur Expression von CD44H finden sich bei verschiedenen Arbeitsgruppen.

Ordonez et al. untersuchten beispielsweise im Jahre 2000 50 epitheliale maligne Pleuramesotheliome mit dem monoklonalen Antikörper F10-44.2 gegen CD44H (Verdünnung 1:75). Positiv waren 36 von 50 (72 Prozent) maligne Pleuramesotheliome.

Andere Arbeitsgruppen stellten die Frage nach der Differentialdiagnose zwischen malignem Pleuramesotheliom und Adenokarzinom in den Vordergrund ihrer Bemühungen. Attanoos et al. berichteten 1997 von einer starken CD44H-Expression (Verdünnung 1:80) in 15 von 20 (75 Prozent) malignen Pleuramesotheliomen. Mit Anti-CD44H waren neun von elf epitheliale maligne Pleuramesotheliome, fünf von sechs biphasische maligne Pleuramesotheliome und ein sarkomatöses Mesotheliom (von drei) anzufärben. Auch alle 20 Proben reaktiven Mesothels waren deutlich CD44H-positiv. Keine CD44H-Nachweisbarkeit fand sich jedoch auf Adenokarzinomen der Lunge. Afify et al. kamen 1998 zu einem ähnlichen Ergebnis. CD44H (Verdünnung 1:50) ließ sich in zehn von zwölf (83 Prozent) Proben reaktiven Mesothels, 14 (64 Prozent) von 22 diffusen malignen Pleuramesotheliomen, aber nur in neun (35 Prozent) von 26 Adenokarzinomen der Lunge nachweisen, nicht dagegen in normalem Mesothel. Afify et al. untersuchten in einer weiteren Arbeit (2005), ob mithilfe des Antikörpers gegen CD44H und eines spezifischen hyaluronsäurebindenden Peptides eine Unterscheidung zwischen Zellen mesothelialen Ursprunges und Adenokarzinomen der Lunge möglich ist. CD44H war zu 100 Prozent in malignen Pleuramesotheliomen (N = 14) nachweisbar, zu 86 Prozent (N = 28) in reaktivem Mesothel und zu 8 Prozent (N = 12) in Adenokarzinomen der Lunge. Daraus folgerten diese Autoren, dass CD44H ein Marker zur Unterscheidung von malignen Pleuramesotheliomen und Adenokarzinomen der Lunge sei.

Zu einer anderen Schlussfolgerung kamen Filie et al. 1998. In 18 von 20 (90 Prozent) malignen Pleuramesotheliomen und in neun von 21 (43 Prozent) metastasierenden Adenokarzinomen der Lunge konnte eine CD44H-Expression nachgewiesen werden.

Auch Cury et al. berichteten in einer Publikation aus dem Jahre 2000 von einer CD44H-Expression auf 43 von 61 (91 Prozent) epithelialen malignen Pleuramesotheliomen und 27 von 60 (45 Prozent) metastasierenden Adenokarzinomen der Lunge.

Die beiden letztgenannten Autoren folgerten daraus, dass CD44H zur Unterscheidung von malignen Pleuramesotheliomen und Adenokarzinom der Lunge nicht geeignet ist.

Alle diese Arbeiten haben mit der unseren gemeinsam, dass sie eine hohe Anzahl positiver Ergebnisse für die Expression von CD44H zeigen. Die Ergebnisse für die Expression von CD44H auf Zellen des Adenokarzinoms der Lunge sind heterogen.

Ob eine Unterscheidung zwischen malignem Pleuramesotheliom und Adenokarzinom der Lunge mithilfe von CD44H möglich ist, kann aus unserer Sicht derzeit nicht abschließend beurteilt werden. Da jedoch, wie wir zeigen konnten, bei einer größeren Stichprobe der Anteil positiver Färbungen abnimmt, erscheint es fraglich, ob eine solche Unterscheidung möglich sein wird. Es fehlen weitere Untersuchungen mit höheren Fallzahlen.

CD44H ist auf menschlichem Epithel weit verbreitet. In der Literatur gibt es Hinweise dafür, dass sowohl die „Upregulation“ als auch die „Downregulation“ von CD44H mit einem Tumorprogress einhergehen kann (Tanabe et al., 1995; Cannistra et al., 1993; Hori et al., 2001). Unsere Ergebnisse zeigen, dass mit zunehmender fibroblastischer Transformation der Mesotheliome eine zunehmende Expression von CD44H festzustellen ist (epitheliale maligne Pleuramesotheliome positiv in 55,3 Prozent, biphasisch positiv in 75,0 Prozent und sarkomatöse positiv in 77,8 Prozent). Dies könnte für eine „Upregulation“ sprechen. Leider standen uns nur neun sarkomatöse Mesotheliome und 24 biphasische Mesotheliome zur Verfügung. Für einen Zusammenhang zwischen der Expression von CD44H und der Prognose der Mesotheliom-Patienten gab es nach dem „Mann-Whitney-U-Test“ keinen Anhaltspunkt.

4.2 Diskussion CD44V9

Auf 29 (24,2 Prozent) von 120 malignen Pleuramesotheliomen konnten wir mit dem APAAP-Verfahren (monoklonaler Antikörper 1E8, Verdünnung 1:25) positive Ergebnisse erzielen.

In 24 von 29 positiven Fällen war CD44V9 stark anzufärben und betraf ausgewogen sowohl das Zytoplasma als auch Zellmembranen. Allerdings betrafen 22 von 29 positive Ergebnisse weniger als 50 Prozent der histologisch identifizierten Tumorfläche (Tabelle Nr. 38). Darüber hinaus fällt auf, dass epitheliale maligne Pleuramesotheliome am häufigsten positive Ergebnisse zeigten (29,2 Prozent), also Tumoren, die innerhalb der Gruppe der malignen Pleuramesotheliome am besten differenziert sind und als positiver Prognosefaktor identifiziert wurden (Boutin und Rey, 1993; Rusch, 1996 und 1999; Herndon, 1998). Biphasische Mesotheliome waren in 10,3 Prozent positiv, sarkomatöse maligne Pleuramesotheliome waren in 22,2 Prozent positiv, lagen aber nur in geringer Fallzahl vor. Ob es im Rahmen der Entdifferenzierung und fibroblastischen Transformation zu einer verminderten Expression auf Zellen des malignen Pleuramesothelioms kommt lässt sich somit nicht eindeutig feststellen. Zur Klärung dieses Sachverhaltes wäre es auch hier interessant, die Expression von CD44V9 an normalem Mesothel und einer ausgewogenen, hohen Anzahl von malignen Pleuramesotheliomen zu untersuchen. Für einen statistischen Zusammenhang zwischen der Überlebenszeit der Patienten und der CD44V9-Expression gab es keinen Hinweis.

4.3 Diskussion CD44V6

Unsere Ergebnisse zeigen eine geringe Expression (18,2 Prozent) von CD44V6 auf Zellen des malignen Pleuramesothelioms. Von 80 epithelialen malignen Pleuramesotheliomen waren 16 (20 Prozent) positiv, von 32 biphasischen malignen Pleuramesotheliomen waren sechs (18,7 Prozent) positiv und von neun sarkomatösen malignen Pleuramesotheliomen waren alle negativ. Ähnlich wie bei CD44V9 wurde der überwiegende Anteil der Ergebnisse von uns als stark positiv klassifiziert (16 von 22 positiven Ergebnissen). Zudem betrafen 16 von 22 positiven Ergebnissen weniger als 50 Prozent der Tumorfläche. Auch fällt auf, dass epitheliale maligne Pleuramesotheliome am häufigsten (20 Prozent) positive Ergebnisse zeigten, also Tumoren, die innerhalb der Gruppe der malignen Pleuramesotheliome am besten differenziert sind und als positiver Prognosefaktor identifiziert wurden (Boutin und Rey, 1993; Rusch, 1996 und 1999; Herndon, 1998). Hier könnte eine „Downregulation“ im Verlauf der Kanzerogenese und fibroblastischen Transformation vorliegen. Leider standen uns nur neun sarkomatöse und 32 biphasische maligne Pleuramesotheliome zur Verfügung.

Jackson et al. untersuchten 1994 verschiedene Lungentumor-Zelllinien (Plattenepithelkarzinome, Adenokarzinome, kleinzellige Bronchialkarzinome, maligne Pleuramesotheliome) mittels Immunhistochemie und PCR. Der Nachweis von CD44V6 auf Zelllinien des malignen Pleuramesothelioms gelang nicht. Jackson et al. folgerten daraus, dass CD44V6 bei der Entwicklung des malignen Pleuramesothelioms keine Rolle spielt. Dieser Schlussfolgerung können wir uns mit unserem Ergebnis nicht anschließen.

Einen statistischen Zusammenhang zwischen der Expression von CD44V6 und der Prognose der Patienten konnten wir nicht feststellen.

4.4 Diskussion CD44V5

Eine Untersuchung der Expression von CD44V5 auf größeren Fallzahlen formalinfixierter maligner Pleuramesotheliome wurde von uns erstmals durchgeführt. In der Literatur ist eine vergleichbare Arbeit nicht zu finden. Die Expression von CD44V5 auf Zelllinien des malignen Pleuramesothelioms konnte von Jackson et al. 1994 nicht nachgewiesen werden. Unsere Ergebnisse zeigen eine geringe CD44V5-Expression auf formalinfixierten malignen Pleuramesotheliomen. Somit ist CD44V5, anders als von Jackson et al. vermutet, an der Entwicklung des malignen Pleuramesothelioms beteiligt. Einen statistischen Zusammenhang zwischen Prognose und Expression konnten wir nicht zeigen.

Von 119 malignen Pleuramesotheliomen waren 26 CD44V5-positiv. Stark positive Färbungen (15) und mäßig positive Färbungen (11) hielten sich die Waage. Die Beurteilung der CD44-Expression auf verschiedenen menschlichen Tumoren fällt in der Literatur sehr heterogen aus. Auch wurde CD44V5 in der Vergangenheit weniger häufig untersucht als beispielsweise CD44V6 oder CD44H. Mantel-Horst et al. konnten 1995 zeigen, dass die Expression von CD44V5 auf malignen Melanomen mit Tumorprogression und Entdifferenzierung einhergeht. Unsere Ergebnisse sind hier nicht eindeutig. CD44V5 war in epithelialen Mesotheliomen in 20 Prozent, in biphasischen Mesotheliomen in 25,2 Prozent und in sarkomatösen Mesotheliomen in 11,1 Prozent nachzuweisen. Leider standen uns bei unserer Untersuchung nur neun sarkomatöse und 30 biphasische maligne Pleuramesotheliome zur Verfügung. Hier konnten wir, vermutlich wegen der geringen Zahl sarkomatöser Mesotheliome, keine eindeutige Tendenz der CD44V5-Expression bei zunehmender fibroblastischer Transformation zeigen. Nur in einem geringen Anteil unseres Materials war eine Metastasierung nach histologischen Kriterien lichtmikroskopisch eindeutig nachzuweisen. Das Metastasierungsverhalten haben wir daher nicht berücksichtigt.

4.4 Diskussion CD44V3

Die Expression von CD44V3 auf verschiedenen menschlichen Tumoren ist ebenfalls Gegenstand klinischer Forschung. Mit dieser Fragestellung wurden Bronchialkarzinome, Non-Hodgkin-Lymphome, Urothelkarzinome, Prostatakarzinome, Tumore des Endometriums, Karzinome der extrahepatischen Gallenwege, nasopharyngeale Karzinome und Ösophaguskarzinome von verschiedenen Arbeitsgruppen untersucht (Terpe et al., 1994; Ariza et al., 1995; Mikami et al., 2001; Huang et al., 2001; Leblanc et al., 2000; Aaltoma et al., 2000).

In einer Arbeit von Jackson et al. (1994) konnte CD44V3 mittels PCR auf Mesotheliom-Zelllinien und immortalisierten normalen Mesothel-Zelllinien nachgewiesen werden.

In unserer Arbeit wurde erstmals die Expression von CD44V3 immunhistochemisch auf formalinfixierten malignen Pleuramesotheliomen untersucht. Eine vergleichbare Arbeit ist in der Literatur nicht zu finden. Unsere Ergebnisse zeigen eine geringe CD44V3-Expression (18,5 Prozent) auf malignen Pleuramesotheliomen, allerdings mit einer Tendenz für stark positive Anfärbungen (13 von 22). Auch zeigen unsere Ergebnisse, dass epitheliale maligne Pleuramesotheliome in 21,5 Prozent CD44V3-positiv waren, also Tumoren, die innerhalb der Gruppe der malignen Pleuramesotheliome am besten differenziert sind und als positiver Prognosefaktor identifiziert wurden (Boutin und Rey, 1993; Rusch, 1996 und 1999; Herndon, 1998). Biphasische Mesotheliome waren dagegen nur in 12,9 Prozent positiv, sarkomatöse in 11,1 Prozent positiv. Damit könnte eine Tendenz zur abnehmenden CD44V3-Expression bei zunehmender fibroblastischer Transformation vorliegen.

Leider muss einschränkend erwähnt werden, dass uns nur eine geringe Zahl von biphasischen Mesotheliomen (31) und sarkomatösen Mesotheliomen (9) vorlag.

Eine prognostische Tendenz konnte mit dem „Mann-Whitney-U-Test“ nicht nachgewiesen werden.

Limitiert werden unsere Ergebnisse durch subjektive Gesichtspunkte, die bei semiquantitativen Beurteilungsverfahren auftreten können, und durch die geringe Anzahl sarkomatöser maligner Pleuramesotheliome.

Eine eingeschränkte Aussagefähigkeit ergibt sich in unserer Arbeit auch für die Frage nach dem Zusammenhang zwischen Färbeergebnissen und Prognose durch die geringe Anzahl von Mesotheliomen, denen Überlebenszeiten zugeordnet werden

konnten (70 Patienten aus der Gimesstudie). Hier mussten wir einen Stichprobenfehler in Kauf nehmen. Durch Materialverlust während des Färbeverfahrens kam es zu einer weiteren Reduktion der Fallzahl.

Ob sich bei einer höheren Anzahl von Mesotheliompatienten mit bekannten Überlebenszeiten eine Prognose abzeichnet, muss Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

5 Zusammenfassung

Adhäsionsmoleküle sind an Progress und Metastasierung von Tumoren beteiligt.

Die Expression und Regulation der Adhäsionsmoleküle E-Cadherin und CD44 ist in den vergangenen Jahren an verschiedenen humanen malignen Tumoren untersucht worden. Die verminderte Expression von E-Cadherin wurde in der überwiegenden Anzahl der Publikationen mit einem Progress und einer schlechten Prognose in Verbindung gebracht. Eine geringe Expression von E-Cadherin auf kleinen Fallzahlen maligner Pleuramesotheliome mittels handelsüblicher monoklonaler Antikörper und verschiedener immunhistochemischer Verfahren wurde bereits von einigen Arbeitsgruppen nachgewiesen.

Bei den Isoformen der CD44-Familie ist die Datenlage heterogen. Sowohl die „Upregulation“ als auch die „Downregulation“ wurde in verschiedenen Publikationen mit einem Tumorprogress in Verbindung gebracht.

Eine umfassende Untersuchung der Expression von CD44-Isoformen an einer größeren Fallzahl maligner Pleuramesotheliome ist in der Literatur nicht bekannt. Die Expression von CD44H, CD44V6, CD44V3 an kleinen Fallzahlen maligner Pleuramesotheliome wurde in der Vergangenheit bereits untersucht.

In unserer Arbeit geht es um die Fragestellung, ob formalinfixierte und in Paraffin konservierte maligne Pleuramesotheliome die Adhäsionsmoleküle E-Cadherin, CD44H, CD44V3, CD44V5, CD44V6 und CD44V9 exprimieren und ob es möglich ist, eine Aussage über die Regulation der oben genannten Adhäsionsmoleküle zu treffen. Ferner geht es um die Frage, ob es einen Zusammenhang zwischen der Expression dieser Marker und Überlebenszeiten gibt.

Zu diesem Zwecke untersuchten wir rund 130 maligne Pleuramesotheliome. Verwendet wurden handelsübliche monoklonale Antikörper gegen die oben genannten Adhäsionsmoleküle. Die Auswertung erfolgte lichtmikroskopisch nach einem semiquantitativen Verfahren durch zwei Gutachter. Der Zusammenhang zwischen der Expression der einzelnen Adhäsionsmoleküle und Überlebenszeiten wurde mit dem „Mann-Whitney-U-Test“ geprüft.

Mit unserer Methode konnten wir eine Expression der Adhäsionsmoleküle E-Cadherin und CD44H nachweisen. Die Expression der Adhäsionsmoleküle CD44V3, CD44V5, CD44V6 und CD44V9 fiel geringer aus.

E-Cadherin war in 46 (37,4 Prozent) Fällen, CD44H in 67 (61,5 Prozent) Fällen, CD44V3 in 22 (18,4 Prozent) Fällen, CD44V5 in 26 (21,8 Prozent) Fällen, CD44V6 in

22 (18,2 Prozent) Fällen, CD44V9 in 29 (24,2 Prozent) Fällen auf Zellen des malignen Pleuramesothelioms nachweisbar.

Für keines der untersuchten Adhäsionsmoleküle konnten wir mit dem „Mann-Whitney-U-Test“ eine prognostische Tendenz nachweisen.

Ob es sich bei den Färbeergebnissen für E-Cadherin und die CD44-Isoformen um „Upregulation“ oder „Downregulation“ handelt, können wir mit den vorliegenden Daten nicht abschließend beantworten. Invasives Verhalten nach eindeutigen histologischen Kriterien konnten wir nur bei einer geringen Anzahl von malignen Pleuramesotheliomen feststellen. Auch gibt es in der Literatur keine eindeutigen Hinweise für die Expression von E-Cadherin und CD44-Isoformen an normalem Mesothel. Wie auch immer, bei zunehmender Entartung und fibroblastischer Entwicklung des malignen Pleuramesothelioms könnte für E-Cadherin, CD44V3 und CD44V6 eine Tendenz zur „Downregulation“ und für CD44H eine Tendenz zur „Upregulation“ vorliegen.

Mit den von uns verwendeten monoklonalen Antikörper HECD-1 gegen E-Cadherin und 2C5 gegen CD44H kann eine Unterscheidung zwischen malignem Pleuramesotheliom und Adenokarzinom der Lunge wahrscheinlich nicht erfolgen. Unsere Ergebnisse zeigen, dass E-Cadherin in größerem Umfang und CD44H weniger häufig auf malignen Pleuramesotheliomen exprimiert wird als von anderen Autoren vermutet wurde. Ob dies mit anderen Antikörpern gelingt und ob E-Cadherin und CD44 generell als Marker für eine solche Betrachtung in Frage kommen, muss Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Summary

Adhesion molecules play a role in the development of metastases in tumours.

The expression and regulation of the adhesion molecules E-Cadherin and CD44 has been studied in human malignant tumours over the last years. The reduced expression of E-Cadherin has been, in most cases published, connected with a progress and poor prognosis.

A minimal expression of E-Cadherin on mesothelioma-cells, in a small number of mesothelioma-cases, following the use of commercially available monoclonal antibodies and a various number of immunohistochemical processes has already been seen by a number of teams.

The data of the CD44 family is heterogeneous. The upregulation, as is the downregulation, has been connected in a number of publications, with the development and progress in tumours.

A comprehensive study of the expression of CD44 isoforms comprising of a much larger number of malignant mesothelioma-cases has not been found within the available literature, although the expression of CD44H, CD44V6, and CD44V3 in a smaller number of case studies has been analysed in the past.

Our work concerns the question if malignant pleuramesotheliomas, when brought into contact with formaline as a fixative and paraffin as a conservative, present the adhesive molecules E-Cadherin, CD44H, CD44V3, CD44V5, CD44V6 and CD44V9 on its cell surface, and if it is possible to make a statement about the regulation of the above mentioned adhesion molecules. Further we are concerned with the question if a relationship between the expression of this adhesion molecules and the length of survival exists.

For this purpose, we have studied approximately 130 malignant pleuramesotheliomas. Commercially available monoclonal antibodies have been used against the above mentioned adhesion molecules. The evaluation was achieved through a light microscopic study through a semi-quantitative process by two assessors.

The relationship between the adhesion molecules and length of survival, was evaluated through the "Mann-Whitney-U-Test".

With these methods we were able to prove a definite expression of the adhesion molecules E-Cadherin and CD4 H. The expression of the adhesion molecules CD44V3, CD44V5, CD44V6 and CD44V9 was somewhat less.

E-Cadherin was proved to be on malignant pleuramesothelioma cells in 46 cases (37,4 Prozent), on CD44H in 67 cases (61,5 Prozent), on CD44V3 in 22 cases (18,4 Prozent), on CD44V5 in 26 cases (21,8 Prozent), on CD44V6 in 22 cases (18,4 Prozent) and on CD44V9 in 29 cases (24,2 Prozent).

For none of the tested adhesion molecules, was it possible to come to a prognostic tendency for the occurrence of symptoms and death of patients through the "Mann-Whitney-U-Test".

With our results for E-Cadherin and CD44, it was not possible to state finally if upregulation or downregulation had occurred. We could only find an invasive tendency of a certain histological character in a very small number of mesotheliomas. Moreover there is no definite and satisfactory statement towards the expression of E-Cadherin and CD44 isoforms to normal mesothelium in the available literature. However, for dedifferentiation of malignant pleural mesothelioma E-Cadherin, CD44V3 and CD44V6 might have a tendency for downregulation and CD44H a tendency for upregulation.

With the monoclonal antibodies HECD-1 against E-Cadherin and 2C5 against CD44H there can probably no histological differentiation between malignant pleural mesothelioma and adenocarcinoma of the lungs be achieved.

Our conclusion shows that E-Cadherin occurs on the surface of mesothelioma-cells to a much larger extent and CD44H to a smaller extent than has been noted in the available literature. If this is possible with other antibodies and if E-Cadherin or CD44 can be used as markers in general remains to be seen and must be the subject of further studies.

6 Literaturverzeichnis

1. Aaltomaa S, Lipponen P, Viitanen J, Kankkunen JP, Ala-Opas M, Kosma VM: Prognostic value of CD44 standard, variant isoforms 3 and 6 and alpha-catenin expression in local prostate cancer treated by radical prostatectomy, *Eur Urol.* 2000; 38:555-562.
2. Abutaily AS, Collins JE, Roche WR: Cadherins, catenins and APC in pleural malignant mesothelioma, *J Pathol.* 2003; 201:355-362.
3. Afify AM, Stern R, Jobes G: Differential expression of CD44 S and hyaluronic acid in as, adenocarcinomas, and reactive mesothelial hyperplasias, *App Immunohistochem Mol Morphol.* 1998; 6: 11-15.
4. Afify AM, Stern R, Michael CW: Differentiation of mesothelioma from adenocarcinoma in serous effusion: the role of hyaluronic acid and CD44 localization, *Diagn Cytopathol.* 2005; 32:145-50.
5. Akiyama SK, Yamada KM: Adhesion molecules in cancer, *Semin Cancer Biology.* 1993; 4: 215-218.
6. Albelda SM: Role of integrins and other cell adhesion molecules in tumour progression and metastasis, *Lab Invest.* 1993; 68:4-17.
7. Arch R, Wirth K, Hofmann M, Ponta H, Matzku S, Herrlich Peter, Zöller M: Participation in normal immune responses of a metastasis inducing splice variant of CD44, *Science.* 1992; 257:682-685.
8. Ariza A, Mate JL, Isamat M, Lopez D, Uexküll-Güldeband C, Rosell R, Fernandez-Vasalo A, Navas-Palacios JJ: Standard and variant CD44 isoforms are commonly expressed in lung cancer of the non-small cell type but not of the small cell type, *J Pathol.* 1995; 177:363-368.
9. Ariza A, Lopez D, Mate JL, Isamat M, Musulen E, Pujol M, Ley A, Navas-Palacios JJ: Role of CD44 in the invasiveness of glioblastoma multiforme and the non-invasiveness of meningioma: An immunohistochemical Study, *Hum Pathol.* 1995; 10:1144-1147.
10. Asplund T, Heldin P: Hyaluronate receptors are expressed on human malignant cells but not on normal mesothelial cells, *Cancer Res.* 1994; 54: 4516-4523.
11. Attanoos RL, Webb R, Gibbs AR: CD44 H expression in reactive mesothelium and pulmonary adenocarcinoma, *Histopathology.* 1997; 30: 260-263.
12. Baas P, Murrer L, Zoetmulder FAN, Stewart FA, Ris HB, Baas-Zandwijk N van, Peterse JL, Rutgers EJTh: Photodynamic therapy as adjuvant therapy in surgically treated pleural malignancies, *Br J Cancer.* 1997; 76:819-826
13. Bachmann KD, Vilmar K: Belastung der Bevölkerung mit Asbest, *Dtsch Arztebl.* 1991; 27:2402-2409

14. Baldini EH: External beam radiation therapy for treatment of pleural mesothelioma, *Thorac Surg Clin.* 2004; 14:543-548.
15. Behrens J, Mareel MM, van Roy FM, Birchmeier W: Dissecting tumour cell invasion: Epithelial cells acquire invasive properties following the loss of uvomorulin-mediated cell-cell adhesion, *J Cell Biol.* 1989; 108:2435-2447.
16. Berghäuser KH, Schellhoss SF, Knoblauch B, Terpe HJ: Absence of the expression of E-Cadherin correlates with invasive growth of malignant cell-lines, *Pathol Res Pract.* 1995; Supplement 191:206 (abstract).
17. Bielefeldt-Ohmann H, Jarnicki AG, Fitzpatrick DR: Molecular pathobiology and immunology of malignant mesothelioma, *J Pathol.* 1996; 178:369-378.
18. Birchmeier W, Weidner KM, Hülsken J, Behrens J: Molecular mechanisms leading to cell junction (cadherin) deficiency in invasive carcinomas, *Semin Cancer Biol.* 1993; 4:231-239.
19. Bongiorno PF, Al Kasspoles M, Lee SW, Rachwal WJ, Moore JH, Whyte RI, Orringer MB, Beer DG: E-Cadherin expression in primary and metastatic thoracic neoplasm and in Barrett's oesophagus, *Br J Cancer.* 1994; 71:166-172.
20. Boutin C, Rey F: Thoracoscopy in pleural malignant mesothelioma: A prospective study of 188 consecutive patients, *Cancer.* 1993; 72:389-393.
21. Boutin C, Nussbaum E, Monnet I, Bignon J, Vanderschueren R, Guerin J-C, Menard O, Mignot P, Dabouis G, Douillard J-Y: Intrapleural treatment with recombinant gamma-interferon in early stage malignant pleural mesothelioma, *Cancer.* 1994; 74:2460-2467.
22. Boutin C, Rey F, Viallat JR: Prevention of malignant seeding after invasive diagnostic procedures in patients with malignant pleural mesothelioma (A randomized trial of local radiotherapy), *Chest.* 1995; 108:754-758.
23. Boutin C, Schlessler M, Frenay C, Astoul Ph: Malignant mesothelioma, *Eur Respir J.* 1998 ; 12:972-981.
24. Butchart EG, Ashcroft T, Barnsley C, Holden MP: Pleuropneumonectomy in the management of diffuse malignant mesothelioma of the pleura, *Thorax.* 1976; 31:15-24.
25. Cannistra SA, Kansas GS, Niloff J, De Franzo B, Kim Y, Ottensmeier CH: Binding of ovarian cancer cells to peritoneal mesothelium in vitro is partly mediated by CD44 H, *Cancer Res.* 1993; 53:3830-3838.
26. Herndon JE, Green MR, Chahinian AP, Corson JM, Suzuki Y: Factors predictive of survival among 337 patients with mesothelioma treated between 1984 and 1994 by the Cancer and Leukemia Group B, *Chest.* 1998; 113:723-731.

27. Chang MY, Sugarbaker DJ: Extrapleural pneumonectomy for diffuse malignant pleural mesothelioma: techniques and complications, *Thorac Surg Clin.* 2004; 14:523-530.
28. Chen YQ, Honn KV: Eicosanoid regulation of tumour cell-platelet and endothelium interaction during arrest and extravasation. In Honn KV, Tang DG: Adhesion molecules and tumour cell interaction with endothelium and subendothelial matrix, *Cancer Metastasis Rev.* 1992; 11:353-375.
29. Chhieng DC, Yee H, Cangiarella JF, Symmans WF, Cohen JM: Use of E-Cadherin and CD44 aids in the differentiation between reactive mesothelial cells and carcinoma cells in pelvic washings, *Cancer.* 2000; 90:299-306.
30. Churg A: Deposition and clearance of chrysothile asbestos, *Ann Occup Hyg.* 1994; 38:625-633.
31. Cordell JL, Falini B, Erber W, Ghosh A, Abdulaziz Z, Mac Donald S, Pulford KAF, Stein H, Mason DY: Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase, *J Histochem Cytochem.* 1983; 32:2219-229
32. Cury PM, Butcher DN, Fisher C, Corrin B, Nicholson AG: Value of the mesothelium-associated antibodies thrombomodulin, cytokeratin 5/6, calretinin, and CD44 H in distinguishing epithelial pleural mesothelioma from adenocarcinoma metastatic to the pleura, *Mod Pathol.* 2000; 13:107-112.
33. Dalchau J, Kirkley J, Faber JW: Monoclonal antibody to a human brain-granulocyte-T-lymphocyte antigen probably homologous to the W3/13 antigen of the rat, *Eur J Immunol.* 1981; 10:745-749.
34. East JA, Mitchell D, Hart IR: Expression and function of the CD44 glycoprotein in melanoma cell lines, *Melanoma Res.* 1993; 3:341-346.
35. Domman SNW, Ziegler T, Domman-Schener C, Meyer J, Panizzon R, Burg G: CD44 V6 is a marker for systemic spread in cutaneous T-cell lymphomas, *J Cutan Pathol.* 1995; 22:407-412.
36. East JA, Mitchell D, Hart IR: Expression and function of the CD44 glycoprotein in melanoma cell lines, *Melanoma Res.* 1993; 3:341-346.
37. Ebener U, Wehner S: Mikrowellenstimulierte Zellmarkeranalyse, Möglichkeit einer beschleunigten Immundiagnostik, *Clin Pediatr.* 1993; 205: 34-40.
38. Eberhardt W: Crossing Jordan pleural mesothelioma evolving as a treatable disease, *Pneumologie.* 2004; 58:208-209.
39. Eidelmann S, Damsky CH, Wheelock MJ, Damjanov I: Expression of cell-cell adhesion glykoprotein cell- CAM 120/80 in normal human tissues and tumours, *Am J Pathol,* 1989, 135: 101-110 in Mareel M, Bracke M, Van Roy F:

Cancer Metastasis: Negative regulation by an invasion-suppressor complex; Cancer Detect Prev. 1995; 19:451-464.

40. Faber LP: Extrapleural pneumonectomy for diffuse malignant pleural mesothelioma, Ann Thorac Surg. 1994; 42:612-618.
41. Filie AC, Abati A, Fetsch P et al.: Hyaluronate binding probe and CD44 S in the differential diagnosis of malignant effusions disappointing results in cytology material, Diagn Cytopathol. 1998; 18:473-474.
42. Frixen UH, Behrens J, Sachs M, Eberle G, Voss B, Warda A, Löchner D, Birchmeier W: E-Cadherin-mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells, J Cell Biol. 1991; 113:173-185.
43. Gallatin WM, Rosenman SJ, Ganji A, St. John TP: Structure-function relationship of the CD44 class of glycoproteins, Cell Mol Mech Inf. 1991; 2:131-150. In Albelda SM: Role of integrins and other cell adhesion molecules in tumour progression and metastasis, Lab Invest. 1993; 68:4-17.
44. Garcia del Muro X, Torregrosa A, Munoz J, Castellsague X, Condom E, Vignes F, Arance A, Fabra A, Germa JR: Prognostic value of the expression of E-Cadherin and Beta-Catenin in bladder cancer, Eur J Cancer. 2000; 36:357-362.
45. Geroulanos S, Lampe Ph, Häfner F, Buchmann P, Largiader F: Das maligne Pleuramesotheliom, Diagnostik, Therapie und Prognose, Schweiz Rundsch Med Prax. 1990; 79:361-367.
46. Günther U, Hofmann M, Rudy M, Reber S, Zoller M, Hausmann I, Mlatzku S, Wenzel A, Ponta H, Herrlich P: A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells, Cell. 1991; 65:13-24.
47. Han AC, Peralta-Soler A, Knudsen KA, Wheelock MJ, Johnson KR, Salazar H: Differential expression of N-Cadherin in pleural mesothelioma and E-Cadherin in adenocarcinoma in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues, Hum Pathol. 1997; 28:641-5
48. Hartmann CA : Das maligne Pleuramesotheliom im Sektionsgut des Instituts für Pathologie am Krankenhaus Spandau, Prax Klin Pneumol. 1985; 39:59-64.
49. Haynes BF, Liao HX, Patton KL: The transmembrane hyaluronate receptor CD44: Multiple functions, multiple forms, Cancer Cells, 1991; 3:347-350.
50. Hong RL, Pu YS, Chu JS, Lee WJ, Cheng YC, Wu ChW: Correlation of expression of CD44 isoforms and E-Cadherin with differentiation in human urothelial cell-lines and transitional cell carcinoma, Cancer Lett. 1994; 89:81-87.
51. Hong RL, Lee WJ, Shun ChT, Chu JS, Chen YCh: Expression of CD44 and its clinical implication in diffuse-type and intestinal-type gastric adenocarcinomas, Oncology. 1995; 52:334-339:

52. Hong RL, Pu YS, Hsieh TS, Chu JS, Lee WJ: Expression of E-Cadherin and exon V-containing isoforms of CD44 and their prognostic values in Human Transitional Cell Carcinoma, *J Urol.* 1995; 153:2025-2028.
53. Honn KV, Tang DG: Adhesion molecules and tumour cell interaction with endothelium and subendothelial matrix, *Cancer Metastasis Rev.* 1992; 11: 353-375.
54. Honn KV, Tang DG, Chen YQ: Platelets and cancer metastasis: More than an epiphenomenon, *Semin Thromb Hemost.* 1992; 18:392-415. In Honn KV, Tang DG: Adhesion molecules and tumour cell interaction with endothelium and subendothelial matrix, *Cancer Metastasis Rev.* 1992; 11:353-375.
55. Hori T, Yamashita Y, Ohira M, Matsumura Y, Muguruma Kuzuya Hirakawa K: A novel orthotopic implantation model of human esophageal carcinoma in nude rats: CD44 H mediates cancer cell invasion in vitro and in vivo, *Int J Cancer.* 2001; 92:489-496.
56. Huang GW, Mo WN, Kuang GQ, Nong HT, Wei MY, Sungawa M, Kosugi T: Expression of p16, nm23-H1, E-Cadherin and CD44 gene products and their significance in nasopharyngeal carcinoma, *Laryngoscope.* 2001; 111:1465-1471.
57. Iida N, Bourguignon LYW: New CD44 splice variants associated with human breast cancers, *J Cell Phys.* 1995; 162:127-133.
58. Inoue M, Ogawa H, Miyata M, Shiozaki H, Tanizawa O: Expression of E-Cadherin in normal and malignant tissues of female genital organs, *Anat Pathol.* 1991; 98:76-80.
59. Jackson DG, Schenker T, Waibel R, Bell JI, Stahel RA: Expression of alternatively spliced forms of the CD44 extracellular matrix receptor on human lung carcinomas, *Int J Cancer.* 1994; 8:110-115.
60. Kainz C, Tempfer C, Winkler S, Sliutz G, Koelbl H, Reinthaller A: Serum CD44 splice variants in cervical cancer patients, *Cancer Letters.* 1995; 90:231-234.
61. Kainz C, Kohlberger P, Tempfer C, Sliutz G, Gitsch G, Reinthaller A, Breitenecker G: Prognostic value of CD44 splice variants in human stage III cervical cancer, *Eur J Cancer.* 1995; 10:1706-1709.
62. Kanazawa K, Roe FJC, Yamamoto T: Milky spots as structures which trap asbestos in mesothelial layers and their significance in the pathogenesis of mesothelial neoplasia, *Int. J. Cancer.* 1979; 23:858-865. In Boutin C, Schlessler M, Frenay C, Astoul Ph: Malignant pleural mesothelioma, *Eur Respir J.* 1998; 12: 972-981.
63. Katagiri A, Watanabe R, Tomita Y: E-Cadherin-expression in renal cell cancer and its significance in metastasis and survival, *Br J Cancer.* 1995; 71:376-379.

64. Kitazume H, Kitamura K, Mukai K, Inayama Y, Kawano N, Nakamura N, Sano J, Mitsui K, Yoshida S, Nakatani Y: Cytologic differential diagnosis among reactive mesothelial cells, malignant mesothelioma and adenocarcinoma, *Cancer*. 2000; 90:55-60.
65. Knuutila A, Halme M, Kivisaari L, Kivisaari A, Salo J, Mattson K: The clinical importance of magnetic resonance imaging versus computed tomography in malignant pleural mesothelioma, *Lung Cancer*. 1998; 22:215-225.
66. Leblanc M, Poncelet C, Soriano D, Walker-Combrouze F, Madelenat P, Scoazec JY, Darai E: Alteration of CD44 and cadherin expression: Possible association with augmented aggressiveness and invasiveness of endometrial carcinoma, *Virchows Arch*. 2000; 438:78-85.
67. Leers MPG, Aarts MM, Theunissen PHMH: E-Cadherin and calretinin: A useful combination of immunohistochemical markers for differentiation between malignant pleural mesothelioma and metastatic adenocarcinoma, *Histopathology*. 1997; 32:209-216.
68. Liao H-X, Levesque MC, Patton K, Bergamo B, Jones D, Moody MA, Telen MJ, Haynes BF: Regulation of human CD44 H and CD44 E isoforms binding to hyaluronan by phorbol myristate acetate and anti- CD44 monoclonal and polyclonal antibodies, *J Immunol*. 1993; 151:6490-6499.
69. Liewald F, Sunder-Plassmann L, Dienemann H, Mezger J: Pleural mesothelioma, problems in diagnosis and clinical course in 25 patients, *Langenbecks Arch Chir*. 1989; 374:105-110.
70. Loddenkemper R: Diagnosis of diffuse pleural mesotheliomas, *Pneumologie*. 1991; 45:159-161 (nur Abstrakt).
71. Loddenkemper R, Boutin C: Thoracoscopy: Present diagnostic and therapeutic indications, *Eur Respir J*. 1993; 6:1544-1555.
72. Lopez-Rios F, Illei PB, Rusch V, Ladenyi M: Evidence against a role for SV40 infection in human mesotheliomas and high risk of false-positive PCR results owing to presence of SV40 sequences in common laboratory plasmids, *Lancet*. 2004; 364:1157-1166.
73. Maasilta P, Vehmas T, Kivisaari L: Correlations between findings at computed tomography and at thoracoscopy/thoracotomy/autopsy in pleural mesothelioma, *Eur Respir J*. 1991; 4:952-954. In Knuutila A, Halme M, Kivisaari L, Kivisaari A, Salo J, Mattson K: The clinical importance of magnetic resonance imaging versus computed tomography in malignant pleural mesothelioma, *Lung Cancer*. 1998; 22:215-225.
74. Mackay ChR, Terpe HJ, Stauder R, Marston WL, Stark H, Günther U: Expression and modulation of CD44 variant isoforms in humans, *J Cell Biol*. 1994;124: 71-82.

75. Malle D, Valeri RM, Photiou C, Kaplanis K, Andreadis C, Tsavdaridis D, Destouni C: Significance of immunocytochemical expression of E-Cadherin, N-cadherin and CD44 in serous effusion using liquid-based cytology, *Acta Cytol.* 2005; 49:11-16.
76. Manten -Horst E, Danen EHJ, Smit L, Snoek M, Le Poole IC, Van Muijen GNP, Pals ST, Ruiter DJ: Expression of CD44 splice variants in human cutaneous melanoma and melanoma cell lines is related to tumour progression and metastatic potential, *Int J Cancer.* 1995; 64:182.
77. Mareel M, Bracke M, Van Roy F: Cancer metastasis: Negative regulation by an invasion- suppressor complex, *Cancer Detect Prev.* 1995; 19: 451-464.
78. Mareel M, Vleminckx K, Vermeulen S, Bracke M, VanRoy F: E-Cadherin expression: a counterbalance for cancer cell invasion, *Bull Cancer.* 1992; 79: 347-355.
79. Matthews T, Boehme R: Antiviral activity and mechanism of action of ganciclovir, *Rev infect Dis.* 1988; 10:490-494, in Stermann DH, Kaiser LR, Albelda SM: Advances in the treatment of pleural mesothelioma, *Chest.* 1999; 116:504-520.
80. Mayall F, Barratt K, Shanks J: The detection of Simian virus 40 in mesotheliomas from New Zealand and England using real time FRET probe PCR protocols, *J Clin Pathol.* 2003; 56:728-730.
81. Mikami T, Saegusa M, Mitomi H, Yanagisawa N, Ichinoe Masaaki, Okayasu Isao: Significant correlation of E-Cadherin, catenin, and CD44 variant form expression with carcinoma cell differentiation and prognosis of extrahepatic bile duct carcinomas, *Am J Clin Pathol.* 2001; 116:369-376.
82. Mitchell BS, Whitehouse A, Prehm P, Delpech B, Schumacher Udo: CD44 exon variants 6 epitope and hyaluronate synthase are expressed on HT29 human colorectal carcinoma cells in a SCID mouse model of metastasis formation, *Clin Exp Metastasis.* 1996; 14:107-114.
83. Morgan AJ, Evans JC, Holmes A: Deposition and clearance of inhaled fibrous minerals in the rat. Studies using radioactive tracer techniques. *Inhaled Part.* 1975; 1:259-274. In *Woitowitz HJ, Großgarten K: Pleural mesothelioma, etiology and practical consequences, Pneumology.* 1991; 45: 153-158.
84. Müller AM, Weichert A, Müller KM: E-Cadherin and vascular cell adhesion molecule: immunohistochemical markers for differentiation between pleural mesothelioma and metastatic pulmonary adenocarcinoma, *Virchows Arch.* 2002; 441:41-46.
85. Müller KM, Krismann M: Asbestassoziierte Erkrankungen, *Dtsch Ärztebl.* 1996; 9:538-542.
86. Mulder JWR, Kruyt PM, Sewnath M, Seldenrijk CA, Weidema WF, Pals ST, Offerhaus GJA: Difference in expression of CD44 splice variants between

- proximal and distal adenocarcinoma of the large bowel, *Br J Surg*. 1995; 82:1468-1470.
87. Neragi-Miandoab PS, Jaklitsch MT: Preoperative assessment and therapeutic options for patients with malignant pleural mesothelioma, *Thorac Surg Clin*. 2004; 14:505-516.
88. Nowak AK, Byrne MJ, Millward MJ, Alvarez JM, Robinson BW: Current chemotherapeutic treatment of malignant pleural mesothelioma, *Expert Opin Pharmacother*. 2004; 5:2441-2449.
89. Oka H, Shiozaki H, Kobayashi K, Tahara H, Tamura S, Miyata M, Doki Y, Iihara K, Matsuyoshi N, Hirano S, Takeichi M, Mori T: Immunohistochemical evaluation of E-Cadherin adhesion molecule expression in human gastric cancer, *Virchows Arch*. 1992; 421:149-156.
90. Ordonez NG: In search of a positive immunohistochemical marker for pleural mesothelioma an update, *Adv Anat Pathol*. 1997; 1:53-60.
91. Ordonez NG: The immunohistochemical diagnosis of epithelial pleural mesothelioma, *Hum Pathol*. 1999; 30:313-323.
92. Ordonez NG: Value of thyroid transcription factor-1, E-Cadherin, BG8, WT1 and CD44s immunostaining in distinguishing epithelial pleural mesothelioma from pulmonary and nonpulmonary adenocarcinoma, *Am J Surg Pathol*. 2000; 24:598-606.
93. Ordonez NG: Value of E-Cadherin and N-cadherin immunostaining in the diagnosis of mesothelioma, *Hum Pathol*, 2003; 34:749-755.
94. Pass HI, Temeck B, Kranda K, et al. : Phase 3 randomized trial of surgery with or without intraoperative photodynamic therapy an postoperative immunochemotherapy for malignant pleural mesothelioma, *Ann Surg Oncol*. 1997; 4:628-633.
95. Pass HI, Donongton JS: Use of photodynamic therapy for the management of pleural malignancies, *Semin Surg Oncol*. 1995; 11:360-367.
96. Pelnar PV: Non-asbestos related malignant pleural mesothelioma. A review of the scientific and medical literature, *Canadian Asbestos Information Centre*, Montreal, Quebec, 1983; 1-12.
97. Penno MB, Askin FB, Ma H, Carbone M, Vargas MP, Tass HI: High CD44 expression on human malignant pleural mesotheliomas mediates association with hyaluronan, *Cancer J Sci Am*. 1995; 1:196 (Abstract).
98. Peralta-Soler A, Knudsen KA, Jaurand MC, Johnson KR, Wheelock MJ, Klein-Szanto AJP, Salazar H: The differential expression of N-cadherin and E-Cadherin distinguishes pleural mesothelioma from lung adenocarcinomas, *Hum Pathol*. 1995; 26:1363-9.

99. Peto J, Decarli A, La Vecchia C, Levi F, Negri E: The European mesothelioma epidemic, *Brit J Cancer*. 1999; 79:666-672.
100. Picker LJ, Nakache M, Butcher EC: Monoclonal antibodies to human lymphocyte homing receptors define a novel class of adhesion molecules on diverse cell types, *J Cell Biol*. 1998; 109:927-937. In Albelda SM: Role of integrins and other cell adhesion molecules in tumour progression and metastasis, *Lab Invest*. 1993; 68:4-17.
101. Pistolesi M, Rusthoven J: Malignant pleural mesothelioma: update, current management, and newer therapeutic strategies, *Chest*. 2004; 126:1318-1329.
102. Procopio A, Strizzi L, Vinale G, et al: SV 40 sequences are a negative prognostic cofactor in patients with malignant pleural mesothelioma, *Genes Chromosomes Cancer*. 2000; 29:173-179.
103. Ramasami S, Kerr KM, Chapman AD, King G, Cockburn JS Jeffrey RR: Expression of CD44 V6 but not E-Cadherin or Beta-catenenin influences prognosis in primary pulmonary adenocarcinoma, *J Pathol*. 2000; 192:427-432.
104. Reinthaller A, Kainz Ch, Kohlberger P, Tempfer C, Gitsch G, Kölbl H, Breitenecker G: CD44-splice-variants as prognostic factors in invasive cervixcarcinoma, *Gynäkol Geburtshilfliche Rundsch*. 1995; 35:16-19.
105. Resnick D, Freedman NJ, Xu S, Krieger M: Secreted extracellular domains of macrophage scavenger receptors from elongated trimers which specifically binds cricodolite asbestos, *J Biol Chem*. 1993; 268:3538-3545. In Bielefeldt-Ohmann H, Jarnicki AG, Fitzpatrick DR: Molecular pathobiology and immunology of malignant pleural mesothelioma, *J Pathol*. 1996; 178:369-378.
106. Ristamäki R, Joensuu H, Söderström KO, Jalkanen S: CD44V6 expression in non-Hodgkin's lymphoma: an association with low histological grade and poor prognosis, *J Pathol*. 1994; 176:259-267.
107. Rödelsperger K, Weitowitz HJ, Brückel B, Arhelger R, Pohlabein H, Jöckel KH: Dose-response relationship between amphibole fibre lung burden and malignant pleural mesothelioma, *Cancer Detect Prev*. 1999; 23:183-193.
108. Rusch VW, Venkatraman E: The importance of surgical staging in the treatment of malignant pleural mesothelioma, *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996; 111:815-826.
109. Rusch VW: Indications for pneumonectomy (extrapleural pneumonectomy), *Chest Surg Clin N Am*. 1999; 9:327-336.
110. Ruth van S, Baas P, Zoetmulder FAN: Surgical treatment of malignant pleural mesothelioma, *Chest*. 2003; 123:551-561.

111. Salmi M, Grön-Virta K, Sointu P, Grenman R, Kalimo H, Jalkanen S: Regulated expression of exon V6 containing isoforms of CD44 in man: downregulation during malignant transformation of tumours of squamocellular origin, *J Cell Biol.* 1993; 122:431-442.
112. Schipper JH, Frixen UH, Behrens J, Unger A, Jahnke K, Birchmeier W: E-Cadherin expression in squamous cell carcinomas of head and neck: Inverse correlation with tumour dedifferentiation and lymph node metastasis, *Cancer Res.* 1991; 51:6328-6337.
113. Schuette W: A Phase II Trial of Gemcitabine/Oxaliplatin Combination Chemotherapy in Stage II-IV (Abstract), *Proc Am Soc Clin Oncol.* 2002; 20: 334.
114. Seiter S, Arch R, Reber S, Komitowski D, Hofmann M, Ponta H, Herrlich P, Zöller M: Prevention of tumour metastasis formation by anti-variant CD44, *J Exp Med.* 1993;177:443-455.
115. Siitonen SM, Kononen JT, Helin HJ, Rantala IS, Holli KA, Isola JJ: Reduced E-Cadherin expression is associated with invasiveness and unfavourable prognosis in breast cancer, *Anat Pathol.* 1995; 105:394-402.
116. Sohrab S, Hinterthaler M, Stamatis G, Rödelsperger K, Weitowitz HJ, Konietzko N: Das maligne Pleuramesotheliom, *Dtsch Ärztebl.* 2000; 48:3257-3262.
117. Smythe WR, Kaiser LR, Hwang HC, et al: Successful adenovirus-mediated gene transfer in an in vivo model of human pleural mesothelioma, *Ann Thorac Surg.* 1994; 57:1395-1401. In Stermann DH, Kaiser LR, Albelda SM: Advances in the treatment of malignant pleural mesothelioma, *Chest.* 1999; 116:504-520.
118. Stermann DH, Treat J, Litzky LA, Amin KM, Conrod L, Molnar-Kimber K, Recio A, Knox L, Wilson JM, Albelda SM, Kaiser LR: Adenovirus-mediated herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir gene therapy in patients with localized malignancy: Result of a phase 1 clinical trial in malignant pleural mesothelioma, *Hum Gene Ther.* 1998; 9:1083-1092.
119. Stermann DH, Kaiser LR, Albelda SM: Advances in the treatment of malignant pleural mesothelioma, *Chest.* 1999; 116:504-520.
120. Strickler HD: Simian Virus 40 and pleural mesothelioma in humans, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996; 5:473-475.
121. Strickler HD, Goedert JJ, Devesa SS, Lahey J, Fraumeni JF, Rosenberg PH: Trends in USA: Pleural mesothelioma incidence rates following simian virus 40 contamination of early poliovirus vaccines, *J Natl Cancer Inst.* 2003; 95:38-45.

122. Su XY, Li GD, Jiang LL: Significance of combining detection of E-Cadherin, carcinoembryonic antigen, and calretinin in cytological differential diagnosis of serous effusion, *Ai Zheng*. 2004; 23:1185-9.
123. Sugarbaker DJ, Flores RM, Jaklitsch MT, Richards WG, Strauss GM, Corson JM, de Camp MM, Swanson SJ, Bueno R, Lukanich JM, Healy-Baldini E, Mentzer SJ: Resection margins, extrapleural nodal status and cell type determine postoperative long-term survival in trimodality therapy of malignant pleural mesothelioma: Results in 183 Patients, *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1999; 117:54-65.
124. Tanabe KK, Starnenkovic I, Cutler M, Takahashi K: Restoration of CD44 H expression in colon carcinomas reduces tumourigenicity, *Ann Surg*. 1995; 4:493-503.
125. Takeichi M: Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator, *Science*. 1991; 251:1451-1455. In Albelda SM: Role of integrins and other cell adhesion molecules in tumour progression and metastasis, *Lab Invest*. 1993; 68:4-17.
126. Terpe HJ (a), Koopmann R, Imhof BA, Günther U: Expression of intergrins and CD44 isoforms in non-Hodgkin's lymphomas: CD44 variant isoforms are preferentially expressed in high-grade malignant lymphomas, *J Pathol*. 1994; 174:89-100.
127. Terpe HJ, Stark H, Prehm P, Günther U: CD44 variant isoforms are preferentially expressed in basal epithelia of non malignant human foetal and adult tissues, *Histochemistry*. 1994; 101:79-89.
128. Terpe HJ, Zimmer U, Fischer C, Störkel S: Distribution and role of adhesion molecules in renal tumours, *J Urol Pathol*. 1995; 3:37-49.
129. Treat J, Kaiser LR, Sterman DH, et al.: Treatment of advanced pleural mesothelioma with the recombinant adenovirus H5.010RSVTK, a phase 1 trial, *Hum Gene Ther*. 1996; 7:2047-2057. In Stermann DH, Kaiser LR, Albelda SM: Advances in the treatment of malignant pleural mesothelioma, *Chest*. 1999; 116:504-520.
130. Underhill C: CD44: The hyaluronan receptor, *J Cell Sci*, 1992; 103:293-298. In Terpe HJ, Koopmann R, Imhof BA, Günther U: Expression of integrins and CD44 isoforms in non-Hodgkin's lymphomas: CD44 variant isoforms are preferentially expressed in high-grade malignant lymphomas, *J Pathol*. 1994; 174:89-100.
131. Umbas R, Schalken JA, Aalders TW, Carter BS, Karthaus HFM, Schaafsma HE, Debryune FMJ, Isaacs WB: Expression of the cellular adhesion molecule E-Cadherin is reduced or absent in high grade prostate cancer, *Cancer Res*. 1992; 52:5104-5109.

132. Vleminckx K, Vakaet LJr, Mareel MM, Fiers W, Van Roy F: Genetic manipulation of E-Cadherin expression by epithelial tumour cells reveals an invasion suppressor role, *Cell*. 1991; 66:107-119.
133. Wagner JC, Slegg CA, Marchand P: Diffuse pleural mesothelioma and asbestos exposure in northern cape province, *Br J Ind Med*. 1960; 17:260-271.
134. Weitowitz HJ, Großgarten K: Pleural mesothelioma: etiology and practical consequences, *Pneumology*. 1991; 45:153-158.
135. Zetter BR: Adhesion molecules in tumour metastasis, *Cancer Biol*. 1993; 4:219-229.

7 Anhang

7.1 Reagenzien

APAAP-Reagenzien (Fa. DAKO Hamburg)

1. Brückenantikörper: 15 Milliliter Immunglobulinfraktion eines Kaninchenserums gegen Mausimmunglobuline in 0,05 M Trispuffer (pH 7,6 vorverdünnt).
2. APAAP: 15 Milliliter alkalische Phosphatase-Maus-anti-alkalische Phosphatase (Immunkomplex) in 0,05 M Trispuffer (pH 7,6 vorverdünnt).
3. Substrattabletten: Alkalische Phosphatase Substrattabletten, die Naphtol AS-MX Phosphat, Fast Red TR und Laevamisol enthalten.

Trisgepufferte Kochsalzlösung (TBS):

1. Zehnfach konzentrierte Tris-Stammlösung (0,5 M, pH 7,6), 60,55 g Trisbase in Aqua dest. lösen. Den pH-Wert mit konzentrierter HCl auf 7,6 einstellen. Ad 1 Liter mit Aqua dest.
2. Zehnfach konzentrierte Kochsalzstammlösung (1,5 M), 87,66 g NaCl in Aqua dest. lösen. Ad 1 Liter Aqua dest.
3. TBS (0,05 M Tris, 0,15 M NaCl; pH 7,6), je 100 Milliliter der zwei Stammlösungen ad 1 Liter Aqua dest.

APAAP-Substratlösung:

1. Substrattabletten im Substratpuffer lösen und die Lösung unmittelbar vor Gebrauch filtrieren. Die filtrierte Lösung darf vor dem Gebrauch nicht länger als 30 bis 45 Minuten aufbewahrt werden.
2. Für jede aufzulösende Tablette je 2 Milliliter Substratpuffer verwenden.
3. Der Behälter mit den Tabletten muss bei -20 Grad Celsius aufbewahrt werden. Vor dem Öffnen muss der Behälter auf Raumtemperatur erwärmt werden. Die benötigte Tablettenanzahl muss dann in den Puffer gegeben werden.
4. Tabletten unter kräftigem Schütteln auflösen.
5. Die fertige Substratlösung in ein geeignetes Gefäß zum Beispiel mit Tropfvorrichtung geben.
6. Die Lösung innerhalb von 30 Minuten verwenden.

7.2 Arbeitsschritte

Entparaffinieren

Vor der immunhistochemischen Bearbeitung wurden die Schnitte entparaffiniert und durch eine absteigende Alkoholreihe jeweils zehn Minuten in Xylol, Aceton und dann in einer Aceton-Waschpuffermischung (Verhältnis 1:2) rehydriert.

Wiederherstellung der Antigenität mittels Mikrowellentechnik (nach Ebener und Wehner 1993)

Unter Verwendung eines herkömmlichen, handelsüblichen Mikrowellengerätes (600 Watt, 2,45 GHz) wurden die entparaffinierten Schnitte samt Objektträger in 0,01 molarer Zitronensäure dreimal vier Minuten erhitzt.

Verdünnungsreihe Primärantikörper:

Die vom Hersteller vorgeschlagene Verdünnung des jeweiligen Antikörpers lieferte nicht immer ein optimales Ergebnis. Aus diesem Grunde wurde von mir die Verdünnung des Primärantikörpers für die spätere APAAP-Färbung in einer Verdünnungsreihe ermittelt. Dieser Arbeitsschritt erfolgte an zehn identischen Gewebsschnitten eines nachgewiesenen malignen Pleuramesothelioms und an einer Negativprobe eines gutartigen Epithelschnittes aus Lungengewebe. Diese Proben wurden in absteigender Konzentration, zum Beispiel 1:100 bis 1:1500, mit dem jeweiligen Antikörper beschickt und mit dem APAAP-Verfahren behandelt. Die Auswertung erfolgte lichtmikroskopisch. Die Verdünnung mit dem quantitativ und qualitativ besten Ergebnis wurde verwendet.

7.3 APAAP-Verfahren

Primärantikörper (Schritt 1)

1. Den Primärantikörper in optimaler Verdünnung auf den Gewebsschnitt auftragen. Das Gewebe muss vollständig bedeckt sein und
2. 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
3. Anschließend werden die Objektträger mit Waschpuffer(TBS) gespült und 20 Minuten in einem Waschpufferbad belassen.

Brückenantikörper (Schritt 2)

1. Brückenantikörper (gelb) in der vom Hersteller angegebenen Verdünnung auftragen. Das Gewebe muss vollständig bedeckt sein.
2. 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
3. Anschließend werden die Objektträger mit Waschpuffer(TBS) gespült und 20 Minuten in einem Waschpufferbad belassen.

APAAP (Schritt 3)

1. APAAP (rot) in der vom Hersteller angegebenen Verdünnung auftragen. Das Gewebe muss vollständig bedeckt sein.
2. 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
3. Während der Inkubationszeit kann die für den nächsten Schritt benötigte Substratlösung hergestellt werden.
4. Anschließend werden die Objektträger mit Waschpuffer(TBS) gespült und 20 Minuten in einem Waschpufferbad belassen.
5. Wiederholung der Schritte 2 und 3 mit Inkubationszeiten von jeweils zehn Minuten zur Steigerung der Färbungsintensität.

Substratlösung (Schritt 5)

1. Substratlösung auftragen. Das Gewebe muss vollständig bedeckt sein.
2. 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren (Schüttler).
3. Objektträger mit Aqua dest. Abspülen.
4. Objektträger kurz in ein Wasserbad stellen.

Gegenfärbung (Schritt 6)

1. Mit Meyers Hämatoxylin gegenfärben und einige Minuten inkubieren lassen.
2. Objektträger in fließendem Leitungswasser spülen und
3. mit einem vorgewärmten wässrigen Einschlussmedium eindecken (Glycergel).

7.4 Karnofsky-Index

Der Karnofsky-Index ist ein Aktivitätsindex zur Beurteilung der Mobilität und des Allgemeinzustandes eines Patienten. Berücksichtigt werden körperliche und soziale Faktoren. Er wird in der Onkologie als Ergänzung zur TNM-Klassifikation verwendet.

100%	normale Aktivität, keine Krankheitszeichen, keine Beschwerden
90%	normale Aktivität, geringe Beschwerden
80%	normale Aktivität nur mit Anstrengung, mäßige Krankheitssymptome
70%	versorgt sich selbst, normale Aktivität nicht möglich
60%	versorgt sich weitgehend selbst, benötigt gelegentlich fremde Hilfe
50%	braucht häufig pflegerische und medizinische Hilfe
40%	überwiegend bettlägerig, spezielle medizinische Hilfe notwendig
30%	stark behindert, stationäre Behandlung indiziert, noch keine Lebensgefahr
20%	sehr krank, aktive unterstützende Therapie erforderlich
10%	moribund

7.5 Tabelle 41: Liste der Ergebnisse für die einzelnen Antikörper

1	KlinikNr	KvE-cadh	KvCD44h	KvCD44V3	KvCD44V5	KvCD44V6	KvCD44V9
2	8408	1	1	0	0	0	1
3	8407	0	1	0	0	0	0
4	8402	1	2	1	0	1	2
5	8401	0	1	0	0	0	0
6	8396	0	2	0	1	0	1
7	8395	0		0	0	0	0
8	8384	0	1	0	1	0	0
9	8381	1	1	1	0	0	2
10	8379	0	0	0	0	0	0
11	8371	0	1	0	0	0	0
12	8365	0	1		0	0	2
13	8361	1	2	0	0	1	1
14	8356	1	0	0	0	0	0
15	8351	1	2	0	0	0	0
16	8348	2	0	0	0	0	0
17	8344	2	1	1	0	0	1
18	8334	0	0	0	0	0	
19	8327	0	0	0	0	0	0
20	8326	0		0	0	0	0
21	8323	1	0	0	0	0	0
22	8316		0	0	1	1	0
23	8314	0	0	0	0	0	0
24	8310	0	2	1	0	1	1
25	8305	0	1	1	1	0	0
26	8304	0	0	0	0	2	1
27	8293	0		0	0	0	0
28	8287	0		0		0	0
29	8284	0	1	1	1	1	1
30	8280	0	0	0	2	0	1
31	8277	0	0		2	0	0
32	8276	0	0	0	0	0	1
33	8273	2		0			
34	8270	0		0	1	2	0
35	8262	0	0	0	0	0	0
36	8258	1	0	0	0	0	0
37	8252	1	0	0	0	0	0
38	8249	0	0	0	0	0	0
39	8245	0	0	0	0	0	0
40	8240	0	1	1	0	0	1
41	8239		0	0	0	0	1
42	8238	1	1	1	2	0	
43	8237	0	0	0	1	0	0
44	8234	0	1	0	0	0	0
45	8220	0		0	2	1	1
46	8216	2	0	0	0	0	0
47	8212	0	0	0	0	0	0
48	8210	1	2			0	0
49	8198	0	2	0	0	0	0

50	8195	0	0	0	2	0	0
51	8194		0	0			
52	8183	0	0	0	2	0	0
53	8181	1	0	1	0		1
54	8178	0	0	0		0	0
55	8173	0	0	0	0	0	0
56	8169	0	0		0		0
57	8157	0	1	0	0	0	1
58	8153		2	0	0	0	1
59	8150	0		0	0		
60	8149	0	1	0	0	0	0
61	8142	1	2	0	0	1	0
62	8138	0	1	1	1	0	1
63	8135		1	0	0	0	0
64	8132	1	1	0	0	0	0
65	8125	1	1	0	0	0	0
66	8124	0	1	0	0	2	0
67	8121	1		0	0	0	0
68	8120	0	0	0	0	0	0
69	8107	1	0	0	0	0	0
70	8105	0	1	0	0	0	0
71	8094	0	2	1	0	0	0
72	8044	0	0	0	1	0	0
73	8040	0	0	0	0	0	0
74	8035	2					0
75	8145	0	1	0	0	0	0
76	8072	0		0	0	0	0
77	8070	0	1		1	0	0
78	8069	2	2	0	0	0	0
79	8063	0	0	0	0	0	0
80	8037	1	1	0	0	1	0
81	8031	1					
82	8027	0	0	0		0	0
83	8017	1	1	0	2	0	1
84	8390	1	1	1	0	1	1
85	8377		0	0	0	0	0
86	8005	0	0	0	0	0	0
87	134/82	0	1	0	0	0	0
88	12697/82	1	1	0	0	0	0
89	1723/82	0	0	0	2	0	0
90	K 4095/82	0	1	0	0	0	0
91	10117/83	0	0	0	0	0	0
92	12432/79	0	1		0	0	0
93	10595/80	0	1	0	0		0
94	15683/83	1	1	0	0	0	0
95	5282/83	0		0	0	0	0
96	8727/79	0		0	0	0	0
97	12614/88	2	1	2	0	1	1
98	10139/88	0	2	0	0	1	0
99	7091/88	1	1	1	0	0	0

100	15403/81	2	2	2	1	2	1
101	11069/88	0	4	0	1	0	1
102	10285/88	1	0	0	0	0	0
103	16866/82	0		1	0	1	1
104	K 2726/86	1	1	2	2	2	2
105	4339/84	0	1	0	0	0	0
106	5117/87	0	1	0		0	0
107	14934/86	0	1	0	0	0	0
108	K 5304/86	1	1	0	0	0	0
109	13132/87	1	2	0	0	0	1
110	K 5/88	0	2	0	0	0	0
111	4334/84	3	0	0	0	0	0
112	3297/86	0				0	
113	7892/84	1	1	1	0	1	
114	K 1418/86	1	1	0	1	1	1
115	4034/93	0	1	0	0	0	0
116	455/91	0	0	0	0	0	0
117	9562/91	1	1	0	1	0	0
118	7543/93	0	1	1	1	1	
119	1932/93	0					
120	3567/94		1	0	0	0	0
121	10135/90	0		0	0	0	0
122	K 6699/91	1	1	0	1	0	0
123	10202/91	0	1	0	0	0	0
124	K 7894/92	0	2	1	0	0	0
125	6066/91	0		0	0	0	0
126	3857/90	1	0	0	0	0	0
127	6054/93	1	2		0	0	0
128	5400/91	1		1	0	1	1
129	5270/93	0	1	0	0	0	0
130	K 1617/93	2	1	1	1	2	0
131	10185/91	1		0	0	0	0

7.6 Statistische Tests

7.6.1 Chi-Quadrat-Test: Diagnose by CD44V9

	Count Row Pct	CD44V9 negativ	CD44V9 positiv	
Diagnose		0,00	1,00	Row Total
Epithel.	1	58 70,7	24 29,3	82 68,3
Sarkom.	2	7 77,8	2 22,2	9 7,5
Biphas.	3	26 89,7	3 10,3	29 24,2
	Column total	91 75,8	29 24,2	120 100,0

Chi-Square	Value	Df	Significance
Pearson	4,20621	2	0,12208
Likelihood Ratio	4,74927	2	0,09305
Linear-by-linear Association	4,14544	1	0,04175

Minimum Expected Frequency 2,175
 Cells with Expected Frequency <5- 1 of 6 (16,7 Prozent)

Number of Missing Observations: 10

7.6.2 Chi-Quadrat- Test: Diagnose by CD44V6

	Count Row Pct	CD44V6 negativ	CD44V6 positiv	
Diagnose		0,00	1,00	Row Total
Epithel.	1	64 80,0	16 20,0	80 66,1
Sarkom.	2	9 100,0		9 7,4
Biphas.	3	26 81,3	6 18,8	32 26,4
	Column total	99 81,8	22 18,2	121 100,0

Chi-Square	Value	Df	Significance
Pearson	2,18472	3	0,33542
Likelihood Ratio	3,79236	2	0,15014
Linear-by-linear Association	0,11617	1	0,73323

Minimum Expected Frequency 1,636
 Cells with Expected Frequency <5 -1 of 6 (16,7 Prozent)

Number of Missing Observations: 9

7.6.3 Chi-Quadrat-Test: Diagnose by CD44V5

	Count Row Pct	CD44V5 negativ	CD44V5 positiv	
Diagnose		0,00	1,00	Row Total
Epithel.	1	64 80,0	16 20,0	80 67,2
Sarkom.	2	8 88,9	1 11,1	9 7,6
Biphas.	3	21 70,0	9 30,0	30 25,2
	Column total	93 78,2	26 21,8	119 100,0

Chi-Square	Value	Df	Significance
Pearson	1,93521	2	0,37999
Likelihood Ratio	1,95164	2	0,37688
Linear-by-linear Association	1,00499	1	0,31611

Minimum Expected Frequency 1,966
 Cells with Expected Frequency <5- 1 of 6 (16,7 Prozent)

Number of Missing Observations: 11

7.6.4 Chi-Quadrat-Test: Diagnose by CD44V3

	Count Row Pct	CD44V3 negativ	CD44V3 positiv	
Diagnose		0,00	1,00	Row Total
Epithel.	1	62 78,5	17 21,5	79 66,4
Sarkom.	2	8 88,9	1 11,1	9 7,6
Biphas.	3	27 87,1	4 12,9	31 26,1
	Column total	97 81,5	22 18,5	119 100,0

Chi-Square	Value	Df	Significance
Pearson	1,44823	2	0,48475
Likelihood Ratio	1,53211	2	0,46484
Linear-by-linear Association	1,23592	1	0,26626

Minimum Expected Frequency 1,664
 Cells with Expected Frequency <5 – 1 of 6 (16,7 Prozent)

Number of Missing Observations: 11

7.6.5 Chi-Quadrat-Test: Diagnose by E-Cadherin

	Count Row Pct	E-Cadherin negativ	E-Cadherin positiv	
Diagnose		0,00	1,00	Row Total
Epithel.	1	51 62,2	31 37,8	82 66,7
Sarkom.	2	8 88,9	1 11,1	9 7,3
Biphas.	3	18 56,3	14 43,8	32 26,0
	Column total	77 62,6	46 37,4	123 100,0

Chi-Square	Value	Df	Significance
Pearson	3,21362	2	0,20053
Likelihood Ratio	3,72869	2	0,15500
Linear-by-linear Association	0,13058	1	0,71783

Minimum Expected Frequency 3,366
 Cells with Expected Frequency <5 - 1 of 6 (16,7 Prozent)

Number of Missing Observations: 8

7.6.6 Chi-Quadrat-Test: Diagnose by CD44H

	Count Row Pct	CD44H negativ	CD44H positiv	
Diagnose		0,00	1,00	Row Total
Epithel.	1	34 44,7	42 55,3	76 69,7
Sarkom.	2	2 22,2	7 77,8	9 8,3
Biphas.	3	6 25,0	18 75,0	24 22,0
	Column total	42 38,5	67 61,5	109 100,0

Chi-Square	Value	Df	Significance
Pearson	4,10171	2	0,12862
Likelihood Ratio	4,27928	2	0,11770
Linear-by-linear Association	3,52807	1	0,06034

Minimum Expected Frequency 3,468
 Cells with Expected Frequency <5 - 1 of 6 (16,7 Prozent)

Number of Missing Observations: 22

7.6.12 Mann-Whitney U – Wilcoxon Rank Sum W Test für CD44V9

Für CD44V9 und die Überlebenszeit in Monaten:

Mean Rank	Sum of Ranks	Cases CD44V9	
32,79	1639,5	50	= 0,00
33,70	505,50	15	= 1,00
		65 Total	

U	W	Z	2-Tailed P
364,5	1639,5	-0,1635	0,8701

Für CD44V9 und die Überlebenszeit TODDIA:

Mean Rank	Sum of Ranks	Cases CD44V9	
33,90	1729,0	51	= 0,00
29,71	416,00	14	= 1,00
		65 Total	

U	W	Z	2-Tailed P
311,0	416,0	-0,7341	0,4629

7.6.11 Mann-Whitney U – Wilcoxon Rank Sum W Test für CD44V6

Für CD44V6 und die Überlebenszeit in Monaten:

Mean Rank	Sum of Ranks	Cases CD44V6	
31,46	1761,5	56	= 0,00
36,36	254,50	7	= 1,00
		63 Total	

U	W	Z	2-Tailed P
165,5	1761,5	-0,6672	0,5046

Für CD44V6 und die Überlebenszeit TODDIA:

Mean Rank	Sum of Ranks	Cases CD44V6	
32,72	1799,5	55	= 0,00
27,06	216,50	8	= 1,00
		63 Total	

U	W	Z	2-Tailed P
180,5	216,5	-0,8155	0,4148

7.6.10 Mann-Whitney U – Wilcoxon Rank Sum W Test für CD44V5

Für CD44V5 und die Überlebenszeit in Monaten:

Mean Rank	Sum of Ranks	Cases CD44V5	
33,22	1594,5	48	= 0,00
28,10	421,50	15	= 1,00
		63 Total	

U	W	Z	2-Tailed P
301,5	421,5	-0,9442	0,3451

Für CD44V5 und die Überlebenszeit TODDIA:

Mean Rank	Sum of Ranks	Cases CD44V5	
30,69	1473,0	48	= 0,00
36,20	543,00	15	= 1,00
		63 Total	

U	W	Z	2-Tailed P
297,0	1473,0	-1,0167	0,3093

7.6.7 Mann-Whitney U – Wilcoxon Rank Sum W Test für CD44V3

Für CD44V3 und die Überlebenszeit in Monaten:

Mean Rank	Sum of Ranks	Cases CD44V3	
31,16	1745,0	56	= 0,00
41,88	335,00	8	= 1,00
		64 Total	

U	W	Z	2-Tailed P
149,0	1745,0	-1,5228	0,1278

Für CD44V3 und die Überlebenszeit TODDIA:

Mean Rank	Sum of Ranks	Cases CD44V3	
31,29	1721,0	55	= 0,00
39,89	359,00	9	= 1,00
		64 Total	

U	W	Z	2-Tailed P
181,0	1721,0	-1,2844	0,1990

7.6.8 Mann-Whitney U – Wilcoxon Rank Sum W Test für E-Cadherin

Für E-Cadherin und die Überlebenszeit in Monaten:

Mean Rank	Sum of Ranks	Cases E-Cadherin	
32,99	1418,5	43	= 0,00
34,46	792,50	23	= 1,00
		66 Total	

U	W	Z	2-Tailed P
472,5	1418,5	0,2961	0,7671

Für E-Cadherin und die Überlebenszeit TODDIA:

Mean Rank	Sum of Ranks	Cases E-Cadherin	
34,81	1462,0	42	= 0,00
31,21	749,00	24	= 1,00
		66 Total	

U	W	Z	2-Tailed P
449,0	749,0	-0,7332	0,4634

7.6.9 Mann-Whitney U – Wilcoxon Rank Sum W Test für CD44H

Für CD44H und die Überlebenszeit in Monaten:

Mean Rank	Sum of Ranks	Cases CD44H	
28,53	941,50	33	= 0,00
30,78	769,50	25	= 1,00
		58 Total	

U	W	Z	2-Tailed P
380,5	941,5	0,5026	0,6153

Für CD44H und die Überlebenszeit TODDIA:

Mean Rank	Sum of Ranks	Cases CD44H	
29,35	968,50	33	= 0,00
29,70	742,50	25	= 1,00
		58 Total	

U	W	Z	2-Tailed P
407,5	968,5	0,785	0,9374

8. Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten und nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

9 Lebenslauf

Name: Roland Raphael SIEFER
Geburtsdatum: 18.12.1965
Geburtsort: Essen, Deutschland
Wohnort: Hasenheide 6A, 21365 Adendorf
Vater: Pastor Dr. phil. Richard Walter REME
Mutter: Erzieherin Dagmar Viktoria SIEFER

1972-1979 Waldorfschule, Hibernia e.V., Herne 2
1979-1987 Freie Waldorfschule Wangen im Allgäu
1986 Fachabitur
1987 Abitur
1988-1990 Ausbildung zum Heilpädagogen
1990-1997 Studium der Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität
Gießen.
1997-1998 AIP im St. Adolf Stift, Reinbek, Akademisches Lehrkrankenhaus
der Universität Hamburg (Innere Medizin)
1998-2002 Assistenzarzt, Herz-Kreislaufklinik Bad Bevensen AG
(Kardiologie) bei Prof. Kupper
Seit 2003 Assistenzarzt, Städtisches Klinikum Lüneburg, Innere Medizin
bei Prof. Lankisch. Teilnahme am Rettungsdienst des
Landkreises Lüneburg
Seit 2003 Leitung eines medizinischen Hilfsprojektes in Osttibet im
Rahmen des Vereins Tashi-Dargye e.V
Seit 2005 Facharzt für Innere Medizin und Rettungsmedizin

10 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Schulz, geschäftsführender Direktor des Zentrums für Pathologie, danke ich für die Möglichkeit, die Arbeit am Zentrum für Pathologie durchführen zu dürfen.

Herrn Prof. Dr. J. Dudeck, geschäftsführender Direktor des Institutes für Medizinische Informatik, und seinen Mitarbeitern Herrn Dr. Bödecker und Herrn Pabst danke ich für die Erstellung der Statistik und die großzügige Unterstützung bei statistischen Fragestellungen.

Frau Dietrich, Frau Fersing und Herrn Herbert Grob danke ich für die umsichtige Durchführung der Korrekturarbeiten.

Dagmar Kirsch- Mc Closkey danke ich für die Hilfestellung bei der Übersetzung der Zusammenfassung.

Herrn Dirk Lehnick danke ich für die Unterstützung bei der Erstellung von Graphiken und Hilfestellung bei statistischen Fragen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Berghäuser, Chefarzt am Institut für Pathologie der Klinik Georgius Agricola in Saalfeld Thüringen, für die Überlassung des Themas, die freundschaftliche Betreuung und große Hilfsbereitschaft.