

Aus dem Institut für Pathologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
(Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. H. E. Gabbert)

**Expression und prognostische Bedeutung des epidermalen
Wachstumsfaktors (EGF), transformierenden Wachstums-
faktor α (TGF α), EGF-Rezeptor (EGF-R) und des erbB-2-
Proteins beim Magenkarzinom**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität

Düsseldorf

vorgelegt von

Bettina Vondereck

2004

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Univ.-Prof. Dr. med. Wolfgang. H.-M. Raab

Dekan

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. W. Müller

Korreferentin: Priv.-Doz. Dr. med. B. Müller

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
1.1	Etablierte histopathologische Prognoseparameter	6
1.1.1	pTNM-System	6
1.1.2	Tumorhistologie (Laurén) und Differenzierungsgrad	7
1.2	Potentielle neue histopathologische Prognoseparameter	7
1.2.1	Blut- und Lymphgefäßinvasion	7
1.3	Potentielle neue molekulare Prognoseparameter	8
1.3.1	Wachstumsfaktoren und Rezeptoren	8
1.3.1.1	Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF), Transformierender Wachstumsfaktor α (TGF α), EGF-Rezeptor (EGF-R) und erbB-2	9
1.4	Zielsetzung der vorliegenden Arbeiten	14
2	Material und Methoden	15
2.1	Material	15
2.1.1	Untersuchtes Patientenkollektiv	15
2.2	Methoden	16
2.2.1	Histopathologische Untersuchung	16
2.2.2	Immunhistochemische Methoden	17
2.2.2.1	Auswertung der Expression von EGF, TGF α , EGF-R und erbB-2	18
2.2.3	Statistische Auswertung	18
3	Ergebnisse	19
3.1	Expression von EGF, TGFα, EGF-R und erbB-2	19
3.1.1	Expression in normaler Magenschleimhaut	19
3.1.1.1	EGF	19
3.1.1.2	TGF α	19
3.1.1.3	EGF-R	19
3.1.1.4	erbB-2	19
3.1.2	Expression in Magenkarzinomen	21

3.1.2.1	EGF	21
3.1.2.2	TGF α	22
3.1.2.3	EGF-R	23
3.1.2.4	erbB-2	24
3.1.3	Korrelation mit histopathologischen Parametern	25
3.1.3.1	EGF	25
3.1.3.2	TGF α	28
3.1.3.3	EGF-R	30
3.1.3.4	erbB-2	32
3.1.4	Prognostischer Einfluß	34
3.1.4.1	EGF	34
3.1.4.2	TGF α	35
3.1.4.3	EGF-R	36
3.1.4.4	erbB-2	37
3.1.4.5	Prognostischer Einfluß der Koexpression von EGF, TGF α , EGF-R	38
4	Diskussion	39
5	Zusammenfassung	48
6	Literaturverzeichnis	50
7	Abkürzungen	62
8	Danksagung	63
9	Lebenslauf	64
10	Abstract	65

1 Einleitung

Obwohl das Magenkarzinom in seiner Häufigkeit in den letzten Jahren beständig abgenommen hat, ist es weltweit auch gegenwärtig nach dem Bronchialkarzinom noch immer der zweithäufigste maligne Tumor (WHO, Genf 1997; Becker und Korfmann 1998).

Die Prognose des Magenkarzinoms hat sich dabei in den letzten 20 Jahren nicht entscheidend verbessert. So sterben auch heute noch mehr als 80% der Patienten mit einem neu diagnostizierten fortgeschrittenen Magenkarzinom an ihrem Tumor, bei einer durchschnittlichen relativen 5-Jahres-Überlebensrate aller Magenkarzinome in Westdeutschland von 24,4% bei Männern und durchschnittlich 22,4% bei Frauen (Becker et al., 1997).

Da die 5-Jahres-Überlebensrate im Stadium IV weniger als 5% beträgt, bei kurativer Resektion im Stadium I und II jedoch ca. 50% bis 80% der Patienten geheilt werden können, ist die frühe chirurgische Therapie von entscheidender Bedeutung für die Prognose der Patienten. Im Vergleich damit haben die Ergebnisse der Chemotherapie bislang enttäuscht.

Die Prognose von Magenkarzinompatienten hängt jedoch nicht nur vom operativen Vorgehen sondern auch von einer Reihe von tumor- und auch patientenbezogenen Faktoren ab. Nach wie vor kommt in diesem Zusammenhang den tumorbezogenen Faktoren des pTNM-Systems die herausragende Bedeutung bei der prognostischen Beurteilung von Karzinompatienten auch des Magens zu. Andererseits ist aber seit längerem bekannt, daß keineswegs jeder Patient eines bestimmten Tumorstadiums tatsächlich die gleiche Chance hat zu überleben. Dies hat zu erheblichen Anstrengungen geführt, neue zusätzliche Prognosefaktoren zu etablieren, mit dem Ziel, Magenkarzinompatienten mit hohem Risiko besser zu erfassen und damit auch eine individuellere Prognosevorhersage zu erreichen.

In den letzten Jahren ist somit eine Vielzahl von Publikationen über eine Reihe, zum Teil vielversprechender potentieller histologischer und molekularer Prognosefaktoren erschienen. Bei näherer Betrachtung weist die Mehrzahl dieser Arbeiten jedoch nur eine eingeschränkte statistische Aussagekraft auf, die damit auch nur eine bedingte

Bewertung und Diskussion der Untersuchungsergebnisse zuläßt. So erfolgte die überwiegende Mehrzahl der Untersuchungen an nur geringen Patientenzahlen, häufig ohne Angabe darüber, ob eine kurative (R0-Resektion) oder nur eine palliative Resektion durchgeführt wurde. Darüber hinaus wird von vielen Autoren nicht angegeben wieviele der Patienten im Laufe der Nachbeobachtung tatsächlich an ihrem Tumorleiden verstorben sind, und schließlich wird häufig eine Vielzahl von Faktoren an relativ kleinen Fallzahlen lediglich univariat untersucht und auf eine multivariate Analyse verzichtet. Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte soll im Folgenden zunächst ein Überblick zum Stand der Forschung gegeben werden.

1.1 Etablierte histopathologische Prognoseparameter

1.1.1 pTNM-System

Auch beim Magenkarzinom wird die Prognose der Patienten vor allem durch das TNM-Stadium bestimmt. In einer Vielzahl multivariater Studien an größeren Tumorserien konnte gezeigt werden, daß den Faktoren Invasionstiefe (pT-Kategorie), Nodalstatus (pN-Kategorie), Fernmetastasierung (pM-Kategorie) sowie dem Vorhandensein eines Residualtumors im Bereich der Resektatgrenzen (R-Status) die größte prognostische Bedeutung zukommt (Bozzetti et al., 1986; Maruyama 1987; Shiu et al., 1987; Baba et al., 1989; Korenaga et al., 1989; Msika et al., 1989; Böttcher et al., 1992; Jaehne et al., 1992a).

Das pTNM-Staging unter Einbeziehung des R-Status stellt damit nicht nur die heute allgemein akzeptierte Basis dar, die Prognose von Magenkarzinompatienten vorherzusagen, sondern auch den Maßstab, an dem sich alle potentiellen, zukünftigen Prognoseparameter mit Hinblick auf einen möglichen zusätzlichen prognostischen Informationsgewinn messen lassen müssen.

1.1.2 Tumorhistologie und Differenzierungsgrad

Im Gegensatz zu den oben erwähnten Faktoren des TNM-Stadiums kommt weder der histologischen Tumorklassifikation nach Laurén noch dem Differenzierungsgrad der Tumorzellen (Grading) beim Magenkarzinom eine prognostische Bedeutung zu. In zahlreichen Untersuchungen an größeren Fallzahlen konnte, wenn überhaupt, nur in der univariaten, nicht jedoch in der multivariaten Analyse, ein Einfluß der Tumorhistologie oder des Differenzierungsgrades auf die Prognose der Patienten nachgewiesen werden (Gabbert et al., 1991, 1992; Schmitz-Moormann et al., 1992; Böttcher et al., 1992; Roder et al., 1993; Victorzon et al., 1996).

Das Magenkarzinom nimmt hier keine Ausnahmestellung ein, da auch bei anderen Adenokarzinomen des Gastrointestinaltraktes wie z.B. dem Kolonkarzinom hinsichtlich des prognostischen Einflusses des Differenzierungsgrades eine vergleichbare Situation vorliegt (Korenaga et al., 1991; Mulder et al., 1995; Ropponen et al., 1997; Tanigawa et al., 1997; Zarbo et al., 1997).

1.2 Potentielle neue histopathologische Parameter

1.2.1 Blutgefäß- und Lymphgefäßinvasion

Schon seit längerem ist bekannt, daß der Nachweis einer Gefäßinvasion mit einer erhöhten Metastasierungsrate und einer insgesamt schlechteren Prognose assoziiert ist. So konnte für eine Vielzahl unterschiedlicher Karzinomtypen (Zervixkarzinom: Barber et al., 1978; Endometriumkarzinom: Hanson et al., 1985; Mammakarzinom: Lee et al., 1990), insbesondere aber auch bei Tumoren des Gastrointestinaltraktes (Ösophaguskarzinom: Sarbia et al., 1994; kolorektalen Karzinomen: Talbot et al., 1980; Chapuis et al., 1985; Minsky et al., 1988; Hemming et al., 1992; Tanaka et al., 1994; Zarbo et al., 1997) multivariat gezeigt werden, daß Blut- bzw. Lymphgefäßeinbrüche der Tumorzellen mit einer signifikant schlechteren Prognose der Patienten einhergehen.

Auch beim Magenkarzinom konnte ein solcher Zusammenhang zwischen Blut- und Lymphgefäßinvasion und reduzierter 5-Jahres-Überlebensrate nachgewiesen werden (Hamazaki et al., 1974; Nagao et al., 1975; Korenaga et al., 1989; Noguchi 1990; Gabbert et al., 1991). Dieser prognostische Einfluß der Gefäßinvasion konnte darüber hinaus auch in multivariaten Analysen unter Einschluß der Prognoseparameter des pTNM-Systems als unabhängiger Prognoseparameter bestätigt werden. So stellt insbesondere in der Gruppe der nodal-negativen Patienten der Nachweis einer Gefäßinvasion einen wichtigen, zusätzlichen Prognosefaktor dar, der es erlaubt, Patientensubgruppen mit erhöhtem Risiko zu definieren (Gabbert et al., 1991).

1.3 Potentielle neue molekulare Parameter

1.3.1 Wachstumsfaktoren und Rezeptoren

Bei den Wachstumsfaktoren handelt es sich um Polypeptide, die durch Bindung an spezifische Rezeptoren, ähnlich Hormonen, zelluläre Reaktionen wie beispielsweise eine verstärkte Zellproliferation bewirken können. Dies erfolgt überwiegend durch Bindung an bestimmte Wachstumsfaktor-Rezeptoren, bei denen es sich um transmembranöse Glykoproteine handelt, die den extrazellulären Wachstumsstimulus an die intrazytoplasmatische Signaltransduktion vermitteln.

Schon seit längerem ist bekannt, daß die Expression unterschiedlicher Wachstumsfaktoren und ihrer Rezeptoren einen wichtigen Einfluß auf die maligne Transformation und das Wachstum von Tumorzellen haben (Goustin et al., 1986; Puztai et al., 1993) und daß eine Vielzahl von Onkogenen Wachstumsfaktoren oder Rezeptoren kodieren (Tahara 1990). So sind Tumorzellen nicht nur in der Lage selbst Wachstumsfaktoren zu produzieren (Abb. 1), sondern sie können durch Bindung dieser Wachstumsfaktoren an zelleigene Rezeptoren auch das eigene Wachstum im Sinne einer sog. autokrinen Wachstumsstimulation fördern (Sporn und Todaro, 1980; Sporn und Roberts, 1985). Bis

heute konnte eine Vielzahl von Wachstumsfaktoren und Rezeptoren sowie ihrer zugehörigen Gene beschrieben werden, von denen ein Teil in humanen Tumoren auch unter prognostischen Gesichtspunkten von Bedeutung zu sein scheint.

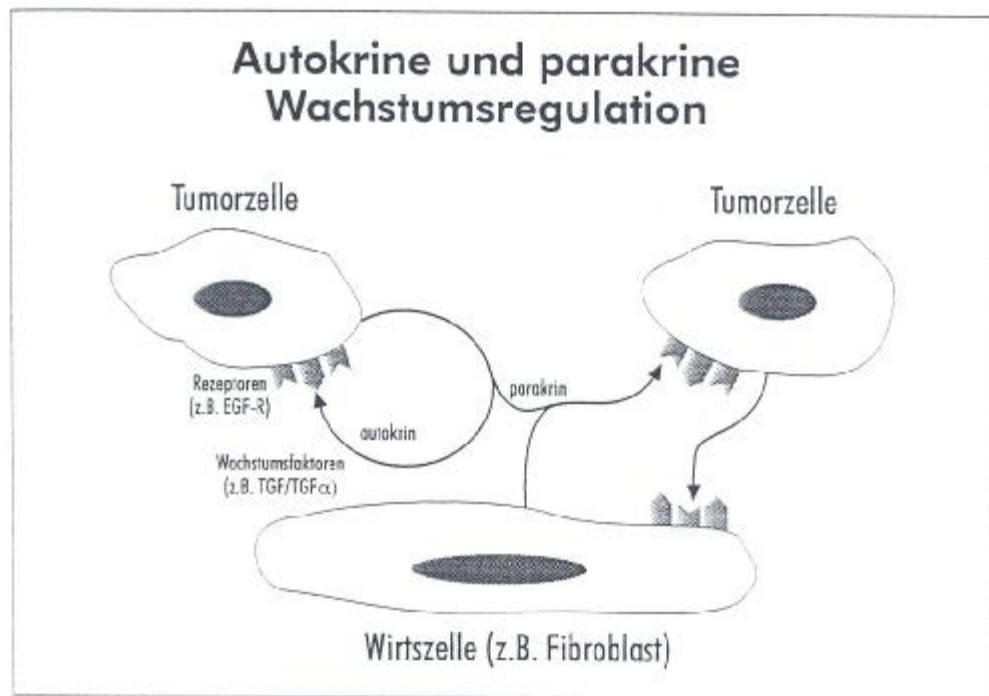


Abb. 1: Schematische Darstellung der autokrinen und parakrinen Wachstumsstimulation.

1.3.1.1 Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF), Transformierender Wachstumsfaktor alpha (TGF α), EGF-Rezeptor (EGF-R) und erbB-2

Der epidermale Wachstumsfaktor (EGF) ist ein 53 Aminosäuren langes Polypeptid, das von einem 1200 Aminosäuren langen Vorläuferpeptid abgespalten wird. EGF wurde ursprünglich von Cohen und Mitarbeitern (1962) aus Speicheldrüsen männlicher Mäuse isoliert, und kann eine Vielzahl unterschiedlicher zellulärer Reaktionen bewirken, wie die Steigerung der Proteinsyntheserate (Neelson-Hamilton und Holley 1983), die In-

duktion bestimmter Onkogene (Bravo et al., 1985; Müller et al., 1984) sowie die Stimulation der Zellproliferation (Carpenter und Cohen 1975; Westermarck 1976).

Bei dem transformierenden Wachstumsfaktor alpha ($\text{TGF}\alpha$) handelt es sich um ein 50 Aminosäuren langes Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 5,6 kD, das eine hohe Sequenzhomologie mit dem EGF aufweist (Marquardt et al., 1983, 1984). $\text{TGF}\alpha$ wurde zunächst aus durch Maus-Sarkomviren transformierten Zelllinien isoliert und als Sarkom-Wachstumsfaktor bezeichnet (Todaro et al., 1976). Das $\text{TGF}\alpha$ -Gen liegt auf dem kurzen Arm von Chromosom 2 (2p13) und der reife 50 Aminosäuren große Wachstumsfaktor wird von einem 160 Aminosäure langen, transmembranösen Vorläuferprotein abgespalten (Derynck 1988). Eine Rezeptorbindung von $\text{TGF}\alpha$ führt ebenso wie bei EGF zu einer Stimulation der Zellproliferation (Goustin et al., 1986).

Beide Wachstumsfaktoren, EGF und $\text{TGF}\alpha$, binden an den EGF-Rezeptor (EGF-R), dessen kodierendes Gen auf dem kurzen Arm von Chromosom 7 (7p12) lokalisiert ist (Shimizu et al., 1985). Bei Rezeptoren vom Typ des EGF-R handelt es sich um transmembranöse Proteine mit einer extrazellulären Domäne, die u.a. die Bindungsstelle der Liganden enthält, sowie einer transmembranösen und einer intrazellulären Domäne (Ullrich und Schlessinger 1990). Diese intrazelluläre Domäne enthält eine Tyrosinkinase-Aktivität, die durch extrazelluläre Bindung des Liganden aktiviert wird und nach Phosphorylierung Einfluß u.a. auf die Proteinsynthese, die Signaltransduktion und die Progression des Zellzyklus nehmen kann. Nach Bindung des Liganden kann durch eine Internalisierung der extrazellulären Rezeptordomäne eine sog. Down-Regulation des Rezeptor-Ligandenkomplexes erfolgen.

Das erbB-2-Onkogen, auch unter der Bezeichnung HER-2/neu bekannt, fungiert ebenfalls als transmembranöser Wachstumsfaktor-Rezeptor. Lokalisiert auf dem langen Arm des Chromosom 17 kodiert es ein 185 kD großes Glykoprotein. Während die extrazelluläre Domäne eine 40%-ige Homologie mit dem EGF-R aufweist, zeigen die intrazellulären Domänen von EGF-R und erbB-2 sogar eine 82%-ige Sequenzhomologie. Bis heute konnte zwar ein spezieller Rezeptorligand für erbB-2 noch nicht beschrieben werden, jedoch kann das erbB-2-Protein durch eine Phosphorylierung eines benachbarten EGF-Rezeptors nach Bindung von EGF oder $\text{TGF}\alpha$ ebenfalls

phosphoryliert werden, allerdings nicht durch direkte Bindung von EGF oder TGF α (Coussens et al., 1985; Connelly und Stern 1990; Grunt und Huber 1994).

Vor dem Hintergrund des bereits oben erwähnten Modells der autokrinen Stimulation wurde die Proteinexpression der erwähnten Wachstumsfaktoren und ihrer Rezeptoren bzw. der Rezeptor-codierenden Onkogene wie erbB-2 bei einer Vielzahl von humanen, malignen Tumoren untersucht (Tabellen 1 und 2). Zwar konnten in einzelnen Untersuchungen Hinweise auf einen synergistischen Effekt der gemeinsamen Expression von Wachstumsfaktor und Rezeptor gefunden werden, jedoch war in der Mehrzahl der Arbeiten schon in der univariaten Analyse ein prognostischer Einfluß von Wachstumsfaktor oder Rezeptor nicht nachweisbar. Nur in einzelnen Arbeiten an relativ geringen Fallzahlen konnte ein unabhängiger, prognostischer Effekt auch in der multivariaten Analyse bestätigt werden.

Als Ausnahme muß hier die Rolle des erbB-2-Onkogens beim Mammakarzinom angeführt werden, dessen Amplifikation oder Überexpression in zahlreichen Untersuchungen auch in der multivariaten Analyse mit einem aggressiveren Krankheitsverlauf und einer schlechteren Prognose der Patienten korreliert werden konnte. Allerdings sind auch diese Ergebnisse nicht unwidersprochen geblieben, in dem auch hier einzelne Untersuchungen an größeren Fallzahlen vorliegen, die keinen prognostischen Einfluß der erbB-2-Expression beim nodal-positiven oder nodal-negativen Mammakarzinom nachweisen konnten (ausführliche Literaturanalysen bei Revillion et al., 1998; Ross und Fletcher 1999).

Tabelle 1: Prognostische Bedeutung von Wachstumsfaktoren und ihrer Rezeptoren

Literatur	[n]	Prognostische Bedeutung	
		univariat	multivariat
Mamma			
Bhatavdekar et al., 1994 (EGF)	69	–	n.u.
Bebok et al., 1994 (TGFα)	35	+	n.u.
Spyratos et al., 1990 (EGF-R)	109	+	+
Koenders et al., 1993 (EGF-R)	459	+	–
Klijn et al., 1994 (EGF-R)	214	–	–
Railo et al., 1994 (EGF-R)	149	+	n.u.
Lunge			
Pecur et al., 1994 (TGFα)	51	–	n.u.
Dazzi et al., 1989 (EGF-R)	152	–	n.u.
Veale et al., 1993 (EGF-R)	19	+	n.u.
Diez et al., 1994 (EGF-R)	62	–	n.u.
Tateishi et al., 1994 (EGF-R)	119	–	n.u.
Pfeiffer et al., 1996 (EGF-R)	186	–	n.u.
Onn et al., 2004 (EGF-R, TGFα)	111	–	–
Kolon			
Younes et al., 1996 (TGFα)	106	+	n.u.
Mayer et al., 1993 (EGF-R)	82	+	n.u.
Langlois et al., 1997 (EGF-R)	92	–	n.u.
Ösophagus			
Mukaida et al., 1991 (EGF)	56	+	n.u.
Iihara et al., 1993 (TGFα)	57	+	+
Mukaida et al., 1991 (EGF-R)	56	+	n.u.
Iihara et al., 1993 (EGF-R)	57	+	–
Itakura et al., 1994 (EGF-R)	217	–	n.u.
Sarbia et al., 1997 (EGF-R)	150	–	–
Pankreas (EGF, TGFα, EGF-R)			
Yamanaka et al., 1993	87	+	n.u.
Ovarien			
Shah et al., 1994 (TGFα)	58	+	n.u.
Scambia et al., 1992 (EGF-R)	72	+	+
van Dam et al., 1994 (EGF-R)	80	+	+
Endometrium			
Reinartz et al., 1994 (TGFα)	128	+	–
Scambia et al., 1994 (EGF-R)	60	+	n.u.
Khalifa et al., 1994 (EGF-R)	69	+	n.u.
Reinartz et al., 1994 (EGF-R)	128	–	–
Harnblase			
Neal et al., 1990 (EGF-R)	101	+	+
Ngyuen et al., 1994 (EGF-R)	85	+	n.u.
Lipponen et al., 1994 (EGF-R)	234	+	–
Ravery et al., 1995 (EGF-R)	57	+	n.u.

Tabelle 2: Prognostische Bedeutung der erbB-2-Expression bei verschiedenen malignen Tumoren

Literatur	[n]	Prognostische Bedeutung	
		univariat	multivariat
Mamma			
Guerin et al., 1988	116	+	n.u.
Barnes et al., 1988	195	–	+
Paik et al., 1989	292	+	+
Yamashita et al., 1993	77	+	+
Lipponen et al., 1993	193	–	–
Prost et al., 1994	178	+	+
Haerslev et al., 1995	490	+	–
Rosen et al., 1995	440	–	n.u.
Lunge			
Volm et al., 1993	121	–	n.u.
Tateishi et al., 1994	119	+	n.u.
Pfeiffer et al., 1996	186	–	n.u.
Onn et al. 2004	111	+ ¹	+
Kolon			
Langlois et al., 1997	92	–	n.u.
Osako et al., 1998	102	+	+
Ösophagus²			
Nakamura et al., 1994	62	+	+
Pankreas			
Okada et al., 1995	109	+	n.u.
Ovarien			
van Dam et al., 1994	80	–	–
Endometrium			
Lukes et al., 1994	100	+	n.u.
Reinartz et al., 1994	128	–	–
Saffari et al., 1995	76	+	n.u.

n.u.: nicht untersucht; ¹gemeinsame Expression von EGF-R und erbB-2; ²Barrett-Karzinome

In den letzten Jahren wurde beim Mammakarzinom die Gabe von Antikörpern gegen das erbB-2-Protein (Trastuzumab, Herceptin) in die Therapie, zunächst bei bereits metastasierten, Tumoren mit erbB-2-Überexpression erfolgreich eingeführt (Cobleigh et al., 1998; Slamon et al. 1998). Ähnlich immunologische Therapieansätze werden auch für den Rezeptor des epidermalen Wachstumsfaktor (EGF-R) bei anderen Tumoren getestet.

Auch vor dem Hintergrund der bislang enttäuschenden Ergebnisse der Chemotherapie und der nach wie vor schlechten Prognose des fortgeschrittenen Magenkarzinoms stellt sich die Frage, ob und wie häufig eine Expression der in dieser Arbeit untersuchten Wachstumsfaktoren und ihrer Rezeptoren beim Magenkarzinom vorliegt, da sich hieraus gegebenenfalls neue Therapieoptionen für zukünftige Antikörpertherapien bei Patienten mit fortgeschrittenen Magenkarzinomen ergeben könnten.

Die wenigen bislang vorliegenden Ergebnisse zur Expression und prognostischen Bedeutung von EGF, TGF α , EGF-R und erbB-2, auf die im Rahmen des Diskussionskapitels näher eingegangen werden soll, sind jedoch außerordentlich widersprüchlich. Wenngleich in letzter Zeit die Expression verschiedener Wachstumsfaktoren und ihrer Rezeptoren mit einer Zunahme der Tumorzellproliferation und der Tumorangiogenese korreliert werden konnte (De Jong et al., 1989a, b), so ist doch bislang fraglich, ob das Phänomen der autokrinen Wachstumsstimulation beim Magenkarzinom, wie auch bei anderen humanen, malignen Tumoren eine signifikante Rolle für die Tumorprogression und die Prognose spielt.

1.4 Zielsetzung der vorliegenden Arbeiten

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Proteinexpression von Wachstumsfaktoren (EGF, TGF α) und ihrem Rezeptor (EGF-R) sowie der des erbB-2-Onkogens beim Magenkarzinom.

Darüber hinaus war es ein weiteres zentrales Ziel, den Einfluß dieser Faktoren auf die Prognose der Patienten zu untersuchen, um so mögliche neue molekulare Prognosefaktoren zu erfassen, die einerseits über das TNM-System hinaus eine zunehmend präzisere und individuellere Prognosevorhersage beim Magenkarzinom ermöglichen und andererseits auch Hochrisiko-Patienten zu identifizieren könnten, die von zukünftigen adjuvanten Therapiekonzepten profitieren könnten.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Untersuchtes Patientenkollektiv

Retrospektiv untersucht wurde eine Serie von 529 konsekutiven Patienten, die sich im Zeitraum vom 01.01.1980 bis zum 31.12.1988 wegen eines erstmals diagnostizierten Magenkarzinoms entweder einer Gastrektomie (262 Patienten, 61,0%) oder einer subtotalen Magenresektion (161 Patienten, 39,0%) unterziehen mußten. Bei allen Patienten wurde eine kurative Resektion, d.h. eine Entfernung des Tumors mit mikroskopisch tumorfreien Absetzungsrändern durchgeführt (R0-Resektion der TNM-Klassifikation, 1987). Patienten, die eine adjuvante Chemotherapie erhielten oder an einer malignen Zweiterkrankung litten, wurden nicht in die Untersuchung aufgenommen. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 64,9 Jahre (23-90 Jahre), 255 Patienten (61,7%) waren männlichen und 158 (38,3%) Patienten waren weiblichen Geschlechts. Im Rahmen einer Nacherhebung wurden die weiterbehandelnden Ärzte oder Tumorzentren angeschrieben, um Auskunft über Datum und Befund der letzten Kontrolluntersuchung bzw. Todesdatum und -ursache zu erhalten. Um einen Einfluß der postoperativen Sterblichkeit zu vermeiden, wurden Patienten, die innerhalb von 30 Tagen postoperativ verstorben waren, von der Analyse der Überlebenszeiten ausgeschlossen. Der mediane follow-up betrug 2,3 Jahre (2 Monate bis 9,1 Jahre). Bei 21% der Patienten lagen keine Daten des follow-up vor, so daß letztendlich 418 Patienten zur statistischen Auswertung der Überlebenszeiten zur Verfügung standen. Die 5-Jahres-Überlebensrate für alle Patienten betrug 43,8%. Am Ende des Beobachtungszeitraumes lebten noch 206 Patienten (49,9%), 147 Patienten (42,1%) waren am Tumor verstorben, 18 Patienten (4,4%) an einer tumorunabhängigen Ursache und bei 15 Patienten (3,6%) lagen keine Informationen zur Todesursache vor.

2.2 Methoden

2.2.1 Histopathologische Untersuchung

Die histologischen Präparate der Magenkarzinome wurden jeweils ohne Kenntnis des weiteren Krankheitsverlaufes untersucht. Durchschnittlich lagen 4 (2-9) Paraffinblöcke pro Tumor vor, von denen Paraffinschnitte angefertigt wurden, die routinemäßig mit Hämatoxylin-Eosin (HE) und Perjodsäure-Schiff-Reagens (PAS) gefärbt wurden.

Histologisch wurden die Tumoren nach der WHO-Klassifikation (Oota und Sobin, 1977) und nach der Laurén-Einteilung (1965) klassifiziert, und bezüglich der Tumorstadien nach der TNM-Klassifikation der UICC (1987) unterteilt.

Um den Einfluß der potentiell neuen Prognosefaktoren mit den bekannten Prognoseparametern zu vergleichen, wurden folgende histopathologische Basisparameter erhoben:

- Infiltrationstiefe des Tumors (pT-Kategorie)
- Lymphknotenbefall (pN-Kategorie)
- Differenzierungsgrad der Tumoren (Grading)
- Blutgefäßinvasion (BVI) und Lymphgefäßinvasion (LVI; Gabbert et al, 1991)
- Grad der Tumorzelldissoziation (TZD) an der Invasionsfront der Tumoren (Gabbert et al 1992).

Zusätzlich wurden die Expression der untersuchten Parameter mit der Proliferationsrate der Tumoren verglichen. Diese war bereits in einem früheren Forschungsvorhaben immunhistochemisch mit dem Antikörper Mib-1 (Ki-67) bestimmt worden (Müller et al., 1996).

Zum Zeitpunkt der Operation konnte lediglich bei 23 Patienten (4,3%) das Vorliegen von Fernmetastasen histologisch verifiziert werden, daher wurde dieser Parameter (pM-Kategorie) wegen der geringen Fallzahl von der weiteren statistischen Analyse ausgeschlossen.

Bei insgesamt 5 Tumoren reichte das Tumorgewebe nicht aus um alle neuen Parameter zu untersuchen, sodaß ein Teil der untersuchten Parameter nur auf 413 Tumoren basiert.

2.2.2 Immunhistochemische Methoden

In allen Fällen erfolgte der immunhistochemische Nachweis an Paraffinschnitten, wobei bei größeren Tumoren 2 - 3 verschiedene Tumorblöcke untersucht wurden, um repräsentative Tumorproben aus dem Zentrum und dem Bereich der Tumordinvasionsfont zu erfassen. Die Schnitte wurden bei 60° C über Nacht inkubiert, entparaffiniert und in der absteigenden Alkoholreihe rehydriert. Die endogene Peroxidaseaktivität durch 10 minütige Inkubation in 3%-igem H₂O₂ blockiert. Die bei einzelnen Antikörpern (Tab. 10) notwendige Vorbehandlung der Schnitte in der Mikrowelle erfolgte jeweils in 10 mM Zitratpuffer (pH 6,0). Nach Blockierung unspezifischer Bindungen mit 5%igem Normalserum wurde der Primärantikörper in jeweils spezifisch ausgetesteter Verdünnung bei 4° C über Nacht inkubiert. Nach 30 minütiger Inkubation mit einem Sekundärantikörper wurde für 1 Stunde eine Avidin-Biotin-Komplex-Reaktion (vergleiche Hsu et al., 1981) mit dem ABC-Elite-Kit (Fa. Vector) durchgeführt. Anschließend wurde das Reaktionsprodukt durch Immersion mit Diaminobenzidintetrachlorid (Fa. Sigma) und Gegenfärbung mit Hämatoxylin sichtbar gemacht. Als Positivkontrolle wurde bei allen immunhistochemischen Untersuchungen ein Präparat mit bereits nachgewiesener Immunreaktivität für das jeweilige zu untersuchende Antigen mitgefärbt. Als Negativkontrolle wurde der Primärantikörper durch 5%-iges Serumalbumin ersetzt. Die Auswertung der immunhistochemischen Färbungen erfolgte jeweils ohne Kenntnis des klinischen Verlaufs der Patienten und der histopathologischen Daten der Tumoren.

Tabelle 3: Verwendete Antikörper

Antikörper (Klon)	Isotyp	Verdünnung	Vorbehandlung	Hersteller
EGF (Ab-3)	polyklonal	1:40	Saponin	Fa. Dianova
TGF α (Ab-2)	monoklonal	1:100	Keine	Fa. Dianova
EGF-R (E30)	monoklonal	1:30	Pronase	Fa. Merck
erbB-2 (cb11)	monoklonal	1:20	Keine	Fa. Biogenex

2.2.2.1 Auswertung der Expression von EGF, TGF α , EGF-R und erbB-2

Der Anteil immunreaktiver Tumorzellen am Gesamttumorgewebe wurde durch mikroskopische Beurteilung des gesamten histologischen Präparates semiquantitativ evaluiert. Dabei wurden Tumoren mit mehr als 5% positiver Tumorzellen als positiv bewertet. Für EGF, TGF α und EGF-R wurde jeweils nur die zytoplasmatische Expression, bei erbB-2 ausschließlich eine membranöse Expression im Bereich der Tumorzellmembranen gewertet. Die Färbeintensität spielte für die Evaluation keine Rolle.

2.2.3 Statistische Auswertung

Die Analyse der erhobenen Daten erfolgte durch Prof. G. Hommel im Institut für medizinische Statistik und Dokumentation der Universitätsklinik Mainz unter Verwendung des Programmpaketes SAS. Ein Teil der statistischen Auswertung erfolgte durch Dr. R. Willers im Rechenzentrum der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

Die Testung der Unterschiede zwischen den einzelnen Ausprägungsgraden der untersuchten Parameter erfolgte für dichotome Variablen mit dem Fisher-Exakt-Test, für kategoriale Variablen mit dem Chi-Quadrat-Test sowie für ordinale Variablen mit dem Wilcoxon-Mann-Whitney-Test für 2 Gruppen und dem Kruskal-Wallis-Test für mehr als 2 Gruppen.

Die Analyse der Überlebenszeiten wurde nach der Kaplan-Meyer-Methode (Kaplan und Meyer 1958) vorgenommen. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen wurden mit dem Log-Rank-Test (Kalbfleisch und Prentice, 1980) geprüft. Mit Hilfe des Cox'schen Regressionsmodells (Kalbfleisch und Prentice, 1980) wurde in der univariaten Analyse der prognostische Wert jedes einzelnen Parameters und in der multivariaten Analyse der prognostische Wert in Kombination mit anderen bekannten Prognoseparametern bestimmt.

Als statistisch signifikant galt jeweils eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$.

3 Ergebnisse

3.1 Expression von EGF, TGF α , EGF-R und erbB-2

3.1.1 Expression in normaler Magenschleimhaut

3.1.1.1 EGF-Expression in normaler Magenschleimhaut

Bei allen 413 Kontrollen ließ sich eine EGF-Expression in den Foveolarepithelien der nicht-neoplastischen Magenschleimhaut nachweisen (Abb. 2). Dies galt auch für Bereiche mit intestinaler Metaplasie.

3.1.1.2 TGF α -Expression in normaler Magenschleimhaut

Bei mehr als 90% der untersuchten Kontrollen ließ sich im Bereich der nicht-neoplastischen Magenschleimhaut eine TGF α -Expression in den Foveolarzellen sowie auch in den mukösen Antrumdrüsen nachweisen (Abb. 3). Im Bereich einer intestinalen Metaplasie fand sich eine Immunoreaktivität für TGF α sowohl in Becher- als auch in Saumzellen.

3.1.1.3 EGF-R-Expression in normaler Magenschleimhaut

Bei keiner der Kontrollen ließ sich eine Expression des epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors nachweisen. Auch die Abschnitte mit intestinaler Metaplasie waren stets negativ.

3.1.1.4 erbB-2-Expression in normaler Magenschleimhaut

Auch erbB-2 ließ sich in keiner der 413 Kontrollen im Bereich der normalen Magenschleimhaut nachweisen. Abschnitte intestinaler Metaplasie waren ebenfalls stets erbB-2-negativ.

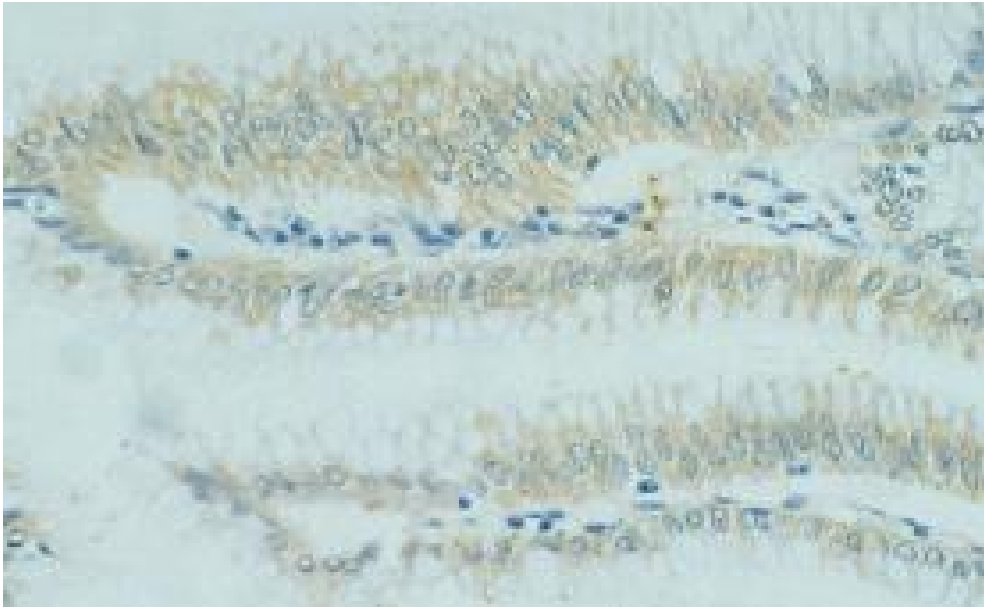


Abb. 2: EGF-Expression in Foveolarepithelien normaler Magenschleimhaut.

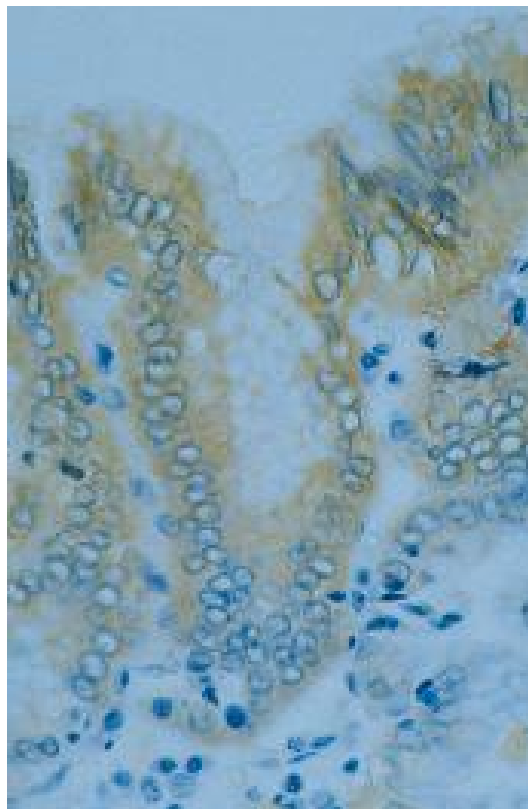


Abb. 3: TGF-Expression in Foveolarepithelien normaler Magenschleimhaut.

3.1.2 Expression in Magenkarzinomen

3.1.2.1 EGF-Expression in Magenkarzinomen

Bei 89 der 413 untersuchten Magenkarzinome (21,5%) ließ sich eine zytoplasmatische EGF-Expression mit deutlicher inter- und intratumoraler Heterogenität nachweisen (Abb. 4). Dabei reichte der Prozentsatz EGF-positiver Tumorzellen von 1% bis max. 80%. Die Mehrzahl der EGF-positiven Tumoren (69,7%) zeigte dabei eine Expression in weniger als 25% der Tumorzellen, während jeweils 14,6% der positiven Tumoren eine EGF-Expression in 26% bis 50% bzw. 51% bis 75% der Tumorzellen aufwiesen. Lediglich bei einem Tumor (1,1%) ließ sich eine EGF-Expression in mehr als 75% der Tumorzellen nachweisen. Hinsichtlich der Expression im Bereich der Tumordinvasionsfront fanden sich keine Unterschiede im Vergleich mit Abschnitten aus dem Tumorzentrum, dies galt jeweils für Tumoren mit nur geringer Anzahl EGF-positiver Tumorzellen, wie auch für stark positive Tumoren.

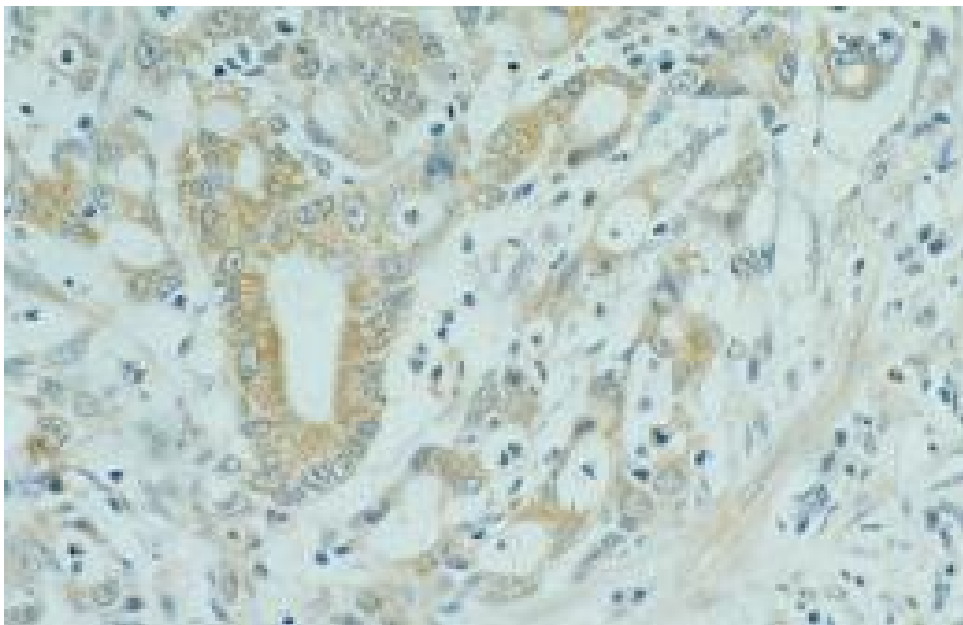


Abb. 4: EGF-Expression in einem Magenkarzinom vom Intestinaltyp nach Laurén.

3.1.2.2 TGF α -Expression in Magenkarzinomen

Eine zytoplasmatische TGF α -Immunoreaktivität im Bereich der Tumorzellen war bei insgesamt 153 (37,0%) der 413 untersuchten Tumoren nachweisbar (Abb. 5). Dabei ergab sich auch für die TGF α -Expression jeweils eine ausgeprägte intra- und inter-tumorale Heterogenität, wobei die Zahl der positiven Tumorzellen von 1% bis 90% reichte. So ließ sich in 20 Tumoren eine TGF α -Expression lediglich in einzelnen Tumorzellen nachweisen. TGF α -positiv mit jeweils mehr als 5% der Tumorzellen waren insgesamt 133 Magenkarzinome. Von diesen zeigte jeweils die Hälfte (49,6%) eine TGF α -Expression in 5% bis 25% der Tumorzellen, während 21,1% bzw. 21,8% der TGF α -positiven Tumoren eine Expression in 26% bis 50% bzw. 51% bis 75% der Tumorzellen aufwiesen. Bei 7,5% der positiven Tumoren (n=10) ließ sich eine Ex-

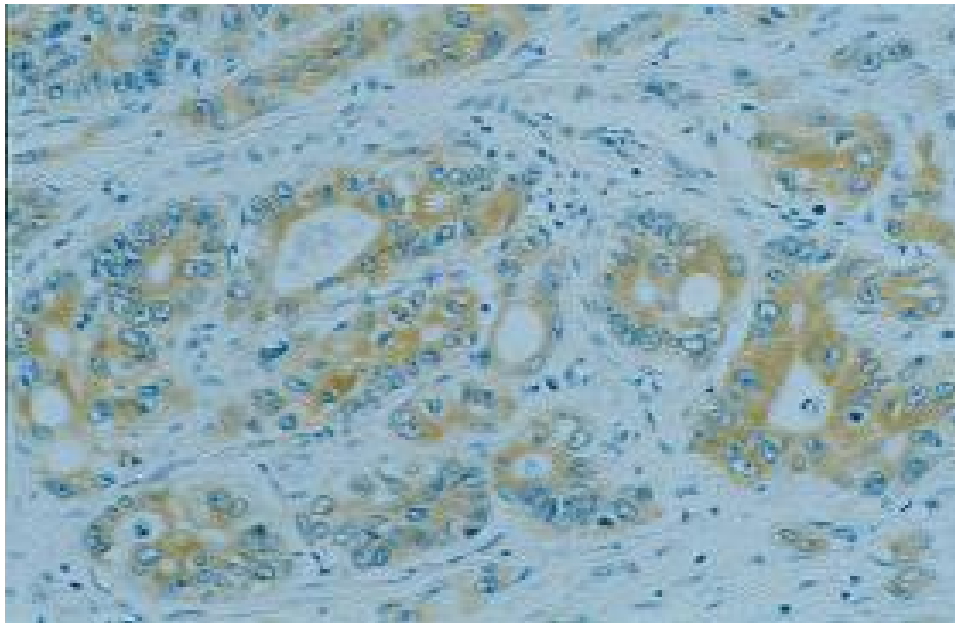


Abb. 5: TGF α -Expression in einem Magenkarzinom vom Intestinaltyp nach Laurén.

pression in mehr als 75% der Tumorzellen nachweisen. Hinsichtlich der Expression im Bereich der Tumorinvasionsfront fanden sich keine Unterschiede im Vergleich mit Abschnitten aus dem Tumorzentrum, dies galt jeweils für Tumoren mit nur geringer Anzahl TGF α -positiver Tumorzellen, wie auch für stark positive Tumoren.

3.1.2.3 EGF-R-Expression in Magenkarzinomen

Bei 35 der 413 untersuchten Tumoren (8,5%) fand sich eine EGF-R-Immunoreaktivität, die stets linear im Bereich der Tumorzellmembranen nachweisbar war (Abb. 6). Auch bezüglich der EGF-R-Expression fand sich eine deutliche intra- und intertumorale Heterogenität. So reichte die Zahl der EGF-R-positiven Tumorzellen von 1% bis max. 99% der Tumorzellen. Bei 3 der untersuchten Tumoren ließ sich lediglich in einzelnen Tumorzellen eine EGF-R-Immunoreaktivität nachweisen. Die Mehrzahl der positiven Tumoren (59,4%) zeigte lediglich eine geringe Expression in weniger als 25% der

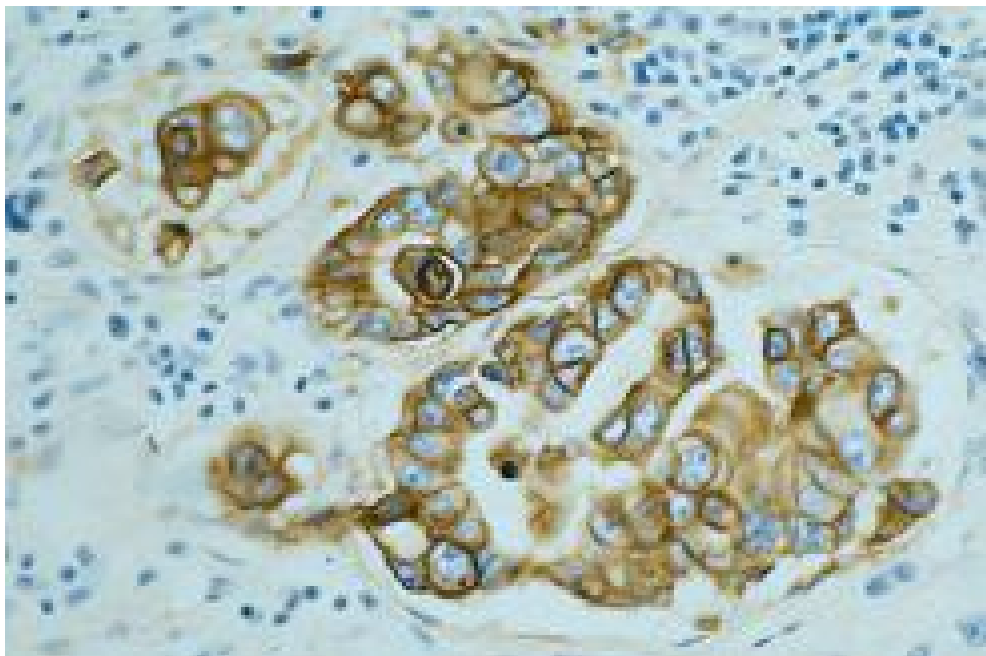


Abb. 6: EGF-R-Expression in einem Magenkarzinom vom Intestinaltyp nach Laurén.

Tumorzellen. Daneben fand sich bei 4 bzw. bei 3 der EGF-R-positiven Tumoren (12,5% bzw. 9,4%) eine Expression in 26% bis 50% bzw. 51% bis 75% der Tumorzellen. Bei 6 der 32 EGF-R-positiven Tumoren (18,8%) fand sich eine EGF-R-Expression in mehr als 75% der Tumorzellen. Hinsichtlich der Expression im Bereich der Tumordinvasionsfront fanden sich keine Unterschiede im Vergleich mit Abschnitten aus dem Tumorzentrum, dies galt jeweils für Tumoren mit nur geringer Anzahl EGF-R-positiver Tumorzellen, wie auch für stark positive Tumoren.

3.1.2.4 erbB-2-Expression in Magenkarzinomen

Von den 413 untersuchten Magenkarzinomen zeigten 11,6% (n=48) eine membranöse Immunreaktion im Bereich der Zellgrenzen mit deutlicher intra- und intertumoraler Heterogenität von 1% bis max. 95% erbB-2-positiver Tumorzellen (Abb. 7). So ließ

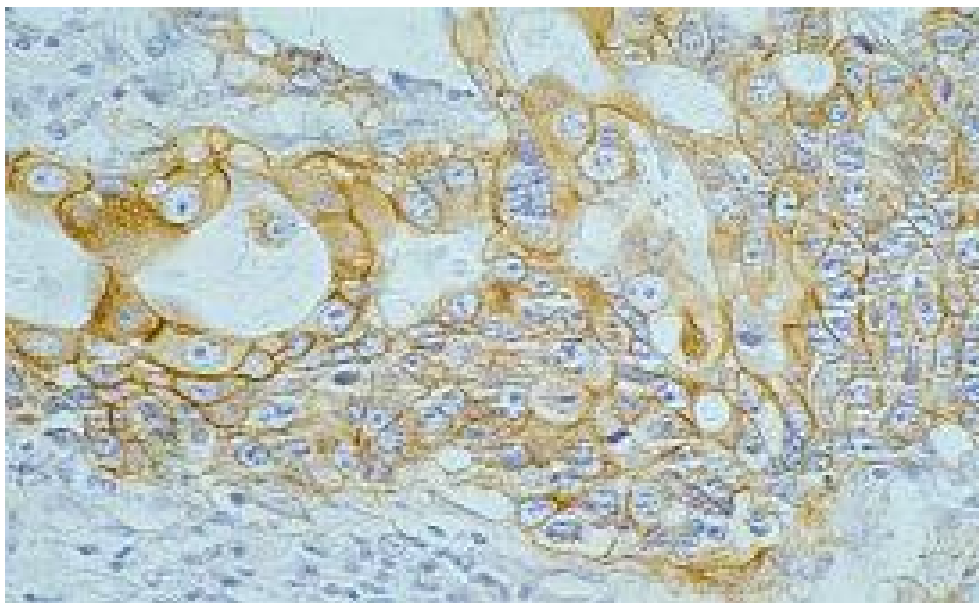


Abb. 7: erbB-2-Expression in einem Magenkarzinom vom Intestinaltyp nach Laurén.

sich bei 6 Tumoren eine erbB-2-Expression lediglich in einzelnen Tumorzellen nachweisen. Eine erbB-2-Positivität mit mehr als 5% erbB-2-positiver Tumorzellen fand sich bei insgesamt 42 Tumoren (10,2%). Dabei ließ sich auch hier in der Mehrheit der erbB-2-positiven Tumoren (61,9%) eine Immunreaktion in weniger als 25% der Tumorzellen nachweisen. Bei 9 Tumoren (21,4%) zeigten 26% bis 50% und bei 6 Tumoren (14,3%) 51% bis 75% der Tumorzellen eine erbB-2-Expression. Nur bei 7 Tumoren (16,7%) ließ sich in mehr als 75% der Tumorzellen eine deutliche, membranöse erbB-2-Immunoreaktivität nachweisen. Hinsichtlich der Expression im Bereich der Tumordinvasionsfront fanden sich keine Unterschiede im Vergleich mit Abschnitten aus dem Tumorzentrum, dies galt jeweils für Tumoren mit nur geringer Anzahl erbB-2-positiver Tumorzellen, wie auch für stark positive Tumoren.

3.1.3 Korrelation mit histopathologischen Parametern

Da sich bei der statistischen Analyse hinsichtlich der Korrelation mit histopathologischen Parametern und den Überlebenszeiten keine Unterschiede zwischen Magenkarzinomen mit geringer (5-25%), mittlerer (26-50%), hoher (51-75%) und sehr hoher (76-100%) Anzahl positiver Tumorzellen nachweisen ließen, wurden diese 4 Gruppen jeweils als EGF-positive, TGF α -positive, EGF-R-positive und erbB-2-positive Magenkarzinome zusammengefaßt.

3.1.3.1 EGF-Expression und histopathologische Parameter

Hinsichtlich des histologischen Tumortyps fand sich eine statistisch hochsignifikante Korrelation ($p < 0,0001$) mit der Laurén-Klassifikation (Tab. 4). So waren Tumoren vom sog. Intestinaltyp signifikant häufiger EGF-positiv (27,5%) als Magenkarzinome vom diffusen Typ (9,5%). Ähnliches galt auch für die WHO-Klassifikation. Während nur

10,7% bzw. 13,3% der siegelringzelligen bzw. undifferenzierten Magenkarzinome eine EGF-Expression aufwiesen, konnte in 37,8% bzw. 29,6% der Tumoren vom papillären oder tubulären Typ eine EGF-Expression nachgewiesen werden ($p < 0,0001$).

Hoch- bzw. mäßig differenzierte Magenkarzinome zeigten ebenfalls signifikant häufiger eine EGF-Expression als gering oder undifferenzierte Karzinome ($p < 0,035$).

Auch mit der Invasionstiefe (pT-Kategorie) fand sich eine signifikante Korrelation indem sich bei fortgeschrittenen Magenkarzinomen (pT2 - pT4) signifikant häufiger eine EGF-Expression nachweisen ließ als in Magenfrühkarzinomen ($p < 0,011$).

Auch mit den prognostisch ungünstigen Parametern der Blut- und Lymphgefäßinvasion fand sich jeweils eine signifikante Korrelation mit der EGF-Expression. So ließ sich in der Gruppe der Magenkarzinome mit Blut- oder Lymphgefäßinvasion jeweils signifikant häufiger eine EGF-Expression nachweisen ($p < 0,018$ bzw. $p < 0,001$).

Im Gegensatz dazu fanden sich keine Unterschiede zwischen Tumoren mit Lymphknotenmetastasierung und solchen ohne Lymphknotenmetastasen.

Bezüglich der Proliferationsaktivität der Tumoren fand sich eine Korrelation, indem sich in der Gruppe der Tumoren mit hoher Proliferationsaktivität signifikant häufiger eine EGF-Expression nachweisen ließ ($p < 0,028$).

Hinsichtlich der Expression von TGF α , EGF-R und erbB-2 ließ sich jeweils eine statistisch hochsignifikante positive Korrelation mit der EGF-Expression nachweisen (jeweils $p < 0,0001$). Insgesamt fand sich jedoch lediglich bei 58 Tumoren (14,0%) eine Koexpression von EGF- und TGF α , bei 15 Tumoren (3,6%) von EGF und EGF-R sowie bei 28 Tumoren (6,8%) von EGF und erbB-2. In diesen Tumoren lag die Koexpression jedoch überwiegend heterogen in unterschiedlichen Abschnitten der Tumoren vor, und es ließen sich nur einzelne Tumorzellen mit gemeinsamer Expression von TGF α bzw. EGF oder EGF-R und erbB-2 nachweisen.

Tabelle 4: Korrelation der EGF-Expression mit histopathologischen Parametern

	(n)	EGF-positiv (%)	p-Wert
Laurén-Klassifikation			
intestinal	262	73 (27,9)	0,0001
diffus	115	11 (9,6)	
gemischt	36	5 (13,9)	
WHO-Klassifikation			
Adenokarzinome			
papillär	37	14 (37,8)	0,0001
tubulär	162	48 (29,6)	
muzinös	34	6 (17,6)	
Siegelring	112	12 (10,7)	
undifferenziert	68	9 (13,2)	
Differenzierungsgrad			
G1 ^b /G2	111	32 (28,8)	0,035
G3	226	47 (20,8)	
G4	76	10 (13,2)	
pT-Kategorie			
pT1	95	11 (11,6)	0,011
pT2	187	41 (21,9)	
pT3/4 ^a	131	37 (28,2)	
pN-Kategorie			
nodal-negativ	186	36 (19,4)	0,326
nodal-positiv	227	53 (23,3)	
Blutgefäßinvasion			
negativ	313	59 (18,8)	0,018
positiv	100	30 (30,0)	
Lymphgefäßinvasion			
negativ	217	33 (15,2)	0,001
positiv	196	56 (28,6)	
Tumorzellproliferation			
niedrig (<53,3%)	207	35 (16,9)	0,028
hoch (≥53,3%)	211	54 (25,6)	

^apT4: nur fünf Tumoren; ^bG1: nur ein Tumor

3.1.3.2 TGF α -Expression und histopathologische Parameter

Auch die TGF α - Expression war hochsignifikant mit dem histologischen Tumortyp nach Laurén und der WHO-Klassifikation korreliert (Tab. 5). So ließ sich eine TGF α -Expression hochsignifikant häufiger in Tumoren vom sog. intestinalen Typ nach Laurén und in Tumoren vom papillären oder tubulären Typ gemäß der WHO-Klassifikation nachweisen als in Magenkarzinomen vom diffusen Typ oder in siegelringzelligen und undifferenzierten Karzinomen (jeweils $p < 0,0001$). Dementsprechend zeigten auch hoch bzw. mäßig differenzierte Magenkarzinome signifikant häufiger eine TGF α -Expression als gering oder undifferenzierte Karzinome ($p < 0,0001$).

Bezüglich der prognostisch bedeutsamen Parameter pT-Kategorie und pN-Kategorie ließ sich jedoch für die TGF α -Expression keine statistisch signifikante Korrelation nachweisen. Es fand sich hier lediglich ein Trend für fortgeschrittene Karzinome der Stadien pT2 bis pT4, die häufiger eine TGF α -Expression aufwiesen als Magenfrühkarzinome. Diese Unterschiede erreichten jedoch keine statistische Signifikanz ($p < 0,07$). Auch zwischen Patienten mit nachgewiesener Lymphknotenmetastasierung und solchen ohne Lymphknotenmetastasen (pN0) fanden sich keine Unterschiede in der TGF α -Expression der Tumoren, während Tumoren mit nachgewiesener Lymphgefäßinfiltration häufiger eine TGF α -Expression aufwiesen. Entsprechende Unterschiede zwischen Karzinomen mit nachgewiesener Blutgefäßinvasion und solchen ohne fanden sich dagegen nicht.

Auch hinsichtlich der Proliferationsaktivität der Tumoren fanden sich keine Unterschiede zwischen den Gruppen mit niedriger und hoher Proliferationsaktivität.

Eine Koexpression mit dem epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor EGF-R konnte bei 18 Tumoren (4,4%) nachgewiesen werden, eine Koexpression von TGF α und erbB-2 bei 34 Karzinomen (8,2%). Jedoch zeigten nur einzelne Tumorzellen eine gemeinsame Expression von TGF α und EGF-R bzw. erbB-2.

Tabelle 5: Korrelation der TGF α -Expression mit histopathologischen Parametern

	(n)	TGF a-positiv (%)	p-Wert
Laurén-Klassifikation			
intestinal	262	112 (42,7)	0,0001
diffus	115	12 (10,4)	
gemischt	36	9 (25,0)	
WHO-Klassifikation			
Adenokarzinome			
papillär	37	24 (64,9)	0,0001
tubulär	162	76 (46,9)	
muzinös	34	8 (23,5)	
Siegelring	112	12 (10,7)	
undifferenziert	68	13 (19,1)	
Differenzierungsgrad			
G1 ^b /G2	111	59 (53,2)	0,0001
G3	226	58 (25,7)	
G4	76	16 (21,1)	
pT-Kategorie			
pT1	95	25 (26,3)	0,07
pT2	187	71 (38,0)	
pT3/4 ^a	131	37 (28,4)	
pN-Kategorie			
nodal-negativ	186	63 (33,9)	0,51
nodal-positiv	227	70 (30,8)	
Blutgefäßinvasion			
negativ	313	98 (31,3)	0,49
positiv	100	35 (35,0)	
Lymphgefäßinvasion			
negativ	217	58 (26,7)	0,01
positiv	196	75 (38,3)	
Tumorzellproliferation			
niedrig (<53,3%)	207	59 (28,5)	0,14
hoch (≥53,3%)	211	74 (35,1)	

^apT4: nur fünf Tumoren; ^bG1: nur ein Tumor

3.1.3.3 EGF-R-Expression und histopathologische Parameter

Im Gegensatz zu den Wachstumsfaktoren EGF und TGF α fand sich für ihren Rezeptor EGF-R keine Korrelation mit dem histologischen Tumortyp nach der Laurén- oder der WHO-Klassifikation (Tab. 6).

Auch hinsichtlich des Differenzierungsgrades der Tumoren fanden sich für die EGF-R-Expression keine Unterschiede zwischen hoch bzw. mäßig differenzierten Karzinomen und gering oder undifferenzierten Karzinomen ($p < 0,33$).

Allerdings ließ sich hinsichtlich des prognostisch bedeutsamen Parameters pT-Kategorie eine Korrelation mit der EGF-R-Expression nachweisen. Während in der Gruppe der weit fortgeschrittenen Karzinome (pT3/pT4) 18 Tumoren (13,7%) eine EGF-R-Expression aufwiesen, konnte diese nur bei einem einzigen Magenfrühkarzinom (1,1%) nachgewiesen werden ($p < 0,002$). Im Gegensatz dazu fand sich keine Korrelation ($p < 0,37$) mit der Lymphknotenmetastasierung (pN-Kategorie).

Bei Betrachtung der Gruppe der Tumoren mit nachgewiesener Blut- oder Lymphgefäßinvasion fand sich ebenfalls eine signifikante Korrelation mit der EGF-R-Expression, indem Tumoren mit nachgewiesener Blut- oder Lymphgefäßinvasion signifikant häufiger EGF-R-positiv waren als Tumoren ohne nachgewiesene Gefäßinvasion.

Eine erhöhte Proliferationsaktivität war nicht mit der EGF-R-Expression korreliert.

Eine Koexpression von EGF-R und erbB-2 ließ sich lediglich bei 9 Tumoren (2,2%) nachweisen.

Tabelle 6: Korrelation der EGF-R-Expression mit histopathologischen Parametern

	(n)	EGF-R-positiv (%)		p-Wert
Laurén-Klassifikation				
intestinal	262	24	(9,2)	0,27
diffus	115	5	(4,3)	
gemischt	36	3	(8,3)	
WHO-Klassifikation				
Adenokarzinome				
papillär	37	4	(10,8)	0,31
tubulär	162	13	(8,0)	
muzinös	34	3	(8,8)	
Siegelring	112	4	(3,6)	
undifferenziert	68	8	(11,8)	
Differenzierungsgrad				
G1 ^b /G2	111	8	(7,2)	0,33
G3	226	15	(6,6)	
G4	76	9	(11,8)	
pT-Kategorie				
pT1	95	1	(1,1)	0,002
pT2	187	13	(7,0)	
pT3/4 ^a	131	18	(13,7)	
pN-Kategorie				
nodal-negativ	186	12	(6,5)	0,37
nodal-positiv	227	20	(8,8)	
Blutgefäßinvasion				
negativ	313	19	(6,1)	0,03
positiv	100	13	(13,0)	
Lymphgefäßinvasion				
negativ	217	9	(4,1)	0,005
positiv	196	23	(11,7)	
Tumorzellproliferation				
niedrig (<53,3%)	207	11	(5,3)	0,07
hoch (≥53,3%)	211	21	(10,0)	

^apT4: nur fünf Tumoren; ^bG1: nur ein Tumor

3.1.3.4 erbB-2-Expression und histopathologische Parameter

Für erbB-2 ergab die statistische Auswertung eine hochsignifikante Korrelation mit der Tumorphistologie nach der Laurén- und der WHO-Klassifikation (Tab. 7). Während 14,1% der sog. intestinalen Tumoren (n=37) eine erbB-2-Expression aufwiesen, ließ sich diese nur bei 2,6% (n=3) der diffusen Karzinome nachweisen. Von den 42 Tumoren mit erbB-2-Expression gehörten 73,9% zur Gruppe der Adenokarzinome vom papillären oder tubulären Typ der WHO-Klassifikation, während nur 2,7% der siegelringzelligen und 7,4% der undifferenzierten Karzinome eine erbB-2-Expression aufwiesen ($p<0,003$).

Keine statistische signifikante Korrelation fand sich mit der pT-Kategorie, der pN-Kategorie, dem Differenzierungsgrad sowie der Blut- oder Lymphgefäßinvasion.

Hinsichtlich der Proliferationsaktivität der Tumoren ließ sich keine signifikante Korrelation mit der erbB-2-Expression nachweisen.

Tabelle 7: Korrelation der erbB-2-Expression mit histopathologischen Parametern

	(n)	erbB-2-positiv (%)		p-Wert
Laurén-Klassifikation				
intestinal	262	37	(14,1)	0,002
diffus	115	3	(2,6)	
gemischt	36	2	(5,6)	
WHO-Klassifikation				
Adenokarzinome				
papillär	37	8	(21,6)	0,003
tubulär	162	23	(14,2)	
muzinös	34	3	(8,8)	
Siegelring	112	3	(2,7)	
undifferenziert	68	5	(7,4)	
Differenzierungsgrad				
G1 ^b /G2	111	17	(15,3)	0,11
G3	226	19	(8,4)	
G4	76	6	(7,9)	
pT-Kategorie				
pT1	95	6	(6,3)	0,37
pT2	187	21	(11,2)	
pT3/4 ^a	131	15	(11,5)	
pN-Kategorie				
nodal-negativ	186	20	(10,8)	0,72
nodal-positiv	227	22	(9,7)	
Blutgefäßinvasion				
negativ	313	28	(8,9)	0,15
positiv	100	14	(14,0)	
Lymphgefäßinvasion				
negativ	217	18	(8,3)	0,19
positiv	196	24	(12,2)	
Tumorzellproliferation				
niedrig (<53,3%)	207	15	(7,2)	0,06
hoch (≥53,3%)	211	27	(12,8)	

^apT4: nur fünf Tumoren; ^bG1: nur ein Tumor

3.1.4 Prognostischer Einfluß

3.1.4.1 Prognostischer Einfluß der EGF-Expression

Die univariate Analyse der postoperativen Überlebenszeiten ergab, daß Patienten mit EGF-positiven Magenkarzinomen eine signifikant schlechtere Prognose aufwiesen, als Patienten mit EGF-negativen Tumoren ($p < 0,001$; Abb. 8).

In einer multivariaten Analyse unter Einschluß der Parameter pT-Kategorie, pN-Kategorie sowie Blut- und Lymphgefäßinvasion konnte dieser prognostische Einfluß der EGF-Expression aus der univariaten Analyse jedoch nicht als unabhängig bestätigt werden ($p < 0,16$).

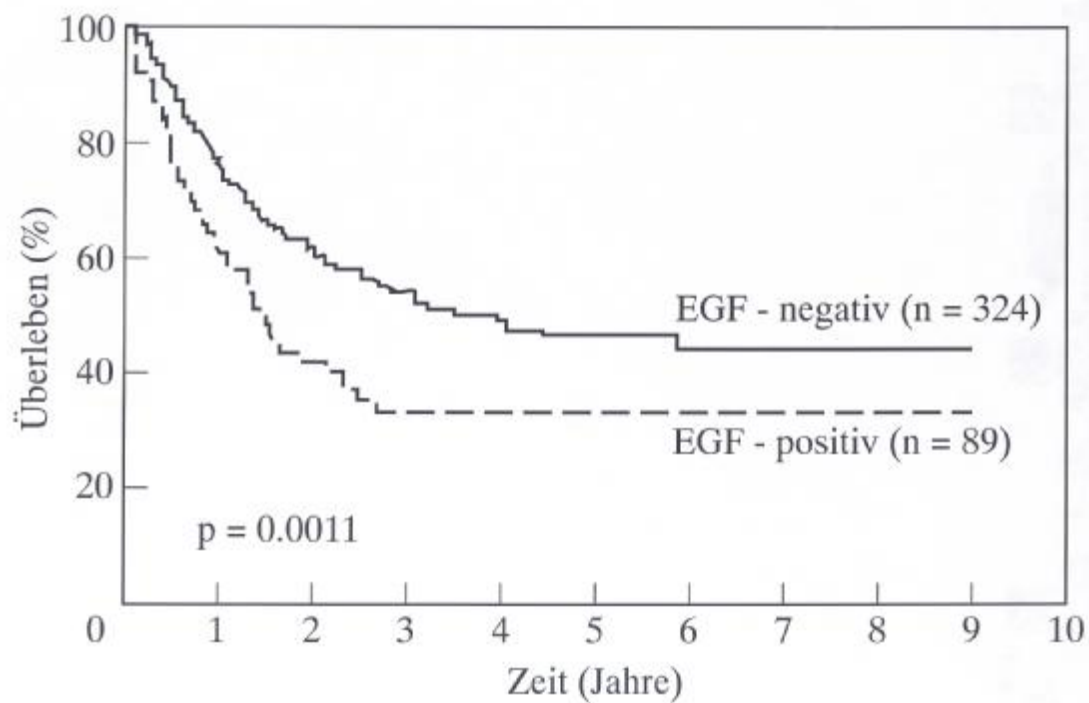


Abb. 8: Überlebenskurven von Magenkarzinompatienten mit EGF-positiven und EGF-negativen Tumoren (Log-rank-Test: $p < 0,001$).

3.1.4.2 Prognostischer Einfluß der TGF α -Expression

Bei der Analyse der Überlebenszeiten konnte für die TGF α -Expression bereits in der univariaten Analyse ein Einfluß auf die Prognose der Magenkarzinompatienten nicht nachgewiesen werden ($p < 0,61$; Abb. 9). Dies galt auch bei separater Analyse der einzelnen Untergruppen der pT- und pN-Kategorie sowie der Laurén-Klassifikation. Auch bei separater Analyse verschiedener cut-points der TGF α -Expression (10%, 20%, bis zu 90%) ließen sich statistisch signifikante Unterschiede der Überlebenszeiten nicht nachweisen.

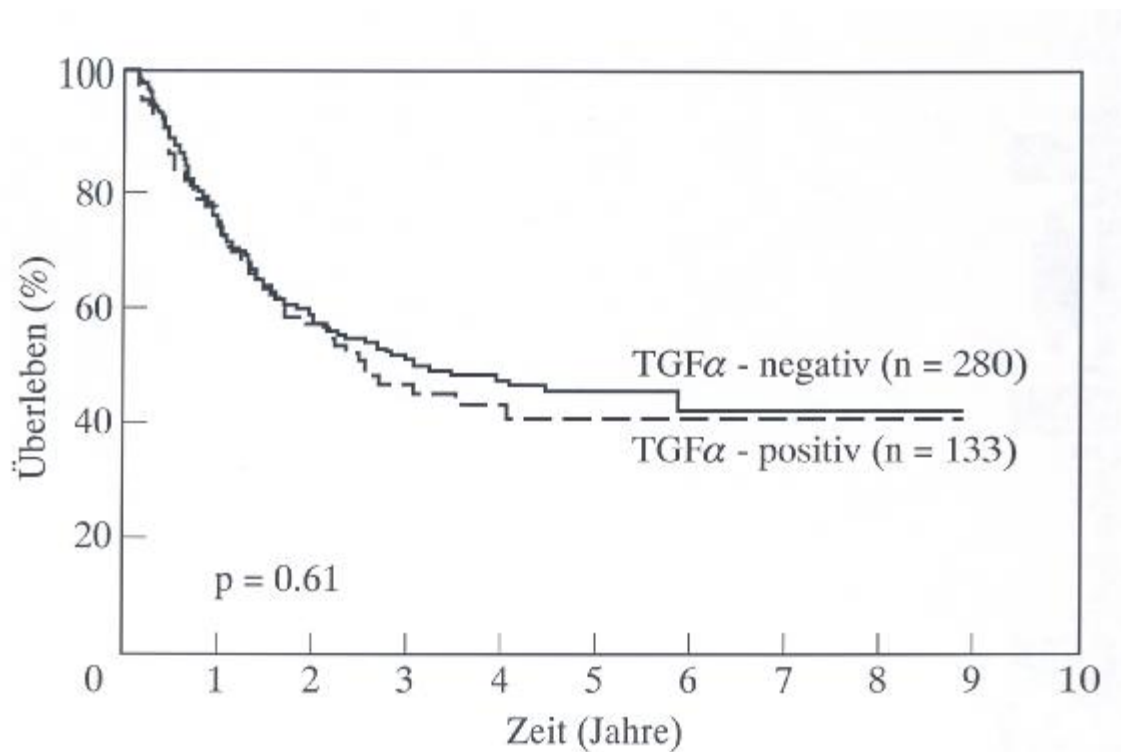


Abb. 9: Überlebenskurven von Magenkarzinompatienten mit TGF α -positiven und TGF α -negativen Tumoren (Log-rank-Test: $p < 0,61$).

3.1.4.3 Prognostischer Einfluß der EGF-R-Expression

Auch für die EGF-R-Expression ließ sich ein Einfluß auf die Prognose nicht nachweisen ($p < 0,52$; Abb. 10). Dies galt auch für die separate Analyse von Patientensubgruppen gemäß der pT- und pN-Kategorie sowie der Laurén-Klassifikation. Auch bei Analyse unterschiedlicher cut-points der EGF-R-Expression fand sich kein prognostischer Einfluß.

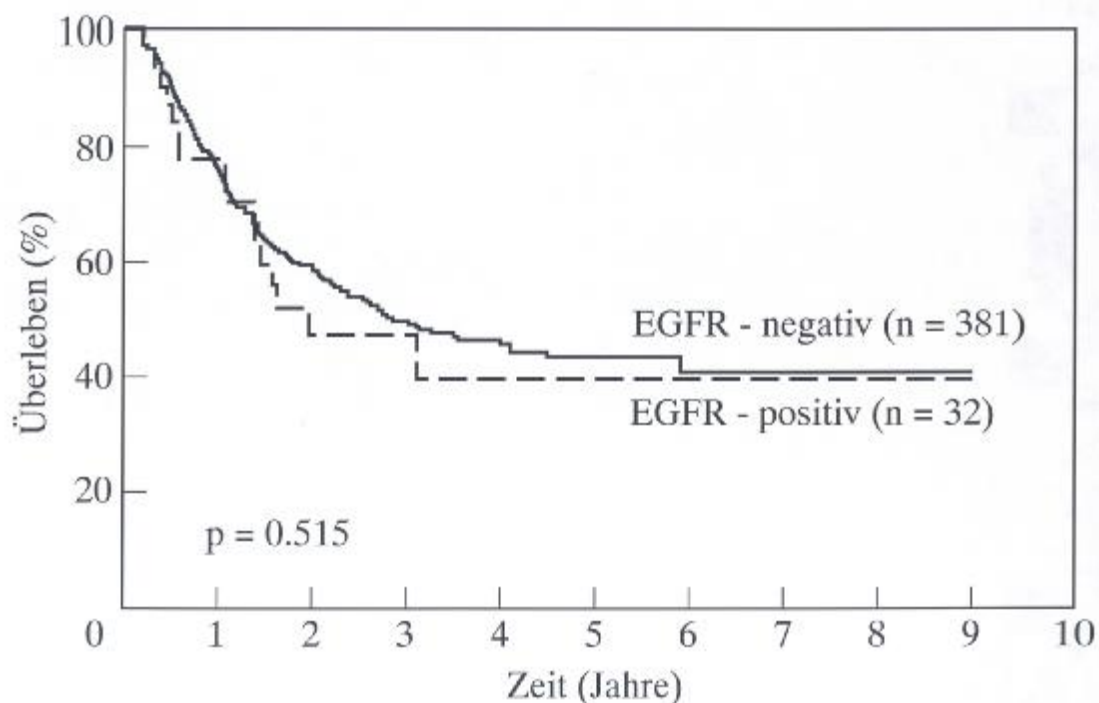


Abb. 10: Überlebenskurven von Magenkarzinompatienten mit EGF-R-positiven und EGF-R-negativen Tumoren (Log-rank-Test: $p < 0,515$).

3.1.4.4 Prognostischer Einfluß der erbB-2-Expression

In der univariaten Analyse der Überlebenszeiten konnte ein signifikanter Einfluß der erbB-2-Expression auf die Prognose der Patienten nachgewiesen werden ($p < 0,04$) indem Patienten mit erbB-2-positiven Tumoren eine signifikant schlechtere Prognose aufwiesen als solche mit erbB-2-negativen Tumoren (Abb. 11). Bei der zusätzlich durchgeführten multivariaten Analyse unter Einschluß der Prognoseparameter pT-Kategorie, pN-Kategorie sowie Blut- und Lymphgefäßinvasion ließ sich für die erbB-2-Expression jedoch eine statistische Signifikanz nicht mehr verifizieren ($p = 0,37$).

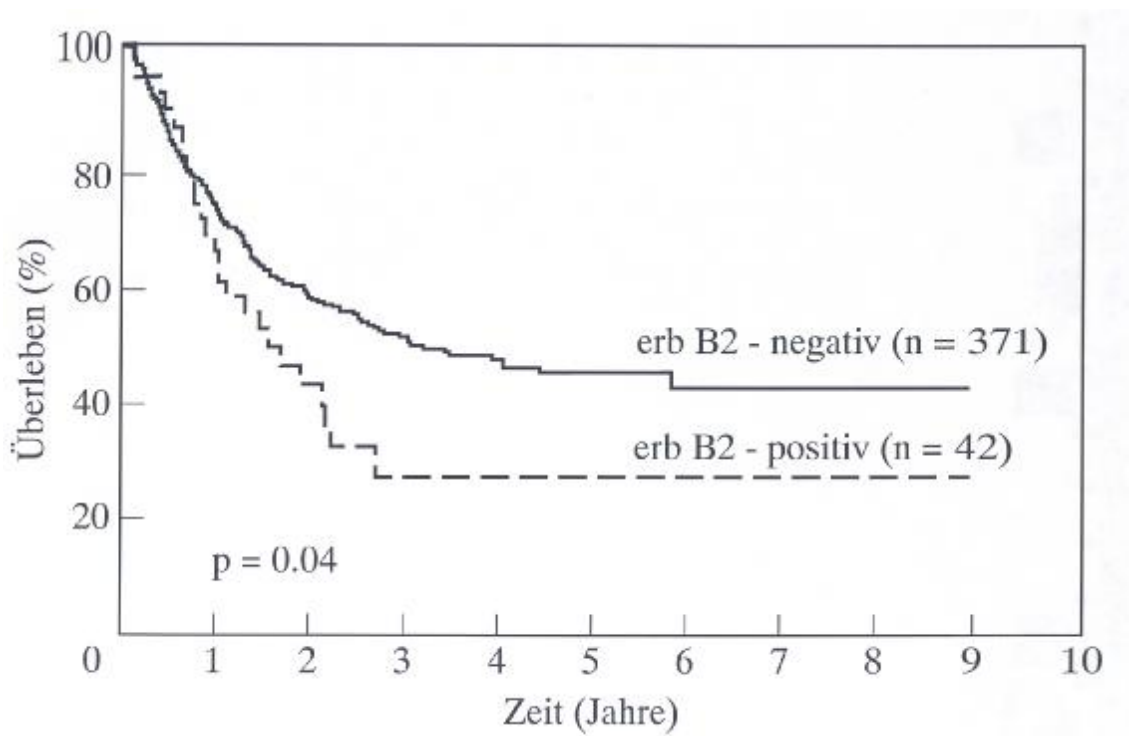


Abb. 11: Überlebenskurven von Magenkarzinompatienten mit erbB-2-positiven und erbB-2-negativen Tumoren (Log-rank-Test: $p < 0,04$).

3.1.4.5 Prognostischer Einfluß der Koexpression von EGF, TGF α und EGF-R

Eine gemeinsame Expression von EGF, TGF α und dem Rezeptor EGF-R war lediglich in 11 der 413 untersuchten Tumoren (2,7%) nachweisbar. Während jedoch noch 95 Tumoren (23,0%) EGF- oder TGF α -positiv waren bei gleichzeitigem Fehlen der EGF-R-Expression, zeigten nur 47 Tumoren (11,4%) eine Koexpression von EGF und TGF α bei gleichzeitiger Negativität für EGF-R. Beim Vergleich der Koexpression von Wachstumsfaktoren und gemeinsamen Rezeptor waren 239 Tumoren (57,9%) komplett negativ für EGF, TGF α und EGF-R. Ein signifikanter prognostischer Unterschied fand sich jedoch für keine dieser Gruppen. So betrugen die 5-Jahres-Überlebensraten der Tumoren, die komplett negativ waren für EGF, TGF α und EGF-R 46,4% im Vergleich zu 40,8% für Patienten, deren Tumoren eine Expression des epidermalen Wachstumsfaktors aufwiesen und/oder EGF- oder TGF α -positiv waren. Für eine statistische Analyse war eine weitere Unterteilung dieser Gruppe hinsichtlich der EGF-R-Expression wegen der geringen Fallzahlen in den Untergruppen nicht mehr möglich.

4 Diskussion

Die Expression von Wachstumsfaktoren und ihrer Rezeptoren wurde in den letzten Jahren bei einer Vielzahl humaner maligner Tumoren hinsichtlich ihres Einfluß auf die Tumorzellbiologie sowie einer möglichen prognostischen Bedeutung untersucht (Tab. 1 und 2). In der vorliegenden Untersuchung war die Expression des epidermalen Wachstumsfaktors (EGF) sowohl mit einer stärkeren Tumorzellproliferation als auch mit einer fortgeschrittenen Invasionstiefe der Tumoren korreliert. Dies bestätigt die bislang vorliegenden Untersuchungen an kleineren Tumorserien (Yonemura et al., 1989; Tahara et al., 1986). Während sich mit dem Nachweis der Blut- oder Lymphgefäßinvasion ebenfalls eine positive Korrelation mit der EGF-Expression nachweisen ließ, fand sich zum Lymphknotenbefall keine Beziehung.

Hinsichtlich der Tumorhistiologie zeigten drüsig gewachsene Tumoren vom Intestinaltyp bzw. papilläre und tubuläre Adenokarzinome hoch signifikant häufiger eine EGF-Expression. Auch hinsichtlich des Differenzierungsgrades fand sich signifikant häufiger eine EGF-Expression bei hoch bzw. mäßig differenzierten Tumoren. Diese Befunde bestätigen ebenfalls Ergebnisse früherer Untersuchungen an kleineren Tumorkollektiven (Müller und Borchard 1992; Nasim et al., 1992), und unterstützen experimentelle Untersuchungen, die auf eine Bedeutung der Wachstumsfaktoren für die Zelladhäsion hinweisen (Anklesaria et al., 1990).

Bezüglich der postoperativen Prognose scheint die Korrelation mit rascherer Wandinfiltration und häufigeren Gefäßeinbrüchen auf ein aggressiveres Wachstumsverhalten der Tumoren hinzuweisen. So ließ sich auch in der univariaten Analyse ein ungünstiger prognostischer Einfluß für die EGF-Expression nachweisen. Allerdings konnte dieser Einfluß in der multivariaten Analyse unter Einschluß der bekannten Prognoseparameter des pTNM-Systems und der Gefäßinvasion nicht verifiziert werden. Vergleicht man hierzu die übrigen zum Magenkarzinom vorliegenden Daten (Tab. 8), so findet sich auch dort univariat ein Einfluß auf die Prognose. Diese Befunde veranlaßten Tahara und Mitarbeiter (1986) zu der Hypothese, daß es sich bei der EGF-Expression beim Magenkarzinom um einen biologischen Marker handelt, der auf eine höhere Malignität der Tumoren hinweist. Allerdings wurde bei keiner dieser Untersuchungen eine multivariate

Analyse durchgeführt. Darüber hinaus konnte in einzelnen Arbeiten lediglich für eine Koexpression von EGF und EGF-R ein prognostischer Einfluß nachgewiesen werden (Yonemura et al., 1991b).

Für die TGF α -Expression konnte in der vorliegenden Untersuchung ebenfalls eine hochsignifikante Korrelation sowohl mit dem histologischen Typ gemäß der WHO- und der Laurén-Klassifikation als auch mit dem Grad der Differenzierung nachgewiesen werden, die wiederum als Hinweis auf eine Rolle der Wachstumsfaktoren bei der Zelladhäsion gewertet werden kann. Im Gegensatz dazu fand sich keine Korrelation mit den bekannten Prognoseparametern des TNM-Systems. Ein Einfluß auf die Prognose konnte in der vorliegenden Untersuchung für die TGF α -Expression nicht nachgewiesen werden. Dies bestätigt Ergebnisse einer früheren Untersuchung (Müller und Borchard 1991), während Yonemura und Mitarbeiter (1992) univariat einen ungünstigen prognostischen Einfluß der TGF α -Expression nachweisen konnten, eine multivariate Analyse wurde jedoch nicht durchgeführt.

Im Gegensatz zu EGF und TGF α war die Expression von EGF-R sowohl mit der Blut- und Lymphgefäßinvasion als auch mit zunehmender pT-Kategorie korreliert, jedoch nicht mit dem histologischen Tumortyp. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit den bislang vorliegenden Untersuchungen kleinerer Tumorserien (Yonemura et al., 1989, 1992; Hirono et al., 1995). Auch für die EGF-R-Expression ließ sich bereits in der univariaten Analyse ein Einfluß auf die Prognose nicht nachweisen. Dieser Befund wird auch durch andere Untersuchungen bestätigt (Müller et al., 1991; Lee et al., 1994; Hirono et al., 1995), während lediglich zwei ältere Untersuchungen an kleineren Tumorserien univariat eine prognostische Bedeutung für EGF-R nachweisen konnten (Yonemura et al., 1992; He et al., 1994). Kürzlich ist eine weitere Untersuchung erschienen, die für die EGF-R-Expression bei mexikanischen Magenkarzinompatienten zumindest in der univariaten Analyse eine ungünstige prognostische Bedeutung aufzeigen konnte (Gamboa-Dominguez et al., 2004). Allerdings wurden auch hier lediglich 89 Tumoren untersucht, die Mehrzahl davon weit fortgeschritten, teilweise lagen auch bereits Fernmetastasen oder eine sog. R1-Resektion, also keine vollständige operative Tumorentfernung, vor. Daher lässt sich ein prognostischer Einfluß eines untersuchten Parameters hier nur eingeschränkt beurteilen.

Mit Hinblick auf das Modell der sog. autokrinen Stimulation der Tumorzellen wäre ein aggressiveres Wachstum oder eine ungünstigere Prognose für diejenigen Tumoren zu erwarten, die eine gemeinsame Expression von Wachstumsfaktoren und entsprechendem Rezeptor aufweisen. In der vorliegenden Untersuchung an 413 Magenkarzinomen waren fast zwei Drittel der Tumoren (57,9%) komplett negativ sowohl für EGF, TGF α als auch für EGF-R. Im Gegensatz dazu konnte eine gemeinsame Expression von EGF, TGF α und EGF-R lediglich bei 11 Tumoren (2,7%) nachgewiesen werden, ohne daß sich signifikante Unterschiede in den 5-Jahres-Überlebensraten zu den Patienten mit negativen Tumoren fanden. Auch die verschiedenen Untergruppen mit Expression von EGF oder TGF α bei gleichzeitigem Nachweis oder gleichzeitigem Fehlen der EGF-R-Expression zeigten keine Unterschiede in den postoperativen Überlebenszeiten. Da jedoch insgesamt nur bei ca. 10% der 413 untersuchten Tumoren eine EGF-R-Expression nachweisbar war, ließ sich eine statistisch sinnvolle separate Analyse sowohl hinsichtlich der pT- und der pN-Kategorie als auch der Laurén-Klassifikation wegen der geringen Fallzahlen in den Untergruppen nicht durchführen. Von den wenigen vergleichbaren Untersuchungen zum Magenkarzinom an kleineren Tumorserien konnte lediglich von Yonemura (1991) univariat ein ungünstiger Einfluß der Koexpression von EGF und EGF-R auf die Prognose gezeigt werden. Allerdings muß in diesem Zusammenhang auch darauf hingewiesen werden, daß diese Untersuchungen, die den Großteil der bislang zu dieser Problematik erscheinenden Literatur beim Magenkarzinom ausmachen, in weiten Teilen an identischen Tumorserien mehrfach publiziert wurden (Yonemura et al., 1989; 1991b; 1992; 1995).

Zusammenfassend konnten in der vorliegenden Untersuchung bei 413 Magenkarzinomen keine Hinweise auf einen Wachstumsvorteil der Tumorzellen durch eine Expression von EGF, TGF α und EGF-R gefunden werden. Eine Koexpression von Wachstumsfaktoren und ihrer Rezeptoren im Sinne einer autokrinen Stimulation scheint beim Magenkarzinom keine Rolle für die Tumorprogression zu spielen. Darüber hinaus läßt sich festhalten, daß nach den vorliegenden Ergebnissen der Nachweis einer Expression bestimmter Wachstumsfaktoren wie EGF und TGF α oder deren Rezeptor EGF-R beim Magenkarzinom keine prognostische Bedeutung hat.

Tabelle 8: Prognostische Bedeutung der Expression von Wachstumsfaktoren und Rezeptoren beim Magenkarzinom

Literatur	[n]	Prognostische Bedeutung	
		univariat	multivariat
EGF			
Tahara et al., 1986	81	+ ¹	n.u.
Yonemura et al., 1991	157	+	n.u.
Müller et al., 1991	120	—	—
He et al., 1994	104	+	n.u.
vorliegende Untersuchung	413	+	-
TGF α			
Müller et al., 1991	120	—	—
Yonemura et al., 1992	167	+	n.u.
vorliegende Untersuchung	413	-	-
EGF-R			
Yonemura et al., 1992	167	+	n.u.
Müller et al., 1991	120	—	—
He et al., 1994	104	+	n.u.
Lee et al., 1994	56	—	n.u.
Hirono et al., 1995	103	—	n.u.
Sanz-Ortega et al., 2000	143	—	—
Garcia et al., 2003	63	—	n.u.
Gamboa-Dominguez et al., 2004	89	+	—
vorliegende Untersuchung	413	-	-

n.u.: nicht untersucht; ¹nur Stadium III und IV;

Das Onkogen erbB-2 kodiert eine trunkierte Form des EGF-Rezeptors, ohne daß bereits ein spezifischer Ligand gefunden werden konnte. Insbesondere beim Mammakarzinom scheint ein ungünstiger prognostischer Einfluß für die erbB-2-Expression gesichert zu sein (für einen ausführlichen Literaturüberblick vgl. hierzu auch Revillion et al., 1998; Ross und Fletcher 1999). Darüber hinaus hat in jüngster Zeit beim Mammakarzinom der Nachweis der erbB-2-Expression auch therapeutische Konsequenzen erlangt, da Antikörper gegen das erbB-2-Protein (Herzeptin; Fa. Dako) in die Therapie des fortgeschritten metastasierten Mammakarzinoms eingeführt wurden.

Hinsichtlich der erbB-2-Expression in Magenkarzinomen liegen verschiedene Untersuchungen vor, deren Ergebnisse jedoch nur zum Teil miteinander vergleichbar sind. So variiert der Prozentsatz der Magenkarzinome mit erbB-2-Expression zwischen 9% und 14% (Hilton und West 1992; Mizutani et al., 1993; Jain et al., 1991, Yonemura et al., 1991c, d) über 25% bis hin zu 38% der untersuchten Tumoren (Lee et al., 1994; Jaehne et al., 1992b; Ohguri et al., 1993). In der vorliegenden Arbeit konnte bei deutlicher intra- und intertumoraler Heterogenität in 42 der 413 untersuchten Magenkarzinome (11,6%) eine membranöse erbB-2-Expression nachgewiesen werden. Diese unterschiedliche erbB-2-Expression in verschiedenen Tumorserien ist am ehesten auf die Verwendung unterschiedlicher Antikörper und die Interpretation der Färbeergebnisse zurückzuführen (Kay et al., 1994). So ist schon seit längerem bekannt, daß verschiedene Antikörper abhängig von der Fixierung des Gewebes und der Vorbehandlung der Schnitte unterschiedliche Färbeergebnisse erzielen. Der in der vorliegenden Untersuchung verwendete Antikörper CB11, der auch als einer der beiden Antikörper des amerikanischen Clinical Trial Assay als Referenzantikörper für den im HercepTest der Firma Dako verwendeten polyklonalen Herceptin-Antikörper diente, hat sich diesbezüglich in mehreren Vergleichsarbeiten als ein besonders zuverlässiger Antikörper für den membranösen Nachweis der erbB-2-Expression herausgestellt (Singleton et al., 1992; Penault-Llorca et al., 1994).

Korreliert man die Ergebnisse mit der Tumorhistologie, so waren drüsig gewachsene Tumoren vom Intestinaltyp nach Laurén und papilläre und tubuläre Adenokarzinome gemäß der WHO-Klassifikation hochsignifikant häufiger erbB-2-positiv als diffuse oder siegelringzellige Karzinome. Diese Präferenz des intestinalen Typs der Laurén-Klassifikation wird ebenfalls in anderen Arbeiten aus der Literatur bestätigt, die im wesentlichen nur in einzelnen diffusen Karzinomen eine erbB-2-Expression nachweisen konnten (Jain et al., 1991; Hilton und West 1992; Mizutani et al., 1993; Jaehne et al., 1992), und könnte auf eine unterschiedliche Rolle des erbB-2-Onkogens bei der Tumorentwicklung dieser histogenetisch unterschiedlichen Tumortypen hinweisen.

Hinsichtlich der bekannten Prognoseparameter des pTNM-Systems und der Blut- und Lymphgefäßinvasion konnten wir in der vorliegenden Untersuchung keine Korrelation mit der erbB-2-Expression nachweisen. Obwohl diese Befunde von anderen Arbeiten bestätigt werden (Ohguri et al., 1993; Jain et al., 1991), liegen auch einzelne Unter-

suchungen vor, die eine Korrelation der erbB-2-Expression mit der Serosainfiltration und Peritonealkarzinose bzw. dem Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen fanden (Mizutani et al., 1993; Yonemura et al., 1991; Jaehne et al., 1992).

Bezüglich der prognostischen Bedeutung konnten in der vorliegenden Untersuchung univariat signifikant kürzere Überlebenszeiten für Patienten mit erbB-2-positiven Tumoren nachgewiesen werden. In der multivariaten Analyse unter Einschluß der bekannten Prognoseparameter des pTNM-Systems und der Blut- und Lymphgefäßinvasion ließ sich dieser prognostische Einfluß allerdings nicht bestätigen. Die in der Literatur bislang zum Magenkarzinom vorliegenden Ergebnisse anderer Untersuchungen sind hierzu außerordentlich widersprüchlich. Während einzelne Autoren auch an größeren Tumorserien bereits in der univariaten Analyse keinen prognostischen Einfluß der erbB-2-Expression nachweisen konnten, ließ sich in zahlreichen Untersuchungen ebenfalls an größeren Tumorserien ein ungünstiger Einfluß auf die Prognose zeigen (Tab. 9).

Noch deutlicher werden die Widersprüche beim Vergleich der bislang vorliegenden multivariaten Analysen (Tab. 9). Bislang liegen hierzu nur drei Arbeiten vor, die einen prognostischen Einfluß auch multivariat bestätigen konnten. Während jedoch in einer Untersuchung an 189 Tumoren einmal ein ungünstiger Einfluß der erbB-2-Expression nachgewiesen werden konnte (Yonemura et al., 1991), fand sich in einer anderen Untersuchung an 93 Tumoren ein günstiger prognostischer Einfluß (Jain et al., 1991). Darüber hinaus liegt lediglich eine weitere Untersuchung an 139 kurativ resezierten Magenkarzinomen vor, in der die Autoren die erbB-2-Expression auch multivariat bestäätigen konnten (Allgayer et al., 2000). Allerdings betrug der Wert der Irrtumswahrscheinlichkeit p lediglich 0,049 mit einem Konfidenzintervall beginnend bei 1,08, so dass hier mehr von einem statistischen Trend gesprochen werden sollte. Darüber hinaus waren in der genannten Untersuchung lediglich 15 Tumoren (10,8%) komplett negativ für erbB2, 53 Tumoren (38,1%) zeigten eine Expression in weniger als 30% der Tumorzellen während 81 der untersuchten Magenkarzinome (58,3%) eine mittlere oder starke Expression in mehr als 30% der Tumorzellen aufwiesen.

Tabelle 9: Prognostische Bedeutung der erbB-2-Expression beim Magenkarzinom

Literatur	[n]	Prognostische Bedeutung	
		univariat	multivariat
Yonemura et al., 1991	189	+ (↓)	+ (↓)
Jain et al., 1991	93	+ (↑)	+ (↑)
Hilton et al., 1992	87	–	n.u.
Jaehne et al., 1992	48	– ¹	–
Noguchi et al., 1993	89	–	–
Mizutani et al., 1993	90	+ (↓) ²	n.u.
Ohguri et al., 1993	136	–	–
Uchino et al., 1993	108	+ (↓)	n.u.
Kim et al., 1994	104 ³	–	n.u.
Lee et al., 1996	225	–	n.u.
Webb et al., 1996	160	–	n.u.
Shun et al., 1997	112	+ (↓)	n.u.
Yonemura et al., 1998	157 ⁴	+ (↓)	n.u.
Gurel et al., 1999	55	–	n.u.
Nakajima et al., 1999	128	+ (↓)	–
Daneri et al., 2000	137	–	–
Sanz-Ortega et al., 2000	143	–	–
Allgayer et al., 2000	139	+ (↓)	+ (↓)
Oshima et al., 2001	82	–	n.u.
Pinto-de-Sousa et al., 2002	157	+ (↓)	n.u.
Lee et al., 2003	329	–	–
Garcia et al., 2003	63	+ (↓)	n.u.
vorliegende Untersuchung	413	+ (–)	-

n.u.: nicht untersucht; (↑): bessere Prognose; (↓): schlechtere Prognose; ¹nur im Stadium III u. IV (n=20): + (↓); ²nur bei Frühkarzinomen; ³nur Stadium-III-Tumoren; ⁴nur “poorly differentiated”-Tumoren;

In der vorliegenden Untersuchung an 413 Magenkarzinomen konnte in der multivariaten Analyse keine prognostische Bedeutung der erbB-2-Expression nachgewiesen werden. Als Ursache für diese unterschiedlichen Ergebnisse muß in erster Linie die Verwendung verschiedener polyklonaler Antikörper in den beiden erstgenannten Untersuchungen (Yonemura et al., 1991; Jain et al., 1991) diskutiert werden. Darüber hinaus wurde in diesen Untersuchungen teilweise auch nicht zwischen membranöser und zytoplasmatischer Expression der Tumorzellen unterschieden. Letzteres gilt auch für die Untersuchung von Allgayer et al. (2000), bei der ein monoklonaler Antikörper (3B5) verwendet wurde, für den eine geringere Spezifität im Vergleich zu dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten Antikörper CB11 gezeigt werden konnte (Singleton et al., 1992; Penault-Llorca et al., 1994). Diese Unterschiede in der Spezifität könnten auch einer der Gründe für den hohen Anteil (90%) erbB-2-positiver Tumoren in der Arbeit von Allgayer und Mitarbeitern (2000) sein, wobei sich in jener Untersuchung auch keine prognostischen Unterschiede nachweisen ließen zwischen Tumoren mit geringer oder fehlender erbB-2-Expression. Daher können diese Untersuchungen mit Blick auf eine mögliche prognostische Bedeutung der erbB-2-Expression allenfalls nur sehr bedingt miteinander verglichen werden. Allerdings muß gerade im Hinblick auf die kürzlich bei Mammakarzinomen eingeführte erbB-2-Antikörpertherapie auch beim Magenkarzinom ein standardisierter immunhistochemischer Nachweis der erbB-2-Expression, ähnlich dem HercepTest beim Mammakarzinom, gefordert werden.

Zusammenfassend läßt sich nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung festhalten, daß die erbB-2-Expression beim Magenkarzinom hochsignifikant mit dem Intestinaltyp nach Laurén bzw. mit dem papillären oder tubulären Typ gemäß der WHO-Klassifikation assoziiert ist. Diese Präferenz des intestinalen Typs der Laurén-Klassifikation, die auch in anderen Arbeiten aus der Literatur bestätigt wird, könnte möglicherweise auf eine unterschiedliche Rolle des erbB-2-Onkogens bei der Tumorentwicklung dieser histogenetisch unterschiedlichen Tumortypen hinweisen. Insgesamt stellt die immunhistochemisch nachweisbare Expression von erbB-2 beim Magenkarzinom jedoch ein eher seltenes Ereignis dar, das auch schon in frühen Tumorstadien bzw. Frühkarzinomen nachgewiesen werden kann. Vor dem Hintergrund dieser insgesamt nur geringen Rate erbB-2-positiver Tumoren, bei denen überwiegend auch nur eine Minderzahl der Tumorzellen eine erbB-2-Expression zeigt, erscheint die Wirksam-

keit einer möglichen Antikörpertherapie gegen das erbB-2-Protein, wie sie Eingang in die Chemotherapie des Mammakarzinoms gefunden hat, zumindest fraglich.

Darüber hinaus scheint nach den vorliegenden Ergebnissen, der erbB-2-Expression bei Magenkarzinompatienten keine Bedeutung als zusätzlicher Prognoseparameter zum TNM-System zuzukommen.

5 Zusammenfassung

Die Beurteilung der Prognose von Magenkarzinompatienten erfolgt heute allgemein anerkannt auf der Basis des TNM-Systems unter Einbeziehung des R-Status. Allerdings hat nicht jeder Patient eines bestimmten Tumorstadiums tatsächlich auch die gleiche Chance zu überleben. Dies hat zu einer Vielzahl von Ansätzen geführt, zusätzliche Prognosefaktoren zu etablieren, jeweils mit dem Ziel, sowohl eine zunehmend präzisere und individuellere Prognoseabschätzung zu erreichen als auch Hochrisikopatienten zu identifizieren, die von neuen adjuvanten Therapieansätzen profitieren könnten.

Wesentliches Ziel der vorliegenden Untersuchung war es daher an einer Serie von 418 kurativ resezierten Magenkarzinomen verschiedene molekulare Parameter hinsichtlich ihrer prognostischen Bedeutung zu untersuchen und in einer multivariaten Analyse mit den etablierten Prognoseparametern des TNM-Systems unter Einschluß der Blut- und Lymphgefäßinvasion zu vergleichen.

In der vorliegenden Arbeit war für alle untersuchten Faktoren (EGF, TGF α , EGF-R, erbB-2) jeweils eine ausgeprägte inter- und intratumorale Heterogenität der Expression nachweisbar. So waren 21,5% der Tumoren positiv für EGF und 37% positiv für TGF α , jedoch nur bei 8,5% ließ sich eine Expression von EGF-R nachweisen. Eine erbB-2-Expression wiesen ebenfalls lediglich 10,2% der Tumoren auf. Hinsichtlich der Korrelation mit histopathologischen Parametern waren EGF und TGF α signifikant sowohl mit einem drüsigen Wachstumsmuster und hohem Differenzierungsgrad als auch mit fortgeschrittener Wandinfiltration der Tumoren und einer Gefäßinvasion korreliert. Keine Korrelation fand sich mit dem Nachweis einer Lymphknotenmetastasierung. Die EGF-R-Expression war lediglich mit dem Nachweis einer Gefäßinvasion assoziiert, nicht jedoch mit den übrigen histopathologischen Parametern. Auch die Expression von erbB-2 war hochsignifikant korreliert mit einem drüsigen Wachstumsmuster während sich mit den anderen untersuchten histopathologischen Parametern keine Korrelation nachweisen ließ. Hinsichtlich der Proliferationsaktivität fand sich für alle vier untersuchten molekularen Marker eine Assoziation der Expression mit einer hohen Proliferationsaktivität der Tumoren. Diese erreichte jedoch lediglich für EGF statistische Signifikanz. Eine gemeinsame Expression von EGF, TGF α und EGF-R fand

sich nur bei 11 Tumoren (2,7%), eine gemeinsame Expression einer der beiden Wachstumsfaktoren EGF oder TGF α und des Rezeptors EGF-R lediglich bei 47 Tumoren (11,4%), so daß dem Phänomen einer autokrinen Wachstumsstimulation der Tumorzellen beim Magenkarzinom, wenn überhaupt, nur eine untergeordnete Bedeutung für das Fortschreiten und die Prognose der Tumoren zuzukommen scheint.

Bezüglich der Prognose ließ sich sowohl für die EGF- als auch für die erbB-2-Expression in der univariaten Analyse ein ungünstiger prognostischer Einfluß nachweisen, der in der multivariaten Analyse unter Einschluß der etablierten Prognosefaktoren des pTNM-Systems und der Gefäßinvasion jedoch nicht mehr verifiziert werden konnte.

Zusammenfassend läßt sich nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung festhalten, daß die erbB-2-Expression ebenso wie die Expression von Wachstumsfaktoren beim Magenkarzinom hochsignifikant mit dem Intestinaltyp nach Laurén bzw. mit dem papillären oder tubulären Typ gemäß der WHO-Klassifikation assoziiert ist. Diese Präferenz des intestinalen Typs der Laurén-Klassifikation könnte auf eine unterschiedliche Rolle des erbB-2-Onkogens bei der Tumorentwicklung dieser unterschiedlichen Tumortypen hinweisen. Insgesamt stellt die immunhistochemisch nachweisbare Expression von erbB-2 beim Magenkarzinom jedoch ein eher seltenes Ereignis dar.

Darüber hinaus scheint nach den vorliegenden Ergebnissen, weder der erbB-2-Expression noch der von EGF, TGF α oder EGF-R bei Magenkarzinompatienten eine Bedeutung als zusätzlicher Prognoseparameter zum TNM-System zuzukommen.

6 Literaturverzeichnis

- Allgayer H., Babic R., Gruetzner K.U., Tarabichi A., Schildberg F.W., Heiss M.M. (2000). C-erbB2-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with the expression of tumor-associated protease systems. *J. Clin. Oncol.*, 18: 2201-2209.
- Anklesaria P., Teixido J., Laiho M., Pierce J.H., Greenberger J.S., Massague J. (1990). Cell-cell adhesion mediated by binding of membrane-anchored transforming growth factor alpha to epidermal growth factor receptors promotes cell proliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87: 3289-3293.
- Baba H., Korenaga D., Okamura T., Saito A., Sugiamchi K. (1989). Prognostic factors in gastric cancer with serosal invasion. Univariate and multivariate analyses. *Arch. Surg.*, 124: 1061-1064.
- Barber H.R.K., Sommers S.C., Rotterdam H., Kwon T. (1978). Vascular invasion as a prognostic factor in stage IB cancer of the cervix. *Obstetr. Gynecol.*, 52: 343-348.
- Barnes D.M., Dammie G.A., Millis R.R., Gullick W.L., Allen D.S., Altman D.G. (1988). An immunohistochemical evaluation of c-erbB-2 expression in human breast carcinoma. *Br. J. Cancer*, 58: 448-452.
- Bebok Z., Markus B., Nemeth P. (1994). Prognostic relevance of transforming growth factor alpha (TGF-alpha) and tumor necrosis factor alpha /TNF-alpha) detected in breast cancer tissues by immunohistochemistry. *Breast Cancer Res. Treat.*, 29: 229-235.
- Becker N., Wahrendorf J. (1997). Atlas of cancer mortality in the federal republic of Germany (1981-1990) Third Edition. Springer Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
- Becker N., Korfmann A. (1998). Magenkrebs. Neue Erkenntnisse in der Epidemiologie und Ursachenforschung. *Onkologie*, 4: 332-339.
- Bhatavdekar J.M., Patel D.D., Karelia N.H., Vora H.H., Ghosh N., Shah N.G., Balar D.B., Trivedi S.N. (1994). Tumor markers in patients with advanced breast cancer as prognosticators: preliminary study. *Breast Cancer Res. Treat.*, 30: 293-297.
- Böttcher K., Becker Kl., Bush R., Roder J.D., Siewert J.R. (1992). Prognosefaktoren beim Magenkarzinom: Ergebnisse einer uni- und multivariaten Analyse. *Chir.*, 63: 656-661.
- Bozzetti F., Bonfanti G., Morabito A., Bufalino R., Menotti V., Andreola S., Doci R., Gennari L. (1986). A multifactorial approach for the prognosis of patients with carcinoma of the stomach after curative resection. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 162: 229-234.

Bravo R., Burkhardt J., Curran T., Müller R. (1985). Stimulation and inhibition of growth by EGF in different A431 cell clones is accompanied by rapid induction of c-fos and c-myc proto-oncogenes. *EMBO J.*, 4: 1193-1197.

Carpenter G., Cohnen S. (1975). Human epidermal growth factor and the proliferation of human fibroblasts. *J. Cell. Physiol.*, 88: 227-238.

Chapuis P.H., Dent O.F., Fisher R., Newland R.C., Pheils M.T., Smyth E. (1985). A multivariate analysis of clinical and pathological variables in prognosis after resection of large bowel cancer. *Br. J. Surg.*, 72: 698-702.

Cohen S. (1962). Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J. Biol. Chem.*, 237: 1555-1562.

Connelly P.A., Stern D.F. (1990). The epidermal growth factor receptor and the product of the neu protooncogene are members of a receptor tyrosine phosphorylation cascade. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87: 6054-6067.

Coussens L., Yang-Feng T.L., Liaou Y.-C., Chen E., Gray A., McGrath J., Seeburg P.H., Libermann T.A., Schlessinger J., Francke U., Levinson A., Ullrich A. (1985). Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science*, 230: 1132-1139.

Danesi D.T., Spano M., Fabiano A., Altavista P., Pasqualetti P., Toscano M.G., Antonini F., Catalano P., Mecozzi A., Picconi A., Daffina A., Cucchiara G. (2000). Flow cytometric DNA ploidy, p53, PCNA, and c-erbB-2 protein expressions as predictors of survival in surgically resected gastric cancer patients. *Cytometry*, 42: 27-34.

Dazzi H., Hasleton P.S., Thatcher N., Barnes D.M., Wilkes S., Swindell R., Lawson R.A. (1989). Expression of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in non-small cell lung cancer. Use of archival tissue and correlation of EGF-R with histology, tumor size, node status and survival. *Br. J. Cancer*, 59: 746-749.

Derynck R. (1988). Transforming growth factor alpha. *Cell*, 54: 593-95.

Fakharzadeh S., Trusko S., George D. (1991). Tumorigenic potential associated with enhanced expression of a gene that is amplified in a mouse tumor cell line. *EMBO J.*, 10: 1565-1569.

Fukushige S.-I., Matsubara K.-I., Yoshida M., Sasaki M., Suzuki T., Semba K., Toyoshima K., Yamamoto T. (1986). Localisation of a novel v-erbB-related gene, c-erbB-2, on human chromosome 17 and its amplification in a gastric cancer cell line. *Mol. Cell. Biol.*, 6: 955-958.

- Gabbert H.E., Meier S., Gerharz C.D., Hommel G. (1991). Incidence and prognostic significance of vascular invasion in 529 gastric cancer patients. *Int. J. Cancer*, 49: 203-207.
- Gabbert H.E., Meier S., Gerharz C.D., Hommel G. (1992). Tumor-cell dissociation at the invasion front: a new prognostic parameter in gastric cancer patients. *Int. J. Cancer*, 50: 202-207.
- Gamboa-Dominguez A., Dominguez-Fonseca C., Quintanilla-Martinez L., Reyes-Gutierrez E., Green D., Angeles.Angeles A., Busch R., Hermannstädter C., Nährig J., Becker K.F., Becker I., Höfler H., Fend F., Luber B. (2004). Epidermal growth factor receptor expression correlates with poor survival in gastric adenocarcinomas from mexican patients: a multivariate analysis using a standardized immunohistochemical detection system. *Mod. Pathol.*, 17: 579-587.
- Garcia I., Vizoso F., Martin A., Sanz I., Abdel-Lah O., Garcia-Muniz J.L. (2003). Clinical significance of the epidermal growth factor receptor and HER2 receptor in resectable gastric cancer. *Ann. Surg. Oncol.*, 10: 234-241.
- Gasparini G., Bevilacqua P., Pozza F., Meli S., Boracchi P., Marubini E., Sainsbury J.R. (1992). Value of epidermal growth factor receptor status compared with growth fraction and other factors for prognosis in early breast cancer. *Br. J. Cancer*, 66: 970-976.
- Geiser A.G., Burmester J.K., Webbink R., Roberts A.B., Sporn M.B. (1992). Inhibition of growth by transforming growth factor- β following fusion of two nonresponsive human carcinoma cell lines. *J. Biol. Chem.*, 267: 2588-2593.
- Goustin A.S., Leof E.B., Shipley G.D., Moses H.L. (1986). Growth factors and cancer. *Cancer Res.*, 46: 1015-1029.
- Grund Th. W., Huber H. (1994). The Family of c-erbB Genes: From basic research to clinical oncology. *Onkologie*, 17: 346-357.
- Guerin M., Barrois M., Terrier M.J., Spielmann M., Riou G. (1988). Overexpression of either c-myc or c-erbB-2/neu proto-oncogenes in human breast carcinomas: correlation with poor prognosis. *Oncogene Res.*, 3: 21-31.
- Gurel S., Dolar E., Yerci O., Samli B., Ozturk H., Nak S.G., Gulten M., Memik F. (1999). The relationship between c-erbB-2 oncogene expression and clinicopathological factors in gastric cancer. *J. Int. Med. Res.*, 27: 74-78.
- Haerslev, T., Krag Jacobsen G. (1995). An immunohistochemical study of p53 with correlations to histopathological parameters, c-erbB-2. proliferating cell nuclear antigen and Prognosis. *Hum. Pathol.*, 26: 295-301.
- Hamazaki M., Noguchi A., Furutani S., Motoyama Y., Nakamura N. (1974). A study on vascular invasion in advanced gastric carcinoma. *Jap. J. Cancer Clin.*, 20: 311-316.

Han S., Yun I.J., Noh D.Y., Choe K.J., Song S.Y., Chi J.G. (1997). Abnormal expression of four novel molecular markers represents a highly aggressive phenotype in breast cancer. Immunohistochemical assay of p53, nm23, erbB-2 and cathepsin D protein. *J. Surg. Oncol.*, 65: 22-27.

Hanson M.B., van Nagell J.R., Powell D.E., Donaldson E.S., Gallion H., Merhige M., Pawlik E.J. (1985). The prognostic significance of lymph-vascular space invasion in stage-I endometrial cancer. *Cancer*, 55: 1753-1757.

Hemming A.W., Davis N.L., Kluftinger A., Robinson B., Quenville N.F., Liseman B., LeRiche J. (1992). Prognostic markers of colorectal cancer: an evaluation of DNA content, epidermal growth factor receptor, and Ki-67. *J. Surg. Oncol.*, 51: 147-152.

Hilton D.A., West K.P. (1992). c-erbB-2 oncogene product expression and prognosis in gastric carcinoma. *J. Clin. Pathol.*, 45: 454-456.

Hirono Y., Tsugawa K., Fushida S., Ninimiya I., Yonemura Y., Miyazaki I., Endou Y., Tanaka M., Sasaki T. (1995). Amplification of epidermal growth factor receptor gene and its relationship to survival in human gastric cancer. *Oncology*, 52: 182-188.

Iihara K., Shiozaki H., Tahara H., Kobayashi K., Inoue M., Tamura S., Miyata M., Oka H., Doki Y., Mori T. (1993). Prognostic significance of transforming growth factor- α in human esophageal carcinoma. Implication for the autocrine proliferation. *Cancer*, 71: 2902-2909.

Itakura Y., Sasano H., Shiga C., Furukawa Y., Shiga K., Mori S., Nagura H. (1994). Epidermal growth factor receptor overexpression in esophageal carcinoma. an immunohistochemical study correlated with clinicopathologic findings and DNA amplification. *Cancer*, 74: 795-804.

Jaehne J., Meyer H.J., Maschek H., Geerlings H., Bruns E., Pichlmayr R. (1992a). Lymphadenectomy in gastric carcinoma: a prospective and prognostic study. *Arch. Surg.*, 127: 290-294.

Jaehne J., Urmacher C., Thaler H.T., Friedlander-Klar H., Cordon-Cardo C., Meyer H.J. (1992b). Expression of Her2/neu oncogene product p185 in correlation to clinicopathological and prognostic factors of gastric carcinoma. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 118: 474-479.

Jain S., Filipe M.I., Gullick W.J., Linehan J., Morris R.W. (1991). c-erbB2 proto-oncogene expression and its relationship to survival in gastric carcinoma: an immunohistochemical study on archival material. *Int. J. Cancer*, 48: 668-671.

Jong de J.S., van Diest P.J., van der Valk P., Baak J.P.A. (1998a). Expression of growth factors, growth inhibiting factors and their receptors in invasive breast cancer. I: an inventory in search of autocrine and paracrine loops. *J. Pathol.*, 184: 44-52.

Jong de J.S., van Diest P.J., van der Valk P., Baak J.P.A. (1998b). Expression of growth factors, growth inhibiting factors and their receptors in invasive breast cancer. II: Correlations with proliferation and angiogenesis. *J. Pathol.*, 184: 53-57.

Jounneau J., Gavrilovic J., Carnelle D., Jaye M., Moens G., Carnelle J.P., Thiery J.P. (1991). Secreted and non-secreted forms of acidic fibroblast growth factor produced by transfected epithelial cells influence cell morphology, motility and invasive potential. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88: 2893-2897.

Kalbfleisch J.D., Prentice R.L. (1980). The statistical analysis of failure data. Wiley, New York.

Kaplan E.L., Meier P. (1958). Nonparametric estimation from incomplete observations. *J. Am. Stat. Assoc.*, 53: 457-481.

Kay E.W., Walsh C.J.B., Cassidy M., Curran B., Leader M. (1994). c-erbB-2 immunostaining: problems with interpretation. *J. Clin. Pathol.*, 47: 816-822.

Khalifa M.A., Mannel R.S., Haraway S.D. Walker J., Min K.W. (1994). Expression of EGFR, HER-2/neu, p53 and PCNA in endometrioid, serous papillary and clear cell endometrial adenocarcinomas. *Gynecol. Oncol.*, 53: 84-92.

King C.R., Draus M.H., Aaronson S.A. (1985). Amplification of a novel v-erbB-related gene in a human mammary carcinoma. *Science*, 229: 974-976.

Klijn J.G., Look M.P., Portengen H., Alexieva-Figusch J., van Putten W.L., Foekens J.A. (1994). The prognostic value of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in primar breast cancer results of a 10 year follow-up study. *Breast Cancer Res. Treat.*, 29: 73-83.

Korenaga D., Ueo H., Mochida K., Kusumoto T., Baba H., Tamura S., Moriguchi S., Sugimachi K. (1991). Prognostic factors in japanese patients with colorectal cancer: The significance of large bowel obstruction-Univariate and multivariate analyses. *J.Surg. Oncol.*, 47: 188-192.

Laurén P. (1965). The two histological main types of gastric carcinomas: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.*, 64: 31-49.

Lazzareschi D., Ranieri A., Mincione G., Taccogna S., Nardi F., Colleta G. (1997). Human malignant thyroid tumors displayed reduced levels of transforming growth factor β receptor type II messenger RNA and protein. *Cancer Res.*, 57: 2071-2076.

Lee A.K.C., DeLellis R.A., Silverman M.L., Wolfe H.J. (1990). Prognostic significance of peritumoral lymphatic and blood vessel invasion in node-negative carcinoma of the breast. *J. Clin. Oncol.*, 8: 1457-1465.

- Lee E.Y., Cibull M.L., Strodel W.E., Haley J.V. (1994). Expression of HER-2/neu oncoprotein and epidermal growth factor receptor and prognosis in gastric carcinoma. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 118: 235-239.
- Lee H.S., Lee H.K., Kim H.S., Yang H.K., Kim W.H. (2003). Tumour suppressor gene expression correlates with gastric cancer prognosis. *J. Pathol.*, 200: 39-46.
- Lipponen P.K., Eskelinen M. (1994). Expression of epidermal growth factor receptor in bladder cancer as relate to established prognostic factors, oncoprotein (c-erbB-2, p53) expression and long-term prognosis. *Br. J. Cancer*, 69: 1120-1125.
- Lukes A., Kohler M.F., Pieper C.F., Kerns B.J., Bentley R., Rodriguez G.C., Soper J.T., Clark-Pearson D.L., Bast Jr. R., Berchuck A. (1994). Multivariable Analysis of DNA ploidy, p53 and HER-2/neu as prognostic factors in endometrial cancer. *Cancer*, 79: 2380-2385.
- MacKinnon M., Kerr K.M., King G., Kennedy M.M., Cockburn J.S., Jeffrey R.R. (1997). p53, c-erbB-2 and nm23 expression have no prognostic significance in primary pulmonary adenocarcinoma. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*, 11: 838-842.
- Maruyama K. (1987). The most important prognostic factors for gastric cancer patients: a study using univariate and multivariate analyses. *Scand. J. Gastroenterol*, 22 (Suppl. 133): 63-68.
- Marquard H., Hunkapiller M.W., Hood L.E., Twardzik D.R., DeLarco J.E., Stephanson J.R., Todaro G.J. (1983). Transforming growth factors produced by retrovirus-transformed rodent fibroblasts and human melanoma cells: amino acid sequence homology with epidermal growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 80: 4684-4688.
- Marquard H., Hunkapiller M.W., Hood L.E., Todaro G.J. (1984). Rat transforming growth factor type 1: structure and relation to epidermal growth factor. *Science*, 223: 1079-1082.
- Mayer A., Takimoto M., Fritz E., Schellander G., Kofler K., Ludwig H. (1993). The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen, epidermal growth factor receptor, and mdm gene expression in colorectal cancer. *Cancer*, 71: 2454-2460.
- Minsky B.D., Mies C., Recht A., Rich T.A., Chaffey J.T. (1988). Resectable adenocarcinoma of the rectosigmoid and rectum. II. The influence of blood-vessel invasion. *Cancer*, 61: 1417-1424.
- Mizutani T., Onda M., Tokunaga A., Yamanaka N., Sugisaki Y. (1993). Relationship of c-erbB-2 protein expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer. *Cancer*, 72: 2083-2088.

- Msika S., Chastang C., Houry S., Lacaine F., Huguier M. (1989). Lymph node involvement as the only prognostic factor in curative resected gastric carcinoma: a multivariate analysis. *World J. Surg.*, 13: 118-123.
- Mukaida H., Toi M., Hirai T., Yamashita Y., Toge T. (1991). Clinical significance of the expression of epidermal growth factor and its receptor in esophageal cancer. *Cancer* 68: 142-148.
- Müller R., Bravo R., Burckhardt J., Curran T. (1984). Induction of c-fos gene and protein by growth factors precedes activation of c-myc. *Nature*, 312: 716-720.
- Müller, W., Borchard F. (1992). Expression of transforming growth factor- α in gastric carcinoma and normal gastric mucosa cells. *Cancer*, 69: 2871-2875.
- Müller W., Schneiders A., Meier S., Hommel G., Gabbert H.E. (1996). Immunohistochemical study on the prognostic value of MIB-1 in gastric carcinoma. *Br. J. Cancer*, 74: 759-765.
- Nagao K., Matsuzaki O., Shigematsu H., Ide G., Onoda S., Sato S., Morohashi Y., Yoshizawa H. (1975). A clinicopathological study on anaplastic gastric carcinomas with special reference to vascular changes. *Jap. J. Cancer Clin.*, 21: 1254-1265.
- Nakajima M., Sawada H., Yamady Y., Watanabe A., Tatsumi M., Yamashita J., Matsuda M., Sakaguchi T., Hirao T., Nakano H. (1999). The prognostic significance of amplification and overexpression of c-met and c-erb B-2 in human gastric carcinomas. *Cancer*, 85: 1894-1902.
- Nakamura K., Ueyama T., Yao T., Xin Xuan Z., Ambe K., Adachi Y., Yakeishi Y., Matsukuma A., Enjoji M. (1992). Pathology and prognosis of gastric carcinoma. *Cancer*, 70: 1030-1037.
- Nakamura T., Nekarda H., Hoelscher A.H., Bollschweiler E., Harbec N., Becker K., Siewert J.R. (1994). Prognostic value of DNA ploidy and c-erbB-2 oncoprotein overexpression in adenocarcinoma of Barrett's esophagus. *Cancer*, 73:1785-1794.
- Nasim M.M., Thomas D.M., Alison M.R., Filipe M.I. (1992). Transforming growth factor α expression in normal gastric mucosa, intestinal metaplasia, dysplasia and gastric carcinoma-an immunohistochemical study. *Histopathology*, 20: 339-343.
- Neelsen-Hamilton M., Holley R.W. (1983). Rapid selective effects by a growth inhibitor and EGF on the incorporation of 35-s-methionine into proteins secreted by African green monkey (BSC-1) cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 5636-5640.
- Nguyen P.L., Swanson P.E., Jaszcz W., Aeppli D.M., Zhang G., Singleton T.P., Ward S. Dykoski D., Harvey J., Niehans G.A. (1994). Expression of epidermal growth factor receptor in invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Am. J. Clin. Pathol.*, 101: 165-176.

Noguchi Y. (1990). Blood-vessel invasion in gastric carcinoma. *Surgery*, 107: 140-148.

Ohguri T., Sato Y., Koizumi W., Saigenji K., Kameya T. (1993). An immunohistochemical study of c-erbB-2 protein in gastric carcinomas and lymph-node metastases: is the c-erbB-2 protein really a prognostic indicator? *Int. J. Cancer*, 53: 75-79.

Onn A., Correa A.M., Gilcrease M., Isobe T., Massarelli E., Bucana C.D., O'Reilly M.S., Hong W.K., Fidler I.J., Putnam J.B., Herbst R.S. (2004). Synchronous overexpression of epidermal growth factor receptor and her2-neu protein is a predictor of poor outcome in patients with stage I non-small cell lung cancer. *Clin. Cancer Res.*, 10: 136-143.

Okada N., Ohshio G., Yamaki K.-I., Imamura T., Imamura M. (1995). Elevated serum c-erbB-2 Protein levels in patients with pancreatic cancer: correlation to metastasis and short survival. *Oncology*, 52: 392-296.

Oota K., Sobin L.H. (1990). Histological typing of gastric and oesophageal tumours. World Health Organization. *International Histological Classification of Tumours*, 18, WHO, Geneva.

Osako T., Miyahara M., Uchino S., Inomata M., Kitano S., Kobayashi M. (1998). Immunohistochemical study of c-erbB-2 protein in colorectal cancer and the correlation with patient survival. *Oncology*, 55: 548-555.

Oshima C.T., Lanzoni V.P., Forones N.M. (2001). C-erbB-2 oncoprotein in gastric carcinoma: correlation with clinical stage and prognosis. *Int. J. Biol. Markers.*, 16: 250-254.

Paik S., Hazan R., Fisher E.R., Sass R.E., Fisher B., Redmond C., Schlessinger J., Lippman M.E., King C.R. (1990). Pathologic findings from the national surgical adjuvant breast and bowel project: Prognostic significance of erbB-2-protein overexpression in primary breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 8: 103-112.

Penault-Llorca, F., Adelaide J., Houvenaeghel G., Hassoun J. Birnbaum D., Jacquemier J. (1994). Optimization of immunohistochemical detection of erbB2- in human breast cancer: impact of fixation. *J. Pathol.*, 173: 65-75.

Pfeifer P., Clausen P.P., Andersen K., Rose C. (1996). Lack of prognostic significance of epidermal growth factor receptor and the oncoprotein p185 HER-2 in patients with systemically untreated non-small-cell lung cancer: an immunohistochemical study on cryosections. *Br. J. Cancer*, 74: 86-91.

Pinto-de-Sousa J., David L., Almeida R., Leitao D., Preto J.R., Seixas M., Pimenta A. (2002). C-erb B2 expresion is associated with tumor location and venous invasion and influences survival of patients with gastric carcinoma. *Int. J. Surg. Pathol.*, 10: 247-256.

Prost S., Le M.G., Douc-Rasy S., Ahomadegbe J.C., Spielmann M., Guerin M., Riou G. (1994). Association of c-erbB-2-gene amplification with poor prognosis in non-inflammatory breast carcinomas but not in carcinomas of the inflammatory type. *Int. J. Cancer*, 58: 763-768.

Pusztai L., Lewis C.E., Lorenzen J., McGee J.O'D. (1993). Growth factors: regulation of normal and neoplastic growth. *J. Pathol.*, 169: 191-201.

Railo M.J., Smitten K.V., Pekonen F. (1994). The prognostic value of epidermal growth factor receptor (EGFR) in breast cancer patients. Results of a follow-up study on 149 patients. *Acta Oncol.*, 33: 13-17.

Ravery V., Colombel M., Popov Z., Bastuji S., Patard J.J., Bellot J., Abbou C.C., Fradet Y., Chopin D.K. (1995). Prognostic value of epidermal growth factor-receptor, T138 and T43 expression in bladder cancer. *Br. J. Cancer* 71: 196-200.

Reinartz J.J., George E., Lindgren B.R., Niehans G.A. (1994). Expression of p53, transforming growth factor alpha, epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 in endometrial carcinoma and correlation with survival and known redictors of survival. *Hum. Pathol.*, 25: 1075- 1083.

Révillion, F., Bonnetterre J., Peyrat J.P. (1998). ErbB-2 oncogene in human breast cancer and its clinical significance. *Eur. J. Cancer*, 34: 791-808.

Roder J.D., Böttcher K., Siewert J.R., Busch R., Hermanek P., Meyer H.J. (1993). Prognostic factors in gastric carcinoma. Results of the german gastric carcinoma study 1992. *Cancer*, 72: 2089-2097.

Rosen P.P., Lesser M.L., Arroyo C.D., Cranor M., Borgen P., Norton L. (1995). Immunohistochemical detection of HER2/neu in patients with axillary lymph node negative breast carcinoma. *Cancer*, 75: 1319-1326.

Ross J.S., Fletcher J.A. (1999). Her-2/neu (c-erb-B2) gene and protein in breast cancer. *Am. J. Clin. Pathol.*, 112 (Suppl.1): S53-S67.

Saffari B., Lones L.A., El-Naggar A., Felix J.C., George J. Press M.F. (1995). Amplification and overexpression of HER-2/neu /c-erbB2) in endometrial cancers: correlation with overall survival. *Cancer Res.*, 55: 5693-5698.

Sanz-Ortega J., Steinberg S.M., Moro E., Saez M., Lopez J.A., Sierra E., Sanz-Esponera J., Merino M.J. (2000). Comparative study of tumor angiogenesis and immunohistochemistry for p53, c-erbB2, c-myc and EGFR as prognostic factors in gastric cancer. *Histol. Histopathol.*, 15: 455-462.

Sauter G., Haley J., Chew K., Kerschmann R., Moore D., Carroll P., Moch H., Gudat F., Mihatsch M.J., Waldmann F. (1994). Epidermal-growth-factor-receptor expression is associated with rapid tumor proliferation in bladder cancer. *Int. J. Cancer*, 57: 508-514.

- Scambia G., Benedetti-Panici P., Ferrandina G., Battaglia F., Distefano M., D'Andrea G., De Vincenzo R., Maneschi F., Ranelletti F.O., Mancuso S. (1994). Significance of epidermal growth factor receptor expression in primary human endometrial cancer. *Int. J. Cancer*, 56: 26-30.
- Shah N.G., Bhatavdekar J.M., Doctor S.S., Suthar T.P., Balar D.B., Dave R.S. (1994). Circulating epidermal growth factor (EGF) and insulin-like growth factor-I (IGF-I) in patients with epithelial ovarian carcinoma. *Neoplasma*, 41: 241-243.
- Shi S.R., Key M.E., Kalra K.L. (1991). Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J. Histochem. Cytochem.*, 39: 741-748.
- Shimizu N., Hunts J., Merlinno G., Wang-Peng J., Xu Y.-H., Yamamoto T., Toyoshima K., Pastan I. (1985). Regional mapping of the EGF receptor (EGFR)/c-erbB protooncogene. *Cytogenet. Cell Genet.*, 40: 743-44.
- Shiu M.H., Moore E., Sanders M., Huvos A., Freedman B., Goodbold J. (1987). Influence of the extent of resection on survival after curative treatment of gastric carcinoma: a retrospective multivariate analysis. *Arch. Surg.*, 122: 1347-1352.
- Shiu M.H., Perrotti M., Brennan M.F. (1989). Adenocarcinoma of the stomach: a multivariate analysis of clinical, pathological and treatment factors. *Hepatogastroenterology*, 36: 7.
- Shun C.T., Wu M.S., Lin J.T., Chen S.Y., Wang H.P., Lee W.J., Wang T.H., Chuang S.M. (1997). Relationship of p53 and c-erbB-2 expression to histopathological features, helicobacter pylori infection and prognosis in gastric cancer. *Hepatogastroenterology*, 44: 604-609.
- Singleton T.P., Niehans G.A., Gu F., Litz C.E., Hagen K., Qiu Qiu B.S., Kiang D.T., Strickler J.G. (1992). Detection of c-erbB-2 activation in paraffin-embedded tissue by immunohistochemistry. *Hum. Pathol.*, 23: 1141-1150.
- Sporn M.B., Todaro G.J. (1980). Autocrine secretion and malignant transformation of cells. *N. Engl. J. Med.*, 303: 878-880.
- Sporn M.B., Roberts A.B. (1985). Autocrine growth factors and cancer. *Nature*, 313: 745-747.
- Spyratos F., Martin P.M., Hacene K., Andrieu C., Romain S., Floiras J.L., Magdelenat H. (1994). Prognostic value of a solubilized fraction of EGF receptors in primary breast cancer using an immunoenzymatic assay - a retrospective study. *Breast Cancer Res. Treat.*, 29: 85-95.

Tahara E., Simiyoshi H., Hata J., Yasiu W., Taniyama K., Hayashi T., Nagae S., Sakamoto S. (1986). Human epidermal growth factor in gastric carcinoma as a biologic marker of high malignancy. *Jpn. J. Cancer Res.*, 77: 145-152.

Tahara E. (1990). Growth factors and oncogenes in human gastrointestinal carcinomas. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 116: 121-131.

Tahara E. (1993). Molecular mechanism of stomach carcinogenesis. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 119: 265-272.

Talbot I.C., Ritchie S., Leighton M.H., Hughes A.O., Bussey H.J.R., Morson B.C. (1980). The clinical significance of invasion of veins by rectal cancer. *Br. J. Surg.*, 67: 439-442.

Talbot I.C., Ritchie S., Leighton M.H., Hughes A.O., Bussey H.J., Morson B.C. (1981). Invasion of veins by carcinoma of rectum: method of detection, histological features and significance. *Histopathology*, 5: 141-163.

Tateishi M., Ishida T., Kohdono S., Hamatake M., Fukuyama Y., Sugimachi K. (1994). Prognostic influence of the co-expression of epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 protein in human lung adenocarcinoma. *Surg. Oncol.*, 3: 109-113.

Todaro G.J., DeLarco J.E., Cohen S. (1976). Transformation by murine and feline sarcoma viruses specifically blocks binding of epidermal growth factor to cells. *Nature*, 264: 26-31.

UICC, TNM classification of malignant tumors. (1987). Springer-Verlag, Berlin, (4th ed.), pp. 43-46.

Ullrich A., Schlessinger J. (1990). Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity. *Cell*, 61: 203-212.

van Dam P.A., Vergote I.B., Lowe D.G., Watson J.V., van Damme P., van der Auwera J.C., Shepherd J.H. (1994). Expression of c-erbB-2, c-myc and c-ras oncoproteins, insulin-like growth factor receptor I and epidermal growth factor receptor in ovarian carcinoma. *J. Clin. Pathol.*, 47: 914-919.

Veale D. Kerr N., Gibson G.H., Kelly P.J., Harris A.L. (1993). The relationship of quantitative epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer to long term survival. *Br. J. Cancer*, 68: 162-165.

Volm M., Drings P., Wodrich W. (1993). Prognostic significance of the expression of c-fos, c-jun and c-erbB-1 oncogene products in human squamous cell lung carcinomas. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 119: 507-510.

- Webb A., Scott-Mackie P., Cunningham D., Norman A., Andreyev J., O'Brien M., Bensted J. (1996). The prognostic value of serum and immunohistochemical tumour markers in advanced gastric cancer. *Eur. J. Cancer*, 32: 63-68.
- Wen D., Peles E., Cupples R., Suggs S.V., Bacus S.S., Luo Y., Trail G., Hu S., Silbiger S.M., Levy R.B., Koski R.A., Lu H.S., Yarden Y. (1992). New differentiation factor: a transmembrane glycoprotein containing an EGF domain and an immunoglobulin homology unit. *Cell*, 69: 559-572.
- Westmark B. (1976). Density dependent proliferation of human glia cells stimulated by epidermal growth factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 69: 404-410.
- World Health Organization (WHO) (1997). The world health report, WHO, Geneva.
- Yonemura Y., Sugiyama K., Fujimura T., Kamata T., Fushida S., Yamaguchi A., De Aretxeala X., Miwa K., Miyazaki I. (1989). Epidermal growth factor receptor status and s-phase fractions in gastric carcinoma. *Oncology*, 46: 158-161.
- Yonemura Y., Sugiyama K., Fushida S., Kamata T., Ohoyama S., Kimura H., Yamaguchi A., Miyazaki I. (1991b). Tissue status of epidermal growth factor and its receptor as an indicator of poor prognosis in patients with gastric cancer. *Anal. Cell. Path.*, 3: 343-350.
- Yonemura Y., Ninomiya I., Shigekazu O., Kimura H., Yamaguchi A., Fushida S., Kosaka T., Miwa K., Miyazaki I., Endou Y., Tanaka M., Sasaki T. (1991c). Expression of c-erbB-2 oncoprotein in gastric carcinoma. *Cancer*, 67: 2914-2918.
- Yonemura Y., Ninomiya I., Yamaguchi A., Fushida S., Kimura H., Ohoyama S. (1991d). Evaluation of immunoreactivity for erbB-2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. *Cancer Res.*, 51: 1034-1038.
- Yonemura Y., Takamura H., Ninomiya I., Fushida S., Tsugawa K., Kaji M., Nakai Y., Ohoyama S., Yamaguchi A., Miyazaki I. (1992). Interrelationship between transforming growth factor- α and epidermal growth factor receptor in advanced gastric cancer. *Oncology*, 49: 157-161.
- Yonemura Y., Ninomiya I., Tsugawa K., Fushida S., Fujimura T., Miyazaki I., Uchibayashi T., Endou Y., Sasaki T. (1998). Prognostic significance of c-erbB-2 gene expression in the poorly differentiated type of adenocarcinomas of the stomach. *Cancer Detect. Prev.*, 22: 139-146.
- Yoshida K., Tosaka A., Takeuchi S., Kobayashi N. (1994). Epidermal growth factor receptor content in human renal cell carcinomas. *Cancer*, 73: 1913-1918.
- Younes M., Perandez L., Lechago J. (1996). Transforming growth factor alpha (TGF-a) expression in biopsies of colorectal carcinoma is a significant prognostic indicator. *Anticancer Res.*, 16: 1999-2004.

7 Abkürzungen

ABC-Komplex	Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex
BSA	Rinderserum-Albumin
BVI	Blutgefäßinvasion
EGF	epidermaler Wachstumsfaktor
EGF-R	epidermaler Wachstumsfaktorrezeptor
LVI	Lymphgefäßinvasion
n.u.	nicht untersucht
PBS	Phosphatpuffer („phosphate buffered saline“)
TGF α	transformierender Wachstumsfaktor alpha
WHO	Weltgesundheitsorganisation

8 Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Priv.-Doz. Dr. med. W. Müller sowohl für die Überlassung des Themas der vorliegenden Arbeit als auch für seine Betreuung und stete Hilfe bei ihrer Durchführung und der Erstellung des Manuskriptes bedanken.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau C. Golmina und Frau S. Schneeloch aus dem immunhistologischen Labor des Instituts für Pathologie für ihre unermüdliche Hilfsbereitschaft bei der Herstellung der immunhistologischen Präparate.

Ebenfalls zu besonderem Dank bin ich Herrn Prof. Dr. G. Hommel, Institut für Medizinische Statistik der Universität Mainz, verpflichtet für die hervorragende Betreuung bei der statistischen Auswertung der in dieser Untersuchung erhobenen Daten.

9 Lebenslauf

Bettina Vondereck

geboren	24. April 1958 in Brilon
Familienstand	verheiratet, 2 Kinder (1985 und 1992)
1964 – 1977	Schulzeit, Abitur am Gymnasium Petrinum Brilon
1977 – 1979	Ausbildung zur med.-techn. Laboratoriumsassistentin am MTA-Lehrinstitut der Universität Münster
1979 – 1981	Tätigkeit als MTA ind Laboratoriumsgemeinschaft Loer/Weyer in Münster
1981 – 1987	Studium der Humanmedizin an den Universitäten Homburg, Essen und Düsseldorf
1987 – 1988	Gastarztstätigkeit in der Abteilung für Anästhesie der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Chefärztin Fr. Prof. Dr. med. Podlesch)
1988	Anstellung als Assistenzärztin in der Anästhesieabteilung des Diakonie-Krankenhauses Düsseldorf-Kaiserswerth (Chefarzt Dr. med. Behla)
1988 – 1989	Assistenzarztstätigkeit in der Anästhesieabteilung des St. Marien-Krankenhauses Ratingen (Chefärztin Fr. Dr. med. Neumann)
1989 – 1994	Anstellung als Assistenzärztin in der Anästhesieabteilung des Diakonie-Krankenhauses Düsseldorf-Kaiserswerth (Chefarzt Dr. med. Behla/Dr. med. Fischer)
1994	Facharztprüfung zur Ärztin für Anästhesiologie
1994 – 2000	Anstellung in der Anästhesieabteilung der St. Josef-Krankenhaus Hilden GmbH
2000 – 2003	Funktionsoberärztin der Anästhesieabteilungen der St. Josef-Krankenhaus Hilden und St. Josef Krankenhaus Monheim
seit 2003	Niederlassung als Anästhesistin

10 Abstract

Die Beurteilung der Prognose von Magenkarzinompatienten erfolgt heute allgemein anerkannt auf der Basis des TNM-Systems unter Einbeziehung des R-Status. Allerdings hat nicht jeder Patient eines bestimmten Tumorstadiums tatsächlich auch die gleiche Chance zu überleben. Dies hat zu einer Vielzahl von Ansätzen geführt, zusätzliche Prognosefaktoren zu etablieren, jeweils mit dem Ziel, sowohl eine zunehmend präzisere und individuellere Prognoseabschätzung zu erreichen als auch Hochrisikopatienten zu identifizieren, die von neuen adjuvanten Therapieansätzen profitieren könnten.

Wesentliches Ziel der vorliegenden Untersuchung war es daher an einer Serie von 418 kurativ resezierten Magenkarzinomen molekulare Parameter hinsichtlich ihrer prognostischen Bedeutung zu untersuchen und in einer multivariaten Analyse mit den etablierten Prognoseparametern des TNM-Systems.

In der vorliegenden Arbeit war für alle untersuchten Faktoren (EGF, TGF α , EGF-R, erbB-2) jeweils eine ausgeprägte inter- und intratumorale Heterogenität der Expression nachweisbar. So waren 21,5% der Tumoren positiv für EGF und 37% positiv für TGF α , jedoch nur bei 8,5% ließ sich eine Expression von EGF-R nachweisen. Eine erbB-2-Expression wiesen ebenfalls lediglich 10,2% der Tumoren auf. Hinsichtlich der Korrelation mit histopathologischen Parametern waren EGF und TGF α signifikant sowohl mit einem drüsigen Wachstumsmuster und hohem Differenzierungsgrad als auch mit fortgeschrittener Wandinfiltration der Tumoren und einer Gefäßinvasion korreliert. Keine Korrelation fand sich mit dem Nachweis einer Lymphknotenmetastasierung. Die EGF-R-Expression war lediglich mit dem Nachweis einer Gefäßinvasion assoziiert, nicht jedoch mit den übrigen histopathologischen Parametern. Auch die Expression von erbB-2 war hochsignifikant korreliert mit einem drüsigen Wachstumsmuster während sich mit den anderen untersuchten histopathologischen Parametern keine Korrelation nachweisen ließ. Hinsichtlich der Proliferationsaktivität fand sich für alle vier untersuchten molekularen Marker eine Assoziation der Expression mit einer hohen Proliferationsaktivität der Tumoren. Diese erreichte jedoch lediglich für EGF statistische Signifikanz. Eine gemeinsame Expression von EGF, TGF α und EGF-R fand sich nur bei 11 Tumoren (2,7%), eine gemeinsame Expression einer der beiden Wachstumsfaktoren EGF oder TGF α und des Rezeptors EGF-R lediglich bei 47 Tumoren (11,4%), so daß dem Phänomen einer autokrinen Wachstumsstimulation der Tumorzellen beim Magenkarzinom, wenn überhaupt, nur eine untergeordnete Bedeutung für das Fortschreiten und die Prognose der Tumoren zuzukommen scheint. Bezüglich der Prognose ließ sich sowohl für die EGF- als auch für die erbB-2-Expression in der univariaten Analyse ein ungünstiger prognostischer Einfluß nachweisen, der in der multivariaten Analyse unter Einschluß der etablierten Prognosefaktoren des pTNM-Systems jedoch nicht mehr verifiziert werden konnte.

Zusammenfassend läßt sich nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung festhalten, daß die erbB-2-Expression ebenso wie die Expression von Wachstumsfaktoren beim Magenkarzinom hochsignifikant mit dem Intestinaltyp nach Laurén bzw. mit dem papillären oder tubulären Typ gemäß der WHO-Klassifikation assoziiert ist. Diese Präferenz des intestinalen Typs der Laurén-Klassifikation könnte auf eine unterschiedliche Rolle des erbB-2-Onkogens bei der Tumorentwicklung dieser unterschiedlichen Tumortypen hinweisen. Insgesamt stellt die immunhistochemisch nachweisbare Expression von erbB-2 beim Magenkarzinom jedoch ein eher seltenes Ereignis dar. Darüber hinaus scheint nach den vorliegenden Ergebnissen, weder der erbB-2-Expression noch der von EGF, TGF α oder EGF-R bei Magenkarzinompatienten eine Bedeutung als zusätzlicher Prognoseparameter zum TNM-System zuzukommen.