

Aus dem Medizinischen Zentrum für operative Medizin der Philipps-Universität  
Marburg,  
Klinik für Neurochirurgie  
Leiter: Prof. Dr. H. Bertalanffy

**Die Expression des Progesteron Rezeptors in Korrelation mit dem erbB2  
Onkoprotein und dem Jak – STAT Signalweg in Abhängigkeit von Tumorgrad  
und gynäkologischer Komorbidität in humanen Meningeomen**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg  
vorgelegt von Solvejg Rellecke, geborene Unger, aus Koblenz

Marburg 2005

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg  
am 11.05.2006

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. B. Maisch

Referent: Prof. Dr. H. Bertalanffy

Correferent: Prof. Dr. U. Wagner

Für meine lieben Eltern

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	6
1.1. Problemstellung	6
1.2. Meningeome	7
1.2.1. Pathologie und Klassifikation	7
1.2.2. Epidemiologie und Ätiologie	8
1.2.3. Klinik und Therapie	10
1.3. Der Progesteron-Rezeptor in humanen Meningeomen	13
1.4. ErbB2 in Meningeomen	15
1.5. Der JAK-STAT-Signalweg	18
1.6. Auftreten von Meningeom und gynäkologischer Erkrankung	22
2. Zielsetzung der Arbeit	26
3. Material und Methoden	27
3.1. Material	27
3.1.1. Meningeome	27
3.1.2. Chemikalien und Geräte	27
3.1.3. Puffer und Lösungen	28
3.1.4. Oligonukleotide	29
3.1.5. Antikörper	29
3.2. Methoden	30
3.2.1. Extraktion der Ribonukleinsäuren	30
3.2.2. Synthese der komplementären DNA	30
3.2.3. Polymerase-Kettenreaktion	31
3.2.4. Elektrophorese	31
3.2.5. Immunhistochemie	32
3.2.6. Klinische Datenerhebung	34
3.2.7. Statistik	35
4. Ergebnisse	36
4.1. Alters- und Geschlechtsverteilung und histologische Subtypen	36
4.2. Bedeutung des Progesteron-Rezeptors für das Meningeom-Wachstum	38
4.2.1. Progesteron-Rezeptorexpression	38
4.2.2. Korrelation der Progesteron-Rezeptorexpression mit dem Tumorgrad	41

4.2.3. Progesteronrezeptor-Expression in Abhängigkeit von gynäkologischer Komorbidität und Einnahme von Ovulationshemmern	44
4.3. Wirkung der Progesteronrezeptorexpression	47
4.3.1. Korrelation der PR Expression mit dem Wachstumsfaktorrezeptor erbB2	47
4.3.2. Korrelation der PR Expression mit dem Jak-Stat-Signalweg	55
4.3.3. Die Jak1-Expression	56
4.3.4. Die Stat-Expression	59
4.3.5. Korrelation von PR- und Jak-Stat-Expression	62
5. Diskussion	65
5.1. Zielsetzung und Problemwiederholung	65
5.2. Methodenkritik	66
5.3. Wertende Darstellung der Ergebnisse	68
5.3.1. Progesteron Rezeptor Expression	68
5.3.2. Korrelation von PR- und erbB2-Expression	71
5.3.3. Korrelation von PR- und Jak-Stat-Expression	72
5.3.4. Korrelation von PR-Expression und gynäkologischer Komorbidität	74
5.4. Wachstumsfaktor-Rezeptoren und Hormone in Tumoren	75
5.5. Zusammenfassende Diskussion und Schlussfolgerungen	79
6. Zusammenfassung	83
7. Literaturverzeichnis	85

## 1. Einleitung

### 1.1. Problemstellung

Meningeome machen etwa 20% aller primären intrakraniellen Tumore aus (Rachlin et al.1991). Damit gelten sie als die häufigsten nicht-glialen Tumore des zentralnervösen Systems. Der Großteil der Meningeome ist niedriggradig (WHO-Grad I) und somit tumorbiologisch grundsätzlich als gutartig einzustufen. Dennoch ist aufgrund der anatomischen Gegebenheiten intrakraniell oft keine kurative Resektion möglich und es ergibt sich daher eine oftmals ungünstige Prognose. Vor allem die höhergradigen Meningeome, die eine hohe Proliferationstendenz und Zeichen der histologischen Entdifferenzierung aufweisen, haben trotz chirurgischer Intervention eine erhöhte Rezidivneigung und eine insgesamt schlechtere Prognose (Sanson et al. 2000). Die seit langem bekannte höhere Inzidenz des Auftretens dieses Tumors bei Frauen (Kepes et al.1982), die Progredienz während einer Schwangerschaft (Roelvink et al.1987) und anderen Hormonumstellungen und die in einigen Arbeiten signifikante Assoziation zwischen dem Auftreten von Meningeomen und Mamma-Karzinomen weisen darauf hin, dass weibliche Geschlechtshormone einen Einfluss auf das Wachstum dieser Tumoren haben (Helseth et al.1989, Jacobs et al 1987, Schoenberg et al.1975). Die Tatsache, dass sich Meningeome nicht während der proliferativen Phase des Menstruationszyklus vergrößern, sondern stattdessen während einer Schwangerschaft und in der lutealen Phase des Menstruationszyklus, spricht dafür, dass weniger die Östrogene sondern eher die Gestagene positiv auf das Meningeomwachstum einwirken könnten.

Interessant in diesem Zusammenhang ist, dass Meningeome den Progesteron-Rezeptor (PR) exprimieren, es aber bisher nicht ganz klar ist, in wie weit diese Rezeptor-Expression auf die Proliferation bzw. den Tumorprogress wirkt. Ebenfalls unklar ist bisher die Regulation der Expression vom PR. Der Einsatz von adjuvanter hormoneller bzw. antihormoneller Therapien bei Meningeomen wird daher im Gegensatz zum Mamma-Karzinom noch nicht empfohlen. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, sowohl die Bedeutung der PR- Expression für das Meningeom-Wachstum und die Progression herauszuarbeiten als auch mögliche Signalwege, die die Progesteronwirkung über den PR vermitteln, darzustellen.

## 1.2. Meningeome

### 1.2.1. Pathologie und Klassifikation

Meningeome sind definiert als Tumoren, die von den Arachnoidalzellen der Leptomeningen abstammen (O´Rahilly et al.1986). Die heutige Klassifikation erfolgt nach den Richtlinien der World Health Organization (WHO) (Kleihues et al.2000). Nach histopathologischen Kriterien werden die Meningeome in die WHO-Grade I-III eingeteilt.

Die meisten Meningeome (90-95%) gelten als benigne und werden daher dem WHO-Grad I zugeordnet. Grad I-Meningeome können nochmals in mehrere histopathologische Subtypen unterteilt werden: endotheliomatöse, transitionelle, fibromatöse, psammomatöse und angiomatöse Meningeome. Desweiteren sind noch zu nennen der mikrozystische, der sekretorische, der metaplastische und der lymphoplasmocystenreiche Typ.

Grad II-Meningeome machen etwa 5-7 % aller Meningeome aus. Hierzu gehören atypische, *clearcell*- und chordoide Meningeome. WHO Grad II Meningeome zeigen typische histopathologische Charakteristika eines gesteigerten Tumorwachstums in Form von Kernatypien, Mitosen, gesteigerter Zellzahl, Nekrosen und hirninvasivem Wachstum. Die Prognose ist sowohl aufgrund des schnelleren Wachstums als auch aufgrund der gegenüber den Grad I Tumoren häufigeren Rezidive deutlich schlechter.

Grad III-Meningeome, deren Unterformen das anaplastische, das papilläre und das Rhabdoid-Meningeom sind, repräsentieren 1-2 % der Meningeome und zeigen noch ausgeprägter die typischen histopathologischen Kriterien der Malignität bzw. des gesteigerten Tumorwachstums, die man in deutlich geringerer Ausprägung bereits bei den Grad II Meningeomen findet.

Die höhergradigen Meningeome zeigen einen ungünstigeren klinischen Verlauf mit aggressiverem Wachstum und erhöhter Rezidivneigung. Aber auch die histologisch als benigne einzustufenden WHO Grad I Meningeome können rezidivieren und können in Abhängigkeit von der Lokalisation einer operativen Therapie unzugänglich sein, so dass auch Grad I Tumoren einen ungünstigen klinischen Verlauf zeigen können.

### 1.2.2. Epidemiologie und Ätiologie

Meningeome gehören mit einem Anteil von etwa 20% aller primärer Hirntumore zu den häufigsten primären Neoplasien im ZNS (Zülch 1993). Der mit Abstand größte Anteil ist der der Grad I-Tumore, die als sehr langsam wachsende Tumore gelten, allerdings auch eine starke Tendenz zeigen zu rezidivieren (Sanson et al.2000). Meningeome sind sowohl kraniell als auch spinal lokalisiert, wobei die im Spinalkanal gelegenen Meningeome mit einem Anteil von 11% den bei weitem geringsten Anteil darstellen. Häufige Lokalisationen stellen parasagittale Region, Konvexität, sphenoidale Region, eingeschlossen des Tuberculum sellae, und Falx dar (Yamashita et al. 1980).

Die jährliche Inzidenz der Meningeome beträgt etwa 6 Tumore pro 100000 Einwohner, das Frauen-Männer-Verteilungsverhältnis liegt bei 2,5:1 für intrakranielle Meningeome, und bei 9:1 für spinale Meningeome (Kepes et al. 1982). Unabhängig von ihrer intrakraniellen oder spinalen Lokalisation werden Meningeome meist zwischen dem 35. und 55. Lebensjahr diagnostiziert. Sehr selten treten sie vor der Pubertät oder nach dem 74. Lebensjahr auf (Kleihues 2000). Die meisten Meningeome wachsen vor allem bei Frauen in der Zeit maximaler Gonadenaktivität (Zülch 1993). Etwa 1,5 % der Meningeome treten in der Kindheit bzw. Jugendzeit gewöhnlich zwischen dem 10. und 20. Lebensjahr auf (Youmans et al 1990), in dieser Altersgruppe sind männliche Patienten häufiger betroffen (Mc Black 1993). Bei jungen Patienten besteht die Tendenz höhergradige und damit aggressivere Meningeome zu entwickeln (Merten et al.1974). Etwa 19-24% der adoleszenten Meningeome treten bei Neurofibromatose-Patienten auf ohne, dass sich hier eine besondere Geschlechterverteilung abzeichnet (Lusis et al. 2004).

Ungefähr 5-10% der Meningeome zeigen ein multiples Auftreten (Smith et al.1994, Sheehy et al.1983, Butti et al.1989). Das Auftreten multipler Meningeome ist charakteristisch für Patienten mit Neurofibromatose Typ 2 (Richardi et al.1987). In einer Studie konnte mit Hilfe von CT-Untersuchungen bei bis zu 40% der Patienten mehr als ein Meningeom nachgewiesen werden (Borovich et al.1988).

Die Rezidivhäufigkeit der Meningeome ist hoch. Selbst bei den benignen bzw. niedrig-gradigen Tumoren beträgt sie abhängig von der Vollständigkeit der Meningeomresektion bis zu 29% (Baird et al.1989). Meningeome der WHO-Grade II und III zeigen noch eine deutlich höhere Rezidivrate. Etwa 50% der atypischen

Meningeome (WHO Grad II) rezidivieren innerhalb der ersten 10 Jahre, bei den malignen Meningeomen vom WHO Grad III findet man in 33% nach 5 Jahren, in 66% nach 10 Jahren und in praktisch 100% nach 15 Jahren ein Rezidiv (Mahmood et al.1993 und Simpson et al. 1957). Auffällig häufig findet sich bei Rezidiven ein höherer Malignitätsgrad als bei den primär aufgetretenen Meningeomen (Zülch und Mennel 1975). Im Hinblick auf eine Therapie unter kurativer Intention, besonders bei den Grad I-Meningeomen, kommt daher einer Abschätzung der Rezidivneigung eine große Bedeutung zu. Denn möglicherweise ist zur Verringerung dieses Rezidivrisikos sogar bei den benignen Grad I-Tumoren eine adjuvante Therapie sinnvoll. Histopathologische Marker, die mit Rezidivhäufigkeit korrelieren, sind bisher allerdings noch nicht bekannt (Sanson et al. 2000). Auf molekulargenetischer Ebene wurde bereits ein Prognosefaktor entdeckt. Es handelt sich dabei um LOHs (*loss of heterozygoty*) auf Chromosom 1p (Niedermayer et al.1997, Simon et al.1995). Diese Deletion findet sich signifikant häufiger bei WHO II/ III-Meningeomen und es gibt Hinweise, dass sie gut mit der Rezidivhäufigkeit der Tumore korreliert (Leuraud et al. 2004).

Metastasen kommen bei Meningeomen selten vor, bei Grad III-Tumoren muss von einem erhöhten Risiko für Fernmetastasen ausgegangen werden (Enam et al.1996). In einer Studie, die 56 Meningeome umfasste, wurden ungefähr 0,17% metastasierende Meningeome beobachtet; davon metastasierten 60% in die Lunge, 34% abdominell und 22% in den Knochen (Kepes et al. 1982). Meningeome vom malignen bzw. höhergradigen Typ metastasieren etwas häufiger (Enam et al.1996). In seltenen Fällen können Meningeome auch in Haut und subkutanem Gewebe als primäre Tumore erscheinen (Argenyi et al.1994, Lopez et al.1974, Sadasivan 1991, Shangsholi 1991).

Es wird angenommen, dass der Genese von Meningeomen sowohl exogene als auch endogene Faktoren zugrunde liegen, eine eindeutige Ursache ist aber sicherlich bis heute nicht zu definieren. Viele exogene Faktoren wie Strahlentherapie, Virusinfektion und Hirntraumata werden als Faktoren diskutiert, die statistisch gehäuft mit dem Auftreten von Meningeomen einhergehen, sogenannte Risikofaktoren. In mehreren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass das Risiko für intrakranielle Tumoren bei Patienten mit stattgehabtem Hirntrauma signifikant erhöht ist, vor allem Meningeome treten auch im Vergleich zu anderen Hirntumoren wie den Gliomen signifikant häufiger nach einem Schädel-Hirntrauma auf (Preston-Martin et al 1998).

Auch eine stattgehabte Bestrahlung des Schädels weist einen statistisch signifikanten Zusammenhang auf. Der Zeitpunkt des Tumorauftretens erweist sich dabei als dosisabhängig (Mack et al.1993). In einer Untersuchung von Kindern, die mit *low voltage Radiotherapie* der Tinea capitis behandelt wurden, konnte gezeigt werden, dass im Erwachsenenalter signifikant häufiger intrakranielle Tumore, vor allem Meningeome, auftraten (Ron et al. 1988). Bestrahlungsinduzierte Meningeome konnten auch bei Kindern, die aufgrund von Leukämie oder primärem Hirntumor bestrahlt wurden, festgestellt werden (Mack et al.1993). Meningeome, die vermutlichlicherweise als Folge von Radiotherapie auftreten, zeigen häufiger atypische oder anaplastische Histologien und aggressivere Wachstumstendenz (Mack et al.1993).

Als endogene Faktoren für die Entstehung von Meningeomen werden hormonelle Faktoren und eine genetische Prädisposition angenommen. Genetische Disposition spielt besonders bei dem Krankheitsbild der Neurofibromatose Typ II eine Rolle. Bei dieser Erkrankung treten typischerweise beidseitige Akustikusneurinome auf, man sieht dabei allerdings auch gehäuft Meningeome (Baser et al. 2003). Weniger gut untersucht ist der Zusammenhang von seltenen vererbten Tumorsyndromen wie Gorlin- oder Cowden-Syndrom mit Meningeomen, allerdings wird von häufiger auftretenden Meningeomen berichtet. Bei dem Cowden-Syndrom findet man neben Meningeomen gehäuft auch Gefäß-Malformationen wie venöse Angiome und kavernöse Angiome (Lok et al. 2005).

### 1.2.3. Klinik und Therapie

Mit einem Anteil von etwa 1-2% aller neu diagnostizierten Tumorerkrankungen gehören die primären Hirntumore sicherlich zu den eher seltenen Neoplasien (Prados und Levin 2000). Allerdings machen sie immerhin 3-5% aller Krebstodesfälle aus (Fine et al 1994), was auf die Problematik der zum Teil sehr schwierigen Therapie hinweist.

Meningeome stellen wie erwähnt etwa 20 % der primären intrakraniellen Tumore dar und haben trotz aggressiver chirurgischer Intervention oft eine hohe Rezidivrate. Außerdem können viele Tumore an strategisch ungünstiger Stelle oft nicht kurativ reseziert werden.

Klinisch treten Meningeome entweder durch eine fokale neurologische Symptomatik, je nach Lokalisation in Form von Paresen, Dysästhesien oder Koordinationstörungen, oder durch eine unspezifische Hirndrucksymptomatik mit Kopfschmerzen, Erbrechen, psychopathologischen Erscheinungen oder einer Okkulomotorikstörung in Erscheinung. Ein Teil der Meningeome wird allerdings auch im Rahmen von bildgebenden Untersuchungen aus anderer Indikation zufällig entdeckt, z.B. wenn nach intrakraniellen Metastasen gesucht wird. Die Differenzierung von Metastasen und Meningeomen kann dann oft auch schwierig sein (Tagle et al. 2002).

Als Therapie der Wahl gilt bei Meningeomen, wenn möglich, nach wie vor die komplette chirurgische Resektion des Tumors (Black et al. 1993, d'Ambrosio et al. 2003). Nach inkompletter Resektion und auch bei höhergradigen Meningeomen ist allerdings eine weitere Therapie notwendig, die im folgenden kurz skizziert werden soll. Aktuell gilt bei wiederauftretenden oder inkomplett resezierten Meningeomen die Radiotherapie als Standardtherapie, da weder Chemotherapie noch auf Hormontherapie basierende Strategien bisher den nötigen Effekt zeigen konnten (Sanson et al. 2000). Eine Studie konnte zeigen, dass 88% der Patienten mit inkompletter Tumorsektion und adjuvanter Radiotherapie nach 8 Jahren noch lebten, dagegen überlebten nur 48% der Patienten die lediglich inkomplett reseziert wurden. Noch deutlicher und auch statistisch signifikant ist der Vorteil der Radiotherapie nach inkompletter Resektion bei der Therapie des ersten Rezidivs, 78% der zusätzlich bestrahlten Patienten leben noch nach 8 Jahren, dagegen überleben lediglich 11% der nicht bestrahlten Patienten mit inkomplett reseziertem Meningeom-Rezidiv 8 Jahre (Miralbell et al. 1992). Bei Patienten mit inoperablen Tumoren vermag die Bestrahlung in etwa 38% die neurologische Symptomatik signifikant zu verbessern, eine alleinige Bestrahlung führt allerdings im Vergleich zur Kombination aus Operation, wenn auch inkomplett, zu einer signifikant schlechteren Prognose, 77% der Patienten leben nach 10 Jahren bei kombinierter Behandlung, nur 48% überleben 10 Jahre mit alleiniger Bestrahlung bei inoperablen Tumoren. Bei kompletter Tumorsektion erbringt eine adjuvante Bestrahlungstherapie keine signifikanten Vorteile (Glaholm et al. 1990). Diese Daten zeigen, dass die entscheidende kurative Therapie die komplette chirurgische Resektion des Tumors darstellt, die Radiotherapie erbringt lediglich einen palliativen Effekt, der allerdings z.T. sehr effektiv ist und durchaus, wenn auch keine Heilung, aber ein

Langzeitüberleben ermöglichen kann. Die gleichen Ergebnisse zeigen auch aktuelle Studien zur Therapie von Meningeomen, vor allem unter Berücksichtigung der neuen differenzierten mikrochirurgischen Techniken (d'Ambrosio et al. 2003).

Eine weitere Therapieoption ist eine systemische Chemotherapie mit Hydroxyurea, welches Apoptose in Meningeomen induzieren kann und so im Falle von nicht operablen Meningeomen und großen Resttumoren nach Operationen eingesetzt werden kann (Schrell et al. 1997). Als andere chemotherapeutische Optionen gelten die Kombination aus Adriamycin und Dacarbazine oder Ifosfamide. Überzeugende signifikante Effekte durch Chemotherapien konnten allerdings bis heute nicht verzeichnet werden (Sanson et al. 2000).

Als weitere systemische Therapie-Optionen, vor allem zur Behandlung der inoperablen oder nur inkomplett-resezierbaren Tumore werden sowohl immunologische Therapien als auch hormonelle Therapien untersucht. So konnte nach Gabe von Interferon in Meningeom-Tumormodellen ein zytostatischer Effekt verzeichnet werden (Koper et al. 1991). Interessant im Zusammenhang mit systemischen Hormon-Therapien ist die Tatsache, dass Meningeome den Progesteron-Rezeptor (PR) exprimieren. Da dies ein zentraler Punkt der vorliegenden Arbeit ist, wird auf den PR in den nachfolgenden Abschnitten ausführlicher eingegangen. An dieser Stelle sei aber bereits erwähnt, dass in einer Studie gezeigt werden konnte, dass die Gabe von RU 486, einem Progesteron-Rezeptor-Antagonisten, zu einer Tumorverkleinerung bei Meningeomen führen kann (Grunberg et al. 1994).

Andere Therapieansätze konzentrieren sich auf die in Meningeomen exprimierten Wachstumsfaktoren (Friend et al.1999). Beispielweise konnte gezeigt werden, dass die Modulation von Wachstumsfaktoren wie GH/Insulin like growth factor-I (IGF1) einen signifikanten Effekt auf das Meningeomwachstum hat. So reagieren diese Tumoren auf die Gabe des GH-Rezeptor-Antagonists Pegvisomant bei Untersuchungen am Tiermodell mit einer Reduktion des Wachstums und in manchen Fällen sogar mit einer Tumorregression (McCutcheon et al.2001). Monoklonale Antikörper gegen EGF-R, einem Wachstumsfaktor-Rezeptor der ebenfalls in einem Teil der Meningeome exprimiert wird, stellen möglicherweise eine weitere Therapieform zum Aufhalten der Tumorprogression dar (Crombet et al.2001).

### 1.3. Der Progesteron-Rezeptor in humanen Meningeomen

Bereits im Jahre 1979 konnte erstmals die Expression von weiblichen Steroid-Hormon Rezeptoren, nämlich von Östrogen-Rezeptoren (ER), in humanen Meningeomen nachgewiesen werden (Donnell et al. 1979). In folgenden Arbeiten zu dieser interessanten Entdeckung zeigte sich dann allerdings, dass nur ein eher geringer Anteil der Meningeome den ER wirklich exprimieren. Im Gegensatz dazu fand sich in bis zu 87% der untersuchten Meningeome eine Expression des Progesteronrezeptors (PR), nicht jedoch des ER (Blankenstein et al. 1995). Interessanterweise zeigte sich bei weiblichen Patienten eine signifikant häufigere Expression des PR als bei männlichen Patienten. Ob dieser Unterschied eine biologische Relevanz besitzt, ist bis heute unklar.

Bei weiterer Charakterisierung der zunächst als Progesteron-bindenden Proteine bezeichneten Eiweißmoleküle im Rahmen von chromatographischen Untersuchungen konnten neben einer bisher nicht identifizierten Isoform die auch im Uterusgewebe nachweisbaren Isoformen A und B des PR in Meningeomen nachgewiesen werden. Man muss also davon ausgehen, dass die Progesteron bindenden Proteine in Meningeomen tatsächlich den Progesteronrezeptoren entsprechen (Graham et al. 1996).

Wie bereits oben erwähnt findet sich nur in etwa 12-13% eine Expression des ER, im Gegensatz dazu exprimieren aber bis zu 87% der Meningeome den PR. Es kommt also offensichtlich zu einer autonomen, vom ER unabhängigen Expression des PR in Meningeomen. Im Gegensatz dazu ist die Expression des PR beispielsweise in Uterus- oder Tubengewebe abhängig von Östrogenen die über den ER wirken (Blankenstein et al. 2000).

Ein wichtiger Aspekt bzw. eine wichtige Frage ist also, wie die Expression des PR in Meningeomen reguliert wird. Eine Möglichkeit wären alternative Splice-Varianten der ER mRNA, so dass zwar die Wirkung des ER in der Zelle vorhanden ist, das ER Protein aber den Nachweismethoden mittels Western-Blot oder ELISA entgeht. Mögliche Splice-Varianten mit Verlust von Exon 4 (Koehorst et al. 1994) oder Verlust von Exon 5 (Fuqua et al. 1991) konnten allerdings nicht für diesen oben genannten Effekt verantwortlich gemacht werden. Interessanterweise exprimieren zahlreiche Meningeome große Mengen an ER mRNA, die ER Proteine können allerdings nicht nachgewiesen werden. Möglicherweise entziehen sich ER Unterformen, wie z.B. ER-

alpha oder ER-beta Protein dem Nachweis mittels immunologischer Methoden oder Liganden-Bindungs-Assays (Carroll et al. 1999).

Eine andere Möglichkeit zur Erklärung des Phänomens des Fehlens des ER-Proteins in Meningeomen wären Punktmutationen im ER-Gen. Doch im Rahmen von PCR Untersuchungen konnte keine Punktmutationen im ER nachgewiesen werden (Blankenstein et al. 2000).

Interessanterweise konnte in einer Arbeit in allen 14 untersuchten Meningeomen ein Protein nachgewiesen werden, welches nicht dem ER entspricht, wohl aber an das *Estrogen-responsive-Element (ERE)* bindet (Koehorst et al. 1993). Dieses Protein ist allerdings bisher nicht weiter charakterisiert worden. Der Promotor des PR-Gens enthält darüberhinaus nur ein halbes ERE, so dass die Bedeutung dieser Daten weiterhin unklar ist (Blankenstein et al. 2000).

Neben der Regulation des PR in Meningeomen ist auch die Bedeutung der PR-Expression in Meningeomen unklar. In Anbetracht der häufigen PR-Expression sowie aufgrund der beobachteten Aggravierung der klinischen Symptomatik durch Meningeome in Perioden hoher Progesteron-Spiegel, z.B. in der Schwangerschaft, erfolgte der Einsatz von Progesteron-Rezeptor-Antagonisten im Rahmen von kleinen Pilot-Studien (Grunberg et al. 1994) und Fallberichten (Sharif et al. 1998). Überzeugende Effekte konnten bisher nicht erzielt werden, eine größere Studie mit dem PR-Antagonisten *Mifepriston* läuft allerdings noch, so dass noch keine abschließenden Aussagen gemacht werden können (Blankenstein et al. 2000).

Neben den therapeutischen Möglichkeiten spielt der PR in Meningeomen auch als prognostischer Marker neben Tumor-Grad und Mitose-Index eine Rolle (Hsu et al. 1997). Immunhistochemische Untersuchungen mit MIB-1 und TGF-alpha sind den eben genannten prognostischen Markern allerdings überlegen (Hsu et al. 1994).

In Zellkulturen verlieren Meningeom-Zellen schnell die PR-Expression und es kommt zu einer hohen Proliferationsaktivität der Tumorzellen. Zusammen mit der Tatsache, dass die Expression des Anti-Apoptose Faktors Bcl-2 vor allem bei geringer PR-Expression am höchsten ist, kann man daher annehmen, dass der PR bzw. Progesteron Apoptose induzieren kann und somit für das eher langsame Wachstum des Großteils der Meningeome verantwortlich sein kann (Tonn et al. 1997).

#### 1.4. ErbB2 in Meningeomen

ErbB2 (HER2/neu) ist ein transmembraner Wachstumsfaktor-Rezeptor, der zur Familie der Typ I Rezeptor Tyrosinkinase gehört, die als HER oder ErbB bekannt sind (Yarden et al.2001). Vier Mitglieder dieser Familie sind identifiziert: erbB1 (epidermal growth factor receptor, EGFR), erbB2 (HER2/neu), erbB3 (HER3) und erbB4 (HER4). Sie besitzen alle intrinsische Tyrosin-Kinase-Aktivität (van der Geer et al.1994).

ErbB2 kodiert für ein transmembranes Glykoprotein (Phosphoprotein) mit einem Molekulargewicht von 185kDa (gp185) (Gullick et al.1987, Press et al.1990). Es weist starke Homologie mit dem Rezeptor für den epidermalen Wachstumsfaktor EGF auf (Yamamoto et al.1986). Das erbB2 Genprodukt funktioniert als Rezeptor für mehrere strukturell verwandte Liganden, darunter die *Hereguline* (Holmes et al. 1992), die *neu Differenzierungsfaktoren* (Wen et al. 1992) und gliale Wachstumsfaktoren (Marchionni et al. 1993).

Das erbB2 Gen wurde ursprünglich in mit Nitroso-Harnstoffen induzierten Ratten-Neuroblastomen als transformiertes Onkogen entdeckt. Das Ratten-homologe erbB2 Gen zeigte in den Ratten-Neuroblastomen eine Punktmutation welche zu einem Austausch von Valin zu Glutamat an Position 644 führte. Diese Punktmutation führt zu einer konstitutiven Aktivierung und damit malignen Transformation in *Neuroblastomen*, das entdeckte Onkogen wurde daher als *neu* bezeichnet (Bargmann et al.1988, Muller et al.1988, Sikes et al.1992). Die in der Transmembranregion seiner onkogenen Form befindliche Schlüsselmutation erhöht die Neigung der Rezeptormonomere, Dimere zu bilden. Als Dimerisierung wird die Assoziation zweier Rezeptor-Monomere bezeichnet. Bei der Dimerisation können die Rezeptor-Tyrosinkinase nicht nur mit einem anderen homologen erbB-Typ dimerisieren (Homodimer-Bildung), sondern ebenfalls mit einem heterologen erbB-Typ eine Dimer-Bindung eingehen (Heterodimer- Bildung). Mutationen innerhalb der Transmembran-Domäne von Ratten-neu resultierten in Homodimerisierung, was die permanente Rezeptorkomplex-Aktivierung zur Folge hatte (Weiner et al.1989).

Die auf dem langen Arm von Chromosom 17 (17q21) lokalisierte Gensequenz von erbB2 oder HER2 im humanen Genom zeigt in bis zu 80% Übereinstimmung mit *neu*, so dass es sich bei erbB2 um das menschliche Homolog von *neu* handelt. Daher findet sich häufig die kombinierte Bezeichnung HER2/neu (Maguire et al. 1989).

Die äquivalente Position der oben im Ratten-Model beschriebenen Punktmutation im humanen Gen ist Valin 659. Der experimentelle Austausch von Valin sowohl gegen Glutamat als auch gegen Aspartat führt ebenfalls zur onkogenen Aktivierung durch Hochregulation der Tyrosinkinase-Aktivität *in-vitro* (Segatto et al. 1988). Interessanterweise sind allerdings bisher keine solche Mutationen im erbB2 Gen in primären humanen Tumoren identifiziert worden (Bruce et al. 1996). Dafür findet man allerdings Überexpressionen des Transkriptes und des Genproduktes welche meist mit einer Genamplifikation assoziiert sind. Überexpressionen des normalen nicht mutierten erbB2 Gens sind wiederum in der Lage einen malignen Phänotyp in NIH/3T3 Zellen zu induzieren (DiFiore et al. 1987). Darüberhinaus ist eine erbB2 Gen-Amplifikation mit geringerem Überleben und mit dem Auftreten von Rezidiven in Patienten mit Brust- und Ovarial-Carcinomen assoziiert (Slamon et al. 1989).

Wie bereits im vorausgehenden Abschnitt 1.3. beschrieben ist das Wachstum von Meningeomen offensichtlich abhängig von Steroidhormonen und ihren Rezeptoren. Aber auch Wachstumsfaktoren und ihre Rezeptoren spielen offensichtlich bei Meningeomen eine wichtige Rolle für das Wachstumsverhalten bzw. die Tumorprogression (Adams et al.1991, Maxwell et al.1990 und Nitta et al.1991). Es konnte gezeigt werden, dass die Aktivierung von Wachstumshormonen zu einer signifikanten Steigerung der Wachstumsrate von Meningeomen führt und die Blockade der Wachstumsfaktor-Rezeptoren zur Inhibition des Tumorwachstums, bzw. sogar zur Tumorregression führen kann (McCutcheon et al.2001).

Darüberhinaus besitzen viele Meningeome Rezeptoren für den *epithel growth factor* (EGF), den spezifischen Liganden vom EGF-Rezeptor (HER 1) (Adams et al.1990, Koper et al.1990, Reubi et al.1989, Weisman et al.1986, Westphal et al.1986, Weisman et al.1987). Meningeome sind wie Gliome durch eine Überexpression von EGFR charakterisiert (Crombet et al.2001). Ergänzend dazu wurde bei Adams et al. (1990), Koper et al. (1990) und Weisman et al. (1986) beschrieben, dass dieser einen stimulierenden Effekt auf das Zellwachstum und die DNA-Synthese in Meningeomzellen in Kultur hat. Neben Gliomen zeigen auch Meningeome eine Überexpression der *neu/c-erbB2*-mRNA (Schwechheimer et al.1994). Immunhistochemisch konnte in einer Arbeit in allen 35 untersuchten niedriggradigen Meningeomen eine Expression von erbB2 Protein nachgewiesen werden, interessanterweise war die Expression von erbB2 in den atypischen (höhergradigen) Meningeome schwächer, invers dazu zeigten die benignen Meningeome im

Vergleich zu den höhergradigen Tumoren eine deutlich schwächere p53 Expression (Bruce et al. 1996). Eine erbB2 Genamplifikation oder Mutation konnte in keinem der untersuchten Meningeome nachgewiesen werden (Bruce et al. 1996). Zwischen den verschiedenen histologischen Subtypen der benignen Meningeome konnte kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der erbB2 Expression gefunden werden (Schlegel et al. 1993).

Die Expression von Wachstumsfaktor-Rezeptoren unterliegt in verschiedenen Geweben der Kontrolle von Steroiden. Beispielweise kann in PR-positiven Meningeomen die EGF-Aktivität durch die Anwesenheit von Progesteron gesteigert werden (Koper et al.1990). Das Antiprogestin RU 486 kann die EGF-Stimulation reduzieren bzw. beenden.

Auch im Falle von ER-positiven Mamma-Karzinom-Zelllinien zeigt sich eine Abhängigkeit von Steroiden bei der c-erbB2-Expression (Read et al.1990).

Weitere maligne Erkrankungen, in denen eine erbB2 Überexpression nachgewiesen werden konnte, stellen neben dem Mamma-Karzinom Tumoren der Gallenblase (27-63%), des Pankreas (31-80%), der Lunge (nicht-kleinzelliges Bronchial-Karzinom) (13-55%), der Ovarien (18-43%), des Endometriums (10-52%), des Kolorektums (33-85%), der Niere (22-36%), des ZNS (16-50%), des Magens (21-64%), des Oesophagus (10-26%) und der Prostata (5-46%) dar. Die Rolle der HER2-Überexpression innerhalb der Pathogenese dieser Tumore ist allerdings noch zu wenig untersucht (Menard 1999, Hynes et al.1994, Klapper et al. 1999).

Zumindest bei Mamma-, Pankreas-, Magen- und Kopf-Hals-Karzinomen zeigt sich die erbB2-Überexpression assoziiert mit einer schlechteren Prognose (Lohrisch et al.2001).

Beim Mamma-Karzinom ist die erbB2-Expression bisher sicherlich am besten untersucht. Niedrig differenzierte Mamma-Karzinome zeigen starke Expression von EGFR und c-erbB2 (Niewiadomska et al.2000). Es findet sich eine Überexprimierung von erbB2 bei 25-30% der invasiven Mamma-Karzinome und bei 50% der inflammatorischen Mamma-Karzinome (Menard 1999). Damit spielt es möglicherweise eine entscheidende Rolle in deren Pathogenese (Menard 1999). Überexpression zeigt sich außerdem bei 60-70% des präinvasiven duktales Carcinoma in situ der Mamma, darüberhinaus wird in der Gruppe der erbB2 überexprimierenden Mamma-Karzinome von einem erhöhten Rezidivrisiko ausgegangen (Allred et al.1992, Liu et al.1992).

Die erbB2-Überexpression im Mamma-Karzinom korreliert mit gesteigerter Aggressivität der Erkrankung und schlechterer klinischer Prognose (Ross et al.1998, Bezwoda et al.2000). Im Detail bedeutet das starke Nekrotisierung innerhalb des Tumors, Infiltration der Lymphknoten, gesteigerte mitotische Aktivität, negativer ER-Status und Abwesenheit von Bcl-2 (Menard 1999). Keine Assoziation konnte zwischen erbB2-Überexpression und Tumorgroße, Durchblutung, proteolytischen Enzymen oder Phosphatase-Spiegeln nachgewiesen werden (Slamon 2000).

ErbB2 entpuppte sich sowohl als prognostischer Marker als auch als geeignetes Ziel für die Therapie aggressiver Mamma-Karzinome (Press et al.1993, Slamon et al.1987). Der Entdeckung eines rekombinanten humanen anti-HER2-Antikörpers, dem Trastuzumab (Herzeptin), folgte die Entwicklung einer anti-HER2-Therapie. Prospektive Studien konnten bei alleiniger Therapie mit Trastuzumab von vorbehandelten Patientinnen mit fortgeschrittenem Mamma-Karzinom Ansprechraten von 15% zeigen (Cobleigh et al.1999). Im Vergleich dazu zeigte sich eine gesteigerte Ansprechrate und verbessertes mittleres Überleben wenn Trastuzumab mit Doxorubicin oder Paclitaxel als first-line Therapie des metastasierten Mamma-Karzinoms gegeben werden (Norton et al.1999). Basierend auf diesen Untersuchungen ist in den USA die Gabe von Trastuzumab bei Frauen mit fortgeschrittenem Mamma-Karzinom, welches HER2 überexprimiert, zugelassen. Die bisher relevanteste und limitierende Toxizität, die mit der Trastuzumab-Gabe verbunden ist, ist die Kardiotoxizität (Norton et al.1999).

Obwohl bisherige klinische und experimentelle Daten die zumindest mitverursachende Rolle von erbB2 bei der Initiierung oder Progression von Tumoren wie dem Mamma-Karzinom eindeutig zeigen, ist der spezifische Mechanismus, über den erbB2 reguliert wird, bisher noch unbekannt. (Penuel et al.2001).

### 1.5. Der JAK-STAT-Signalweg

Im Rahmen von Untersuchungen zum Verständnis der von Interferon (IFN) –alpha und –gamma induzierten transkriptionellen Aktivität konnte ein neuer Signalweg zur Übertragung von Signalen von der Zelloberfläche zur DNA bzw. zu den Genen im Zellkern identifiziert werden. Diese neue Signalkaskade wurde der JAK-STAT Signalweg genannt (Darnell et al. 1994). Die Signalübertragung beginnt damit, dass,

nachdem ein spezifischer Ligand an einen transmembranen Rezeptor gebunden hat, die mit dem Rezeptor assoziierte Janus Kinase (JAK) einen Tyrosin-Rest eines oder mehrere Faktoren einer Familie von zytoplasmatischen Transkriptionsfaktoren phosphoryliert (Wilks et al. 1986 und 1991). Diese Transkriptionsfaktoren wiederum transduzieren das Signal in den Zellkern und aktivieren die Transkription. Aus diesem Grund spricht man auch von *signal transducers and activators of transcription* den sog. STAT Proteinen (Shuai et al 1993). Diese STAT Proteine spielen eine duale Rolle, zunächst stellen sie als Transduktionsfaktoren das Substrat für die Janus Kinasen dar, nach der Phosphorylierung und nucleären Translokation wirken sie dann als Transkriptionsaktivatoren (Zhong et al. 1994). Während IFN-alpha und IFN-gamma als die ersten Polypeptid-Liganden beschrieben wurden, die diesen Signalweg aktivieren, weiß man heute, dass eine Reihe anderer Liganden den JAK-STAT Signalweg aktivieren (Schindler und Darnell 1995). Zu diesen Liganden gehören neben der Interferon-Familie auch die Interleukine, Kolonie-stimulierende Faktoren (G-CSF, GM-CSF), das humane Wachstumshormon (*growth hormone*, GH) und Rezeptor-Tyrosin Kinasen wie EGF (*epithel growth factor*) (Bartley et al. 1994, deSauvage et al. 1994, Chua et al. 1991).

Die Janus Kinasen repräsentieren eine Familie von löslichen Tyrosinkinase, die vor allem in der Signaltransduktion von Zytokinen eine Rolle spielen (Darnell et al. 1994). Vier unterschiedliche Typen konnten bisher identifiziert werden: JAK 1, JAK 2, JAK 3 und TYK 2. Strukturell bestehen alle vier Kinasen aus 7 konservierten Domänen und einer Sequenzidentität von 35-45%. Darüberhinaus besitzen alle 4 Kinasen jeweils 2 Tandem Tyrosin-Kinase Domänen (Schindler und Darnell 1995). Der Name Janus-Kinasen ist von der Gottheit aus der römischen Mythologie hergeleitet und bedeutet übersetzt "zwei Gesichter". Damit sind die in jedem Molekül vorhandenen zwei Kinasedomänen gemeint: JH1 und JH2, sie werden als katalytische- und als Pseudo-Kinase-Domäne bezeichnet. Die genaue Funktion der JH2-Domäne wird noch diskutiert (Imada et al.2000). Normalerweise sind die Kinasen in ruhenden Zellen katalytisch inaktiv, aber sie sind assoziiert mit den zytoplasmatischen Domänen der zugehörigen Membranrezeptoren. Durch das Binden der Liganden an die Rezeptoren können sie schnell aktiviert werden (Pelligrini et al. 1997). Alle Janus Kinasen bis auf JAK 3 werden in fast allen Geweben exprimiert, entsprechend der weiten Verteilung der Zytokin-Aktivität. JAK 3 scheint vor allem in myeloischen und lymphatischen Geweben exprimiert zu werden (Schindler und Darnell 1995).

Von den STAT Proteinen, die ihren Namen nach der dualen Funktion mit der Signaltransduktion im Zytoplasma und der Transkriptionsaktivierung im Nukleus erhalten haben, sind bisher 7 bekannt: STAT1 bis STAT6 mit den von unterschiedlichen Genen kodierten STAT 5a und 5b (Darnell et al.1997, Leonard und O`Shea 1998). Ihre Struktur setzt sich aus verschiedenen Domänen zusammen, welche unterschiedliche Funktionen besitzen. Der C-Terminus beinhaltet einige Schlüsselemente, die für die STAT-Aktivierung und Funktion wichtig sind (Wen et al.1995, Wen und Darnell 1997). Innerhalb der C-Terminus-Region befindet sich weiterhin die Transaktivierungs-Domäne, mit deren Hilfe, die Transkription in Gang gesetzt werden kann. Splice-Varianten wie STAT1 $\beta$  und STAT3 $\beta$ , fehlt die C-Terminus-Region, so dass sie die Funktion der Stat-Proteine mit voller Länge oder auch der  $\alpha$ -Formen blockieren können (Bromberg et al.1996).

Die SH2-Domäne (=src-homology 2) reguliert die Dimerisierung der STAT Proteine und ihre Aktivierung durch Tyrosinphosphorylierung (Bromberg und Darnell 2000). Nur wenige Transkriptionsfaktoren besitzen diese Domäne, sie können so zwei Funktionen ausüben: Umwandlung des zytoplasmatischen Signals zum einen und Wirkung als Transkriptionsfaktor zum anderen. So kann ein Signal von der Zelloberfläche direkt in ein genetisches Programm umgewandelt werden. STAT-Proteine übertragen ein Signal von der Zelloberfläche nicht nur in den Zellkern, sondern nehmen direkt an der Genregulation teil (Darnell et al.1997, Ihle et al.1995). Die DNA-Bindungsdomäne sitzt in der N-Terminus-Region der STAT Proteine, ebenso wie die Region, die die Oligomerbildung zweier STAT-Dimere vermittelt (Horvath et al. 1995, Xu et al.1996, Vinkemeier et al.1996).

STAT1 und STAT2 wurden im Rahmen der Entdeckung des Jak-Stat-Signalweges als erste als durch Interferone aktivierte Transkriptionsfaktoren entdeckt (Darnell et al.1994 und Shuai et al.1993). STAT1 existiert in zwei Formen: Stat1 alpha und Stat1 $\beta$  (Schindler et al.1992). STAT2 zeigt starke Ähnlichkeit mit STAT1, wird aber von einem anderen Gen kodiert (Fu et al.1992). Einige Transkriptionsfaktoren haben eine Doppelfunktion, ihnen ist es sowohl möglich Transkription zu aktivieren als auch zu unterdrücken. Dies ist abhängig von den jeweiligen Promotoren, die entweder Koaktivatoren oder Korepressoren mobilisieren (Ogbourne und Antalis 1998, Torchia et al.1998). So wird STAT1 neben einer synergistischen Aktivierung einiger Gene in Antwort auf IFN gamma auch für die Repression anderer Gene in Antwort auf IFN gamma benötigt (Ramana et al. 2000). So konnte auch eine wachstumshemmende

Funktion von STAT1 dokumentiert werden (Bromberg et al.1998, Bromberg et al 1996, Xu et al.1998). In Knock-out-Mäusen konnte gezeigt werden, dass das Fehlen von STAT1 zur Tumorprogression führt; STAT1 daher eher Tumor-Supressorfunktion besitzt (Kaplan et al.1998). Interessanterweise kann darüberhinaus eine Aktivierung des STAT-Signalweges durch die Induktion von ICE (=Interleukin-1 beta converting enzyme) Apoptose induzieren (Chin et al.1997).

Es konnte gezeigt werden, dass der JAK-STAT Signalweg mit der malignen Progression von humanen Tumoren, eingeschlossen verschiedener maligner Lymphome und Leukämien sowie solider Tumore assoziiert sein kann (Migone et al.1995, Gouilleux-Gruart et al.1996, Weber-Nordt et al.1996, Zhang et al 1996). Über den JAK-STAT Signalweg in humanen Meningeomen ist bisher wenig bekannt. Interessanterweise konnte aber gezeigt werden, dass Interferone, die wie oben bereits ausführlich beschrieben über den JAK-STAT Signalweg wirken können, einen starken Wachstums-hemmenden Effekt auf Meningeome *in-vitro* haben können (Magrassi et al. 1999). Eine Expression von STAT 1, 3 und 5 mRNA in humanen Meningeomen wurde bereits nachgewiesen. In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, dass JAK 1 und JAK 2 sowie vor allem STAT 1 und STAT 2, aber auch STAT 3, 5 und 6 auf Proteinebene in humanen Meningeomen exprimiert werden (Magrassi et al 1999). Verglichen mit normalem Dura-Gewebe zeigte sich in den meningealen Tumoren eine deutlich stärkere Expression der oben genannten JAK/STAT Proteine. Die Janus Tyrosin Kinasen JAK 3 und TYK 2, die vor allem in lymphatischem Gewebe und in Blut exprimiert werden, konnten in Meningeomen nicht nachgewiesen werden. Statistisch signifikante Unterschiede hinsichtlich der Expression der verschiedenen JAK-STAT Proteine zwischen verschiedenen Meningeom-Typen fanden sich nur für STAT 6, wenn man transitional-Zell Tumoren, die eine deutlich höhere STAT 6 Expression aufwiesen, mit fibromatösen und menigothelialen Tumoren verglichen hat. Sowohl in Meningeomen als auch in Dura-Gewebe fand sich eine Phosphorylierung der STAT Proteine. Sowohl eine Aktivierung mit PDGF (*platlet derived growth factor*) als auch eine Aktivierung mit Prolactin, dessen spezifischer Rezeptor in bis zu 50% der Meningeome exprimiert wird, sowie mit Interferon-alpha konnte eine Phosphorylierung der STAT Proteine 1-5 durch JAK 1 und 2 in Meningeomen hervorrufen (Magrassi et al. 1999). Über diese

Arbeit hinaus ist bisher allerdings wenig über die Expression von JAK-STAT in Meningeomen bekannt (Cattaneo et al.1998, Schrell et al.1998).

Auch im Mamma-Karzinom sind STAT1 und möglicherweise andere STAT Proteine exprimiert (Watson et al.1995). Im Unterschied zum normalen Mammagewebe sind STAT Proteine im neoplastischen Gewebe stärker exprimiert (Watson et al.1995). STAT-Aktivierung in humanen Mamma-Karzinom-Zelllinien korreliert mit hoher EGF-Rezeptor- und c-src-Expression sowie –Aktivität (Garcia und Jove, 1998). Aktivierung von STAT scheint demnach mit maligner Transformation assoziiert zu sein. Weiterhin wird STAT-Aktivierung auch in Tumor-infiltrierten Lymphknoten entdeckt. STAT-Proteine könnten demnach evtl. als Marker onkogener Transformation zur Diagnose einiger Tumore von Bedeutung sein (Bowman et al.2000).

Mehrere Studien beschrieben, dass verschiedenste Onkoproteine über die Aktivierung spezifischer STAT Proteine wirken (Garcia und Jove 1998, Yu et al.1995). Inzwischen sind viele zelluläre und virale Onkogene bekannt, die einzelne Mitglieder der STAT-Familie aktivieren. Beispielsweise werden STAT Proteine von Src – Familienmitgliedern und damit zusammenhängenden Kinasen wie Lck und vFps aktiviert (Garcia et al.1997, Nielsen et al.1997, Yu et al.1997). V-Ras und der IGF1-Rezeptor (Zong et al.1998) und c-Eyk/ v-Eyk (Besser et al.1999, Zong et al.1996) zeigen vor allem eine Aktivierung von STAT 3 in Fibroblasten und in geringem Maße auch STAT1-Aktivierung.

## 1.6. Auftreten von Meningeomen und gynäkologischer Erkrankung

Der Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Meningeomen und gynäkologischen Erkrankungen zeigt sich vor allem in der Assoziation von Meningeomen und dem Mamma-Karzinom. Bisher sind zahlreiche Fälle mit dem Auftreten beider Tumore berichtet worden, wobei intrakranielle Lokalisationen oder auch der histopathologische Subtyp keine spezifische Prädominanz zeigten (Lieu et al. 2003).

Bereits 1975 wurde erstmals eine Assoziation zwischen dem Auftreten von Meningeomen und Mamma-Karzinomen beschrieben (Schoenberg et al. 1975). In einer umfangreichen Untersuchung an 324 Frauen konnte erstmals 1978 ein

signifikanter Zusammenhang zwischen meningealen Tumoren und Mamma-Karzinomen gezeigt werden (Posner et al. 1978).

In zahlreichen weiteren Studien konnte dieser signifikante Zusammenhang bestätigt werden (Rubinstein et al.1989, Burns et al.1986, Jacobs et al.1987, Knuckey et al.1989). Einige Autoren bestreiten allerdings diesen Zusammenhang (Jacobs et al.1992) und erklären das gehäufte gemeinsame Vorkommen der beiden Neoplasien damit, dass Meningeome und Mamma-Karzinome einfach häufig sind und daher natürlich auch öfter gemeinsam auftreten können. Eine direkte "pathogenetische Verbindung" wurde in diesen Arbeiten nicht gefunden (Salvati et al.1996).

Die aber oft doch bestätigte Assoziation zwischen Meningeom- und Mamma-Karzinom-Auftreten führt zu der Frage, ob ein gemeinsamer pathogener Mechanismus existiert. Epidemiologische Aspekte und klinischer Verlauf untermauern diese Hypothese. Denn wie bereits ausführlich beschrieben, gelten Meningeome als häufig auftretende Neoplasien, deren Geschlechtsverteilung auffällig ist. Mit einem Verhältnis von mindestens 2:1 treten sie doppelt so häufig bei Frauen wie bei Männern auf. Der Tumor tritt meist innerhalb des 5. und 6. Lebensjahrzehntes auf (Burns et al.1986). Wenn man das langsame Wachstum der meisten Meningeome berücksichtigt, müssen sie sich daher während der Phase maximaler reproduktiver Aktivität entwickeln (Goffin et al.1986). Darüberhinaus sind diese Tumoren dadurch charakterisiert, dass sie während bestimmter Phasen hormoneller Veränderungen, wie z.B. einer Schwangerschaft, gesteigerte Symptomatik und gesteigertes Größenwachstum zeigen (Bickerstaff et al.1958, Roelvink et al.1987). Außerdem exprimieren die meisten Meningeome den Progesteron-rezeptor (PR). Daher mag die Vermutung berechtigt sein, dass Meningeome zu den hormonabhängigen Tumoren zählen (Goffin et al.1986).

Zu den hormonabhängigen Neoplasien gehören unter anderen auch das Mamma-Karzinom und das Endometrium-Karzinom. Tumore, die wie das Mamma- und das Endometrium-Karzinom ein hormonabhängiges Wachstum zeigen, sind für eine große Zahl von Todesfällen verantwortlich. So starben 1999 43.000 Menschen am Mamma-Karzinom und 6.400 Menschen am Endometrium-Karzinom (Leslie et al.1999). Mit ca. 175.000 Neuerkrankungen in Deutschland pro Jahr ist das Mamma-Karzinom die häufigste maligne Erkrankung der Frau (Leslie et al.1999). Insgesamt macht es 28% aller Karzinome aus (Smith-Behn et al.1992). Auf die Verteilung der

Steroid-Hormon-Rezeptoren im Mamma-Karzinom-Gewebe wurde bereits in Abschnitt 1.3. genauer eingegangen.

Die Entwicklung neurologischer Symptome bei Mamma-Karzinom-Patientinnen werden häufig zunächst einmal Metastasen dieser Karzinome im ZNS zugeschrieben. Mamma-Karzinome metastasieren nach Lungenkarzinomen am zweithäufigsten ins Gehirnparenchym oder in den spinalen Epiduralraum und entwickeln so progressive neurologische Symptome (Rubinstein et al.1989). Das klinische Dilemma, welches durch die Assoziation von Mamma-Karzinom und Meningeom verursacht wird, ist in einigen Fall-Berichten gut nachvollziehbar (Markopoulos et al.1998, Di Bonito et al.1993, Knuckey et al.1989, Salvati et al.1996, Zon et al.1989). Hier werden Mamma-Karzinom-Patientinnen dargestellt, die einige Jahre nach der totalen Resektion ihres Mamma-Karzinoms trotz oftmals fehlender Rezidivbildung des Primärtumors neurologische Symptome in Form von Hirndruck, Anfallsymptomatik und fokalen neurologischen Symptomen entwickelten. Aufgrund der Vermutung, Metastasen seien die Ursache, wurde in diesen Fällen auf eine weitere Diagnostik verzichtet und die Patientinnen erhielten unterschiedliche Formen der Mamma-Karzinom-Therapie (Radiotherapie, Chemotherapie), welche keine Verbesserung der Symptomatik erzielen konnte.

Mit Hilfe von CT und MRT können Metastasen von Meningeomen unterschieden werden. So kann ein Meningeom als Ursache der neurologischen Symptomatik entdeckt und im folgenden mit Erfolg operativ entfernt werden.

In 85% der Fälle wird das Mamma-Karzinom zuerst entdeckt. Mit einem durchschnittlichen Zeitabstand von 6 Jahren tritt dann als zweite Neoplasie das Meningeom auf (Knuckey et al. 1989). Die Tendenz, dass sich das Mamma-Karzinom zuerst manifestiert und erst im Abstand von einigen Jahren das Meningeom klinisch symptomatisch wird, spiegelt wohl am ehesten das langsame Wachstum der Meningeome wider. In seltenen Fällen kann auch eine Metastasenbildung innerhalb eines Meningeoms auftreten (Di Bonito et al.1993).

Bei der Behandlung neurologischer Symptome bei Mamma-Karzinom-Patientinnen ist die Kenntnis darüber, dass nicht nur Metastasen Ursache für eine neurologische Symptomatik sein können, von Bedeutung. Denn eine Koexistenz multipler primärer Tumore, benigne oder maligne, findet man bei ungefähr 2,8% der Patienten mit Neoplasien (Doron et al.1987). Meningeome repräsentieren immerhin 19% aller

Tumoren des ZNS und gehören damit zu den häufigsten intrakraniellen Tumoren überhaupt (Kleihues 2000).

Da sich viele Meningeome als multiple Meningeome darstellen, ist zu bedenken, dass auch multiple intrakranielle Läsionen nicht unbedingt Metastasen darstellen müssen (Mehta et al.1983).

## 2. Zielsetzung der Arbeit

Wie bereits einleitend dargestellt gibt es Hinweise dafür, dass Meningeome ähnlich wie Mamma-Karzinome ein hormonabhängiges Wachstum bzw. eine hormonabhängige Progredienz zeigen. Darüberhinaus zeigen sie wie Mamma-Karzinome eine Expression sowohl vom PR als auch vom erbB2 Onkoprotein.

Obwohl die oben genannten Parallelen und Assoziationen zwischen Meningeomen und gynäkologischer Erkrankungen bzw. Hormonrezeptor-Expressionen gut bekannt und oftmals beschrieben wurden, so ist sowohl die Bedeutung des PR als auch die Wirkungsweise bzw. Signalvermittlung in Meningeomen nur unzureichend bekannt.

In der vorliegenden Arbeit soll daher die Bedeutung der Progesteron-Rezeptorexpression für das Meningeomwachstum bzw. die Progression herausgearbeitet werden. Dazu wurde die PR Expression mit dem Tumorgrad, als ein Zeichen des Tumorwachstums bzw. der Tumorprogredienz, korreliert. Dies soll einen Anhalt für die Bedeutung der PR Expression in niedriggradigen versus höhergradigen Meningeomen geben und so indirekt Hinweise für die Bedeutung bei Tumorwachstum- und Progression liefern. In Anbetracht der Tatsache, dass es sich um einen Hormonrezeptor handelt, ist darüberhinaus interessant ob sich ein entsprechendes hormonabhängiges Wachstums- bzw. Progressionsverhalten nachweisen lässt. Daher wurde in diesem Zusammenhang die gynäkologische Komorbidität und eine hormonelle Medikation in Abhängigkeit von Tumorgrad und PR Expression als Hinweis für ein Hormon- und damit möglicherweise Progesteron-Rezeptor abhängiges Wachstum untersucht.

Da neben der Bedeutung der PR Expression auch die Wirkungsweise bzw. die Signalvermittlung des PR in Meningeomen ebenfalls nicht hinreichend geklärt ist, wurde die PR Expression auch in Zusammenhang mit der Expression von dem sowohl in Mammakarzinomen als auch in Meningeomen exprimierten Wachstumsfaktorrezeptor erbB2 und mit dem ebenfalls in Mammakarzinomen und Meningeomen bedeutsamen und auch hormonabhängigen Jak-Stat Signalweg untersucht.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Material

##### 3.1.1. Meningeome

Das Meningeommaterial, das als Datenmaterial für die immunhistochemischen und molekulargenetischen Untersuchungen und den klinischen Teil verwendet wurde, stammt von den Patienten, die innerhalb der Jahre 1982 bis 1998 in der Neurochirurgischen Abteilung der Universitätsklinik Marburg an einem Meningeom operiert wurden. Mit Hilfe eines Aktenerhebungsbogens wurden nach Durchsicht der jeweiligen Patientenakte Geburtsdatum, Diagnose, Operationsdatum und gynäkologische Anamnese erfasst. Für den klinischen Teil der Arbeit wurden Fragebögen zur Vervollständigung und Aktualisierung der gynäkologischen Anamnese an die Patientinnen verschickt. Diese Daten wurden mit der Tumorbank der Abteilung für Neuropathologie der Philipps-Universität Marburg abgestimmt, die die Operationspräparate aller Meningeome dieser Studie enthält. Das entsprechende Meningeomgewebe liegt in Paraffin eingebettet als Paraffinblöckchen vor. Mit Hilfe eines weiteren Erhebungsbogens wurden diese in der neuropathologischen Abteilung gelagerten Meningeomblöckchen nach Eingangsdatum und ihrer histologischen Diagnose geordnet.

Entsprechend der Meningeomverteilung in der Bevölkerung und der Qualität und des Vorhandenseins der Paraffinblöckchen wurde ein Patientengut von 95 Meningeompatienten herausgesucht.

Als Grundlage für die RT-PCR diente Gefrierschnittmaterial von 25 Meningeom-Gefrierblöcken, die bei einer Temperatur von  $-70^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt wurden.

##### 3.1.2. Chemikalien und Geräte

Alle in der vorliegenden Arbeit eingesetzten Chemikalien wurden – soweit nicht anders vermerkt – von der Firma Boehringer, Ingelheim, Deutschland bezogen.

Von der Firma Quiagen, Hilden, Deutschland stammen die Taq-DNA-Polymerase und das RNA-Isolations-Kit. Hexanukleotid-Primer, Moloney-Murine-Leukemia-Virus (M-MLV) Reverse Transkriptase, 2`Deoxynukleosid 5`Triphosphatase (dNTPs) und der DNA-Größenmarker sind von der Firma Boehringer, Mannheim, Deutschland.

Die PCR fand in einem PTC-100-Thermocycler von MJ-Research Inc., Waterston, Mass., USA statt. Die Gelelektrophoresekammern stammen von Biorad, Hercules, CA, USA und die Power-Units von Pharmacia CKB, Freiburg, Deutschland. Bei dem Mikrotom handelt es sich um ein Schlittenmikrotom vom Typ Leica SM 2000R.

### 3.1.3. Puffer und Lösungen

Die in der vorliegenden Arbeit eingesetzten Puffer wurden nach vorliegenden Protokollen wie in nachfolgender Tabelle zusammengestellt gebraucht.

Puffer	Zusammensetzung
PBS-Puffer (pH 7,4)	137 mM NaCl; 2,7 mM KCl; 4,3 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ; 1,4 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
TBE-Puffer	89 mM Tris; 89 mM Borsäure; 0,2 mM EDTA
TE-Puffer (pH 8,0)	10 mM Tris (pH 8,0); 1mM EDTA (pH 8,0)
DNA-Ladepuffer	95%Formid, 10mM NaOH, 0,05% Bromphenol Blau, 0,05% Xylen-Cyanol
Zitrat-Puffer (pH 6,0)	2,1 g/l Zitrat, 13 ml 2mol NaOH

**Tabelle 1:** Puffer

Alle eingesetzten Lösungen sind in **Tabelle 2** aufgeführt.

Lösungen	
Ethanol,	10 %ig
Salpetersäure,	1 %ig
Silbernitratlösung,	x %ig
NaCO <sub>3</sub> ,	0,28M
Essigsäure,	10 %ig
DAB (Zusammensetzung)	

**Tabelle 2:** Lösungen

### 3.1.4. Oligonukleotide

Die nachfolgend in der Tabelle aufgeführten Oligonukleotide wurden für die Polymerase-Kettenreaktion als Primer eingesetzt. Sie wurden von der Firma MWG-Biotech, Ebersberg, Deutschland synthetisiert.

Oligonukleotid	Produktlänge (Basenpaare)	Schmelz- Temp. (°C)	Nukleotidsequenz	
			forward primer Sequenz	reverse primer Sequenz
herbB2	156 bp	57,1	5` - GGAGACCCGCTGAACAATAC – 3` 5` - GTCCTTCCACAAAATCGTGTC – 3`	
hStat1	232 bp	58,2	5` - GCACCGTTTGAGGAGAGC – 3` 5` - CAGCCTGGAACCTTGGTCTG – 3`	
hstat2	150 bp	57,6	5` - GGACAAAAGGAGAAAGGAGGTG – 3` 5` - TCCAACCCGTGGTCAATG – 3`	
hjak1	227 bp	58,1	5` - CGACAATGAGCAGTCAGTGTG – 3` 5` - CCAGGAGAGCCATCCCTA – 3`	

**Tabelle 3:** Oligonukleotide der RT-PCR

### 3.1.5. Antikörper

Für die immunhistochemischen Färbungen wurden Antikörper gegen den PR, erbB2, die Transkriptionsfaktoren STAT1 und STAT2 und gegen Jak1 eingesetzt. Sie sind in **Tabelle 4** zusammengefasst.

Antikörper	Polyklonal/ monoklonal	Human	gerichtet gegen	Firma
PR-AK	monoklonal	hs	rabbit	Dako
Jak1-AK	monoklonal	hs	mouse	Santa Cruz
Stat –AK	monoklonal	hs	mouse	Santa Cruz
Stat2-AK	monoklonal	hs	mouse	Santa Cruz
neu-AK	monoklonal	hs	mouse	Santa Cruz

**Tabelle 4:** Antikörper für die Immunhistochemie

## 3.2. Methoden

### 3.2.1. Extraktion der Ribonukleinsäuren

Alle Arbeitsschritte zur Isolierung von Ribonukleinsäure (RNA) wurden mit gesonderten RNase freien Materialien und Lösungen durchgeführt.

Die RNA-Isolierung wurde mit Hilfe des RNA-Isolations-Kits der Firma Quiagen, Hilden, Deutschland nach dem darin beigefügten Protokoll durchgeführt.

RNA wurde aus dem gefrorenen Meningeomgewebe der 26 als Gefrierblöckchen konservierten Präparate isoliert, indem die gefrorenen, im Durchmesser etwa 1cm großen Tumorgewebsfragmente mit Hilfe von flüssigem Stickstoff in einem Mörser zerkleinert wurden. Dieses gewonnene Material wurde nun anhand des im Kit-Handbuch enthaltenen Protokolls lysiert, um die RNAsen zu inaktivieren und mit Hilfe des Puffersystems verdünnt. Die Probe wurde in eine Säule pipettiert, die eine Gel-Membran enthält (gel-bared-membran), diese trennt die RNA von übrigen Bestandteilen. Die RNA wurde in RNase freiem Wasser ausgewaschen.

### 3.2.2. Synthese der komplementären DNA

Für die Erststrangsynthese der komplementären DNA (cDNA) wurden 250ng RNA – wie unter 3.2.1. beschrieben isoliert – eingesetzt.

Zur Auflösung der Sekundärstrukturen wurde die RNA zunächst bei 70°C 10 min lang denaturiert (PCR Maschine). Anschließend fand die Anlagerungsreaktion der zufällig generierten Hexamer-Oligonukleotide in einem Reaktionsgemisch mit 50mM Tris-HCl, 75 mM KCl, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 20mM DDT, 250 µM jedes dNTP und 0,5 µl des Hexanukleotidgemisches bei RT in einem Volumen von 20 µl statt. Fünf Minuten lang ließ man dies bei Raumtemperatur stehen (Anlagerungs-Reaktion=Primer-Annealing).

Die Strangverlängerungsreaktion (=Primer-Extension) wurde durch Zugabe von 75U MMLV Reverser Transkriptase durchgeführt, bei 37°C 1h 30min, anschließend wurde bei 90°C über 5 min erhitzt. Die Synthese des zweiten Stranges erfolgte im initialen Zyklus der nachfolgenden Polymerasekettenreaktion (PCR).

### 3.2.3. Polymerase-Kettenreaktion

Die Polymerase-Kettenreaktion fand in einem Reaktionsgemisch, das nachfolgend beschrieben wird, mit einem Endvolumen von 20 µl in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß statt.

Das Reaktionsgemisch für jede Probe setzte sich aus 2,5 µl des Erststrangansatzes, 10 mM Tris-HCl, 75 mM KCl, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTP, 0,4 U Taq-DNA-Polymerase und 0,4 µl Primer (auf 15 µM verdünnt) zusammen mit einem Endvolumen von 50 µl. Die Polymerase-Kettenreaktion wurde in dem bereits erwähnten PTC100-Thermocycler durchgeführt.

Nach einem beginnenden Denaturierungsschritt bei 94°C für 5 min wurden 30-34 Zyklen mit unterschiedlichen Temperaturen (je nach Oligonukleotid-Primer) durchgeführt. Jedem Zyklus lag aber folgende Reihenfolge zugrunde: Zuerst der Denaturierungsschritt in jedem der 30-34 Zyklen (bei 94° C 1min lang), dann der Schritt der Anlagerung (Temperatur je nach Primer unterschiedlich siehe **Tabelle 3**, 1min lang) und schließlich die Strangverlängerung bei 72° C für 1min 30sec.

Im abschließenden Zyklus – nach Vollendung der 30-34 Zyklen – wurde die Strangverlängerung bei 72°C auf 10min ausgedehnt. Damit ist die Polymerase-Kettenreaktion abgeschlossen.

### 3.2.4. Elektrophorese

Zu 10µl jedes PCR-Produktes wurden 2µl Loading Buffer hinzugefügt und in die Slots eines vorher gegossenen nicht denaturierten PAA-Gels hineinpipettiert.

Das Gel ließ man bei 125 V für 45min laufen. Es wurde anschließend nach folgendem Prinzip silbergefärbt: 5min lang lag das Gel in 10%igem Ethanol, es oxidierte 3min lang in 1%iger Salpetersäure, wurde 20min lang in 12mM Silbernitrat inkubiert und mit Hilfe einer 0,28M Na-Carbonat-Lsg. (+ Formalin) erfolgte die Reduktion solange bis die Banden erschienen. Die Reaktion wurde mit 10%iger Essigsäure gestoppt (2min). Das Gel kam dann in destilliertes Wasser (2min). Zum Schluss wurde es auf Filterpapier aufgezogen und luftgetrocknet.

### 3.2.5. Immunhistochemie

#### 3.2.5.1. Durchführung der Immunhistochemie

Die erwähnten 95 in Paraffin eingebetteten Meningeompräparate wurden nach der Immunperoxidase-Reaktion immunhistochemisch untersucht.

Mit einem Schlittenmikrotom (Leica SM 2000R) wurden von jedem Präparat 12-20 Schnitte mit einer Schnittdicke von 2-4  $\mu\text{m}$  hergestellt. Diese Schnitte wurden auf mit APES beschichtete Objektträger aufgezogen und zur besseren Fixierung auf den Objektträgern für 12-24 h in den Brutschrank (37°C) gestellt.

Die immunhistochemischen Untersuchungen der Meningeompräparate wurden mit Hilfe des Vectorstain ABC-Elite-Peroxidase-KITs, Vector Laboratories, durchgeführt. Die Immunperoxidase-Färbemethode basiert auf der Bildung eines Strept-Avidin-Biotin-Komplexes. Zuerst wurden die Schnitte entparaffiniert (2 x 5min in Xylol) und anschließend in der absteigenden Alkoholreihe (2 x 5min in 100%igem-, 2 x 3min in 96%igem- und 2x3min in 70%igem Alkohol) hydratisiert. Die endogene Peroxidaseaktivität wurde mit Hilfe eines  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Methanol-Gemisches (1ml 30%iges  $\text{H}_2\text{O}_2$  auf 100ml Methanol) blockiert (20min). Die Präparate wurden mit PBS-Puffer gespült und anschließend je nach Antigenlokalisierung in Zitratpuffer in der Mikrowelle (20min) vorbehandelt oder nicht (siehe **Tabelle 5**). Anschließend erfolgte die Inkubation der Schnitte mit in PBS-Puffer verdünntem Normalserum (50 $\mu\text{l}$  auf 2500 $\mu\text{l}$  PBS), 20min bei RT. Im nächsten Schritt wurde mit dem Primärantikörper (Verdünnung siehe **Tabelle 5**) inkubiert, 30-45 min (je nach AK, siehe **Tabelle 5**) bei RT. Zwischen den folgenden Schritten wurde jeweils zweimalig mit PBS-Puffer gespült: Inkubation mit biotinyliertem Zweit-AK, 30min bei RT; Inkubation mit Peroxidase-Komplex (Vectastain-Elite-ABC-Peroxidase-Komplex), 35min bei RT. Mit Hilfe des Substrates 3,3'-Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid (DAB) wurde die AK-Reaktion sichtbar gemacht (Lsg A: 10ml PBS + Pipettenspitze  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; Lsg B: 1ml DAB + 9ml PBS; Pipettenspitze aus Lsg A zu Lsg B). Die Präparate wurden mit Hämalaun gegengefärbt, 10min mit Hilfe von Leitungswasser gebläut, über die aufsteigende Alkoholreihe entwässert und zum Schluss eingedeckt.

AK	Vorbehandlung	Verdünnung	Inkubationsdauer
PR – AK	Mikrowelle (800W für 20 min)	1:30	30 min
Jak1 – AK	keine Vorbehandlung	1:30	35 min
STAT1 – AK	keine Vorbehandlung	1:30	35 min
STAT2 – AK	keine Vorbehandlung	1:30	35 min
Neu – AK	keine Vorbehandlung	1:25	45 min

**Tabelle 5:** Behandlung der Antikörper

### 3.2.5.2. Auswertung der Immunhistochemie

Zur detaillierten Bestimmung der positiven bzw. negativen Reaktion der Präparate ist eine quantitative Erfassung der angefärbten Zellen erforderlich. Dieses wurde durch Auszählen der Zellen erreicht. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe eines Häkchenokulars. Das Tumorgewebe jedes Präparates wurde in 6 Areale eingeteilt, die in 400facher Vergrößerung am gefärbten Schnitt mit Hilfe der Häkchen ausgezählt wurden. Es wurden immer die Strukturen vermerkt, auf die die Spitze der Häkchen zeigte und festgehalten, wieviele der insgesamt 20 Häkchen auf einen angefärbten Zellkern/ bzw. auf ein angefärbtes Zytoplasma und wieviele auf eine unangefärbte Struktur zeigten.

Es konnte so durch prozentuale Auswertung der gesamten Areale eines Präparates die Positivität oder Negativität bezogen auf das Vorhandensein des jeweiligen Antikörpers festgestellt werden. Genauere Differenzierung (Qualität) innerhalb der positiven Präparate in schwach angefärbte und stark angefärbte erfolgte nach dem sogenannte IRS nach Remmele. 1986 führte Remmele auf einem Consensus-Meeting von Pathologen und Gynäkologen zur einheitlichen Definition für den immunhistochemischen Östrogenrezeptor-Nachweis im Mammakarzinomgewebe den sogenannten Immunreaktiven Score (=IRS ) ein. Dieser berücksichtigt sowohl die Färbeintensität (Staining Intensity = SI) als auch den Prozentsatz der positiven Zellen (PP). Da dem PP besondere Bedeutung zukommt, wurde vereinbart, den Anteil der positiven und der stark positiven Zellen gesondert auszuweisen. So kam

es zu dem für die allgemeine Anwendung vorgeschlagenen modifizierten IRS, der auch in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde.

Autor	SI – Einteilung	PP – Einteilung	Hypothetischer Maximalwert
Remmele Modifikation (10.10.86)	0 = keine Färbereaktion 1 = schwache Färbereaktion 2 = mäßige Färbereaktion 3 = starke Färbereaktion	0 = keine positiven Zellen 1 = <10% positive Zellen 2 = 10-50% positive Zellen 3 = 51-80% positive Zellen 4 = >80% positive Zellen	3 x 4 = 12

**Tabelle 6:** Auswertung der Immunhistochemie (entnommen aus: Remmele et al.1987)

### 3.2.6. Klinische Datenerhebung

Der in 3.1.1. bereits beschriebene Aktenerhebungsbogen diente neben der Erfassung der innerhalb der Jahre 1982 bis 1998 operierten Meningeompatienten desweiteren der Kenntnis über Operationsdatum, Rezidivaufreten, Meningeomlokalisierung, Symptomatik und kurzer gynäkologischer Anamnese soweit aus der neurochirurgischen Patientenakte ersichtlich.

Der in 3.1.1. ebenfalls erwähnte Fragebogen wurde zur Ergänzung der gynäkologischen Anamnese an die Frauen, von denen auch Meningeomgewebe immunhistochemisch untersucht wurde, verschickt. Im folgenden werden die einzelnen Fragen des Fragebogens kurz erläutert.

Die Frage 1 nach dem Vorhandensein einer gynäkologischen Begleiterkrankung wurde gestellt, um Information über möglicherweise zusätzlich zum Meningeom bestehende gynäkologische Erkrankungen zu erhalten. Im Fragebogen wurde differenziert zwischen Lokalisation der Erkrankung (Mamma, Uterus, Ovar) einerseits und zwischen malignem oder benignem Leiden andererseits. Zu den Operationen bei benignem Leiden wurde Hysterektomie und Ovariectomie gezählt. In Frage 2 und 3 wurde mit der Frage nach der Einnahme von Hormonpräparaten nach einem weiteren Parameter, der zu hormoneller Veränderung führt, gefragt. Es sollte beantwortet werden, ob ein Hormonpräparat eingenommen wurde bzw. wird und aus welchem Grund. Die Patientin mit Hormonpräparat wird als Konsumentin bezeichnet, wenn sie das Präparat 3 Jahre und länger eingenommen hat. Frage 4, 5, 6 und 7

wurden gestellt, um die gynäkologische Anamnese bezüglich Regelanamnese und Kinderanzahl zu vervollständigen. Frage 8 sollte die familiäre Tumoranamnese erheben.

### 3.2.7. Statistik

Die Datenerfassung und nachfolgende Rechenoperationen der Immunhistochemie erfolgte mit dem Excel-Programm, Version 1997, und dem SPSS-Programm Version 10.0.

Mit Hilfe von statistischen Rechenoperationen konnten die anhand von Immunhistochemie, Aktenerhebungs- und Fragebogen gewonnenen Daten ausgewertet werden.

Es wurde die Regressionsanalyse und der U-Test verwendet. Mit Hilfe der Regressionsanalyse sollte die Art eines möglichen Zusammenhanges zwischen den immunhistochemisch untersuchten Parametern PR, erbB2, Jak1, Stat1 und Stat2 aufgedeckt werden. Statistisch konnte so der jeweilige Regressionskoeffizient ermittelt werden. Der U-Test ist ein nichtparametrischer Test, der hier angewendet wurde, da es sich bei der Verteilung der Daten um keine Normalverteilung handelt. Mit Hilfe des U-Testes sollten Vergleiche von Expressionsstärken abhängig vom Tumorgrad durchgeführt werden. Es wurden jeweilige Signifikanz, Prüfgröße und jeweiliger Rang ermittelt. Die Expressionsstärken gingen als numerische Werte ein. Grundlage der numerischen Werte stellt das Remmele-IRS-Schema dar.

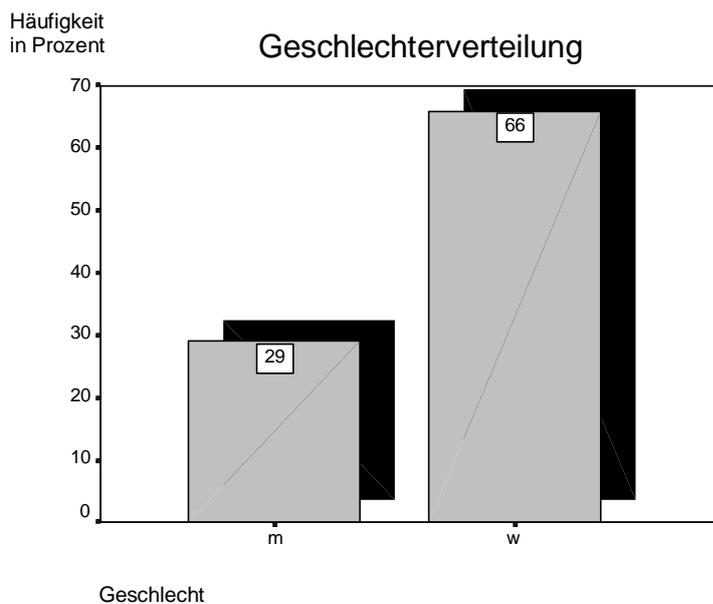
Klinische – anhand von Aktenerhebungs- und Fragebogen gewonnene – Daten wurden zunächst deskriptiv dargestellt und dann mit Hilfe des U-Tests mit der PR-Expressionsstärke verglichen.

## 4. Ergebnisse

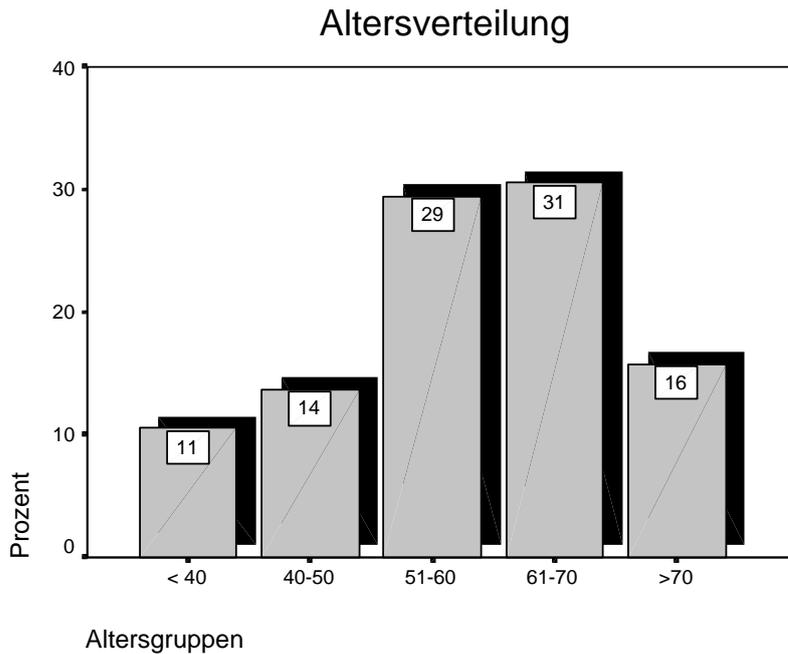
### 4.1. Alters- und Geschlechtsverteilung und histologische Subtypen

Insgesamt wurden 95 Meningeome von Patienten, die innerhalb der Jahre 1982 bis 1998 in der Neurochirurgischen Abteilung der Universitätsklinik Marburg operiert wurden, untersucht.

Die Zusammensetzung der untersuchten Meningeome entspricht mit einem Verhältnis von 2:1 dem in der Bevölkerung vorliegenden Frauen-Männer-Verhältnis. Die untersuchte Patientengruppe besteht wie aus den **Abbildungen 3** und **4** ersichtlich aus 29 männlichen Patienten (entspricht 30,5%) und 66 weiblichen Patientinnen (entspricht 69,5%) mit dem Durchschnittsalter von 58 Jahren.



**Abbildung 3:** Geschlechterverteilung der immunhistochemisch untersuchten Meningeome (Häufigkeit in Prozent)

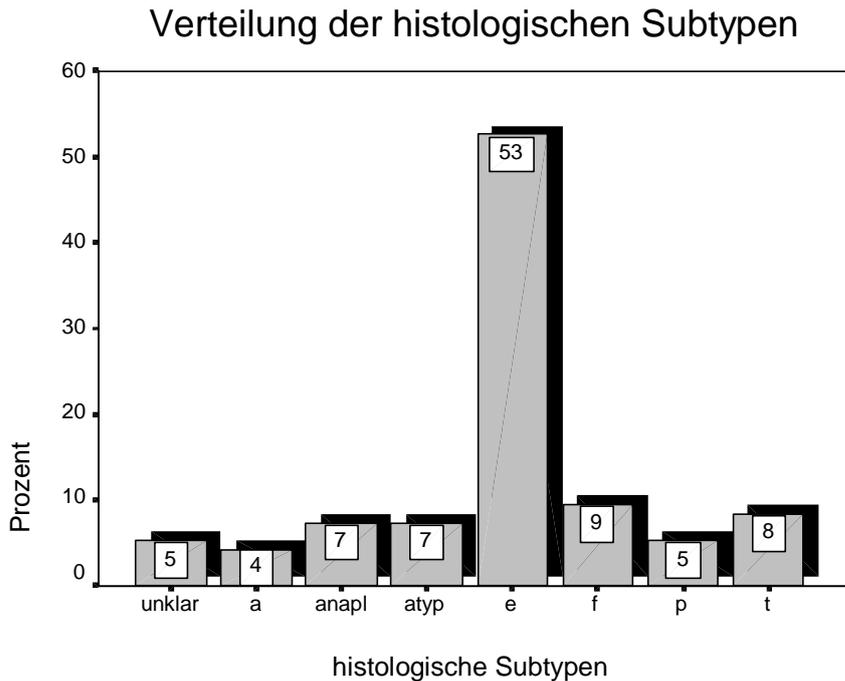


**Abbildung 4:** Altersverteilung Frauen-Männer gesamt (Häufigkeit in Prozent)

Hinsichtlich des Geschlechtes zeigen sich in der Altersverteilung nur minimale Abweichungen von der Gesamtzahl der Patienten. Die Daten werden hier nicht extra aufgeführt.

Die 95 Meningeome verteilen sich auf 86 benigne, 7 atypische und 7 anaplastische Meningeome. Die benignen Tumore lassen sich zu 61,7% (n=53) dem endotheliomatösen, zu 11,1% (n=9) dem fibromatösen, zu 9,9% (n=8) dem transitionellen, zu 6,2% (n=5) dem psammomatösen und zu 4,9% (n=4) dem angiomatösen Subtyp zuordnen. 6,2% (n=5) der WHO-Grad I- Meningeome konnten keinem histologischen Subtyp zugeordnet werden.

**Abbildung 5** gibt einen Überblick der histologischen Verteilung bezogen auf die gesamten Meningeome.

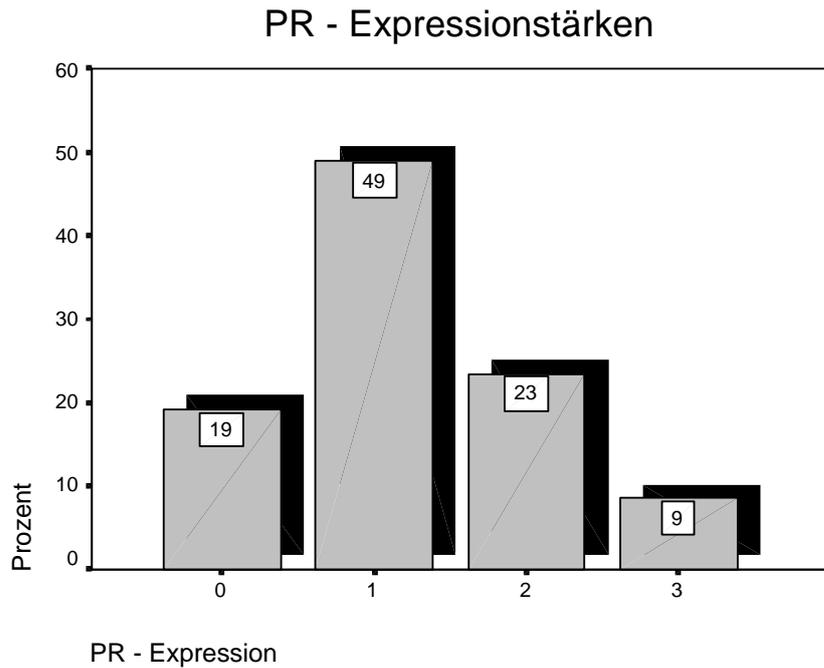


**Abbildung 5:** Prozentuale Verteilung der Subtypen aller immunhistochemisch untersuchten Meningeome (a = angiomatös, e = endotheliomatös, f = fibromatös, p = psammomatös, t = transitionel)

## 4.2. Bedeutung des Progesteron-Rezeptors für das Meningeom-Wachstum

### 4.2.1. Progesteron-Rezeptorexpression

Die positive Immunreaktion reichte von einigen gefärbten Zellkernen bis zur Anfärbung von mehr als der Hälfte des Tumors. Wie aus **Abbildung 6** ersichtlich zeigen 18 der insgesamt 95 Meningeome (18,9 %) keine Reaktion, 46 zeigen eine schwach positive (48,4%), 22 eine mäßig positive (23,2%) und 8 zeigen eine stark positive Reaktion (8,4%) für den PR. Die Immunreaktivität zeigt sich streng nukleär. Mamma-Karzinom-Gewebe galt als positive Kontrolle und zeigte eine klare nukleäre Immunreaktivität. Eines der 95 Präparate (1,1%) fiel aufgrund ungenügender Auswertbarkeit bei schlechter Schnittqualität aus der Wertung heraus.



**Abbildung 6:** Übersicht der PR-Expressionstärke bei allen immunhistochemisch untersuchten Meningeomen (0 = keine Expression, 1 = schwache Expression, 2 = mäßige Expression, 3 = starke Expression)

Die PR-Immunreaktivität fiel bei den Meningeompräparaten der weiblichen Patienten im Vergleich zu denen der männlichen Patienten tendentiell etwas stärker aus.

Expressionsstärke	Keine Reaktion	schwach	mäßig	Stark
Frauen	20%	45%	26%	9%
Männer	18%	57%	18%	7%

**Tabelle 6:** PR-Expression: Frauen-Männer im Vergleich

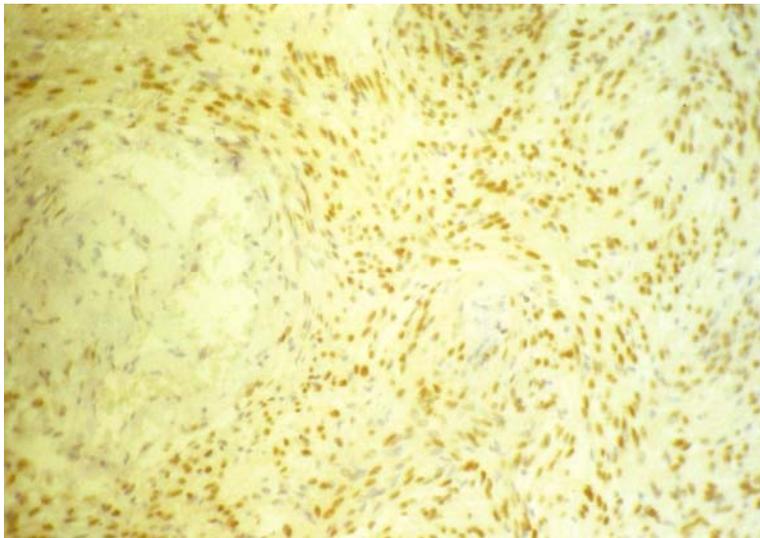
Weiterhin zeigte sich interessanterweise zwischen den niedriggradigen und den höhergradigen Meningeomen ein deutlicher Unterschied in der PR-Expression. 69 (85,2%) von den 81 niedriggradigen Meningeomen waren mäßig bis stark PR-positiv, dagegen zeigen nur 3 (42,9%) von den 7 atypischen und 4 (57,1%) von den 7 anaplastischen Tumoren eine positive Immunreaktion. Damit zeigen also nur 7 der 14 höhergradigen Meningeome (50%) überhaupt eine Immunreaktivität. Dieses ist auch aus der nachfolgend abgebildeten **Tabelle 7** ersichtlich.

Expressionsstärke	keine Reaktion	Schwach	mäßig	stark	fehlend	total
WHO-Grad-I	11(13,6%)	41(50,6%)	20(24,7%)	8(9,9%)	1(1,2%)	81(100%)
WHO-Grad-II	4 (57,1%)	2 (28,6%)	1 (14,3%)	-	-	7 (100%)
WHO-Grad-III	3 (42,9%)	3 (42,9%)	1 (14,3%)	-	-	7 (100%)
WHO-Grad-II/III	7 (50%)	5 (35,7%)	2 (14,3%)	-	-	14 (100%)

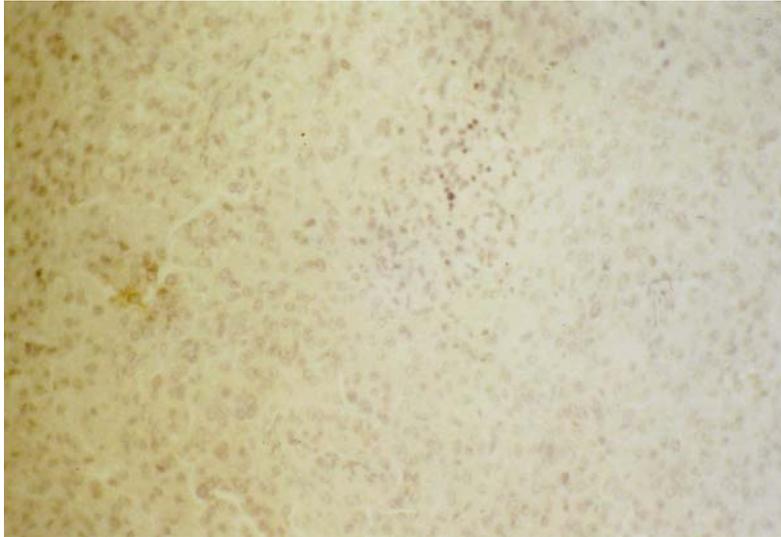
**Tabelle 7:** PR-Expression nach WHO-Grad

Beispielhaft wird in **Abbildung 7** ein fibromatöses Meningeom mit entsprechend kräftiger nukleärer Immunreaktivität gezeigt und im Vergleich dazu in **Abbildung 8** eine schwächere Immunreaktivität bei einem WHO-Grad III-Meningeom.

Es zeigte sich keine Korrelation zwischen den einzelnen histologischen Subtypen und der PR-Expression. Die dazugehörigen Daten sind nicht abgebildet.



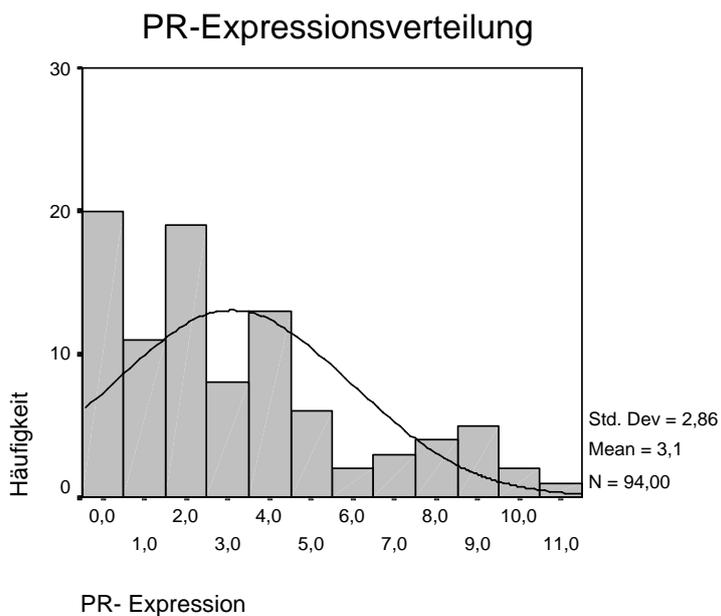
**Abbildung 7** Meningeom WHO Grad I, PR Expression



**Abbildung 8** Meningeom WHO Grad III, PR Expression

#### 4.2.2. Korrelation der Progesteron-Rezeptorexpression mit dem Tumorgrad

Um zu erfassen, ob ein signifikanter Unterschied von PR- Expression in Abhängigkeit vom Tumorgrad vorliegt, wurde die mittlere Expression der Grad I-Tumore mit der der Grad II- und Grad III-Tumore verglichen. Aus **Abbildung 9** ist ersichtlich, dass die PR-Expression nicht normalverteilt ist, so dass der U-Test nach Mann und Whitney zur Anwendung kam.



**Abbildung 9:** Histogramm einer nicht normalverteilten PR – Expressionsverteilung (linksgipfelige Verteilung)

Interessanterweise zeigten die niedriggradigen Meningeome eine signifikant stärkere PR – Expression als die Meningeome von Grad II und Grad III ( $p= 0,001$  bei PR – Expression im U – Test nach Mann und Whitney) (Gruppe C) Es lässt sich demnach ein höchst signifikantes und ein sehr signifikantes Ergebnis nachweisen. Ähnliche Signifikanzen zeigen sich auch, wenn man die Grad I-Tumore nach dem Geschlecht teilt (Gruppe A und B). Hinsichtlich des Geschlechts zeigte sich bei der PR-Expression kein signifikanter Unterschied ( $p>0,05$ ) (Gruppe D).

Gruppen	Testgrößen	PR	ErbB2	Jak1	Stat1	Stat2
A	Prüfgröße Z:	<b>-3,434</b>	<b>-2,503</b>	<b>-3,196</b>	-0,375	-0,845
	Signifikanz :	<b>0,001</b>	<b>0,012</b>	<b>0,001</b>	0,708	0,398
B	Prüfgröße Z:	<b>-2,340</b>	<b>-2,801</b>	<b>-2,461</b>	-0,986	-0,770
	Signifikanz:	<b>0,019</b>	<b>0,005</b>	<b>0,014</b>	0,324	0,441
C	Prüfgröße Z:	<b>-3,293</b>	<b>-2,783</b>	<b>-3,182</b>	-0,621	-0,877
	Signifikanz:	<b>0,001</b>	<b>0,005</b>	<b>0,001</b>	0,535	0,380
D	Prüfgröße Z:	-1,279	-0,816	-0,932	-0,935	-0,348
	Signifikanz:	0,201	0,414	0,351	0,350	0,728

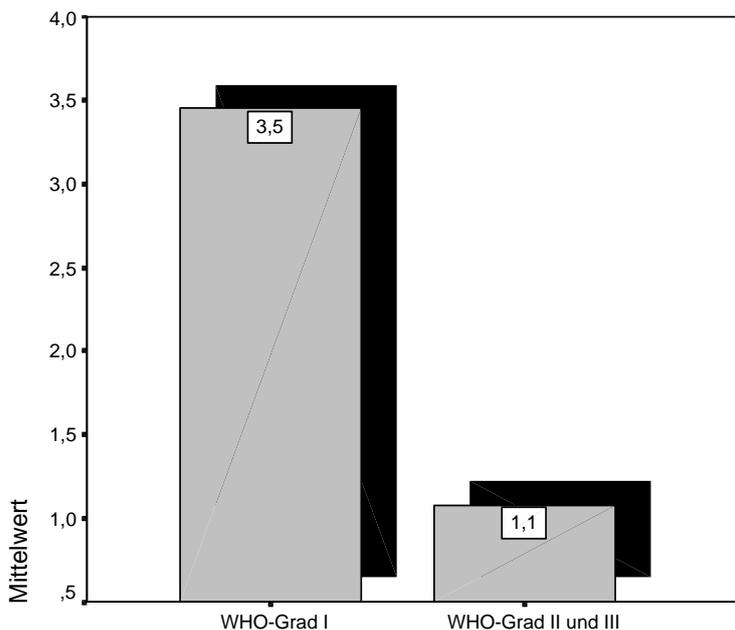
**Tabelle 8:** Ergebnisse U – Test, Signifikanz bei  $p<0,05$  (geschwärzt)

(A=Frauen Grad I gegen insgesamt Grad II und III, B=Männer Grad I gegen insgesamt Grad II und III, C=insgesamt Grad I gegen insgesamt Grad II und III, D=Frauen Grad I gegen Männer Grad I)

In **Tabelle 9** sind nochmal die mittleren Expressionsstärken erfasst und nach dem Remmele-Score zusammenfassend dargestellt. Auf die entsprechenden Ergebnisse zur Expression von erbB2 und Jak/Stat wird später noch genauer eingegangen. In **Abbildung 10** ist zur Veranschaulichung der Daten der Mittelwertvergleich der PR- dargestellt.

Antikörper	Frauen Grad I	Männer Grad I	insgesamt Grad I	Insgesamt Grad II und III
<b>PR</b>	<b>3,677</b>	<b>2,929</b>	<b>3,008</b>	<b>1,079</b>
<b>ErbB2</b>	<b>2,943</b>	<b>3,165</b>	<b>3,453</b>	<b>1,243</b>
<b>JAK1</b>	<b>7,418</b>	<b>6,957</b>	<b>7,282</b>	<b>4,386</b>
STAT1	7,136	7,680	7,306	6,908
STAT2	6,861	7,096	6,933	5,700

**Tabelle 9:** Mittelwerte der Expressionsstärke von den fünf immunhistochemisch untersuchten Antikörpern PR, erbB2, Jak1, Stat1 und Stat2 abhängig von Tumorgrad und Geschlecht



**Abbildung 10:** Mittelwertvergleich der PR-Expression (Remmele Score)

Es zeigt sich eine signifikant niedrigere Expression des PR in höhergradigen Meningeomen ( $p=0,001$ , U-Test)

Die PR-Expression weist bei WHO-Grad I-Meningeomen einen Mittelwert von 3,453, bei den höhergradigen WHO-Grad II und III-Tumoren einen Mittelwert von nur 1,079 auf.

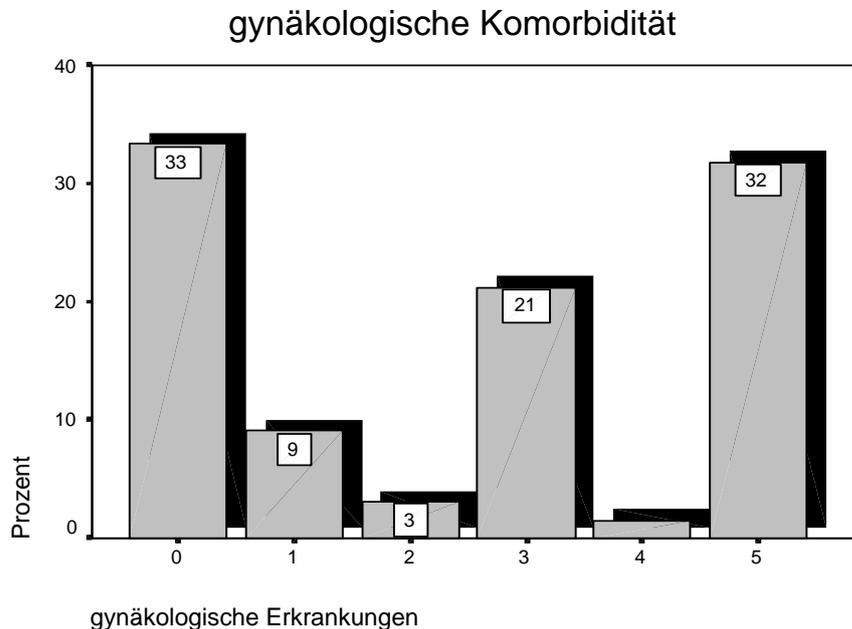
#### 4.2.3. Progesteronrezeptor-Expression in Abhängigkeit von gynäkologischer Komorbidität und Einnahme von Ovulationshemmern

Wie in Abschnitt 3 (Material und Methoden) bereits beschrieben liegen dem klinischen Teil der Arbeit neben den Aktenerhebungsbögen zur Ergänzung der gynäkologischen Anamnese Fragebögen zugrunde. 49 der an die 66 Patientinnen, von denen auch das Meningeomgewebe immunhistochemisch untersucht wurde, verschickten Fragebögen konnten ausgewertet werden (74%). Die restlichen Fragebögen mussten wegen unvollständiger oder unkorrekter Antworten, unbekannt verzogener oder verstorbener Patienten verworfen werden.

Die Analyse des Fragebogens bezieht sich – wie in Abschnitt 3 näher erläutert – auf Parameter, die hormonelle Veränderungen bei Frauen widerspiegeln. Wir erhielten so Informationen über Menopausenstatus, frühere gynäkologische Operationen und Schwangerschaften. Als gynäkologische Operationen gelten auch Ovariectomie beidseits und Hysterektomie, da aus beiden auch Hormonveränderungen resultieren. Die Fragebogenauswertung wurde deskriptiv vorgenommen.

Von den Meningeompatientinnen leiden 23 zusätzlich unter einer bestehenden gynäkologischen Erkrankung (34,8%), bei 21 der Patientinnen ist bisher keine gynäkologische Erkrankung bekannt (31,8%), bei 22 Patientinnen ist diesbezüglich aufgrund bereits genannter Gründe keine Angabe zu machen (33,3). Bei den Patientinnen mit gynäkologischer Erkrankung in der Krankengeschichte liegt in 3 Fällen eine maligne (13%), in 20 Fällen eine benigne (87%) gynäkologische Erkrankung vor.

Eine zusammenfassende Darstellung über die gynäkologische Komorbidität gibt **Abbildung 11**.

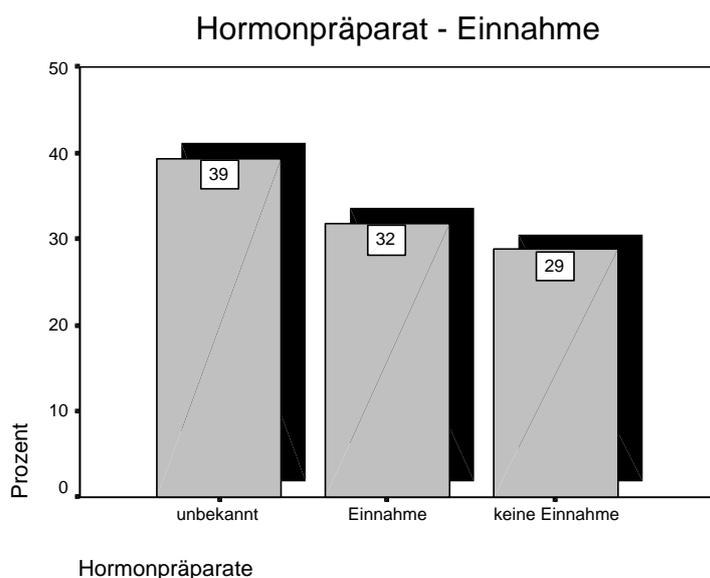


**Abbildung 11:** Darstellung der Verteilung gynäkologischer Begleiterkrankungen bei Meningeom-Patientinnen

( 0=unbekannt, 1=benigne Erkrankung der Mamma, 2=maligne Erkrankung der Mamma, 3=benigne Erkrankung an Uterus oder Ovar, 4=maligne Erkrankung an Uterus oder Ovar, 5=keine gynäkologische Begleiterkrankung bekannt)

Unter den gutartigen Veränderungen der Brust sind Fibrome zu verstehen. Gutartige Veränderungen am Uterus waren in den meisten Fällen Myome oder es wurde eine Veränderung der menstruellen Blutung bzw. das Auftreten einer postmenopausalen Blutung ohne Nachweis von Malignität angegeben, welche zur Hysterektomie, meist aufgrund des postmenopausalen Alters mit Ovariectomie kombiniert, führten. Aufgrund von unvollständig oder nicht korrekt ausgefülltem Fragebogen, unbekannt verzogener oder verstorbener Patientin kam es zu dem Anteil von Patientinnen mit fehlender/ unbekannter gynäkologischer Anamnese.

Bei der Frage nach der familiären Tumoranamnese boten sich keine Auffälligkeiten. Mit der Frage nach der Einnahme von Hormonpräparaten (Frage 2 und 3) und der Anzahl der Schwangerschaften (Frage 7) wurden Parameter erfasst, die zu hormoneller Veränderung führen. Die Einnahme von Hormonpräparaten wurde nur als solche gewertet, wenn die Patientin das entsprechende Präparat mindestens über die Dauer von drei Jahren und selbstverständlich vor der Meningeomoperation bzw. dem Meningeomaufreten eingenommen hat. 21 der 66 Patientinnen nahmen Hormonpräparate mindestens über 3 Jahre (31,8%). Bei 19 Frauen lag keine solche Hormoneinnahme über die Dauer von drei Jahren vor (28,8%). Bei 26 Frauen konnten diese Daten aufgrund von unvollständig ausgefülltem Fragebogen, unbekannt verzogener oder verstorbener Patientin nicht ermittelt werden (39,4%). Die Anzahl der Schwangerschaften reichten von 0 bis 6.



**Abbildung 12:** Darstellung der Verteilung von Hormonpräparat-Einnahme bei Meningeom-Patientinnen

Zu dem Anteil von Patientinnen mit Unkenntnis bezüglich einer möglichen Hormonpräparate-Einnahme kam es aufgrund von unvollständig ausgefülltem Fragebogen, unbekannt verzogener oder verstorbener Patientin.

Frage 4 und 5 zur Kenntnis über die Regelanamnese ergaben, dass interessanterweise ein Teil der 49 Frauen, von denen der Fragebogen ausgewertet werden konnte, einen sehr späten Beginn der Regelblutung angeben.

Die Erhebung der gynäkologischen Anamnese ergab, dass immerhin 23 der untersuchten Meningeompatientinnen unter zusätzlich bestehender gynäkologischer Erkrankung leiden (34,8%). Dabei handelt es sich in 3 Fällen um eine maligne (13%), in 20 Fällen um eine benigne (87%) gynäkologische Erkrankung. 21 der 66 Patientinnen, von denen die gynäkologische Anamnese bei 26 Frauen nicht erhoben werden konnte, nahmen Hormonpräparate über mindestens 3 Jahre (31,8%). Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen PR-Status und gynäkologischer Begleiterkrankung mittels U-Test liegt nicht vor. Die Daten sind hier nicht gezeigt.

#### 4.3. Wirkung der Progesteronrezeptorexpression

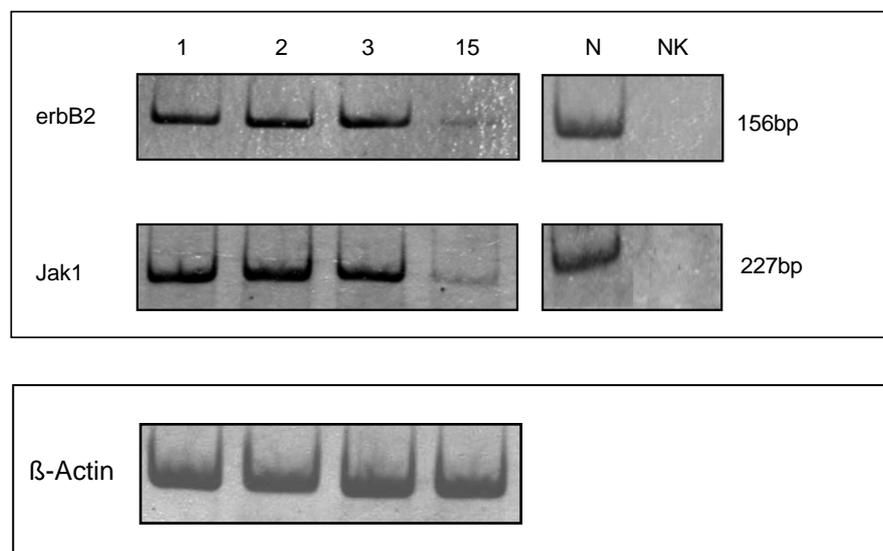
##### 4.3.1. Korrelation der PR Expression mit dem Wachstumsfaktorrezeptor erbB2

Zum Nachweis einer transkriptionellen Regulation von erbB2 – die transkriptionelle Regulation des PR-Genes ist bereits bekannt (z.B. Carroll et al.1993) – wurde an 25 Meningeomen exemplarisch die RT-PCR durchgeführt. Die Meningeome setzen sich – wie in **Tabelle 10** abgebildet – zusammen.

	Grad I	Grad II	Grad III	Insges.
W	17	3	2	22
M	1	1	1	3
Insges.	18	4	3	25

**Tabelle 10:** Zusammensetzung der Gefrierblöcke zur RT PCR

In **Abbildung 13** werden beispielhaft die Ausschnitte der angefertigten PAA-Gele gezeigt. In **Abbildung 13** sind auf einem Gel ausschnittsweise die Banden von erbB2 (oben, 156bp) und  $\beta$ -Actin (unten,) zu sehen. Die aufgetragenen Meningeomproben 1, 2, und 3 entsprechen Grad I-Meningeomen. Bei Meningeom 1 handelt es sich um ein endotheliomatöses, bei Meningeom 2 um ein transitionelles und bei Meningeom 3 um ein fibromatöses Meningeom. Meningeomprobe 15 ist ein anaplastisches Grad III-Meningeom. Die Abkürzung *N* in **Abbildung 13** entspricht der Normalgewebe-Kontrolle; bei *NK* handelt es sich um die Negativkontrolle. Die Amplifikate der Transkriptionskontrolle  $\beta$ -Aktin stellen sich in den 4 ausschnittsweise abgebildeten Fällen gleichmäßig dar. Das zeigt, dass gleichmäßige Mengen an RNA eingesetzt wurden. ErbB2 zeigt sich auf mRNA-Ebene in Grad I-Meningeomen (Probe 1-3) im Vergleich zu höhergradigen Meningeomen (Probe 15) stärker exprimiert. Daraus ergibt sich, dass erbB2 in Meningeomen auf mRNA-Ebene exprimiert und transkriptionell reguliert wird.

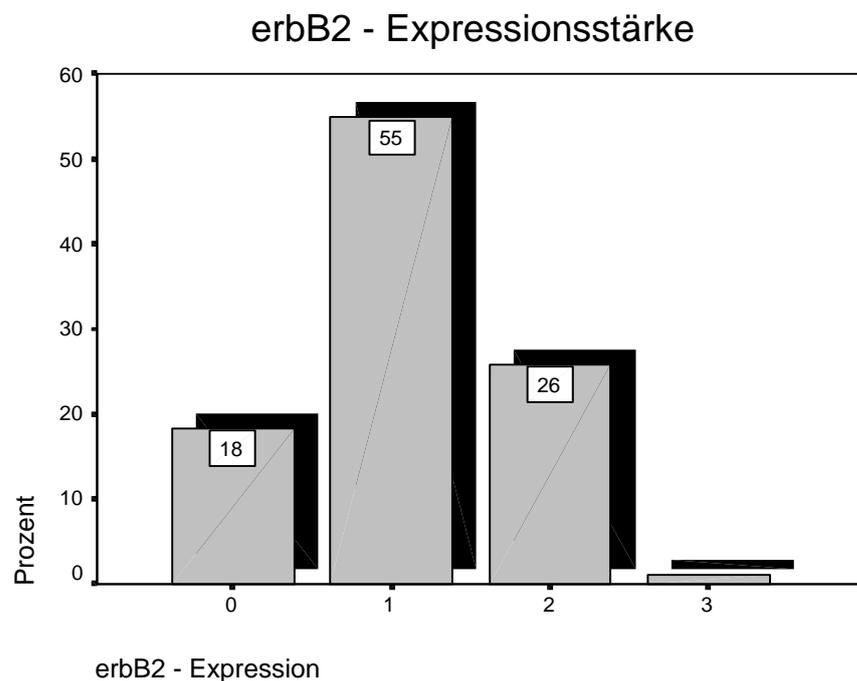


**Abbildung 13:** Expression von erbB2 und  $\beta$ -Actin in der RT-PCR

Um festzustellen, ob auch die Expression von erbB2 eine Rolle bei der Pathogenese von Meningeomen spielt, wurde die Expression vom erbB2- Protein in Meningeomen

immunohistochemisch untersucht. Die Expression reichte von fehlendem oder wenig gefärbten Zytoplasma bis zur Anfärbung von mehr als der Hälfte des Tumors.

Wie aus **Abbildung 14** ersichtlich zeigten 17 der insgesamt 95 Meningeome (17,9%) keine Reaktion, 51 zeigten eine schwache (53,7%), 24 eine mäßige (25,3%) und 1 Meningeom zeigte eine starke Reaktion (1,1%) für erbB2. Die Immunreaktivität zeigte sich zytoplasmatisch. Zwei der 95 Präparate (2,1%) fielen aufgrund ungenügender Auswertbarkeit bei schlechter Schnittqualität aus der Wertung heraus.



**Abbildung 14:** erbB2-Expressionstärke

0= keine Reaktion, 1= schwache Reaktion(1-3), 2= mäßige Reaktion( 4-8), 3= starke Reaktion( 9-12)

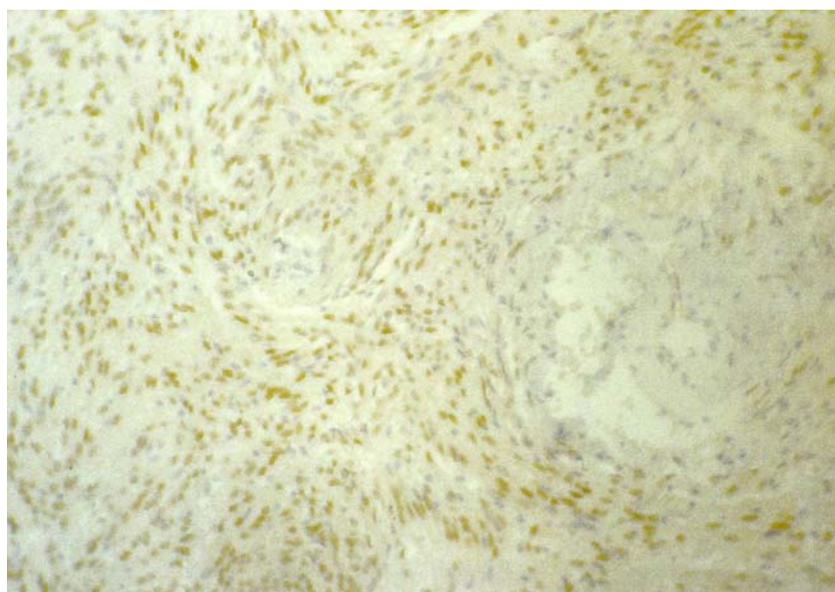
Interessanterweise zeigten sich wie bei der PR-Expression auch bei der Verteilung der erbB2-Expression deutliche Unterschiede zwischen den niedriggradigen und den höhergradigen Meningeomen. 70 von den 81 WHO-Grad I-Tumoren (86,4%), 3 von den 7 atypischen (42,9%) und 3 von den 7 anaplastischen (42,9%) Tumoren waren erbB2-positiv. Die anaplastischen und atypischen Meningeome exprimierten nicht nur weniger häufig erbB2, sondern wiesen auch niedrigere Expressionsstärken der erbB2-Expression als die benignen Meningeome auf. Bei den höhergradigen Meningeomen war kein Präparat stark und nur eines mäßig positiv gefärbt. Keine und schwache Expression überwogen.

Expressionsstärke	keine Reaktion	Schwach	mäßig	stark	fehlend	total
WHO – Grad – I	9 (11,1%)	46(56,8%)	23(28,4%)	1 (1,2%)	2(2,5%)	81(100%)
WHO – Grad – II	4 (57,1%)	2 (28,6%)	1 (14,3%)	-	-	7 (100%)
WHO – Grad – III	4 (57,1%)	3 (42,9%)	-	-	-	7 (100%)
WHO – Grad – II/III	8 (57,1%)	5 (35,7%)	1 (7,1%)	-	-	14(100%)

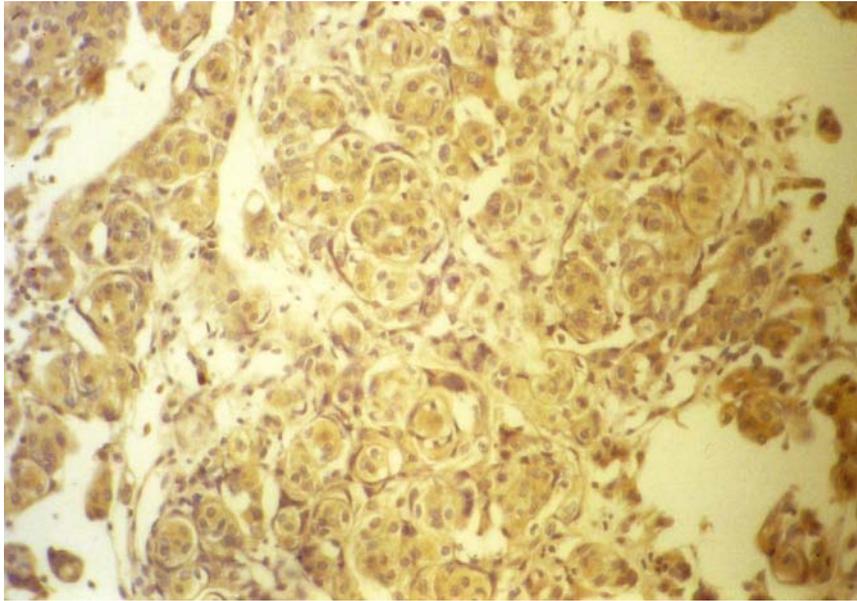
**Tabelle 11:** erbB2-Expression nach WHO-Grad

Beispielhaft werden auch hier ein niedriggradiges Meningeom mit kräftiger zytoplasmatischer erbB2-Immunreaktion und ein höhergradiges Meningeom mit fehlender Immunreaktivität abgebildet.

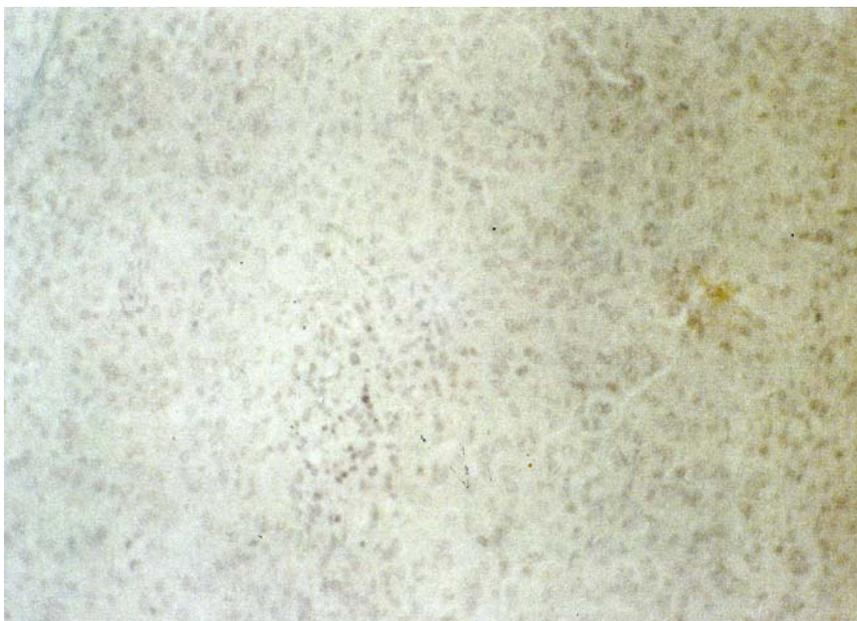
Damit ein besserer Vergleich möglich ist, sind an dieser Stelle noch einmal die Färbungen mit dem PR-Antikörper, jetzt im Vergleich mit dem erbB2-Antikörper von demselben Grad I-Tumor nebeneinander gezeigt (**Abbildung 15** und **16**). Es lässt sich bei beiden Abbildungen eine mäßig starke Immunreaktivität erkennen. Die **Abbildungen 17** und **18** zeigen die PR- und die erbB2-Expression des selben Grad III-Meningeoms. Hierbei zeigt sich eine negative Immunreaktivität.



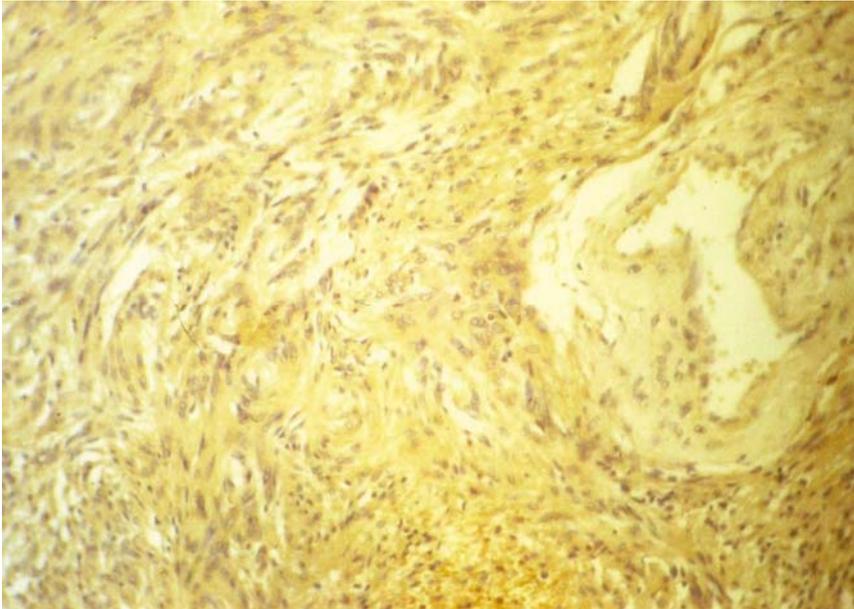
**Abbildung 15:** PR-Expression bei einem WHO-Grad I-Meningeom



**Abbildung 16:** erbB2-Expression bei dem selben WHO-Grad I-Meningeom

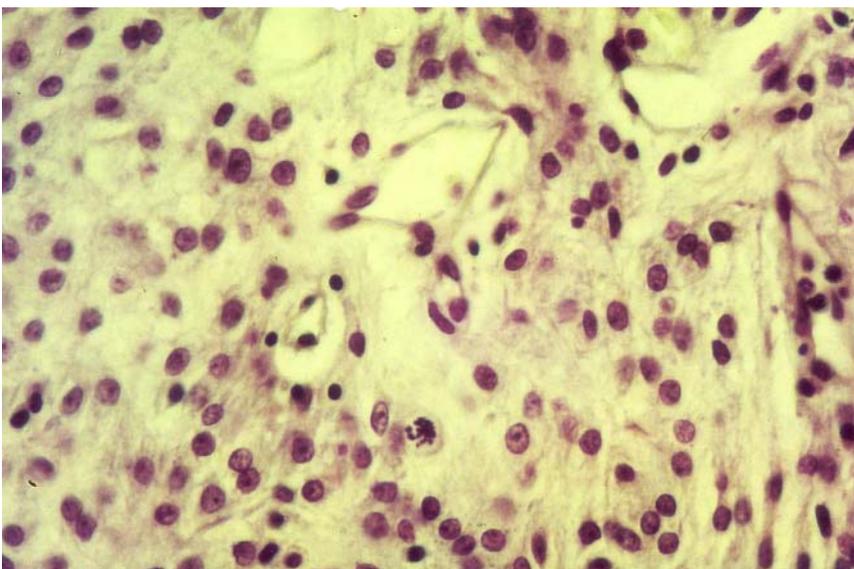


**Abbildung 17:** PR-Expression bei einem WHO-Grad III-Meningeom

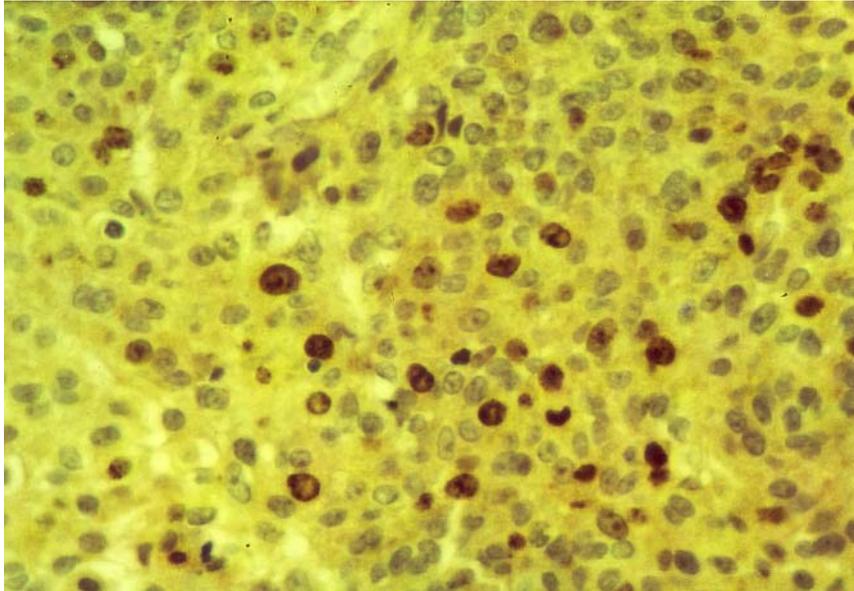


**Abbildung 18:** erbB2-Expression bei dem WHO-Grad III-Meningeom

Die höhergradigen Meningeome, die interessanterweise nur schwache bis keine Expression von PR und erbB2 zeigen, sind weiterhin durch hohe Proliferationstendenz gekennzeichnet. Nachfolgende Fotoabbildungen zeigen die Kresyl-Violett-Färbung bei zwei höhergradigen Meningeomen, die Mitosen sichtbar macht, und die immunhistochemische Färbung mit dem Antikörper Mib1, der das Proliferationsantigen Ki67 zeigt.



**Abbildung 19:** Kresyl-Violett-Färbung bei einem Grad III-Meningeom



**Abbildung 20:** Mib1-Färbung bei einem Grad III-Meningeom

Interessanterweise zeigten die niedriggradigen Meningeome sowohl signifikant stärkere PR – als auch signifikant stärkere erbB2 – Expression als die Meningeome von Grad II und Grad III ( $p=0,001$  bei PR – Expression und  $p=0,005$  im U – Test nach Mann und Whitney) (Gruppe C) Es lässt sich demnach ein höchst signifikantes und ein sehr signifikantes Ergebnis nachweisen. Ähnliche Signifikanzen zeigen sich auch, wenn man die Grad I-Tumore nach dem Geschlecht teilt (Gruppe A und B). Hinsichtlich des Geschlechts zeigte sich bei der PR-erbB2-Expression kein signifikanter Unterschied ( $p>0,05$ ) (Gruppe D).

Gruppen	Testgrößen	PR	ErbB2	Jak1	Stat1	Stat2
A	Prüfgröße Z:	<b>-3,434</b>	<b>-2,503</b>	<b>-3,196</b>	-0,375	-0,845
	Signifikanz :	<b>0,001</b>	<b>0,012</b>	<b>0,001</b>	0,708	0,398
B	Prüfgröße Z:	<b>-2,340</b>	<b>-2,801</b>	<b>-2,461</b>	-0,986	-0,770
	Signifikanz:	<b>0,019</b>	<b>0,005</b>	<b>0,014</b>	0,324	0,441
C	Prüfgröße Z:	<b>-3,293</b>	<b>-2,783</b>	<b>-3,182</b>	-0,621	-0,877
	Signifikanz:	<b>0,001</b>	<b>0,005</b>	<b>0,001</b>	0,535	0,380
D	Prüfgröße Z:	-1,279	-0,816	-0,932	-0,935	-0,348
	Signifikanz:	0,201	0,414	0,351	0,350	0,728

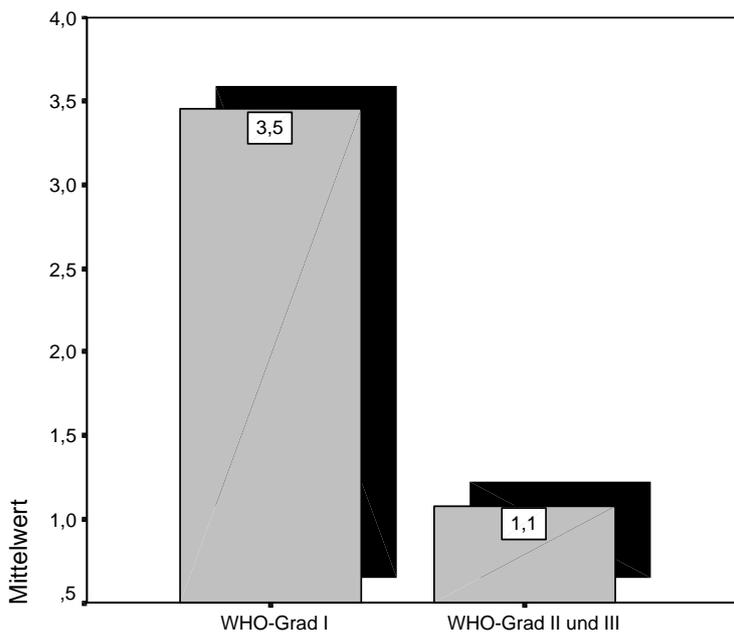
**Tabelle 12:** Ergebnisse U – Test, Signifikanz bei  $p<0,05$  (geschwärzt)

(A=Frauen Grad I gegen insgesamt Grad II und III, B=Männer Grad I gegen insgesamt Grad II und III, C=insgesamt Grad I gegen insgesamt Grad II und III, D=Frauen Grad I gegen Männer Grad I)

In **Tabelle 13** sind noch einmal die mittleren Expressionsstärken erfasst und nach dem Remmele-Score zusammenfassend dargestellt. In **Abbildung 21** und **22** sind zur Veranschaulichung sowohl der Mittelwertvergleich der PR-Expression als auch der Mittelwertvergleich der erbB2-Expression dargestellt.

Antikörper	Frauen Grad I	Männer Grad I	insgesamt Grad I	Insgesamt Grad II und III
<b>PR</b>	<b>3,677</b>	<b>2,929</b>	<b>3,008</b>	<b>1,079</b>
<b>ErbB2</b>	<b>2,943</b>	<b>3,165</b>	<b>3,453</b>	<b>1,243</b>
<b>JAK1</b>	<b>7,418</b>	<b>6,957</b>	<b>7,282</b>	<b>4,386</b>
STAT1	7,136	7,680	7,306	6,908
STAT2	6,861	7,096	6,933	5,700

**Tabelle 13:** Mittelwerte der Expressionsstärke von den fünf Immunhistochemisch untersuchten Antikörpern PR, erbB2, Jak1, Stat1 und Stat2 abhängig von Tumorgrad und Geschlecht

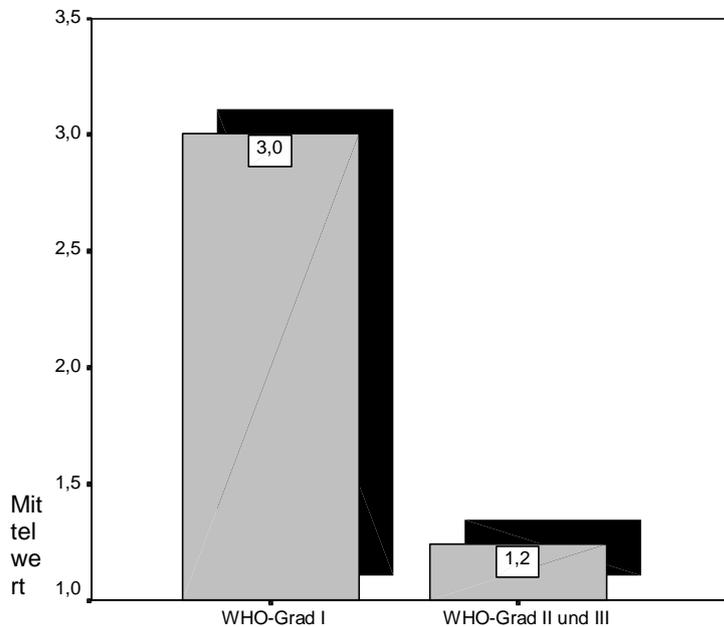


**Abbildung 21:** Mittelwertvergleich der PR-Expression

Es zeigt sich eine signifikant niedrigere Expression des PR in höhergradigen Meningeomen ( $p < 0,05$ , U-Test)

Die PR-Expression weist bei WHO-Grad I-Meningeomen einen Mittelwert von 3,453, bei den höhergradigen WHO-Grad II und III-Tumoren einen Mittelwert von nur 1,079 auf. Ein vergleichbares Bild weist die Expression des erbB2-Onkoproteins auf. Hier

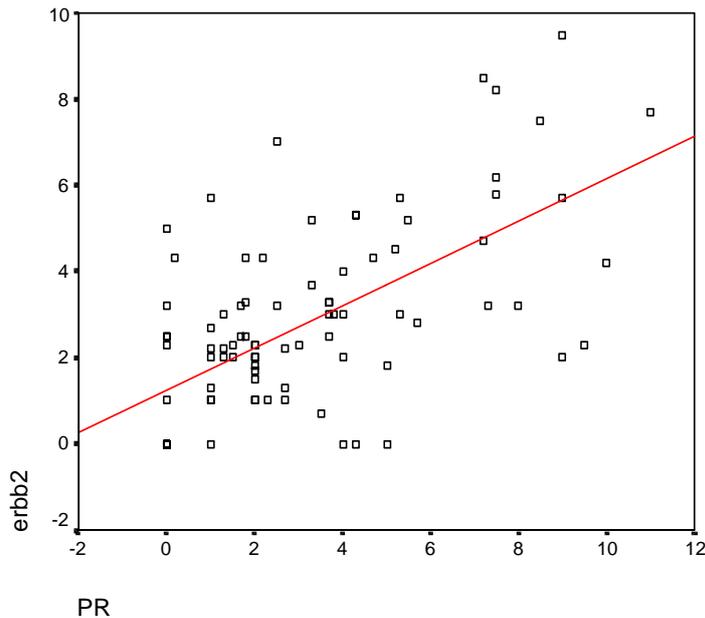
zeigt sich bei den niedriggradigen Meningeomen ein Mittelwert von 3,008, bei den höhergradigen Meningeomen ein Mittelwert von nur 1,243.



**Abbildung 22:** Mittelwertvergleich der erbB2-Expression

Es zeigt sich eine signifikant niedrigere Expression von erbB2 in höhergradigen Meningeomen ( $p < 0,05$ , U-Test)

Tumore mit starker PR-Expression zeigten auch eine starke erbB2-Expression, Tumore mit geringer bis fehlender PR-Expression zeigten ebenfalls signifikant geringere erbB2-Expression. Mit Hilfe der Regressionsanalyse ergab sich hierbei mit einem Regressionskoeffizienten von 0,628 ein signifikantes Ergebnis. In nachfolgender **Abbildung 23** ist die dazugehörige Regressionsgerade dargestellt.



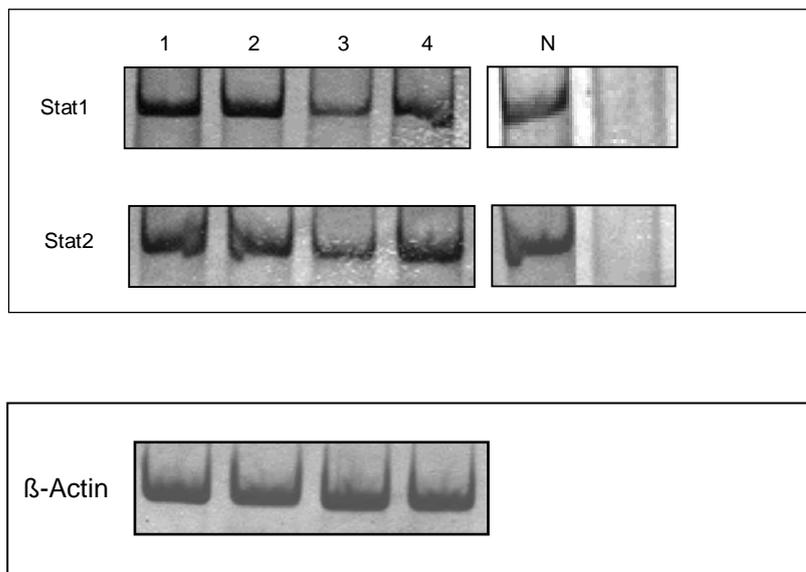
**Abbildung 23:** Regressionsgerade PR gegen erbB2  
R=0,628

#### 4.3.2. Korrelation der PR Expression mit dem Jak-Stat-Signalweg

Zum Nachweis einer transkriptionellen Regulation von Jak 1, Stat 1 und Stat 2 – die transkriptionelle Regulation des PR-Genes ist bereits bekannt (z.B. Carroll et al.1993) – wurde an 25 Meningeomen exemplarisch die RT-PCR durchgeführt. Die Meningeome setzen sich – wie in **Tabelle 10** abgebildet – zusammen.

In **Abbildung 24** werden beispielhaft die Ausschnitte der angefertigten PAA-Gele gezeigt. In **Abbildung 24** sind auf einem Gel ausschnittsweise die Banden von STAT1 und 2 (oben) und  $\beta$ -Actin (unten) zu sehen. Die aufgetragenen Meningeomproben 1, 2, 3 und 4 entsprechen Grad I-Meningeomen. Bei Meningeom 1 handelt es sich um ein endotheliomatöses, bei Meningeom 2 um ein transitionelles und bei Meningeom 3 und 4 jeweils um ein fibromatöses Meningeom. Die Abkürzung *N* in **Abbildung 24** entspricht der Normalgewebe-Kontrolle; bei *NK* handelt es sich um die Negativkontrolle. Die Amplifikate der Transkriptionskontrolle  $\beta$ -Aktin stellen sich in den 4 ausschnittsweise abgebildeten Fällen gleichmäßig dar. Das zeigt, dass gleichmäßige Mengen an RNA eingesetzt wurden. Jak und Stat zeigen sich auf

messenger-RNA-Ebene in den Grad I-Meningeomen (Probe 1 bis 4) leicht unterschiedlich exprimiert. Daraus ergibt sich, dass Jak 1, Stat 1 und Stat 2 in Meningeomen auf m-RNA-Ebene exprimiert und damit transkriptionell reguliert werden.

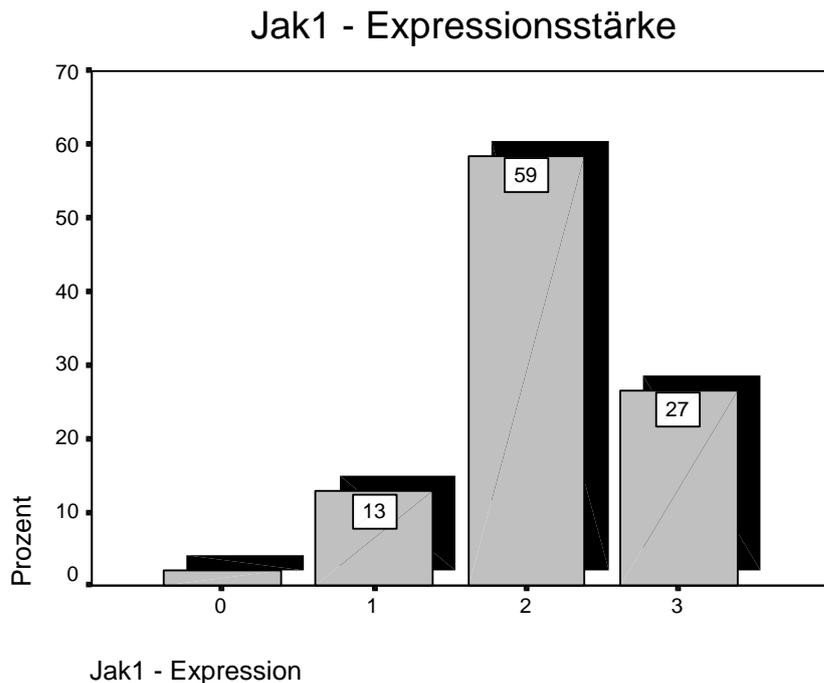


**Abbildung 24:** Expression von Stat1 und Stat2 in der RT-PCR

Stat1- und Stat2-Expression zeigt sich in den Meningeomen 1-4 leicht unterschiedlich, aber exprimiert. Das Normalgewebe (N) zeigt Expression. Bei NK handelt es sich um die Negativkontrolle. Die β-Aktinbanden stellen sich gleichmäßig dar.

#### 4.3.3. Die Jak1-Expression

92 der insgesamt 95 Meningeome zeigten eine positive Reaktion für Jak1 (96,8%). 12 der 95 Tumore waren schwach positiv (12,6%), 55 mäßig positiv (57,9%) und 25 stark positiv (26,3%). Die Immunreaktivität zeigte sich zytoplasmatisch. Bei 2 Meningeomen blieb die Expression aus (2,1%). Ein Präparat (1,1%) konnte aufgrund schlechten Materials nicht in die Wertung eingehen.



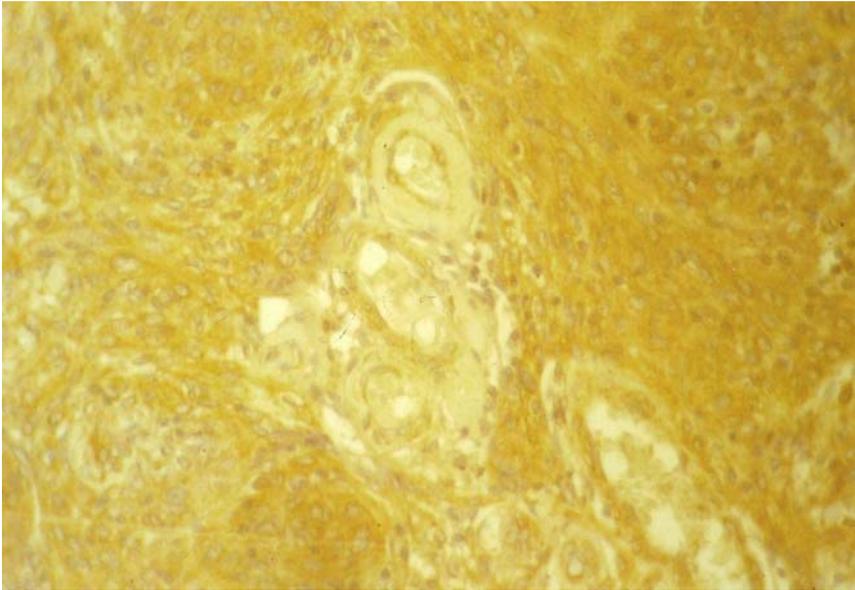
**Abbildung 25:** Jak1-Expressionstärke

Auch bei Jak1 zeigen sich hinsichtlich des Tumorgades deutliche Unterschiede in der Expressionsverteilung. Mäßig bis starke Immunreaktion zeigen 71 der 81 niedriggradigen Meningeome (87,6%), dagegen ist nur bei 9 der 14 höhergradigen Meningeome mäßige bis starke Expression für Jak1 nachzuweisen (64,2%).

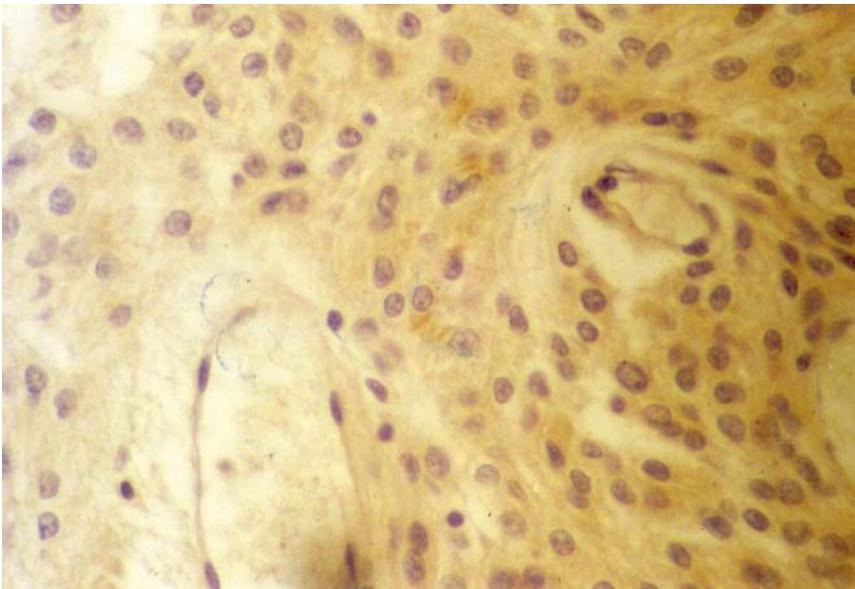
Expressionsstärke	keine Reaktion	Schwach	mäßig	stark	fehlend	total
WHO – Grad – I	-	9(11,1%)	47(58,0%)	24(29,6%)	1(1,2%)	81(100%)
WHO – Grad – II	1 (14,3%)	1(14,3%)	4 (57,1%)	1(14,3%)	-	7 (100%)
WHO – Grad – III	1 (14,3%)	2(28,6%)	4 (57,1%)	-	-	7 (100%)
WHO – Grad – II/III	2 (14,3%)	3(21,4%)	8 (57,1%)	1 (7,1%)	-	14(100%)

**Tabelle 14:** Jak1-Expression nach WHO-Grad

Nachfolgende Abbildungen zeigen, dass Jak1 bei Grad I-Meningeome stark exprimiert, dagegen in höhergradigen Meningeomen teilweise schwach exprimiert wird.



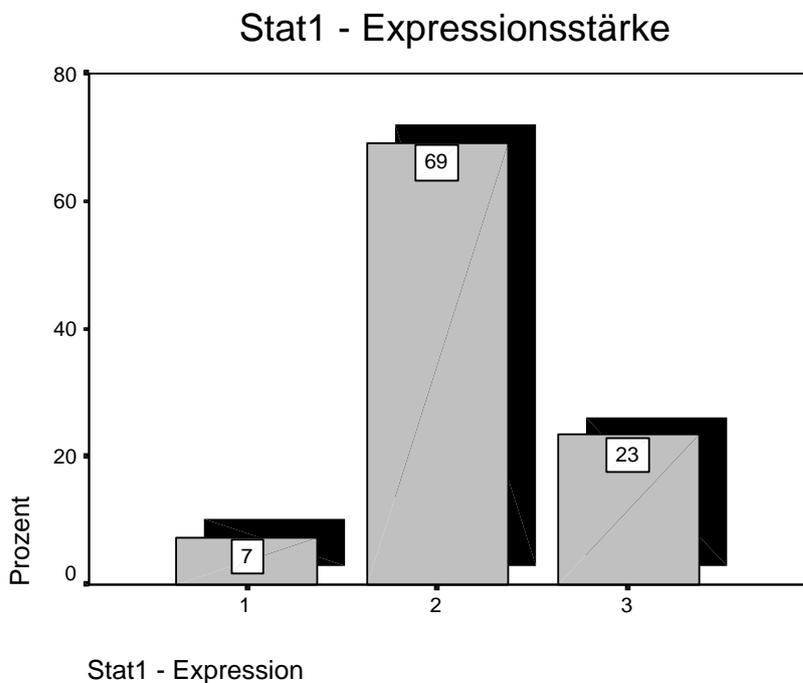
**Abbildung 25:** Jak1-Expression bei WHO-Grad I-Meningeom  
Es zeigt sich eine starke Expression.



**Abbildung 26:** Jak1-Expression bei WHO-Grad III-Meningeom  
Es zeigt sich eine schwache Expression

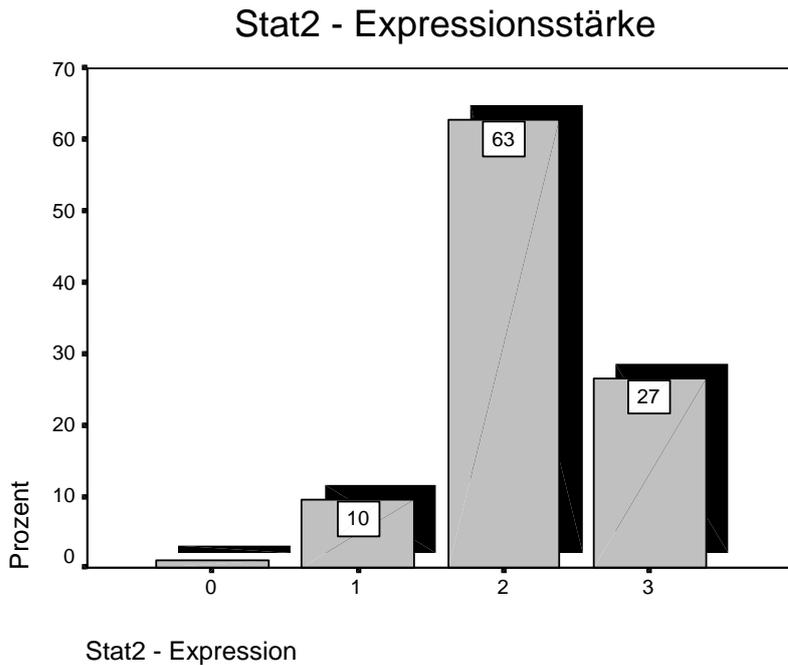
#### 4.3.4. Die Stat-Expression

Alle 94 ausgewerteten Meningeompräparate zeigten eine positive Reaktion für Stat1. Ein Präparat konnte aufgrund schlechten Materials nicht in die Wertung miteingehen. 93 der 95 Meningeome sind positiv für Stat2 (97,8%). Ein Präparat fiel auch hier wegen schlechten Materials aus der Wertung heraus (1,1%). Die Immunreaktivität zeigt sich zytoplasmatisch.



**Abbildung 27:** Stat1 – Expression

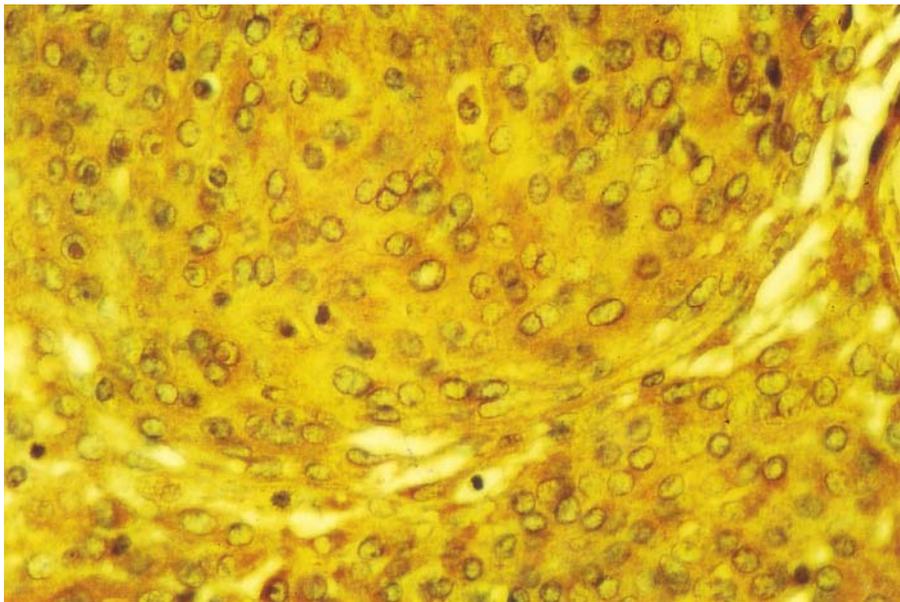
0= keine Reaktion, 1= schwache Reaktion(1-3), 2= mäßige Reaktion( 4-8), 3= starke Reaktion( 9-12)



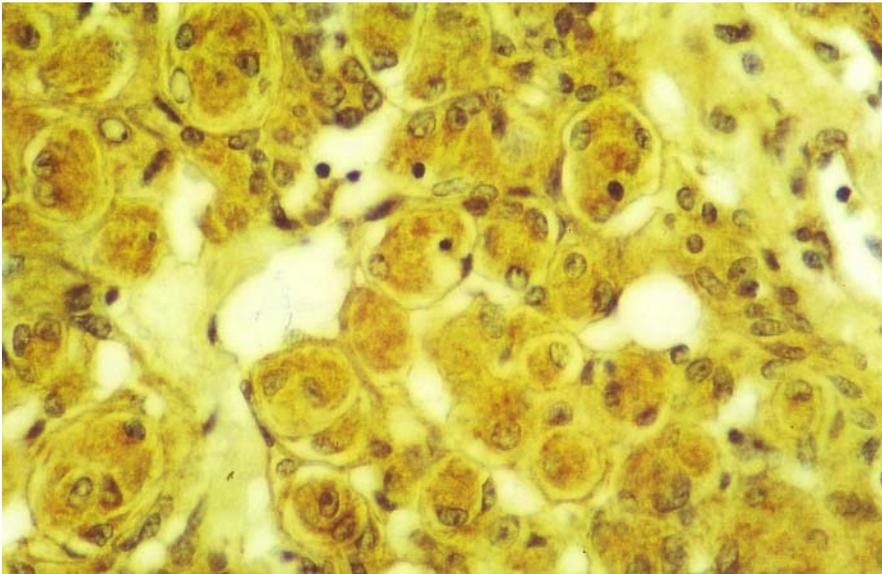
**Abbildung 28:** Stat2 – Expression

0= keine Reaktion, 1= schwache Reaktion(1-3), 2= mäßige Reaktion( 4-8), 3= starke Reaktion( 9-12)

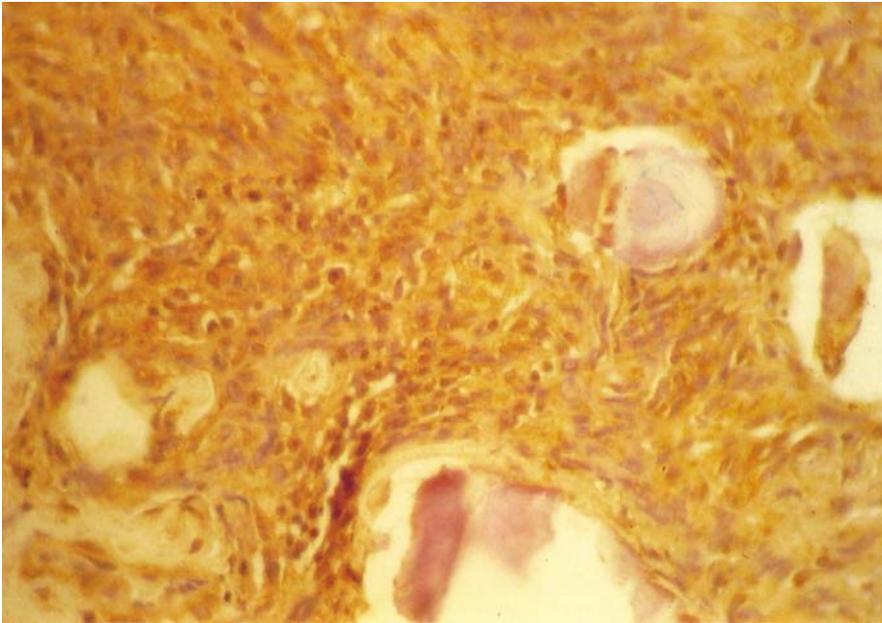
Es ließen sich – wie auch aus den beispielhaft abgebildeten Fotos sichtbar – keine Unterschiede in der Expressionsstärke bei den unterschiedlichen WHO-Graden der untersuchten Meningeome erkennen. Es zeigt sich sowohl in niedriggradigen als auch in höhergradigen Meningeomen eine starke Expression von Stat1 und Stat2.



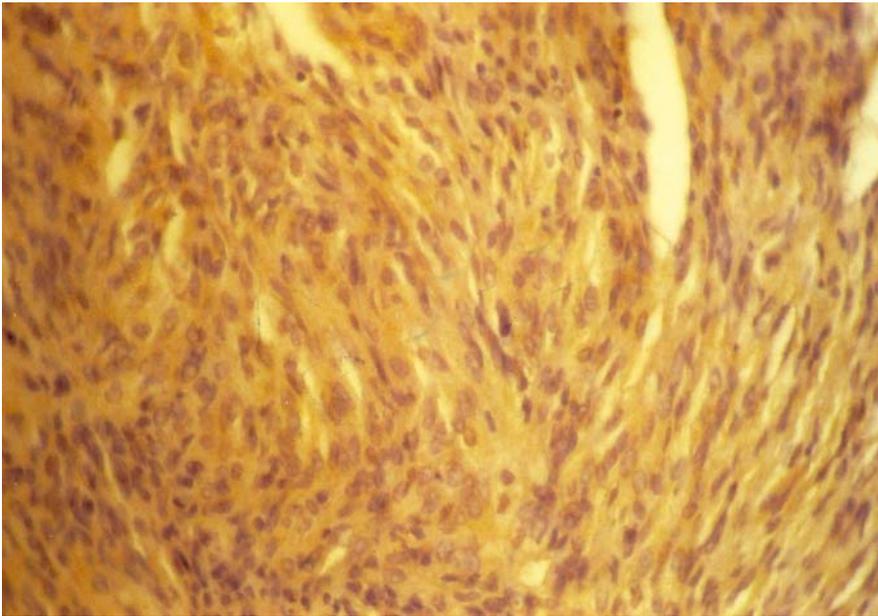
**Abbildung 29:** Stat1-Expression bei WHO-Grad I-Meningeom



**Abbildung 30:** Stat2-Expression bei WHO-Grad I-Meningeom



**Abbildung 31:** Stat1-Expression bei WHO-Grad II-Meningeom

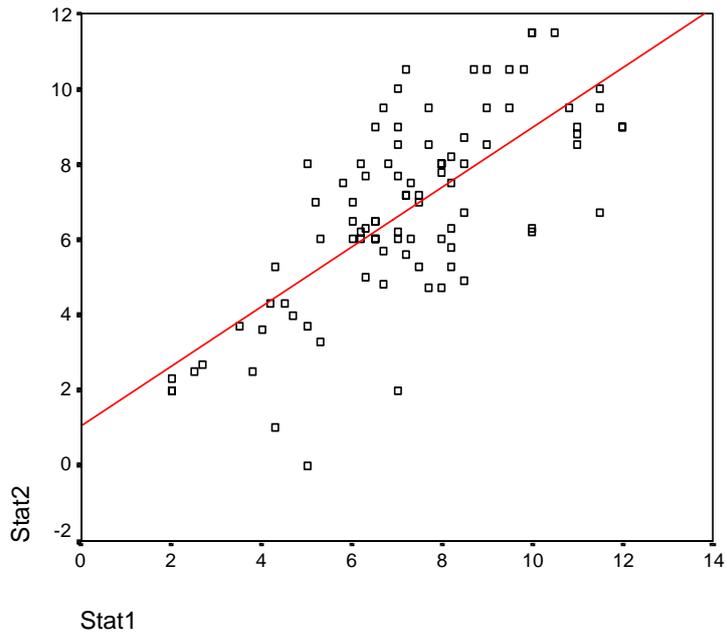


**Abbildung 32:** Stat2-Expression bei WHO-Grad II-Meningeom

#### 4.3.5. Korrelation von PR- und Jak-Stat-Expression

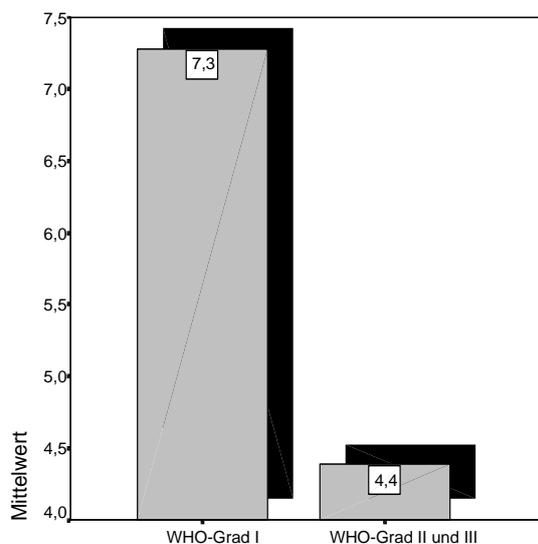
Die PR-Expression wurde mit Hilfe der Regressionsanalyse weiterhin gegen Jak1, Stat1 und Stat2 untersucht, um einen möglichen Zusammenhang zwischen PR und Mitgliedern des Jak-Stat-Signalweges aufzudecken. Hier zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang. Die Regressions-Koeffizienten sind  $R=0,358$  bei PR gegen Jak1,  $R= 0,116$  bei PR gegen Stat1 und  $R=0,159$  bei PR gegen Stat2. Die entsprechenden Regressionsgeraden sind nicht gezeigt.

Untereinander wiesen die Mitglieder des Jak-Stat-Signalweges Korrelationen auf. Der Regressionskoeffizient  $R$  liegt bei Stat1 gegen Stat2 bei  $0,721$ , bei Stat1 gegen Jak1 bei  $R= 0,554$  und bei Stat2 gegen Jak1 bei  $R = 0,683$ . Beispielhaft ist in nachfolgender **Abbildung 33** die Regressionsgerade von Stat1 gegen Stat2 dargestellt.



**Abbildung 33:** Regressionsgerade Stat1 gegen Stat2  $R=0,721$

Auffällig ist, dass Jak1 wie zuvor schon der PR und das erbB2 – Onkoprotein eine Expression abhängig vom Tumorgrad zeigt (siehe **Tabelle 13**, entsprechende Mittelwerte der Expressionsstärken sind geschwärzt). Bildlich ist dies in nachfolgender **Abbildung 34** anhand eines Balkendiagrammes veranschaulicht. Die Mittelwerte liegen bei 7,282 für WHO-Grad I –Meningeome, bei 4,386 für WHO-Grad II- und III-Meningeome.



**Abbildung 34:** Mittelwerte der Jak1-Expression abhängig vom WHO Grad

Ob diese vermuteten Unterschiede von einer Signifikanz sind, lässt sich anhand von Mittelwertvergleichen nachweisen. Hierfür wurde auch in diesem Fall der U-Test verwendet, da es sich bei der Verteilung der Expressionsstärken von Jak1 – wie auch von Stat1 und Stat2 – aufgrund von leicht rechtsgipfelter Verteilung im Histogramm um Abweichungen von der Normalverteilung handelt. Aus **Tabelle 12** (Ergebnisse U-Test) erkennbar ist mit  $p=0,001$  ein signifikantes Ergebnis beim Mittelwertvergleich abhängig vom Tumorgrad. Kein signifikanter Mittelwertunterschied besteht dagegen zwischen Frauen und Männern ( $p>0,05$ ).

## 5. Diskussion

### 5.1. Zielsetzung und Problemwiederholung

Meningeome gelten als die häufigsten nicht-glialen Tumore des zentralnervösen Systems. Der Großteil der Meningeome ist niedriggradig (WHO-Grad I) und somit tumorbiologisch grundsätzlich als gutartig einzustufen, dennoch ist aufgrund der anatomischen Gegebenheiten intrakraniell oft keine kurative Resektion möglich. Vor allem die höhergradigen Meningeome haben trotz chirurgischer Intervention eine erhöhte Rezidivneigung und eine insgesamt schlechtere Prognose (Sanson et al. 2000). Viele Faktoren, vor allem die seit langem bekannte höhere Inzidenz von Meningeomen bei Frauen, weisen darauf hin, dass weibliche Geschlechtshormone einen Einfluss auf das Wachstum von Meningeomen haben (Helseth et al. 1989, Jacobs et al. 1987, Schoenberg et al. 1975). Vor allem die Gestagene wie das Progesteron, weniger die Östrogene, scheinen einen bedeutsamen Einfluß auf das Meningeom-Wachstum zu haben.

Interessant in diesem Zusammenhang ist, dass Meningeome den Progesteron-Rezeptor (PR) exprimieren, bisher aber nicht ganz klar ist, in wieweit diese Rezeptor-Expression auf die Proliferation bzw. auf die Tumorprogression wirkt. Ebenfalls unklar ist bisher die Regulation der Expression vom PR.

In der vorliegenden Arbeit sollte daher die Bedeutung der Progesteron-Rezeptorexpression für das Meningeomwachstum bzw. die Progression herausgearbeitet werden. Dazu wurde die PR Expression mit dem Tumorgrad, als ein Zeichen des Tumorwachstums bzw. der Tumorprogredienz, korreliert. Dies soll einen Anhalt für die Bedeutung der PR Expression in niedriggradigen versus höhergradigen Meningeomen geben und so indirekt Hinweise für die Bedeutung bei Tumorwachstum- und Progression liefern. In Anbetracht der Tatsache, dass es sich um einen Hormonrezeptor handelt, ist darüberhinaus interessant ob sich ein entsprechendes hormonabhängiges Wachstums- bzw. Progressionsverhalten nachweisen lässt. Daher wurde in diesem Zusammenhang die gynäkologische Komorbidität und eine hormonelle Medikation in Abhängigkeit von Tumorgrad und PR Expression als Hinweis für ein Hormon- und damit möglicherweise Progesteron-Rezeptor abhängiges Wachstum untersucht.

Da neben der Bedeutung der PR Expression auch die Wirkungsweise bzw. die Signalvermittlung des PR in Meningeomen ebenfalls nicht hinreichend geklärt ist, wurde die PR Expression auch in Zusammenhang mit der Expression von dem sowohl in Mammakarzinomen als auch in Meningeomen exprimierten Wachstumsfaktorrezeptor erbB2 und mit dem ebenfalls in Mammakarzinomen und Meningeomen bedeutsamen und auch hormonabhängigen Jak-Stat Signalweg untersucht.

Im folgenden soll nun auf die oben beschriebenen Zielsetzungen mit den erarbeiteten Ergebnissen im einzelnen eingegangen werden. Abschließend sollen die Ergebnisse dann noch zusammenfassend diskutiert werden.

## 5.2. Methodenkritik

In der vorliegenden Arbeit wurden die Immunhistochemie und die RT-PCR als Untersuchungsverfahren eingesetzt. Die Immunhistochemie ist ein häufig benutztes und gut etabliertes Verfahren. Hierbei wird die Expression von Proteinen gezeigt. Damit wird das funktionelle und damit entscheidende Kompartiment für die Bedeutung bzw. Funktion eines Gens dargestellt. Im Gegensatz zu Expressionsuntersuchungen mit Westernblot oder RT-PCR mit aus Gefrierschnittmaterial gewonnenem Protein bzw. RNA sieht man bei der immunhistochemischen Untersuchungsmethode Protein-Expressionen differenzierter. Man kann sehen, wieviele Zellen *in situ* das entsprechende Protein exprimieren, wie stark sich die Expression präsentiert und ob sich die Verteilung der Expression eher heterogen, homogen oder nur fokal darstellt. Die Immunhistochemie stellt die *in situ* Konditionen daher differenziert dar, dagegen zeigen Westernblot oder RT-PCR nur Durchschnittswerte an. Ein weiterer Vorteil der Methode ist, dass die Expression im Tumorgewebe ohne Verfälschung durch angrenzendes Normalgewebe erfasst wird, da dieses histologisch im HE-Schnitt abgegrenzt werden kann.

Die PR-Expression in Meningeomen ist zumeist mit Hilfe der Immunhistochemie voruntersucht (Brandis et al.1993, Chozick et al.1996). Die immunhistochemische Untersuchungstechnik gilt als Standard. Um einen besseren und vor allem differenzierteren Vergleich mit den Ergebnissen der PR-Expression erzielen zu

können, wurden die anderen Gene Jak1, Stat1, Stat2 und erbB2 in der vorliegenden Arbeit ebenfalls immunhistochemisch untersucht.

In der vorliegenden Arbeit wurde nach Isolierung von RNA aus Gefrierschnittmaterial mit nachfolgender PCR auf dem PAA-Gel nur ein Durchschnittswert sichtbar. Deswegen wurden die Untersuchungen zu den Expressionsstärken auch nicht mit der RT-PCR, sondern mit der Immunhistochemie durchgeführt. Die RT-PCR wurde für Vorarbeiten eingesetzt, um Aussagen zur transkriptionellen Regulation des Jak-Stat Signalwegs auf RNA-Ebene in Meningeomen treffen zu können. Die Untersuchung und der Vergleich der Jak-Stat Expression mit der PR- bzw. erbB2 Expression erfolgte immunhistochemisch.

Ein entscheidender Kritikpunkt bei der immunhistochemischen Methode ist die wenig technisierte und damit tendenziell subjektive Auswertung. Durch die strenge Beachtung der vom modifizierten Remmele-Schema vorgegebenen Auswertungskriterien (Remmele et al. 1987) und durch die stichprobenartig durchgeführte doppelte Auswertung durch zwei unabhängige Begutachter wurden diese Nachteile allerdings relativiert.

Der an die weiblichen Meningeom-Patientinnen verschickte Fragebogen sollte zur Ergänzung der gynäkologischen Anamnese dienen, da aus der Einsicht in die Patientenakte die gynäkologische Anamnese nicht vollständig zu ersehen war. Als Problem stellte sich die relativ große Anzahl der nicht beantworteten Fragebögen dar. Einige Patientinnen waren inzwischen verstorben, andere waren unbekannt verzogen, und so weder per Postweg noch telefonisch erreichbar. Darüber hinaus wurde von den erreichten Patientinnen nur ein Teil der Fragebögen ausgefüllt zurückgesendet. Eine statistisch relevante Aussage kann aus der Erhebung der gynäkologischen Anamnese aufgrund der zu kleinen Fallzahl sicher nicht abgeleitet werden. Daher wurden die Ergebnisse der Fragebogenauswertung nur deskriptiv dargestellt.

Der Hauptteil der vorliegenden Arbeit sollte molekulare Faktoren in Zusammenhang mit der PR-Expression untersuchen, um mögliche Funktionen bzw. Interaktionen des PR in Meningeomen aufzudecken. In Zellkultur-Modellen ist der proliferative Effekt von Progesteron auf Meningeomzellen bereits ausführlich untersucht und in der Literatur mit sehr unterschiedlichen Ergebnissen dargestellt (Perrot-Applanat et al.1992, Jay et al.1985, Grunberg et al.1987, Maiuri et al.1989). Da der Effekt in vivo

sicherlich ungleich komplexer ist, müssten große klinische Studien angelegt werden um signifikante Hinweise zu erbringen. Die in der vorliegenden Arbeit zugrunde liegenden klinischen Daten sollen daher keiner klinischen Studie entsprechen, sondern auf mögliche Zusammenhänge zwischen Meningeomen und gynäkologischen Erkrankungen hinweisen.

### 5.3. Wertende Darstellung der Ergebnisse

#### 5.3.1. Progesteron Rezeptor Expression

Zur Evaluierung der Expression des Progesteron-Rezeptors wurden immunhistochemische Untersuchungen durchgeführt. Bereits in mehreren Arbeiten konnte in der Vergangenheit gezeigt werden, dass sowohl die PR mRNA als auch das PR Protein in humanen Meningeomen exprimiert werden (Sanson et al. 2000). Das PR Protein ist das eigentliche funktionierende, und damit das an der Signalvermittlung beteiligte Kompartiment. Da die PR Expression auf Proteinebene durch die mRNA Expression und nicht durch funktionelle Veränderungen der Proteine reguliert wird und somit die Expression von mRNA und PR Protein korreliert (Sanson et al. 2000), wurde im Rahmen dieser Arbeit immunhistochemisch das PR Protein und nicht die PR mRNA untersucht. Die quantitative Auswertung der immunhistochemischen Daten erfolgte nach dem Remmele Punkte-Schema (Remmele et al. 1987). Kritikpunkt dieser immunhistochemischen Auswertung ist, wie bereits im vorausgehenden Abschnitt dargelegt, sicherlich die Untersucher abhängige und nicht technisch objektivierbare Datenerhebung. Da aber jeweils 6 Gesichtsfelder pro Präparat zufällig bestimmt wurden und die Auswertung streng nach dem Remmele Schema durchgeführt wurde, ist die Untersucher abhängige Verfälschung der Daten als gering einzuschätzen. Ganz klarer Vorteil der immunhistochemischen Auswertung ist sicherlich die differenzierte Auswertungsmöglichkeit von reinem, durch die Histologie klar identifiziertem, Tumorgewebe. Im Vergleich dazu würde die Untersuchung von isoliertem Protein aus Tumorfragmenten mittels Western Blot oder ELISA Technik lediglich eine durchschnittliche Betrachtungsweise der PR Expression in den Tumor- und möglicherweise auch Nicht-Tumor-Gewebsfragmenten zulassen. Eine weitere

Differenzierung der PR Expression in ein diffuses oder fokales Muster sowie die Untersuchung der Stärke der Expression pro Tumorzelle- bzw. Zellverband ist durch die immunhistochemische Technik im Gegensatz zum Western-Blot oder ELISA ebenfalls möglich. Im Rahmen dieser immunhistochemischen Evaluierung wurden insgesamt 95 Meningeome untersucht, eines der 95 Präparate (1,1%) fiel aufgrund schlechten Materials ohne Auswertungsmöglichkeit aus der Wertung heraus. Von den insgesamt 95 Tumoren zeigten 18 Meningeome (18,9 %) keine Reaktion, 46 zeigten eine schwach positive (48,4%), 22 eine mäßig positive (23,2%) und 8 zeigten eine stark positive Reaktion (8,4%) für den PR. Die Immunreaktivität war streng nukleär. Mamma-Karzinom-Gewebe galt als positive Kontrolle und zeigte ebenfalls eine streng nukleäre Immunreaktivität.

Die PR-Immunreaktivität fiel bei den Meningeompräparaten der weiblichen Patienten im Vergleich zu denen der männlichen Patienten tendentiell etwas stärker aus, einen signifikanten Unterschied gab es nicht.

Interessanterweise zeigte sich zwischen den niedriggradigen und den höhergradigen Meningeomen ein deutlicher Unterschied in der PR-Expression. 69 von den 81 (85,2%) niedriggradigen Meningeomen waren mäßig bis stark PR-positiv, dagegen zeigten nur 3 von den 7 (42,9%) atypischen und 4 von den 7 (57,1%) anaplastischen Tumoren eine positive Immunreaktion. Damit fand sich also nur in 7 der 14 höhergradigen Meningeome (50%) überhaupt Immunreaktivität. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen den einzelnen histologischen Subtypen und der PR-Expression. Um zu erfassen, ob ein statistisch signifikanter Unterschied der PR- Expression in Abhängigkeit vom Tumorgrad vorliegt, wurde die mittlere Expression der Grad I-Tumore mit der der Grad II- und Grad III-Tumore entsprechend dem Remmele Score verglichen. Aus **Abbildung 9** ist ersichtlich, dass die PR-Expression nicht normalverteilt ist, so dass der U-Test nach Mann und Whitney zur Anwendung kam. Interessanterweise zeigten die niedriggradigen Meningeome eine signifikant stärkere PR – Expression als die Meningeome von Grad II und Grad III ( $p= 0,001$  bei PR – Expression und  $p=0,005$  im U – Test nach Mann und Whitney). Es lässt sich demnach ein höchst signifikantes Ergebnis nachweisen. Ähnliche Signifikanzen fanden sich auch, wenn man die Grad I-Tumore nach dem Geschlecht teilt (**Tabelle 6**). Die Anzahl der atypischen (WHO Grad II) und anaplastischen (WHO Grad III) Meningeome ist mit jeweils 7 Tumoren relativ gering. Diese geringe Zahl entspricht aber der natürlichen Verteilung in der Gesamtbevölkerung, auch hier machen die

höhergradigen Meningeome nur einen geringen Anteil aus. Das atypische Meningeom macht ca. 5 %, das anaplastische Meningeom zwischen 1,2 bis 10% aller Meningeome aus (Kleihues und Cavenee 2000). In der vorliegenden Arbeit lagen jeweils 7 atypische und 7 anaplastische von den insgesamt 95 Tumoren vor, der Anteil lag also bei jeweils 7,4%, was den Daten in der Literatur entspricht. Trotz dieser eher geringen Fallzahl an höhergradigen Meningeomen zeigte sich ein hochsignifikantes Ergebnis hinsichtlich der PR Expression. Dies wiederum weist auf einen quantitativ deutlichen Unterschied der PR Expression zwischen niedrig- und höhergradigen Meningeomen hin, da zum Erzielen eines statistisch signifikanten Ergebnisses trotz geringer Fallzahlen ein deutlicher Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen vorliegen muß. Die Tatsache, dass die niedrig-gradigen Meningeome mehr PR exprimieren als die höher-gradigen Tumore, lässt vermuten, dass die PR Expression ein gewisses Differenzierungsmuster in Meningeomen darstellt, welches bei entdifferenzierten Tumoren, wie den atypische und vor allem anaplastischen Meningeomen, verloren gegangen ist. Die Vermutung liegt daher nahe, dass der PR bzw. Progesteron oder andere Liganden über den PR nicht unbedingt zu Tumorprogress und damit zu prognostisch ungünstigem schnellem Wachstum führt. Gewisse Ähnlichkeiten bestehen hier zum Mamma-karzinom, PR- und Östrogen-Rezeptor positive Mamma-Karzinome sind prognostisch deutlich günstiger einzuordnen als die Rezeptor-positiven Tumore, nicht zuletzt durch die adjuvante antihormonelle Therapiemöglichkeit (NIH 2001). Möglicherweise lassen sich so auch bei Meningeomen zum einen prognostische Aussagen in Kenntnis des Hormonrezeptorstatus treffen, zum anderen bestehen aber auch adjuvante oder palliative Therapiemöglichkeiten mit antihormoneller Therapie. Denkbar wäre natürlich auch, dass der PR gar nicht proliferationsfördernd sondern sogar proliferationshemmend wirkt. Wie bereits beschrieben könnte das Fehlen bzw. die geringere Expression des PR in den deutlich stärker proliferierenden atypischen und anaplastischen Meningeomen ein Hinweis dafür sein. Berichte über einen Tumorprogress im Rahmen von Schwangerschaften sowie die relative Häufigkeit von Meningeomen bei Frauen weisen jedoch daraufhin, dass möglicherweise doch ein proliferationsfördernder Effekt besteht. Dieser würde dann bei den höhergradigen Meningeomen durch andere Gen-Alterationen übernommen bzw. noch deutlich verstärkt, so dass die PR Expression bei diesen Tumoren keine relevante Rolle mehr spielt.

### 5.3.2. Korrelation von PR- und erbB2-Expression

In der vorliegenden Arbeit wurden 95 Meningeome immunhistochemisch untersucht, von denen 76 Tumore PR- (80%) und ebenfalls 76 Tumore erbB2-Expression (80%) zeigten. Die PR-Immunreaktivität fiel bei den Meningeomen der weiblichen Patienten leicht stärker aus als bei den Männern. Es sollte untersucht werden, ob die c-erbB2-Expression in Meningeomen mit der PR-Expression korreliert. Die vorliegenden, anhand der Regressionsanalyse gewonnenen Daten zeigen, dass eine signifikante Korrelation zwischen der PR- und der erbB2-Expression vorliegt. Desweiteren konnte mit Hilfe des U-Testes gezeigt werden, dass höhergradige Meningeome im Vergleich zu niedriggradigen Tumoren interessanterweise signifikant weniger PR und erbB2 exprimieren.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit entsprechen der bisherigen Literatur. Die meisten Meningeome exprimieren den PR (Gabos et al.1992, Halper et al.1989, Perrot-Appianat et al.1992). Der PR könnte ein wichtiger Faktor in der Erklärung der Frauenwendigkeit sein. Ebenso ist die deutliche Frauenwendigkeit in der Verteilung der PR-Expression beschrieben (Perrot-Appianat et al.1992). Auch Rezeptoren für Wachstumsfaktoren (Schwechheimer et al.1994, Chozick et al.1996) werden in Meningeomen exprimiert. Darauf basierend kann die Hypothese aufgestellt werden, dass Hormone, Wachstumsfaktoren und ihre Rezeptoren in den Prozess der neoplastischen Transformation miteinbezogen sind.

Weiterhin konnte in bisherigen Studien gezeigt werden, dass die Expression von Wachstumsfaktoren und ihren Rezeptoren in einigen Geweben durch Steroide kontrolliert wird; so zum Beispiel die c-erbB2-Expression in ER- positiven Mamma-Karzinom-Zelllinien (Read et al.1990). Hier zeigt sich eine c-erbB2-Expression invers zur ER-Expression (Read et al.1990, Zeillinger et al.1989). Verantwortlich dafür scheint ein *ER response element* in der c- erbB2-Promotorregion zu sein (Russell et al.1992). Die gleichsinnige Regulation von erbB2 und PR in Meningeomen könnte demnach durch entsprechende Kontrollelemente in den Promotorregionen der beiden Gene oder aber auch durch eine übergeordnete Kontrolle zustande kommen. Interessant in diesem Zusammenhang ist zudem, dass der mitogene Effekt von EGF, einem Wachstumsfaktor, in Meningeomen durch Progesteron vervielfacht werden kann (Koper et al.1990). Dies ist ein weiterer Hinweis dafür, dass sowohl

Wachstumsfaktoren als auch Hormone bzw. ihre Rezeptoren gleichsinnig interagieren.

Allerdings findet man in der Literatur bei einer deutlich kleineren Fallzahl, dass sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen PR- und erbB2-Expression in Meningeomen nachweisen ließ (Schlegel et al.1993). Die Autoren dieser Studie vermuten daher, dass c-erbB2 im Gegensatz zu Mamma- und Ovarial-Karzinom in Meningeomgewebe weder amplifiziert noch überexprimiert ist.

Neben der überaus interessanten Beziehung zwischen erbB2 und PR exprimierten, wie oben dargestellt, höhergradige Meningeome beide Faktoren signifikant weniger. Dieser in der vorliegenden Arbeit nachgewiesene Verlust von erbB2 in höhergradigen Meningeomen bestätigt die Daten von Chozick et al. (1996).

Den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit und einiger Literatur zufolge wird erbB2 demnach möglicherweise bei Meningeomen in differenziertem Gewebe als Proliferationsfaktor exprimiert und geht im Gegensatz zum Mamma-Karzinom mit zunehmender Entdifferenzierung in Meningeomen verloren. Der niedrige erbB2- und PR-Score und auch maligner Tumorgrad könnten möglicherweise als Indikatoren für eine schlechte Überlebensrate eingesetzt werden.

### 5.3.3. Korrelation von PR- und Jak-Stat-Expression

Die Regulation des PR in Meningeomen ist unklar. Im Gegensatz zu anderen hormonregulierten Geweben wie Brust- und Uterus-Gewebe, bei denen PR unter direkter Kontrolle von Östrogen und ER stehen, wirkt der PR in Meningeomgewebe ER-unabhängig. In Meningeomen stehen daher wahrscheinlich andere Faktoren bzw. Signalwege mit der PR-Regulation in Zusammenhang. Dazu wurde die Expression der Transkriptionsfaktoren Stat1 und Stat2 und der damit assoziierten Tyrosinkinase Jak1 in der vorliegenden Arbeit untersucht.

Es zeigten von den insgesamt 95 immunhistochemisch untersuchten Präparaten 92 Tumore Jak1- (96,8%), 94 Tumore Stat1- und 93 Tumore Stat2-Expression (97,8%). Dass diese Mitglieder in Meningeomen auch transkriptionell reguliert werden, zeigt die Expression in der jeweils durchgeführten RT-PCR. Es sollte untersucht werden, ob der PR mit den genannten Mitgliedern des Jak-Stat-Signalweges, der in

Zusammenhang mit Proliferation steht, korreliert. Eine solche Korrelation konnte sowohl für Stat1 und Stat2 als auch für Jak1 nicht nachgewiesen werden.

Die Expression der untersuchten Mitglieder des Jak-Stat-Signalweges bestätigt die Ergebnisse bisheriger Literatur (Magrassi et al.1999). Aus der Arbeit von Magrassi et al. ist außerdem bekannt, dass Stat1 in Meningeomgewebe tyrosinphosphoryliert vorliegt und damit aktiv ist. Auch im Mamma-Karzinom sind einige Mitglieder dieses Signalweges nachweislich exprimiert (Watson et al.1995).

Aus der Literatur ist weiterhin bekannt, dass über das Jak-Stat-System Proliferation moduliert wird. In diesem Zusammenhang ist wichtig zu wissen, dass die Stat-Proteine im Rahmen der Erforschung der Zytokin-Signalwege entdeckt wurden. Diese sind neben Zelldifferenzierung und Zellüberleben vor allem auch für die Proliferation von Zellen verantwortlich (Bowman et al.2000). Konkretere Anhaltspunkte für die Einwirkung des Jak-Stat-Signalweges auf die Zellproliferation findet man bei Bromberg et al.1996 (Bromberg et al.1998 und Xu et al.1998), die die Wirkung von Stat1 auf die Proliferation untersuchten. Sie konnten eine wachstumshemmende Wirkung von Stat1 aufzeigen. Bestätigt wird diese Wirkung durch eine Arbeitsgruppe, die nachweisen konnten, dass Stat1 neben der synergistischen Aktivierung einiger Gene in Antwort auf IFN gamma auch für die Repression anderer Gene in Antwort auf IFN gamma benötigt wird (Ramana et al.2000). Möglicherweise hat Stat1 eine Tumor-Supressorfunktion, da sein Fehlen zur Tumorprogression führt (Kaplan et al.1998).

Eine Interaktion der Stat-Transkriptionsfaktoren mit dem PR ist für Stat5 bereits beschrieben (Stoecklin et al.1999). In Meningeomgewebe konnten durch Stimulation mit IFN-alpha aber lediglich sowohl Jak1 als auch Stat1 und Stat2 phosphoryliert und damit aktiviert nachgewiesen werden (Magrassi et al.1999). Daher sollte ein möglicher Zusammenhang der PR-Expression mit diesen in Meningeomen aktivierten Transkriptionsfaktoren bzw. unterstützenden Kinasen erarbeitet werden.

Aus der Literatur geht weiter hervor, dass Jak1 für die Aktivierung der Stat- Proteine 1 und 3 benötigt wird (Gupta et al. 1996). Jak2, obwohl aktiviert, kann ohne Anwesenheit von Jak1 keine Aktivierung von Stat1 und Stat3 bewirken (Guschin et al 1995, Shimoda et al 1997). Das führte dazu, dass in der vorliegenden Arbeit von den Tyrosinkinase der Jak-Familie Jak1 untersucht wurde.

Aus bisheriger Literatur geht außerdem hervor, dass die Stat-Proteine nicht alleine agieren. Verschiedene Steroidrezeptoren interagieren unter anderem mit Mitgliedern

des Jak-Stat-Signalweges. So steht der Glukokortikoid- Rezeptor (GR) in Wechselwirkung mit Stat3 und Stat5 (Stoecklin et al 1996, Zhang et al 1997, Cella et al 1998). Der Jak-Stat-Weg vermittelt außerdem die Wirkung von Prolaktin-Rezeptoren (Schindler et al.1995). Prolaktin-Rezeptoren sind in Meningeomen zum Teil exprimiert. Es konnte darüberhinaus gezeigt werden, dass die Behandlung der Meningeomzellen mit Prolaktin wachstumsstimulierend wirkt (Boyle-Walsh et al.1995, Jimenez-Hakim et al.1993, Muccioli et al.1997). Der Jak-Stat-Signalweg moduliert demnach möglicherweise hormonabhängige Proliferation. Eine signifikante Korrelation mit der Expression des Progesteron Rezeptors als Hinweis dafür, dass die Proliferation durch Progesteron durch den Jak-Stat Signalweg in Meningeomen vermittelt wird konnte jedoch in der vorliegenden Arbeit nicht gezeigt werden.

#### 5.3.4. Korrelation von PR-Expression und gynäkologischer Komorbidität

Möglicherweise hat die Einwirkung von Hormonen auf Meningothelzellen eine spätere Proliferation dieser Zellen zur Folge. Daher wurden die Frauen mit Meningeomkrankung nach gynäkologischer Begleiterkrankung, Anzahl der Schwangerschaften und Einnahme von Hormonpräparaten gefragt. Weiterhin wurden diese Angaben mit der Expression des PR verglichen. In der vorliegenden Arbeit geben nur 23 der Meningeom-Patientinnen eine gynäkologische Erkrankung an im Vergleich zu 21 Patientinnen, die unter keiner Erkrankung im gynäkologischen Bereich leiden. Nur 2 der insgesamt 3 Patientinnen mit maligner gynäkologischer Begleiterkrankung leiden unter einem Mamma-Karzinom. Bei den gutartigen Veränderungen handelt es sich in den meisten Fällen um Myome oder um eine Veränderung der menstruellen Blutung bzw. das Auftreten einer postmenopausalen Blutung ohne Nachweis von Malignität, welche zu einem operativen Eingriff führten. Die bisherige Literatur beschäftigt sich mit der Assoziation zwischen Meningeom und Mamma-Karzinom. Zusammenhänge zwischen dem Auftreten eines Meningeoms und anderen gynäkologischen Erkrankungen wie Endometrium- und Ovarial-Karzinom sind in der bisherigen Literatur nicht beschrieben. Über die Assoziation zwischen Meningeom-und Mamma- Karzinom-Auftreten gibt es konträre Erkenntnisse. Schoenberg et al. entdeckt in seiner epidemiologischen Studie an

einer relativ kleinen Fallzahl einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten der beiden Erkrankungen (Schoenberg et al. 1975). Diese Assoziation konnte an einer größeren Fallzahl von 324 Patientinnen nachvollzogen werden (Posner et al. 1978). Viele *Case reports* berichten von Frauen mit Mamma-Karzinom und gleichzeitig bestehendem Meningeom (Markopoulos et al.1998, Rubinstein et al.1989, Di Bonito et al.1993). Andere Autoren dagegen können keine signifikanten Ergebnisse vorweisen und bestreiten eine pathogenetische Verbindung zwischen dem Auftreten von Mamma-Karzinom und Meningeom (Jacobs et al. 1992, Salvati et al.1996).

Genauso zeigten die Ergebnisse hinsichtlich der Hormon-Einnahme in vorliegender Arbeit keine Auffälligkeiten. 21 der Patientinnen nahmen vor der Diagnose eines Meningeoms Hormonpräparate ein, 19 Frauen verneinten die Einnahme von Hormonenpräparaten.

Wahrscheinlich handelt es sich bei einer Anzahl von 49 auswertbaren Fragebögen zur gynäkologischen Anamnese um eine zu kleine Fallzahl, um relevante Aussagen machen zu können. Daher wurde auf eine weitergehende statistische Auswertung verzichtet.

#### 5.4. Wachstumsfaktor-Rezeptoren und Hormone in Tumoren

Die Zellproliferation steigert sich von den WHO-Grad I-Meningeomen über die atypischen bis hin zu den anaplastischen Meningeomen. Der Mitoseindex korreliert streng mit der Größenwachstumsrate. Dem entsprechend steigt der MIB-1/Ki-67-Index, ein Proliferationsmarkerindex, signifikant von den niedriggradigen bis hin zu den höhergradigen Meningeomen an (Kleihues 2000). Dieses Größenwachstum als zentraler neoplastischer Prozess der Meningeome beschäftigte auch Detta et al. (1993). Er und seine Arbeitsgruppe untersuchten daher Proliferation und Proto-Onkogen-Expression in einigen typischen und atypischen Meningeomen und wiesen ebenfalls signifikant höhere Proliferationsindizes bei höhergradigen Meningeomen auf (Detta et al.1993).

Zellproliferation wird durch verschiedene Faktoren moduliert. Zu diesen Faktoren gehören unter anderem Hormone, deren Rezeptoren und Wachstumsfaktoren bzw. Wachstumsfaktorrezeptoren als eine Subklasse von sogenannten Onkogenen. Hinsichtlich des Themas der vorliegenden Arbeit sollen in diesem Abschnitt

insbesondere der PR, das HER2/Neu-Protoonkogen und ihr Zusammenwirken näher beleuchtet werden.

Steroidhormone und Wachstumsfaktoren fördern Wachstum und Entwicklung von normalem Mamma-Gewebe und einigen Typen des Mamma-Karzinoms. Diese zwei Signalwege könnten unabhängig voneinander oder in Zusammenwirkung funktionieren, indem Steroidhormone die Transkription von Genen induzieren, die für Wachstumsfaktoren oder deren Rezeptoren kodieren (Modiano et al.1991).

Die Wirkung von Progesteron auf das Meningeomwachstum ist dagegen unklar. Proliferativer als auch antiproliferativer Effekt werden postuliert. Durch Untersuchungen mehrfach belegt ist allerdings, dass PR-Abwesenheit in Meningeomen mit hohem zellulären Proliferationsindex (Hsu et al.1997) und höherem Tumorgrad (Brandis et al.1993, Gabos et al.1992, Hsu et al.1997) einhergeht. Letzteres konnte in der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Die Abwesenheit von PR, hoher Mitoseindex und hoher Tumorgrad stellen signifikante Faktoren für kürzere krankheitsfreie Intervalle postoperativ dar (Hsu et al.1997).

Das konkurrenente Auftreten zweier Neoplasien beim selben Patienten – z.B. Meningeom und Mamma-Karzinom – kann heißen, dass möglicherweise in beiden Tumoren die Expression ähnlicher Onkogene im Sinne einer genetischen Disposition eine Rolle spielt. Bei einem Onkogen handelt es sich um ein Gen, dessen Überexpression oder Überfunktion zu maligner Transformation führt. C-erbB-2 ist zum Beispiel ein solches Onkogen.

Die Aktivierung von Wachstumshormonen führt zu einer signifikanten Steigerung der Wachstumsrate von Meningeomen (Friend et al. 1999). Eine Blockade der Wachstumsfaktor-Rezeptoren kann zur Blockade des Tumorstwachstums oder sogar zur Tumorregression führen. In Tumoren spielen Veränderungen in der Expression von Wachstumsfaktoren und deren Rezeptoren eine entscheidende Rolle. Rezeptoren der Typ I-Tyrosinkinase- Rezeptorfamilie werden hier stark exprimiert. So auch das im Einleitungsabschnitt ausführlicher beschriebene Mitglied erbB2, auch HER2 genannt. ErbB2 ist ein transmembraner Wachstumsfaktor-Rezeptor, der in normalen und malignen Brustepithelzellen vorkommt. Phosphorylierung der intrazellulären Tyrosinkinase führt zur Aktivierung von Genen, die Zellwachstum vermitteln (Lohrisch et al.2001). c-erbB2 zum Beispiel als maligner Phänotyp kodiert

für HER2 (human epidermal growth factor receptor 2), welcher in einigen malignen Erkrankungen wie Mamma-, Ovarial- und Kolon-Karzinom überexprimiert, amplifiziert oder beides ist (Kumar et al.2001). Der erbB2-Rezeptor wird in fast 30% der Mamma-Karzinome mit hohen Spiegeln exprimiert (Lupu et al.1993). Weiterhin spielt seine Expression für die Transformation und die Prognose des Mamma-Karzinoms eine wichtige Rolle (Lupu et al.1993). Überexpression von erbB2 und EGFR ist beim Mamma-Karzinom mit aggressiverem klinischen Verhalten assoziiert (Mendelsohn et al.2000). So ist beispielsweise die Überexpression des HER2/Neu-Protoonkogens mit der Progression des Mamma-Karzinoms verbunden (Bezwoda 2000). Während der Zusammenhang zwischen erbB2-Überexpression und schlechter Prognose mittlerweile klar ist, bleibt die biologische Konsequenz der erbB2-Überexpression unklar (Lupu et al.1993). Schwechheimer et al. können auch eine Überexpression von neu/c-erbB2-mRNA in Gliomen und Meningeomen nachweisen (1994).

Die Hauptpartner von erbB2 innerhalb von Karzinomen sind erbB1, auch als EGFR bezeichnet; und erbB3, dessen mitogener Effekt innerhalb der heterodimeren Komplexe aktiviert wird (Harari et al.2000). Das Gen für den epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor (EGFR) war das erste zelluläre Onkogen, welches in Gliomen in amplifizierter Form nachgewiesen werden konnte (Liebermann et al 1985 ). EGFR (ErbB-1) kodiert den Rezeptor für den epidermalen Wachstumsfaktor. EGFR-Überexpression ist beim Mamma-Karzinom mit aggressiverem klinischen Verhalten assoziiert (Mendelsohn et al.2000). ErbB3 ist das dritte Mitglied der EGFR-Familie. Das erbB3-Gen kodiert für ein 148 kd Polypeptid (Kraus et al.1989). Die erbB3-Immunreaktivität ist statistisch signifikant mit dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen bei Mamma-Karzinom-Patientinnen assoziiert (Lemoine et al.1992). Möglicherweise spielt demnach auch erbB3 eine Rolle innerhalb der Proliferation von Tumoren.

Tumorzellen benötigen eine gute Blutversorgung, damit Wachstum und Metastasierung folgen können. Überexpression von zum Beispiel erbB2 in Tumorzellen ist daher eng verbunden mit gesteigerter Angiogenese und der Expression des VEGF (*vascular endothelial growth factor*). In der Tat ist das Tumorstadium supprimiert, wenn der VEGF-Signalweg inhibiert wird (Kumar et al.2001). So verhindert der erbB2-Antikörper Trastuzumab sowohl Tumorzellwachstum als auch die VEGF-Expression (Kumar et al.2001).

Es wird davon ausgegangen, dass die Wachstumsprogression von Meningeomen durch Progesteron in Zusammenwirken mit verschiedenen Wachstumsfaktoren verursacht wird (Brandis et al.1993). EGF-Aktivität kann in PR-positiven Meningeomen durch eine Progesteron-Gabe gesteigert werden. Progesteron-Antagonisten können umgekehrt die EGF-Aktivität reduzieren (Koper et al.1990). Ähnliche Ergebnisse sind beim Mamma-Karzinom bekannt. Es konnte gezeigt werden, dass EGF-Expression in Mammakarzinom-Zelllinien durch Progestin reguliert werden kann (Murphy et al.1988). So kann EGF durch Progestin-Aktivierung antagonisiert werden (Sarup et al. 1988).

Auch Östrogene und ihre Rezeptoren sind in diesem Zusammenhang von Bedeutung. Östrogene modulieren den erbB2-Signalweg über ER (Lupu et al.1993). In ER-positiven Mamma-Karzinom-Zelllinien unterliegt die c-erbB2-Expression der Kontrolle von Steroiden (Read et al.1990). Herunterregulation von erbB2 durch Östrogene kann durch den erbB2-Liganden gp30 blockiert werden (Lupu et al.1993). Da der ER nach vieldiskutierter Literatur in Meningeomen aber keine Rolle zu spielen scheint (Blankenstein et al.1983, Blankenstein et al.1987, Lesch et al.1986), wurde in vorliegender Arbeit nicht der ER, sondern der PR näher untersucht.

Auch die Sekretion des Wachstumsfaktors VEGF wird durch Steroide reguliert. Tsai et al. konnte zeigen, dass die VEGF-Sekretion in Meningeomen hauptsächlich durch Kortikoide und Wachstumsfaktoren reguliert wird (Tsai et al. 1999).

Ein weiterer Wachstumsfaktor ist TGF. King und seine Arbeitsgruppe führten Untersuchungen über die Wirkung von TGF $\beta$  auf die Progression des Mamma-Karzinoms in Ab- und Anwesenheit von Steroiden durch (King et al.1989). TGF $\beta$  wurde in Mamma-Karzinom-Zelllinien hochreguliert und damit Zellproliferation in Gang gesetzt, wenn kein Steroideinfluss in Form von Steroidhormonzufuhr oder Rezeptorexpression vorhanden war. Bei Steroidanwesenheit dagegen zeigte sich TGF $\beta$  nicht hochreguliert, so dass in diesem Fall die Proliferation über andere Wachstumsfaktoren reguliert werden müsste (King et al.1989).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen ebenfalls einen wenn auch anderen Zusammenhang zwischen Steroid- und Wachstumsfaktor-Auftreten. Die PR-Expression korreliert hier positiv mit der erbB2-Expression. Möglicherweise kommt es in niedriggradigen Meningeomen mit PR- und erbB2-Expression zur durch Progesteron verursachter verstärkter erbB2-Wirkung und damit dann zur Vermittlung

von Proliferation. Dagegen zeigen höhergradige Meningeome keine oder nur schwache PR-Expression.

Für therapeutische Ansätze könnte das bedeuten, dass bei WHO Grad I-Meningeomen, in denen viel PR- und entsprechend viel erbB2-Expression vorliegt, Proliferation mit Herzeptin und Progesteronantagonisten gehemmt werden kann. In höhergradigen Meningeomen dagegen können Herzeptin und Progesteronantagonisten möglicherweise keine Wirkung erzielen, da hier weniger PR und damit erbB2 exprimiert werden.

In der Zukunft wäre ein Ansatz, nach anderen Wachstumsfaktoren, die in höhergradigen Meningeomen Proliferation vermitteln, zu suchen, um dann möglicherweise therapeutische Strategien zu entwickeln.

## 5.5. Zusammenfassende Diskussion und Schlussfolgerungen

Wie die Ergebnissen der vorliegenden Arbeit und andere Daten (Chozick et al.1996) zeigen, wird erbB2 bei Meningeomen möglicherweise in differenziertem Gewebe als Proliferationsfaktor exprimiert und geht im Gegensatz zum Mamma-Karzinom mit zunehmender Entdifferenzierung in Meningeomen verloren. Die PR-Expression korreliert positiv mit der erbB2- Expression. Demnach wird der PR ebenfalls in niedriggradigen Meningeomen stärker exprimiert als in höhergradigen, geht also auch verloren. Daraus resultiert, dass die Wirkung des PR auf das Meningeomwachstum noch nicht vollständig geklärt ist. In niedriggradigen Meningeomen könnte die PR-Expression daher lediglich ein genetisches Epiphänomen sein, welches mit der Pathogenese bzw. der Meningeomprogression primär nicht in Zusammenhang steht. Möglicherweise ist diese PR-Expression also Folge einer anderen für die Pathogenese entscheidenden genomischen Veränderung in Meningeomen, die zu einer entsprechend stärkeren Bildung des PR als Antwort auf Hormoneinwirkung führt. Damit könnte die etwas stärkere PR-Bildung bei Meningeomen weiblicher Patienten erklärt werden. Weiterhin könnte so auch erklärt werden, warum es keine konsistenten Daten zu der Frage gibt, ob Hormone wie das Progesteron zu Proliferation führen, da möglicherweise die weitere Funktion des PR-Signalweges ebenfalls gestört ist.

Aus der bisherigen Literatur ist ersichtlich, dass Mitglieder des Jak-Stat-Signalweges mit Steroidrezeptoren interagieren. Der Glukokotikoid-Rezeptor (GR) steht in Wechselwirkung mit Stat3 und Stat5 (Stoecklin et al 1996, Zhang et al 1997, Cella et al 1998). Der Jak-Stat-Weg vermittelt außerdem die Wirkung von Prolaktin-Rezeptoren (Schindler et al.1995), welche in Meningeomen teilweise exprimiert werden und auf Meningeomzellen wachstumsstimulierend wirken. (Boyle-Walsh et al.1995, Jimenez-Hakim et al.1993, Muccioli et al.1997)

Aus diesem Grund wäre es durchaus denkbar, dass der PR als Steroidhormon-Rezeptor über das Jak-Stat-System Proliferation vermittelt. Es wäre auch möglich, dass – wie in Abschnitt 5.4. angedeutet – das Jak-Stat-System zur Hochregulation des PR führt und über diesen Mechanismus Proliferation moduliert wird. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen allerdings keine Korrelation zwischen der PR-Expression und Jak1, Stat1 oder Stat2. In der vorliegenden Arbeit konnte so kein sicherer Hinweis auf ein funktionelles Zusammenspiel des PR mit dem Jak-Stat-System gefunden werden. In diesem Zusammenhang bleibt die Bedeutung und Regulation des PR in Meningeomen weiterhin unklar. Der Transkriptionsfaktor Stat 5 ist mit der differentiellen Expression von PR induzierten bzw. reprimierten Genloci assoziiert (Stoecklin 1999), allerdings konnte keine Phosphorylation und damit funktionelle Aktivierung in Meningeomen nachgewiesen werden (Magrassi 1999), so dass auch das Stat 5 eher nicht mit der PR –Regulation bzw. –Wirkung in Meningeomen in Zusammenhang steht.

Bereits einleitend wurde mehrmals auf die schon seit langer Zeit bekannte Frauenwendigkeit der Meningeome eingegangen, interessant ist darüberhinaus vor allem die Expression von Hormonrezeptoren in Meningeomen. Eine solche Hormonrezeptor-Expression ist vor allem das Charakteristikum der Mamma-Karzinome, so dass im Folgenden vor allem auf diese Assoziation eingegangen werden soll. Das Wachstum vieler Mamma-Karzinome scheint abhängig von der Präsenz der Steroidhormone Progesteron und Östrogen und ihrer Rezeptoren zu sein, besonders in frühen Stadien der Tumorgenese (Leslie et al.1999). Allerdings findet sich hier ein etwas anderes Verteilungsmuster bezüglich PR-und ER-Verteilung (Di Bonito et al.1993). Ungefähr 50-60% der Mamma-Karzinome exprimieren den ER, die Mehrzahl zusätzlich auch den PR (Lieu et al. 2003). Dagegen dominiert – wie erwähnt – in Meningeomen der PR. Die Anwesenheit von

ER und PR bedeutet, dass ein höchstwahrscheinlich auf eine Antiöstrogen-Therapie ansprechendes, gut differenziertes Mamma-Karzinom vorliegt (Leslie et al.1999). PR- und ER-Status im Mamma-Karzinom gelten als wichtiger Prognosefaktor zur Vorhersage des möglichen krankheitsfreien Intervalls (Horwitz et al.1992). Beide ER-Typen und beide PR-Typen werden in Mamma-Karzinomen exprimiert. Die Entdeckung, dass einige Tumore nur eine der beiden PR-Isoformen exprimieren, hat klinische und therapeutische Bedeutung (Leslie et al.1999). Die Steroidhormone, Östrogen und Progesteron, haben sowohl in normalem Brustgewebe als auch im Mamma-Karzinom eine wichtige Funktion (Russo und Russo 1998). Östrogen und Progesteron regulieren die Brustdrüsenentwicklung während Pubertät und Schwangerschaft, und sind assoziiert mit der Initiierung, der Entwicklung und der Progression des Mamma-Karzinoms (Hansen et al.2000). Östrogene stimulieren, so die Hypothese, Mamma-Karzinom-Entwicklung durch Proliferationssteigerung des Brustepithels (Katzenellenbogen et al. 1987). Diese Wirkung wird über unterschiedliche Signalwege vermittelt, die EGF und IGF-1 mit einschließen. Die Wirkung von Progesteron hinsichtlich Proliferation versus Differenzierung ist noch zu wenig verstanden, bisher geht man von einer Rolle als Proliferationsstimulator aus (Leslie et al.1999). Die PR-Synthese ist in Mamma-Karzinom-Zelllinien abhängig von Östrogen-Stimulation (Horwitz et al.1975, McGuire et al.1978).

Progesteron soll die Zellen für EGF sensitivieren. Andere vermuten, dass die Wirkung von Progesteron auf die Zellproliferation von Progesteron – oder PR – Konzentration abhängt (Leslie et al.1999). Außerdem können Östrogen und Progesteron die Synthese von EGFR regulieren (Haslam et al. 1992). Genauso konnte gezeigt werden, dass Steroidhormon–Rezeptoren durch Wachstumsfaktoren aktiviert werden (Bunone et al.1996). Demnach agieren auch im Mamma-Karzinom-Gewebe Steroidhormone und ihre Rezeptoren nicht allein, sondern zusammen mit Wachstumsfaktoren (Nicholson et al.1999). Mamma-Karzinome zeigen eine genau entgegengesetzte Korrelation von ER- und EGFR-Expression als Meningeome (Wrba et al.1988). Ein positiver EGFR-Status korreliert mit einem aggressiven Verlauf der Erkrankung (Sainsbury et al.1988)

Meningeome zeigen dagegen eine viel stärkere Tendenz den PR zu exprimieren als den ER. Dieses unterschiedliche ER/PR-Verteilungsmuster der beiden Neoplasien

mag vielleicht auch die beim Mamma-Karzinom angewendete und erfolgreiche und beim Meningeom dagegen oftmals nicht funktionierende Hormontherapie erklären.

Möglicherweise stellt der PR die biologische Basis für die Meningeomentstehung dar. Daher ist es ganz entscheidend den bislang noch unbekanntem Regulationsmechanismus des Rezeptors zu kennen, um so vielleicht doch Ansätze für eine adjuvante Therapie zu ergründen, da die chirurgische Intervention, wie bereits ausgeführt, vor allem bei höhergradigen Tumoren nicht immer zum Erfolg führt. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass eine Korrelation zwischen dem PR und dem Onkogen erbB2, welches für Proliferation in Meningeomen und Mamma-Karzinomen verantwortlich gemacht wird, besteht. Aber Experimente zur Hormontherapie müssen wegen der Tendenz der Tumorzellen, PR-Expression zu verlieren, mit Vorsicht interpretiert werden. Möglicherweise erklärt dies nämlich auch das zum Teil schlechte Ansprechen der Meningeomzellen auf Hormontherapie (Koper et al.1994). Wie bereits diskutiert wurde, ist zudem die erbB2 Expression in höhergradigen Meningeomen signifikant geringer, während beim Mamma-Karzinom erbB2 besonders in maligneren Tumoren mit schlechterer Prognose exprimiert wird. Dies weist daraufhin, dass offensichtlich die Expression und damit auch die funktionelle Bedeutung in Meningeomen im Gegensatz zu Mamma-Karzinomen unterschiedlich ist. Zusammen mit der ebenfalls signifikant geringeren PR-Expression in höhergradigen Meningeomen, könnte dies ebenfalls ein weiterer Grund für die sehr diskrepanten Ergebnisse im Hinblick auf die adjuvante Therapie der beiden Tumorentitäten sein.

Es gilt also weiterhin, die Komplexität des PR-Regulationsmechanismus zu verstehen, um mögliche, für den Patienten sinnvolle Therapieoptionen adjuvanter Behandlung zu ermöglichen. Intrazellulären Signalwegen liegen komplexe Mechanismen und Interaktionen zugrunde. Ziel weiterer wissenschaftlicher Arbeit muss es demnach sein, diese Interaktionen weiter zu verstehen.

## 6. Zusammenfassung

Meningeome sind der chirurgischen Therapie nicht immer kurativ zugänglich. Vor allem die höhergradigen Meningeome, die hohe Proliferationstendenz und Zeichen der histologischen Entdifferenzierung zeigen, haben trotz chirurgischer Intervention eine erhöhte Rezidivneigung und eine insgesamt schlechtere Prognose. Die PR-Expression könnte eine entscheidende Rolle hinsichtlich der Meningeomentstehung spielen. Frauenwendigkeit, Meningeomwachstum innerhalb von Zeiten hormoneller Veränderung und die von einigen Autoren beschriebene Assoziation mit dem Mamma-Karzinom sprechen dafür. Nicht ganz klar ist allerdings in wie weit diese Rezeptor-Expression auf Proliferation bzw. Tumorprogress wirkt. Ebenfalls unklar ist bisher die Regulation der Expression vom PR. Unter diesem Aspekt ist auch der Einsatz von adjuvanten hormonellen bzw. antihormonellen Therapien bei Meningeomen im Gegensatz zum Mamma-Karzinom noch nicht definiert bzw. etabliert.

In der vorliegenden Arbeit wurde daher zum einen die Expression des PR mit Faktoren, die für Proliferation in Meningeomen verantwortlich gemacht werden, korreliert. Weiterhin wurde die PR-Expression mit gynäkologischen Begleiterkrankungen, die mit Hormonveränderungen einhergehen, korreliert. Beides sollte indirekte Hinweise für die mögliche proliferative Wirkung des PR geben.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen eine Korrelation zwischen der PR-Expression und der erbB2-Expression. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass höhergradige Meningeome im Vergleich zu niedriggradigen signifikant weniger PR und erbB2 exprimieren. Damit werden sie möglicherweise in differenziertem Gewebe als Proliferationsfaktoren exprimiert und gehen mit zunehmender Entdifferenzierung in Meningeomen verloren.

Eine Korrelation zwischen der PR-Expression und der Expression der Mitglieder des Jak-Stat-Signalweges ließ sich nicht nachweisen. Genauso besteht bei den 95 untersuchten Meningeomen kein Zusammenhang zwischen PR-Status und gynäkologischer Komorbidität.

Aus den oben genannten Ergebnissen wird ersichtlich, dass der PR und erbB2 in Meningeomen offensichtlich eine andere Rolle spielen als in Mamma-Karzinomen. Dies erklärt die bisher nicht sicher als wirksam nachgewiesene und damit noch nicht definierte adjuvante Hormontherapie bei diesen Tumoren.



## 7. Literaturverzeichnis

1	Adams EF, Schrell UMH, Fahlbusch R, Thierauf P (1990) Hormonal dependency of cerebral meningiomas –Part 2: In vitro effect of steroid, bromocriptine, and epidermal growth factor on growth of meningiomas. J Neurosurgery 73: 750-755
2	Adams EF, Todo T, Schrell UMH, Thierauf P, White MC, Fahlbusch R (1991) Autocrine control of human meningioma proliferation: secretion of platelet-derived growth-factor-like molecules. Int J Cancer 49: 398-402
3	Allred DC, Clark GM, Molina R, et al (1992) Overexpression of HER-2/neu and its relationship with other prognostic factors change during the progression of in situ to invasive breast cancer. Hum Pathol 23:974-979
4	Argenyi ZB, Thieberg MD, Hayes CM, Whitaker DC (1994) Primary cutaneous meningioma associated with von Recklinghausen`s disease. J Cutan Pathol : 549-556
5	Auricchio F (1989) X. J Steroid Biochem.32: 613-622
6	Bagchi MK, Tsai SY, Tsai MJ, O`Malley BW (1992) Ligand and DNA-dependent phosphorylation of human progesterone receptor in vitro. Proc.Natl. Acad. Sci.USA 89: 2664-68
7	Baird M, Gallagher PJ (1989) Recurrent intracranial and spinal meningiomas: clinical and histological features. Clin Neuropathol 8: 41-44
8	Bargmann CI, Weinberg RA (1988) Oncogenic activation of the neu-encoded receptor protein by point mutation and deletion. EMBO J 7: 2043-2052
9	Baser ME, R Evans DG, Gutmann DH (2003) Neurofibromatosis 2. Curr Opin Neurol. 16(1): 27-33
10	Besser D, Bromberg JF, Darnell Jr JE, Hanafusa H (1999) X. Mol Cell Biol 19: 1401-1409
11	Bezwoda WR (2000) c-erbB-2 expression and response to treatment in metastatic breast cancer. Med Oncol 17(1): 22-8

12	Bickerstaff ER, Small JM, Guest IA (1958) The relapsing course of certain meningiomas in relation to pregnancy and menstruation. <i>J Neurol Neurosurg Psych</i> 21: 89-91
13	Black P, Carroll R, Zhang J (1996) The molecular biology of hormone and growth factor receptors in meningiomas. <i>Acta Neurochir (suppl) (Wien)</i> 140: 333-340
14	Black PM (1993) Meningiomas. <i>Neurosurgery</i> 32: 643-657
15	Blankenstein MA, Blaauw G, Lamberts SWJ, Mulder E (1983) Presence of progesterone receptors and absence of oestrogen receptors in human intracranial meningioma cytosols. <i>EurJ Cancer Clin Oncol</i> 19: 365-370
16	Blankenstein MA, Koehorst SG, van der Kallen CJ, Jacobs HM, van Spriël AB, Donker GH, van't Verlaat JW, Blaauw G, Thijssen JH (1995) Oestrogen receptor independent expression of progestin receptors in human meningioma- a review., <i>J Steroid Biochem Mol Biol</i> 53(1-6): 361-5
17	Blankenstein MA, van der Meulen-Dijk C, Thijssen JH (1987) Assay of oestrogen and progestin receptors in human meningioma cytosols using immunological methods. <i>Clin Chem Acta</i> 165: 189-195
18	Blankenstein MA, van der Meulen-Dijk C, Thijssen JH (1989) Effects of steroids and antisteroids on human meningioma cells in primary culture. <i>J Steroid Biochem</i> 34: 361-365
19	Blankenstein MA, Verheijen FM, Jacobs JM, Donker TH, van Duijnhoven MW, Thijssen JH (2000) Occurrence, regulation, and significance of progesterone receptors in human meningioma. <i>Steroids</i> 65(10-11): 795-800
20	Bocquel MT, Kumar C, Stricker C, Chambon P, Gronemeyer H (1989) The contribution of the N- and C-terminal regions of steroid receptors to activation of transcription is both receptor- and cell- specific. <i>Nucleic Acids Res</i> 17: 2581-2595
21	Borovich B, Doron Y, Braun J, Feinsod M, Goldsher D, Gruszkiewicz J, Guilburd JN, Zaaroor M, Levi L, Soustiel JF, et al. (1988) The incidence of multiple meningiomas—do solitary meningiomas exist? <i>Acta Neurochir (Wien)</i> 90(1-2):15-22

22	Bowman T, Garcia R, Turkson J, Jove R (2000) STATs in oncogenesis. <i>Oncogene</i> 19(21):2474-88,
23	Boyle-Walsh E, Shenkin A, White MC, et al. (1995) Effect of glycoprotein and protein hormones on human meningioma cell proliferation in vitro. <i>J Endocrinol</i> 145:155-161
24	Brandis A, Mirzai S, Tatagiba M, Walter GF, Samii M, Ostertag H (1993) Immunohistochemical Detection of female sex hormone receptors in meningiomas: Correlation with clinical and histological features. <i>Neurosurgery</i> 33: 212-218
25	Bromberg J, Darnell JE Jr.(2000) The role of STATs in transcriptional control and their impact on cellular function, <i>Oncogene</i> 19(21): 2468-73
26	Bromberg JF, Fan Z, Brown C, Mendelsohn J, Darnell JE Jr.(1998) Epidermal growth factor-induced growth inhibition requires Stat1 activation. <i>Cell Growth Differ</i> 9(7):505-12
27	Bromberg JF, Horvath CM, Wen Z, Schreiber RD, Darnell Jr JE (1996) X. <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 93: 7673-7678
28	Bunone G, Briand PA, Miksicek RJ, Picard D (1996) Activation of the unliganded estrogen receptor by EGF involves the MAP kinase pathway and direct phosphorylation. <i>EMBO J</i> 15: 2174-2183
29	Burden S, Yarden Y (1997) <i>Neuron</i> 18: 847-855
30	Burns PE, Jha N, Bain GO (1986) Association of breast cancer with meningioma. <i>Cancer</i> 58: 1537-1539
31	Carroll RS, Glowacka D, Dashner K, Black PM (1993) Progesterone receptor expression in meningiomas. <i>Cancer Res</i> 53: 1312-1316
32	Carroll RS, Zhang J, Dashner K, Black PM (1995) Progesterone and glucocorticoid receptor activation in meningiomas. <i>Neurosurgery</i> 37: 92-97
33	Carroll RS, Zhang J, Black PM (1999) Expression of estrogen receptors alpha and beta in human meningiomas. <i>J Neurooncol.</i> 42(2): 109-16
34	Carter-Su C, King AP, Argetsinger LS, Smit LS, Vanderkuur J, Campbell GS (1996) Signalling pathway of GH. <i>Endocr J</i> 43 Suppl: S65-70
35	Cattaneo E, Magrassi L, De Fraja C, et al (1998) variations in the

	levels of the Jak-Stat and ShcA proteins in human brain tumors. Anticancer Res 18: 2381-2388
36	Cella N, Groner B, Hynes NE (1998) Characterization of Stat5a and Stat5b homodimers and heterodimers and their association with the glucocorticoid receptor in mammary cells. Mol Cell Biol 18(4):1783-92
37	Chin YE, Kitagawa M, Kuida K, Flavell RA, Fu XY (1997) Activation of the STAT signaling pathway can cause expression of caspase 1 and apoptosis. Mol Cell Biol 17(9): 5328-37
38	Chozick BS, Benzil DL, Stopa EG, Pezzulo JC, Knuckey NW, Epstein MH, Finkelstein SD, Finch PW (1996) Immunohistochemical evaluation of erbB-2 and p53 protein expression in benign and atypical human meningiomas. J Neurooncol 27: 117-26
39	Chua BH, Chua CC, Zhao ZY, Krebs CJ (1991) Estrone modulates the EGF receptor in the liver of db/db mouse. J Recept Res. 11(6): 941-57
40	Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, et al (1999) Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. J Clin Oncol 17: 2693-2648
41	Crombet T, Torres O, Rodriguez V, Menedez A, Stevenson A, Ramos M, Torres F, Figueredo R, Veitia I, Iznaga N, Perez R, Lage A (2001) Phase I clinical evaluation of a neutralizing monoclonal antibody against epidermal growth factor receptor in advanced brain tumor patients: preliminary study. Hybridoma 20(2): 131-6
42	D'Ambrosio AL, Bruce JN (2003) Treatment of meningiomas: an update. Curr Neurol Neurosci Rep 3(3): 206-14
43	Daniel NN, Pernis A, Rothman PB (1995) X. Science 269: 1875-1877
44	Darnell JE jr, Kerr IM, Stark GR (1994) Jak-Stat pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. Science 264: 1415-1421
45	Darnell JE Jr. (1997) STATs and Gene Regulation. Science 277: 1630-1635
46	Darnell JE Jr.(1998) Studies of IFN-induced transcriptional activation uncover the Jak-Stat pathway. J Interferon Cytokine Res 18(8):549-54

47	Dean P Edwards, Susan A Leonhart, Elizabeth Gass- Handel (2000) Novel Mechanisms of Progesterone Antagonists and Progesterone Receptor. J Soc Gynecol Investig 7(1) (supplement)
48	Decker T, Kovarik P (1999) Transcription factor activity of STAT proteins: structural requirements and regulation by phosphorylation and interacting proteins. CMLS Cell Mol Life Sci 55: 1535-46
49	Denis M, Poellinger L, Wikstrom AC, Gustafsson JA (1988) X. Nature (London) 333: 686-88
50	Denner LA, Weigel NL, Schrader WT, O`Malley BW (1989) X. Endocrinology 125: 3051-3058
51	Detta A, Kenny BG, Smith C, Logan A, Hitchcock E. (1993) Correlation of proto-oncogene expression and proliferation and meningiomas. Neurosurgery 33:1065-74
52	Di Bonito, L Giarelli, G Falconieri, D Bonifacio-Gori, G Tomasic, P Vielh (1993) Association of Breast cancer and Meningioma. Path.Res.Pract.189: 399-404
53	Di Fiore PP, Pierce JH, Fleming TP, Hazan R, Ullrich A, King CR, Schlessinger J, Aaronson SA (1987) Overexpression of the human EGF receptor confers an EGF-dependant transformed phenotype to NIH 3T3 cells. Cell 51(6): 1063-70
54	Donnell MS, Meyer GA, Donegan WL (1979) Estrogen-receptor protein in intracranial meningiomas. J Neurosurg 50(4): 499-502
55	Doron Y, Gruskiewicz J (1987) Metastasis of invasive carcinoma of the breast to an extradural meningioma of the cranial vault. Cancer 60:1081-4
56	Egeblad M, Jaattela M (2000) Cell death induced by TNF or serum starvation is independent of ErbB receptor signaling in MCF-7 breast carcinoma cells. Int J Cancer 86(5): 617-25
57	Enam SA, Abdulrauf S, Mehta B, Malik GM, Mahmood A (1996) Metastasis in Meningioma. Acta Neurochir (Wien) 138: 1172-78
58	Feltz R, Schalldach U, Kruger J, Ruhashya R (2001) Malignant brain tumors after radiation – glioblastomas after operation and radiation of meningiomas – 2 case reports. Zentralbl Neurochir 62: 48-56
59	Fine HA (1994) The basis for current treatment recommendations for

	malignant gliomas. J Neurooncol 20: 111-20
60	Fitzpatrick VD, Pisacane PI, Vandlen RL, et al (1998) Formation of a high affinity heregulin binding site using the soluble extracellular domains of erbB2 with erbB3 or erbB4. FEBS Lett 431:102-106
61	Friend KE, Radinsky R, McCutcheon IE (1999) Growth hormone receptor expression and function in meningiomas: effects of a specific receptor antagonist. J Neurosurg 91(1): 93-9
62	Fu XY, Schindler C, Improta T, Aebersold R, Darnell JE Jr (1992) X. Proc Natl Acad Sci USA 89: 7840-43
63	Funder JW, Pearce PT, Smith R, Smith AI (1988) Mineralocorticoid action: target tissue specificity is enzyme, not receptor, mediated. Science 242: 583-585
64	Funkhouser WK, Kaiser – Rogers K (2001) Review: significance of, and optimal screening for, HER –2 gene amplification and protein overexpression in breast carcinoma. Ann Clin Lab Sci 31(4): 349-58
65	Fuqua SA, Fitzgerald SD, Chamness GC, Tandon AK, McDonnell DP, Nawaz Z, O'Malley BW, McGuire WL (1991) Variant human breast tumor estrogen receptor with constitutive transcriptional activity. Cancer research 51(1): 105-9
66	Gabos S, Berkel J (1992) Meta-analysis of progestin and estrogen receptors in human meningiomas. Neuroepidemiology 11, 255-260
67	Garcia R, Jove R (1998) X. J Biomed Sci 5: 79-85
68	Garcia R, Yu CL, Hudnall A, Catlett R, Nelson KL, Smithgall T, Fujita DJ, Ethier SP, Jove R (1997) X. Cell Growth Differ 8: 1267-1276
69	Geer van der P, Hunter T, Lindberg RA (1994) X. Annu Rev Cell Biol 10: 251-337
70	Glaholm J, Bloom HJ, Crow JH (1990) The role of radiotherapy in the management of intracranial meningiomas: thr Royal Marsden Hospital experience with 186 patients. Int J Rad Oncol Biol Phys 18(4): 755-61
71	Goffin J (1986) Estrogen- and progesterone-receptors in meningiomas (Review). Clin Neurol Neurosurg 88(3):169-175
72	Goffin J. (1986) Estrogen- and progesterone-receptors in meningiomas (Review). Clin Neurol Neurosurg 88(3):169-175
73	Gouilleux-Gruart V, Gouilleux F, Desaint C, Claisse JF, Capiod JC,

	Delobel J, Weber-Nordt R, Dusanter-Fourt I, Dreyfus F, Groner B, Prin L (1996) STAT-related transcription factors are constitutively activated in peripheral blood cells from acute leukemia patients. <i>Blood</i> 87(5): 1692-7
74	Graham JD, Yeates C, Balleine RL, Hervey SS, Millikens JS, Bilous A, Clarke CL (1996) Progesterone receptor A and B protein expression in human breast cancer. <i>J Steroid Biochem Mol Biol.</i> 56: 93-8
75	Graus-Porta D, Beerli RR, Daly JM, et al (1997) ErbB-2, the preferred heterodimerization partner of all ErbB receptors, is a mediator of lateral signaling. <i>EMBO J</i> 16: 1647-1655
76	Greene GL, Harris K, Bova R, Kinders R, Moore B, Nolan C (1988) Purification of T 47 D human progesterone receptor and immunohistochemical characterization with monoclonal antibodies. <i>Mol Endocrinol</i> 2: 714-726
77	Gronemeyer H (1992) Control of transcription activation by steroid hormone receptors. <i>FASEB J</i> 6:2524-2529
78	Grunberg SM (1994) Role of antiprogestational therapy for meningiomas. <i>Hum Reprod</i> 9 Suppl 1: 202-7
79	Grunberg SM, Daniels AM, Muensch H, Daniels JR, Bernstein L, Kortess V, Weiss MH (1987) Correlation of meningioma hormone receptor status with hormone sensitivity in a tumor stem-cell assay. <i>J Neurosurg</i> 66: 405-408
80	Grunberg SM, Weiss MH, et al (1990) Lack of efficacy of megestrol acetate in the treatment of unresectable meningioma. <i>J Neurooncol</i> 8: 61-65
81	Grunberg SM, Weiss MH, Spitz IM, et al (1991) Treatment of unresectable meningiomas with the antiprogesterone agent mifepristone. <i>J Neurosurg</i> 74: 861-866
82	Guichon-Mantel A, Lescop P, Christin-Maitre S, et al. (1991) Nucleocytoplasmic shuttling of the progesterone receptor. <i>EMBO J</i> 10: 3851-9
83	Gullick WJ, Berger MS, Bennett PL, Rothbard JB, Waterfield MD (1987) <i>X. Int J cancer</i> 40: 246-254
84	Gupta S, Yan H, Wong LH, Ralph S, Krolewski J, Schindler C (1996) <i>X.</i>

	EMBO J 15: 1075-1084
85	Guschin d, Rogers N, Briscoe J, Witthuhn B, Watling D, Horn E, Pellegrini S, Yasukawa K, Heinrich P, Stark GR (1995) X. EMBO J 14: 1421-1429
86	Guy PM, Platko JV, Cantley LC, et al (1994) Insect cell-expressed p180erbB3 possesses an impaired tyrosine kinase activity. Proc Natl Acad Sci USA 91: 8132-8136
87	Halper J, Colvard DS, Scheithauer BW, Jiang NS, Press MF, Graham ML, Riehl E, Laws ER, Spelsberg TC (1989) Estrogen and progesterone receptors in meningiomas: comparison of nuclear binding, dextran-coated charcoal, and immunoperoxidase staining assays. Neurosurgery 25: 546-552
88	Hansen RK, Bissell MJ (2000) Tissue architecture and breast cancer: the role of extracellular matrix and steroid hormones. Endocrine-Related Cancer 7: 95-113
89	Harari D, Yarden Y (2000) Molecular mechanisms underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer. Oncogene 19: 6102-14
90	Haslam SZ, Counterman LJ, Nummy KA (1992) EGF receptor regulation in normal mouse mammary gland . Journal of Cellular Physiology 152: 553-557
91	Haspel RL, Darnell Jr. JE (1999) X. Proc Natl Acad Sci USA 96: 10188-93
92	Hellyer NJ, Cheng K, Koland JG (1998) ErbB3 (HER3) interaction with the p85 regulatory subunit of phosphoinositide 3-kinase. Biochem J 333:757-763
93	Helseth A, Mork SJ, Glattre E (1989) Neoplasms of the central nervous system in Norway. V, meningioma and cancer of other sites. An analysis of the occurrence of multiple primary neoplasms in meningioma patients in Norway from 1955 through 1986. APMIS 97: 738-744
94	Hollenberg SM, Evans RM (1988) Multiple and cooperative transactivation domains of the human glucocorticoid receptor. Cell 55: 899-906
95	Holmes WE, Sliwkowski MX, Akita RW, Henzel WJ, Lee J, Park JW,

	Yansura D, Abadi N, Raab H, Lewis GD, Shepard HM, Kuang WJ, Woos WI, Goeddel DV, Vandlen RL (1992) Identification of Heregulin, a specific activator of p158erbB-2. <i>Science</i> 256: 1205-1210
96	Horvath CM, Wen Z, Darnell Jr JE (1995) X. <i>Genes Dev</i> 9: 984-994
97	Horwitz KB (1992) The molecular biology of RU4876. Is there a role for antiprogestins in the treatment of breast cancer? <i>Endocrine Revs</i> 13:146-63
98	Horwitz KB, Francis MD, Wei LL (1985) X. <i>DNA</i> 4: 451-460
99	Horwitz KB, Mc Guire WL, Pearson OH, Segaloff A (1975) Predicting response to endocrine therapy in human breast cancer: a hypothesis. <i>Science</i> 189:726-7
100	Hsu DW, Efird JT, Hedley-Whyte ET (1997) Progesterone and estrogen receptors in meningiomas: prognostic considerations. <i>J Neurosurg</i> 86:113-120
101	Hsu DW, Pardo FS, Efird JT, et al (1994) Prognostic significance of proliferative indices in meningiomas. <i>J Neuropathol Exp Neurol</i> 53: 247-255
102	Hynes NE, Stern DF (1994) X. <i>Biochim Biophys Acta</i> 1198: 165-184
103	Ihle JN (1996) Janus kinases in cytokine signalling. <i>Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci</i> 351(1336):159-66
104	Ihle JN, Kerr IM (1995) Jaks and Stats in signaling by the cytokine receptor superfamily. <i>Trends Genet</i> 11(2):69-74
105	Ihle JN, Witthuhn BA, Quelle FW, Yamamoto K, Silvennoinen O (1995) X. <i>Annu Rev Immunol</i> 13: 369-398
106	Imada K, Leonard WJ (2000) The Jak-Stat pathway. <i>Molecular Immunology</i> 37: 1-11
107	Jääskeläinen J, Haltia M, Servo A (1986) Atypical and anaplastic meningiomas: radiology, surgery, radiotherapy, and outcome. <i>Surg Neurol</i> 25: 233-242
108	Jääskeläinen J, Laasonen E, Kärkkäinen J, et al (1986) Hormone treatment of meningiomas: lack of response to medroxyprogesterone acetate (MPA). A pilot study of five cases. <i>Acta Neurochir</i> 80:35-41
109	Jacobs DH, Holmes PP, McFarlane MJ (1992) Meningiomas are not significantly associated with breast cancer. <i>Arch Neurol</i> 49: 753-756

110	Jacobs DH, McFarlane MJ, Homes FF (1987) Female patients with meningioma of the sphenoid ridge and additional primary neoplasms of the breast and genital tract. <i>Cancer</i> 60: 3080-3082
111	Jacobs HM, van Spriel AB, Koehorst SG, Thijssen JH, Blaauw G, Blankenstein MA (1999) The truncated estrogen receptor alpha variant lacking exon 5 is not involved in progesterone receptor expression in meningiomas. <i>J Steroid Biochem Mol Biol</i> 71(5-6):167-172
112	Jay JR, McLaughlin DT, Riley KR, Martuza RL (1985) Modulation of meningioma cell growth by sex steroid hormones in vitro. <i>J Neurosurg</i> 62: 757-762
113	Jimenez-Hakim E, el-Azouzi M, Black PM (1993) The effect of prolactin and bombesin on the growth of meningioma-derived cells in monolayer culture. <i>J Neurooncol</i> 16: 185-190
114	Joab I, Radanyi C, Renoir M, Buchou T, Catelli MG, Binart N, Mester J, Baulieu EE (1984) X. <i>Nature (London)</i> 308: 850-53
115	Kaplan DH, Shankaran V, Dighe AS, Stockert E, Aguet M, Old LJ, Schreiber RD (1998) Demonstration of an interferon gamma-dependent tumor surveillance system in immunocompetent mice. <i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> 95(13):7556-61
116	Karunagaran D, Tzahar E, Beerli RR, et al (1996) ErbB-2 is a common auxiliary subunit of NDF and EGF receptors-implications for breast cancer. <i>EMBO J</i> 15:254-264
117	Kastner P, Krust A, Trcotte B, et al (1990) Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. <i>EMBO J</i> 9: 1603-14
118	Katzenellenbogen BS, Kendra KL, Norman MJ, Berthois Y (1987) Proliferation, hormonal responsiveness, and estrogen receptor content of MCF-7 human breast cancer cells grown in the short-term and long-term absence of estrogens. <i>Cancer Res</i> 47: 4355-4360
119	Kepes JJ (1982) The possible effect of female sex hormones on meningiomas, in: <i>Meningiomas. Biology, pathology and differential diagnosis</i> . Mason Publishing, New York: 17-19
120	Khalid H (1994) Immunohistochemical study of estrogen receptor-

	related antigen, progesterone and estrogen receptors in human intracranial meningiomas. <i>Cancer</i> 74(2): 679-85
121	Kimberley K. Leslie, Nirmala S. Kumar (1999) Endocrine cancer risks for women during the perimenopause and beyond. <i>Seminars in Reproductive Endocrinology</i> 17(4)
122	King RJ, Wang DY, Daly RJ, Darbre PD (1989) Approaches to studying the role of growth factors in the progression of breast tumours from the steroid sensitive to insensitive state. <i>J Steroid Biochem</i> 34:133-8
123	Klapper LN, Glathe S, Vaisman N, Hynes NE, Andrews GC, Sela M, Yarden Y (1999) The ErbB2/ HER2 oncoprotein of human carcinomas may function solely as a shared coreceptor for multiple stroma-derived growth factors. <i>Proc. Natl. Acad. Sci.USA</i> 96:4995-5000
124	Klapper LN, Kirschbaum MH, Sela M, Yarden Y (1999) X. <i>Adv Cancer Res</i> XX
125	Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW (2000) The new WHO classification of brain tumors.
126	Kleihues, Cavenee (2000) WHO-Classification
127	Knuckey NW, Stoll J Jr., Epstein MH (1989) Intracranial and spinal meningiomas in patients with breast carcinoma: case report. <i>Neurosurgery</i> 25: 112-117
128	Koehorst SG, Cox JJ, Donker GH, Lopes da Silva S, Burbach JP, Thijssen JH, Blankenstein MA (1994) Functional analysis of an alternatively spliced estrogen receptor lacking exon 4 isolated from MCF-7 breast cancer cells and meningioma tissue. <i>Mol Cell Endocrin</i> 101(1): 237-45
129	Koide SS (1998) Mifepristone. Auxiliary therapeutic use in cancer and related disorders. <i>J Reprod Med</i> 43(7): 551-60
130	Kokai Y, Myers JN, Wada T, Brown VI, LeVea CM, Davis JG, Dobashi K, Greene MI (1989) <i>Cell</i> 58: 287-292
131	Koper JW, Foekens JA, Braakman R, Lamberts SWJ (1990) Effects of Progesterone on the Response to Epidermal Growth Factor and Other Growth Factors in Cultured Human Meningioma Cells. <i>Cancer Res</i> 50: 2604-2607
132	Koper JW, Lamberts SW (1994) Meningiomas, Epidermal Growth

	Factor and Progesterone. Hum Reprod 9 (Suppl) 1: 190-194
133	Koper JW, Zwarthoff EC, Hagemeyer A, et al (1991) Inhibition of the growth of cultured human meningioma cells by recombinant interferon –alpha. Eur J Cancer 27: 416-419
134	Kost SL, Smith DF, Sullivan WP, Welch WJ, Toft DO (1989) X. Mol Cell Biol 9: 3829-3838
135	Kovanen PE, Leonard WJ (1999) Inhibitors keep cytokines in check. Curr Biol 9(23):R899-902
136	Kumar R, Yarmand-Bagheri R. (2001) The role of HER2 in angiogenesis. Semin Oncol 28(5 Suppl 16):27-32
137	Kumar V, Chambon P (1988) The estrogen receptor binds tightly to its responsive element as a ligand-induced homodimer. Cell 55, 145-156
138	Lax I, Mitra AK, Ravera C, et al (1991) Epidermal growth factor (EGF) induces oligomerization of soluble, extracellular, ligand-binding domain of EGF receptor. A low resolution projection structure of the ligand-binding domain. J Biol Chem 266:13828-13833
139	Lemoine NR, Barnes DM, Hollywood DP, Hughes CM, Smith P, Dublin E, Prigent SA, Gullick WJ, Hurst HC (1992) Expression of teh ERBB3 gene product in breast cancer. Br J Cancer 66: 1116-1121
140	Leonard WJ, O'Shea JJ (1998) Jaks and STATs: biological implications. Annu Rev Immunol 16:293-322
141	Leonard WJ, O'Shea JJ. (1998) Jaks and STATs: biological implications. Annu Rev Immunol 16:293-322
142	Lesch KP, Engl HG, Gross S (1987) Androgen receptor binding activity in meningiomas. Surg Neurol 28: 176-180
143	Lesch KP, Fahlbusch R (1986) Analysis of estradiol and progesterone receptors in meningioma. Neurochirurgia (Stuttg.) 29:99-104
144	Leslie K, Kumar NS (1999) Endocrine cancer risks for women during the perimenopause and beyond. Seminars in Reproductive Endocrinology 17(4)
145	Leuraud P, Dezamis E, Aguirre-Cruz L, Taillibert S, Lejeune J, Robin G, Mokhtari K, Boch AL, Cornu P, Delattre JY, Sanson M. Prognostic value of allelic losses and telomerase activity in meningiomas J Neurosurg. 100(2): 303-9

146	Lieu AS, Hwang SL, Hwang SL (2003) Intracranial meningiomas and breast cancer. <i>J Clin Neurosci.</i> 10(5): 553-6
147	Liu E, Thor A, He M, et al (1992) The HER-2 (c-erbB-2) oncogene is frequently amplified in situ carcinomas of the breast. <i>Oncogene</i> 7: 1027-1032
148	Lohrisch C, Piccart M (2001) An overview of HER2. <i>Semin Oncol</i> 28 (6 Suppl 18):3-11
149	Lok C, Viseux V, Avril MF, Richard MA, Gondry-Jouet C, Deramon C, Desfossez-Tribout C, Courtade S, Delaunay M, Piette F, Legars D, Saigad P, Longy M, Lorette G, Laroche L, Caux F (2005) Brain magnetic resonance imaging in patients with Cowdens Syndrome. <i>Medicine (Baltimore)</i> 84(2): 129-136
150	Lopez DA, Silvers DN, Helwig EB (1974) Cutaneous meningiomas: A clinicopathologic study. <i>Cancer</i> 34: 728
151	Lupu R, Lippman ME (1993) William L. McGuire Memorial Symposium. The role of erbB2 signal transduction pathways in human breast cancer. <i>Breast Cancer Res Treat</i> 27(1-2): 83-93
152	Lusis E, Gutmann DH (2004) <i>Curr Opin Neurol.</i> 17(6): 187-92
153	Mack EE, Wilson CB (1993) Meningiomas induced by high-dose cranial irradiation. <i>J Neurosurg</i> 79:28-31
154	Magdalenat H, Pertuiset BF, Poisson M (1982) Progstin and estrogen receptors in meningiomas. Biochemical characterisation, clinical and pathological correlations in 42 cases. <i>Acta Neurochir</i> 64: 199-213
155	Magrassi L, De-Fraja C, Conti L, Butti G, Infuso L, Govoni S, Cattaneo E (1999) Expression of the JAK and Stat superfamilies in human meningiomas. <i>J Neurosurgery</i> 91: 440-446
156	Maguire HC, Greene MI (1989) The neu (c-erbB-2) oncogene. <i>Semin Oncol.</i> 16(2): 148-55
157	Mahmood A, Caccamo DV, Tomecek FJ, et al (1993) Atypical and malignant meningiomas: a clinicopathological review. <i>Neurosurgery</i> 33: 955-963
158	Maier H, Öfner D, Hittmair A, et al.: Classic, atypical, and anaplastic meningioma: three histopathological subtypes of clinical relevance. <i>J Neurosurg</i> 77: 616-623

159	Maiuri F, Montagnani S, Gallicchio B, Carandente M, Giordano Lanza G, Dàndrea F (1989) Oestrogen and progesterone sensitivity in cultured meningioma cells. <i>Neurol Res</i> 11:9-13
160	Marchionni MA, Goodeari AD, Chen MS, Bermingham O, Kirk C, Hendricks M, Danehy F, Misumi D, Sudhalter J, Kobayashi K (1993) Glial growth factors are alternatively spliced erbB2 ligands expressed in the nervous system. <i>Nature</i> 362: 312-8
161	Markopoulos C, Sampalis F, Givalos N, Gogas H (1998) Association of breast cancer with meningioma. <i>European Journal of surgical oncology</i> 24;4: 332-4
162	Markwalder TM, Gerber HA, Waelti E, et al (1988) Hormonotherapy of meningiomas with medroxyprogesterone acetate. Immunohistochemical demonstration of the effect of medroxyprogesterone acetate on growth fractions of meningioma cells using the monoclonal antibody Ki-67. <i>Surg Neurol</i> 30: 97-101
163	Markwalder TM, Zava DT, Goldhirsch A, et al (1983) Estrogen and progesterone receptors in meningiomas in relation to clinical and pathologic features. <i>Surg Neurol</i> 20: 42-47
164	Martuza RL, Miller DC, MacLaughlin DT (1985) Estrogen and progestin binding by cytosolic and nuclear fractions of human meningiomas. <i>J Neurosurg</i> 62: 750-756
165	Matsuda Y, Kawamoto K, Kiya K, Kurisu K, Sugiyama K, Uozomi T (1994) Antitumor effects of antiprogestones on human meningioma cells in vitro and in vivo. <i>J Neurosurg</i> 80: 527-534
166	Maxwell M, Galanopoulos T, Hedley-Whyte ET, Black PM, Antoniades HN (1990) Human meningiomas co-express platelet-derived growth factor (PDGF) and PDGF-receptor genes and their protein products. <i>Int J Cancer</i> 46: 16-21
167	Maxwell M, Galanopoulos T, Neville-Golden J, Antoniades HN (1993) Expression of androgen and progesterone receptors in primary meningiomas. <i>J Neurosurg</i> 78: 756-762
168	McBlack P (1997) Hormones, Radiosurgery and Virtual Reality: New Aspects of Meningioma Management. <i>Can J Neurol Sci</i> 24: 302-306
169	McCutcheon IE, Flybjerg A, Hill H, LI J, Bennet WF, Scarlett JA, Friend

	KE (2001) Antitumor activity of growth hormone receptor antagonist pegvisomant against human meningiomas in nude mice. J Neurosurg 94: 487-492
170	McCutcheon IE, Flyvbjerg A, Hill H, Li J, Bennett WF, Scarlett JA, Friend KE (2001) Antitumor activity of the growth hormone receptor antagonist pegvisomant against human meningiomas in nude mice. J Neurosurg 94(3):487-92
171	McGuire WL (1978) Hormone receptors: their role in predicting prognoses and response to endocrine therapy. Semin Oncol 5: 428-33
172	Mehta D, Khatib R, Patel S (1983) Carcinoma of the breast and meningioma. Association and management. Cancer 51:1937-40
173	Menard S (1999) HER2 overexpression in various tumor types. Proceedings of the HER-2 state-of-the-art conference (educational lecture). Montreux, Switzerland, p 10
174	Mendelsohn J, Baselga J (2000) The EGF receptor family as targets for cancer therapy. Oncogene 19: 6550-65
175	Merten DF, Gooding CA, Newton TH, et al. (1974) Meningiomas of childhood and adolescence. J Pediatr 84: 696-700
176	Migone TS, Lin JX, Cereseto A, Mulloy JC, O'Shea JJ, Franchini G, Leonard WJ (1995) Constitutively activated Jak-STAT pathway in T cells transformed with HTLV-I. Science 269(5220):79-81
177	Miguel Beato, Mathias Truss, Sebastian Chavez (19x) Control of Transcription by Steroid Hormones. Annals New York Academy of Sciences
178	Miller RE (1986) Breast cancer and meningioma. J Surg Oncol 31: 182-183
179	Miller SJ, Hung MC (1995) X. Oncol Rep 2: 497-503
180	Miralbell R, Linggood RM, de la Monte S, Convery K, Munzenrider R, Mirimanoff RO (1992) The role of radiotherapy in the treatment of subtotally resected benign meningiomas. J Neurooncol 13(2): 157-64
181	Modiano JF, Kokai Y, Weiner DB, Pykett MJ, Nowell PC, Lyttle CR (1991) Progesterone augments proliferation induced by epidermal growth factor in a feline mammary adenocarcinoma cell line. J Cell Biochem 45: 196-206

182	Moilanen AM, Karvonen U, Poukka H, Yan W, Toppari J, Jeanne OA, Palvimo JJ (1999) X. J Biol Chem 274: 3700-04
183	Muccioli G, Ghe C, Faccani G et al. (1997) Prolactin receptors in human meningiomas: characterization and biological role. J Endocrinol 153: 365-371
184	Muller WJ, Sinn E, Pattengaale PK, Leader P (1988) X. Cell 54: 105-115
185	Murphy LC, Murphy LJ, Dubik D, Bell GI, Shiu RPC (1988) Epidermal growth factor gene expression in human breast cancer cells: regulation of expression by progstins. Cancer Res 48: 4555-4560
186	Murphy LJ, Sutherland RL, Stead B, Murphy LC, Lazarus L (1986) Progestin regulation of progestin regulation of epidermal growth factor receptor in human mammary carcinoma cells. Cancer Res 46: 728-734
187	Näär AM, Boutin JM, Lipkin SM, Yu VC, Holloway JM, et al (1991) The orientation and spacing of core DNA-binding motifs dictate selective transcriptional responses to three nuclear receptors. Cell 65: 1276-1279
188	Nicholson RI, McClelland RA, Robertson JF, Gee JM (1999) Involvement of steroid hormone and growth factor cross-talk in endocrine response in breast cancer. Endocr Relat Cancer 6(3):373-87
189	Niedermayer I, Feiden W, Henn W, Steilen-Gimbel H, Steudel WI, Zang KD (1997) Loss of alkaline phosphatase activity in meningiomas: a rapid histochemical technique indicating progression-associated deletion of a putative tumor suppressor gene on the distal part of the short arm of chromosome 1. J Neuropathol Exp Neurol 56: 879-886
190	Nielsen M, Kaltoft K, Nordahl M, Ropke C, Geisler C, Mustelin T, Dobson P, Svejgaard A, Odum N (1997) X. Proc Natl Acad Sci USA 94: 6764-6769
191	Niewiadomska H, Mirowski M, Stempien M, Blonski JZ, Czyz W, Switalska J, Matyga E, Hanausek M, Wierzbicki R (2000) Immunohistochemical analysis of expression of a 65 kDa oncofetal protein (p65), epidermal growth factor receptor (EGFR), oncogene c-erbB2 and tumor suppressor gene p53 protein products in breast cancer patients. Neoplasma 47(1): 8-14

192	Nitta T, Sato K, Okumura K (1991) Transforming growth factor (TGF)- $\beta$ like activity of intracranial meningioma and its effect on cell growth. <i>J Neurol Sci</i> 101:19-23
193	Norton L, Slamon D, Leyland-Jones B, et al (1999) Overall survival advantage to simultaneous chemotherapy plus the humanized anti-HER-2 monoclonal antibody Herceptin in HER-2-overexpressing metastatic breast cancer. <i>Proc Am Soc Clin Oncol</i> 18: 127a (abstr 483)
194	Ogbourne S, Antalis TM (1998) Transcriptional control and the role of silencers in transcriptional regulation in eukaryotes. <i>Biochem J</i> 331( Pt 1):1-14
195	Olayioye MA, Beuvink I, Horsch K, Daly JM, Hynes NE (1999) ErbB receptor-induced activation of stat transcription factors is mediated by Src tyrosine kinases. <i>J Biol Chem</i> 274(24):17209-18
196	Olson JJ, Beck DW, Schlechte JA, Loh PM (1986) Hormonal manipulation of meningiomas in vitro. <i>J Neurosurg</i> 65: 99-107
197	Olson JJ, Beck DW, Schlechte JA, Loh PM (1987) Effect of the antiprogestosterone Ru-38486 on meningioma implanted into nude mice. <i>J Neurosurg</i> 66: 584-597
198	Onate SA, Tsai SY, Tsai MJ, O'Malley BW (1995) Sequence and characterization of a coactivator for the steroid hormone receptor superfamily. <i>Science</i> 270: 1354-7
199	Pellegrini S, Dusanter-Fourt I (1997) The structure, regulation, and function of the Janus kinases (Jaks) and the signal transducers and activators of transcription (STATs). <i>Eur J Biochem.</i> 248(3): 615-33
200	Penuel E, Schaefer G, Akita RW, Sliwkowski MX (2001) Structural Requirements for ErbB2 Transactivation. <i>Seminars in Oncology</i> 28 (Suppl 18): 36-42
201	Perrot-Appianat M, Groyer-Picard MT, Lorenzo F, Jolivet A, Vu Hai MT, Pallud C, Spyrtos F, Milgrom E (1987) Immunocytochemical study with monoclonal antibodies to progesterone receptor in human breast tumors. <i>Cancer Res</i> 47:2652-2661
202	Perrot-Appianat M, Groyer-Picard MTh, Kujas M (1992) Immunocytochemical Study of Progesterone Receptor in Human Meningioma. <i>Acta Neurochirurgica</i> 115: 20-30

203	Peterson CM (2000) Estrogen and Progesterone Receptors: an overview from the year 2000. J Soc Gynecol Investig 7(1) (supplement)
204	Pinkas-Kramarski R, Soussan L, Waterman H, Levkowitz G, Alroy I, Klapper L, Lavi S, Seger R, Ratzkin BJ, Sela M, et al. (1996) Diversification of Neu differentiation factor and epidermal growth factor signaling by combinatorial receptor interactions. EMBO J 15: 2452-67
205	Pollock BE, Stafford SL, Link MJ (2000) Gamma knife radiosurgery for skull base meningiomas. Neurosurg Clin N Am 11: 659-66
206	Posner JB (1978) Association of breast cancer with meningioma. Report of two cases and review of the literature. Cancer 42: 1992-1994
207	Prados MD, Levin V (2000) Biology and treatment of malignant glioma. Semin Oncol 27: 1-10
208	Press MF, Cordon-Cardo C, Slamon DJ (1990) X. Oncogene 5: 953-962
209	Press MF, Pike MC, Chazin VR, et al (1993) HER-2/neu expression in node-negative breast cancer: Direct tissue quantitation by computerized image analysis and association of overexpression with increased risk of recurrent disease. Cancer Res 53: 4960-4970
210	Preston-Martin S, Lewis S, Winkelmann R, Borman B, Auld J, Pearce N (1993) Descriptive epidemiology of primary cancer of the brain, cranial nerves, and cranial meninges in New Zealand, 1948-88. Cancer Causes Control 4: 529-38
211	Preston-Martin S, Pogoda JM, Schlehofer B, Blettner M, Howe GR, Ryan P, Menegoz F, Giles GG, Rodvall Y, Choi NW, Little J, Arslan A (1998) An international case-control study of adult glioma and meningioma: the role of head trauma. Int J Epidemiol 27(4): 579-86
212	Ramana CV, Chatterjee-Kishore M, Nguyen H, Stark GR (2000) Complex roles of Stat1 in regulation gene expression. Oncogene 19(21): 2619-27
213	Read LD, Keith D, Slamon DJ, Katzenellenbogen BS (1990) Hormonal modulation of HER2/neu protooncogene messenger ribonucleic acid and p185 protein expression in human breast cancer cell lines. Cancer Res 50: 3947-3951
214	Remmele W, Stegner HE (1987) Vorschlag zur einheitlichen Definition

	eines Immunreaktiven Score (IRS) für den immunhistochemischen Östrogenrezeptor-Nachweis (ER-ICA) im Mammakarzinomgewebe. Der Pathologe 8: 138-140
215	Reubi JC, Horisberger U, Lang W, Koper JW, Braakman R, Lamberts SWJ (1989) Coincidence of EGF receptors and somatostatin receptors in meningiomas but inverse, differentiation-dependent relationship in glial tumors. Am J Pathol 134: 337-344
216	Richardi VM (1987) Neurofibromatosis. Neurologic Clinics 5: 337-349
217	Riese DJ II, van Raaij TM, Plowman GD, et al (1995) The cellular response to neuregulins is governed by complex interactions of the erbB receptor family. Mol Cell Biol 15: 5770-5776
218	Rodvall Y, Ahlbom A, Stenlund C, Preston-Martin S, Lindh T, Spännare B (1998) Occupational exposure to magnetic fields and brain tumours in central sweden. European journal of epidemiology 14(6): 563-9
219	Roelvink NC, Kamphorst W, van Alphen AM, Ramanath Rao B (1987) Pregnancy-related primary brain and spinal tumors. Arch Neurol 44:209-215
220	Ron E, Modan B, Boice JD Jr, Alfandry E, Stovall M, Chetrit A Katz L (1988) Tumors of the brain and nervous system after radiotherapy in childhood. N Engl J Med 319: 1033-1039
221	Ross JS, Fletcher JA (1998) The HER-2/neu oncogene in breast cancer: Prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. Oncologist 3: 237-252
222	RS Carroll, D Glowacka, K Dashner, PM Black (1993) Progesterone Receptor Expression in Meningiomas. Cancer Research 53: 1312-1316
223	Rubinstein AB, Loven D, Geier A, reichenthal E, gadoth N (1994) Hormone receptors in initially excised versus recurrent intracranial meningiomas. J Neurosurg 81:184-187
224	Rubinstein AB, Schein M, Reichenthal E (1989) The association of carcinoma of the breast with meningioma. Surgery, Gynecology and Obstetrics 169: 334-336
225	Russel, Rubinstein: Patology of tumors of the nervous system, sixth edition, Vol 2

226	Russell KS, Hung MC (1992) Transcriptional repression of the neu protooncogene by estrogen stimulated estrogen receptor. <i>Cancer Res</i> 52: 6624-6629
227	Russo IH, Russo J (1998) Role of hormones in mammary cancer initiation and progression. <i>J Mammary Gland Biol Neoplasia</i> 3(1):49-61
228	Sainsbury JRC, Farndon JR, Needham GK, Malcolm A, Harris A (1987) Epidermal growth factor receptor status as predictor of early recurrence and death from breast cancer. <i>Lancet</i> 1: 1398-1405
229	Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N (1995) X. <i>Crit Rev Oncol Hematol</i> 19: 183-232
230	Salvati, Cervoni (1996) Association of breast carcinoma and meningioma: report of new cases and review of the literature. X :
231	Sanson M, Cornu P (2000) Biology of Meningiomas (Review article). <i>Acta Neurochir (Wien)</i> 142: 493-505
232	Sartorius CA, Tung L, Takimoto GS, Horwitz KB (1993) Antagonist-occupied human progesterone receptors bound to DNA are functionally switched to transcriptional agonists by cAMP. <i>J Biol Chem</i> 268(13): 9262-6
233	Sarup JC, Rao KVS, Fox CF (1988) Decreased progesterone binding and attenuated progesterone action in cultered human breast carcinoma cells treated with epidermal growth factor. <i>Cancer Res</i> 48: 5071-78
234	Savouret JF, Bailly A, Misrahi M, Rauch C, Redeuilh G, Chauchereau A, Milgrom E (1991) Characterization of the hormone responsive element involved in the regulation of the progesterone receptor gene. <i>Embo J</i> 10(7): 1875-83
235	Schindler C, Darnell JE Jr. (1995) Transcriptional responses to polypeptide ligands: the Jak-Stat pathway. <i>Annu Rev Biochem</i> 64: 621-651
236	Schindler C, Fu XY, Improta T, Aebersold R, Darnell JE Jr (1992) X. <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 89: 7836-39
237	Schlegel J, Ullrich B, Stumm G, Gass P, Harwerth IM, Hynes NE, Kiessling M (1993) Expression of c-erbB-2 encoded oncoprotein and progesterone receptor in human meningiomas. <i>Acta Neuropathol</i> 86:

	473-479
238	Schlehofer B, Blettner M, Wahrendorf J (1992) Association between braintumors and menopausal status. J Natl Cancer Inst 84(17): 1346-9
239	Schoenberg BS, Christine BW, Whisnant JP (1975) Nervous system neoplasms and primary malignancies of other sites. The unique association between meningiomas and breast cancer. Neurology 25: 705-712
240	Schrell UMH, Adams EF, Fahlbusch R, Greb R, Jirikowski G, Prior R, Ramalho-Ortigao FJ (1990) Hormonal dependency of cerebral meningiomas – Part 1: Female sex steroid receptors and their significance as specific markers for adjuvant medical therapy J Neurosurgery 73: 743-749
241	Schrell UMH, Rittig MG, Anders M, et al (1997) Hydroxyurea for tretment of unresectable and recurrent meningiomas. I.Inhibition of primary human meningioma cells in culture and in meningioma transplants by induction of the apoptotic pathway. J Neurosurg 86: 845-852
242	Schrell UMU, Koch HU, marschalek R, et al. (1998) Formation of autocrine loops in human cerebral meningioma tissue by leukemia inhibition factor, interleukin-6, and oncostatin M: inhibition of meningioma cell growth in vitro by recombinant oncostatin M. J Neurosurg 88: 541-548
243	Schwechheimer K, Lauffle RM, Schmahl W, Knodlseder M, Fischer H, Hofler H (1994) Expression of neu/c-erbB-2 in human brain tumors. Hum Pathol 25(8): 772-80
244	Segatto O, King CR, Pierce JH, Di Fiore PP, Aaronson Sa (1988) Different structural alterations upregulate in vitro tyrosine kinase activity and transforming potency of the erbB2 gene. Molecular and cellular biology 8(12): 5570-4
245	Seidel HM, Milocco LH, Lamb P, Darnell JE Jr, Stein RB, Rosen J (1995) Spacing of palindromic half sites as a determinant of selective STAT (signal transducers and activators of transcription) DNA binding and transcriptional activity. Proc Natl Acad Sci U S A 92(7):3041-5
246	Sharif S, Brennan P, Rawluk D (1998) Non surgical treatment of

	meningiomas: a case report and review. Br J Neurosurg. 12(4): 169-72
247	Sheehy JP, Crockard HA (1983) Multiple Meningiomas: A Long-Term Review. J Neurosurg 59: 1-5
248	Sheridan PL, Evans RM, Horwitz KB (1989) X. J Biol Chem 264: 6520-6528
249	Sheridan PL, Francis MD, Horwitz KB (1989) X. J Biol Chem 264: 7054-7058
250	Shimoda K, Feng J, Murakami H, Nagata S, Watling D, Rogers NC, Stark GR, Kerr IM, Ihle JN (1997) Jak1 plays an essential role for receptor phosphorylation and Stat activation in response to granulocyte colony-stimulating factor. Blood 90(2):597-604
251	Shuai K (1999) The STAT family of proteins in cytokine signaling. Prog Biophys Mol Biol 71(3-4):405-22
252	Sikes RA, Chung LW (1992) X. Cancer Res 52: 3174-3181
253	Simon M, von Deimling A, Larson JJ, Wellenreuther R, Kaskel P, Waha A, Warnick RE, Tew JM Jr, Menon AG (1995) Allelic losses on chromosomes 14, 10 and 1 in atypical and malignant meningiomas: a genetic model of meningioma progression. Cancer Res 55: 4696-4670
254	Simpson D (1957) The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. J Neurol Neurosurg Psychiatry 20: 22-39
255	Slamon D (1999) Development of the anti-HER2 monoclonal antibody, Herceptin. Proceedings of the HER-2 state-of-the-art conference (educational lecture). Montreux, Switzerland, p 22
256	Slamon D (2000) Use of the anti HER-2/neu antibody, Herceptin in the treatment of human breast cancer. Proceedings of the 10 <sup>th</sup> International Congress on Anti-Cancer Treatment, Paris, France, p 26 (abstr)
257	Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL (1987) Human breast cancer : Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. Science 235:50-60 o.177-82
258	Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, Levin WJ, Stuart SG, Udove j, Ullrich A, et al. (1989) X. Science 244: 707-712
259	Sliwkowski MX, Schaefer G, Akita RW, et al (1994) Coexpression of

	erbB2 and erbB3 proteins reconstitutes a high affinity receptor for heregulin. J Biol Chem 269:14661-14665
260	Smith DA, Cahill DW (1994) The biology of meningiomas. Neurosurgery Clinics of North America 5: 201-213
261	Smith-Behn J (1992) Relationship between breast cancer and meningioma. South Med J 85: 146-47
262	Spivak-Kroizman T, Rotin D, Pinchasi D, et al (1992) Heterodimerization of c-erbB2 with different epidermal growth factor receptor mutants elicits stimulatory or inhibitory responses. J Biol Chem 267: 8056-8063
263	Stedman KE, Moore GE, Morgan RT (1980) Estrogen receptor proteins in diverse human tumors. Arch Surg 115: 244-8
264	Stoeklin E, Wissler M, Gouilleux F, Groner B (1996) Functional interactions between Stat 5 and the glucocorticoid receptor. Nature 383: 726-728
265	Stoeklin E, Wissler M, Schaetzle D, Pfitzner E, Groner B (1999) Interactions in the transcriptional regulation exerted by Stat5 and by members of the steroid hormone receptor family. J Steroid Biochem Mol Biol 69: 195-204
266	Tagle P, Villanueva P, Torrealba G, Huete I (2002) Intracranial metastasis or meningioma ? An uncommon clinical diagnostic dilemma. Surg Neurol. 58: 241-5
267	Tan J, Hall SH, Hamil KG, Grossman G, Petrusz P, Liao J, Shuai K, French FS (2000) X. Mol Endocrin 14: 14-26
268	Tanner KG, Kyte J (1999) Dimerization of the extracellular domain of the receptor for epidermal growth factor containing the membrane-spanning segment in response to treatment with epidermal growth factor. J Biol Chem 274: 35985-35990
269	Teran Davila J, Teppa Garran A (2004) Progesterone antagonists: biochemical and pharmacological aspects and clinical usefulness. Ginecol Obstet Mex. 72: 76-84
270	Tilzer LL, Plapp FV, Evans JP, Stone D, Alward K (1982) Steroid receptor proteins in human meningiomas. Cancer (Phila.) 49: 633-636
271	Tonn JC, Ott MM, Bouterfa H, Kerkau S, Kapp M, Muller-Hermeling

	HK, Roosen K (1997) Inverse correlation of cell proliferation and expression of progesterone receptors in tumor spheroids and monoöayer cultures of human meningiomas. <i>Neurosurgery</i> 41(5): 1152-9
272	Tora L, Mullick A, Metzger D, Ponglikitmongkol M, Park I, Chambon P (1989) The cloned human estrogen receptor contains a mutation which alters its hormone binding properties. <i>EMBO J</i> 8, 1981-1986
273	Tora L, White J, Brou C, Tasset D, Webster N, Scheer E et al (1989) The human estrogen receptor has two independent nonacidic transcriptional activation functions. <i>Cell</i> 59: 477-487
274	Torchia J, Glass C, Rosenfeld MG (1998) Co-activators and co-repressors in the integration of transcriptional responses. <i>Curr Opin Cell Biol</i> 10(3):373-83
275	Tsai JC, Hsiao YY, Teng LJ, Shun CT, Chen CT, Goldman CK, Kao MC (1999) Regulation of vascular endothelial growth factor secretion in human meningioma cells., <i>J Formos Med Assoc</i> 98(2):111-7
276	Verhage A, Go KG, Visser GM, Blankenstein MA, Vaalburg W (1995) The presence of progesterone receptors in arachnoid granulations and in the lining of arachnoid cysts: its relevance to expression of progesterone receptors in meningiomas. <i>Brit J Neurosurg</i> 9: 47-50
277	Vinkemeier U, Cohen SL, Moarefi I, Chait BT, Kuriyan J, Darnell JE Jr (1996) DNA binding of in vitro activated Stat1 alpha, Stat1 beta and truncated Stat1: interaction between NH2-terminal domains stabilizes binding of two dimers to tandem DNA sites. <i>EMBO J</i> 15(20):5616-26
278	Vu Hai MT, Jolivet A, ravet V, Lorenzo F, Perrot-Applanat M, Citerne M, Milgrom E (1989) Novel monoclonal antibodies against humn uterine progesterone receptor. Mapping of receptor immunogenic domains. <i>Biochem J</i> 260: 371-376
279	Wahab M, Al-Azzawi F (2003) Meningioma amd hormonal influences <i>Climacteric</i> 6(4): 185-92
280	Wang YH, Wharton W, Garcia R, Kraker A, Jove R, Pledger WJ (2000) X. <i>Oncogene</i> (in press)
281	Wang Z, Zhang L, Yeung TK, et al (1999) Endocytosis deficiency of epidermal growth factor (EGF) receptor-ErbB2 heterodimers in

	response to EGF stimulation. <i>Mol Biol Cell</i> 10: 1621-1636
282	Watson CJ, Miller WR (1995) Elevated levels of members of the STAT family of transcription factors in breast carcinoma nuclear extracts. <i>Br J Cancer</i> 71(4): 840-4
283	Weber-Nordt RM, Egen C, Wehinger J, Ludwig W, Gouilleux-Gruart V, Mertelsmann R, Finke J (1996) Constitutive activation of STAT proteins in primary lymphoid and myeloid leukemia cells and in Epstein-Barr virus (EBV)-related lymphoma cell lines. <i>Blood</i> 88(3): 809-16
284	Weiner DB, Kokai Y, Wada T, et al (1989) Linkage of tyrosine kinase activity with transforming ability of the p185neu oncoprotein. <i>Oncogene</i> 4: 1175-1183
285	Weisman AS, Raguet SS, Kelly PA (1987) Characterization of the epidermal growth factor receptor in human meningioma. <i>Cancer Res</i> 47: 2172-2176
286	Weisman AS, Villemure JG, Kelly PA (1986) Regulation of DNA synthesis and growth of cells derived from primary human meningiomas. <i>Cancer Res</i> 46: 2545-50
287	Wen D, Peles E, Cupples R, Suggs SV, Bacus SS, Luo Y, Trail G, Hu S, Silbiger SM, Ben Levy R, Koski RA, LU HS, Yarden Y (1992) Neu differentiation factor: a transmembrane glycoprotein containing an EGF domain and an immunoglobulin homology unit. <i>Cell</i> 69: 559-572
288	Wen DX, Xu Y-F, Mais DE, et al (1994) The A and B isoforms of the human progesterone receptor operate through distinct signaling pathways within target cells. <i>Mol Cell Biol</i> 14: 8356-64
289	Wen Z, Darnell JE Jr. (1997) Mapping of Stat3 serine phosphorylation to a single residue (727) and evidence that serine phosphorylation has no influence on DNA binding of Stat1 and Stat3. <i>Nucleic Acids Res</i> 25(11):2062-7
290	Wen Z, Zhong Z, Darnell JE Jr. (1995) Maximal activation of transcription by Stat1 and Stat3 requires both tyrosine and serine phosphorylation. <i>Cell</i> 82(2):241-50
291	Wenkel E, Thornton AF, Finkelstein D, Adams J, Lyons S, De La Monte S, Ojeman RG, Munzenrider JE. (2000) Benign meningioma: partially resected, biopsied, and recurrent intracranial tumors treated

	with combined proton and photon radiotherapy. <i>Int J Radiat Oncol Biol Phys</i> 48:1363-70
292	Westphal M, Herrman HD (1986) Epidermal growth factor receptors on cultured human meningioma cells. <i>Acta Neurochir (Wien)</i> 83: 62-66
293	Wilks AF, Harpur AG, Kurban RR, Ralph SJ, Zurcher G, Ziemiecki S (1991) Two novel proteine tyrosine kinases, each with a second phophotransferase-related catalytic domain, define a new class protein kinase. <i>Mol Cell Biol.</i> 11(4): 1057-65
294	Worthylake R, Opresko LK, Wiley HS (1999) ErbB-2 amplification inhibits down-regulation and induces constitutive activation of both ErbB-2 and epidermal growth factor receptors. <i>J Biol Chem</i> 274: 8865-8874
295	Wrba F, Reiner A, Ritzinger E, Holzner JH (1988) Expression of epidermal growth factor receptors (EGFR) on breast carcinomas in relation to growth fractions, estrogen receptor status and morphological criteria. An immunohistochemical study. <i>Pathol Res Pract</i> 183: 25-29
296	Xu X, Fu XY, Plate J, Chong AS (1998) IFN-gamma induces cell growth inhibition by Fas-mediated apoptosis: requirement of STAT1 protein for up-regulation of Fas and FasL expression. <i>Cancer Res</i> 58(13):2832-7
297	Xu X, Sun YL, Hoey T (1996) Cooperative DNA binding and sequence-selective recognition conferred by the STAT amino-terminal domain. <i>Science</i> 273(5276):794-7
298	Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T, Semba K, Nomura N, Miyajima N, Saito T, Toyoshima K (1986) Similarity of protein encoded by the human c-erbB-2 gene to the epidermal growth factor receptor. <i>Nature</i> 319: 230-234
299	Yamashita J, Handa H, Iwaki K, et al (1980) Recurrence of Intracranial Meningiomas, with Special Reference to Radiotherapy. <i>Surg Neurol</i> 14:33-40
300	Yarden Y (1999) Basic biology of HER2. Proceedings of the HER-2 state-of-the-art conference (educational lecture). Montreux, Switzerland, p 6
301	Yarden Y, Sliwkowski MX (2001) Untangling the ErbB signalling

	network. Nat Rev Mol Cell Biol 2: 127-137
302	Yazaki T, Takamiya Y, Costello PC, et al (1995) Inhibition of angiogenesis and growth of human non-malignant and malignant meningiomas by TNP-470. J Neurooncol 23: 23-29
303	Yeh S, Lin HK, Kang HY, Thin TH, Lin MF, Chang C (1999) From HER2/NEU signal cascade to androgen receptor and its coactivators: A novel pathway by induction of androgen target genes through MAP kinase in prostate cancer cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:5458-63
304	Youmans JR (1990) Neurological Surgery.3 <sup>rd</sup> ed. W B Saunders. Philadelphia
305	Yu CL, Jove R, Burakoff SJ (1997). J Immunol 159: 5206-5210
306	Yu CL, Meyer DJ, Campbell GS, Lerner AC, Carter-Su C, Schwartz J, Jove R (1995) X. Science 269: 81-83
307	Yu D, Hung MC (2000) Role of erbB2 in breast cancer chemosensitivity. Bioessays 22(7): 673-680
308	Zava DT, Markwalder TM, Markwalder RV (1984) Biological expression of steroid hormone receptors in primary meningioma cells in monolayer culture. Clin Neuropharmacol 7: 382-388
309	Zeillinger R, Kury F, Czerwenka K, Kubista E, Sliutz G, Knogler W, Huber J, Zielinski C, Reiner G, Jakesz R, Staffen A, Reiner A, Wrba F, Spona J (1989) HER-2 amplification, steroid receptors, and epidermal growth factor receptors in primary breast cancer. Oncogene 4: 109-114
310	Zhang Q, Nowak I, Vonderheid EC, Rook AH, Kadin ME, Nowell PC, Shaw LM, Wasik MA (1996) X. Proc Natl Acad Sci USA 93: 9148-9153
311	Zon LI, Johns WD, Stomper PC, Kaplan WD, Connolly JL, Morris JH, Harris JR, Henderson IC, Skarin AT (1989) Breast carcinoma metastatic to a meningioma. Case report and review of the literature. Arch Intern Med 149(4): 959-62
312	Zong C, Yan R, August A, Darnell Jr. JE, Hanafusa H (1996) X. EMBO J 15: 4515-4525
313	Zong CS, Zeng L, Jiang Y, Sadowski HB, Wang LH (1998) X. J Biol Chem 273: 28065-72
314	Zülch KJ, Mennel HD (1975) Malignant meningiomas. Adv Neurosurg 2. 3-11

315	Zülch KJ: (1993) Brain Tumours: Their Biology and Pathology, ed 3. Berlin: Springer-Verlag: 285-329
316	Butti G, Assietti R, Casalone R, Paoletti P (1989) Multiple meningiomas: A clinical, surgical, and cytogenetic analysis. Surg Neurol 31: 255-260
317	Mc Black P (1993) Meningiomas. Neurosurgery 32: 643-655
318	Busse PM (1991) Radiation therapy for meningiomas, in Schmiedeck HH (ed): <i>Meningiomas and their surgical management</i> . Philadelphia, WB Saunders: 507-518
319	Grunberg SM, Weiss MH, Spitz IM, Ahmadi J, Saduca A, Russell C, Luci L, Stevenson L (1991) Treatment of unresectable meningiomas with the antiprogestosterone agent mifepristone. J Neurosurg 74: 861-866
320	Beato M, Truss M, Chavez S (1996) Control of Transcription by Steroid Hormones. Annals of the New York Academy of Sciences 784: 93-123
321	Kraus MH; Issing W; Miki T; Popescu NC; Aaronson SA (1989) Isolation and characterization of erbB3, a third member of the ERBB/epidermal growth factor receptor family: evidence for overexpression in a subset of human mammary tumors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 86 (23): 9193-7
322	Shuai K, Ziemiecki A, Wilks AF, Harpur AG, Sadowski HB, Gilman MZ, Darnell JE Jr. (1993) Polypeptide signalling to the nucleus through tyrosine phosphorylation of Jak and Stat proteins. Nature 366: 580-585
323	Zhong Z, Wen Z, Darnell JE Jr. (1994) Stat3: a Stat family member activated by tyrosine phosphorylation in response to epidermal growth factor and interleukin-6. Science 264: 95-98
324	Jacobson NG, Szabo SJ, Weber-Nordt RM, Zhong Z, Schreiber RD, Darnell JE Jr., Murphy KM (1995) Interleukin 12 signaling in T helper type 1 (TH1) cells involves tyrosine phosphorylation of signal transducer and activator of transcription (Stat) 3 and Stat4. J Exp Med 181: 1755-1762
325	Wakao H, Gouilleux F, Groner B (1994) Mammary gland factor (MGF) is a novel member of the cytokine regulated transcription factor gene family and confers the prolactin response. EMBO J 13: 2182-2191

326	Kepes JJ: Meningiomas: Biology, Pathology and Differential Diagnosis. New York, Masson, 1982
327	O'Rahilly R, Miller F (1986) The meninges in human development. J Neuropathol Exp Neurol 45: 588-608
328	Rachlin JR, Rosenblum ML. Etiology and biology of meningiomas, in Al-Mefty O (ed): <i>Meningiomas</i> . New York, Raven, 1991, pp 22-37
329	Sadasivan B. Ectopic meningiomas, in Schmidek HH (ed): <i>Meningiomas and their Surgical Management</i> . Philadelphia, WB Saunders, 1991, pp 493-499
330	Shangsholi S. Primary meningiomas outside the central nervous system, in Al-Mefty O (ed): <i>Meningiomas</i> . New York, Raven Press, 1991, pp 107-117

## Lebenslauf

### Personalien:

Name	Solvejg Rellecke, geb. Unger
Adresse	Classen-Kappelman Str. 30A, 50931 Köln
Geburtsdatum	16.07.76
Geburtsort	Koblenz
Familienstand	verheiratet
Eltern	Renate und Wieland Unger

### Schulbildung

1982-1986	Grundschule Neukarthause in Koblenz
1986-1995	Staatliches Gymnasium auf der Karthause
22.06.1995	Abitur

### Beruflicher Werdegang

Oktober 1995	Beginn des Medizinstudiums an der Philipps-Universität Marburg
August 1997	Ärztliche Vorprüfung
August 1998	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
März/April 2001	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
April 2001 – März 2002	Praktisches Jahr Klinikum der Philipps-Universität Marburg in den Abteilungen für Innere und Gynäkologie
August- Dezember 2001	Chirurgie - PJ - Tertial im Kantonsspital Uri in Altdorf, Schweiz
Mai 2002	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
01.01.2003 - 30.06.2004	ÄIP in der Universitätsfrauenklinik Köln
seit 01.07.2004	Assistenzärztin Universitätsfrauenklinik Köln

## Verzeichnis der akademischen Lehrer

Prof. Dr. Arnold

Prof. Dr. Aumüller

Prof. Dr. Barth

Prof. Dr. Dr. Basler

Prof. Dr. Baum

PD Dr. Christiansen

Prof. Dr. Czubayko

Prof. Dr. Doss

Prof. Dr. Engel

Prof. Dr. Geus

Prof. Dr. Gotzen

Prof. Dr. Griss

Prof. Dr. Gröne

Prof. Dr. Habermehl

Prof. Dr. Happle

PD Dr. Hellinger

PD Dr. Hesse

Prof. Dr. Hofmann

Prof. Dr. Kern

Prof. Dr. Klenk

Prof. Dr. Koolmann

Prof. Dr. Krieg

Prof. Dr. Lang

Prof. Dr. Lennartz

Prof. Dr. Dr. Mueller

Prof. Dr. Oertel

Prof. Dr. Reichardt

Prof. Dr. Dr. Remschmidt

Prof. Dr. Schachtschabel

Prof. Dr. Schäfer

Prof. Dr. Schulz

Prof. Dr. Voigt

Prof. Dr. Weihe

Prof. Dr. Werner

HD Dr. Westermann

## Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Mennel für seine hervorragende, konstruktive und unglaublich hilfreiche Unterstützung, sowohl bei dem experimentellen Teil der Arbeit, als auch bei dem vorrausgehenden und vor allem auch nachfolgenden theoretischen Teil mit Umsetzung in die Dissertation ganz herzlich bedanken. Abgesehen davon, dass man sicher nicht kompetenter als durch Herrn Prof. Mennel betreut werden kann, war es besonders seine unglaublich und einzigartig liebevolle Art mich zu unterstützen und mich weiter zu motivieren, wofür Herrn Prof. Mennel mein ganz besonderer Dank gilt.

Ich möchte mich auch bei Herrn Prof. Schlegel und seiner Arbeitsgruppe für die sehr gute Zusammenarbeit und effektive Unterstützung im neuropathologischen Labor und auch bei Frau Dr. Elena Uhle für ihre Betreuung bedanken.

Darüber hinaus möchte ich mich bei meinem Ehemann für die wertvollen und konstruktiven Vorschläge bei der Erstellung der Dissertation danken.

Mein besonderer Dank gilt aber an dieser Stelle meinen lieben Eltern, Renate und Wieland Unger, und meiner Familie, die mir die bestvorstellbaren Bedingungen für das Studium und damit auch die Möglichkeiten für das Erstellen dieser Arbeit gegeben haben.

## Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

„Die Expression des Progesteron Rezeptors in Korrelation mit dem erbB2 Onkoprotein und dem Jak – STAT Signalweg in Abhängigkeit von Tumorgrad und gynäkologischer Komorbidität in humanen Meningeomen“

in der Klinik für Neurochirurgie unter Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Bertalanffy mit Unterstützung durch Frau Dr. Elena Uhle ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- und ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Marburg, den 16.12.2005

Solvejg Rellecke