

Jahrbuch der  
Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf

*Heinrich Heine*  
HEINRICH HEINE  
UNIVERSITÄT  
DÜSSELDORF

2005/2006

*Heinrich Heine*



**Jahrbuch der  
Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf  
2005/2006**



**Jahrbuch der  
Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf  
2005/2006**

**Herausgegeben vom Rektor  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Univ.-Prof. Dr. Dr. Alfons Labisch**

**Konzeption und Redaktion:  
em. Univ.-Prof. Dr. Hans Süßmuth**

© Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf 2006  
Einbandgestaltung: Wiedemeier & Martin, Düsseldorf  
Titelbild: Schloss Mickeln, Tagungszentrum der Universität  
Redaktionsassistentz: Georg Stüttgen  
Beratung: Friedrich-K. Unterweg  
Satz: Friedhelm Sowa, L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X  
Herstellung: WAZ-Druck GmbH & Co. KG, Duisburg  
Gesetzt aus der Adobe Times  
ISBN 3-9808514-4-3

## Inhalt

<b>Vorwort des Rektors</b> .....	11
<b>Gedenken</b> .....	15
<b>Rektorat</b> .....	17
ALFONS LABISCH (Rektor)	
Die Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf ist eine Forschungsuniversität ..	19
HILDEGARD HAMMER	
Der Bologna-Prozess – Chancen und Schwächen einer erzwungenen Studienreform .....	29
CHRISTOPH AUF DER HORST	
Das Studium Universale der Heinrich-Heine-Universität zwischen „akademeia“ und „universitas“ .....	41
<b>40 Jahre Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf</b>	
HERMANN LÜBBE	
Universitätsjubiläen oder die Selbsthistorisierung der Wissenschaften .....	53
<b>Medizinische Fakultät</b>	
<i>Dekanat</i> .....	65
<i>Neu berufene Professorinnen und Professoren</i> .....	69
WOLFGANG H. M. RAAB (Dekan) und SIBYLLE SOBOLL	
Forschung und Lehre in der Medizinischen Fakultät .....	73
JÜRGEN SCHRADER	
Systembiologie – Neue Perspektiven für die Medizin? .....	79
ORTWIN ADAMS und HARTMUT HENGEL	
Husten, Schnupfen, Heiserkeit – Über alte und neue Respirationstraktviren .....	85
WILFRIED BUDACH und EDWIN BÖLKE	
Strahlende Zukunft – Radioonkologie 2010 .....	103
HILDEGARD GRASS und STEFANIE RITZ-TIMME	
Frauen- und Geschlechterforschung, Gewaltopfer und Rechtsmedizin .....	107
GESINE KÖGLER und PETER WERNET	
Die José Carreras Stammzellbank Düsseldorf – Entwicklung, klinische Ergebnisse und Perspektiven .....	119

NIKOLAS HENDRIK STOECKLEIN und WOLFRAM TRUDO KNOEFEL Disseminierte Tumorzellen bei gastrointestinalen Karzinomen – Molekular- genetische Analyse der relevanten Tumorzellen zum Aufsuchen therapeu- tischer Zielstrukturen für effektive adjuvante Therapien .....	137
---	-----

### **Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät**

<i>Dekanat</i> .....	151
<i>Neu berufene Professorinnen und Professoren</i> .....	153
PETER WESTHOFF (Dekan) Die Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät – Der Weg im Jahr 2005 .....	159
JÖRG BREITKREUTZ Arzneizubereitungen für Kinder .....	161
STEFAN U. EGELHAAF Weiche Materie – Treffpunkt von Physik, Chemie und Biologie .....	173
THOMAS HEINZEL Nanoelektronik und mesoskopischer Transport .....	185
MICHAEL LEUSCHEL und JENS BENDISPOSTO Das ProB-Werkzeug zur Validierung formaler Softwaremodelle .....	199
CHRISTINE R. ROSE Doppelt hält besser – Elektrische und chemische Signalgebung in Gehirnzellen .....	209

### **Philosophische Fakultät**

<i>Dekanat</i> .....	227
<i>Neu berufene Professorinnen und Professoren</i> .....	229
BERND WITTE (Dekan) Die Philosophische Fakultät auf dem Weg in die entgrenzte Wissensgesellschaft .....	231
ANDREA VON HÜLSEN-ESCH, WILHELM G. BUSSE und CHRISTOPH KANN Das Forschungsinstitut für Mittelalter und Renaissance .....	237
SABINE KROPP Institutionenbildung in postsowjetischen Ländern – Entwurf eines Analysekonzepts .....	245
KARL-HEINZ REUBAND Teilhabe der Bürger an der „Hochkultur“ – Die Nutzung kultureller Infrastruktur und ihre sozialen Determinanten .....	263



SHINGO SHIMADA	
Wozu „Modernes Japan“? Zur Konzeptualisierung des Lehrstuhls „Modernes Japan II mit sozialwissenschaftlichem Schwerpunkt“ .....	285
<b>Wirtschaftswissenschaftliche Fakultät</b>	
<i>Dekanat</i> .....	293
CHRISTOPH J. BÖRNER (Dekan)	
Bachelor und Master in der Betriebswirtschaftslehre – Der Düsseldorfer Ansatz .....	295
HEINZ-DIETER SMEETS und H. JÖRG THIEME	
Demographische Entwicklung und Globalisierung – Ökonomische Konsequenzen .....	311
HORST DEGEN und PETER LORSCHIED	
„Euro = Teuro“ – Lässt sich diese Gleichung statistisch belegen? .....	329
BERND GÜNTER und LUDGER ROLFES	
Wenn Kunden lästig werden – Kundenbewertung und Umgang mit unprofitablen Kundenbeziehungen durch Unternehmen .....	345
BERND GÜNTER	
Über den Tellerrand hinaus – „Studium laterale“ .....	359
<b>Juristische Fakultät</b>	
<i>Dekanat</i> .....	367
HORST SCHLEHOFER (Dekan)	
Das Bachelor-Master-System – Ein Modell für die Juristenausbildung? .....	369
ANDREAS FEUERBORN	
Der integrierte deutsch-französische Studiengang der Juristischen Fakultäten der Université de Cergy-Pontoise und der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf .....	379
ULF PALLME KÖNIG	
Die rechtliche Einordnung der Kooperationsvereinbarung zwischen Uni- versität und Universitätsklinikum nach nordrhein-westfälischem Recht .....	387
<b>Gesellschaft von Freunden und Förderern der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf e.V.</b>	
GERT KAISER	
Die Freundesgesellschaft der Heinrich-Heine-Universität .....	401
OTHMAR KALTHOFF	
Jahresbericht 2005 .....	405

## **Sonderforschungsbereiche der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

- CHRISTEL M. MARIAN und WILHELM STAHL  
 Der Sonderforschungsbereich 663  
 „Molekulare Antwort nach elektronischer Anregung“ ..... 409

## **Forscherguppen der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

- VICTORIA KOLB-BACHOFEN, MIRIAM CORTESE, JÖRG LIEBMANN,  
 SABINE KOCH und NICOLE FITZNER  
 Regulation der Entzündungsreaktion –  
 Eine wichtige Rolle für Stickstoffmonoxid ..... 421

- DIRK SCHUBERT und JOCHEN F. STAIGER  
 Die Analyse von „Was“ und „Wo“ in neuronalen Netzen  
 des primären somatosensorischen Kortex ..... 433

## **Graduiertenkollegs der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

- OSWALD WILLI  
 Das Graduiertenkolleg 1203  
 „Dynamik heißer Plasmen“ ..... 453

- AXEL GÖDECKE  
 Proteininteraktionen und -modifikationen im Herzen –  
 Das Graduiertenkolleg 1089 auf dem Weg  
 in das postgenomische Zeitalter ..... 459

## **Zentrale wissenschaftliche Einrichtungen der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

### *Humanwissenschaftlich-Medizinisches Forschungszentrum*

- DIETER BIRNBACHER  
 Das Humanwissenschaftlich-Medizinische Forschungszentrum  
 der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf ..... 475

- DIETER BIRNBACHER und LEONORE KOTTJE-BIRNBACHER  
 Ethische Fragen bei der Behandlung von Patienten  
 mit Persönlichkeitsstörungen ..... 477

## **Biotechnologie – Ein gemeinsamer Forschungsschwerpunkt der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und des Forschungszentrums Jülich**

- KARL-ERICH JAEGER  
 Das Zentrum für Mikrobielle Biotechnologie ..... 491

CHRISTIAN LEGGEWIE, THOMAS DREPPER, THORSTEN EGGERT, WERNER HUMMEL, MARTINA POHL, FRANK ROSENAU und KARL-ERICH JAEGER Molekulare Enzymtechnologie – Vom Gen zum industriellen Biokatalysator .....	501
JÖRG PIETRUSZKA, ANJA C. M. RIECHE, NIKLAS SCHÖNE und THORSTEN WILHELM Naturstoffchemie – Ein herausforderndes Puzzlespiel .....	519
<b>Institute an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf</b>	
<i>Institut für umweltmedizinische Forschung</i>	
JEAN KRUTMANN Das Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH .....	535
<b>Institute in Zusammenarbeit mit der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf</b>	
<i>Düsseldorfer Institut für Dienstleistungs-Management</i>	
WINFRIED HAMEL Das Düsseldorfer Institut für Dienstleistungs-Management – Eine virtuelle Forschungseinrichtung .....	561
<i>Institut für Internationale Kommunikation</i>	
CHRISTINE SCHWARZER und MATTHIAS JUNG Universitätsnah wirtschaften – Das Institut für Internationale Kommunikation in Zusammenarbeit mit der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf e.V. ....	573
<b>Zentrale Einrichtungen der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf</b>	
<i>Universitäts- und Landesbibliothek</i>	
IRMGARD SIEBERT und CAROLA SPIES Aufbruch in die Zukunft – Der 94. Deutsche Bibliothekartag in Düsseldorf .....	589
<i>Universitätsrechenzentrum</i>	
STEPHAN OLBRICH, NILS JENSEN und GABRIEL GAUS EVITA – Effiziente Methoden zur Visualisierung in tele-immersiven Anwendungen .....	607



# **NIKOLAS HENDRIK STOECKLEIN und WOLFRAM TRUDO KNOEFEL**

## **Disseminierte Tumorzellen bei gastrointestinalen Karzinomen – Molekulargenetische Analyse der relevanten Tumorzellen zum Aufsuchen therapeutischer Zielstrukturen für effektive adjuvante Therapien**

Einer der wichtigsten Behandlungsschwerpunkte am Universitätsklinikum Düsseldorf (UKD) ist die operative Therapie bösartiger Tumore des Verdauungstraktes. Krebsarten des Verdauungstraktes gehören zu den häufigsten und zu den aggressivsten Tumoren überhaupt. So können beispielsweise weniger als 50 Prozent der Patienten mit Ösophagus- oder Pankreaskarzinom einer chirurgischen Therapie mit heilender Absicht zugeführt werden, da der Tumor in den anderen Fällen zu weit fortgeschritten ist. Bei diesen aggressiven Tumoren versterben, trotz moderner Operationsverfahren, 70 bis 80 Prozent der Patienten tumorbedingt innerhalb von fünf Jahren nach der operativen Therapie.<sup>1</sup> Insgesamt ist das heutige Hauptproblem bei der Behandlung der gastrointestinalen Karzinome weniger die lokale operative Entfernung des Primärtumors als vielmehr die Entwicklung von letztlich unheilbaren Fernmetastasen, was den systemischen Charakter der Krebserkrankung widerspiegelt.<sup>2</sup> Kann der Patient dagegen in einem sehr frühen Tumorstadium operiert werden, ist eine Heilung möglich.<sup>3</sup> Leider sind derzeit für nur sehr wenige solide maligne Tumore effektive systemische Therapien verfügbar, um das metastatische Auswachsen von disseminierten Tumorzellen zu unterdrücken. Eine Heilung durch systemische Therapien allein ist bei gastrointestinalen Karzinomen nicht möglich.

Der Schlüssel zu erfolgreicherer adjuvanten Therapien könnte die umfassende Analyse von disseminierten Tumorzellen sein, da diese das eigentliche Ziel solcher systemischen operationsbegleitenden Therapien darstellen. Disseminierte Tumorzellen repräsentieren die potenziellen Vorläuferzellen der späteren letalen Metastasen, sind aber mit derzeitigen diagnostischen Standardverfahren nicht zu erfassen. Mit Hilfe von anti-epithelialen Antikörpern gelingt es jedoch, diese Zellen in mesenchymalen Organen nachzuweisen, was in klinischen Studien mit einer schlechten Prognose verbunden ist.<sup>4</sup> Obwohl disseminierte

---

<sup>1</sup> Vgl. Alexakis *et al.* (2004), Chu *et al.* (2003), Hosch *et al.* (2003), Korn (2004), Lerut *et al.* (2005), Malthaner *et al.* (2004b) sowie Wray *et al.* (2005).

<sup>2</sup> Vgl. Klein (2003) sowie Riethmüller und Klein (2001).

<sup>3</sup> Vgl. Chessin und Guillem (2004), Hosch *et al.* (2003), Korn (2004) sowie Sato *et al.* (2005).

<sup>4</sup> Vgl. Klein (2003), Pantel und Brakenhoff (2004) sowie Pantel und Riethmüller (1996).

Tumorzellen einen starken prognostischen Einfluss haben, gehören sie zu den seltensten Zellen überhaupt. Man findet sie in einer Frequenz von  $10^{-5}$  bis  $10^{-6}$  normaler Knochenmarkszellen bei 30 bis 40 Prozent der Krebspatienten mit lokal begrenzter Erkrankung.<sup>5</sup> Diese Seltenheit erschwert deren weitergehende Analyse, weshalb bislang wenig über die Biologie dieser für die Krebsprogression wichtigen Zellpopulation bekannt ist.

In diesem Zusammenhang stellte die Entwicklung einer robusten Einzelzell-PCR<sup>6</sup> (SCOMP) einen signifikanten Fortschritt dar.<sup>7</sup> Mit Hilfe dieser Methode gelingt es, das gesamte Genom einer einzelnen Zelle global und repräsentativ zu vervielfältigen. Das global amplifizierte Einzelzellgenom kann anschließend umfassenden molekulargenetischen und zytogenetischen Analysen zugeführt werden. Erste Ergebnisse mit diesem Verfahren bei Krebspatienten ohne manifeste Metastasen offenbarten eine starke genetische Heterogenität der nach Tumoroperation im Körper verbliebenen disseminierten Tumorzellpopulation. Im Gegensatz dazu waren die genomischen Veränderungen disseminierter Tumorzellen bei Patienten mit klinisch manifesten Metastasen untereinander ähnlich und zeigten die Zeichen klonaler Expansion und Selektion.<sup>8</sup> Ein weiterer wichtiger Befund war die Verschiedenheit der genetischen Veränderungen zwischen den disseminierten Tumorzellen und ihren autologen Primärtumoren.<sup>9</sup> Insgesamt weisen die bisherigen experimentellen Ergebnisse darauf hin, dass die Tumorzellen bereits sehr früh in der Tumorprogression disseminieren können und dass die Metastasenentstehung aus diesen Tumorzellen unabhängig von der Entwicklung des Primärtumors ablaufen kann. Es ist daher nicht möglich, *a priori* von den genetischen Veränderungen des Primärtumors direkt auf die Aberrationen der disseminierten Tumorzellpopulation zu schließen. Angesichts dieser Erkenntnisse erscheint es für die zukünftige Entwicklung und Validierung von effektiven adjuvanten Therapien unabdingbar, die Population der disseminierten Tumorzellen im Hinblick auf geeignete Zielstrukturen zu untersuchen.

Dass dieses Vorgehen einen vielversprechenden Ansatz darstellt, möchten wir anhand des Ösophaguskarzinoms illustrieren. Dieser maligne Speiseröhrentumor gehört weltweit zu den zehn häufigsten Krebsarten und gilt als besonders aggressiv. Bis zu 70 Prozent der in heilender Absicht operierten Patienten versterben, trotz Verbesserungen der operativen Techniken und des perioperativen Managements, innerhalb von fünf Jahren an einem metastatischen Rezidiv.<sup>10</sup> Die verfügbaren systemischen neoadjuvanten und adjuvanten Therapien konnten die Überlebensraten nur wenig verbessern, so dass deren Nutzen kontrovers diskutiert wird.<sup>11</sup> Eine dringend erforderliche effektive und standardisierte begleitende Therapie ist für operable Ösophaguskarzinompatienten derzeit nicht verfügbar.

## Genomische Charakterisierung disseminierter Tumorzellen

Um bei Ösophaguskarzinomen wesentliche Mechanismen der Disseminierung und Metastasierung aufzudecken und damit Hinweise auf geeignete therapeutische Zielstrukturen

---

<sup>5</sup> Vgl. Klein (2003).

<sup>6</sup> Polymerase-Kettenreaktion

<sup>7</sup> Vgl. Klein *et al.* (1999).

<sup>8</sup> Vgl. Klein *et al.* (2002) sowie Schmidt-Kittler *et al.* (2003).

<sup>9</sup> Vgl. Schmidt-Kittler *et al.* (2003).

<sup>10</sup> Vgl. Enzinger und Mayer (2003) sowie Hosch *et al.* (2003).

<sup>11</sup> Vgl. Malthaner *et al.* (2004a) sowie Malthaner *et al.* (2004b).

zu bekommen, haben wir im Rahmen des DFG-Projektes STO 464/1-1 von über 100 untersuchten Ösophaguskarzinompatienten insgesamt 60 disseminierte einzelne Tumorzellen mit SCOMP und komparativer genomischer Analyse (CGH) umfassend genomisch analysiert. Bei dieser relativ großen Probenanzahl zeigte sich nun ein deutlicher Unterschied bei den genomischen Veränderungen zwischen den Zellen, die von Patienten mit Plattenepithelkarzinomen und solchen mit Adenokarzinomen isoliert wurden (Abb. 1).

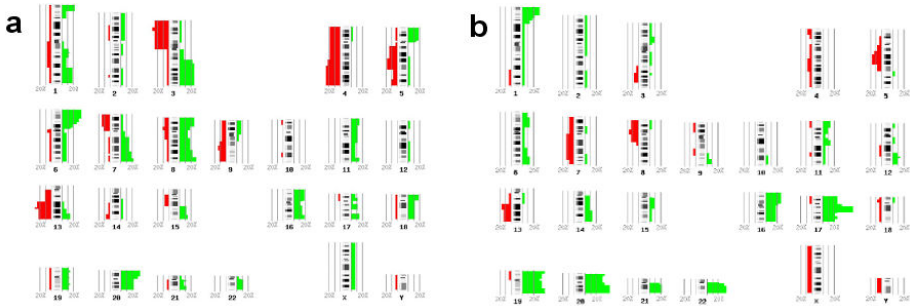


Abb. 1: Histogramme der DNA-Gewinne und -Verluste bei disseminierten Tumorzellen von Plattenepithelkarzinomen (a) und Adenokarzinomen (b)

Neben den Aberrationen an den Chromosomen 3, 4, 5, 6, 7, 8, 19 und 20 war in der umschriebenen chromosomalen Region 17q12-21 der stärkste Unterschied sichtbar. Dieser Bereich war bei 58 Prozent der Zellen von Adenokarzinomen amplifiziert, jedoch nur bei elf Prozent der disseminierten Tumorzellen von Plattenepithelkarzinomen. Grundsätzlich wiesen die Tumoreinzellen entsprechend des jeweiligen histologischen Typs tumortypische Veränderungen auf. Die Amplifikation bei 17q12-21 war insgesamt die am häufigsten beobachtete chromosomale Veränderung.

## Disseminierte Tumorzellen ösophagealer Adenokarzinome im Kontext der Metaplasie-Dysplasie-Karzinomsequenz des Barrett-Ösophagus

Die Inzidenz des ösophagealen Adenokarzinoms ist in den letzten Jahren aus bislang ungeklärter Ursache signifikant angestiegen und ist daher aus klinischer und tumorbiologischer Sicht von besonderer Bedeutung – insbesondere auch deshalb, weil sich das ösophageale Adenokarzinom sequenziell über definierte morphologische Tumorstufen (Barrett-Metaplasie → *Low-grade*-Dysplasie → *High-grade*-Dysplasie) bis hin zum invasiven und metastasierenden Karzinom (Abb. 2) entwickeln kann.<sup>12</sup> Es war daher von außerordentlichem Interesse, die genomischen Alterationen der disseminierten Tumorzellen von Adenokarzinompatienten in den Kontext dieser sequenziellen Tumorprogression einzuordnen. Da die Dysplasien der Barrett-Schleimhaut aus wenigen, in Normalgewebe eingebetteten, morphologisch definierten Zellgruppen bestehen, ist eine Mikrodissektion zur Isolation dieser Zellen unumgänglich – insbesondere dann, wenn vergleichende genomische Methoden wie CGH oder *loss of heterozygosity*-Analyse (LOH-Analyse) angewendet werden. Um

<sup>12</sup> Vgl. Enzinger und Mayer (2003), Spechler (2002) sowie Vieth und Seitz (2001).

die Vergleichbarkeit der Methoden zu gewährleisten, wurde im Rahmen des Projektes STO 464/1-1 ein SCOMP-basiertes Protokoll zur Amplifikation von wenigen, lasermikrodissektierten Zellen aus formalinfixiertem Gewebe etabliert. Diese Methode war den bislang angewendeten Amplifikationsverfahren deutlich überlegen.<sup>13</sup>

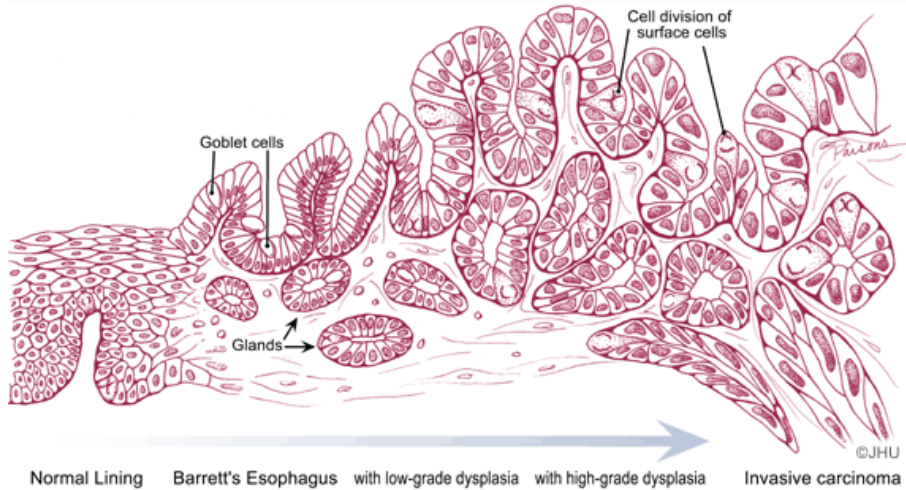


Abb. 2: Barrett-Ösophagus; Quelle: <http://pathology2.jhu.edu/beweb/Definition.cfm> (06.07.2006)

Darüber hinaus konnte mit subchromosomalen Untersuchungen experimentell belegt werden, dass sich bis zu drei Monate lang archiviertes, in Paraffin eingebettetes und formalinfixiertes Gewebe grundsätzlich für hochauflösende Matrix-CGH-Analysen eignet.

Insgesamt wurden nach dem publizierten Protokoll vier Metaplasien, acht *Low-grade*-Dysplasien, 19 *High-grade*-Dysplasien sowie 13 Adenokarzinome mit SCOMP und CGH untersucht. Dabei wurde die Lasermikrodissektion von den kooperierenden Pathologen Univ.-Prof. Dr. Stephan Baldus (Universität zu Köln, jetzt Institut für Pathologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) und PD Dr. Andreas Erbersobler (Universität Hamburg) durchgeführt, um eine korrekte morphologische Zuordnung zu gewährleisten.

Wie erwartet, zeigten die Metaplasien keine Veränderungen in der CGH-Analyse, jedoch stieg mit zunehmender Malignität der Läsionen die mittlere Aberrationszahl an und war am höchsten bei den lymphatisch disseminierten Tumorzellen (Abb. 3).

Überraschenderweise waren die ins Knochenmark disseminierten Tumorzellen, im Vergleich zu Zellen aus Lymphknoten, durch signifikant weniger Veränderungen charakterisiert ( $p = 0.001$ , Mann-Whitney-U-Test) und wiesen sogar im Mittel weniger Veränderungen als die Primärtumore auf. Dass sich die hämatogen disseminierten Zellen von den Tumorzellen aus den Lymphknoten, vor allem aber auch von den Primärläsionen unterscheiden, machte die hierarchische Clusteranalyse deutlich.

<sup>13</sup> Vgl. Stoecklein *et al.* (2002).



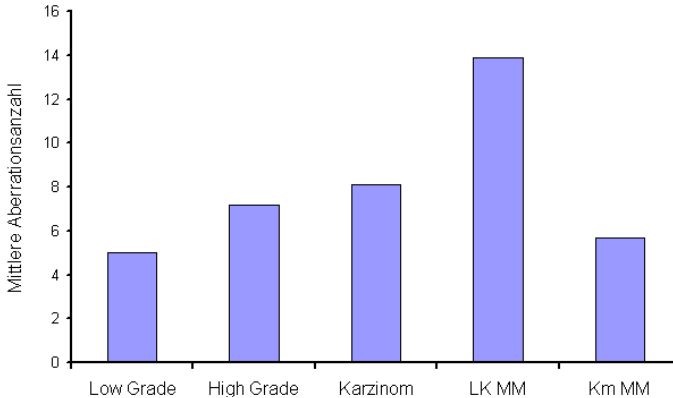


Abb. 3: Mittlere Aberrationshäufigkeiten bei der Dysplasie-Karzinomsequenz (Low Grade = *Low-grade*-Dysplasie, High Grade = *High-grade*-Dysplasie, LK MM = disseminierte Tumorzellen aus Lymphknoten, Km MM = disseminierte Tumorzellen aus Knochenmark)

Hierbei werden die Zellen hinsichtlich der Ähnlichkeiten ihrer genomischen Veränderungen zugeordnet. Wie in Abbildung 4 sichtbar, ergab sich eine Gruppe, die überwiegend aus hämatogen disseminierten Tumorzellen besteht (Gruppenvergleich:  $p = 0,022$ , *Fisher's Exact Test*). Offensichtlich liegt bei Tumorzellen, die entweder hämatogen oder lymphogen metastasieren, eine unterschiedliche Biologie zu Grunde, die sich im chromosomalen Aberrationsmuster widerspiegelt. Dass hämatogen disseminierte Tumorzellen deutlich weniger genomische Veränderungen aufweisen, könnte ein Hinweis auf eine in der Tumorprogression besonders frühe Disseminierung sein, woraufhin diese Tumorzellen möglicherweise in einem Zustand der *tumor dormancy* arretiert wurden.

Ein weiterer interessanter Befund zeigte sich beim Vergleich der Inzidenz der bei den disseminierten Tumorzellen diesen histologischen Typs sehr häufigen 17q12-21-Amplifikationen in der Dysplasie-Karzinomsequenz, denn offenkundig wird diese Amplifikation bei der Tumorzelldisseminierung selektiert (Abb. 5).

Das häufige Auftreten der 17q12-21-Amplifikation, insbesondere im Unterschied zu den primären Läsionen, macht eine Bedeutung der Gene dieses Bereichs für die Tumorzelldisseminierung wahrscheinlich.

Da in dieser Region das HER2-Onkogen lokalisiert ist, ein prognostischer Marker bei verschiedenen malignen Tumoren und zugleich Zielstruktur für molekulare Therapien, wurde die Projektarbeit auf die Validierung dieser attraktiven therapeutischen Zielstruktur fokussiert.

## HER2 als adjuvante therapeutische Zielstruktur bei einer Subgruppe von ösophagealen Adenokarzinomen

Das HER2-Gen kodiert für die Tyrosinkinase p185, die die Übertragung von Wachstumssignalen für ein kontrolliertes Zellwachstum mit geregelter Teilungsrage regelt. Bei 20 bis 30

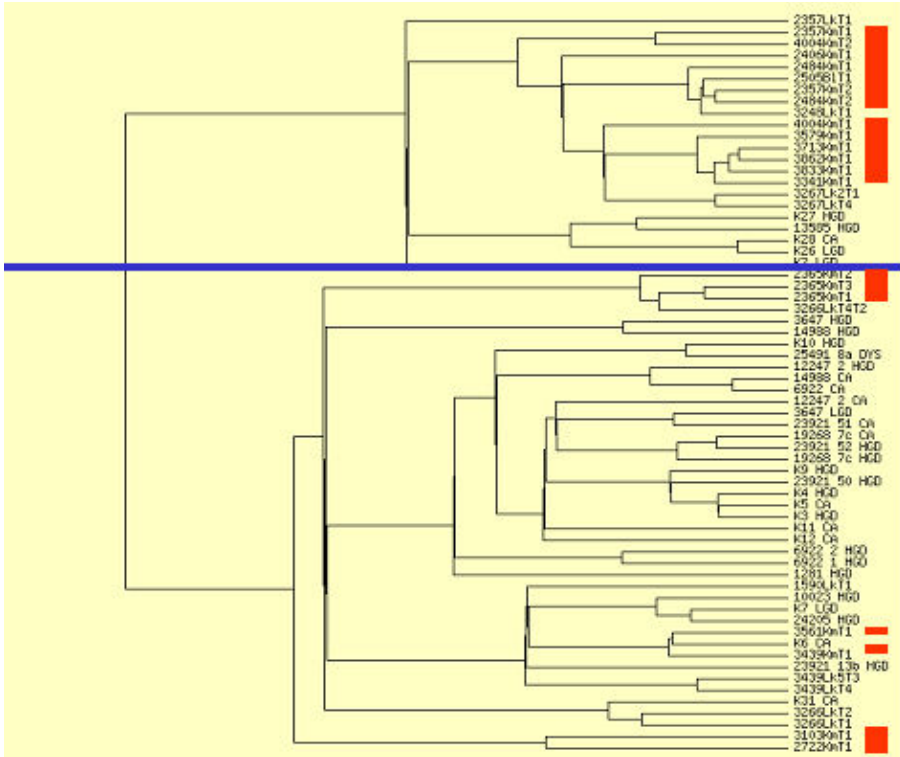


Abb. 4: Hierarchische Clusteranalyse. Die blaue Linie zeigt die Trennlinie der beiden Hauptclustergruppen an. Die roten Balken markieren die hämatogen disseminierten Tumorzellen.

Prozent besonders aggressiver Mammakarzinome ist HER2 amplifiziert, wobei es zu einer Überexpression des HER2-Proteins p185 und dessen dauerhafter Aktivierung kommt.<sup>14</sup> Dies führt zu unkontrolliertem Zellwachstum, gesteigerter Proliferation und erhöhtem metastatischem Potenzial der Tumorzellen. HER2 ist vor allem aber auch das Angriffsziel für den therapeutischen Antikörper Trastuzumab, der bei Mammakarzinompatientinnen mit HER2-Amplifikation bereits mit Erfolg eingesetzt wird.<sup>15</sup> Im Hinblick auf die häufige Amplifikation im Bereich des HER2-Gens bei den disseminierten Tumorzellen ergaben sich zwei wesentliche Fragen:

1. Hat HER2 eine Bedeutung bei der Disseminierung und Metastasierung von ösophagealen Adenokarzinomzellen?
2. Könnte HER2 als sinnvolle Zielstruktur für eine adjuvante Therapie disseminierter ösophagealer Adenokarzinome dienen?

<sup>14</sup> Vgl. Hynes und Lane (2005) sowie Medinger und Dreves (2005).

<sup>15</sup> Vgl. Pegram *et al.* (2004), Slamon *et al.* (2001), Vogel *et al.* (2001) sowie Vogel *et al.* (2002).

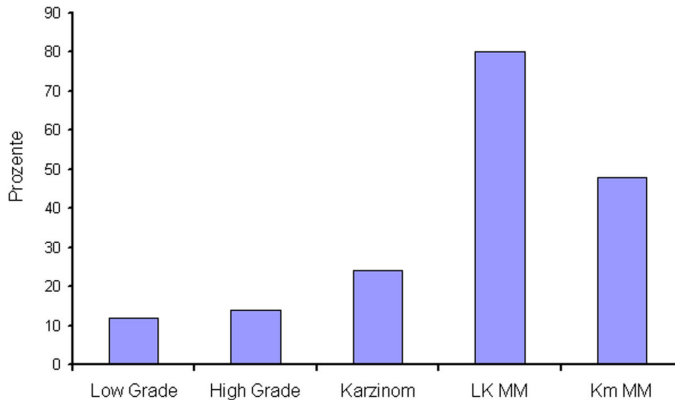


Abb. 5: 17q12-21-Amplifikation in der Dysplasie-Karzinomsequenz (Low Grade = *Low-grade*-Dysplasie, High Grade = *High-grade*-Dysplasie, LK MM = disseminierte Tumorzellen aus Lymphknoten, Km MM = disseminierte Tumorzellen aus Knochenmark)

Um diese Fragen beantworten zu können, haben wir zunächst überprüft, ob es sich bei der häufigen 17q12-21-Amplifikation der disseminierten Tumorzellen tatsächlich um eine HER2-Amplifikation handelt. Hierzu wurde eine quantitative Real-Time-PCR (qPCR) entwickelt, die es ermöglicht, die relative HER2-Genkopienzahl im Vergleich zu normalen diploiden Zellen zu messen. Diese Analyse ergab, dass in 48 Prozent der mit CGH gemessenen DNA-Gewinne bei 17q12-21 HER2 amplifiziert war. Zusätzlich wurden HER2-Amplifikationen in Zellen gefunden, die in der CGH in dieser Region keine Amplifikation aufwiesen, so dass sich insgesamt eine patientenbezogene HER2-Amplifikationsrate von 39 Prozent bei den disseminierten Tumorzellen ergab. Um diese Daten mit Primärtumordaten vergleichen zu können, untersuchten wir ein Set von über 140 primären Ösophaguskarzinomen bezüglich des HER2-Status mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) und Immunhistochemie. Eine HER2-Amplifikation und -Überexpression war signifikant häufiger bei Adeno- als bei Plattenepithelkarzinomen. Bei den Adenokarzinomen war eine Amplifikation von HER2 in 18 Prozent und eine Überexpression des HER2-Proteins p185 in 50 Prozent der Fälle nachzuweisen, wobei die HER2-Amplifikation in fast allen Fällen eine starke Überexpression des Genprodukts p185 induzierte. In Bezug auf den genetischen Defekt fand sich also bei den Primärtumoren ein deutlich geringerer Wert (18 Prozent) im Vergleich zu den disseminierten Tumorzellen (39 Prozent). Wir führten anschließend eine Subgruppenanalyse zum Vergleich des HER2-Status der disseminierten Tumorzellen mit dem der autologen Primärtumore durch und stellten dabei fest, dass der HER2-Status der disseminierten Tumorzellen unabhängig von dem des Primärtumors ist.

Interessanterweise zeigte sich bei der Korrelation mit dem Gesamtüberleben, dass die Amplifikation des HER2-Gens bei disseminierten Tumorzellen ein unabhängiger prognostischer Faktor war, nicht aber bei den Primärtumoren. Diese Ergebnisse weisen auf ein erhöhtes metastatisches Potenzial der ösophagealen Adenokarzinomzellen mit HER2-Amplifikation hin und lassen eine Abhängigkeit der Zellen von der HER2-Amplifikation ver-

muten – eine wichtige Voraussetzung für eine zielgerichtete molekulare Therapie. Folgerichtig sollte für eine effektive adjuvante Anti-HER2-Therapie beim Ösophaguskarzinom die Behandlungsentscheidung anhand der direkten Analyse disseminierter Tumorzellen erfolgen und kann nicht allein vom Primärtumorstatus abhängig gemacht werden.

Ein weiterer wichtiger Punkt ergab sich aus dem Vergleich der qPCR-Ergebnisse disseminierter Tumorzellen von ösophagealen Adenokarzinomen und Mammakarzinomen, der klassischen Indikation für derzeitige Anti-HER2-Therapien. Hierbei fanden sich HER2-Amplifikationen bei den disseminierten Ösophaguskarzinomen signifikant häufiger als bei Mammakarzinomen. Im Vergleich würden mehr Ösophaguskarzinompatienten als Mammakarzinompatientinnen von einer adjuvanten Anti-HER2-Therapie profitieren.

Um schließlich zu überprüfen, ob Ösophaguskarzinomzellen auf eine Therapie mit Trastuzumab ansprechen könnten, haben wir bei Zelllinien ösophagealer Adenokarzinome (PT1590 und LN1590), die eine HER2-Amplifikation und p185-Überexpression aufweisen, einen der wichtigsten Wirkmechanismen des therapeutischen Antikörpers überprüft, die antigenabhängige Zytotoxizität (ADCC).

Die Ergebnisse zeigten nicht nur eine sehr gute Bindung des Antikörpers an die Zielzellen, sondern auch deren effektive Lyse (Abb. 6). Eine prospektive Studie zur Überprüfung, ob eine Anti-HER2-Therapie in der adjuvanten Situation effektiv ist, ist in Planung.

## Ausblick

Die häufigste Veränderung, die wir bei den disseminierten Tumorzellen von Ösophaguskarzinompatienten beobachteten, war die Amplifikation bei Chromosom 17q12-21. Wie bereits oben berichtet, war in 52 Prozent der amplifizierten Zellen HER2 nicht betroffen, so dass in diesem etwa 16 Megabasenpaare (Mbp) umfassenden Bereich noch weitere, für die Tumorzell disseminierung wichtige Gene angenommen werden müssen. Es ist das Ziel des DFG-Projektes STO 464/2-1, das im März 2006 startete, mit Hilfe von höher auflösenden Methoden relevante Gene in dieser Region zu identifizieren.

Die Analyse der potenziellen metastatischen Vorläuferzellen wird einen Schwerpunkt der chirurgischen Forschung der Chirurgischen Klinik A des UKD bilden und zukünftig auch andere Karzinomentitäten einschließen. Da Hauptzielorgan für Metastasen gastrointestinaler Karzinome die Leber ist, werden wir unsere Arbeit auch auf die Identifikation und Isolation von hepatisch disseminierten Tumorzellen aus dem Lebergewebe konzentrieren. Die erfolgreiche Einbettung dieser, für die chirurgische Onkologie grundlegenden Projekte in den klinischen Alltag wird in den nächsten Jahren eine Herausforderung für unsere Abteilung sein.

Eine wichtige Voraussetzung für die erfolgreiche Umsetzung unserer „translationellen“ Forschungsprojekte ist die Etablierung einer standardisierten Tumor- und Gewebebank. Mit Unterstützung der Vodafone Stiftung seit April 2006 und mit Hilfe unserer Tumordokumentation sowie der EDV-Abteilung des UKD ist dieses essenzielle Vorhaben für unsere Klinik nun realisierbar geworden.

## Danksagung

Für die erfolgreiche Zusammenarbeit möchten wir insbesondere Herrn PD Dr. Christoph Klein (Institut für Immunologie der Ludwig-Maximilians-Universität München) danken

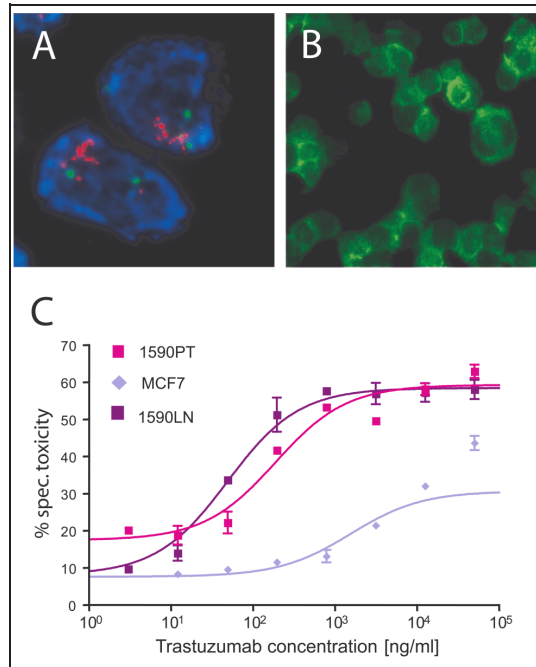


Abb. 6: Die FISH-Analyse von PT1590 zeigt die HER2-Genamplifikation (rot) (A); in der Immunfluoreszenz ist die starke p185-Überexpression sichtbar (B). (C) Standard-ADCC-Assay, bei dem die Zielzellen über vier Stunden mit Trastuzumab inkubiert werden. Es ist die Standardabweichung der Ergebnisse von drei Experimentdurchführungen angegeben. Die Mammakarzinom-Zelllinie MCF-7 exprimiert p185 in äußerst geringen Konzentrationen und diente als Negativkontrolle.

sowie Frau Claudia Hartmann (Institut für Immunologie der Ludwig-Maximilians-Universität München), Herrn Pablo Emilio Verde (Koordinierungszentrum für Klinische Studien Düsseldorf), Herrn Univ.-Prof. Dr. Stephan Baldus (Institut für Pathologie des UKD), Herrn PD Dr. Andreas Erbersdobler (Institut für Pathologie der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf) und Herrn Dr. Roger Grau (Roche, Basel). Aus unserer Klinik danken wir insbesondere Herrn Prof. Dr. Stefan Hosch, Herrn Dr. Peter Scheunemann, Herrn Dr. Alexander Rehders sowie Frau Franziska Stern und Frau Annika Siegmund.

Schließlich möchten wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die fortgesetzte, großzügige Unterstützung dieses Projektes danken.

## Literatur

ALEXAKIS, N., C. HALLORAN, M. RARATY, P. GHANEH, R. SUTTON und J. P. NEOPTOLEMOS. „Current standards of surgery for pancreatic cancer“, *British Journal of Surgery* 91 (2004), 1410-1427.

- CHESSIN, D. B. und J. G. GUILLEM. „Surgical issues in rectal cancer: a 2004 update“, *Clinical Colorectal Cancer* 4 (2004), 233-240.
- CHU, Q. D., N. KHUSHALANI, M. M. JAVLE, H. O. DOUGLASS JR. und J. F. GIBBS. „Should adjuvant therapy remain the standard of care for patients with resected adenocarcinoma of the pancreas?“, *Annals of Surgical Oncology* 10 (2003), 539-545.
- ENZINGER, P. C. und R. J. MAYER. „Esophageal cancer“, *New England Journal of Medicine* 349 (2003), 2241-2252.
- HOSCH, S. B., N. H. STOECKLEIN und J. R. IZBICKI. „Molecular markers and staging of early esophageal cancer“, *Langenbecks Archives of Surgery* 388 (2003), 77-82.
- HYNES, N. E. und H. A. LANE. „ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors“, *Nature Reviews of Cancer* 5 (2005), 341-354.
- KLEIN, C. A., O. SCHMIDT-KITTLER, J. A. SCHARDT, K. PANTEL, M. R. SPEICHER und G. RIETHMÜLLER. „Comparative genomic hybridization, loss of heterozygosity, and DNA sequence analysis of single cells“, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 96 (1999), 4494-4499.
- KLEIN, C. A., T. J. BLANKENSTEIN, O. SCHMIDT-KITTLER, M. PETRONIO, B. POLZER, N. H. STOECKLEIN und G. RIETHMÜLLER. „Genetic heterogeneity of single disseminated tumour cells in minimal residual cancer“, *The Lancet* 360 (2002), 683-689.
- KLEIN, C. A. „The systemic progression of human cancer: a focus on the individual disseminated cancer cell – the unit of selection“, *Advances of Cancer Research* 89 (2003), 35-67.
- KORN, W. M. „Prevention and management of early esophageal cancer“, *Current Treatment Options in Oncology* 5 (2004), 405-416.
- LERUT, T., P. NAFTEUX, J. MOONS, W. COOSEMANS, G. DECKER, P. DELEYN und D. VAN RAEMDONCK. „Quality in the surgical treatment of cancer of the esophagus and gastroesophageal junction“, *European Journal of Surgical Oncology* 31 (2005), 587-594.
- MALTHANER, R. A., R. K. WONG, R. B. RUMBLE und L. ZURAW. „Neoadjuvant or adjuvant therapy for resectable esophageal cancer: a clinical practice guideline“, *BMC Cancer* 4 (2004a), 67.
- MALTHANER, R. A., R. K. WONG, R. B. RUMBLE und L. ZURAW. „Neoadjuvant or adjuvant therapy for resectable esophageal cancer: a systematic review and meta-analysis“, *BMC Medicine* 2 (2004b), 35.
- MEDINGER, M. und J. DREVS. „Receptor tyrosine kinases and anticancer therapy“, *Current Pharmaceutical Design* 11 (2005), 1139-1149.
- PANTEL, K. und G. RIETHMÜLLER. „Micrometastasis detection and treatment with monoclonal antibodies“, *Current Topics in Microbiology and Immunology* 213 (Pt 3) (1996), 1-18.
- PANTEL, K. und R. H. BRAKENHOFF. „Dissecting the metastatic cascade“, *Nature Reviews Cancer* 4 (2004), 448-456.
- PEGRAM, M. D., G. E. KONECNY, C. O'CALLAGHAN, M. BERYT, R. PIETRAS und D. J. SLAMON. „Rational combinations of trastuzumab with chemotherapeutic drugs used in the treatment of breast cancer“, *Journal of the National Cancer Institute* 96 (2004), 739-749.
- RIETHMÜLLER, G. und C. A. KLEIN. „Early cancer cell dissemination and late metastatic relapse: clinical reflections and biological approaches to the dormancy problem in patients“, *Seminars in Cancer Biology* 11 (2001), 307-311.
- SATO, T., M. PEIPER, A. FRITSCHER-RAVENS, A. GOCHT, N. SOEHENDRA und W. T. KNOEFEL. „Strategy of treatment of submucosal gastric tumors“, *European Journal of Medical Research* 10 (2005), 292-295.

- SCHMIDT-KITTLER, O., T. RAGG, A. DASKALAKIS, M. GRANZOW, A. AHR, T. J. BLANKENSTEIN, M. KAUFMANN, J. DIEBOLD, H. ARNHOLDT, P. MÜLLER, J. BISCHOFF, D. HARICH, G. SCHLIMOK, G. RIETHMÜLLER, R. EILS und C. A. KLEIN. „From latent disseminated cells to overt metastasis: genetic analysis of systemic breast cancer progression“, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 100 (2003), 7737-7742.
- SLAMON, D. J., B. LEYLAND-JONES, S. SHAK, H. FUCHS, V. PATON, A. BAJAMONDE, T. FLEMING, W. EIERMANN, J. WOLTER, M. PEGRAM, J. BASELGA und L. NORTON. „Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2“, *New England Journal of Medicine* 344 (2001), 783-792.
- SPECHLER, S. J. „Clinical practice. Barrett’s Esophagus“, *New England Journal of Medicine* 346 (2002), 836-842.
- STOECKLEIN, N. H., A. ERBERSDOBLER, O. SCHMIDT-KITTLER, J. DIEBOLD, J. A. SCHARDT, J. R. IZBICKI und C. A. KLEIN. „SCOMP is superior to degenerated oligonucleotide primed-polymerase chain reaction for global amplification of minute amounts of DNA from microdissected archival tissue samples“, *American Journal of Pathology* 161 (2002), 43-51.
- VIETH, M. und G. SEITZ. „50 years of Barrett esophagus. Current diagnostic possibilities in pathology“, *Der Pathologe* 22 (2001), 62-71.
- VOGEL, C. L., M. A. COBLEIGH, D. TRIPATHY, J. C. GUTHEIL, L. N. HARRIS, L. FEHRENBACHER, D. J. SLAMON, M. MURPHY, W. F. NOVOTNY, M. BURCHMORE, S. SHAK und S. J. STEWART. „First-line Herceptin monotherapy in metastatic breast cancer“, *Oncology* 61 Supplement 2 (2001), 37-42.
- VOGEL, C. L., M. A. COBLEIGH, D. TRIPATHY, J. C. GUTHEIL, L. N. HARRIS, L. FEHRENBACHER, D. J. SLAMON, M. MURPHY, W. F. NOVOTNY, M. BURCHMORE, S. SHAK, S. J. STEWART und M. PRESS. „Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer“, *Journal of Clinical Oncology* 20 (2002), 719-726.
- WRAY, C. J., S. A. AHMAD, J. B. MATTHEWS und A. M. LOWY. „Surgery for pancreatic cancer: recent controversies and current practice“, *Gastroenterology* 128 (2005), 1626-1641.

