

Aus dem Pathologischen Institut  
der Universität Würzburg

Vorstand: Prof. Dr. med. H. K. Müller-Hermelink

# **Somatostatinrezeptoren auf Thymomen und Thymuskarzinomen**

**Inaugural - Dissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der**

**Medizinischen Fakultät**

**der**

**Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von**

Susanne Jung  
aus Nördlingen

Würzburg, Oktober 2006



Dekan: Prof. Dr. med. G. Ertl

Referent: Prof. Dr. med. A. Marx

Koreferent: Prof. Dr. med. H.- K. Müller- Hermelink

Zweitprüfer: Prof. Dr. med. P. Rieckmann

Tag der mündlichen Prüfung: 13.03.1007

Die Promovendin ist Ärztin



## Inhaltsverzeichnis

---

<b>1</b>	<b><i>Einleitung</i></b> .....	<b>1</b>
1.1	Thymus.....	1
1.2	Neoplasien des Thymus .....	2
1.3	Somatostatin .....	3
1.4	Somatostatinrezeptoren.....	3
1.5	Octreotid .....	6
1.6	Fragestellung .....	7
<b>2</b>	<b><i>Material und Methoden</i></b> .....	<b>8</b>
2.1	Patienten und Tumoren.....	8
2.2	Histologische Einteilung von Thymomen und Thymuskarzinomen nach der Klassifikation der Welt-Gesundheitsorganisation (WHO) .....	9
2.3	Octreotid-behandelte Tumoren.....	11
2.4	Somatostatinrezeptor-Szintigraphie (SSTR-Sc).....	12
2.5	Single photon emission computed tomography (SPECT) .....	12
2.6	Octreotidbehandlung und Messung des Tumoransprechens .....	13
2.7	Herstellung des Multi Tissue Array.....	13
2.8	Antikörper.....	15
2.9	Immunhistochemie.....	16
2.10	Chemikalien und Reagenzien .....	18
2.11	Lichtmikroskopische Beurteilung.....	19
<b>3</b>	<b><i>Ergebnisse</i></b> .....	<b>21</b>
3.1	<b>Klinische Resultate</b> .....	<b>21</b>
3.1.1	Szinti/SPECT.....	21
3.1.2	Tumorregression.....	21
3.2	<b>Immunhistochemische Resultate</b> .....	<b>24</b>
3.2.1	Expression der Somatostatin-Rezeptoren im Normalthymus .....	24

## **Inhaltsverzeichnis**

---

3.2.2	SSTR 2A: Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung mit dem Antikörper gegen den Somatostatinrezeptor Subtyp 2A .....	26
3.2.3	SSTR 3: Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung mit dem Antikörper gegen den Somatostatinrezeptor Subtyp 3 .....	28
3.2.4	SSTR 5: Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung mit dem Antikörper gegen den Somatostatinrezeptor Subtyp 5 .....	31
3.2.5	Octreotid-behandelte Tumoren .....	35
<b>4</b>	<b><i>Diskussion</i></b> .....	<b>42</b>
<b>5</b>	<b><i>Zusammenfassung</i></b> .....	<b>46</b>
<b>6</b>	<b><i>Abkürzungsverzeichnis</i></b> .....	<b>47</b>
<b>7</b>	<b><i>Literaturverzeichnis</i></b> .....	<b>49</b>

---

## 1 Einleitung

### 1.1 Thymus

Der Thymus entwickelt sich aus dem ventralen Anteil der dritten Schlundtasche. Die Thymusanlage wandert nach kaudal und medial und nimmt zusammen mit der Anlage der Gegenseite ihren Platz im vorderen Mediastinum ein; Entwicklung und Wachstum setzen sich dort bis in die Pubertät fort.

Histologisch ist der kindliche Thymus in Läppchen gegliedert. Sie hängen an Gefäßsträngen und gliedern sich in Rinde, mit dichtgelagerten Lymphozyten, und dem weniger zellichten Mark. Der Grundaufbau des Organs wird von zwei Zellarten bestimmt: verzweigte epitheliale Zellen bilden ein weitmaschiges Netz, das dicht von T-Lymphozyten besiedelt wird. Aufgrund dieser Zusammensetzung spricht man von einem lymphoepithelialen Organ. Die Vermehrung der in den Thymus eingewanderten Lymphozyten findet in der kapselnahen Randzone statt. Im Mark sind die Lymphozyten (Thymozyten) spärlicher (Simson, Wang et al. 1994; Geenen and Brilot 2003; Savino 2006). Bestimmte Vorläuferzellen aus dem Knochenmark werden bei ihrer Passage durch den Thymus zu reifen T-Zellen ausgebildet. Die fortschreitende Entwicklung dieser Zellen im Thymus manifestiert sich in der Modulation ihrer Oberflächenmarker CD 4, CD 8 und dem T-Zell Rezeptor – CD 3 Komplex (Ferone, van Hagen et al. 2000).

Zunächst erfolgt eine positive Selektion: T-Zellen, die eigene präsentierende Histocompatibilitätsantigene ( MHC ) plus Peptide nicht als „selbst“ erkennen, sterben durch Apoptose. Anschließend erfolgt die negative Selektion: Zellen, deren Rezeptoren eine zu hohe Affinität zu körpereigenen Strukturen zeigen, werden eliminiert, um Autoimmunreaktionen zu vermeiden. Störungen in diesem Prozess führen zu Autoimmunität und/oder Immundefizienz.

Das Thymusgewebe unterliegt ab der Pubertät einer physiologischen Altersinvolution und wird bis zum etwa 60. Lebensjahr weitgehend durch Fettgewebe ersetzt (lipomatöse Atrophie).

---

## 1.2 Neoplasien des Thymus

Thymome (thymic epithelial tumors, TETs) sind die häufigsten Tumoren des vorderen oberen Mediastinums; sie machen etwa 15 % aller mediastinaler Tumoren bei Erwachsenen über 40 Jahren aus (Lardinois, Rechsteiner et al. 2000) (Müller Hermelink et al. WHO 2004). Es handelt sich um meist langsam wachsende Neoplasien der Thymusepithelzellen, die zahlreiche morphologische Charakteristika des normalen Thymus aufweisen und häufig mit Autoimmunphänomenen assoziiert sind (Chen, Marx et al. 2002). Das gehäufte Auftreten von Lupus erythematodes, Autoimmunthyreoiditis und vor allem Myasthenia Gravis wird durch die Fähigkeit vieler Thymome zur T-Zell Reifung erklärt .

Thymome werden nach der WHO-Klassifikation (Müller-Hermelink, Engel et al. 2004) aufgrund ihrer Morphologie in folgende Typen eingeteilt: Typ A, B1, B2, B3 und AB sind „organoide“ Thymome mit Fähigkeit zur T-Zell Reifung und sind oft mit Myasthenia Gravis assoziiert.

Weiterhin gibt es die heterogene Gruppe der nicht-organoiden Thymuskarzinome. Zu diesen Tumoren, die keine unreifen T-Zellen enthalten, gehören z.B. Plattenepithelkarzinome, sarkomatoide Karzinome, und neuroendokrine Tumoren des Thymus. Obwohl auch diese Tumortypen mit paraneoplastischen Autoimmunphänomenen vergesellschaftet sein können, ist die Pathogenese hier sehr wahrscheinlich anders und eine MG tritt charakteristischerweise nicht auf.

Klinisch verhalten sich Thymome vom Typ A, AB und B1 in der Regel gutartig, während die Typen B2, B3 sowie Thymuskarzinome maligne Tumoren darstellen (Strobel, Bauer et al. 2004). Besonders fortgeschrittene Tumoren der Stadien III und IV nach Masaoka (Infiltration von Nachbarorganen oder mit Metastasierung) haben eine ungünstige Prognose, die vor allem bei metastasierten Tumoren durch derzeit verfügbare Therapien nicht wesentlich verbessert werden kann.



---

### 1.3 Somatostatin

Das Neuropeptid Somatostatin (somatotrophin release- inhibiting factor) wird im Körper sowohl von neuroendokrinen Zellen, als auch von Entzündungs-, Immun- und neoplastischen Zellen als Reaktion auf unterschiedliche Stimuli gebildet (Brazeau 1986; Shulkes 1994; Patel, Greenwood et al. 1995; Parkinson, Drake et al. 2002; Ballian, Brunicardi et al. 2006).

Seit seiner Entdeckung 1973 wird seine zentrale Rolle sowohl als Neurotransmitter und Inhibitor endo- und exokriner Prozesse, als auch als Vasokonstriktor immer deutlicher (de Herder and Lamberts 2002). Es existieren zwei bioaktive Formen, Somatostatin 14 und Somatostatin 28, die gewebsspezifisch aus einem gemeinsamen Vorläufer durch Proteolyse entstehen (Benali, Ferjoux et al. 2000).

Somatostatin wirkt als Antagonist des Wachstumshormons Somatotropin inhibitorisch und modulatorisch auf viele sekretorische oder proliferative Prozesse u.a. im Gehirn, Schilddrüse, Darm, endokrinem Pankreas, Niere, Nebenniere und Immunsystem. Da Somatostatin außer an die Somatostatinrezeptoren auch an Insulinrezeptoren (IR) bindet und dort die Aktivierung der IR-assoziierten Tyrosin-Phosphatase SHP-1 induziert, senkt es unter anderem die Wirkung von Insulin und hat dadurch Auswirkungen auf den Blutzuckerspiegel (Lee, Jensen et al. 1993; Flyvbjerg 2004; Losa, Mortini et al. 2006), daneben hemmt es auch die intestinale Motilität, sowie die Absorption von Nährstoffen und Elektrolyten und beeinflusst auch motorische und kognitive Funktionen (Guillermet-Guibert, Lahlou et al. 2005). Therapeutisch ist Somatostatin derzeit in Deutschland zugelassen zur Behandlung von schweren akuten gastroduodenalen Blutungen und zur Komplikationsprophylaxe in der Pankreaschirurgie (Moon, Heo et al. 2005; Perez-Fidalgo, Oltra Ferrando et al. 2006).

### 1.4 Somatostatinrezeptoren

Die Signaltransduktion von Somatostatin erfolgt über eine Familie membranständiger G-Protein gekoppelter Rezeptoren mit sieben Transmembrandomänen, die

Somatostatinrezeptoren (SSTR) 1–5, denen unterschiedliche Wege der Signaltransduktion nachgeschaltet sind (Tab. 1). Somatostatinrezeptoren sind in vielen Geweben verbreitet, darunter auch Nervensystem, Gastrointestinaltrakt, Neuroendokrine und Lymphatische Gewebe (Reubi, Schaer et al. 1997; Papotti, Bongiovanni et al. 2002; Taniyama, Suzuki et al. 2005). Daneben werden SSTR auch von einer Reihe maligner Tumoren, wie z.B. Phäochromozytomen, Medulloblastomen und Malignen Melanomen exprimiert (Lum, Fletcher et al. 2001; Mundschenk, Unger et al. 2003; Mawrin, Schulz et al. 2005). SSTR 1, 4 und 5 bewirken über die Modulation von MAP Kinasen einen Stillstand des Zellzyklus in der G1 Phase, während SSTR 2 und 3 über p53- abhängige und unabhängige Mechanismen die Apoptose vermitteln (Ferjoux, Bousquet et al. 2000). SSTR 5 hemmt vermutlich die Zellproliferation durch eine Modulation der intrazellulären Kalziummobilisation (Lin, Nguyen et al. 1999). Eine große Rolle in der Tumorthherapie spielen SSTR 1 und SSTR 2; sie sind Teil eines negativen autokrinen Regulationsmechanismus: über sie wird die Tyrosinphosphatase SHP-2 aktiviert, die durch die De-Phosphorylierung des epidermal growth factor Rezeptors (EGF-R) zu einem Abschalten der MAP-Kinasen Erk1 und 2 einen antimitotischen Effekt erzielt (Held-Feindt, Krisch et al. 2000).

Jeder der Subtypen bewirkt eine Hemmung der Adenylatcyclase, eine Stimulation der Phospholipase C und eine erhöhte Calciummobilisation (Benali, Ferjoux et al. 2000).

Die den Subtypen entsprechenden Genorte sind auf fünf verschiedenen Chromosomen lokalisiert, vier dieser Gene haben kein Intron. SSTR 2 existiert in zwei Splicevarianten, SSTR 2A und SSTR 2B, die sich in der Größe ihrer C- terminalen intrazellulären Domäne voneinander unterscheiden (Ferjoux, Bousquet et al. 2000; Guyotat, Champier et al. 2001).

Alle fünf Somatostatinrezeptoren binden die natürlich vorkommenden Peptide Somatostatin 14 und Somatostatin 28 mit ähnlicher Affinität im nanomolaren Bereich; nur sstr 5 zeigt eine zehnfach höhere Affinität für Somatostatin 28. Es bestehen jedoch wesentliche Unterschiede in der Bindungsaffinität zu synthetischen Somatostatinanaloga.

Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Eigenschaften und die Verteilung der unterschiedlichen Rezeptoren.

Tab. 1: Charakteristika der verschiedenen bekannten Somatostatinrezeptoren (aus: (Reisine and Bell 1995; Benali, Ferjoux et al. 2000; Ferjoux, Bousquet et al. 2000)).

	<b>SSTR 1</b>	<b>SSTR 2</b>	<b>SSTR 3</b>	<b>SSTR 4</b>	<b>SSTR 5</b>
Genort	14q13	17q24	22q13.1	20p11.2	16p13.3
Aminosäuresequenz	361	A: 369 B: 346	418	388	364
Größe der mRNA (kb)	4.8	A: 2.5 B: 8.5	4.8	4.6	4.0
Vorkommen im Körper	Gehirn, Lunge, Darm, Niere, Pankreas	Gehirn, Niere	Gehirn, Pankreas	Gehirn, Lunge	Herz, Gehirn, Nebenniere, Plazenta, Skelettmuskel
Bindungsaffinität (IC <sub>50</sub> ), nM					
SS 14	0.4	0.1	0.3	0.8	0.6
Octreotid	>1,000	0.3	32	>1,000	7.9

SSTR: Somatostatinrezeptor, mRNA: messenger RNA, kb: Kilobasen, nM: Nanomol, SS 14: natives Somatostatin, IC<sub>50</sub> : Konzentration des Liganden, bei der 50 % des jeweiligen Rezeptors besetzt sind

---

## 1.5 Octreotid

Aufgrund der kurzen Halbwertszeit natürlich vorkommender Somatostatinpeptide (weniger als drei Minuten) ist deren klinische Einsatzfähigkeit stark eingeschränkt. So wurde 1978 erstmals von Noe et al. ein synthetisches Somatostatinanalogon entwickelt (Noe, Fletcher et al. 1978). Strukturell wurde das Octapeptid Octreotid aus Somatostatin 14 synthetisiert; es besitzt eine Halbwertszeit von zwei Stunden, es kann intermittierend intravenös und sogar oral appliziert werden. Octreotid hemmt die Freisetzung von Somatotropin 45mal, die Freisetzung von Glucagon 11mal und die Freisetzung von Insulin 1.3mal stärker als Somatostatin 14, ohne eine reaktive Hypersekretion der Hormone zu bewirken.

Der Effekt von Octreotid auf die Zelle kann unter anderem dadurch untersucht werden, dass man vor und nach der Therapie die intrazelluläre Expression des Proliferationsmarkers Ki 67 und des repair-Enzyms Ku 80 bestimmt. Ku 80 ist Bestandteil einer DNA-abhängigen Proteinkinase. Es ist ein Repairenzym und hat die Fähigkeit, an Doppelstrang DNA zu binden (Blunt, Taccioli et al. 1995).

Radioaktiv markiertes Octreotid findet als  $^{111}\text{In}$ -Octreotid Anwendung in der szintigrafischen Diagnostik neuroendokriner Tumoren des Gastrointestinaltraktes, die Somatostatinrezeptoren exprimieren. Eine besondere Rolle für die Anreicherung des Tracers scheint hierbei der Somatostatin Rezeptor Subtyp 2 einzunehmen (Hofland, Lamberts et al. 2003). In einigen Arbeiten wurde ein Zusammenhang zwischen positiven Ergebnissen der  $^{111}\text{In}$ -Octreotid Szintigraphie und dem Erfolg der anschließenden Octreotid Therapie nachgewiesen, hierdurch waren vor der Therapie Vorhersagen zum Ansprechen auf die Therapie möglich .

Therapeutisch gelten Somatostatin-Analoga heute als die effektivsten Medikamente zur Behandlung der Akromegalie (Newman, Melmed et al. 1998).

Weiterhin wird Octreotid bei der Behandlung von Phäochromozytomen und Karzinoiden eingesetzt; es hält die Progression dieser neuroendokrinen Tumoren durch die Hemmung von Wachstumsfaktoren wie IGF-I auf und hemmt die Angiogenese (Jia,

Xu et al. 2003; Woltering 2003). In vitro konnte gezeigt werden, dass Octreotid auch die Proliferation von T-Lymphozyten hemmt (Mundschenk, Unger et al. 2003).

Auch in der Therapie von Thymomen und Thymuskarzinomen hat sich der Einsatz von Octreotid, auch in Kombination mit Prednisolon, bereits bewährt:

1997 berichteten Palmieri et al. von einem Patienten mit einem primär inoperablen Thymom und sog. pure red cell aplasia, bei dem durch die Kombinationsbehandlung mit Octreotid und Prednisolon eine vollständige Remission erreicht werden konnte (Palmieri, Lastoria et al. 1997).

Da allerdings in diesem Fall Octreotid in Kombination mit Steroiden verabreicht worden war, blieb die Rolle von Octreotid weitgehend unklar. In jüngeren Studien mit Octreotid als Monotherapie war bei einem Teil der Patienten mit einem Thymom eine Remission zu erzielen, während bei Patienten mit einem Thymuskarzinom (bei allerdings kleinem Kollektiv in dieser Studie) kein objektives Ansprechen zu erkennen war (Loehrer, Wang et al. 2004).

## **1.6 Fragestellung**

Die vorliegende Arbeit befasste sich mit folgenden Fragestellungen:

Finden sich auf Thymomen und Thymuskarzinomen Somatostatinrezeptoren?

Welche Rezeptoren werden exprimiert?

Gibt es Differenzen zwischen den Thymomtypen in bezug auf Expressionsniveau und Subtypen der exprimierten Rezeptoren?

Wie unterscheidet sich die Rezeptorexpression im Hinblick auf cytoplasmatische und membranständige Verteilung der Rezeptoren?

Welchen Einfluß hat die präoperative Behandlung der Patienten mit Octreotid im Hinblick auf das prä- und posttherapeutisch ermittelte Tumolvolumen?

Lässt sich klinisch, histologisch und immunhistochemisch ein Octreotideffekt nachweisen?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Patienten und Tumoren

Insgesamt wurden 196 Patienten untersucht: die Tumoren der Patienten wurden in vier Gruppen, entsprechend der histologischen Klassifikation des Tumors eingeteilt.

Tabelle 2 zeigt die Zusammensetzung der Patientengruppen nach Geschlecht, Alter, Diagnose und Vorhandensein von Myasthenia Gravis auf dem Multi Tissue Array.

Tab. 2: Histologischer Tumortyp und epidemiologische Daten der untersuchten Thymompatienten

Fall	Geschlecht	Alter	Diagnose	MG
1 – 21	10 ♂, 11 ♀	35 – 88	Typ A Thymom	6 ja, 13 nein, 2 NA
22 – 70	17 ♂, 32 ♀	18 – 89	Typ AB Thymom	13 ja, 24 nein, 12 NA
71 – 178	51 ♂, 57 ♀	29 – 87	Typ B Thymome (75 Typ B2, 33 Typ B3)	56 ja, 28 nein, 24 NA
179 - 202	14 ♂, 10 ♀	23 – 81	PE Ca	24 nein
C1– C 10	2 ♂, 8 ♀	0,1- 76	Restthymus	6 ja, 4 nein

NA: unbekannt; MG: Myasthenia gravis, PE Ca: Plattenepithelkarzinom des Thymus

## 2.2 Histologische Einteilung von Thymomen und Thymuskarzinomen nach der Klassifikation der Welt-Gesundheitsorganisation (WHO)

**Typ A Thymome** („medulläre“ Thymome), setzen sich in erster Linie aus Epithelzellen zusammen. Die Tumorzellen sind meist oval oder spindelförmig und zeigen keine Kernatypien. Es finden sich rosettenförmige Epithelformationen und subkapsulär lokalisierte pseudoglanduläre Areale. Lymphozyten sind spärlich (**Abb. 1**).

Bei den **Typ AB Thymomen** („gemischte“ Thymome) kommen neben Arealen mit Typ A Morphologie auch lymphozytenreiche Gebiete vor; nicht immer lassen sich beide Zonen scharf voneinander abgrenzen. Hasallsche Körperchen finden sich in beiden Gruppen nicht (**Abb. 1**).

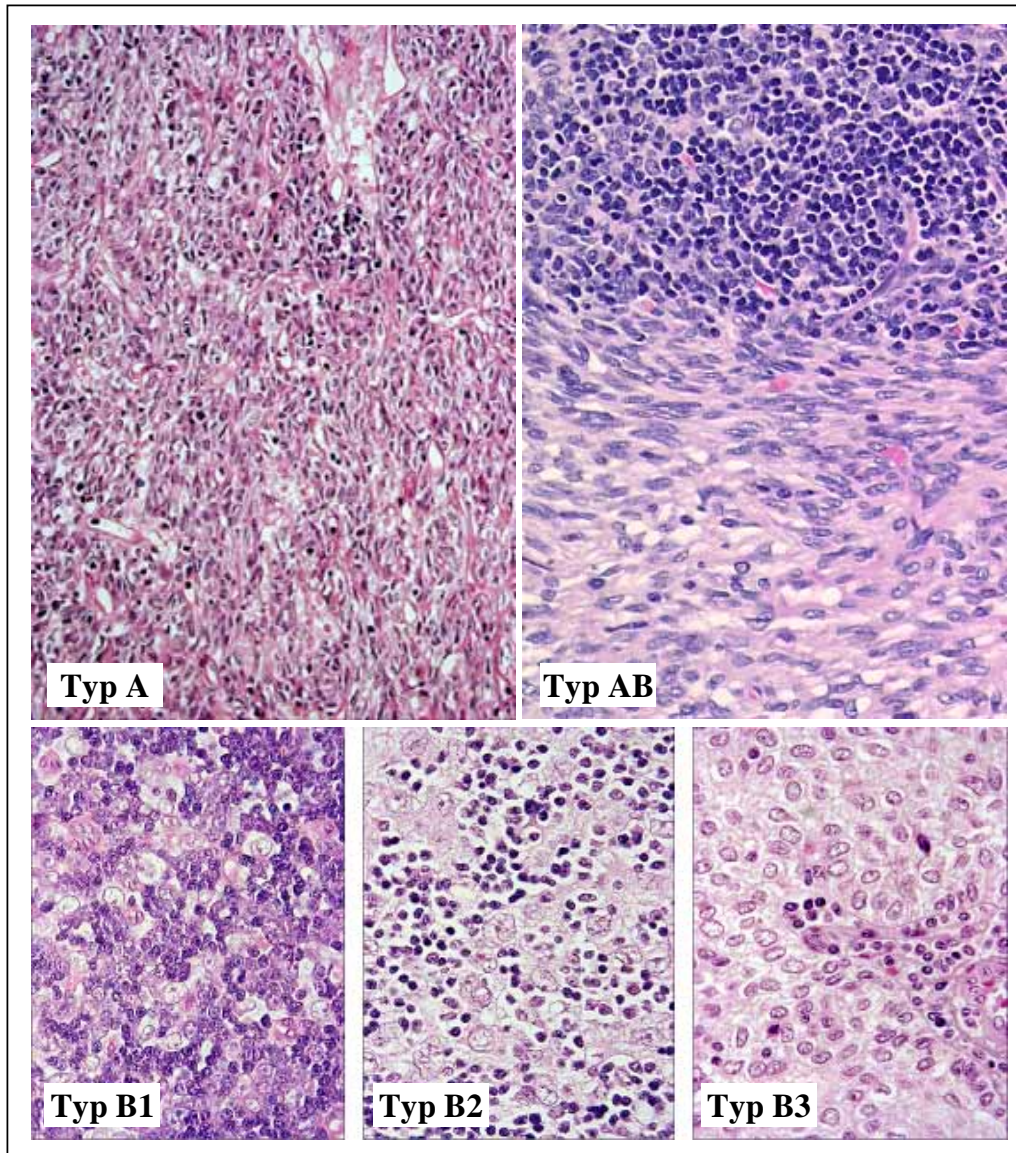
**Typ B1 Thymome** („prädominant kortikale“ Thymome) setzen sich aus zwei Komponenten zusammen: es finden sich dem normalen Thymus sehr ähnliche Areale mit kortikalen und medullären Abschnitten; auch Hasallsche Körperchen sind zu sehen. Die Epithelzellen zeigen nur geringe zytologische Atypien (**Abb. 1**).

**Typ B2 Thymome** („kortikale“ Thymome) zeichnen sich durch das Vorkommen vergrößerter, polygonaler neoplastischer Epithelzellen mit vergrößerten Zellkernen und prominenten Nukleolen aus. Wie in Typ B1 Thymomen sind Lymphozyten die überwiegende Zellart, vereinzelt können Hasallsche Körperchen vorkommen (**Abb. 1**).

**Typ B3 Thymome** bestehen zum größten Teil aus Epithelzellen, daneben finden sich unreife Thymozyten. Die Tumorzellen zeigen mäßiggradige Atypien. Typischerweise finden sich perivaskuläre Räume mit sog. palisadenartiger Anordnung der umliegenden Tumorzellen (**Abb. 1**).

Die verschiedenen **Thymuskarzinome** werden unterteilt in Plattenepithel Karzinome, lymphoepitheliom-ähnliche Karzinome, Basalzell-Karzinome und andere Typen. Diese

Tumoren sind morphologisch nicht von gleichartigen Karzinomen anderer Organe zu unterscheiden. Es finden sich mäßige bis hochgradige Atypien. Regressive Veränderungen wie Einblutungen und Nekrosen sind häufig (**ohne Abbildung**).



**Abb. 1:** Histologische Unterteilung von organoiden Thymomen nach WHO.



### 2.3 Octreotid-behandelte Tumoren

Zusätzlich zu den Multi Tissue Arrays wurden neun Einzelfälle, die nicht auf dem Histoarray repräsentiert waren, mittels immunhistochemischer Methoden untersucht. Von diesen Fällen lag Tumorgewebe jeweils vor Beginn und nach Durchführung einer Octreotid-Therapie vor. Tabelle 3 charakterisiert diese einzelnen Fälle in Hinblick auf Alter, Geschlecht und Diagnose.

Tab. 3: Geschlecht, Alter und Thymomdiagnose der Octreotid-behandelten Patienten

Fall	Geschlecht	Alter	Tumortyp
1	w	63	A
2	m	54	A
3	m	42	AB
4	m	51	B2
5	m	40	B2
6	w	30	B2+B3
7	w	78	B3 + PE Ca
8	w	65	PE Ca

w: weiblich, m: männlich, PE Ca: Plattenepithelkarzinom des Thymus

Die Gewebeprobe dieser Patienten befanden sich nicht auf dem Multi Tissue Array, die einzelnen Schnitte wurden aber nach dem gleichen Protokoll gefärbt und bewertet.

#### 2.4 Somatostatinrezeptor-Szintigraphie (SSTR-Sc)

Die Somatostatinrezeptor-Szintigraphie (SSTR-Sc) wurde nach publizierten Standardprotokollen durchgeführt (Marienhagen, Schalke et al. 1999).

Der Somatostatin- Rezeptorligand  $^{111}\text{In}$ -[DTPA-D-Phe<sup>1</sup>]-Octreotid wurde intravenös in einer Dosis von 175 MBq verabreicht. Vier und 24 Stunden nach der Injektion wurde ein anteriorer sowie posteriorer Ganzkörperscan des Thorax und des Abdomens durchgeführt. Entsprechend dem Standardvorgehen kam hierfür eine zweiköpfige Gammakamera (Bodyscan, Siemens, Erlangen, Deutschland) zum Einsatz, die mit einem mittleren Energiekollimator ausgerüstet war. Die Bildbearbeitung erfolgte mit der vom Hersteller mitgelieferten Standardsoftware.

#### 2.5 Single photon emission computed tomography (SPECT)

Die SPECT wurde drei und 23 Stunden nach der Applikation des markierten Octreotid durchgeführt. Es wurde eine dreiköpfige rotierende Gammakamera (MultiSpect 3, Siemens) verwendet, die mit einem mittleren Energiekollimator ausgestattet war. Die Aquisition Parameter waren folgendermaßen: step and shoot acquisition, circular orbit, 360° Rotation, 20 views/head, acquisition time 120 sec/step. Transaxiale, sagittale und coronare Schnitte wurden durch gefilterte Rückprojektion mittels Butterworth Filter (cut-off 0.35 Nyquist, order 2) rekonstruiert (Siemens ICON software).

Unter der Verwendung von ergänzender anatomischer Bildgebung (MR oder CT), wurde die Aufnahme von  $^{111}\text{In}$ -[DTPA-D-Phe<sup>1</sup>]-Octreotid mit Hilfe einer semiquantitativen Bewertungsskala gewichtet: 0: keine sichtbare Aufnahme; 1: leichte Aufnahme knapp über Basisaktivität; 2: mäßige Aufnahme, deutlich mehr als Basisaktivität, aber unterhalb der Leberaktivität; 3: starke Aufnahme, vergleichbar oder oberhalb der Aktivität der Leber.

---

**2.6 Octreotidbehandlung und Messung des Tumoransprechens**

Alle Patienten erhielten einen initialen Octreotidscan und eine Computertomographie des Thorax. Wenn das Thymom nach oben genannten Kriterien eine starke Anreicherung zeigte, erhielten die Patienten eine dreimonatige Octreotidtherapie: 30 mg Sandostatin™ 100 µg alle 14 Tage als i.m. Injektion zusammen mit Prednisolon, 0.6 mg/kg/Tag p.o.. Nach den drei Monaten erfolgte eine erneute Computertomographie des Thorax.

Die prä- und post-therapeutischen Tumorumfänge wurden mit Hilfe der AutoCAD 2005 Software (Autodesk, München) analysiert.

Alle einzelnen CT Bilder wurden mit hoher Auflösung (1200 x 1200 dpi, 24 bit) gescannt und maßstabsgetreu in Originalgröße übertragen. Die Tumoreale wurden von Hand markiert, der Durchmesser der markierten Gebiete wurde von der Software berechnet. Diese Ergebnisse wurden mit der Dicke der CT Schichten multipliziert. Die Summe der einzelnen Schichten ergab das ungefähre Tumorumfang.

**2.7 Herstellung des Multi Tissue Array**

Die tissue microarrays wurden von Frau Dr. med. Martina Hartmann erstellt; im Folgenden soll der Vollständigkeit halber der Herstellungsprozess kurz erläutert werden.

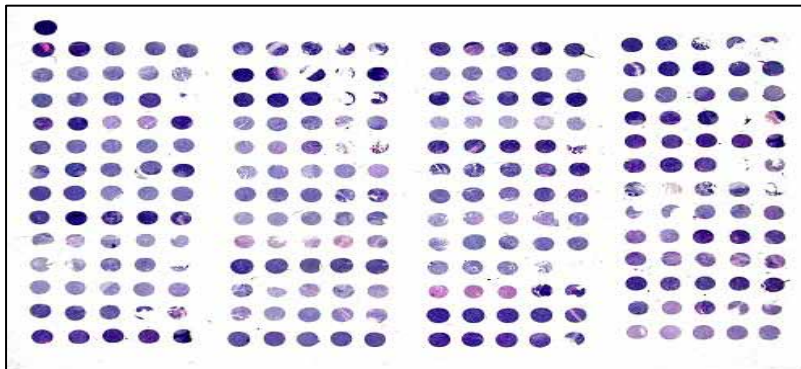
Nach der chirurgischen Tumoresektion wurden die Gewebeprobe für mindestens 24 Stunden in gepuffertem Formalin fixiert. Im Anschluß an die Dehydratation in Alkohol und Xylol wurden die Proben in Paraffinwachs gegossen.

Aus jedem Gewebespenderblock wurden schließlich mit Hilfe eines kommerziellen Präzisions-Stanzgerätes (Fa. Beecher Instruments, Silver Spring, MD, USA) mit einer Hohlzylinder mit einem Durchmesser von 0.6 mm fünf Stanzzylinder entnommen und in einem neuen Paraffinblock eingebracht.

Um die Orientierung auf dem Empfängerblock eindeutig zu gestalten, wurde am linken oberen Eck eine zusätzliche Stanze eingebracht. So wird eine eindeutige Identifizierung der Stanzen gewährleistet.

Abbildung 2 zeigt den makroskopischen Aspekt eines solchen Tissue Arrays.

Abb. 2: Multi Tissue Array (H.E. gefärbt, ursprüngliche Vergrößerung x 200). Der einzelne Spot links oben erlaubt die Orientierung des Schnittes. Jede der Reihen aus 5 Spots repräsentiert einen Fall; die Fälle wurden zur besseren Auswertbarkeit in 4 größeren Spalten angeordnet.



Vom Arrayblock wurden mit Hilfe eines Mikrotoms 1  $\mu\text{m}$  dicke Gewebsschnitte angefertigt. Auf silanisierte Objektträger gezogen trockneten diese Präparate etwa eine Woche bei 56  $^{\circ}\text{C}$  im Brutschrank, um ein Abschwimmen der Stanzen bei der anschließenden Färbung zu vermeiden.

## 2.8 Antikörper

Die hier verwendeten Antikörper gegen die Somatostatinrezeptoren SSTR 2A, SSTR 3 und SSTR 5 wurden von Herrn Prof. Stefan Schulz am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg entwickelt und uns freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Es handelt sich um polyklonale Kaninchen IgG-Antikörper, die gegen die carboxy-terminalen Enden der humanen Somatostatin Rezeptoren gerichtet sind.

Tabelle 4 stellt die Aminosäuresequenz und die Peptidstruktur der antigenen Struktur der untersuchten Somatostatinrezeptoren dar.

Tab. 4: Aminosäuresequenz und Peptidstruktur der untersuchten Somatostatinrezeptoren

	<b>SSTR 2A</b>	<b>SSTR 3</b>	<b>SSTR 5</b>
Aminosäuresequenz	355-369	377-391	350-364
Peptid	CRNGTCTSRITTL	ETQRILLNGDLQTSI	QEATRPRATAAANGLMQTSKL

(Schulz, Schmitt et al. 1998; Mundschenk, Unger et al. 2003)

Außerdem wurden kommerziell erhältliche monoklonale Antikörper gegen Ki 67 und Ku 80 verwendet. In der immunhistochemischen Färbung wurden diese Antikörper in verschiedenen Konzentrationen angewendet:

Tabelle 5 zeigt die angewendeten Antikörperverdünnungen der SSTR-Antikörper im Überblick.

Tab. 5: Antikörper

Antikörper	Verdünnung
anti-SSTR 2A	1: 1000
anti-SSTR 3	1: 250
anti-SSTR 5	1: 500

Die Antikörper wurden in bei 2 – 8°C gekühltem Tris EDTA Puffer verdünnt (50 mM Tris, 2 mM EDTA, pH 9.3).

## 2.9 Immunhistochemie

Die Schnitte wurden zunächst entparaffiniert: sie wurden 20 Minuten in Xylol getaucht und anschließend kurz in 100, 80 und 60prozentigem Alkohol rehydriert. Anschließend wurden sie sieben Minuten im Dampfkochtopf in Citronensäure pH 5.5 gekocht. Danach wurde gründlich zunächst mit Leitungswasser, dann mit PBS (phosphate buffer solution) gespült.

Es folgte die eigentliche Färbung mit einem Färbesystem für immunhistochemische Färbungen der Firma Zymed Laboratories INC, 561 Eccles Avenue, South San Francisco CA 94080, [www.zymed.com](http://www.zymed.com).

Im ersten Schritt wurde jeder vorbehandelte Schnitt für 15 Minuten mit 100 µl Blocking Solution (A Blocking Solution) inkubiert. Diese Lösung wurde nicht abgespült. Anschließend wurde der Antikörper in der jeweiligen Verdünnung auf den Schnitt aufgetragen; die Inkubationszeit betrug 60 Minuten bei Raumtemperatur. Nach einer

Stunde erfolgte eine gründliche Spülung mit PBS, bevor pro Schnitt 100 µl des sekundären Antikörpers (B Broad Spectrum Second Antibody) aufgetragen wurden; dieser verblieb zwanzig Minuten auf dem Gewebe. Nach erneutem gründlichen Spülen mit PBS wurden anschließend pro Schnitt 100 µl des Enzyms Streptavidin Peroxidase (C HRP Streptavidin) für zwanzig Minuten auf das Gewebe aufgebracht.

Zum Nachweis der gebundenen Antikörper wurden schließlich pro Schnitt 500 µl DAB aufgetragen. Nach zehn Minuten Inkubationszeit erfolgte für drei Minuten die Gegenfärbung mit Hämalaun. Die Schnitte wurden fünf Minuten lang in fließendem Leitungswasser gespült und kurz durch 100%igem Alkohol gezogen. Nach 15 Minuten Trockenzeit im Brutschrank konnten die Schnitte abgedeckt werden.

Bei der Anfärbung der Negativkontrollen wurde der Inkubationsschritt mit dem ersten Antikörper geändert: die Schnitte wurden an Stelle des Antikörpers mit 100 µl PBS benetzt.

Nach dem gleichen Prinzip fand im Immunhistochemie-Labor der Pathologie die Färbung der Einzelschnitte mit Antikörpern gegen Ku 80 und Ki 67 statt; diese Färbungen wurden von Mitarbeiterinnen des Instituts angefertigt.

## 2.10 Chemikalien und Reagenzien

In Tabelle 6 werden die verschiedenen verwendeten Chemikalien und Reagenzien in ihrer Zusammensetzung aufgelistet.

Tab. 6: Chemikalien und Reagenzien

<b>Puffer PBS</b>	pH 7.4	72.0 gr NaCl
		14.8 gr Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
		4.3 gr KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
<b>Tris EDTA Puffer</b>	pH 9.3	50 mM Tris
		2 mM EDTA
<b>Citronensäure</b>	pH 5.5	42 gr CS
		17.6 gr NaOH Plätzchen

Färbekit: A Blocking Solution  
 B Broad Spectrum Second Antibody  
 C HRP Streptavidin

Zymed Laboratories INC  
 561 Eccles Avenue  
 South San Francisco  
[www.zymed.com](http://www.zymed.com)

Die Reagenzien PBS und Tris Puffer, sowie die zum Kochen der Schnitte verwendete Citronensäure wurden vor Ort im Labor hergestellt.

Das Färbesystem wurde von der Firma Zymed geliefert und wird im immunhistochemischen Labor der Pathologie zu Standardfärbungen verwendet.



### 2.11 Lichtmikroskopische Beurteilung

Die gefärbten Schnitte wurden unter dem Lichtmikroskop beurteilt. Die Proben wurden unter zwei verschiedenen Gesichtspunkten ausgewertet:

Zunächst wurde die Reaktion der cytoplasmatisch vorhandenen Rezeptoren beurteilt. Um die Auswertung möglichst reproduzierbar zu gestalten, wurde die Intensität der Färbung in negativ, schwach positiv und stark positiv eingeteilt; negativ entspricht „-“, schwach positiv „+“ und stark positiv „++“.

Die Ergebnisse der immunhistochemischen Färbungen mit dem jeweiligen Antikörper gegen die verschiedenen Somatostatinrezeptor - Subtypen wurden wie in Tabelle 7 dargestellt ausgewertet:

Tab. 7: Lichtmikroskopische Auswertung

<b>negativ</b>	-	keine oder schwache Färbung von weniger als 10 % der Tumorzellen
<b>mäßige Färbung</b>	+	deutliche Färbung von mehr als 10 % und weniger als 50 % der Tumorzellen
<b>starke Färbung</b>	++	deutliche Färbung von mehr als 50 % der Tumorzellen

Im zweiten Durchgang wurden die Schnitte als positiv bewertet, die über membranständige Rezeptoren verfügen. Auch diese Auswertung erfolgte nach einem festen Schema; die Intensität der Färbung wurde in Grad 0 bis 3 eingeteilt. Diese Einteilung orientierte sich an der immunhistochemischen Bewertung der Her2 Expression in Mammakarzinomen. Um als positiv gewertet zu werden, mussten mindestens 10% der Tumorzellen eine Membranfärbung aufweisen.

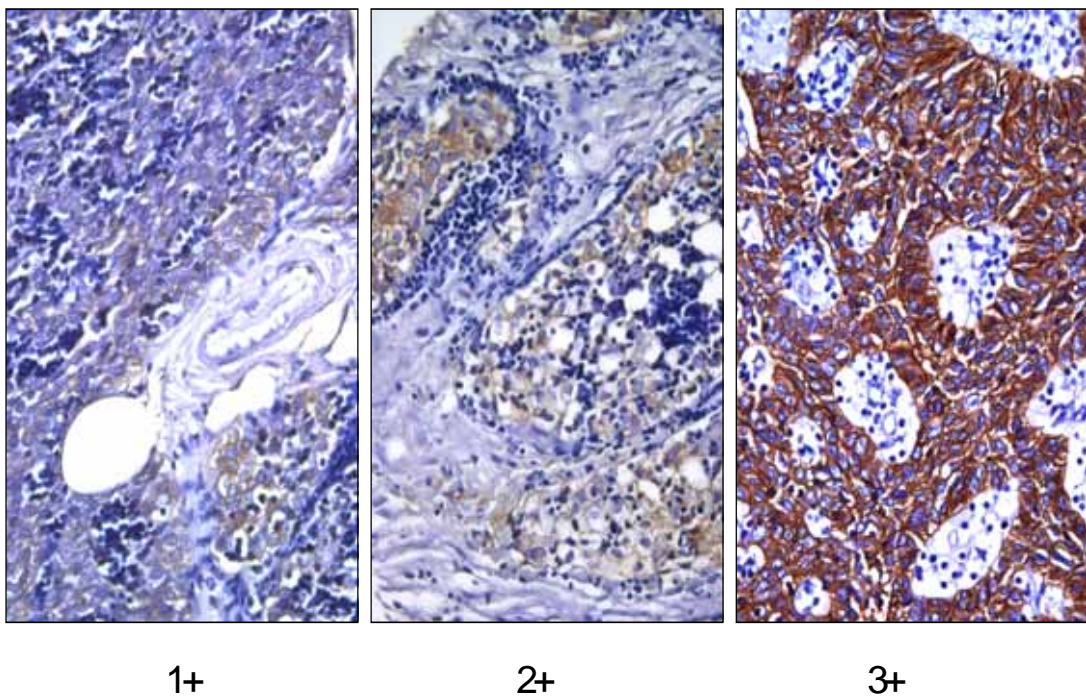
Die scores 0 und 1, sowie die scores 2 und 3 wurden zur Vereinfachung der Auswertung jeweils zu einer Gruppe zusammengefasst.

Die Auswertung wurde an einem Lichtmikroskop (Fa. Zeiss) vorgenommen.

Auf dem Multi Tissue Array wurden die einzelnen, gut beurteilbaren Stenzen bewertet und die Einzelergebnisse eines Falles zu einem Gesamtwert zusammengefasst.

Abbildung 3 zeigt beispielhaft die lichtmikroskopische Auswertung der Membranexpression des Somatostatinrezeptors 2A.

Abb. 3: Beispiele für die lichtmikroskopische Auswertung der Membranexpression des SSTR2A (Immunperoxidase, originale Vergrößerung x250)



### 3 Ergebnisse

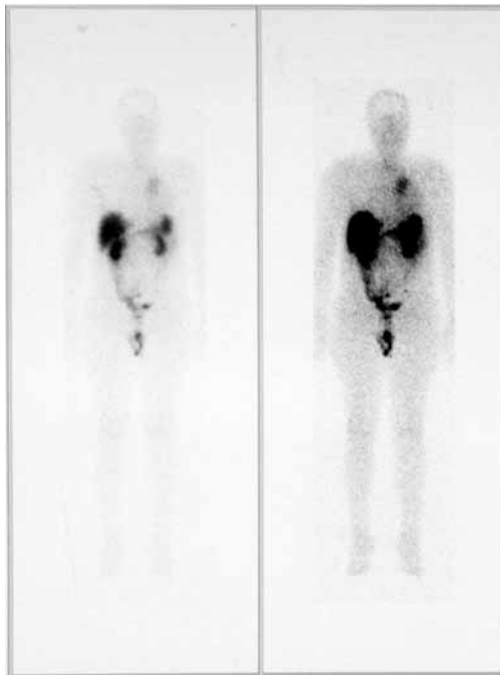
#### 3.1 Klinische Resultate

##### 3.1.1 Szinti/SPECT

Alle Patienten mit histologisch gesicherten Thymomen zeigten eine kräftige Darstellung des Tumors in der Octreotid-Szintigraphie (persönliche Mitteilung Prof. Schalke und Dr. Marienhagen, Neurologische Klinik der Universität Regensburg).

Abbildung 4 zeigt beispielhaft die szintigraphische Darstellung von Fall 5.

Abb. 4: Beispiel für eine Anreicherung links mediastinal in der  $^{111}\text{In}$ -[DTPA-D-Phe<sup>1</sup>]-Octreotid- Szintigraphie (Fall 5; Aufnahme vier und 24 Stunden nach Injektion)



##### 3.1.2 Tumorregression

Das Ausmaß der Tumorregression korrelierte mit der Dignität des Tumors: benigne und niedrig maligne Tumoren zeigten ein gutes Ansprechen auf die Therapie mit Octreotid und Prednisolon und damit eine deutliche Regression, während die untersuchten

Thymuskarzinome zum Teil unter Octreotid sogar eine Progression zeigten. Die folgende Tabelle 8 fasst die Ergebnisse zusammen.

Tab. 8: Epidemiologische und klinisch-pathologische Daten der mit Octreotid behandelten Patienten und objektives Ansprechen des Tumors auf Octreotidtherapie. Hierfür wurde das Tumolvolumen durch morphometrische Analyse von CT-Bildern, die den Tumor abbildeten, kalkuliert (quantitative Daten zur Verfügung gestellt von Frau Cand.med. Nina Gutmann).

Fall	Geschlecht	Alter	Diagnose	Octreotid-Szinti	Tumorstadium		Tumolvolumen (ml)		Ansprechen des Tumors
					vT	nT	vT	nT	
1	w	63	A	+	1	1	175	50	++
2	m	54	A	++	n.v.	1	648	353	++
3	m	42	AB	++	3	2	181	99	++
4	m	51	B2	n.v.	n.v.	2	246	145	++
5	m	40	B2	+	n.v.	2	64	31	++
6	w	30	B2/B3	+	4b	4b	n.v.	n.v.	-/+
7	w	78	B3/PE Ca	++	4b	4b	n.v.	n.v.	-
8	w	65	PE Ca	n.v.	3	3	241	403	-

**vT**: klinisches Masaoka Tumor Stadium vor Octreotid Therapie; **nT**: klinisch-pathologisches Tumor Stadium nach Octreotid Therapie; **n.v.** nicht verfügbar; **PE Ca**:

Plattenepithel Karzinom des Thymus, - keine klinische Volumenreduktion durch Octreotidtherapie; -/+ keine sichere klinische Volumenreduktion durch Octreotidtherapie, ++ deutliche klinische Volumenreduktion durch Octreotidtherapie messbar

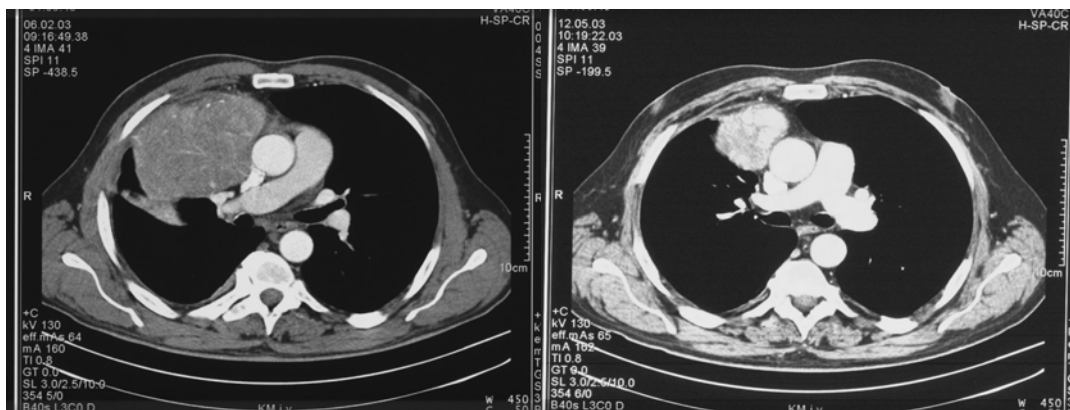
Abbildung 5 zeigt einen repräsentativen CT-Befund unter Octreotid-Therapie bei einem Thymom-Patienten.

Abb. 5: Identische Ebenen eines Thorax CT eines Patienten mit AB Thymom (Patient 2) vor und nach Octreotidtherapie. Die Tumormasse im vorderen Mediastinum und ihre deutliche Rückbildung unter Therapie ist gut zu erkennen. Anhand solcher Darstellungen wurden für alle Patienten die Tumervolumina vor und nach dem Einsatz von Octreotid bestimmt. Die volumetrische Analyse ergab bei diesem Patienten eine Reduktion des Tumervolumens um 55 %.

## Patient 2

vor Octreotid

nach Octreotid



---

### 3.2 Immunhistochemische Resultate

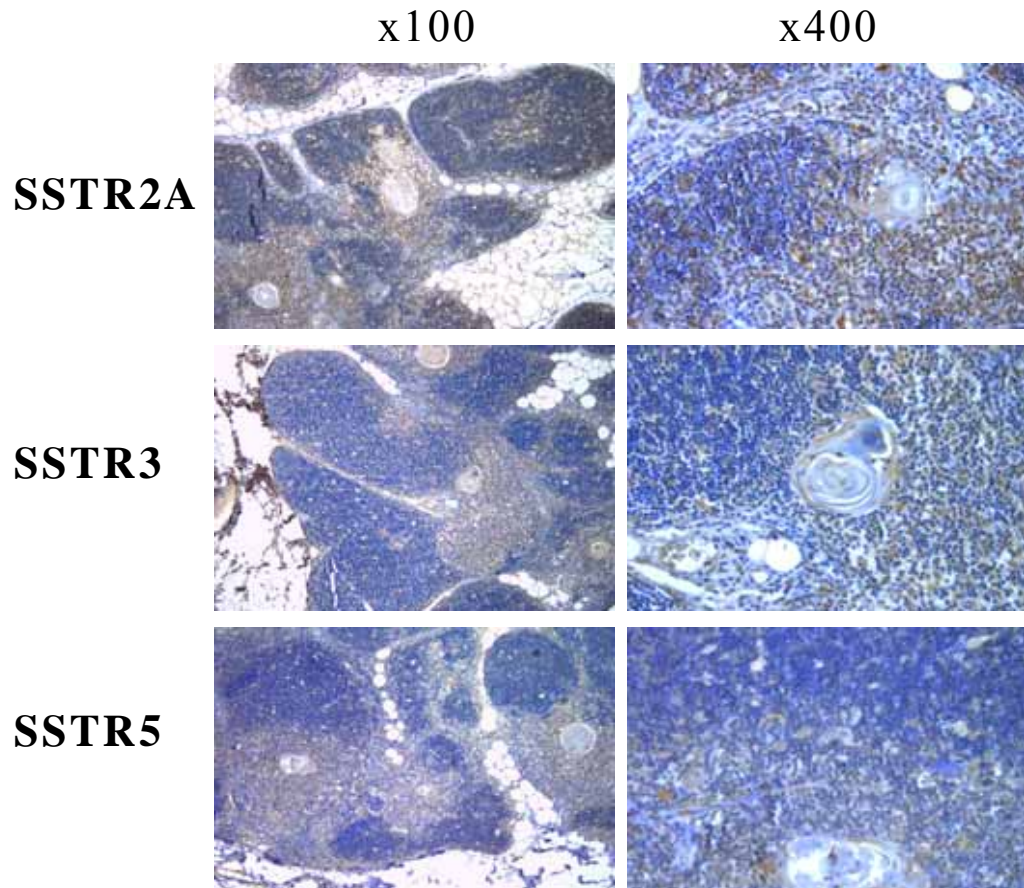
#### 3.2.1 Expression der Somatostatin-Rezeptoren im Normalthymus

Normalthymi wurden zusammen mit den Thymomen und Thymuskarzinomen auf den multi tissue arrays als Restthymi gefärbt (vgl. Tab. 2). Ausser den Epithelien zeigten auch unreife Lymphozyten zumindest partiell eine teilweise Färbung.

Herausragendes Ergebnis der immunhistochemischen Färbung war die deutliche Diskrepanz zwischen zytoplasmatischer Färbung und der Anfärbung der Zellmembran: die Anfärbung des Zytoplasmas war in nahezu allen Fällen sehr viel kräftiger als die der Membran.

Abbildung 6 zeigt am Beispiel eines Normalthymus die Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung mit den Antikörpern gegen SSTR 2A, 3 und 5.

Abb. 6: Immunhistochemische Darstellung der verschiedenen SSTR Isoformen in einem Normalthymus (Immunperoxidase)



### 3.2.2 SSTR 2A: Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung mit dem Antikörper gegen den Somatostatinrezeptor Subtyp 2A

In allen Thymom-Typen wurde der Somatostatinrezeptor Subtyp 2A zytoplasmatisch mäßig oder stark exprimiert; bei den untersuchten Thymom Typen A und AB war der zytoplasmatische Rezeptor jeweils etwa zur Hälfte mäßig beziehungsweise stark anfärbbar. Bei Typ B Thymomen und Thymuskarzinomen fand sich in ungefähr einem Drittel der Fälle eine starke, in etwa zwei Drittel eine mäßige zytoplasmatische Färbung. Nur einzelne Proben waren negativ.

Die membranständigen Somatostatinrezeptoren des Typs 2A ließen sich etwa zu 15% immunhistochemisch in Typ A Thymomen und in den Thymuskarzinomen nachweisen. Sie fanden sich nur vereinzelt in Typ B Thymomen, in Thymomen vom Typ AB waren sie gar nicht zu finden.

Die Tabellen 9 und 10 zeigen die Verteilung des Rezeptors im Zytoplasma, beziehungsweise auf der Zellmembran.

Tab. 9: Immunhistochemische Expression von SSTR 2A im Zytoplasma von Thymomen und Thymuskarzinomen

	<b>negativ (n= 7)</b>	<b>mäßig (n= 116)</b>	<b>stark (n= 66)</b>
Thymom Typ A	0	12	8
Thymom Typ AB	1	17	23
Thymom Typ B	5	71	27
Thymuskarzinom	1	16	8

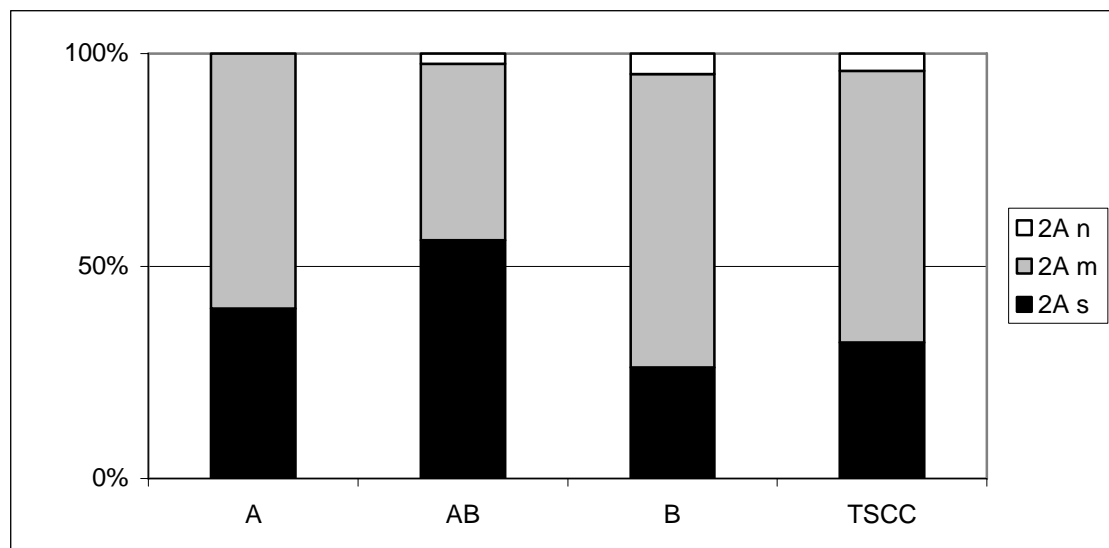


Tab. 10: Immunhistochemische Expression von SSTR 2A auf der Membran von Thymomen und Thymuskarzinomen

	Score 0 / 1 (n= 140)	Score 2 / 3 (n= 6)
Thymom Typ A	15	2
Thymom Typ AB	28	0
Thymom Typ B	75	1
Thymuskarzinom	22	3

Graphik 1 verdeutlicht die unterschiedliche Expression des Somatostatinrezeptors 2A auf den verschiedenen Thymomen im Zytoplasma.

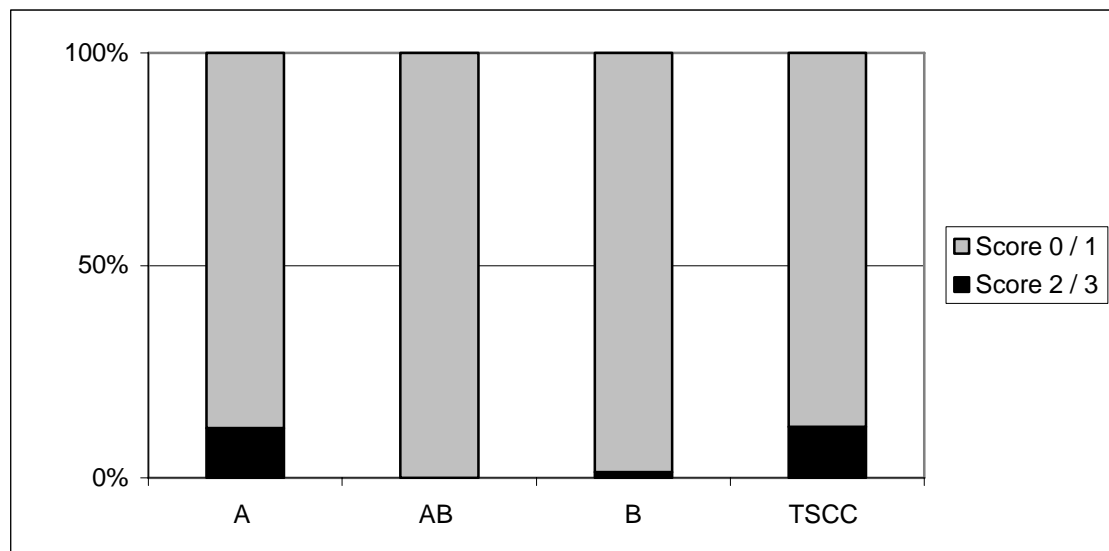
Graphik 1: Immunhistochemische Expression von SSTR 2A im Zytoplasma von Thymomen und Thymuskarzinomen (y-Achse zeigt die prozentuale Verteilung der Färbeintensitäten über die untersuchten Fälle)



n negativ; m mäßig; s stark

Graphik 2 verdeutlicht die unterschiedliche Expression des Somatostatinrezeptors 2A auf der Zellmembran der verschiedenen Thymome.

Graphik 2: Immunhistochemische Expression von SSTR 2A auf der Membran von Thymomen und Thymuskarzinomen (y-Achse zeigt die prozentuale Verteilung der Färbintensitäten über die untersuchten Fälle)



### 3.2.3 SSTR 3: Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung mit dem Antikörper gegen den Somatostatinrezeptor Subtyp 3

Die zytoplasmatische Form des Somatostatinrezeptor Subtyp 3 wurde in allen Thymom Typen und in den Thymuskarzinomen überwiegend mäßig stark exprimiert. Bei den Thymuskarzinomen fand sich etwa in 25% der Fälle eine starke Expression des Rezeptors. Der Anteil der negativen Fälle lag etwa zwischen 5 und 20% bei den unterschiedlichen Tumoren.

Die membranständige Form des Rezeptorsubtyps 3 wurde in Typ A und Typ B Thymomen nicht exprimiert. Ein kleiner Teil von etwa 10% der Typ AB Thymome und 15% der Thymuskarzinome war positiv.

Die Tabellen 11 und 12 zeigen die Verteilung des Rezeptors im Zytoplasma, beziehungsweise auf der Zellmembran

Tab.11: Immunhistochemische Expression von SSTR 3 im Zytoplasma von Thymomen und Thymuskarzinomen

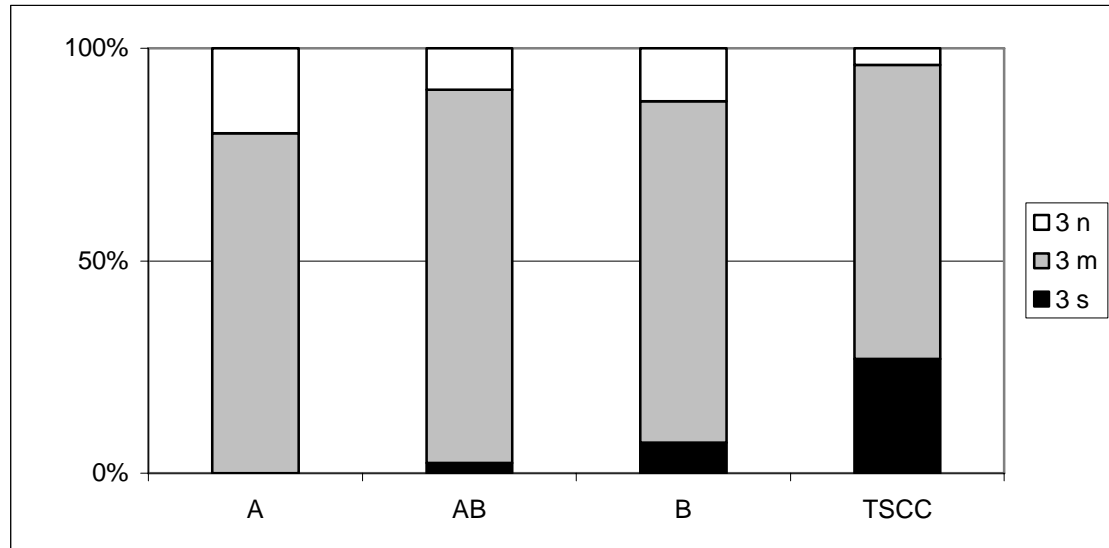
	<b>negativ (n= 16)</b>	<b>mäßig (n= 115)</b>	<b>stark (n= 12)</b>
Thymom Typ A	4	16	0
Thymom Typ AB	4	36	1
Thymom Typ B	7	45	4
Thymuskarzinom	1	18	7

Tab. 12: Immunhistochemische Expression von SSTR 3 auf der Membran von Thymomen und Thymuskarzinomen

	<b>Score 0 / 1 (n= 163)</b>	<b>Score 2 / 3 (n= 12)</b>
Thymom Typ A	18	0
Thymom Typ AB	39	0
Thymom Typ B	85	8
Thymuskarzinom	21	4

Graphik 3 verdeutlicht die unterschiedliche Expression des Somatostatinrezeptors 3 auf den verschiedenen Thymomen im Zytoplasma.

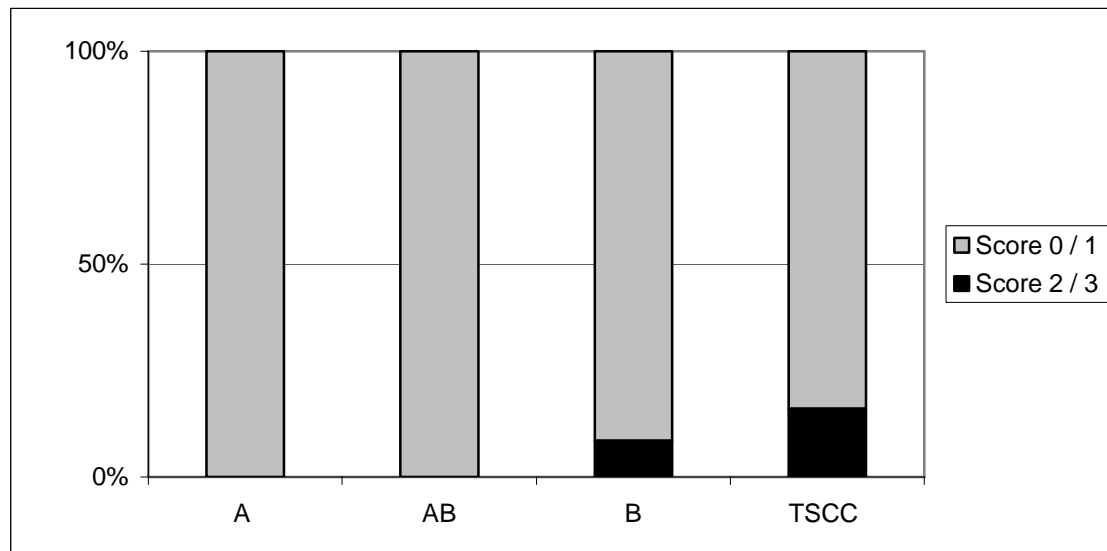
Graphik 3: Immunhistochemische Expression von SSTR 3 im Zytoplasma von Thymomen und Thymuskarzinomen (y-Achse zeigt die prozentuale Verteilung der Färbintensitäten über die untersuchten Fälle)



**n** negativ; **m** mäßig; **s** stark

Graphik 4 verdeutlicht die unterschiedliche Expression des Somatostatinrezeptors 3 auf der Zellmembran der verschiedenen Thymome.

Graphik 4: Immunhistochemische Expression von SSTR 3 auf der Membran von Thymomen und Thymuskarzinomen (y-Achse zeigt die prozentuale Verteilung der Färbintensitäten über die untersuchten Fälle)



#### 3.2.4 SSTR 5: Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung mit dem Antikörper gegen den Somatostatinrezeptor Subtyp 5

Die zytoplasmatische Form des Somatostatinrezeptor Subtyps 5 wurde in Thymom Typ A und in Thymuskarzinomen fast in allen Fällen stark exprimiert. Bei Thymom Typ AB waren jeweils 50% stark bzw. mäßig positiv, bei Typ B Thymomen überwog eine mäßige Expression, negativ waren nur einzelne Fälle.

Ganz im Gegensatz dazu ließ sich die membranständige Form des Rezeptors Subtyp 5 an den untersuchten Proben nicht nachweisen.

Die Tabellen 13 und 14 zeigen die Verteilung des Rezeptors im Zytoplasma, beziehungsweise auf der Zellmembran.

Tab. 13: Immunhistochemische Expression von SSTR 5 im Zytoplasma von Thymomen und Thymuskarzinomen

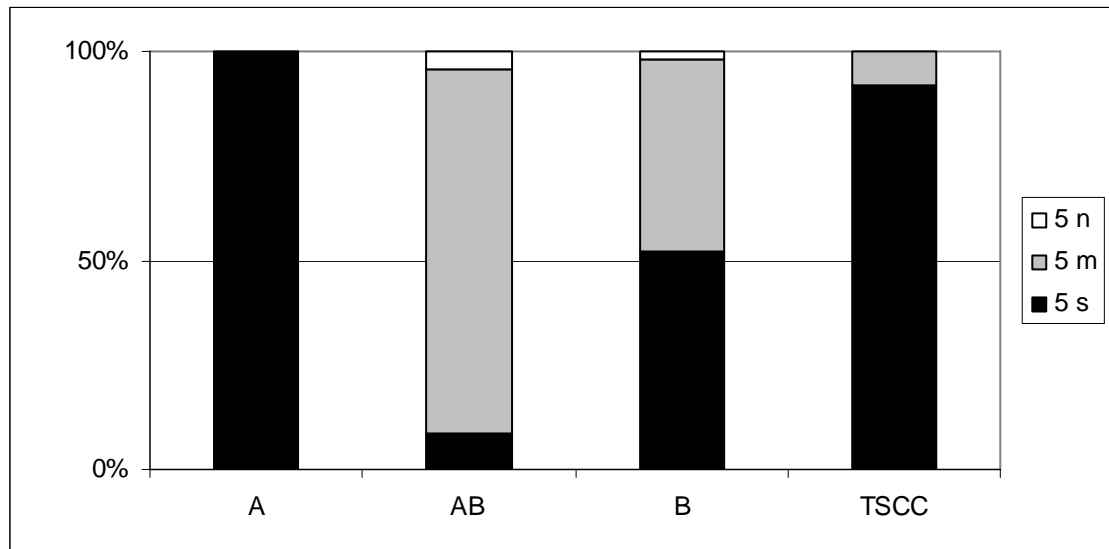
	<b>negativ (n= 4)</b>	<b>mäßig (n= 90)</b>	<b>stark (n= 100)</b>
Thymom Typ A	0	0	20
Thymom Typ AB	2	40	4
Thymom Typ B	2	48	54
Thymuskarzinom	0	2	22

Tab. 14: Immunhistochemische Expression von SSTR 5 auf der Membran von Thymomen und Thymuskarzinomen

	<b>Score 0 / 1 (n= 194)</b>	<b>Score 2 / 3 (n= 0)</b>
Thymom Typ A	20	0
Thymom Typ AB	45	0
Thymom Typ B	105	0
Thymuskarzinom	24	0

Graphik 5 veranschaulicht die unterschiedliche Expression des Somatostatinrezeptors 5 auf den verschiedenen Thymomen im Zytoplasma.

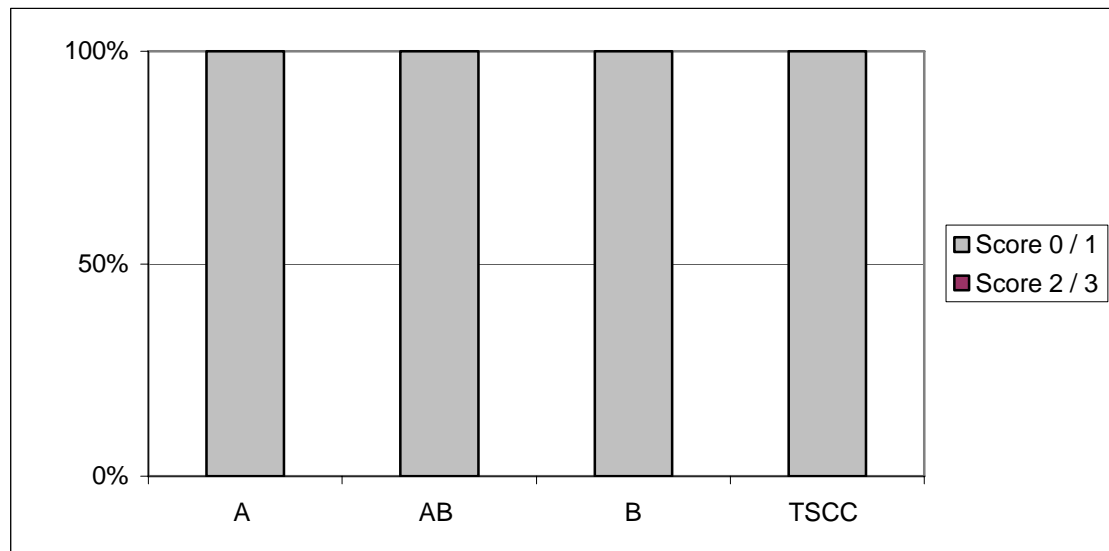
Graphik 5: Immunhistochemische Expression von SSTR 5 im Zytoplasma von Thymomen und Thymuskarzinomen (y-Achse zeigt die prozentuale Verteilung der Färbintensitäten über die untersuchten Fälle)



**n** negativ; **m** mäßig; **s** stark

Graphik 6 verdeutlicht die unterschiedliche Expression des Somatostatinrezeptors 5 auf der Zellmembran der verschiedenen Tumoren.

Graphik 6: Immunhistochemische Expression von SSTR 5 auf der Membran von Thymomen und Thymuskarzinomen (y-Achse zeigt die prozentuale Verteilung der Färbintensitäten über die untersuchten Fälle)



Insgesamt wurde die zytoplasmatische Form aller Isoformen des Somatostatinrezeptors in allen Thymom-Typen und in Thymuskarzinomen zumindest mäßig exprimiert. Im deutlichen Gegensatz dazu stand die spärliche Expression der membranständigen Form. Der Großteil der untersuchten Proben war negativ. Lediglich Rezeptor Subtyp 2A und Subtyp 3 ließen sich in wenigen Fällen nachweisen.



### 3.2.5 Octreotid-behandelte Tumoren

Bei acht mit Octreotid behandelten Patienten (vgl. Tab. 3) waren neben den Operationspräparaten auch Biopsien der unbehandelten Tumoren verfügbar. Diese Fälle wurden morphologisch und immunhistochemisch untersucht, um Aufschlüsse über mögliche Octreotideffekte zu erhalten.

#### 3.2.5.1 *Histologische Ergebnisse*

Morphologisch wurden die Tumoren auf Zeichen der Progression (z.B. Änderung des histologischen Tumortyps), auf ihren Lymphozytengehalt und mögliche regressive Veränderungen wie Verkalkungen, Nekrosen, Fibrosierung oder Zystenbildung untersucht.

Tabelle 15 zeigt die histologischen Ergebnisse im Überblick.

Tab. 15: Histologische Befunde bei Thymomen und Thymuskarzinomen vor und nach einer Octreotidtherapie.

Fall		Histotyp	Lymphozyten	Regr. Veränderungen	Bewertung des Therapieeffektes
1	prä	A	+	-	Möglicherweise regressive Veränderungen durch Octreotid; jedoch: schon vor Therapie ungewöhnlich hoher Fasergehalt als Hinweis auf regressive Veränderungen
	post	A	+	+	
2	prä	AB	++	-	Übergang von AB zu A nach Therapie; Keine rosettenförmigen Strukturen wie im Vorbiopsat nachweisbar
	post	A	+	++	
3	prä	AB	++	-	Sonderfall: möglicherweise Entdifferenzierung durch Octreotid/Prednison
	post	AB?	+	++	
4	prä	B2	++	-	Histologisch kein Hinweis auf Octreotid-Effekt
	post	B2	++	-	
5	prä	B2	++	+	Möglicherweise Lymphozytendepletion durch Octreotid/Prednison, starke thermartifizielle Veränderungen der Probe
	post	B2	+	-	
6	prä	B2/B3	++	+	Histologisch kein Hinweis auf Octreotid-Effekt
	post	B2/B3	++	+	
7	prä	PECa	-	++	Histologisch kein Hinweis auf Octreotid-Effekt
	post	PECa	-	++	
8	prä	PECa	-	++	Histologisch kein Hinweis auf Octreotid-Effekt
	post	PECa	-	++	

**prä:** vor Octreotidtherapie, **post:** nach Octreotidtherapie

**0** negativ, **+** mäßig positiv, **++** stark positiv

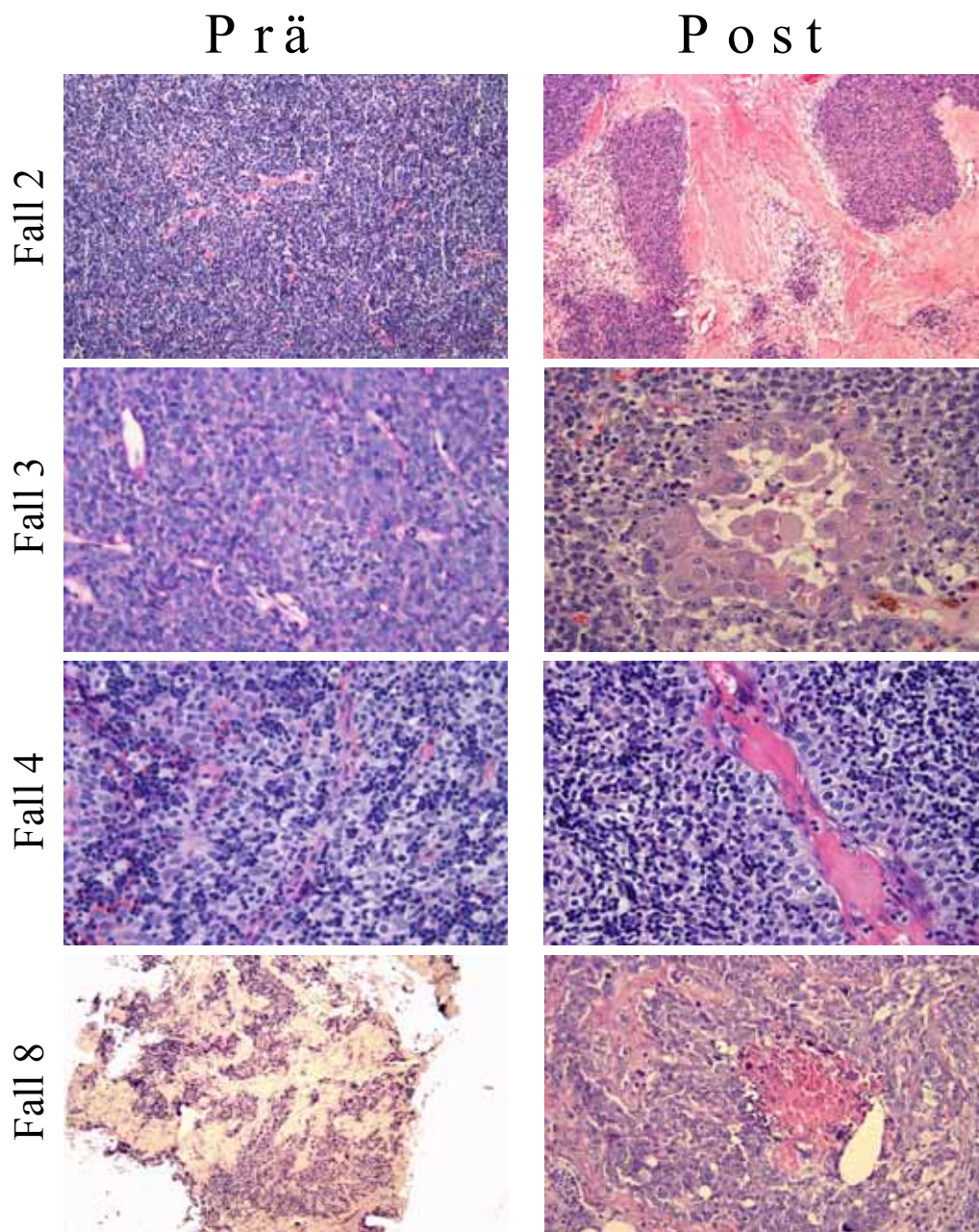
Als Sonderfall muß Fall Nummer 3 betrachtet werden; unter Octreotidtherapie fand eine Art Entdifferenzierung statt. Histologisch handelte es sich an der prätherapeutisch entnommenen Gewebsstanze um ein konventionelles Typ AB Thymom, das in Resten auch nach Octreotidtherapie noch nachzuweisen war. Zusätzlich fanden sich aber auch ungewöhnliche, der WHO-Klassifikation nicht zwanglos zuzuordnende anaplastische Areale, die herdförmig an ein Adenokarzinom erinnerten. Diese Beobachtung war jedoch einzigartig und kam bei den anderen Fällen nicht vor, so dass nicht auszuschließen war, dass die entsprechenden Areale auch schon vor der Therapie mit Octreotid bestanden und in der prätherapeutischen Stanze lediglich nicht erfasst worden waren.

Insgesamt waren die histologischen Veränderungen auch bei Tumoren mit objektivem Ansprechen auf Octreotid überraschend gering ausgeprägt. Viele der gefundenen Veränderungen, wie Lymphozytendepletion oder regressive Veränderungen, waren bereits in den prätherapeutischen Präparat nachweisbar.

Abbildung 7 zeigt repräsentative histologische Befunde verschiedener Gewebeproben vor und nach Octreotidtherapie.

Abb. 7: Repräsentative Beispiele histologischer Befunde von Thymomen (Typen A, AB, B2 und B2/B3) und Thymuskarzinomen (PE Ca) vor („prä“) und nach („post“) Octreotidtherapie. Fall 2 zeigte in der Biopsie vor Therapie die Histologie eines Typ AB Thymoms, im Operationspräparat nach Therapie waren aber lymphozytenreiche Areale nicht mehr nachweisbar, so dass nun ein Typ A Thymom zu diagnostizieren war. Zusätzlich breite, wohl regressive Kollagenbänder. Fall 3 zeigte vor Therapie das typische Bild eines Typ AB Thymoms, während im Operationspräparat nur spärliche Areale eines Typ AB Thymoms enthalten waren. In den meisten Abschnitten zeigte der Tumor teils plattenepithelial, teils adenoid differenzierte Strukturen. Fall 4 war ein typisches B2 Thymom, das auch im Operationspräparat keine morphologisch erkennbaren Veränderungen wie z.B. eine Lymphozytendepletion aufwies. Fall 8 war

ein Plattenepithelkarzinom des Thymus; bei relativ eingeschränkten Beurteilungsverhältnissen in der Biopsie vor Therapie waren keine sicher therapie-assoziierten Veränderungen zu erkennen, da auch die Biopsie bereits deutliche regressive Veränderungen aufwies.



## 3.2.5.2 Immunhistochemische Ergebnisse

Um zu untersuchen, ob die Behandlung mit Octreotid zu einer veränderten Expression der Somatostatinrezeptoren führt, wurde die membranständige und zytoplasmatische Expression der Subtypen 2A, 3 und 5 bei den acht Fällen mit Octreotidbehandlung vor und nach Therapie untersucht. Weiterhin wurde versucht, den Therapieeffekt durch Bestimmung der Proliferationsfraktion Ki 67 und der Fraktion Ku 80 exprimierender Zellen näher zu analysieren.

Tabelle 16 zeigt die Expression der Somatostatinrezeptoren im Zytoplasma vor und nach der Octreotidtherapie.

Tab. 16: Zytoplasmatische Expression von Somatostatinrezeptoren vor und nach Octreotidtherapie (Immunperoxidase an Vollgewebsschnitten).

Fall	SSTR 2A		SSTR 3		SSTR 5	
	prä	post	prä	Post	prä	post
1	++	+	+	++	+	+
2	++	-	+	-	++	-
3	++	-	n.v.	-	n.v.	-
4	n.v.	++	n.v.	+	n.v.	-
5	++	++	++	++	n.v.	+
6	+	+	+	+	-	+
7	-	n.v.	++	n.v.	-	n.v.
8	++	++	++	++	++	-

- negativ, + mäßig positiv, ++ stark positiv, **n.v.** nicht verwertbar

Bei der Betrachtung der zytoplasmatisch vorliegenden Somatostatinrezeptoren zeigten die Fälle 1-3 eine posttherapeutische Reduktion der Rezeptorexpression. Bei allen anderen verwertbaren Proben blieb der Rezeptorstatus weitgehend unverändert.

Tabelle 17 zeigt die Expression der membranständigen Somatostatinrezeptoren vor und nach Octreotidtherapie, sowie die Expression von Ku 80 und Ki 67.

Fall		SSTR 2A	SSTR 3	SSTR 5	Ku80 (%)	Ki67 (%)	Ansprechen auf Therapie
1	prä	0	0	0	n.v.	n.v.	++
	post	0	0	0	80-100	5	
2	prä	0	0	0	80-100	0	++
	post	0	0	0	80	5	
3	prä	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	++
	post	0	0	0	100	20-30	
4	prä	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	++
	post	0	0	0	80-100	20-30	
5	prä	0	0	n.v.	n.v.	n.v.	++
	post	0	0	0	80-100	20-25	
6	prä	0	0	0	100	5-10	-/+
	post	n.v.	n.v.	n.v.	50-60	30-40	
7	prä	0	0	0	80-100	5	---
	post	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	
8	prä	1	0	0	80	30	---
	post	1	2	0	80-100	40-50	

**prä:** vor Octreotidtherapie, **post:** nach Octreotidtherapie

**0** negativ, **1** mäßig positiv, **2** stark positiv, **n.v.** nicht verwertbar

---

Bei der immunhistochemischen Analyse der Membranexpression der Somatostatinrezeptoren ließ sich kein unmittelbarer Octreotideffekt nachweisen, da fast alle Tumoren bereits primär keine Membranexpression aufwiesen (Score 0). Bezüglich der Proliferationsrate und der Expression von ku80 war aufgrund technischer Probleme (Qualität der primären Tumorbiopsien) keine ausreichende Interpretation möglich. Bemerkenswert eine leicht- bis mäßiggradige Steigerung der Proliferationsrate in den Fällen 6 und 8, beides Fälle mit unsicherem bzw. fehlendem Ansprechen auf die Therapie.

---

#### 4 Diskussion

In dieser Arbeit wurde versucht, klinische und bildgebende Befunde bei octreotidbehandelten Patienten mit Thymomen und Thymuskarzinomen mit histologischen und immunhistologischen Befunden zu korrelieren. Besonderes Interesse galt dabei der Frage, ob vor der Entscheidung zu einer Octreotidtherapie durch immunhistochemische Analyse der Somatostatin-Rezeptoren (SSTR) an einer Tumorbioptie Aussagen zum potentiellen Therapieansprechen möglich sind.

Patienten mit histologisch gesicherten Thymomen und Thymuskarzinomen zeigen im Gegensatz zu Patienten z.B. mit entzündlicher Thymushyperplasie oder Personen ohne Erkrankung des Thymus in der Octreotid-Szintigraphie praktisch immer eine kräftige Anreicherung (Hofland, Lamberts et al. 2003) und persönliche Mitteilung Prof. Schalke, Universitätsklinik für Neurologie, Regensburg. Trotz der kräftigen Anreicherung in der Szintigraphie in allen Fällen zeigten 3 der 8 hier untersuchten Patienten mit Thymomen und Thymuskarzinomen ein nur geringes bzw. fehlendes Ansprechen auf die Octreotidtherapie. Bemerkenswert war hier die Tatsache, dass alle Patienten mit fehlendem Ansprechen maligne Thymome des Typs B3 oder Thymuskarzinome aufwiesen, während 3 der 5 Fälle mit gutem Ansprechen den (klinisch gutartigen) Typen A und AB zuzurechnen waren.

Aus diesen Befunden leiteten sich die beiden zentralen Fragen dieser Untersuchung ab: unterscheiden sich Thymome und Thymuskarzinome vom Normalthymus hinsichtlich der Expression von Somatostatinrezeptoren (SSTR) und kann hierdurch das unterschiedliche Anreicherungsverhalten in der Octreotid-Szintigraphie erklärt werden? Unterscheiden sich die einzelnen Thymom-Histotypen hinsichtlich ihrer SSTR-Expression und kann hierdurch das unterschiedliche Ansprechen auf die Octreotid-Therapie erklärt und möglicherweise vorausgesagt werden?



Eines der Hauptergebnisse der vorgelegten Untersuchung war der Befund, dass sowohl normale Thymi als auch Thymome und Thymuskarzinome in fast allen (> 95 %) der untersuchten Fälle eine mäßig kräftige oder starke Expression der SSTR2A, 3 und 5 im Zytoplasma aufwiesen, während eine Membranexpression von SSTR2A nur in 4 %, von SSTR3 nur in 7 % und von SSTR5 in 0 % der Thymome und Thymuskarzinome nachweisbar war. Normalthymi zeigten keine immunhistochemisch erkennbare Membranexpression der verschiedenen SSTR-Isoformen. Dieser Befund war überraschend, da er die Unterschiede im Anreicherungsverhalten zwischen Normalthymi und Thymomen bzw. Thymuskarzinomen in der Szintigraphie nicht erklären konnte. Die Lokalisation von Somatostatinrezeptoren Subtyp 2A wurde am Zentralnervensystem der Ratte untersucht (Dournaud, Boudin et al. 1998). In verschiedenen Hirnregionen konnte eine bevorzugte Lokalisation der Rezeptoren entweder im Zytoplasma oder auf der Zellmembran gezeigt werden. In Regionen mit vornehmlich intrazellulärer Rezeptorenverteilung lag eine starke Somatostatinkonzentration vor; diese Beobachtung legt nahe, dass eine dauerhafte Hormonstimulation eine Downregulation der membranständigen Rezeptoren durch Liganden-induzierte Internalisation bewirkt. In Regionen mit geringeren Somatostatinkonzentrationen lagen Somatostatinrezeptoren 2A auch hauptsächlich in ihrer membranständigen Form vor. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Regionen, in denen der SSTR 2A hauptsächlich in membranständiger Form vorliegt, in der quantitativen Autoradiographie die meisten Bindungsstellen aufweisen. Grundsätzlich besteht also die Möglichkeit, dass sowohl der normale Thymus als auch Thymome eine hohe intrinsische Konzentration von Somatostatin aufweisen, die eine Internalisierung der SSTR bewirkt. An Nervenzellen und hormonproduzierenden Zellen der Hypophyse konnte gezeigt werden, dass SSTR durch eine Entkoppelung von der Adenylatcyclase desensibilisiert werden, wenn sie Somatostatin oder Somatostatin-Analoga über einen längeren Zeitraum ausgesetzt sind (Reisine and Bell 1995). Das unterschiedliche szintigraphische Anreicherungsverhalten von Normalthymi und Thymomen wäre also möglicherweise durch eine unterschiedliche Kinetik in der Beladung und Internalisierung der SSTR-Rezeptoren zu erklären. Auch menschliche SSTR werden

nach Liganden-Bindung internalisiert. Es bilden sich in bestimmten Membranregionen Hormon-Rezeptor Komplexe, die Clathrin-umhüllt oder ohne Hülle internalisiert werden. Diese sog. pits fusionieren mit Lysosmen, in denen die Hormonkomponente abgebaut wird, der Rezeptor wird danach wieder an die Zelloberfläche transportiert (Hofland, Lamberts et al. 2003). Viele G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCR), zu denen auch die SSTR gehören, können sowohl als Homo- als auch als Heterodimere vorliegen. In Geweben, in denen nur eine SSTR-Isoform exprimiert wird, liegen die SSTR als konstitutive Homodimere vor, während in Geweben, in denen mehrere verschiedene Isoformen exprimiert werden, zumeist Heterodimere vorliegen. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass die Bildung eines Heterodimers aus Somatostatin 2A Rezeptor und  $\mu$ -Opioid Rezeptor eine Modulation der Phosphorylierung, Internalisierung und Desensibilisierung des Rezeptorsystems bewirkt (Pfeiffer, Koch et al. 2001). Möglicherweise existieren an Thymomen/Thymuskarzinomen ähnliche Mechanismen zwischen den einzelnen Rezeptor Subtypen oder anderen Rezeptoren, die die Internalisierung der membranständigen Rezeptoren erwirken oder den Aktivitätszustand der GPCRs beeinflussen (Pfeiffer, Koch et al. 2001).

Ähnliche Erwägungen gelten auch für die Beantwortung der zweiten Frage dieser Untersuchung: alle histologischen Thymom-Subtypen und Thymuskarzinome zeigten in der Mehrzahl der Fälle eine mäßig kräftige oder starke zytoplasmatische Expression aller SSTR-Isoformen. Nur etwa 4 % aller Fälle zeigten eine relevante Membranexpression z.B. des SSTR 2A, während eine Membranexpression von SSTR 5 gar nicht beobachtet wurde. Die beobachteten Expressionsmuster z.B. von SSTR 2A konnten das unterschiedliche Ansprechen der einzelnen Thymome auf die Octreotid-Therapie weder erklären noch vorhersagen. Diese Beobachtung deckt sich mit Befunden in anderen Tumoren mit deutlicher Anreicherung in der  $^{111}\text{In}$ -Octreotid Szintigraphie, jedoch ohne die erwünschte Reaktion auf die Octreotid Therapie (Lin, Nguyen et al. 1999). Plockinger et al konnten bei der Untersuchung von 49 Patienten mit STH-sezernierenden und hormoninaktiven Hypophysenadenomen keine signifikante Korrelation zwischen positiver Octreotid Szintigraphie und Therapieerfolg nachweisen (Plockinger, Bader et al. 1997). Möglicherweise exprimieren neoplastische Gewebe

Defektvarianten der SSTR mit veränderten Bindungseigenschaften. Unsere klinischen und immunhistochemischen Befunde bei Thymomen stellen jedoch eine gängige Auffassung (Dournaud, Boudin et al. 1998) in Frage, nach der intrazelluläre SSTR als „inaktiv“ und für eine Therapie nicht relevant gelten. In mehreren der untersuchten Fälle war ein morphologische Effekt der Octreotid-Therapie auf die Tumor-Histologie nicht eindeutig nachweisbar, während bei anderen deutliche regressive Veränderungen in Form von Nekrosen, alten Blutungsresten und Zystenbildung zu beobachten waren. Eine Lymphozytendepletion durch die Therapie war in den meisten Fällen nicht nachzuweisen. Ein Caveat bei der Interpretation der Tumorregression sowohl in der Bildgebung als auch in der Histologie ist allerdings die Tatsache, dass alle Patienten eine Kombinationstherapie von Octreotid mit Prednison erhalten hatten und mittlerweile ein Fall publiziert wurde, in dem bei einem octreotid-refraktären Thymom durch alleinige Steroid-Gabe eine komplette Remission erzielt werden konnte (Tiseo, Monetti et al. 2005).

## 5 Zusammenfassung

Das Somatostatin-Analogon Octreotid ist ein in der Diagnose von Thymomen und Thymuskarzinomen wertvolles Hilfsmittel, da praktisch 100 % der Fälle eine kräftige Anreicherung in der Octreotid-Szintigraphie aufweisen, während entzündlich veränderte und nicht-neoplastische Thymi meist nicht anreichern. Auch therapeutisch zeigten 5 der 8 hier untersuchten Thymome eine ausgeprägte, objektivierbare Tumorregression unter einer Kombinationstherapie von Octreotid und Prednison, allerdings zählte die Mehrzahl der Fälle mit gutem Ansprechen zu der Gruppe der klinisch gutartigen Typ A und AB Thymome, während alle Fälle ohne Ansprechen ungünstige Typ B3 Thymome und Thymuskarzinome waren. Das unterschiedliche Anreicherungsverhalten von Normalthymi und Thymomen war nicht durch Unterschiede im immunhistochemischen Expressionmuster von SSTR-Isoformen erklärbar. Die für die Bindung von Octreotid hauptverantwortlichen Somatostatinrezeptor (SSTR) Subtypen 2A, 3 und 5 zeigten in Normalthymi und nahezu allen untersuchten Thymomen und Thymuskarzinomen eine kräftige zytoplasmatische Expression, während membranständige SSTR in Normalthymi nicht, in Thymomen und Thymuskarzinomen nur in etwa 5 % der Fälle beobachtet wurden. Auch das unterschiedliche Ansprechen der einzelnen Thymome bzw. Thymuskarzinome korrelierte nicht mit einem erkennbar unterschiedlichen Expressionsprofil der einzelnen SSTR. Die Befunde sind in erster Linie durch unterschiedliche Kinetiken bei der Internalisierung der SSTR, möglicherweise auch durch Heterokomplexbildung mit anderen Rezeptortypen erklärbar. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit wäre eine unterschiedliche Konkurrenz von Octreotid mit intrinsischem Somatostatin. Unsere Ergebnisse sprechen gegen eine gängige Auffassung, nach der ausschließlich membranständige SSTR durch eine Octreotid-Therapie „attackiert“ werden können. Die Aussagekraft der in der Bildgebung objektivierten Tumorregression und der histologischen Befunde vor und nach Octreotidtherapie ist allerdings mit Vorbehalt zu bewerten, da in allen Fällen eine Kombinationstherapie mit Steroiden durchgeführt wurde und mittlerweile bekannt ist, dass auch Steroide allein bei einem Teil der Fälle zu einer Tumorremission führen können.

---

**6 Abkürzungsverzeichnis**

In alphabetischer Reihenfolge:

Abb.	Abbildung
AK	Antikörper
BARK	$\beta$ -adrenergic Receptor Kinase
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CS	Citronensäure
CT	Computertomographie
DAB	Diaminobezidin
DPTA	Diethylentriamin-pentaacetat
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGF	Epidermal growth factor
Fa.	Firma
GH	Growth hormone, Somatotropin
GPCR	G-protein-coupled receptor
gr	Gramm
IGF	Insuline-like growth factor
In	Indium
m	männlich
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mRNA	Boten – Ribonukleinsäure (messenger ribonuclein-acid)
$\mu$ g	microgramm
PBS	Phosphatpuffer (Phosphate buffer solution)
PE Ca	Plattenpithelecarzinom
Phe	Phenol
RNA	Ribonukleinsäure (ribo-nuclein-acid)

SRS	Somatostatin Rezeptor Szintigraphie
SS	Somatostatin
SSTR 1-5	Somatostatinrezeptoren 1 bis 5
Tab.	Tabelle
TET	Thymic epithelial tumor
vgl.	vergleiche
w	weiblich
WHO	Weltgesundheitsorganisation (World Health Organisation)
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

---

**7 Literaturverzeichnis**

- Ballian, N., F. C. Brunicardi, et al. (2006). "Somatostatin and its receptors in the development of the endocrine pancreas." Pancreas **33**(1): 1-12.
- Benali, N., G. Ferjoux, et al. (2000). "Somatostatin receptors." Digestion **62 Suppl 1**: 27-32.
- Blunt, T., G. E. Taccioli, et al. (1995). "A YAC contig encompassing the XRCC5 (Ku80) DNA repair gene and complementation of defective cells by YAC protoplast fusion." Genomics **30**(2): 320-8.
- Brazeau, P. (1986). "Somatostatin: a peptide with unexpected physiologic activities." Am J Med **81**(6B): 8-13.
- Chen, G., A. Marx, et al. (2002). "New WHO histologic classification predicts prognosis of thymic epithelial tumors: a clinicopathologic study of 200 thymoma cases from China." Cancer **95**(2): 420-9.
- de Herder, W. W. and S. W. Lamberts (2002). "Somatostatin and somatostatin analogues: diagnostic and therapeutic uses." Curr Opin Oncol **14**(1): 53-7.
- Dournaud, P., H. Boudin, et al. (1998). "Interrelationships between somatostatin sst2A receptors and somatostatin-containing axons in rat brain: evidence for regulation of cell surface receptors by endogenous somatostatin." J Neurosci **18**(3): 1056-71.
- Ferjoux, G., C. Bousquet, et al. (2000). "Signal transduction of somatostatin receptors negatively controlling cell proliferation." J Physiol Paris **94**(3-4): 205-10.
- Ferone, D., P. M. van Hagen, et al. (2000). "Physiological and pathophysiological role of somatostatin receptors in the human thymus." Eur J Endocrinol **143 Suppl 1**: S27-34.
- Flyvbjerg, A. (2004). "The role of growth hormone in the pathogenesis of diabetic kidney disease." Pediatr Endocrinol Rev **1 Suppl 3**: 525-9.
- Geenen, V. and F. Brilot (2003). "Role of the thymus in the development of tolerance and autoimmunity towards the neuroendocrine system." Ann N Y Acad Sci **992**: 186-95.
- Guillermet-Guibert, J., H. Lahlou, et al. (2005). "Physiology of somatostatin receptors." J Endocrinol Invest **28**(11 Suppl): 5-9.
- Guyotat, J., J. Champier, et al. (2001). "Differential expression of somatostatin receptors in ependymoma: implications for diagnosis." Int J Cancer **95**(3): 144-51.
- Held-Feindt, J., B. Krisch, et al. (2000). "Somatostatin receptors in gliomas." J Physiol Paris **94**(3-4): 251-8.
- Hoffacker, V., A. Schultz, et al. (2000). "Thymomas alter the T-cell subset composition in the blood: a potential mechanism for thymoma-associated autoimmune disease." Blood **96**(12): 3872-9.

- Hofland, L. J., S. W. Lamberts, et al. (2003). "Crucial role for somatostatin receptor subtype 2 in determining the uptake of [<sup>111</sup>In-DTPA-D-Phe<sup>1</sup>]octreotide in somatostatin receptor-positive organs." J Nucl Med **44**(8): 1315-21.
- Jia, W. D., G. L. Xu, et al. (2003). "Octreotide acts as an antitumor angiogenesis compound and suppresses tumor growth in nude mice bearing human hepatocellular carcinoma xenografts." J Cancer Res Clin Oncol **129**(6): 327-34.
- Lardinois, D., R. Rechsteiner, et al. (2000). "Prognostic relevance of Masaoka and Muller-Hermelink classification in patients with thymic tumors." Ann Thorac Surg **69**(5): 1550-5.
- Lee, P. D., M. D. Jensen, et al. (1993). "Insulin-like growth factor-binding protein-1 response to insulin during suppression of endogenous insulin secretion." Metabolism **42**(4): 409-14.
- Lin, K., B. D. Nguyen, et al. (1999). "Somatostatin receptor scintigraphy and somatostatin therapy in the evaluation and treatment of malignant thymoma." Clin Nucl Med **24**(1): 24-8.
- Loehrer, P. J., Sr., W. Wang, et al. (2004). "Octreotide alone or with prednisone in patients with advanced thymoma and thymic carcinoma: an Eastern Cooperative Oncology Group Phase II Trial." J Clin Oncol **22**(2): 293-9.
- Losa, M., P. Mortini, et al. (2006). "Presurgical treatment with somatostatin analogs in patients with acromegaly: effects on the remission and complication rates." J Neurosurg **104**(6): 899-906.
- Lum, S. S., W. S. Fletcher, et al. (2001). "Distribution and functional significance of somatostatin receptors in malignant melanoma." World J Surg **25**(4): 407-12.
- Marienhagen, J., B. Schalke, et al. (1999). "Somatostatin receptor scintigraphy in thymoma imaging method and clinical application." Pathol Res Pract **195**(8): 575-81.
- Mawrin, C., S. Schulz, et al. (2005). "Expression and function of somatostatin receptors in peripheral nerve sheath tumors." J Neuropathol Exp Neurol **64**(12): 1080-8.
- Moon, H. J., J. S. Heo, et al. (2005). "The efficacy of the prophylactic use of octreotide after a pancreaticoduodenectomy." Yonsei Med J **46**(6): 788-93.
- Muller -Hermelink, H.K., Engel, P., et al. (2004). Tumours of the thymus: Introduction. World Health Organisation Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Thymus and Heart. M.D. Travis, E. Brambilla, H.K. Müller-Hermelink and C.C. Harris Lyon, IARC Press. **7**: 145-151.
- Muller-Hermelink, H. K. and A. Marx (2000). "Thymoma." Curr Opin Oncol **12**(5): 426-33.
- Mundschenk, J., N. Unger, et al. (2003). "Somatostatin receptor subtypes in human pheochromocytoma: subcellular expression pattern and



- functional relevance for octreotide scintigraphy." J Clin Endocrinol Metab **88**(11): 5150-7.
- Newman, C. B., S. Melmed, et al. (1998). "Octreotide as primary therapy for acromegaly." J Clin Endocrinol Metab **83**(9): 3034-40.
- Noe, B. D., D. J. Fletcher, et al. (1978). "Somatostatin biosynthesis occurs in pancreatic islets." Endocrinology **102**(6): 1675-85.
- Palmieri, G., S. Lastoria, et al. (1997). "Successful treatment of a patient with a thymoma and pure red-cell aplasia with octreotide and prednisone." N Engl J Med **336**(4): 263-5.
- Papotti, M., M. Bongiovanni, et al. (2002). "Expression of somatostatin receptor types 1-5 in 81 cases of gastrointestinal and pancreatic endocrine tumors. A correlative immunohistochemical and reverse-transcriptase polymerase chain reaction analysis." Virchows Arch **440**(5): 461-75.
- Parkinson, C., W. M. Drake, et al. (2002). "A comparison of the effects of pegvisomant and octreotide on glucose, insulin, gastrin, cholecystokinin, and pancreatic polypeptide responses to oral glucose and a standard mixed meal." J Clin Endocrinol Metab **87**(4): 1797-804.
- Patel, Y. C., M. T. Greenwood, et al. (1995). "The somatostatin receptor family." Life Sci **57**(13): 1249-65.
- Perez-Fidalgo, J. A., A. Oltra Ferrando, et al. (2006). "Primary carcinoid tumour of the pancreas." Clin Transl Oncol **8**(1): 54-6.
- Pfeiffer, M., T. Koch, et al. (2001). "Homo- and heterodimerization of somatostatin receptor subtypes. Inactivation of sst(3) receptor function by heterodimerization with sst(2A)." J Biol Chem **276**(17): 14027-36.
- Plockinger, U., M. Bader, et al. (1997). "Results of somatostatin receptor scintigraphy do not predict pituitary tumor volume- and hormone-response to octreotide therapy and do not correlate with tumor histology." Eur J Endocrinol **136**(4): 369-76.
- Reisine, T. and G. I. Bell (1995). "Molecular biology of somatostatin receptors." Endocr Rev **16**(4): 427-42.
- Reubi, J. C., J. C. Schaer, et al. (1997). "Distribution of somatostatin receptors in normal and neoplastic human tissues: recent advances and potential relevance." Yale J Biol Med **70**(5-6): 471-9.
- Savino, W. (2006). "The thymus is a common target organ in infectious diseases." PLoS Pathog **2**(6): e62.
- Schulz, S., J. Schmitt, et al. (1998). "Immunocytochemical detection of somatostatin receptors sst1, sst2A, sst2B, and sst3 in paraffin-embedded breast cancer tissue using subtype-specific antibodies." Clin Cancer Res **4**(9): 2047-52.
- Shulkes, A. (1994). "Somatostatin: physiology and clinical applications." Baillieres Clin Endocrinol Metab **8**(1): 215-36.
- Simson, J. A., J. Wang, et al. (1994). "Histopathology of lymphatic tissues in transgenic mice expressing human tissue kallikrein gene." Lab Invest **71**(5): 680-7.

- Strobel, P., A. Bauer, et al. (2004). "Tumor recurrence and survival in patients treated for thymomas and thymic squamous cell carcinomas: a retrospective analysis." J Clin Oncol **22**(8): 1501-9.
- Strobel, P., M. Helmreich, et al. (2002). "Paraneoplastic myasthenia gravis correlates with generation of mature naive CD4(+) T cells in thymomas." Blood **100**(1): 159-66.
- Taniyama, Y., T. Suzuki, et al. (2005). "Systemic distribution of somatostatin receptor subtypes in human: an immunohistochemical study." Endocr J **52**(5): 605-11.
- Tiseo, M., F. Monetti, et al. (2005). "CASE 1. Complete remission to corticosteroids in an octreotide-refractory thymoma." J Clin Oncol **23**(7): 1578-9.
- Woltering, E. A. (2003). "Development of targeted somatostatin-based antiangiogenic therapy: a review and future perspectives." Cancer Biother Radiopharm **18**(4): 601-9.

## **Danksagung**

Ich danke meinem Doktorvater Prof. Marx herzlich für die Bereitstellung des Themas, meinem Betreuer Priv.-Doz. Dr. med. Ströbel für die geduldige Begleitung, sowie Herrn Dr. med. Dr. med. dent. H. Grimaldi für die technische Unterstützung.

## **Lebenslauf**

geboren am 21.08.1979 in Nördlingen

Eltern: Kurt Jung, geb. 29.07.45, Kaufmann  
Petra Jung, geb. Hessler am 29.02.52, Hausfrau  
Schwester Barbara Jung, geb. am 21.11.82, Studentin

Ausbildung: Grund- und Hauptschule Oettingen 1986 – 1990  
Albrecht Ernst Gymnasium Oettingen 1990 – 1997  
Röntgen Gymnasium Würzburg 1997 - 1999  
Abitur Juni 1999 am Röntgen Gymnasium Würzburg

Studium: Oktober 1999 – April 2006 Medizinstudium an der Universität  
Würzburg  
3. Staatsexamen im April 2006

seit April 2006 Zahnmedizinstudium an der Universität Würzburg