

Aus dem Pathologischen Institut  
der Universität Würzburg  
Vorstand: Professor Dr. med. A. Rosenwald

**Immunhistochemische Färbungen zur Charakterisierung  
tumorspezifischer Antigene mittels humaner  
monoklonaler Antikörper**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Daniela Metzen

aus Iserlohn

Würzburg Juni 2010

**Referent:** Prof. Dr. med A. Rosenwald

**Koreferent:**  
Prof. Dr. med. Dr. med dent. A. Kübler

**Dekan:** Prof. Dr. M. Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung:**

21.09.2010

**Die Promovendin ist Ärztin**

Meinen Eltern

Im Gedenken an  
Prof. Dr. Dr. H. P. Vollmers

Seine Ideen, sein Lebenswerk



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
1.1	NATÜRLICHE IMMUNITÄT UND TUMORABWEHR	1
1.2	MONOKLONALE ANTIKÖPER	3
1.3	ANTI-KÖRPER PAM-1	7
1.4	ANTI-KÖRPER LM-1	10
1.5	DAS COLORECTALE CARCINOM	11
1.6	DAS BRONCHIALCARCINOM	14
1.7	DAS PANCREASCARCINOM	17
1.8	ZIEL DER ARBEIT	19
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>20</b>
2.1	MATERIALIEN	20
2.1.1	<i>Bezugsquellen der verwendeten Verbrauchsmittel</i>	20
2.1.2	<i>Geräte</i>	21
2.1.3	<i>Hard- und Software</i>	22
2.1.4	<i>Lösungen, Puffer</i>	22
2.2	IMMUNHISTOCHEMISCHE METHODEN	24
2.2.1	<i>Herstellung von Paraffinschnitten</i>	24
2.2.2	<i>Immunperoxidase-Färbung von Paraffinschnitten mit Antikörpern</i>	24
2.2.3	<i>Verwendete Antikörper für Immunperoxidase-Färbungen</i>	25
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>27</b>
3.1	ÜBERSICHT DER ERGEBNISSE	27
3.2	DIE ANTI-KÖRPER PAM-1 UND LM-1	27
3.2.1	<i>Expression von CFR-1/PAM-1 und des LM-1-Rezeptors auf gesundem Gewebe</i>	28
3.2.2	<i>LM-1 und PAM-1 auf Gewebe von Colonicarcinomen</i>	30
3.2.3	<i>LM-1 und PAM-1 auf Geweben von Adenocarcinomen der Lunge</i>	35
3.2.4	<i>LM-1 und PAM-1 auf Geweben von Plattenepithelcarcinomen der Lunge</i>	39
3.2.5	<i>LM-1 und PAM-1 auf Geweben von Pancreascarcinomen</i>	43
3.3	ERGEBNISSBEWERTUNG MIT BEZUG ZU KLINISCHEN TUMORSTADIEN	48
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>52</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>58</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>59</b>
6.1	VERWENDETE LITERATUR	59

<b>7</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>79</b>
7.1	TABELLE 9.....	79
7.2	TABELLE 10.....	85
7.3	TABELLE 11.....	89
7.4	TABELLE 12.....	93

## **1. Einleitung**

### **1.1 Natürliche Immunität und Tumorabwehr**

Zu Beginn der malignen Transformation beschreibt die Initiation die Entstehung eines genetischen Schadens. Solange solche Alterationen nicht an Tochterzellen weitergegeben werden, können verschiedene Reparatursysteme effektiv eingreifen. Bei der Promotion beginnen initiierte Zellen zu proliferieren, der Genschaden wird etabliert. Im Rahmen der Progression vollzieht sich der irreversible Übergang zur neoplastischen Zelle, von der die klonale Expansion zum Tumor ausgeht; mit zunehmender Entdifferenzierung lösen sich einzelne Zellen aus ihrem Verband und leiten die Metastasierung ein. (Riede/Schäfer et al., 1999)

Bevor es dazu kommt, setzt unser Organismus einige potente „Waffen“ ein. Der natürliche, angeborene Teil unseres Immunsystems ist in der Lage, solche alterierten Zellen zu erkennen und zu eliminieren, so, wie dies auch bei Bakterien und anderen infektiösen Partikeln der Fall ist (Janeway, 1989; Vollmers et al., 1989). Es stellt sich dabei eher die Frage, warum und wann es zur Entwicklung eines manifesten Tumors kommt, wenn man bedenkt, dass Zeit unseres Lebens permanent entartete Zellen in unserem Körper entstehen, die durch unser Immunsystem unschädlich gemacht werden.

Natürliche Antikörper sind nicht affinitätsgerichtet und keimbahnkodiert, das heißt, deren VH-Region ist in nicht oder kaum mutierten Keimbahngenen kodiert; eine somatische Mutation hat also nicht stattgefunden. Sie gehören meist zur Klasse der IgM-Antikörper und sind in der Lage bestimmte Strukturen wie Phospholipide oder Kohlenhydrate zu erkennen. Mehrere solcher Antikörper konnten bisher mit Hilfe der humanen Hybridomatechnologie aus von Tumorpatienten entnommenem Material isoliert werden, wie u.a. PAM-1, LM-1 und SC-1 (Hensel et al., 1999a und 2001a; Brändlein et al., 2002 und 2003a und 2004b).

Die molekulargenetischen Mechanismen von Erkennung und Beseitigung transformierter Zellen bleiben bisher weitestgehend unklar (Medzhitov, 2001; Bohn, 1999). Man geht von zwei verschiedenen Strategien aus, mit denen es Antikörpern möglich ist entartete und beschädigte Zellen zu eliminieren. Zum einen ist die Erkennung des „missing-self“ – fehlende oder herunterregulierte Moleküle auf der

Oberfläche gesunder Zellen – dafür verantwortlich, dass hemmende Signale entfallen und Natürliche Killerzellen aktiviert werden (Medzhitov and Janeway, 1997). Auf der anderen Seite können Marker des „abnormen Selbst“ auf betroffenen Zellen von Antikörpern erkannt werden.

Haben Antikörper an solche Antigene auf der Tumorzelloberfläche gebunden, induzieren sie deren Opsonisierung und die „complement- und antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity“ (CDC und ADCC), also die Lyse der Tumorzelle (Bohn, 1999). Doch der bei Weitem schnellste und sauberste Weg, Zellen zu eliminieren, ist der programmierte Zelltod. Natürliche Antikörper sind in der Lage in einer Tumorzelle Apoptose auszulösen. Dies ist u.a. bei PAM-1, wie später weiter beschrieben (Brändlein et al., 2004b), und bei SC-1 – einem natürlichen IgM-Antikörper - vermittelt über den CD55/DAF-Rezeptor in vitro und in vivo der Fall (Vollmers et al., 1995, 1998a und 1998b; Hensel et al., 1999b und 2001b).

Neben T-Zellen, Natürlichen Killerzellen und Makrophagen sind also auch B-Zellen mit der Sekretion nicht affinitätsgereifter, keimbahnkodierter Antikörper ohne vorherige Aktivierung oder Selektion maßgeblich an der körpereigenen Tumormunität beteiligt. Diese natürlichen tumorspezifischen IgM-Antikörper können sowohl bei erkrankten, als auch bei gesunden Personen gefunden werden und sorgen durch ihre schnelle Verfügbarkeit und prompte Effektivität dafür, dass unser Organismus nicht schon in jungen Jahren von transformierten Zellen überschwemmt wird. Natürliche Immunität spielt somit eine bedeutende Rolle in der Erkennung und der primären Abwehr maligner Zellen (Brändlein et al., 2003b; Brändlein et al., 2004).



## 1.2 Monoklonale Antikörper

In den letzten Jahren hat sich die Idee monoklonale Antikörper als therapeutisches Mittel einzusetzen in der Medizin immer mehr durchgesetzt. Viele werden gegenwärtig erfolgreich in der Therapie verschiedenster Erkrankungen eingesetzt und weit mehr befinden sich in Erprobung oder bereits in fortgeschrittenen Phasen der Zulassungsverfahren (Gura, 2002; Borchmann et al., 2001; Breedveld, 2000; Glennie, Johnson, 2000).

Schon vor über 100 Jahren beschäftigte sich Paul Ehrlich mit dem Gedanken, das dem Menschen eigene Immunsystem mit seinen Antikörpern therapeutisch nutzbar zu machen. Den Durchbruch dazu brachte die Entwicklung der Hybridomatechnologie durch Köhler und Milstein 1975, wobei antikörperproduzierende, immortalisierte Zellklone mittels Fusion von B-Lymphozyten mit Myelomzelllinien geschaffen werden konnten.

Es gelang erste murine Antikörper aus immunisierten Mäusen herzustellen. Diese zeigten sich jedoch nur begrenzt therapeutisch einsetzbar, da sie aufgrund ihrer xenogenen Struktur den menschlichen Organismus zur Bildung von Antikörpern, den human anti-mouse antibodies (HAMA), brachten. Der HAMA-Effekt führt durch die Eliminierung der murinen Antikörper zu einer verkürzten Halbwertszeit mit einer notwendigen Dosissteigerung und bedeutet zusätzlich ein erhöhtes Risiko für Patienten, da nach mehrmaliger Applikation anaphylaktische Reaktionen bis hin zum Schock auftreten können (Khazaeli et al., 1994). Dieses führte zur Weiterentwicklung und Verbesserung der Antikörpermoleküle. Mit Hilfe gentechnischer Methoden wurde der murine F<sub>c</sub>-Teil durch einen humanen ersetzt; man spricht von chimären Antikörpern. Werden zusätzlich Teile des F<sub>ab</sub>-Fragmentes durch humane Aminosäuresequenzen ausgetauscht, bezeichnet man diese als humanisierte Antikörper (Borchmann et al., 2001); es sind nur noch die spezifischen Anteile der Antigenbindungsstelle murinen Ursprungs. Dadurch kann die exakte Struktur des Antikörpers jedoch so verändert werden, dass es zum Verlust von Affinität und Spezifität kommt (Clark, 2000; Winter, Harris, 1993). Klinisch zeigen diese Mensch-Maus-Hybride, wie z. B. Rituximab (Mabthera<sup>®</sup>) oder Trastuzumab (Herceptin<sup>®</sup>), eine geringere Immunogenität und eine längere Halbwertszeit (Lo Buglio et al., 1989; von Mehren et al., 1996 und 2003). Die restlichen murinen Anteile sind aber noch in der Lage eine HAMA-Immunantwort zu

triggern (Vollmers, Brändlein, 2002; von Mehren et al., 2003). Rein humane Antikörper stellen folglich die ideale Lösung für therapeutische Ansätze dar.

Eine Methode diese herzustellen ist die „phage display“, bei der Antikörperfragmente in Bakterien exprimiert werden und Phagenbanken die Selektion humaner Antikörper gegen eine große Anzahl von Antigenen ermöglichen, wenn diese bereits bekannt sind (Marks et al., 1991; Griffith et al., 1998; Boel et al., 2000).

Eine andere Möglichkeit bietet die Immunisierung transgener bzw. transchromosomaler Mäuse („humAb-mouse“), bei denen humane, immunglobulinkodierende DNS-Sequenzen in die eigentliche DNS integriert werden, um rein humane Antikörper zu produzieren (Vaughan et al., 1998; Tomizuka et al., 2000).

Letztendlich sind wir in der Lage durch somatische Hybridisierung von humanen B-Lymphozyten mit einer Heteromyelomzelle immortalisierte, antikörperproduzierende Zellklone zu schaffen. Mit diesem Verfahren gelang es Vollmers et al. 1989 den rein humanen monoklonalen Antikörper SC-1 aus Gewebe eines Magencarcinompatienten zu isolieren. Mehrere Studien zeigten bisher dessen Spezifität und Eignung als adjuvantes therapeutisches Mittel (Vollmers et al., 1995, 2000). Neben der Produktion der Antikörper ist ein weiterer großer Vorteil dieser Methode die Möglichkeit neue Tumorantigene charakterisieren zu können, wie es bereits bei dem später beschriebenen Antikörper PAM-1 gelungen ist.

Bei der Anwendung monoklonaler Antikörper in der Therapie stehen uns verschiedene Wege offen. Da gibt es deren natürliche Wirksamkeit der Antigenerkennung mit Komplementaktivierung, Opsonisierung oder Apoptoseeinleitung, wie es unter anderem bei Trastuzumab (Herceptin<sup>®</sup>) Her-2/neu - vermittelt in der Therapie von Mammacarcinomen oder bei SC-1 gegen Magencarcinome (Vollmers et al., 1998a und 1998b; Hensel et al., 1999b und 2001b) der Fall ist.

Desweiteren haben sich in den letzten Jahren mehrere Antikörper etabliert, deren Strategie in der Bindung und meist Blockade spezifischer Rezeptoren oder Moleküle besteht. Ein Beispiel ist Infliximab (Remicade<sup>®</sup>), ein chimärer Antikörper gegen TNF- $\alpha$ , der Entzündungsprozesse unterbricht. Er wird in der Therapie des M. Crohn und der rheumatoiden Arthritis angewendet (Markham, Lamb, 2000). Ähnlich wirkt

Natalizumab (Antegren<sup>®</sup>), ein  $\alpha$ 4-Integrin-bindender monoklonaler Antikörper, der sich im Zulassungsverfahren der FDA zur Therapie von M. Crohn und der Multiplen Sklerose befindet. Dabei wird die  $\alpha$ 4-Integrin-vermittelte Leukozytenmigration verhindert und so ebenfalls der Entzündungsprozess gehemmt (Adis International limited, 2004; Rudick et al., 2004; Rice et al., 2005). Längst etabliert hat sich Abciximab (ReoPro<sup>®</sup>), das durch die Blockade des GPIIIa/IIb-Rezeptors auf Thrombozyten die Bildung von Thromben verhindert und zur koronaren Revaskularisation eingesetzt wird (Borchmann et. al., 2001).

Andererseits bieten Antikörper die Option als Träger für verschiedene therapeutische Mittel zu fungieren, um diese gezielt an ihren Bestimmungsort zu transportieren. Eine Möglichkeit sind Radioimmunkonjugate, also Antikörper, die ein radioaktives Isotop tragen. Ein Beispiel ist das mit Jod-131 gekoppelte, gegen CD-20 gerichtete Tositumomab (Bexxar<sup>®</sup>), welches 2003 von der FDA zur NHL-Therapie zugelassen wurde (Davies, 2004). Aber auch Kombinationen aus Antikörpern mit Immuntoxinen oder Zytostatika haben sich etabliert. Zum Beispiel ist Gemtuzumab-Zogamicin (Mylotarg<sup>®</sup>) ein Zytostaseimmunkonjugat in der Therapie der AML (Imaizumi, 2004). Diese Strategie bietet den entscheidenden Vorteil, dass nebenwirkungsreiche Therapeutika zielgenau eingesetzt werden können, wodurch die systemische Toxizität minimiert wird (Trail, Bianchi, 1999).

Bispezifische Antikörper sind ein weiteres Prinzip, wobei ein Molekül zwei verschiedene Antigenbindungsstellen aufweist, von denen eine an das z.B. tumorassoziierte Zielantigen, die andere den F<sub>c</sub>-Rezeptor auf einer Immuneffektorzelle bindet, wodurch die Zellyse ausgelöst werden kann (von Mehren et al., 2003). Aktuellere Weiterentwicklungen, zeigen an in vitro Untersuchungen, als auch ersten klinischen Studien vielversprechende Ergebnisse, die möglicherweise manch monoklonalen Antikörper in Bezug auf dessen Effektivität in der onkologischen Therapie überflügeln könnten (Chames et. al., 2009). So scheint ein rekombinanter, humanisierter bispezifischer Antikörper, welcher an dasselbe Antigen des EGF-Rezeptors bindet wie auch Cetuximab, sich in Untersuchungen an ausgewählten Zelllinien, dem bislang eingesetzten monoklonalen Antikörper Cetuximab (Erbix<sup>®</sup>) bezüglich der Wachstumsheftung überlegen zu sein (Asano et. al., 2008).

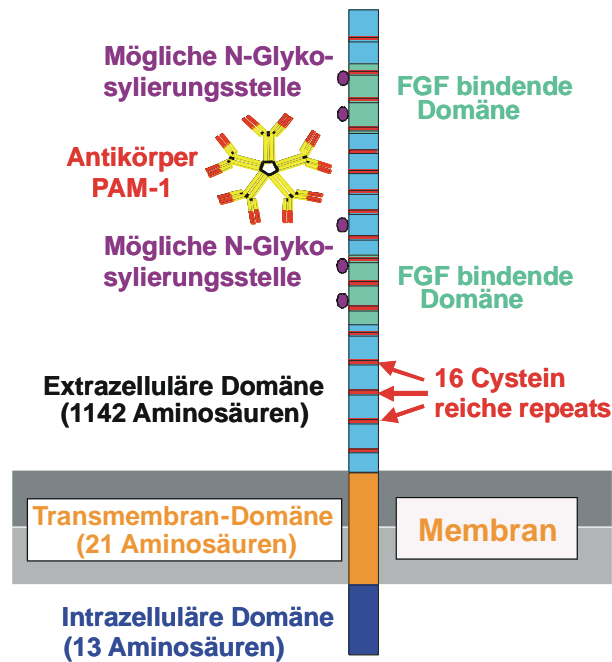
Mittlerweile gibt es vielfältige antikörperbasierte Therapiekonzepte in der modernen Medizin, die vor allem in der Tumorthherapie immer mehr an Bedeutung gewonnen haben. Einige Antikörper werden jetzt schon geraume Zeit erfolgreich eingesetzt, aber viele andere sind noch in der Erprobung als adjuvante oder sogar first-line Therapeutika, um ihren Wert zur Verbesserung der Lebensqualität und der Lebensverlängerung unter Beweis zu stellen.

Wir haben hier zusätzlich die Möglichkeit, mit monoklonalen Antikörpern, die durch somatische Hybridisierung geschaffen wurden, neue tumorassoziierte Antigene zu identifizieren, diese zu beschreiben und weitere Aufschlüsse über die Tumorbiologie zu erhalten. Damit sind sie ein wertvolles Mittel für Diagnostik und Prävention, bieten aber auch der Forschung wichtige Grundlegende Erkenntnisse, mit deren Hilfe sich möglicherweise Angriffspunkte für neue Behandlungskonzepte erschliessen lassen.

### 1.3 Antikörper PAM-1

Der rein humane IgM-Antikörper PAM-1 (Klon 103/51) konnte mittels Hybridoma Technologie aus einem Patienten mit Magenkarzinom isoliert werden, indem man dessen Milzzellen mit dem Heteromyelom HAB-1 fusionierte (Vollmers et al., 1994). PAM-1 ist ein IgM/ $\lambda$ -Antikörper, der von einem nicht mutierten DP-49 Gen der VH<sub>3</sub>-Familie (IgHV3-30/3.30.5\*01) codiert wird, also zur Gruppe der natürlichen Antikörper gezählt werden kann (Hensel et al., 1999b; Hensel et al., 2001a). Die Homologie zur Keimbahn-Sequenz der schweren Immunglobulinkette beträgt 100%. Die leichte  $\lambda$ -Immunglobulinkette weist drei Aminosäureaustausch-Mutationen in der framework region und eine stille Mutation in der complement-determining region auf. Die Homologie zum Keimbahn-Gen (IGLV3-1\*01) beträgt hier 98,7%.

Im Falle von PAM-1 konnte das korrespondierende Antigen identifiziert werden. Der Antikörper bindet an einen Carbohydratrest eines 130 kDa schweren Membranmoleküls. Dabei handelt es sich um eine modifizierte Form des CFR-1 Rezeptors (Cystein-rich fibroblast growth factor receptor 1), welcher ausschließlich auf erkrankten Geweben - insbesondere auf prämaligen und malignen epithelialen Tumoren - exprimiert wird. Eine Expression auf gesunden Zellen zeigte sich bei keinem der untersuchten Normalgewebe (Hensel et al., 2001a, Brändlein et al., 2003). CFR-1 wurde zuerst in Hühnerfibroblasten als ein FGF-bindendes Molekül identifiziert (Burrus et al., 1992). Lokalisiert werden konnte es auch im Golgi-Apparat von CHO-Zellen. CFR-1, ein multifunktionales Protein, ist homolog zu MG 160 und ESL-1 (E-selectin ligand 1). MG 160 ist ein Golgi-spezifisches Protein in Ratten, welches an Verarbeitung und Sekretion von Wachstumsfaktoren beteiligt ist (Gonatas et al., 1989; Stieber et al., 1995; Zuber et al., 1997; Gonatas et al., 1998). Ebenso wurde MG 160 auch in Pankreaskarzinomen nachgewiesen (Crnogorac-Jurcevic et al., 2001). Bei ESL-1 handelt es sich um ein humanes Zytokin, das auf Myeloid- und einigen Lymphomzellen exprimiert wird. Es wird durch Zelladhäsionsmoleküle moduliert, welche die Bindung von neutrophilen Granulozyten an das Endothel vermitteln (Steggmaier et al., 1995 und 1997). Bei dem Rezeptor von PAM-1 (Klon 103/51) handelt es sich um eine neue, bisher nicht beschriebene Isoform von CFR-1 (Hensel et al., 2001a).



- Integrales Membran-Glykoprotein
- Molekulargewicht 130 kDa
- Neue Variante von CFR-1

Abb. 1: CFR-1/PAM-1 Rezeptor

Wie mehrere Voruntersuchungen zeigen, wird der CFR-1/PAM-1 Rezeptor auf einer Vielzahl epithelialer Tumoren exprimiert, nicht jedoch auf gesunden Zellen. Zu den Tumoren, die durch den Antikörper PAM-1 spezifisch erkannt werden, gehören das Adenocarcinom von Colon, Mamma, Lunge, Magen und Prostata. Aber auch Carcinome des Pancreas, des Ösophagus, der Cervix uteri, der Ovarien, sowie der Leber werden erkannt. Zudem exprimieren Plattenepithelcarcinome von Lunge, Ösophagus und der Cervix uteri den CFR-1/PAM-1 Rezeptor. Desweiteren ist es bislang gelungen, bei Versuchen mit PAM-1 nachzuweisen, daß er in der Lage ist sowohl in vitro an ausgewählten Tumorzelllinien, als auch als fragmentierter Antikörper im Tierversuch in vivo Apoptose auszulösen und somit eine eigenständige therapeutische Aktivität gegen malignen Zellen auslösen zu können. (Vollmers et al., 1994; Hensel et al., 1999b; Hensel

et al., 2001a; Brändlein et al., 2003a und 2004b; Vollmers und Brändlein, 2006, 2007, 2009)

Die Tumorspezifität und die bereits nachgewiesene Fähigkeit zur Apoptoseinduktion von PAM-1 gibt Grund zur Annahme, dass auch dieser Antikörper Möglichkeiten für Diagnose und Therapie maligner Erkrankungen bieten wird.

#### 1.4 Antikörper LM-1

Der rein humane monoklonale Antikörper LM-1 (Klon L11/64-28) konnte ebenfalls mit Hilfe der Hybridomatechnologie aus Lymphknotenmaterial eines an einem Adenocarcinom der Lunge (T<sub>2</sub>, N<sub>1</sub>, G<sub>3</sub>) erkrankten Patienten gewonnen werden.

LM-1 gehört - ebenso wie PAM-1 - der Klasse IgM/ $\lambda$ -Immunglobuline an. In der Sequenzanalyse der variablen Region der schweren Kette des Antikörpers zeigte sich, dass LM-1 von einem nur gering mutierten Gen der Familie VH<sub>4</sub> (IGHV4-30.1/4-31\*01) kodiert wird. Mit einer Homologie von 99,6% zur Keimbahn-Sequenz bei einer geringen R/S-Ratio in der framework region und in der complement-determining region liegt auch hier der Schluss nahe, dass LM-1 zu den nicht affinitätsgereiften, natürlichen Antikörpern gehört.

Das mit LM-1 korrespondierende Antigen wurde bisher noch nicht weiter charakterisiert. Es konnte allerdings in Western Blot-Analysen gezeigt werden, dass LM-1 eine starke Reaktion mit einem einzelnen Antigen aus der Carcinomzelllinie LOU-NH91 bei ca. 70 kDa aufweist.

Weiterhin wurde bisher eine breite Reaktivität von LM-1 auf verschiedenen Tumoren nachgewiesen. So zeigte sich eine positive Färbung mit Adenocarcinomen bei Magen, Colon, Pancreas, Prostata, Ovar und Uterus, bei Adeno- und Plattenepithelcarcinomen der Lunge, Urothelcarcinomen der Harnblase, Nierenzellcarcinomen, invasiven ductalen und lobulären Mammacarcinomen und Plattenepithelcarcinomen des Ösophagus. Auch konnte gezeigt werden, dass LM-1 auf verschiedensten Normalgeweben – Magen, Colon, Lunge, Ösophagus, Schilddrüse, Harnblase, Niere, Prostata, Hoden, Mamma – keine positive Reaktion aufwies. Desweiteren ist es bereits gelungen nachzuweisen, daß LM-1 bei in vitro Untersuchungen die Fähigkeit besitzt, an ausgesuchten Zelllinien Apoptose auszulösen, was auf eine zukünftige therapeutische Einsatzmöglichkeit hindeutet. LM-1 zeigte somit bisher eine reine Tumorspezifität in Bezug auf sein korrespondierendes Antigen, sowie die Fähigkeit zumindest in vitro Apoptose auszulösen – also ideale Eigenschaften eines für Diagnose und Therapie maligner Erkrankungen geeigneten Antikörpers. (Brändlein et al., 2002; Brändlein et al., 2003a; ; Brändlein et al., 2004b)



## 1.5 Das colorectale Carcinom

Darmkrebs umfasst Krebserkrankungen von Dickdarm, Mastdarm und Anus. Im Jahr 2006 stand dieser für beide Geschlechter mit einer Mortalitätsrate zwischen 12 und 16% an zweiter bzw. dritter Stelle der Krebstodesursachenstatistik in Deutschland. Der Altersgipfel liegt in der 6. und 7. Lebensdekade. Den Neuerkrankungszahlen des Jahres 2004 zufolge wurde bei rund 73.000 Menschen, entsprechend einer Inzidenz von 16-17% aller malignen Neuerkrankungen in Deutschland, Darmkrebs festgestellt (dkfz Heidelberg, 2006; „Krebs in Deutschland 2003-2004. Häufigkeiten und Trends“, 2008).

Die Karzinogenese der Colonicarcinome ist ein multifaktorielles Geschehen. Risikofaktoren sind colorektale Adenome, hoher Konsum tierischer Fette und rotem, gebratenem Fleisches, aber auch Bewegungsmangel scheint eine ursächliche Bedeutung zu haben (Willett et al., 1990; Gerhardsson De Verdier et al., 1990, 1991; Longnecker et al., 1995; Emmrich et al., 1999; Voskuil et al., 2002; Fung et al., 2003; Lee, 2003; Wie et al., 2004; Schmiegel et al. 2008). Bis zu 7% der colorektalen Carcinome sind auf hereditäre Syndrome zurückzuführen (Pistorius et al., 2000). Der autosomal-dominant vererbten HNPCC liegt der Ausfall von DNA-mismatch-repair-Enzyme (hMSH-2 und hMLH-1) zugrunde (Stern et al., 1998). Auch die autosomal-dominante FAP, mit einer Mutation des APC-Gens (van der Luijt et al., 2000; Stern et al., 1998), gilt als obligate Präkanzerose. Desweiteren neigen Patienten mit M. Crohn oder Colitis ulcerosa dazu, colorektale Carcinome zu entwickeln (Gillen et al., 1994; Mellekjær et al., 1995; Schmiegel et al., 2008). Dabei bestimmen Manifestationsalter, Dauer und Ausdehnung der Erkrankung das Risiko (von Herbay et al., 1999; Herfarth et al., 1998).

Die Adenom-Carcinom-Sequenz gilt als wahrscheinliche Pathogenese (Kronborg, 2000). Maligne Tumoren entwickeln sich aus primär gutartigen epithelialen Läsionen, die als präkanzerös eingestuft werden müssen (Cummings, 2000; Scheiden et al., 2000; Wehrmann et al., 2000). Gestützt wird dies durch paralleles Auftreten von Adenomen und Carcinomen, sowie dem Nachweis von Adenomresten in Carcinomen (Bedenne et al., 1992; Scheiden et al., 2000). Molekulargenetisch zeigt sich ein Vielstufenprozeß mit kumulativen Alterationen und Verlusten von Genen, welche Zellteilung, Apoptose und DNA-Reparatur kontrollieren (Rafter et al., 1998), der zur Entstehung des Carcinoms führt (Cho et al., 1992; Stern et al., 1998; Vogelstein et al., 1988).

Die WHO-Klassifikation beschreibt 8 histologische Typen: das Adenocarcinom, die Mehrzahl der Tumoren (Held-Warmkessel, 1998), muzinöse Adenocarcinome, Siegelringzellcarcinome, kleinzellige, squamöse, adenosquamöse, medulläre, sowie undifferenzierte Carcinome.

Das Staging erfolgt mit Hilfe der TNM-Klassifikation oder der modifizierten Klassifikation nach Dukes von 1932. Beide beschreiben Ausdehnung des Primärtumors, Lymphknotenstatus und Fernmetastasierung.

Die Metastasierung erfolgt bevorzugt lymphogen oder hämatogen und betrifft zuerst die Leber, später folgen unter anderem Lunge und Skelett (Mizuno et al., 1998; Horton et al., 2000; Mezger et al., 1997). Die Wahrscheinlichkeit der Metastasierung steigt mit dem TNM-Stadium, sowie dem Grading des Tumors (Okabe et al., 1998). Bei Durchbruch der Lamina muscularis mucosae ist mit Lymphknotenmetastasen zu rechnen (Mitooka, 2000).

Colorektale Carcinome können lange klinisch stumm bleiben oder uncharakteristische Symptome verursachen. Die Befunde reichen von Veränderungen der Stuhlgewohnheiten bis hin zu abdominellen Schmerzen, Erbrechen, rektalen Blutabgängen und Eisenmangelanämie (Colecchia et al., 1999; Mezger et al., 1997; Sanner et al., 1997; Ho et al., 1998). Als schwere Komplikationen treten unter anderem ein Ileus oder Perforationen mit Peritonitis auf (Chen et al., 2000; Iarumov et al., 1999; Maurer et al., 1998).

Da sich colorektale Carcinome in der Mehrzahl der Fälle aus adenomatösen Vorläufern entwickeln, kann die Coloskopie mit Polypektomie entscheidend zur Senkung von Inzidenz und Mortalität, sowie zur Verbesserung der Prognose beitragen (Declan Fleming, 1998; Held-Warmkessel, 1998; Mueller et al., 1999; Truninger et al., 2000; Imperiale et al., 2002) und ist damit ein effektives Mittel der Prävention (Markowitz et al., 1999; Porschen et al., 1998; Wehrmann et al., 2000). Beim Screening stehen digital-rektale Untersuchungen, Tests auf okkultes Blut im Stuhl sowie endoskopische und röntgenologische Verfahren (Declan Fleming, 1998; Held-Warmkessel, 1998; Truninger et al., 2000; Levine et al., 2000; Schmeigel et al., 2008) zur Auswahl.

Therapie der Wahl ist die radikale Resektion des Primärtumors und dessen Lymphabflußgebietes (Meyer, 1997, Schmeigel et al., 2008). Ein Großteil der Patienten

kann in kurativer Absicht behandelt werden (Weitz et al., 1998). Unter adjuvanten Therapieansätzen spielt insbesondere die Chemotherapie mit 5-FU kombiniert mit Folinsäure oder Methotrexat und Oxaliplatin eine wichtige Rolle (Bokemeyer et al., 1997; Macdonald, 1999; de Gramont et al., 2007). Palliative Optionen sind Laserevaporisation, Kryochirurgie oder endoskopische Stentimplantation (De Palma et al., 1996; Desroches et al., 1999; Meijer et al., 1999; Law et al., 2000). Die kumulierten relativen 5-JÜR liegen inzwischen bei 60% („Krebs in Deutschland 2003-2004. Häufigkeiten und Trends“, 2008) Immuntherapeutische Strategien werden diskutiert. Riethmüller et al. zeigten 1998, dass nach der Behandlung mit dem murinen monoklonalen Antikörper 17-1A (Edrecolomab, Panorex®), der gegen das auf normalen und auf entarteten Zellen exprimierte epitheliale Glykoprotein 40 (Ep-CAM) gerichtet ist (Litvinov et al., 1994), bei Patienten mit reseziertem colorektalem Carcinom (Dukes C) eine Abnahme der Mortalität und der Rezidivrate zu verzeichnen war. Der Vertrieb dieses seit 1994 in Deutschland zur postoperativen adjuvanten Therapie des colorektalen Carcinoms im Stadium Dukes C zugelassenen Antikörpers musste jedoch im August 2000 eingestellt werden, da sich die Monotherapie mit Panorex® in einer internationalen Phase-III-Studie der Standardchemotherapie mit 5-FU/Folinsäure unterlegen gezeigt hatte (Pressemitteilung Glaxo Wellcome/Centocor, 2000). Jedoch beweisen sich aktuell die beiden monoklonalen Antikörper Bevacizumab und Cetuximab in einigen Studien v.a. in Kombination mit herkömmlichen Chemotherapieschemata als vorteilhaft (Kabbavar et al., 2005; Folprecht et al., 2006; Van Cutsem et al., 2008; Schmeigel et al., 2008)

## 1.6 Das Bronchialcarcinom

Der Lungenkrebs gehört weltweit zu den häufigsten Krebsformen. Mit 26,% der Gesamtmortalität war das Bronchialcarcinom 2006 in Deutschland die häufigste Krebstodesursache bei Männern, bei Frauen mit 14,2% an zweiter Stelle. Das mittlere Erkrankungsalter liegt im Ende der 6. Lebensdekade. Den geschätzten Neuerkrankungszahlen in Deutschland zufolge, gehört der Lungenkrebs im Jahr 2004 mit ca. 45 000 neuen Fällen jährlich zu den 3 häufigsten Krebsformen. (dkfz Heidelberg, 2006; „Krebs in Deutschland 2003-2004. Häufigkeiten und Trends“,2008)

Der wichtigste Risikofaktor ist das Tabakrauchen. 87% der Lungenkrebserkrankungen bei Männern und 56% bei Frauen sind darauf zurückzuführen (Jöckel et al., 1995). Dabei ist das Risiko abhängig von der Zeit, die man im Leben raucht, vom Alter des Konsumbeginns (IARC 1986), und von der Anzahl der täglich gerauchten Zigaretten (Doll, Peto 1976). Für das Passivrauchen hat sich ebenfalls ein deutlich erhöhtes Risiko gezeigt (Becher, Wahrendorf 1994; Brennan, 2004). In Kombination mit der Schadstoffbelastung in der Außenluft multipliziert sich das Risiko um ein vielfaches (Hemminki, Pershagen 1994; Gustavsson, 2002). Auch für berufliche Expositionen wurde ein erhöhtes Lungenkrebsrisiko nachgewiesen (Jöckel et al. 1995). Das bekannteste Karzinogen ist Asbest (IARC 1977). Daneben sind Tätigkeiten in Kohlegas- und Koksherstellung und Gießereien von Bedeutung, sowie die Exposition gegenüber Arsen, Chrom, Nickel, polyzyklischen Kohlenwasserstoffen, Dieselabgasen (Bofetta et al. 1995; Becker et al. 1996) und ionisierender Strahlung (Preston et al.1987; IARC 1988).

Eine genetische Disposition scheint sich beim Plattenepithelcarcinom bei Frauen durch eine familiäre Häufung anzudeuten, jedoch sind bisher keine vererbaren Faktoren bekannt. Auch deren Bedeutung für die Karzinogenese und der quantitativer Anteil an Lungenkrebs, für den ererbte Faktoren verantwortlich sind, wurden bisher nicht geklärt. (Berchtold et al., 2001; Osann 1991; dkfz Heidelberg, 2004)

Auf molekularer Ebene weiß man von verschiedenen chromosomalen, karzinogeninitiierter Veränderungen, z.B. Allelverluste auf Chromosom 3p14 – betreffend Rezeptoren für Differenzierungsfaktoren wie Thyroxin und Retinsäure - und auf Chromosom 9q21, 13q und 17p13 mit dem Verlust der Tumorsuppressorgene p16,

Rb und p53. Weiterhin kennt man die Aktivierung von Onkogenen der ras- und myc-Familie und viral getriggerte Veränderungen, die eine mögliche Ursache darstellen. (Berchtold et al., 2001 ; Buchhagen, 1991; Mao et al., 1997; Sasaki, 2003)

Bei den Bronchialcarcinomen unterscheidet man Kleinzeller (SCLC) von den nicht kleinzelligen Carcinomen (NSCLC). Diese Einteilung ist im Bezug auf biologisches Verhalten und Therapierbarkeit sinnvoll. Man differenziert Plattenepithelcarcinome (35-40%), Adeno-carcinome (25-30%), SCLC (20-25%), großzellige Carcinome (10%) und seltenere Entitäten (5%) (histopathologische Einteilung nach der internationalen Klassifizierung laut WHO).

Das Plattenepithelcarcinom der Lunge entwickelt sich aus einer Metaplasie über eine Dysplasie hin zum Carcinoma in Situ und zum invasiven Carcinom, welches früh regionale Lymphknotenmetastasen bildet. Die MÜZ beträgt ohne Therapie 7 Monate.

Das peripher liegende Adenocarcinom ist der häufigste Lungenkrebs von Nichtrauchern und Raucherinnen. Es entsteht als bronchiogenes Adenocarcinom aus schleimbildendem Epithel, bildet früh Pleurakarzinosen, metastasiert vornehmlich hämatogen und setzt intrapulmonale Absiedlungen. Eine Sonderform ist das bronchioloalveoläre Carcinom, oder Alveolarzellcarcinom aus Clarazellen oder Typ-2-Alveozyten. Oft mit fibrosierenden Lungenerkrankungen vergesellschaftet, tritt es multifokal auf und neigt früh zur hämatogenen Streuung. Die MÜZ liegt ohne Therapie bei 8 Monaten. Großzeller sind entdifferenzierte Plattenepithel- oder Adenocarcinome. Das biologische Verhalten ähnelt dem des Adenocarcinoms. Die MÜZ beträgt ohne Therapie 4 Monate.

Das SCLC, ein hochmaligner Tumor anaplastischer Zellen neuroendokriner Differenzierung, ist schnellwachsend und führt früh zu lymphogenen und hämatogenen Metastasen. Typisch für diese Tumoren aus Zellen des APUD-Systems ist die ektope Bildung von Hormonen und autoantikörperähnlichen Substanzen mit der Folge paraneoplastischer Syndrome, z.B. das Cushing-Syndrom, das Karzinoid-Syndrom oder das Lambert-Eaton-Syndrom. Man unterscheidet die Stadien „limited disease“ – 30% d. F., einseitiger Befall, kein Pleuraerguß – und „extensive disease“ – 70% d. F., kontralateraler Befall. Diese sind entscheidend für Prognose und Therapie. (Riede/Schäfer et al., 1999; Berchtold et al., 2001; Herold et al. 2001; AWMF online, 2004)

Klinisch fehlen spezifische Frühsymptome. Anfangs bestehen therapieresistenter Husten und Dyspnoe, später auch Hämoptysen und poststenotische Pneumonien. Pleuraexsudat, Phrenikus- oder Recurrensparese deuten auf inoperable Stadien hin. Beim Pancoast-Syndrom der Lungenspitze werden Pleura, Thoraxwand und zervikale Plexus arrodirt; es kommt zu Symptomen wie der Horner Trias. Auch paraneoplastische Syndrome geben oft erste Hinweise auf die Erkrankung. (Herold et al., 2001)

Die Diagnostik bedient sich Röntgen-Thoraxaufnahmen, CTs und gegebenenfalls MRTs. Mit der Bronchoskopie kann die endobronchiale Ausdehnung bewertet und Gewebe als Biopsie oder bronchioalveolärer Lavage gewonnen werden. Die FDG-PET bietet die bisher sensitivste Screeningmethode von nicht detektierten Primärtumoren, Rezidiven oder Metastasen (Higashi, 2003; Kahn, 2004).

Die Einteilung des Tumors erfolgt innerhalb der TNM-Klassifikation, bzw. bei NSCLC in für Therapie und Prognose relevante Stadien I-IV (Stadiengruppierung der UICC) (AWMF online, 2004). In Stadium I und II bestehen kurative Möglichkeiten. Therapie der Wahl ist die radikale onkologische Tumorresektion. Die 5-JÜR beträgt postoperativ 40-80%, die Rezidivrate liegt bei 40-50% in den ersten 5 Jahren. Im Stadium III besteht bei Operation eine 5-JÜR von nur 20%. Die Prognose bessert sich unter neoadjuvanter Chemotherapie. Bei nicht resektablen Tumoren liegt die 5-JÜR nach lokaler Radiatio bei 3-5%. In Stadium IV sind palliative Therapieoptionen in Form von Chemotherapie, Radiatio, endoskopischer Lasertherapie, Stenteinlage und Endobrachyradiotherapie von Bedeutung. (Berchtold et al. 2001; Herold et al., 2001)

Die schlechteste Prognose haben SCLC. Bei Diagnose haben diese Tumoren meist disseminiert metastasiert. Aggressive Chemotherapie bringt hohe Remissionsraten, die jedoch von kurzer Dauer sind. Mit kombinierter Radiochemotherapie können 5-10% der Patienten kurativ behandelt werden. Die MÜZ unter adäquater Chemotherapie beträgt 8-16 Monate, ohne Therapie 7-14 Wochen. (Hahn, 2000; Herold et al. 2001; Hurria, 2003)

## 1.7 Das Pancreascarcinom

Der Bauchspeicheldrüsenkrebs ist weltweit eine der tödlichsten Krebserkrankungen mit einer Mortalitätsrate von nahezu 100% (Lowenfels et. al., 2004). In Deutschland liegt es bei beiden Geschlechtern an 4. Stelle der Krebstodesursachenstatistik. Das Pancreascarcinom gehört zu den selteneren Krebsformen. Laut den geschätzten Neuerkrankungszahlen aus dem Jahr 2004 liegt dieser bei Männern mit 6.320 Neuerkrankungen – entsprechend 2,7% – und bei Frauen mit 3,7%, also ca. 6.620 neuen Fällen, an 9. bzw. 10. Stelle der Gesamtstatistik für Deutschland. Das mittlere Erkrankungsalter liegt zwischen der 6. und der 8. Lebensdekade. (dkfz Heidelberg, 2006; „Krebs in Deutschland 2003-2004. Häufigkeiten und Trends“, 2008)

Der einzig gesicherte Risikofaktor dieser Erkrankung scheint das Tabakrauchen zu sein (Doll, Peto et. al., 1994; IARC 1986; Yun et al., 2005). Weitere Auslöser wie Adipositas, hoher Fettkonsum und ein geringer nutritiver Kohlenhydratanteil werden diskutiert (Lowenfels et. al., 2004; Lillemoe et. al., 2000). Alkoholabusus ist in neueren Studien als Ursache eher ausgeschlossen worden (YE et. al., 2002). Erkrankungen wie chronische Pankreatitis (Bansal et. al., 1995 und 1996; Lowenfels et. al., 1993) oder Diabetes mellitus (Calle et. al., 1998; Everheart et. al., 1995; Rousseau et al, 2006) – bisher umstritten – bergen ein erhöhtes Risiko in sich. Eine vererbare Prädisposition scheint in 5-10% der Fälle eine Rolle zu spielen (Lynch et. al., 1995 und 1996; McWilliams et al; 2005). Familiäre Syndrome wie FAP, HNPCC, das Peutz-Jeghers-Syndrom, FAMMM, familiäre Brust- und Ovarialcarcinome, Mukoviszidose und hereditäre Pancreatitis gehen mit einem gehäuften Auftreten von Pancreascarcinomen einher (Giardiello et. al, 1993; Gold et. al, 1998; Evans et. al., 1995; Lillemoe et. al, 2000; AWMF online 2006). Verschiedene assoziierte Keimbahn-mutationen, wie z.B. p16, BRCA-1, BRCA-2, hMSH-2, hMLH-1 konnten auch bei Pancreastumoren nachgewiesen werden (Brentnall et. al, 1999; Lal et. al., 2000).

Über 80% der Pancreascarcinome sind (duktale) Adenocarcinome, seltener sind Azinuszell-carcinome, Zystadenocarcinome, neuroendokrine Carcinome oder Riesenzell-carcinome. Eine Sonderform ist das Papillencarcinom, ein Adenocarcinom nahe der Papilla duodeni major, welches sich durch seine Lokalisation in Klinik, Therapie und Prognose hervorhebt. (Riede/Schäfer et al., 1999; Berchtold et al., 2001)

Ein Tumorprogressionsmodell ähnlich dem der Colonicarcinome scheint auch für das Pankreas zuzutreffen. Bei Läsionen mit minimalen Atypien (PanIN-1A/-B) zeigen sich Mutationen im K-ras-Onkogen und eine Überexpression von HER-2/neu. Höhergradig veränderte Läsionen haben einen Verlust des p16-Tumorsuppressorgens (PanIN-2); eine Inaktivierung von p53, DPC4 und BRCA-2 liess sich bei schweren Atypien im Sinne eines Carcinoma in situ nachweisen (Brat et. al., 1998; Hruban et. al., 2000).

Pancreascarcinome metastasieren schnell und unabhängig von der Tumorgröße. Sie streuen meist lymphogen, aber auch hämatogen in Leber und Lunge. Durch die Nachbarschaft zu Duodenum, Gallengängen, und Magen kommt es früh zur Organinfiltration. Ohne Therapie liegt die MÜZ bei 1-3 Monaten (Riede/Schäfer et al., 1999; Berchtold et al., 2001).

Spezifische Frühsymptome gibt es nicht; Beschwerden sind uncharakteristisch, ähneln einer Pankreatitis. Pancreaskopfcarcinome können einen schmerzlosen Ikterus bei Gallengangsobstruktion verursachen. Carcinome der Cauda zeigen erst spät Symptome. Diagnostik und Staging bedienen sich vornehmlich der Sonographie, des ERCP bzw. MRCP, CTs, MRTs und evtl. eines FDG-PETs. (Herold et al. 2001; Berchtold et al., 2001)

Therapie der Wahl ist die radikale Resektion im Sinne der Whipple-Operation. Allerdings sind nur 10-20% aller Patienten bei Diagnose in einem resektablen Stadium. Palliativ sind Chemotherapie (auch adjuvant) mit Gemcitabin oder 5-FU/Folinsäure (Kuwahara, 2003; Oettle, 2007), Stenteinlage oder biliodigestive Anastomosen bei Gallengangsobstruktion und eine Bestrahlung möglich. Nur 5-10% der Patienten sind 5 Jahre nach Resektion noch rezidivfrei, die 5-JÜR nach Operation im Stadium T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> beträgt 30%. (Herold et al. 2001; Berchtold et al., 2001; AWMF online, 2006)



## **1.8 Ziel der Arbeit**

Bei den für diese Arbeit verwendeten Antikörpern PAM-1 und LM-1 handelt es sich um rein humane, keimbahn-kodierte monoklonale Antikörper der Klasse IgM. Beide wurden mit Hilfe der humanen Hybridomatechnologie aus Gewebe von Tumorkranken gewonnen. Während das spezifische Antigen für LM-1 bisher noch nicht genau beschrieben wurde, handelt es sich im Falle des PAM-1-Antikörpers um eine neue Variante des CFR-1-Rezeptors.

In dieser Arbeit sollten erste Erkenntnisse bezüglich der Spezifität und der Konstanz der Reaktivität der Antikörper gegenüber ausgewählten Tumoren vertieft werden. Des Weiteren lassen sich vergleichende Beobachtungen der Ergebnisse der verschiedenen verwendeten Antikörper anstellen und eventuell Rückschlüsse über die Verteilung Expression der Rezeptoren bzw. der spezifischen Oberflächenantigene auf den Tumorzellen erlauben. Dabei werden Zusammenhänge bezüglich der Expression der Antigene und der Tumorstadien betrachtet.

Dazu wurden Serien von Pancreascarcinomen, Colonicarcinomen und Adeno- und Plattenepithelcarcinomen der Lunge per Immunperoxidasefärbung auf Paraffinschnitten angefertigt und untersucht.

Die hier gewonnenen Daten können weitere Informationen über die diagnostische, aber auch mögliche therapeutische Anwendbarkeit von PAM-1 und LM-1 geben, und damit auch die Basis für weiterführende Forschung und klinische Erprobung bieten.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Materialien

#### 2.1.1 Bezugsquellen der verwendeten Verbrauchsmittel

##### 2.1.1.1 Verbrauchsmaterialien wurden von folgenden Firmen bezogen:

Deckgläser	Marienfeld, Laboratory Glassware, Germany
Microtomklingen R35	Produkte für Medizin AG, Köln
Objektträger SuperFrost Plus	Menzel-Gläser, Germany; R. Langenbrinck, Emmendingen
Pipettenspitzen	Greiner, Frickenhausen; Hartenstein, Würzburg

Tabelle 1: Übersicht Verbrauchsmaterialien

Alle weiteren verwendeten Plastikwaren wurden von der Firma Greiner, Frickenhausen bezogen.

##### 2.1.1.2 Verwendete Chemikalien und Reagenzien:

BSA ( bovines Serumalbumin, Fraktion V)	Carl Roth GmbH + Co, Karlsruhe
DAB (Sigma Fast 3,3'-Diaminobenzidine Tablet sets)	Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim
Entellan	Merck, Darmstadt
FCS (Fetal Calf Serum)	GIBCO, Karlsruhe
Glyceringelatine	Merck, Darmstadt
Hämalaun	Merck, Darmstadt
Humanserum (AB-Plasma)	Abteilung für Transfusionsmedizin,
L-Glutamin	GIBCO, Karlsruhe

Kaninchenserum	Linaris , Wertheim-Bettingen
Penicillin/Streptomycin	GIBCO, Karlsruhe
RPMI 1640	PAA Laboratories GmbH, Pasching/Österreich

Tabelle 2: Übersicht Chemikalien und Reagenzien

Alle weiteren verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen Sigma (München), Roth (Karlsruhe), Merck (Darmstadt), Noras (Würzburg) oder J.T. Baker (Deventer/Holland) in der höchsten Reinheitsstufe bezogen.

### 2.1.1.3 Verwendete Antikörper:

Chrompure human IgM	Dianova, Hamburg
Mouse anti human Cytokeratin 5/6	Dako, Hamburg
Mouse anti human Cytokeratin 7	Dako, Hamburg
Mouse anti human Cytokeratin 8	Chemicon Int. Inc., USA
Mouse anti human Cytokeratin AE1/AE3	Dako, Hamburg
Rabbit anti Mouse Ig, HRP	Dako, Hamburg
Rabbit anti human IgM	Dako, Hamburg

Tabelle 3: Antikörperübersicht

### 2.1.2 Geräte

Für die Arbeit wurden Geräte der folgenden Firmen verwendet:

Aquabidest-Anlage Milli-Q Plus PF	Millipore, Eschborn
Blotkammer	Bio-Rad, München
Brutschränke	Heraeus Thermotech, Hanau
Kühl- und Gefrierschrank (-20° C)	Liebherr; Privileg; Quelle, Fürth
Magnetrührer IKAMAG RTC	Janke & Kunkel, Staufen
Mikroskop Leica DMLB	Leica Mikrosystems, Wetzlar

Mikroskop Olympus BX50 + Videokamera 3CCD Sony	Olympus, Sony Deutschland GmbH, Köln
Mikrotom Hn 40	Reichert-Jung, Heidelberg
pH-Meter pH 525	WTW, Weilheim i. OB
Pipetten	Gilson, Middleton, USA Eppendorf, Hamburg
Schnellkochtopf	
Vortex-Genie 2	Bender & Hobein AG, Zürich/Schweiz
Wasserbad MEDAX	Nagel KG, Kiel
Waage	Sartorius, Göttingen

Tabelle 4: Geräteübersicht

### 2.1.3 Hard- und Software

Statistische Auswertungen und graphische Darstellungen erfolgten mit dem Programm EXCEL (Microsoft, USA).

Immunhistochemische Färbungen wurden mittels eines Olympus Mikroskops und einer Sony Videokamera über das Programm Image Access 3.02 erstellt und mit Photoshop 6.6 (Adobe) und PowerPoint (Microsoft, USA) bearbeitet.

### 2.1.4 Lösungen, Puffer

#### DAB-Reagenz

5 ml Leitungswasser

1 DAB-Tablette, 1 Wasserperoxyd-Tablette

(% ml Sigma Fast 3,3'-Diaminobenzidine Tablet; Sigma, Steinheim)

### BSA/PBS

5mg BSA (Rinderserumalbumin) auf 1ml PBS

### PBS

120 mM NaCl

2 mM KCl

3 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$

7 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

### RPMI – Basismedium

RPMI 1640 (500ml)

1% Glutamin (5ml)

1% Penicillin/Streptomycin (5ml)

10% FCS (50ml)

### Tris-NaCl

3 g Tris

40,5 g NaCl

ad 5 l Aqua dest.

→ pH 7,4 mit rauchender HCl einstellen

### Zitronensäure

10 mM Zitronensäure-Monohydrat

ad 2 l A.dest

→ pH 5,5 mit NaOH-Plätzchen einstellen

## 2.2 Immunhistochemische Methoden

### 2.2.1 Herstellung von Paraffinschnitten

Native Gewebeproben wurden mit 4% Formalin fixiert und anschließend maschinell entwässert (Tissue Tek VIP, Firma Sakura). Danach wurde es in flüssiges Paraffin überführt und mit Hilfe eines Histocenter-Gerätes (Firma SHANDON), eingebettet. Nach Erhärten des Paraffins können die fixierten Gewebeblöcke geschnitten werden.

Hierzu wurden die Paraffinblöcke für ca. 30 min. in einen Gefrierschrank (-20° C) gelegt. Danach wurden mit Hilfe eines Mikrotoms 2 µm dicke Gewebeschnitte hergestellt, die zuerst auf ein Wasserbad bei RT zur Entspannung des Schnittes aufgetragen und dann zum Strecken auf ein Wasserbad bei ca. 30° C gelegt wurden. Die gestreckten Gewebeschnitte wurden dann auf Super Frost Plus Objektträger aufgezogen und zum Trocknen über Nacht in den Brutschrank (37° C) gestellt, um dann weiterverarbeitet oder an einem trockenen Ort bei Raumtemperatur bis zu ihrer weiteren Verwendung gelagert zu werden.

### 2.2.2 Immunperoxidase-Färbung von Paraffinschnitten mit Antikörpern

Vor der immunhistochemischen Färbung wurde das Paraffin durch Inkubation in folgender Alkoholreihe aus dem Gewebe entfernt:

2 x 5 min 100% Xylol

2 x 5 min 100% Ethanol

1 x 5 min Methanol (70 ml + 500 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

2 x 3 min 90% Ethanol

2 x 3 min 80% Ethanol

2 x 3 min 70% Ethanol

Danach wurden die Schnitte einmal mit Tris/NaCl gewaschen und im Anschluss in einem Schnellkochtopf für 5 min in Zitronensäure (pH 5,5) gekocht. Dann musste das Gewebe, um unspezifische Bindungsstellen zu blocken, für 30 min mit 0,5% BSA/PBS inkubiert werden und anschließend dreimal mit Tris/NaCl gewaschen werden. Nun

wurden die vorbehandelten Schnitte für die Dauer von 2,5 h in einer feuchten Kammer bei 37°C mit dem jeweiligen Primär-Antikörper und den diversen Kontrollen inkubiert. Die Antikörper wurden mit 0,5% BSA/PBS auf die jeweilige Konzentration eingestellt. Nach der Inkubation mit dem Primär-Antikörper wurden die Schnitte dreimal mit Tris/NaCl gewaschen und danach mit den entsprechenden Sekundär-Antikörpern für 1 h in der feuchten Kammer bei RT inkubiert. Hierauf wurde erneut dreimal mit Tris/NaCl gewaschen und die Schnitte im Anschluss für 10 min in PBS gestellt. Dann wurden diese für 10 min mit DAB (diaminobenzidine (0,05%) -hydrogen peroxide (0,02%)) in der abgedunkelten feuchten Kammer für 10 min bei RT inkubiert. Nach Abstoppen der Reaktion mit Aqua dest. und Gegenfärbung mit Hämalaun (5 min) wurden die Objektträger 10 min lang fließend gewässert und schließlich zur Konservierung mit auf 60°C erwärmter Glyceringelatine eingedeckt. Abschließend wurden die auf den Objektträgern eingebetteten Schnitte noch mit Entellan versiegelt, um einem möglichen Ausbleichen der Färbung vorzubeugen.

### 2.2.3 Verwendete Antikörper für Immunperoxidase-Färbungen

<b>Monoklonale Antikörper</b>	<b>Ig-Isotyp/ Ursprung</b>	<b>Konzentration Paraffinfärbung</b>
PAM-1	IgM/ human	9 µg/ml
LM-1	IgM/ human	25 µg/ml
<b>Negativ Kontrollen</b>		
Chrompure IgM	IgM/ human	25 µg/ml
RPMI - Basismedium		

Tabelle 5: Übersicht über die Konzentration der verwendeten humanen monoklonalen Antikörper und der Negativkontrollen

<b>Kontroll-Antikörper</b>	<b>Gewebe</b>	<b>Karzinomtyp</b>	<b>Konzentration</b>	<b>Isotyp/ Ursprung</b>
<b>Anti-human Cytokeratin 5/6 (CK5/6)</b>	Lunge	Plattenepithel	1:50	IgG1/Maus
<b>Anti-human Cytokeratin 7 (CK7)</b>	Pankreas	Adeno	1:20	IgG1/ Maus
<b>Anti-human Cytokeratin 8 (CK8)</b>	Lunge	Adeno	1:20	IgG1/ Maus
<b>Anti-human Cytokeratin AE1/AE3</b>	Colon	Adeno	1:50	IgG1/ Maus

Tabelle 6: Übersicht verwendeter Positivkontrollen bei Immunperoxidase-Färbungen

<b>Sekundär- Antikörper</b>	<b>Ursprung</b>	<b>Verdünnung</b>	<b>Gelöst in</b>	<b>konjugiert</b>
Anti-human IgM	Rabbit	1:50	70% PBS +30% Kaninchenserum	Peroxidase
Anti-Maus IgG	Rabbit	1:50	70% PBS +30% AB-Plasma (Humanserum)	Peroxidase

Tabelle 7: Übersicht verwendeter Sekundär-Antikörper bei Immunperoxidase-Färbungen



### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Übersicht der Ergebnisse

In allen bisherigen Untersuchungen mit PAM-1 und LM-1 zeigte sich eine eindeutige Verteilung des CFR-1/PAM-1- und des LM-1-Rezeptors ausschliesslich auf präkanzerösen oder maligne entarteten Zellen; gesundes, normales Gewebe zeigte keinerlei Reaktion in den immunhistochemischen Färbungen. Um diese tumorspezifische Reaktivität der beiden monoklonalen IgM-Antikörper auf malignen Geweben weiter zu untersuchen und zu untermauern, wurden im Rahmen dieser Arbeit an einigen ausgesuchten Tumoren zwischen 20 und 35 Fälle aufgearbeitet. Die Ergebnisse werden in Tabelle 8 in einer Übersicht dargestellt.

Tumorart	Anzahl			
	untersuchter Tumoren	Positivkontrolle	PAM-1	LM-1
Colon-Ca	31	AE1/AE3 31 +	30 +	30 +
Lunge-Adeno-Ca	22	CK 8 20 +	22 +	22 +
Lunge-Pe-Ca	22	CK 5/6 19 +	22 +	22 +
Pancreas-Ca	35	CK 7 32 +	34 +	35 +

Tabelle 8: Übersicht der Ergebnisse

#### 3.2 Die Antikörper PAM-1 und LM-1

Der mittels humaner Hybridoma Technologie isolierte IgM-Antikörper PAM-1 wurde bereits in der Einleitung erwähnt und ist ein gutes Beispiel für einen tumorspezifischen IgM-Antikörper. Wie schon beschrieben bindet der monoklonale Antikörper an eine neue Variante von CFR-1. Durch Immunperoxidase-Färbungen konnte gezeigt werden, dass CFR-1/PAM-1 auf allen soweit getesteten Carcinomen exprimiert wird, sowie auf der *H. pylori*-assoziierten Gastritis und der Dysplasie des Magens. Nicht entzündlich veränderte Magenschleimhaut und alle anderen bisher getesteten Normalgewebe zeigten keine Reaktion mit dem PAM-1 Antikörper. Dieses begrenzte Verteilungsmuster lässt vermuten, dass der CFR-1/PAM-1 Rezeptor hauptsächlich auf präkanzerös veränderten

Zellen und Carcinomzellen exprimiert wird und essenziell für Proliferationsprozesse zu sein scheint (Hensel et al., 2001a).

Der zweite hier untersuchte, ebenfalls rein humane Antikörper, ist der bereits zuvor beschriebene IgM-Antikörper LM-1. Auch bei diesem hat sich in den bisher durchgeführten immunhistochemischen Untersuchungen dessen selektive Tumorreaktivität erwiesen. LM-1 zeigt eine breite Kreuzreaktion mit den unterschiedlichsten Carcinomen, jedoch nicht mit gesunden Geweben, und kann damit ebenfalls als tumorspezifisch eingestuft werden.

Um diese Beobachtungen näher zu untersuchen wurden weiterführende immunhistochemische Studien auf einer Auswahl von epithelialen Tumoren und deren Normalgeweben durchgeführt.

### 3.2.1 Expression von CFR-1/PAM-1 und des LM-1-Rezeptors auf gesundem Gewebe

Um eine mögliche CFR-1/PAM-1- und LM-1-Rezeptor-Expression auf Normalgeweben auszuschliessen, wurden Paraffinschnitte von Normalgeweben entparaffiniert und mit 9 µg/ml des Antikörpers PAM-1 bzw. mit 25 µg/ml des Antikörpers LM-1 respektive diverser Kontrollen inkubiert. Zur histologischen Begutachtung der Gewebemorphologie wurde von jedem Organ zusätzlich eine HE-Färbung durchgeführt. Um Kreuzreaktionen, welche durch den Sekundär-Antikörper verursacht werden könnten auszuschließen, wurde bei jeder Färbung ein Schnitt nur mit dem Sekundärantikörper inkubiert. Die gefärbten Gewebeschnitte wurden lichtmikroskopisch analysiert. Diese zeigten keine Reaktion mit PAM-1 oder mit LM-1. Als Beispiele für die Abwesenheit des CFR-1/PAM-1-Rezeptors bzw. der Bindungsstelle für den LM-1-Antikörper auf normalen Geweben sind in Abbildung 2 exemplarisch die Ergebnisse der Immunperoxidase-Färbungen einiger ausgewählter Fälle dargestellt. So zeigten die Antikörper PAM-1 und LM-1 auf normalem Gewebe von Colon (1), Lunge (2) und Pancreas (3), in den immunhistochemischen Untersuchungen konstant keinerlei Reaktion.

	1	2	3
HE			
Neg. Kontrolle			
Pos. Kontrolle			
LM-1			
PAM-1			

Abb. 2: Immunhistochemische Färbung mit den Antikörpern PAM-1 und LM-1 auf normalen Geweben. Die Paraffinschnitte wurden mit Hämatoxylin/Eosin (HE), nur dem Sekundär-Antikörper als Negativ-Kontrolle, der jeweiligen Positivkontrolle (laut Tabelle 6) und 9 µg/ml des Antikörpers PAM-1 bzw. 25 µg/ml des Antikörpers LM-1 gefärbt: 1 - normales Colongewebe; 2 - gesundes Lungengewebe; 3 - normales Pancreasgewebe. Beide Antikörper zeigen auf gesundem Gewebe der untersuchten Organe keine Reaktion, eine Färbung konnte nirgendwo festgestellt werden.

### 3.2.2 LM-1 und PAM-1 auf Gewebe von Colonicarcinomen

Die Expression des CFR-1 Rezeptors, der durch den monoklonalen humanen IgM-Antikörper PAM-1 identifiziert wird, wurde, wie schon erwähnt, bereits für eine gewisse Anzahl von verschiedenen Carcinomen und diverser Präkanzerosen beschrieben (Hensel et al., 2001a). Auch der Antikörper LM-1 hat mehrfach seinen selektiven Bindungscharakter an entarteten Zellen gezeigt. An insgesamt 31 verschiedenen Fällen von Colonicarcinomen wurden Immunperoxidase-Färbungen angefertigt, die die bisher vorhandenen Daten bestätigen. Die Paraffinschnitte wurden mit 9 µg/ml des PAM-1-Antikörpers und mit 25 µg/ml des LM-1-Antikörpers inkubiert bzw. mit dem Sekundär-Antikörper solitär als Negativkontrolle und einer entsprechend ausgewählten Positivkontrolle (siehe Tabelle 6) gefärbt.

Abbildung 3 zeigt exemplarisch die Expression des PAM-1- bzw. LM-1-definierten Rezeptors auf einigen Fällen von Colonicarcinomen. Neben den geeigneten Positiv- und Negativkontrollen, ist zur histomorphologischen Begutachtung auch eine Hämatoxylin/Eosin-Färbung dargestellt. Die beispielhaft ausgewählten immunhistochemischen Färbungen zeigen deutlich, dass sowohl der Antikörper PAM-1 als auch LM-1 spezifisch an die Tumorzellen der Gewebeschnitte bindet. Es werden durchgehend entartete Zellen markiert. Das den Tumor umgebende Gewebe zeigt hingegen keine Reaktion, auch die Negativkontrollen, bei denen nur der Sekundär-Antikörper verwendet wurde, zeigen keine Farbreaktionen.



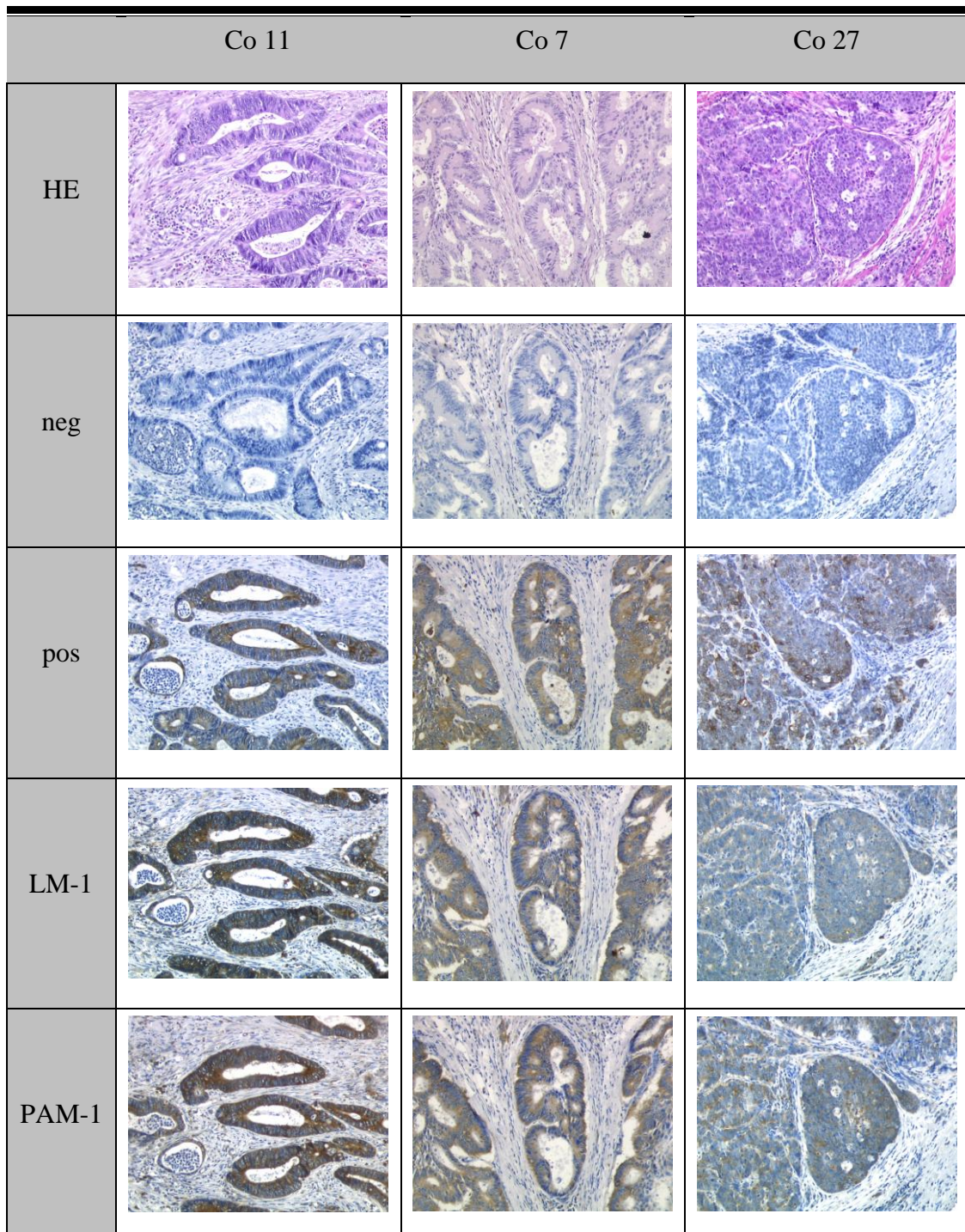


Abb. 3: Immunhistochemische Färbungen der IgM-Antikörper PAM-1 und LM-1 an exemplarisch ausgewählten Fällen von Colonicarcinomen: Die Paraffinschnitte wurden mit Hämatoxylin/Eosin (HE), nur dem Sekundär-Antikörper als Negativ-Kontrolle, der jeweiligen Positivkontrolle (laut Tabelle 6) und 9 µg/ml des Antikörpers PAM-1 bzw. 25 µg/ml des Antikörpers LM-1 gefärbt. Die Bilder zeigen exemplarisch die deutliche spezifische Bindung der beiden humanen Antikörper an Tumorzellen; normale Zellen des gesunden umgebenden Gewebes bleiben unberührt.

In der folgenden Tabelle 9 sind die Ergebnisse der immunhistochemischen Studien auf insgesamt 31 Fällen von Colocarzinomen zusammengefasst. Im Anhang ist sie nochmals aufgeführt, mit zusätzlichen Informationen bezüglich Herkunft, Staging und Entdifferenzierung der Tumoren. Bis auf einen Einzelfall zeigt sich eine deutliche tumorspezifische Reaktion der Antikörper PAM-1 und LM-1. Das die Tumoren umgebende Gewebe wurde dagegen nicht angefärbt.

	<b>Tumor</b>  Histologie, Staging, Grading (soweit bekannt)	<b>RPMI CpIgM AE1/AE3</b>			<b>PAM-1</b>	<b>LM-1</b>
		Negativ- kontrolle	Negativ- kontrolle	Positiv- kontrolle	Grading/ Intensität	Grading/ Intensität
					% pos. Tumorzellen	% pos. Tumorzellen
Co1	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>2</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	++ - +++ >95%	++ >95%
Co2	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>2</sub> N <sub>0</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	++ 60-70%	neg - + 60-70%
Co3	Mäßig - wenig diff. Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> G <sub>3</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	++ 90%	++ >95%
Co4	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>4</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	++ >95%	++ - +++ >95%
Co5	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ >95%	+ 40-50%
Co6	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ >95%	++ - +++ 90%
Co7	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	++ >95%	+ - ++ >95%
Co8	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	neg - + 60-70%	neg - ++ 60-70%

Co9	Wenig differenziertes AdenoCa pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	+ 90%	+ 90%
Co10	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	neg - ++ 30-40%	neg - + 40-50%
Co11	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	++ - +++ >95%	+++ >95%
Co12	Ulzeriertes AdenoCa pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub>	-	-	+	neg - ++ 70-80%	neg - + 60-70%
Co13	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>2</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub> V <sub>1</sub>	-	-	+	neg - + 90%	+ - ++ >95%
Co14	Mäßig differenziertes AdenoCa ypT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ - ++ 40-50%	neg - + 40-50%
Co15	Mäßig differenziertes AdenoCa ypT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ - +++ 90%	++ - +++ 90%
Co16	Mäßig differenziertes, AdenoCa ypT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	neg - +++ 30-40%	neg - ++ 10-20%
Co17	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	neg - + 10-20%	neg 0-10%
Co18	Mäßig -wenig diff. AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	+ 40-50%	+ - ++ 60-70%
Co19	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	++ >95%	+ - ++ >95%
Co20	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	neg - + 70-80%	+ - ++ 90%
Co21	Hoch differenziertes AdenoCa pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>1</sub>	-	-	+	neg 0-10%	neg - + 40-50%

Co22	Mäßig differenziertes AdenoCa ypT <sub>3</sub> pN <sub>2</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	+++ 90%	++++ >95%
Co23	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	neg - + 30-40%	++++ 90%
Co24	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	+++ 90%	+++ >95%
Co25	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>2</sub> pN <sub>2</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	+++ >95%	++++ >95%
Co26	Wenig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	+++ 60-70%	+ 40-50%
Co27	Wenig differenziertes AdenoCa pT <sub>4</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	+ 70-80%	neg - + 60-70%
Co28	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ >95%	++++ >95%
Co29	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ >95%	++++ >95%
Co30	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ 70-80%	++++ 90%
Co31	Mäßig differenziertes AdenoCa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	neg - + 60-70%	+++ 70-80%

Tabelle 9: Ergebnisse der Färbungen mit den Antikörpern LM-1 und PAM-1 an Gewebeproben von Colonicarcinomen



### 3.2.3 LM-1 und PAM-1 auf Geweben von Adenocarcinomen der Lunge

Von insgesamt 22 verschiedenen Fällen von Adenocarcinomen der Lunge wurden Immunperoxidase-Färbungen angefertigt, die die bisher gewonnenen Daten bestätigen. Die Paraffinschnitte wurden mit 9 µg/ml des PAM-1-Antikörpers und mit 25 µg/ml des LM-1-Antikörpers inkubiert bzw. mit dem Sekundär-Antikörper solitär als Negativkontrolle und einer entsprechend ausgewählten Positivkontrolle (s. Tabelle 6) gefärbt. Alle hier untersuchten Fälle zeigten ausnahmslos eine positive Färbung mit beiden Antikörpern und somit auch hier eine tumorspezifische Verteilung der bindenden Antigene.

Abbildung 4 zeigt exemplarisch die Expression des PAM-1- bzw. LM-1-definierten Rezeptors auf einigen Fällen von Adenocarcinomen der Lunge. Neben der geeigneten Positiv- und Negativkontrolle, ist zur histomorphologischen Begutachtung auch eine Hämatoxilin/Eosin-Färbung dargestellt. Die ausgewählten immunhistochemischen Färbungen zeigen deutlich, dass sowohl der Antikörper PAM-1 als auch LM-1 spezifisch an die Tumorzellen der Gewebeschnitte bindet. Es werden durchgehend entartete Zellen markiert. Das den Tumor umgebende Gewebe zeigt hingegen keine Reaktion, auch die Negativkontrollen, bei denen nur der Sekundär-Antikörper verwendet wurde, zeigen keine Farbreaktionen

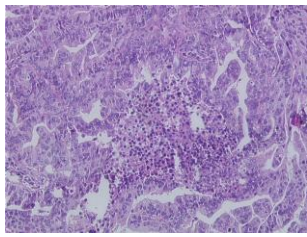
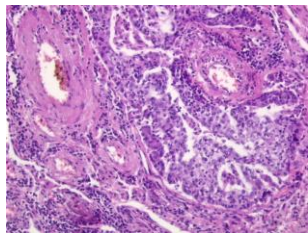
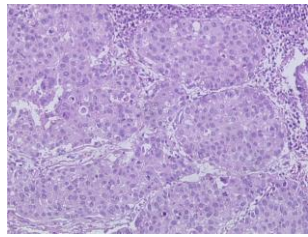
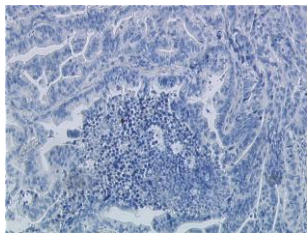
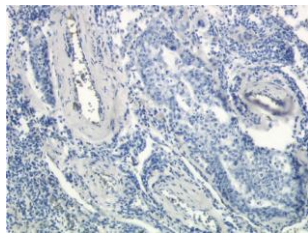
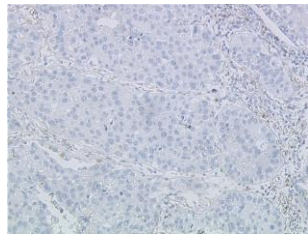
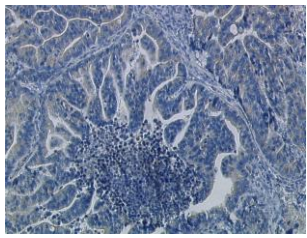
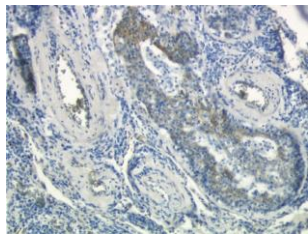
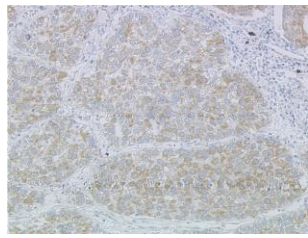
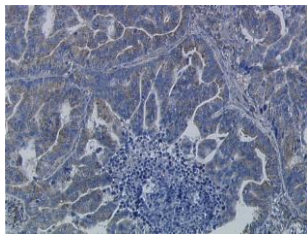
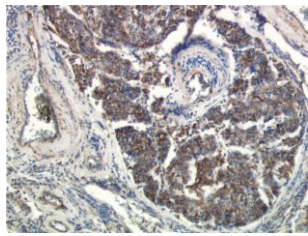
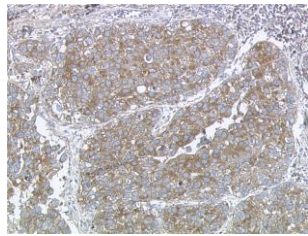
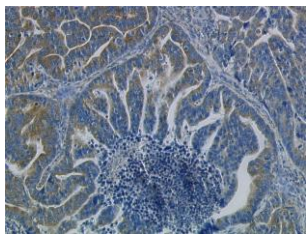
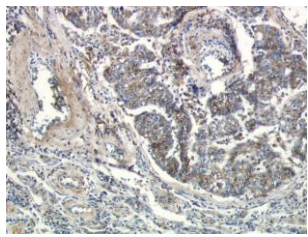
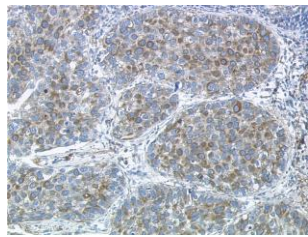
	LA 15	LA 11	LA 17
HE			
neg			
pos			
LM-1			
PAM-1			

Abb. 4: **Immunhistochemische Färbungen der IgM-Antikörper PAM-1 und LM-1 an exemplarisch ausgewählten Fällen von Adenocarcinomen der Lunge:** Die Paraffinschnitte wurden mit Hämatoxylin/Eosin (HE), nur dem Sekundär-Antikörper als Negativ-Kontrolle, der jeweiligen Positivkontrolle (laut Tabelle 6) und 9 µg/ml des Antikörpers PAM-1 bzw. mit 25 µg/ml des Antikörpers LM-1 gefärbt. Die Bilder zeigen exemplarisch die deutliche spezifische Bindung der beiden humanen Antikörper an Tumorzellen; normale Zellen des gesunden umgebenden Gewebes bleiben unberührt.

In der folgenden Tabelle 10 sind die Ergebnisse der immunhistochemischen Studien auf insgesamt 22 Fällen von Adenocarcinomen der Lunge zusammengefasst. Im Anhang ist sie nochmals aufgeführt, mit zusätzlichen Informationen bezüglich Herkunft, Staging und Entdifferenzierung der Tumoren. Bis auf 3 Fälle bei der Reaktion mit PAM-1 und 2 Einzelfälle in der Reihenuntersuchung mit LM-1, bei denen sich nur eine schwach ausgeprägte Reaktion zeigt, ist eine deutliche tumorspezifische Reaktion der Antikörper PAM-1 und LM-1 mit den entarteten Zellen erkennbar. Das die Tumoren umgebende Normalgewebe wurde dagegen nicht angefärbt.

Tumor	RPMI	CpIg M	CK 8	PAM-1	LM-1	
				Grading Intensität % pos. Tumorzellen	Grading Intensität % pos. Tumorzellen	
Histologie, Staging, Grading (soweit bekannt)	Negativ- kontrolle	Negativ- kontrolle	Positiv- kontrolle			
LA1	Mäßig differenziertes Adeno-Ca	-	-	-	+ 90%	+ 90%
LA2	Gut differenziertes Adeno-Ca	-	-	+	+ - + + >95%	+ >95%
LA3	Wenig differenziertes AdenoCa pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	+ - + + >95%	neg - + >95%
LA4	Wenig differenziertes Adeno-Ca	-	-	+	+ + >95%	+ 90%
LA5	Mäßig differenziertes, Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	-	+ + >95%	+ - + + >95%
LA6	Wenig differenziertes, Adeno-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	+ - + + 90%	+ 70-80%
LA7	Hochdifferenziertes, bronchiolo- alveoläres Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> G <sub>1</sub>	-	-	+	neg - + 40-50%	neg - + 40-50%

LA8	Bronchiolo-alveoläres Adeno-Ca	-	-	+	+ 90%	+ 70-80%
LA9	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ >95%	+++ - +++ 90%
LA10	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>x</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	++ >95%	+++ >95%
LA11	Wenig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	+++ - +++ >95%	+++ - +++ >95%
LA12	Mäßig differenziertes Adeno-Ca	-	-	+	neg - + 10-20%	+ 30-40%
LA13	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ - ++ >95%	+ - ++ >95%
LA14	Mäßig differenziertes, Adeno-Ca	-	-	+	+++ - +++ 90%	++ 90%
LA15	Adeno-Ca pT <sub>1</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ >95%	+++ >95%
LA16	Bronchiolo-alveoläres Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub>	-	-	+	neg - + >95%	+ 90%
LA17	Wenig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ - +++ >95%	+++ - +++ >95%
LA18	Mäßig differenziertes, bronchiolo- alveoläres Adeno-Ca	-	-	+	+++ >95%	+++ >95%
LA19	Mäßig differenziertes, z.T. bronchiolo-alveoläres Adeno-Ca	-	-	+	+++ >95%	+ - ++ 90%
LA20	Papilläres Adeno-Ca	-	-	+	+++ - +++ >95%	++ >95%

LA21	Gut differenziertes Adeno-Ca pT <sub>2</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+	+
					90%	90%
LA22	Hoch - mäßig differenziertes, bronchio-alveoläres Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+	+
					90%	60-70%

Tabelle 10: Ergebnisse der Färbungen mit den Antikörpern LM-1 und PAM-1 an Gewebeproben von Adenocarcinomen der Lunge.

### 3.2.4 LM-1 und PAM-1 auf Geweben von Plattenepithelcarcinomen der Lunge

An insgesamt 22 verschiedenen Fällen von Plattenepithelcarcinomen der Lunge wurden Immunperoxidase-Färbungen angefertigt, die die bisher gewonnenen Daten bezüglich Sensitivität und Tumorspezifität der Antikörper PAM-1 und LM-1 bestätigen. Die Paraffinschnitte wurden mit 9 µg/ml des PAM-1-Antikörpers und mit 25 µg/ml des LM-1-Antikörpers inkubiert bzw. mit dem Sekundär-Antikörper solitär als Negativkontrolle und einer entsprechend ausgewählten Positivkontrolle (siehe Tabelle 6) gefärbt. Alle hier untersuchten Fälle zeigten ausnahmslos eine deutliche positive Färbung mit beiden Antikörpern und somit auch hier eine tumorspezifische Verteilung der bindenden Antigene.

Abbildung 5 zeigt exemplarisch die Expression des PAM-1- bzw. LM-1-definierten Rezeptors auf einigen Fällen von Plattenepithelcarcinomen der Lunge. Neben geeigneten Positiv- und Negativkontrollen, ist zur histomorphologischen Begutachtung auch eine Hämatoxylin/Eosin-Färbung dargestellt. Die beispielhaft ausgewählten immunhisto-chemischen Färbungen zeigen deutlich, dass sowohl der Antikörper PAM-1 als auch LM-1 spezifisch an die Tumorzellen der Gewebeschnitte bindet. Es werden durchgehend entartete Zellen markiert. Das den Tumor umgebende Gewebe zeigt hingegen keine Reaktion, auch die Negativkontrollen, bei denen nur der Sekundär-Antikörper verwendet wurde, zeigen keinerlei Farbreaktionen



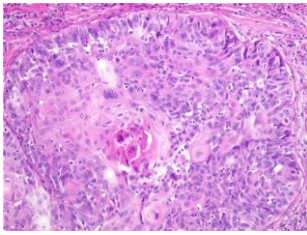
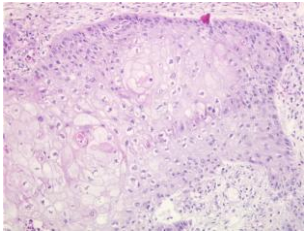
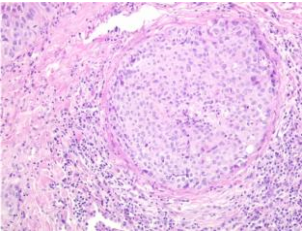
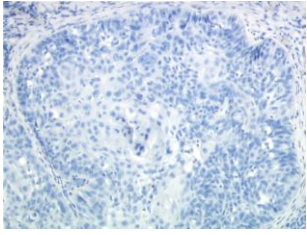
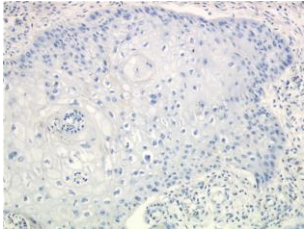
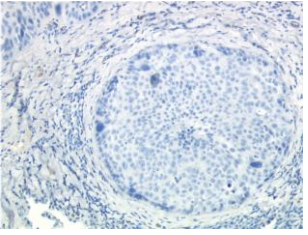
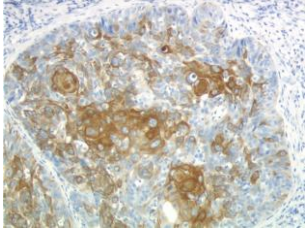
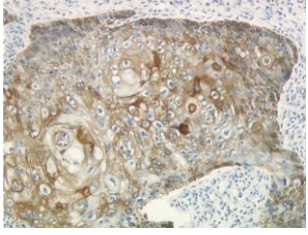
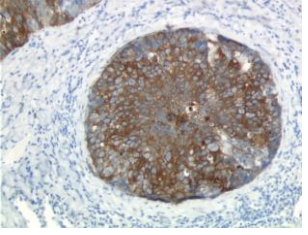
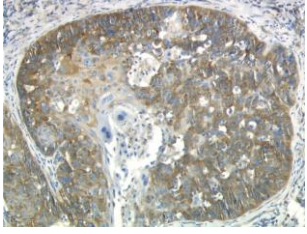
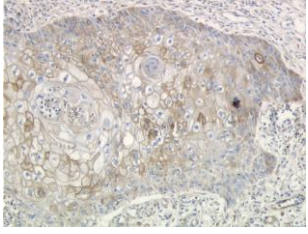
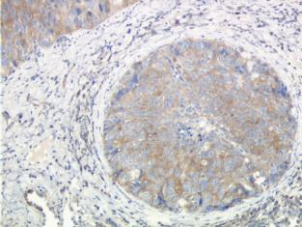
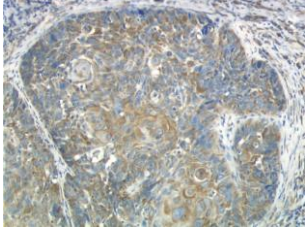
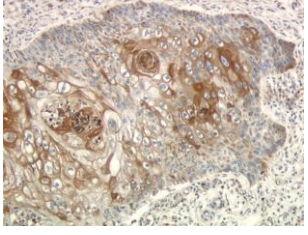
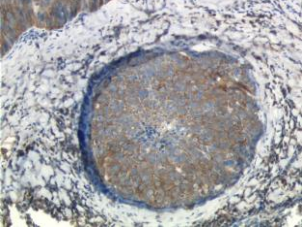
	LP 13	LP 4	LP 20
HE			
Neg			
Pos			
LM-1			
PAM-1			

Abb. 5: Immunhistochemische Färbungen der IgM-Antikörper PAM-1 und LM-1 an exemplarisch ausgewählten Fällen von Plattenepithelcarcinomen der Lunge: Die Paraffinschnitte wurden mit Hämatoxylin/Eosin (HE), nur dem Sekundär-Antikörper als Negativ-Kontrolle, der jeweiligen Positivkontrolle (laut Tabelle 6) und 9 µg/ml des Antikörpers PAM-1 bzw. mit 25 µg/ml des Antikörpers LM-1 gefärbt. Die Bilder zeigen exemplarisch die deutliche spezifische Bindung der beiden humanen Antikörper an Tumorzellen; normale Zellen des gesunden umgebenden Gewebes bleiben unberührt.

In Tabelle 11 sind die Ergebnisse der immunhistochemischen Studien auf insgesamt 22 Fällen von Plattenepithelcarcinomen der Lunge zusammengefasst. Im Anhang ist sie nochmals aufgeführt, mit zusätzlichen Informationen bezüglich Herkunft, Staging und Entdifferenzierung der Tumoren. Bis auf einen Fall bei der Reaktion mit PAM-1 und 2 Einzelfälle in der Untersuchung mit LM-1, bei denen sich nur eine sehr schwach ausgeprägte Reaktion zeigt, ist eine deutliche tumorspezifische Reaktion der Antikörper PAM-1 und LM-1 erkennbar. Das umgebende Normalgewebe wurde nicht angefärbt.

LP	Tumor Histologie Staging und Grading (soweit bekannt)	RPMI Negativkontrolle	CpIg M Negativkontrolle	CK 5/6 Positivkontrolle	PAM-1	LM-1
					Grading Intensität % pos. Tumorzellen	Grading Intensität % pos. Tumorzellen
LP1	Großzelliges, wenig diff. PE-Ca	-	-	+	+ > 95%	+ - ++ > 95%
LP2	Mäßig - wenig diff. PE-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ - ++++ > 95%	+++ - ++++ > 95%
LP3	Mäßig differenziertes PE-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	neg - + 90%	neg - + > 95%
LP4	Mäßig differenziert PE-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	++ > 95%	+++ > 95%
LP5	mischdifferenziertes PE-Ca	-	-	-	+ - +++ > 95%	+ - +++ > 95%
LP6	wenig differenziertes PE-Ca	-	-	+	+++ > 95%	+++ > 95%
LP7	Mäßig differenziertes, PE-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ - ++++ > 95%	+++ - ++++ > 95%
LP8	Wenig differenziertes, PE-Ca L <sub>1</sub>	-	-	-	+++ > 95%	+++ > 95%

LP9	wenig differenziertes PE-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	+++ 70-80%	+ - +++ 60-70%
LP10	mäßig differenziertes PE-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	++ > 95%	+++ - +++ > 95%
LP11	Wenig differenziertes PE-Ca pT <sub>4</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	+ - +++ 60-70%	neg - + 30-40%
LP12	mäßig differenziertes, PE-Ca pT <sub>1</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ 90%	+ 90%
LP13	Mäßig differenziertes PE-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	+++ > 95%	+++ > 95%
LP14	mäßig differenziertes PE-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>2</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	++ > 95%	+ - +++ > 95%
LP15	Mäßig - wenig diff. PE-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	+++ - ++++ 90%	+++ - ++++ > 95%
LP16	Wenig differenziertes PE-Ca pT <sub>2</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	+ - +++ > 95%	++ 90%
LP17	Mäßig - wenig diff. PE-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>2</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	++ > 95%	+ - +++ 40-50%
LP18	Mäßig differenziertes, PE-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ - ++++ > 95%	+++ > 95%
LP19	Mäßig differenziertes PE-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>x</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ - +++ 70-80%	+ 70-80%
LP20	Mäßig differenziertes PE-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>1</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ - +++ > 95%	+++ - ++++ > 95%
LP21	Mäßig differenziertes PE-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ > 95%	++ 70-80%



LP22	Wenig differenziertes PE-Ca	-	-	-	++	++
	pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>				> 95%	90%

Tabelle 11: Ergebnisse der Färbungen mit den Antikörpern LM-1 und PAM-1 an Gewebeproben von Plattenepithelcarcinomen der Lunge

### 3.2.5 LM-1 und PAM-1 auf Geweben von Pancreascarcinomen

Von insgesamt 35 verschiedenen Fällen von Pancreascarcinomen wurden Immunperoxidase-Färbungen angefertigt, die die bisher gewonnenen Daten bezüglich Sensitivität und Tumorspezifität der Antikörper PAM-1 und LM-1 bestätigen. Die Paraffinschnitte wurden mit 9 µg/ml des PAM-1-Antikörpers und mit 25 µg/ml des LM-1-Antikörpers inkubiert bzw. mit dem Sekundär-Antikörper solitär als Negativkontrolle und einer entsprechend ausgewählten Positivkontrolle (siehe Tabelle 6) gefärbt.

Abbildung 6 zeigt exemplarisch die Expression des PAM-1- bzw. LM-1-definierten Rezeptors auf einigen Fällen von Pancreascarcinomen. Neben der geeigneten Positiv- und Negativkontrolle, ist zur histomorphologischen Begutachtung auch eine Hämatoxilin/Eosin-Färbung dargestellt. Die beispielhaft ausgewählten immunhistochemischen Färbungen zeigen deutlich, dass sowohl der Antikörper PAM-1 als auch LM-1 spezifisch an die Tumorzellen der Gewebeschnitte bindet. Es werden durchgehend entartete Zellen markiert. Das den Tumor umgebende Gewebe zeigt hingegen keine Reaktion, auch die Negativkontrollen, bei denen nur der Sekundär-Antikörper verwendet wurde, zeigen keinerlei Farbreaktionen.

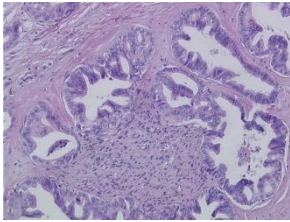
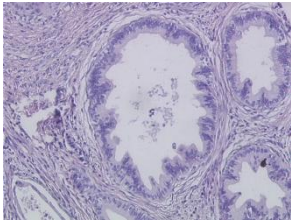
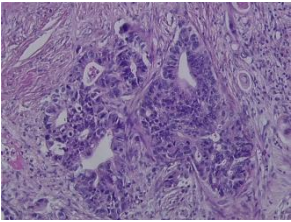
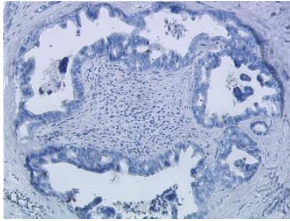
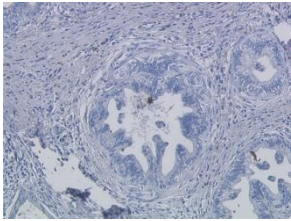
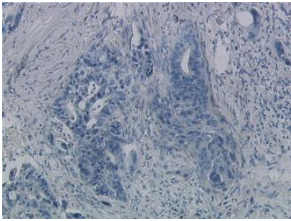
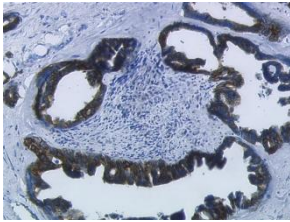
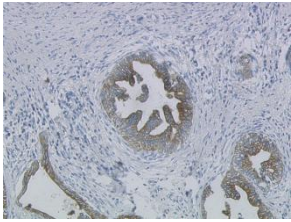
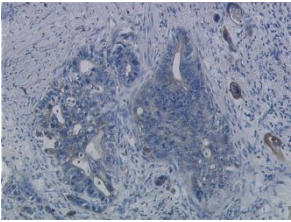
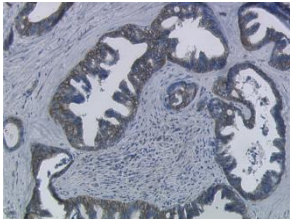
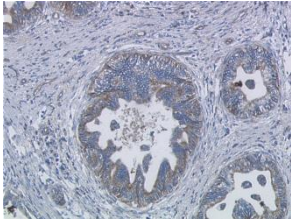
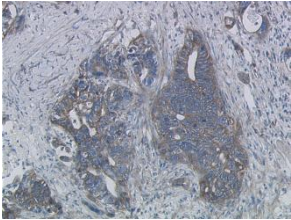
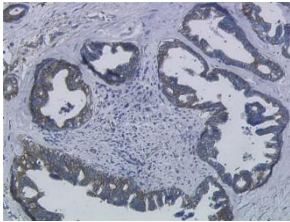
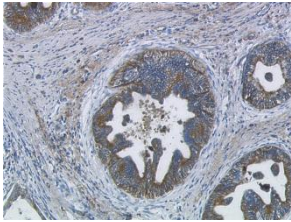
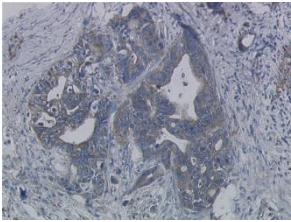
	PAN 35	PAN 29	PAN 32
HE			
Neg			
Pos			
LM-1			
PAM-1			

Abb. 6: **Immunhistochemische Färbungen der IgM-Antikörper PAM-1 und LM-1 an exemplarisch ausgewählten Fällen von Pancreascarcinomen:** Die Paraffinschnitte wurden mit Hämatoxylin/Eosin (HE), nur dem Sekundär-Antikörper als Negativ-Kontrolle, der jeweiligen Positivkontrolle (laut Tabelle 6) und 9 µg/ml des Antikörpers PAM-1 bzw. mit 25 µg/ml des Antikörpers LM-1 gefärbt. Die Bilder zeigen exemplarisch die deutliche spezifische Bindung der beiden humanen Antikörper an Tumorzellen; normale Zellen des gesunden umgebenden Gewebes bleiben unberührt.

In der folgenden Tabelle 12 sind die Ergebnisse der immunhistochemischen Studien auf insgesamt 35 Fällen von Adenocarcinomen bzw. neuroendokrinen Carcinomen des Pankreas zusammengefasst. Im Anhang ist sie nochmals aufgeführt, mit zusätzlichen Informationen bezüglich Herkunft, Staging und Entdifferenzierung der Tumoren. Bis auf 6 Fälle bei der Reaktion mit PAM-1 und 2 Einzelfälle in der Reihenuntersuchung mit LM-1, bei denen sich nur eine sehr schwach ausgeprägte Reaktion zeigt, und in einem Fall, bei dem die Reaktion mit PAM-1 negativ war, waren die sonstigen Ergebnisse durchgehend eindeutig positiv. Es ist eine deutliche tumorspezifische Reaktion der Antikörper PAM-1 und LM-1 erkennbar. Das die Tumoren umgebende Normalgewebe wurde dagegen nicht angefärbt.

	<b>Tumor</b> Histologie, Staging und Grading (soweit bekannt)	<b>RPMI</b> Negativ- kontrolle	<b>CpIgM</b> Negativ- kontrolle	<b>CK 7</b> Positiv- kontrolle	<b>PAM-1</b>	<b>LM-1</b>
					Grading Intensität % pos. Tumorzellen	Grading Intensität % pos. Tumorzellen
PAN1	Wenig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	+ - ++ 60-70%	+ 70-80%
PAN2	Wenig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub> V <sub>1</sub>	-	-	+	neg - + 10-20%	neg - + 20-30%
PAN3	Hochdiff. endokrines Carcinoid pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub>	-	-	+	+ >95%	+ - ++ >95%
PAN4	Wenig diff.endokrines Pancreas- Ca (Carcinoid) L <sub>1</sub>	-	-	+	+ 70-80%	++ 90%
PAN5	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>1</sub> G <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	+ - ++ 70-80%	+ 90%
PAN6	Hellzelliges Adeno-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub>	-	-	+	++ >95%	+++ - +++ >95%
PAN7	Periampulläres Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	neg - + 40-50%	+ - ++ 90%

PAN8	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>4</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	neg - + 40-50%	+ - ++ 70-80%
PAN9	Wenig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	+ - ++ 70-80%	+++ >95%
PAN10	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1a</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	neg - + 70-80%	++ 90%
PAN11	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	+ - ++ 70-80%	neg - +++ 90%
PAN12	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ - +++ 70-80%	neg - ++ 70-80%
PAN13	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ - ++ 60-70%	+ - ++ 90%
PAN14	Hoch differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>1</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	++ 90%	+++ >95%
PAN15	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1a</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ - ++ >95%	++ - +++ >95%
PAN16	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ - +++ >95%	+++ >95%
PAN17	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>4</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> V <sub>1</sub>	-	-	+	+++ >95%	+++ >95%
PAN18	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+++ >95%	+++ >95%
PAN19	Wenig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	+ - ++ 90%	++ >95%
PAN20	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ - ++ 90%	+ - ++ >95%

PAN21	Mäßig - wenig diff. Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2-3</sub> V <sub>1</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	++ 90%	+++ - +++ 90%
PAN22	Wenig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub> V <sub>1</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	neg - + 70-80%	neg - + 90%
PAN23	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ - +++ 90%	++ >95%
PAN24	Wenig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	+ - +++ >95%	++ 90%
PAN25	Gut differenziertes, neuroendokrines Ca	-	-	-	+ >95%	+ - +++ >95%
PAN26	Wenig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	- 0-10%	+++ 90%
PAN27	Mäßig bis wenig differenziertes, Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1a</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2-3</sub>	-	-	+	+++ >95%	+++ >95%
PAN28	Hoch differenziertes endokrines Carcinom	-	-	-	++ >95%	++ >95%
PAN29	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	neg - + 90%	++ >95%
PAN30	Mäßig - wenig diff. Adeno-Ca pT <sub>4</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>1</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ - +++ 90%	+ - +++ 90%
PAN31	Mäßig - wenig diff. Adeno-Ca pT <sub>4</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>1</sub> G <sub>3</sub>	-	-	+	++ >95%	++ >95%
PAN32	Wenig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub> L <sub>1</sub>	-	-	+	++ >95%	+ - +++ >95%
PAN33	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	+ - +++ >95%	++ >95%

PAN34	Hoch differenziertes, neuroendokrines Carcinom	-	-	-	++ >95%	++ >95%
PAN35	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	-	-	+	++ >95%	++ - +++ >95%

Tabelle 12: Ergebnisse der Färbungen mit den Antikörpern LM-1 und PAM-1 an Gewebeproben verschiedener Pancreascarcinome

### 3.3 Ergebnissbewertung mit Bezug zu klinischen Tumorstadien

Die in den Ergebnistabellen 9, 10, 11 und 12 aufgezeigten Auswertungen der Färbungen bezüglich Grading/Intensität und dem prozentualen Anteil der angefärbten Tumorzellen, wurden angefertigt, um diese mit klinischen Parametern wie dem TNM-Stadium und dem histologischen Differenzierungsgrad G in Verbindung zu bringen. Dabei sollten etwaige Korrelationen zwischen Verteilung und Expression des betreffenden Tumorantigens und Entdifferenzierung bzw. Fortschreiten des Tumorstadiums betrachtet werden. Zusätzlich wurde eine quantitative Einschätzung getroffen, um den prozentualen Anteil der gefärbten Tumorzellen zu beschreiben, welche ebenfalls in der tabellarischen Zusammenfassung der Ergebnisse festgehalten wurde. Beobachtungen dieser Art können Rückschlüsse über die Expression des jeweiligen spezifischen Tumorantigens ermöglichen. Man kann dabei versuchen zu zeigen, ob das fragliche Antigen im Laufe der Entwicklung eines Tumors, dem Fortschritt seines Stadiums, oder bezüglich seines Differenzierungsgrades, Veränderungen betreffend das qualitative und auch quantitative Vorkommen aufweist, bzw. ob Tumoren die Expression dieser spezifischen Antigene im Laufe ihrer Entwicklung modulieren.

Die folgenden Abbildungen 7 und 8 zeigen exemplarisch die in der Wertung der Ergebnistabellen vorgenommenen Einstufungen der Färbeergebnisse bezüglich des Grades der Intensität an Einzelfällen von einigen untersuchten Adenocarcinomen der Lunge.



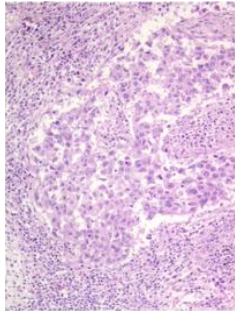
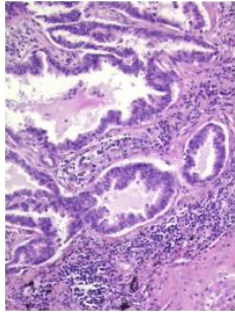
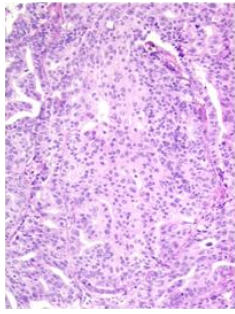
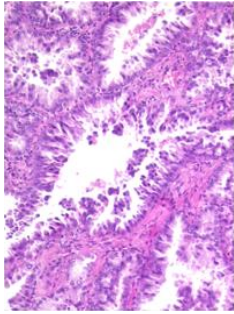
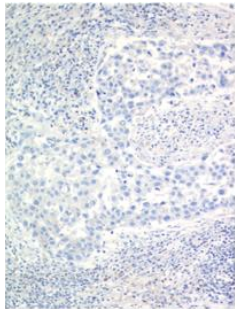
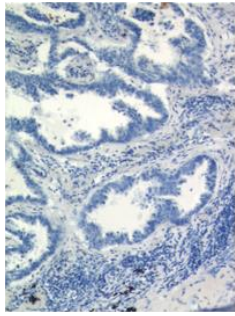
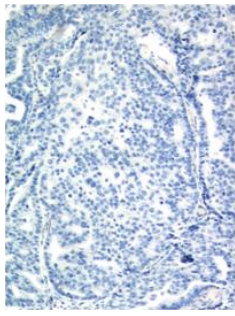
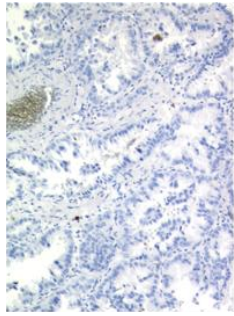
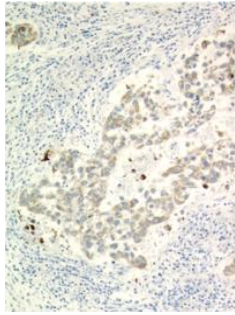
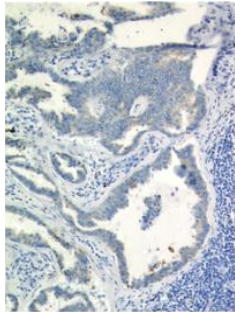
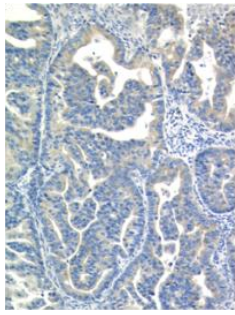
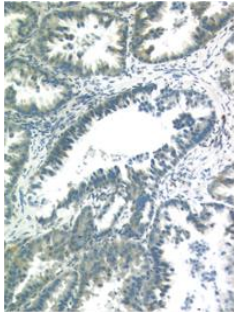
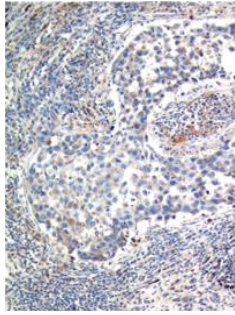
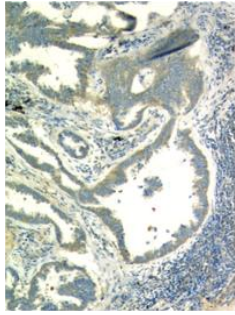
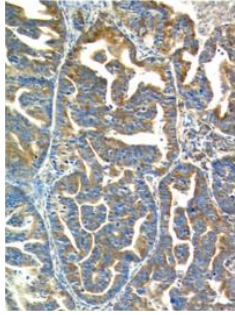
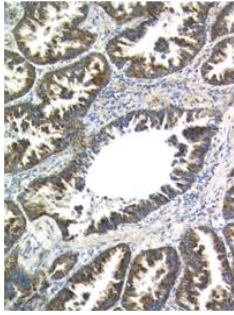
	LA 17 Grading -/+	LA 16 Grading +	LA 15 Grading ++	LA 10 Grading +++
HE				
Neg				
Pos				
LM-1				

Abb. 7: Immunhistochemische Färbung des IgM-Antikörpers LM-1 exemplarischer Fällen pulmonaler Adenocarcinome: Paraffinschnitte wurden mit Hämatoxylin/Eosin (HE), dem Sekundär-Antikörper als Negativ-Kontrolle, der Positivkontrolle (laut Tabelle 6) und mit 25 µg/ml des Antikörpers LM-1 gefärbt. Es zeigt sich von links nach rechts eine Zunahme der Intensität der Färbung.



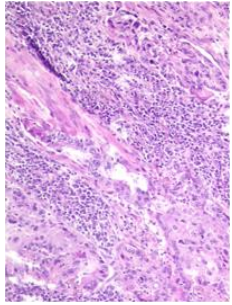
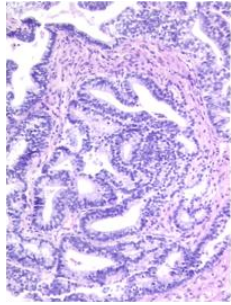
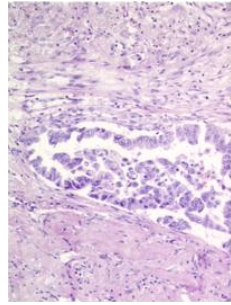
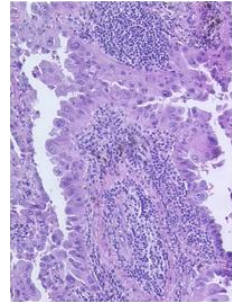
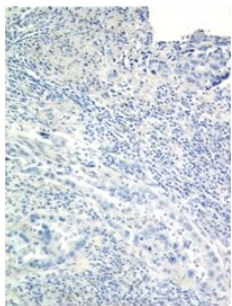
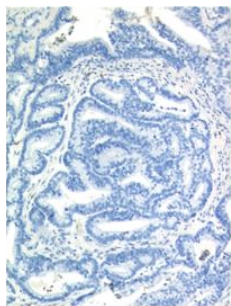
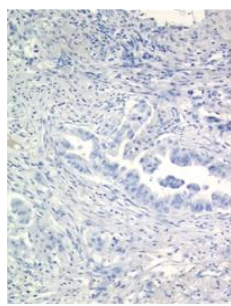
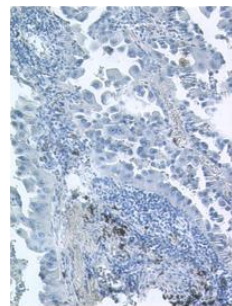
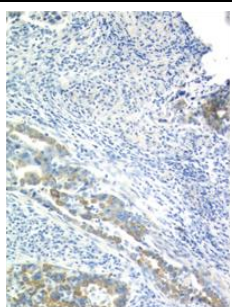
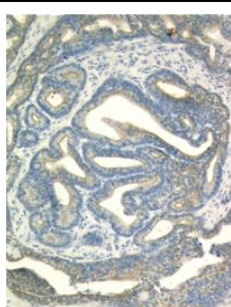
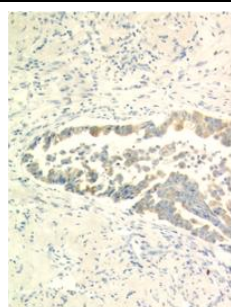
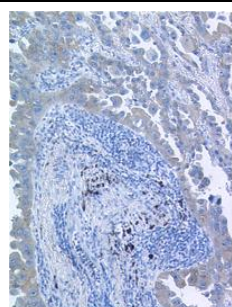
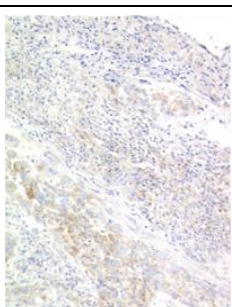
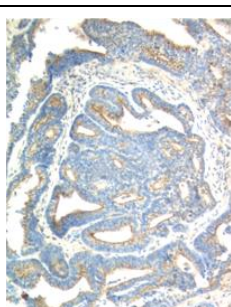
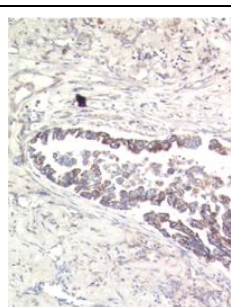
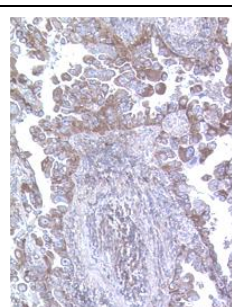
	LA 9 Grading -	LA 21 Grading +	LA 20 Grading ++	LA 18 Grading +++
HE				
Neg				
Pos				
PAM-1				

Abb. 8: Immunhistochemische Färbungen des IgM-Antikörpers PAM-1 an exemplarisch Fällen pulmonaler Adenocarcinome: Paraffinschnitte wurden mit Hämatoxylin/Eosin (HE), dem Sekundär-Antikörper als Negativ-Kontrolle, der Positivkontrolle (laut Tabelle 6) und 9 µg/ml des Antikörpers PAM-1 gefärbt. Es zeigt sich von links nach rechts eine Zunahme der Intensität der Färbung.



Insgesamt lässt sich aufgrund der gewonnenen Ergebnisse feststellen, dass soweit kein engerer Zusammenhang zwischen der Entwicklung der Tumorbiologie oder des klinischen Tumorstadiums und der Verteilung oder der Quantität der Expression der Rezeptoren für PAM-1 und LM-1 besteht. Bei allen vier Tumorkliniken die hier untersucht wurden waren breit gestreute Verteilungen vorzufinden. Der prozentual angefarbte Anteil der Zellen zeigte bei jedem der Tumoren sowohl bei T<sub>1</sub>-, als auch bei T<sub>4</sub>-Tumorstadien gute bis sehr gute Resultate, genauso wie es auch bezüglich der Intensität der Färbungen nachvollziehbar war. Aber auch den Grad der Entdifferenzierung betreffend waren breite Ergebnisverteilungen zu Verzeichnen, sowohl mit starken und als auch schwächeren Ausprägungen, bei gut differenzierten G<sub>1</sub>-Tumoren, wie auch bei G<sub>3</sub>-Tumoren, die ihre Differenzierung zum Großteil verloren haben.

Hieraus lässt sich Schlussfolgern, dass die hier durch die immunhistochemische Untersuchung charakterisierten tumorspezifischen Antigene sich in Ihrer Präsentation und Expression sehr konstant verhalten. Die Rezeptoren für LM-1 und PAM-1 scheinen verlässliche Marker für multiple epitheliale Tumoren und deren Vorstufen zu sein und können somit als wertvolles diagnostisches Mittel eingesetzt werden. Inwieweit sich diese Konstanz und deren klinische Auswirkung auf therapeutische Maßnahmen übertragen lässt, bleibt jedoch vorerst noch weiteren Untersuchungen überlassen.

#### 4 Diskussion

Im Zuge dieser Arbeit wurden die beiden humanen, keimbahn-kodierten, monoklonalen Antikörper der IgM-Klasse PAM-1 und LM-1 untersucht, die mit Hilfe der humanen Hybridomatechnologie aus Geweben von Tumorpatienten gewonnen wurden. Es liess sich zeigen, daß beide Antikörper gegenüber den ausgewählten Tumoren eine deutlich konstante spezifische Bindung an tumoreigenen Antigenen aufweisen und normales, gesundes Gewebe unberührt lassen. Die betreffenden Oberflächenantigene zeigen sich ausschliesslich auf Tumorzellen und deren Expression scheint soweit keinen Zusammenhang mit dem Stadium des Tumors oder dem Differenzierungsgrad der Tumorzellen aufzuweisen. Somit hätten beide Antikörper gute Eigenschaften, um im Rahmen von immunhistochemischer Diagnostik zur histopathologischen Begutachtung von Gewebeproben als wegweisende Hilfsmittel Anwendung zu finden. Desweiteren haben bereits weiterführende Untersuchungen gezeigt, daß LM-1 zumindest in vitro und PAM-1 sowohl in vitro als auch in vivo die Fähigkeit besitzen an Tumorzellen Apoptose zu induzieren und somit auch therapeutisch wertvolle Eigenschaften zu besitzen scheinen.

Monoklonale Antikörper spielen eine immer größer werdende Rolle in der Therapie von verschiedenen Erkrankungen wie Rheuma, koronarer Herzerkrankung, M. Crohn, Multipler Sklerose und zahlreichen Malignomen. Es befinden sich zahlreiche Antikörper in Zulassungsverfahren oder sind bereits für die Therapie am Patienten zugelassen. Jedoch sind die wenigsten Antikörper gegen Malignome gerichtet. Bisher gibt es in Deutschland nur 7 für die Onkologie zugelassene Antikörper, darunter Avastin<sup>®</sup>, Erbitux<sup>®</sup>, Mabthera<sup>®</sup>, Herceptin<sup>®</sup>, MabCampath<sup>®</sup>, Vectibix<sup>®</sup>, Zevalin<sup>®</sup> (Rote Liste 2009). Erstaunlicherweise handelt es sich bei den meisten zugelassenen und in Entwicklung befindlichen Antikörpern um murine Antikörper, und um v.a. solche, die gegen Antigene wie Wachstumsfaktoren - wie EGFR, VEGF - oder CD20-Antigene auf Lymphozyten gerichtet sind. Diese zeigen eine Überexpression auf Tumorzellen aber keine Exklusivität. Somit sind die bisherigen angewandten Antikörper auch eher als tumorassoziiert und nicht als tumorspezifisch zu bewerten.

Humane monoklonale Antikörper stellen aufgrund ihrer Eigenschaften eine erfolgversprechende Alternative dar. Mit Hilfe der Hybridomatechnik können solche Antikörper generiert werden. Bei den hierbei entwickelten Stoffen handelt es sich fast

ausschließlich um tumorreaktive und -spezifische IgM-Antikörper, die keimbahnkodiert sind und nur wenige Mutationen aufweisen. Die bislang im pathologischen Institut der Universität Würzburg isolierten Antikörper stammten sowohl von Geweben gesunder Menschen, als auch von an einem Tumor erkrankten Patienten. Somit handelt es sich bei den gewonnenen Rezeptoren höchstwahrscheinlich um natürliche, nicht affinitätsgereifte Antikörper, und nicht um das Ergebnis einer T-Zell-abhängigen Tumorummunität. (Brändlein et al, 2002; Bränlein und Vollmers, 2004; Vollmers and Brändlein, 2006)

Unser angeborenes, ungereiftes Immunsystem, welches sich aus natürlichen Killerzellen, Mastzellen, dendritischen Zellen und natürlichen IgM-Antikörpern zusammensetzt, scheint eine tragende Rolle beim Schutz unseres Körpers vor neoplastischen Erkrankungen zu spielen. Schon Anfang des 20. Jahrhunderts, wurde darüber spekuliert, daß unser Immunsystem in der Lage sein muss, die Entstehung von Carcinomen zu verhindern (Ehrlich, 1909). Ca. 50 Jahre später stellten Burnet und Thomas ihre Theorie eines Immunüberwachungssystems gegen Krebs auf. Burnet behauptete, daß entartete Zellen über antigene Eigenschaften verfügen, welche eine Reaktion des Immunsystems hervorrufen können, die zur Regression von Malignomen führen könnte (Burnet, 1957). Thomas erklärte sogar, daß die wichtigste Rolle der Immunität der Schutz vor Neoplasien sei, und nicht die Erkennung von körperfremden Partikeln (Thomas, 1959). Sie schlussfolgerten, dass es im Rahmen der Evolution unabdingbar sei über Mechanismen zu verfügen, welche potentiell gefährlich mutierte Zellen eliminieren können, da es in unserem Körper gewöhnlich zu genetischen Veränderungen in somatischen Zellen kommen muss, bedenkt man die Häufigkeit und die Fülle aller sich teilenden Zellen eines Organismus im Laufe des Lebens (Burnet, 1964, 1970).

Diese Theorie scheint sich auch nach neueren Erkenntnissen nicht von der Hand weisen zu lassen. Es gibt einige Studien über organtransplantierte, und somit immunsupprimierte Patienten, welche über Jahrzehnte nachbeobachtet wurden. Dabei zeigten sich eindeutig signifikant erhöhte Risiken, diverse Malignome, wie u.a. maligne Melanome, non-Kaposi-Sarkome, oder Lungenkrebs zu entwickeln, die sich nicht auf einen viralen Ursprung oder eine andere infektiöse Erkrankung zurückführen ließen (Penn, 1996, 1995; Pham, 1995). Somit scheint ein deutlicher Zusammenhang zwischen

einer Schwäche des Immunsystems und dem vermehrten Auftreten verschiedenster Neoplasien zu bestehen, welche sich durch die fehlende Überwachung durch das innate Immunsystem erklären lässt.

Weiterhin wird die Hypothese der Überwachung durch unser Immunsystem dadurch unterstützt, dass der Nachweis von Lymphozyten innerhalb eines Tumors für eine bessere Überlebenschance des Patienten spricht. So konnte bei Patienten mit cutanem Melanom gezeigt werden, daß eine Infiltration des Tumors mit Lymphozyten mit besseren Überlebensraten korreliert war. Ähnliche Beobachtungen liessen sich auch bei anderen malignen Erkrankungen, wie z.B. des Colons oder der Blase machen (Lipponen, 1992; Naito, 1998). Es zeigt sich also, daß die Entstehung und Entwicklung maligner Erkrankungen durch unser Immunsystem beeinflusst wird.

Die innate Immunität ist ein vererbtes Abwehrsystem, welches dem Organismus über initial vorhandene Mechanismen den ersten Schutz gegen pathogene Strukturen bietet. Sie unterscheidet zwischen körpereigen und körperfremd und ist in der Lage, früh gegen bakterielle und virale Partikel, aber auch gegen maligne entartete Zellen einzuschreiten (Janeway, 1989; Vollmers et al., 1989; Brändlein et al., 2003b; Brändlein et al., 2004). Dabei stützt sich unsere angeborene Abwehr auf einen eher begrenzten, keimbahncodierten Pool von membrangebundenen Rezeptoren (pattern recognition patterns - PRRs) ähnlich der humanen IL-1-Rezeptorenfamilie und der „Toll“-ähnlichen Proteine der Drosophila (toll-like-receptors – TLRs) (Medzhitov, 2001; Pasare, Medzhitov, 2005) . Diese erkennen vornehmlich starre, konservative Strukturen und Muster, sog. „PAMPs“ – pathogen-associated molecular patterns, wie z.B. Carbohydateinheiten an Glykolipiden oder Glykoproteinen, welche sich ohne von Mutationen verändert zu werden darstellen (Janeway, 1989, Medzhitov, Janeway, 2002). Die Strategie der Erkennung von PAMPs sorgt für ein breites Antigenpektrum, welches sich durch ein relativ eingeschränktes Angebot an Rezeptoren abdecken und nicht durch Veränderungen der Epitope durch Mutationen beeinträchtigen lässt. Krebsassoziierte Aberrationen der Glykosylierung sind sowohl Über- und Unterexpressionen, als auch Neuexpressionen von Glykanen. Ein Beispiel solcher bekannten membrangebundenen Strukturen mit modifiziert glykosylierten Mustern auf kanzerösen Zellen sind die Hitze-Schock-Proteine. Sie zeigen sich typischerweise auf Tumorzellen überexprimiert und verändert und gehen mit einem höheren

Malignitätsgrad und einer schlechteren Prognose der Grunderkrankung einher ( Macario and Conway de Macario, 2005; Ma and Hendershot, 2004; Li and Lee, 2006). Solche tumorassoziierten membran-gebundenen Carbohydratantigene scheinen bevorzugte Zielstrukturen der Überwachung durch das innate Immunsystem und v.a. der natürlichen IgM-Antikörper zu sein.

Die natürlichen Antikörper spielen innerhalb der angeborenen Immunität eine entscheidende Rolle. Sie werden von CD5<sup>+</sup>-Lymphozyten gebildet, sind keimbahnkodiert und nicht affinitätsgereift und gehören vornehmlich zum pentameren IgM-Isotyp (Brändlein et al, 2002; Brändlein et al, 2003b). In den letzten Jahren ist es gelungen aus verschiedenen erkrankten und gesunden Patienten mehrere solcher natürlicher Antikörper zu isolieren. Interessanterweise binden diese Antikörper bislang meist an Carbohydrateinheiten an postranskriptionell modifizierten Oberflächenrezeptoren maligne entarteter Zellen von bösartigen Tumoren oder auch deren Vorläuferläsionen (Vollmers and Brändlein, 2006, 2007).

Diesbezüglich ein durchaus beeindruckender Representant der humanen monoklonalen keimbahnkodierten IgM-Antikörper ist der in der Einleitung bereits beschriebene und im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Antikörper PAM-1. Dieser bindet an eine postranskriptionell modifizierte Version von CFR-1. Dieser Wachstumsrezeptor erscheint in dieser Variante (CFR-1/PAM-1) und wird auf malignen Zellen überexprimiert gefunden. PAM-1 bindet an ein stickstoffgebundenes Carbohydratepitop dieses Wachstumsrezeptors, welches exklusiv auf malignen Zellen und deren Vorläuferläsionen vorzukommen scheint. PAM-1 ist darüberinaus in der Lage in vitro, wie auch in Tierversuchen Apoptose zu induzieren und somit Tumorwachstum zu inhibieren. (Brändlein et al, 2003a, 2004a, 2004b; Hensel et al, 2001a; Vollmers und Brändlein, 2006, 2007, 2009)

Ein weiterer Vertreter ist der ebenfalls humane monoklonale Antikörper SC-1. Dieser konnte aus Geweben eines Patienten mit Siegelringzellcarcinom isoliert werden. Er bindet an eine modifizierte Variante des „Decay accelerating factors“ (DAF) oder CD55, welches die Zelle normalerweise vor Lyse durch das Complementsystem bewahrt. Auf Tumorzellen von Magencarcinomen kann dieser CD55/SC-1-Rezeptor in seiner veränderten Form zusätzlich zur Normvariante von CD55 angetroffen werden. Auch hier ist die SC-1-bindende Region ein stickstoffgebundenes Carbohydratepitop

auf der Isoform DAF<sup>SC-1</sup>. SC-1 induziert ebenfalls Apoptose in vitro und in experimentellen in vivo-Systemen. Klinische Studien konnten bereits zeigen, dass SC-1 in der Lage ist eine Regression des Primärtumors bei Patienten mit Magencarcinom zu induzieren ohne dabei gefährliche Kreuzreaktionen mit normalem Gewebe hervorzurufen. (Hensel et al, 1999a, 2001b; Vollmers et al, 1989, 1998b; Mikesch et al, 2006; Vollmers und Brändlein, 2006, 2007, 2009)

Der humane monoklonale IG-M-Antikörper SAM-6 zeigte bisher ebenfalls ein rein tumorspezifisches Verhalten. Sein Rezeptor ist ein sauerstoffgebundenens Carbohydratepitop des exklusiv auf malignen Zellen überexprimiert vorkommenden, posttranskriptionell modifizierten GRP78, ein Vertreter der Hitze-Schock-Protein 70kDa Familie. SAM-6 war in der Lage tumorspezifische Apoptose durch intrazelluläre Anhäufung von Lipiden auszulösen. (Pohle et al, 2004; Brändlein et al, 2007; Vollmers und Brändlein, 2007 und 2009)

Diese natürlichen Antikörper sind gute Beispiele dafür, wie das innate Immunsystem sehr wohl in der Lage ist, auf maligne Zellen Einfluss zu nehmen und in die Entwicklung eines bösartigen Tumors eingreifen zu können. Bleibt die Frage zu klären, wann die Progression eines Tumor an unserem Immunsystem vorbei ablaufen kann. Eine interessante Theorie diesbezüglich beschreibt die Hypothese über das „cancer Immunoediting“. Hier wird ausgehend von der Idee von Burnet und Thomas der „cancer immunosurveillance“ noch über die Funktion des Schutzes für den Organismus hinaus diskutiert, inwiefern das Immunsystem selbst an der Entwicklung und Formung der Eigenschaften eines Tumors beiteiligt sein kann. Es wäre doch möglich, dass unsere Abwehr eine Selektion im Sinne von Darwin's „survival oft he fittest“ hervorruft, bei der sich mehrere Varianten des Tumors mit verschiedenen antigenen und immunogenen Eigenschaften entwickeln kann und erst die erfolgreichste unter ihnen in der Lage ist, sich durchzusetzen. Das quasi unser Immunsystem einen Selektionsdruck auf Tumorzellen ausübt, welcher in einem Bett aus genetisch instabilen und schnell mutierenden Zellen nicht ausreichend ist, um das neoplastische Geschehen völlig zu unterbinden. Neue Varianten können entstehen, die dann vielleicht resistent genug sind, um einen Angriff unseres Immunsystems stand zu halten, sich durchzusetzen und unkontrolliert auszubreiten. (Dunn et al 2002)

Dies zeigt, daß die Diskussion von Sinn und Funktion unseres Immunsystems und dabei im Speziellen unserer angeborenen Abwehr in vielerlei Hinsicht noch in den Kinderschuhen steckt. Aber sicher ist, daß mit Hilfe der Hybridomatechnik Antikörper isoliert werden konnten, die nicht nur diagnostischen und äußerst wertvollen therapeutischen Zwecken dienen können, sondern daß durch die Entdeckung und Charakterisierung dieser Antikörper und der Erforschung ihrer Eigenschaften wichtige Erkenntnisse über die betreffenden Antigene gemacht werden können. Darüberhinaus werfen die laufenden Untersuchungen viele spannende Fragen auf und geben zahlreiche Hinweise, über die sich Rückschlüsse auf die komplexen Interaktionen innerhalb der Abläufe unseres Organismus folgern lassen. Hier deuten sich für die Entschlüsselung der Rolle unseres Immunsystems in der Onkologie interessante Aspekte an, die uns möglicherweise auf lange Sicht weitere Erkenntnisse über das Wesen maligner Erkrankungen bringen, aus denen sich vielleicht Optionen eröffnen, die sich in ferner Zukunft als Grundstein zur Therapie oder Prophylaxe von Krebs nutzen lassen.

## 5 Zusammenfassung

Humane Antikörper sind aufgrund ihrer spezifischen, zielgerichteten Eigenschaften die idealen therapeutischen Waffen unserer modernen Medizin. Schon im ausgehenden letzten Jahrhundert gelang es dem pathologischen Institut der Universität Würzburg einige rein humane monoklonale Antikörper aus Geweben sowohl gesunder, als auch an einem Tumorleiden erkrankter Patienten zu isolieren.

Zwei dieser Antikörper galt es im Rahmen dieser Arbeit näher zu untersuchen: LM-1 und PAM-1. Mithilfe immunhistochemischer Färbungen auf Paraffinschnitten von Adenocarcinomen des Colons, Carcinomen des Pancreas und Adeno- und Plattenepithelcarcinomen der Lunge ließ sich eindeutig demonstrieren, daß bei beiden Antikörpern eine tumorspezifische Reaktivität ohne Kreuzreaktion mit den umgebenden gesunden Geweben auf fast allen der ausgewählten Fälle der begutachteten Tumorarten vorlag. Daraus lässt sich eine konstante und selektive Expression der jeweiligen Antigene auf den maligne entarteten Zellen folgern, die sich auch bei Betrachtung der Stadien der Tumoren und des Gradings der Zellen ubiquitär zeigte. Damit scheint es soweit keinen Zusammenhang zwischen der Entdifferenzierung der tumorösen Zellen, als auch der Größe und des Fortschreiten des Tumors erkennen.

Die hier demonstrierten Ergebnisse lassen sowohl PAM-1 als auch LM-1 als verlässliche Marker für multiple epitheliale Tumoren und deren Vorstufen erscheinen und können somit als wertvolles diagnostisches und warscheinlich auch therapeutisches Mittel eingestuft werden, doch muss die Diskussion dieser Aspekte weiterführenden Untersuchungen überlassen werden.



## 6 Literaturverzeichnis

### 6.1 Verwendete Literatur

Adis International limited, Wolters Kluger Group (2004). Natalizumab: AN 100226, anti-4alpha integrin monoclonal antibody. *Drugs in R&D* 5, 102-107

Asano, R., Kawaguchi, H., Watanabe, Y., Nakanishi, T., Umetsu, M., Hayashi, H., Katayose, Y., Unno, M., Kudo, T., Kumagai, I. (2008). Diabody-based recombinant formats of humanized IgG-like bispecific antibody with effective retargeting of lymphocytes to tumor cells. *J Immunother* 31, 752-761

AWMF online (2006), Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften. Interdisziplinäre Leitlinie der Deutschen Krebsgesellschaft und der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie. Informationszentrum für Standards in der Onkologie, ISTO. S3-Leitlinie Exokrines Pancreaskarzinom. AWMF-Leitlinien-Register Nr. 032/010. Letzte Aktualisierung Oktober 2006. [www.uni-duesseldorf.de/WWW/AWMF/II/032-010.htm](http://www.uni-duesseldorf.de/WWW/AWMF/II/032-010.htm)

AWMF online (2004) ,Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften. Interdisziplinäre Leitlinie der Deutschen Krebsgesellschaft e.V.. Informationszentrum für Standards in der Onkologie, ISTO. Therapie des kleinzelligen Lungenkarzinoms. AWMF-Leitlinien-Register Nr. 032/006. Letzte Aktualisierung Januar 2004. [www.uni-duesseldorf.de/WWW/AWMF/II/032-006.htm](http://www.uni-duesseldorf.de/WWW/AWMF/II/032-006.htm)

AWMF online (2004) ,Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften. Interdisziplinäre Leitlinie der Deutschen Krebsgesellschaft e.V.. Informationszentrum für Standards in der Onkologie, ISTO. Therapie des nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms. AWMF-Leitlinien-Register Nr. 032/007. Letzte Aktualisierung Januar 2004. [www.uni-duesseldorf.de/WWW/AWMF/II/032-007.htm](http://www.uni-duesseldorf.de/WWW/AWMF/II/032-007.htm)

Bansal, P., Sonnenberg, A. (1995). Pancreatitis is a riskfactor for pancreatic cancer. *Gastroenterology* 110, 247-251 ; Comment in *Gastroenterology* 1996 110, 968-969

- Becher, H., Wahrendorf, J. (1994). Passivrauchen und Lungenkrebs – Gegenwärtiger epidemiologischer Kenntnisstand und Abschätzung mit Anwendungsbeispielen. Bericht 7/95 des Umweltbundesamtes. Erich Schmidt Verlag, Berlin
- Becker, N., Eis, D., Fromme, H. Krebserzeugende Agentien (Lieferung April 1996). In: Beyer, A., Eis, D. (Eds) Praktische Umweltmedizin. Springer, Berlin Heidelberg, New York 1993
- Bedenne, L., Faivre, J., Boutron, M.C., Piard, F., Cauvin, J.M., Hillon, P. (1992). Adenoma-carcinoma sequence or “de novo” carcinogenesis? A study of adenomatous remnants in a population-based series of large bowel cancers. *Cancer* 69, 883-888
- Berchtold, R. , Hamelmann, H., Peiper, H.-J. (2001). Chirurgie. Herausgegeben von Bruch, H.-P., Trentz, O.. 4. überarbeitete und erweiterte Auflage, Urban und Fischer, München Jena
- Boel, E., Verlaan, S., Poppelier, M.J., Westerdaal, N.A., Van Strijp, J.A., and Logtenberg, T. (2000). Functional human monoclonal antibodies of all isotypes constructed from phage display library-derived single-chain Fv antibody fragments. *J Immunol Methods* 239, 153-166.
- Boffetta, P., Kogevinas, M., Simonato, L., Wilbourn, J., Saracci, R. (1995). Current perspectives on occupational cancer risks. *Int J Occup Environ Health* 1, 315-325
- Bohn, J. (1999). Are natural antibodies involved in tumour defence? *Immunol Lett* 69, 317-320.
- Borchmann, P., Riethmuller, G., and Engert, A. (2001). Monoclonal antibodies: development and clinical prospects. *Internist (Berl)* 42, 803-4, 807-814.
- Bokemeyer, C., Hartmann, J.T., and Kanz, L. (1997). Current aspects of adjuvant and palliative chemotherapy in colorectal carcinoma. *Schweiz Rundsch Med Prax* 86, 1510-1516.

- Brändlein, S., Lorenz, J., Ruoff, N., Hensel, F., Beyer, I., Müller, J., Neukam, K., Eck, M., Müller-Hermelink, H.K., Vollmers, H.P. (2002). Human monoclonal IgM antibodies with apoptotic activity isolated from cancer patients. *Hum Antibodies* 11 (4), 107-119.
- Brändlein, S., Beyer, I., Eck, M., Bernhardt, W., Hensel, F., Müller-Hermelink, H.K., Vollmers, H.P. (2003a). CFR-1, a new marker for precancerous epithelial lesions defined by the human monoclonal antibody PAM-1. *Cancer Res* 63, 2052-2061.
- Brändlein, S., Pohle, T., Wozniak, E., Müller-Hermelink, H.K., Vollmers, H.P. (2003b). Natural IgM Antibodies and Immunosurveillance Mechanisms against Epithelial Cancer Cells in Humans. *Cancer Res* 63, 7995- 8005
- Brändlein, S., Eck, M., Strobel, P., Wozniak, E., Müller-Hermelink, H.K. (2004a). PAM-1, a natural human IgM antibody as new tool for detection of breast and prostate precursors. *Hum Antibodies* 13(4), 97-104
- Brändlein, S., Pohle, T., Vollmers, C., Wozniak, E., Ruoff, N., Müller-Hermelink, H.K., Vollmers, H.P. (2004b). CFR-1 receptor as target for tumor-specific apoptosis induced by the natural human monoclonal antibody PAM-1. *Oncology Reports*, 11, 777-784
- Brändlein, S., Vollmers, H.P. (2004). Natural IgM antibodies, the ignored weapons in tumour immunity. *Histol Histopathol* 19, 897-905
- Brändlein, S., Rauschert, N., Rasche, N., Dreykluft, A., Hensel, F., Conzelmann, E., et al (2007). The human IgM antibody SAM-6 induces tumorspezific apoptosis with oxidized LDL. *Mol Cancer Ther* 6(1), 326-333
- Brat, D.J., Lillemoe, K.D., Yeo, C.J., Warfield, P.B., Hruban, R.H. (1998). Progression of pancreatic intraductal neoplasias to infiltratin adenocarcinoma of the pancreas. *Am J Surg Pathol* 22, 163-169
- Breedveld, F.C. (2000). Therapeutic monoclonal antibodies. *Lancet* 355, 735-740.

- Brennan, P., Buffler, P.A., Reynolds, P., Wu, A.H., Wichmann, H.E., Agudo, A., Pershagen, G., Jockel, K.H., Benhamou, S., Greenberg, R.S., Merletti, F., Winck, C., Fontham, E.T., Kreuzer, M., Darby, S.C., Forastiere, F., Simonato, L., Boffetta, P.; IRAC, Lyon, France (2004). Secondhand smoke in adulthood and risk of lung cancer among never smokers: a pooled analysis of two large studies. *Int J Cancer* *109*, 125-131
- Brentnall, T.A., Bronner, M.P., Byrd, D.R., Haggitt, R.C., Kimmey, M.B. (1999). Early Diagnosis and Treatment of Pancreatic Dysplasia in Patients with a Family History of Pancreatic Cancer. *Ann Intern Med* *131*, 247-255
- Buchhagen, D.L. (1991). Molecular mechanisms in lung pathogenesis. *Biochim Biophys Acta* *10*, 159-176
- Burnet, F. M. (1957). Cancer – a biological approach. *Brit Med J* *1*, 841-847
- Burnet, F. M. (1964). Immunological factors in the process of carcinogenesis. *Br Med Bull* *20*, 154-158
- Burnet, F. M. (1970). The concept of immunological surveillance. *Prog Exp Tumor Res* *13*, 1-27
- Burrus, L.W., Zuber, M.E., Lueddecke, B.A., and Olwin, B.B. (1992). Identification of a cysteine-rich receptor for fibroblast growth factors. *Mol Cell Biol* *12*, 5600-5609.
- Calle, E.E., Murphy, T.K., Rodriguez, C., Thun, M.J., Heath jr., C.W. (1998). Diabetic mellitus and pancreatic cancer mortality in a prospect cohort of United States adults. *Cancer Causes and Control* *9*, 403-410
- Chames, P., Baty, D. (2009). Bispecific antibodies for cancer therapy: the light at the end of the tunnel?. *MAbs* *1*, 539-547
- Chen, J.H., Shen, W.C. (2000). Rectal carcinoma with stereostercoral ulcer perforation. *Hepatogastroenterology* *47*, 1018-1019

- Cho, K.R., Vogelstein, B. (1992). Genetic alterations in the adenoma-carcinoma sequence. *Cancer* 70 (Suppl 6), 1727-1731
- Clark, M. (2000). Chimeric and humanised-misunderstood. *Lancet* 355, 1557.
- Colecchia, G., Nardi, M. (1999). Colorectal cancer in pregnancy. A case report. *G Chir* 20, 159-161
- Crnogorac-Jurcevic, T., Efthimiou, E., Capelli, P., Blaveri, E., Baron, A., Terris, B., Jones, M., Tyson, K., Bassi, C., Scarpa, A., and Lemoine, N.R. (2001). Gene expression profiles of pancreatic cancer and stromal desmoplasia. *Oncogene* 20, 7437-7446.
- Cummings, O.W. (2000). Pathology of the adenoma-carcinoma sequence: from aberrant crypt focus to invasive carcinoma. *Semin Gastrointest Dis* 11, 229-237.
- Davies, A.J. (2004). Tositumomab and iodine (131I)tositumomab in the management of follicular lymphoma. An oncologist's view. *The quarterly journal of nuclear medicine and molecular imaging: official publication of the Italian Association of Nuclear Medicine (AIMN) and the International Association of Radiopharmacology* 48, 305-316
- Declan Fleming, R.Y. (1998). Colorectal cancer screening and follow-up. *Surg Oncol* 7, 125-137
- De Gramont A., Boni C., Navarro M. et al (2007). Oxaliplatin/5FU/LV in adjuvant colon cancer: Updated efficacy results of the MOSAIC trial, including survival, with a median follow-up of six years. *J Clin Oncol* 25 (No 185), 4007
- De Palma, G.D., Di Matteo, E., Monaco, A., Abbruzese, P., Belardo, A., Catanzano, C. (1996). Results of endoscopic Nd-Yag laser treatment of inoperable colorectal carcinoma. *Minerva Chir* 51, 87-91

- Desroches, E., Faucheron, J.L., Sengel, C., Lachachi, F., Risse, O., Delannoy, P., Arvieux, C., Rolachon, A., Letoublon, C. (1999). Self-expandable metal stent in the treatment of obstructive cancer of the left colon. Preliminary results and review of the literature. *Ann Chir* 53, 1029-1032
- Dkfz Heidelberg (2006). Informationen und Statistiken zu Mortalität und Inzidenz von Krebserkrankungen in Deutschland. Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg in der Helmholtz-Gemeinschaft, [www.dkfz-heidelberg.de](http://www.dkfz-heidelberg.de) , [www.krebsinformation.de](http://www.krebsinformation.de)
- Doll, R., Peto, R. (1976). Mortality in relation to smoking: 20 years observations on male British doctors. *Br Med J* 2, 1525-1536
- Doll, R., Peto, R., Wheatley, K., Gray, R., Sutherland, I. (1994). Mortality in relation to smoking: 40 years observations on male British doctors. *Br Med J* 309, 901-911
- Dunn, G. P., Bruce, A. T., Ikeda, H., Old, L. J., Schreiber, R. D. (2002). Cancer immunoeditig: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 3(11), 991-998
- Ehrlich, P. (1900). The general significance of the side-chain theory, and its importance in biology and therapy.
- Ehrlich, P. (1909). Ueber den jetzigen stand der Karzinomforschung. *Ned Tijdschr Geneesk* 5, 273-290
- Emmrich, P., Holzer, H. (1999). Tumor genesis and prognostic factors in colorectal carcinoma with special consideration of tumor localizatio. *Zentralbl Chir* 124, 1079-1086
- Evans, J.P., Burke, W., Chen, R., Bennett, R.L., Schmidt, R.A., Dellinger, E.P., et al. (1995). Familial pancreatic adenocarcinoma: association with diabetes and early molecular diagnosis. *J Med Genet.* 32, 330-335
- Everhart, J., Wright, D. (1995). Diabetes mellitus as a risk factor for pancreatic cancer. A meta-analysis. *JAMA* 273, 1605-1609

- Folprecht G et al (2006). Cetuximab and irinotecan/5-fluorouracil/folinic acid is a safe combination for the first-line treatment of patients with epidermal growth factor receptor expressing metastatic colorectal carcinoma. *Ann Oncol* 17(3), 450-456 (EBM-Grad: IV)
- Fung T et al (2003). Major dietary patterns and the risk of colorectal cancer in women. *Arch Intern* 163 (3), 309-314
- Gerhardsson de Verdier, M., Hagman, U., Peters, R.K., Steineck, G., Övervik, E. (1991) Meat, cooking methods and colorectal cancer: A case-referent study in Stockholm. *Int J Cancer* 49, 520-525
- Gerhardsson de Verdier, Steineck, G.,M., Hagman, U., Rieger, Å., Norell, S. (1990) Physical activity and colon cancer: : A case-referent study in Stockholm. *Int J Cancer* 46, 985-989
- Giardiello, F.M., Offerhaus, G.J., Lee, D.H., Krush, A.J., Tersmette, A.C., Booker, S.V., Kelley, N.C., Hamilton, S.R. (1993). Increased risk of thyroid and pancreatic carcinoma in familial adenomatous polyposis. *Gut* 34, 1394-1396
- Gillen, C.D., Walmsley, R.S., Prior, P., Andrews, H.A., Allan, R.N. (1994). Ulcerative colitis and Crohn`s disease: a comparison of the colorectal cancer risk in extensive colitis. *Gut* 35, 1590-1592
- Glennie, M.J. and Johnson, P.W. (2000). Clinical trials of antibody therapy. *Immunol Today* 21, 403-410.
- Gold, E.B., Goldin, S.B. (1998). Epidemiology of and risk factors for pancreatic cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 7, 67-91
- Gonatas, J.O., Chen, Y.J., Stieber, A., Mourelatos, Z., and Gonatas, N.K. (1998). Truncations of the c-terminal cytoplasmatic domain of MG160, a medial Golgi sialoprotein, result in its partial transport to the plasma membrane and filopodia. *J Cell Sci* 111, 249-260.

- Gonatas, J.O., Mezitis, S.G., Stieber, A., Fleischer, B., and Gonatas, N.K. (1989). MG-160. A novel sialoglycoprotein of the medial cisternae of the Golgi apparatus. *J Biol Chem* 264, 646-653.
- Griffiths, A.D. and Duncan, A.R. (1998). Strategies for selection of antibodies by phage display. *Curr Opin Biotechnol* 9, 102-108.
- Gura, T. (2002). Therapeutic antibodies: magic bullets hit the target. *Nature* 417, 584-586.
- Gustavsson, P., Nyberg, F., Pershagen, G., Scheele, P., Jakobsson, R., Plato, N. (2002). Low-dose exposure to asbestos and lung cancer: dose-response relations and interaction with smoking in a population-based case-referent study in Stockholm, Sweden. *Am J Epidemiol* 155, 1016-1022
- Hahn, J.M. (2000). Checkliste Innere Medizin. 3. komplett überarbeitete Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
- Held-Warmkessel, J. (1998). Colon cancer. Prevention and detection strategies. *Adv Nurse Pract* 6, 42-45.
- Hemminiki, K., Pershagen, G. (1994). Cancer risk of air pollution: epidemiological evidence. *Environ Health Perspect* 102, 187.192
- Hensel, F., Brandlein, S., Eck, M., Schmidt, K., Krenn, V., Kloetzer, A., Bachi, A., Mann, M., Muller-Hermelink, H.K., and Vollmers, H.P. (2001a). A novel proliferation-associated variant of CFR-1 defined by a human monoclonal antibody. *Lab Invest* 81, 1097-1108.
- Hensel, F., Hermann, R., Brandlein, S., Krenn, V., Schmausser, B., Geis, S., Muller-Hermelink, H.K., and Vollmers, H.P. (2001b). Regulation of the new coexpressed CD55 (decay-accelerating factor) receptor on stomach carcinoma cells involved in antibody SC-1-induced apoptosis. *Lab Invest* 81, 1553-1563.



- Hensel, F., Hermann, R., Schubert, C., Abé, N., Schmidt, K., Franke, A., Shevchenko, A., Mann, M., Müller-Hermelink, H.K., and Vollmers, H.P. (1999a). Characterization of glycosylphosphatidylinositol-linked molecule CD55/Decay-accelerating factor as the receptor for antibody SC-1-induced apoptosis. *Cancer Res* 59, 5299-5306.
- Hensel, F., Knörr, C., Hermann, R., Krenn, V., Müller-Hermelink, H.K., and Vollmers, H.P. (1999b). Mitogenic autoantibodies in *Helicobacter pylori*-associated stomach cancerogenesis. *Int J Cancer* 81, 229-235.
- Herfahrt, C., Heuschen, G., Heuschen, U.A. (1998). Malignant transformation in ulcerative colitis and surgical implications. *Chirurg* 69, 1020-1027
- Herold, G. (Herausgeber) und Mitarbeiter (2001). *Innere Medizin. Eine vorlesungsorientierte Darstellung.*
- Higashi, K., Matsunari, I., Ueda, Y., Ikeda, R., Guo, J., Oguchi, M., Tonami, H., Yamamoto, I. (2003). Value of whole-body FDG PET in management of lung cancer. *Ann Nucl Med* 17, 1-14
- Ho, S., Jackson, J. (1998). The angiographic diagnosis of colonic carcinoma. *Clin Radiol* 53, 345-349
- Horton, K.M., Abrams, R.A., and Fishman, E.K. (2000). Spiral CT of colon cancer: imaging features and role in management. *Radiographics* 20, 419-430.
- Hruban, R.H., Goggins, M., Parsons, J., Kern, S.E. (2000). Progression Model for Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res* 6, 2969-2972
- Hurria, A., Kris, M.C. (2003). Management of Lung Cancer in Older Adults. *CA Cancer J Clin* 53, 325-341
- IARC (1977), IARC Monographs on Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man, Vol. 14, Asbestos, Lyon, IARC

- IARC (1986). IARC Monographs on Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol.38, Tobacco Smoking, Lyon, IARC.
- IARC (1988). IARC Monographs on Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans, Vol.43, Manmade mineral Fibres and Radon, Lyon, IARC
- Iamurov, N., Viiachki, I., Korukov, B., Kolarov, E., Ivanov, A., Viiachki, D., Gachev, N. (1999). Large-intestine perforations caused by primary colorectal cancer. *Khirurgiia (Sofiiia)* 54, 29-31
- Imaizumi, M. (2004). Gemtuzumab ozogamicin and targeted cancer therapy. *Nippon yakurigaku zasshi. Japanese journal of pharmacology* 124, 25-29
- Imperiale TF et al (2002). Results of screening coloscopy among persons 40 to 49 years of age, *N Engl J Med* 346 (23), 1781-1785
- Janeway, C.A. Jr (1989). Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 54 Pt 1, 1-13.
- Jöckel, K.-H., Ahrens, W., Jahn, I., Pohlabein, H., Bolm-Audorff, U. (1995). Untersuchungen zu Lungenkrebs und Risiken am Arbeitsplatz (Schlussbericht). Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsmedizin, Wirtschaftsverlag NW, Berlin.
- Kabbinavar FF et al (2005). Addition of bevacizumab to bolus fluorouracil and leukovorin in first-line metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase II trial. *J Clin Oncol* 23(16), 3697-3705
- Kahn, D., Menda, Y., Kerstine, K., Bushnell, D., McLaughlin, K., Miller, S., Berbaum, K. (2004). The utility of <sup>99m</sup>Tc depreotide compared with F-18 flourodeoxyglucose positron emission tomography and surgical staging in patients with suspected non-small cell lung cancer. *Chest* 125, 494-501
- Khazaeli, M., Conry, R., LoBuglio, A. (1994). Human immune response to monoclonal antibodies. *J Immunother* 15, 42-52

- Köhler, G. and Milstein, C. (1975). Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256, 495-497.
- Krebs in Deutschland 2003-2004. Häufigkeiten und Trends“ (2008), 6. überarbeitete Auflage. Robert-Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg), Berlin 2008. [www.rki.de](http://www.rki.de), [www.gekid.de](http://www.gekid.de)
- Kronborg, O. (2002). Colon polyps and cancer. *Endoscopy* 34, 69-72.
- Kuwahara, K., Sasaki, T., Kobayashi, K., Noma, B., Serikawa, M., Iiboshi, T., Miyata, H., Kuwada, Y., Murakami, M., Yamasaki, S., Kariya, K., Morinaka, k., Chayama, K. (2004). Gemcitabine supresses malignant ascites of human pancreatic cancer: Correlation with VEGF expression in ascites. *Oncol Reports* 11, 73-80
- Lal, G., Liu, G., Schmocker, B., Kaurah, P., Ozcelik, H., Narod, S.A., Redston, M., Gallinger, S. (2000). Inherited Predisposition to Pancreatic Adenocarcinoma: Role of Family History and Germ-line *p16*, *BRCA16*, and *BRCA2* Mutations. *Cancer Res* 60, 409-416
- Law, W.L., Chu, K.W., Ho, J.W., Tung, H.M., Law, S.Y., Chu, K.M. (2000). Self – expanding metallic stent in the treatment of colonic obstruction caused by advanced malignancies. *Dis Colon Rectum* 43, 1522-1527
- Lee IM (2003). Physical activity and cancer prevention – data from epidemiologic studies. *Med Sci Sports Exerc* 35 (11), 1823-1827
- Levine, M.S., Rubesin, S.E., Laufer, I., Herlinger, H. (2000). Diagnosis of colorectal neoplasms at double.contrast barium enema examination. *Radiology* 216, 11-18
- Li, J., Lee, A.S. (2006). Stress induction of GRP78/BiP and its role in cancer. *Curr Mol Med* 6(1), 45-54
- Lillemoe, K.D., Yeo, C.J., Cameron, J.L. (2000). Pancreatic Cancer: State-of-the-Art Care. *CA Cancer J Clin* 50, 241-268

- Lipponen, P. K., Eskelinen, M. J., Jauhiainen, K., Harju, E., Terho, R. (1992). Tumor infiltrating lymphocytes as an independent prognostic factor in transitional cell bladder cancer. *Eur L Cancer* 29A, 69-75
- Litvinov, S.V., Velders, M.P., Bakker, H.A., Fleuren, G.J., and Warnaar, S.O. (1994). Ep-CAM: a human epithelial antigen is a homophilic cell-cell adhesion molecule. *J Cell Biol* 125, 437-446.
- Longnecker, M.P., Gerhardsson de Verdier, M., Frumkin, H. Carpenter, C. (1995). A case-control study of physical activity in relation to risk of cancer of the right colon and rectum men. *Int J Epidemiol* 24, 42-50
- LoBuglio, A.F., Wheeler, R.H., Trang, J., Haynes, A., Rogers, K., Harvey, E.B., Sun, L., Ghrayeb, J., and Khazaeli, M.B. (1989). Mouse/human chimeric monoclonal antibody in man: kinetics and immune response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86, 4220-4224.
- Lowenfels, A.B., Maisonneuve, P., Cavallini, G., Ammann, R.W., Lankisch, P.G., Andersen, J.R., Dimagno, E.P., Andren-Sandberg, A., Domellof, L., for „The International Pancreatitis Study Group“ (1993). Pancreatitis and the Risk of Pancreatic Cancer. *New Engl J Med* 328, 1433-1437
- Lowenfels, A.B., Maisonneuve, P. (2004). Epidemiology and Prevention of Pancreatic Cancer. *Jpn J Clin Oncol* 34, 238-244
- Lynch, H.T., Fusaro, R.M., Lynch, J. (1995). Hereditary cancer in adults. *Cancer Detection and Prevention* 19, 219-233
- Lynch, H.T., Smyrk, T., Kern, S.E., Hruban, R.H., Lightdale, C.J., Lemon S.J., Lynch, J.F., Fusaro, L.R., Fusaro, R.M., Ghardirian, P. (1996). Familial pancreatic cancer: A review. *Sem Oncol* 23, 251-275
- Ma, Y., Hendershot, L.M. (2004). The role of the unfolded protein response in tumor development: friend or foe? *Net Rev Cancer* 4(12), 966-977

- Macario, A.J., Conway de macario, E. (2005). Sick chaperones, cellular stress and disease. *N Engl J Med* 353(14), 1489-1501
- Macdonald, J.S. (1999). Adjuvant therapy of colon cancer. *CA Cancer J Clin.* 49, 202-219
- Mao, L., Lee, J.S., Kurie, J.M., Fan, Y.H., Lippman, S.M., Lee, J.J., Ro, J.Y., Broxson, A., Yu, R., Morice, R.C., Kemp, B.L., Khuri, F.R., Walsh, G.L., Hittelman, W.N., Hong, W.K. (1997). Clonal Genetic Alterations in the Lungs of Current and Former Smokers. *J Natl Cancer Inst*, 89, 857-862
- Markham, A. and Lamb, H.M. (2000). Infliximab: a review of its use in the management of rheumatoid arthritis. *Drugs* 59, 1341-1359.
- Markowitz, A.J., Winawer, S.J. (1999). Screening and surveillance for colorectal cancer. *Semin Oncol* 26, 485-498
- Marks, J.D., Hoogenboom, H.R., Bonnert, T.P., McCafferty, J., Griffiths, A.D., and Winter, G. (1991). By-passing Immunisation. *J Mol Biol* 222, 581-597.
- Maurer, C.A., Renzulli, P., Naef, M., Seiler, C.A., Uhl, W., Klippel, U., Buchler, M.W. (1998). Surgical therapy of ileus in large intestine. *Zentralbl Chir* 123, 1346-1354
- McWilliams, RR., Rabe, KG., Olswold, C, et al (2005). Risk of malignancy in first-degree relatives of patients with pancreatic carcinoma. *Cancer* 104, 388-94
- Medzhitov, R. (2001). Toll-like receptors and innate immunity. *Nature Rev Immunol* 1, 135-145.
- Medzhitov, R. and Janeway, C.A. jr (1997). Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Curr Opin Immunol* 9, 4-9.
- Medzhitov, R. and Janeway, C.A. jr (2002). Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science* 296, 298-300

- Meijer, S., Rahusen, F.D., van der Plas, L.G. (1999). Palliative crysurgery for rectal carcinoma. *International Journal of colorectal disease* 14, 177-180
- Mellemkjaer, L., Olsen, J.H., Frisch, M., Johanson, C., Gridley, G., McLaughlin, J.K. (1995). Cancer in patients with ulcerative colitis. *Int J Cancer* 60, 330-333
- Mezger, J., Locherbach, U., Hagenhoff, B., Funken, O., Gallkowski, U., Hahn, C., Pfeifer, U., and Sauerbruch, T. (1997). [Symptoms, tumor stage and primary treatment in patients with colorectal carcinoma]. *Dtsch Med Wochenschr* 122, 703-708.
- Meyer, H.J. (1997). Oncologic surgery of colon carcinoma. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* 114, 159-163
- Mikesch, J. H., Schier, K., Roetger, A., Simon, R., Buerger, H., Brandt, B. (2006). The expression and action of decal-accelerating factor (CD55) in human malignancies and cancer therapy. *Cell Oncol* 28(5-6), 223-232
- Mitooka, H. (2000). Flat neoplasms in the adenoma-carcinoma sequence in Japan. *Semin Gastrointest Dis* 11, 238-247.
- Mizuno, N., Kato, Y., Izumi, Y., Irimura, T., and Sugiyama, Y. (1998). Importance of hepatic first-pass removal in metastasis of colon carcinoma cells. *J Hepatol* 28, 865-877.
- Mueller, J., Mueller, E., Keller, G., Bethke, B., Stolte, M., Hofler, H. (1999). Are there differences between ex adenoma and de novo colorectal carcinomas? *Verh Dtsch Ges Pathol.*83, 139-147
- Naito, Y. et al (1998). CD8+T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res* 58, 3491-3494
- Oettle, H., Post, S., Neuhaus, P., et al (2007). Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled study. *Jama* 297, 267-77

- Okabe, S., Arai, T., Maruyama, S., Murase, N., Tsubaki, M., and Endo, M. (1998). A clinicopathological investigation on superficial early invasive carcinomas of the colon and rectum. *Surg Today* 28, 687-695.
- Osann, K.E. (1991). Lung cancer in women: the importance of smoking, family history of cancer, and medical history of respiratory disease. *Cancer Res* 51, 4893-4897
- Pasare, C., Medzhitov, R. (2005). Toll-like receptors: linking innate and adaptive immunity. *Adv Exp Med Biol* 560, 11-18
- Penn, I. (1995). Sarcomas in organ allograft recipients. *Transplantation* 60, 1485-1491
- Penn, I. (1996). Malignant melanoma in organ allograft recipients. *Transplantation* 61, 274-278
- Pham, S. M. et al (1995). Solid tumors after heart transplantation: lethality of lung cancer. *Ann Thorac Surg* 60, 1623-1626
- Pistorius, S., Schackert, H.K., Nagel, M., Saeger, H.D. (2000). Surgery of hereditary colorectal carcinoma. *Zentralbl Chir* 125 (Suppl 1), 23-27
- Pohle, T., Brändlein, S., Ruoff, N., Müller-Hermelink, H. K., Vollmers, H. P. (2004). Lipoptosis: tumor-specific cell death by antibody-induced intracellular lipid accumulation. *Cancer Res* 64(11), 3900-3906
- Porschen, R., Schmiegel, W (1998). Prevention and early detection of colorectal carcinoma by endoscopic examinations. *Z. Gastroenterol.* 36, 403-414
- Pressemitteilung Glaxo Wellcome/Centocor, Juli 2000
- Preston, D.L., Kato, H., Kopecky, K., Fujita, S. (1987) Studies of mortality of A-bomb survivors. *Radiat Res* 111, 151-178
- Rafter, J., Glinghammar, B. (1998). Interactions between the environment and genes in the colon. *Eur Cancer Prev* 7 (Suppl 2), 68-74

- Rice, G.P.A., Hartung, H.-P., Calabresi, P.A. (2005). Anti- $\alpha$ 4 integrin therapy for multiple sclerosis. Mechanisms and rationale. *Neurology* 64, 1336-1342
- Riede, U.K., and Schaefer, H.E. (Herausgeber) (1995). Allgemeine und spezielle Pathologie, 4., aktualisierte Auflage, Stuttgart, New York: Thieme Verlag.
- Riethmuller, G., Holz, E., Schlimok, G., Schmiegel, W., Raab, R., Hoffken, K., Gruber, R., Funke, I., Pichlmaier, H., Hirche, H., Buggisch, P., Witte, J., and Pichlmayr, R. (1998). Monoclonal antibody therapy for resected Dukes' C colorectal cancer: seven-year outcome of a multicenter randomized trial. *J Clin Oncol* 16, 1788-1794.
- Rote Liste (2009). Arzneimittelverzeichnis für Deutschland (einschliesslich EU-Zulassungen und bestimmter Medizinprodukte). Kapitel 86.1.2.C.1.2.1. Monoklonale Antikörper. Herausgeber und Verlag Rote Liste® Service GmbH. Stand März 2009: [www.rote-liste.de](http://www.rote-liste.de)
- Rousseau, MC., Parent, ME., Pollak, MN., et al (2006). Diabetes mellitus and cancer risk in a population-based case-control study among men from Montreal, Canada. *Int J Cancer* 118, 2105-9
- Rudick, R.A., Sandrock, A. (2004). Natalizumab:  $\alpha$ 4-integrin antagonist selective adhesion molecule inhibitors for MS. *Future Drugs* 4, 571-580
- Sanner, B., Doberauer, C., Wienand, B. (1997). Hereditary nonpolyposis colonic carcinoma with primary extra-colonic manifestation. *Schweiz Med Wochenschr* 127, 1329-1333
- Sasaki, M., Sugio, K., Kuwabara, Y., Koga, H., Nakagawa, M., Chen, T., Kaneko, K., Hayashi, K., Shioyama, Y., Sakai, S., Honda, H. (2003). Alterations of tumor suppressor genes (Rb, p16, p27 and p53) and an increased FDG uptake in lung cancer. *Ann Nucl Med* 17, 189-196



- Scheiden, R., Sand, J., Pandin, M., Wagener, Y., Capesius, C. (2000). Colorectal high-grade adenomas: incidence, localization and adenoma-adenocarcinoma ratio in a retrospective and comparative population-based study of 225 consecutive cases between 1988 and 1996. *Int J Colorectal Dis* 15, 29-34.
- Schmiegel, W. et al (2008). S3-Leitlinie « kolorektales Karzinom ». *Z Gastroenterol* 46, 1-73
- Steedmaier, M., Borges, E., Berger, J., Schwarz, H., and Vestweber, D. (1997). The E-selectin-ligand ESL-1 is located in the Golgi as well as on microvilli on the cell surface. *J.Cell Sci.* 110, 687-694.
- Steedmaier, M., Levinovitz, A., Isenmann, S., Borges, E., Lentner, M., Kocher, H.P., Kleuser, B., and Vestweber, D. (1995). The E-selectin-ligand ESL-1 is a variant of a receptor for fibroblast growth factor. *Nature* 373, 615-620.
- Stern, H., Lagarde, A. (1998). Genetics of hereditary colon carcinoma: a model for prevention. *Can J Surg* 41, 345-350
- Stieber, A., Mourelatos, Z., Chen, Y.J., Le Douarin, N., and Gonatas, N.K. (1995). MG160, a membrane protein of the Golgi apparatus which is homologous to a fibroblast growth factor receptor and to a ligand for E-selectin, is found only in the Golgi apparatus and appears early in chicken embryo development. *Exp.Cell Res.* 219, 562-570.
- Thomas, L. (1959). In: Cellular and humoral aspects of the hypersensitive states (ed. Lawrence, H. S.), Hoeber-Harper, New York, 529-532
- Tomizuka, K., Shinohara, T., Yoshida, H., Uejima, H., Ohguma, A., Tanaka, S., Sato, K., Oshimura, M., and Ishida, I. (2000). Double trans-chromosomic mice: maintenance of two individual human chromosome fragments containing Ig heavy and kappa loci and expression of fully human antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 722-727.

- Trail, P.A. and Bianchi, A.B. (1999). Monoclonal antibody drug conjugates in the treatment of cancer. *Curr Opin Immunol* 11, 584-588.
- Truninger, K., Blum, H.E. (2000). Screening for prevention and early detection of colorectal carcinoma. *Ther Umsch* 57, 26-32
- Van Cutsem E., Lang I., D'haens G. et al (2008). KRAS status and efficacy in the first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) treated with FOLFIRI with or without cetuximab: The CRYSTAL experience. ASCO Annual Meeting Proceedings. *J Clin Oncol* 26 (185), 2
- van der Luijt, R.B., Tops, C.M., Vasen, H.F. (2000). From gene to disease ; the APC gene and familial adenomatous polyposis coli. *Ned Tijdschr Geneesk* 144, 2007-2009
- Vaughan, T.J., Osbourn, J.K., and Tempest, P.R. (1998). Human antibodies by design. *Nat Biotechnol* 16, 535-539.
- Vogelstein, B., Fearon, E.R., Hamilton, S.R., Kern, S.E., Preisinger, A.C., Leppert, M., Nakamura, Y., White, R., Smits, A.M., Bos, J.L. (1988). Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 319, 525-532
- Vollmers, H.P., Dämmrich, J., Ribbert, H., Grassel, S., Debus, S., Heesemann, J., and Müller-Hermelink, H.K. (1994). Human monoclonal antibodies from stomach carcinoma patients react with *Helicobacter pylori* and stimulate stomach cancer cells *in vitro*. *Cancer* 74, 1525-1532.
- Vollmers, H.P., Dämmrich, J., Ribbert, H., Wozniak, E. and Müller-Hermelink, H.K. (1995). Apoptosis of stomach carcinoma cells induced by a human monoclonal antibody. *Cancer* 76, 550-558.
- Vollmers, H.P., Hensel, F., Hermann, R., Dämmrich, J., Wozniak, E., Gessner, P., Herrmann, B., Zimmermann, U., and Müller-Hermelink, H.K. (1998a). Tumor-specific apoptosis by the human monoclonal antibody SC-1: A new therapeutical approach for stomach cancer. *Oncology Reports* 5, 35-40.

- Vollmers, H.P., Zimmermann, U., Krenn, V., Timmermann, W., Illert, B., Hensel, F., Hermann, R., Thiede, A., Wilhelm, M., Rückle-Lanz, H., Reindl, L., and Müller-Hermelink, H.K. (1998b). Adjuvant therapy for gastric adenocarcinoma with the apoptosis-inducing human monoclonal antibody SC-1: first clinical and histopathological results. *Oncology Reports* 5, 549-552.
- Vollmers, H.P., O'Connor, R., Müller, J., Kirchner, T., and Müller-Hermelink, H.K. (1989). SC-1, a functional human monoclonal antibody against autologous stomach carcinoma cells. *Cancer Res* 49, 2471-2476.
- Vollmers, H.P., Timmermann, W., Hensel, F., Illert, B., Thiede, A., Müller-Hermelink, H.K. (2000). Adjuvant immunotherapy of stomach carcinoma with antibody-induced apoptosis. *Zentralbl Chir* 125 (Suppl. 1), 37-40
- Vollmers, H.P. and Brändlein, S. (2002). Nature's best weapons to fight cancer: Reloading human monoclonal IgM antibodies. *Human antibodies* 11, 131-142.
- Vollmers, H.P. and Brändlein, S. (2006). Natural IgM antibodies: from parias to parvenus. *Histol Histopathol* 21, 1355-1366
- Vollmers, H.P. and Brändlein, S. (2007). Natural antibodies and Cancer. *J Autoimm* 29, 295-302
- Vollmers, H.P. and Brändlein, S. (2009). Natural antibodies and cancer. *N Biotechnol* 25, 294-298
- von Herbay, A., Schmid, R.M., Adler, G. (1999). Kolorektale Karzinome bei Morbus Crohn. *Dtsch med Wschr* 124, 940-944
- von Mehren, M. and Weiner, L.M. (1996). Monoclonal antibody-based therapy. *Curr Opin Oncol* 8, 493-498.
- von Mehren, M., Adams, G.P., Weiner, L.M. (2003). Monoclonal antibody therapy for cancer. *Annu Rev Med* 54, 343-369

- Voskuil DW et al (2002). Meat consumption and meat preparation in relation to colorectal adenomas among sporadic and HNPCC family patients in the Netherlands. *Eur J Cancer* 38(17), 2300-2308
- Wehrmann, K. and Fruhmorgen, P. (2000). [Removing adenomas reduces colon carcinoma risk up to 90%. Effective cancer prevention with the endoscope]. *MMW Fortschr Med* 142, 26-29.
- Wei EK et al (2004). Comparison of risk factors for colon and rectal cancer. *Int J Cancer* 108 (3), 433-442
- Weitz, J., Kienle, P., Lacroix, J., Willeke, F., Benner, A., Lehnert, T., Herfahrt, C, von Knoebel Doeberlitz, M. (1998). Dissimination of tumor cells in patients undergoig surgery for colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 4, 343-348
- Willet, W.C., Stampfer, M.J., Colditz, G.A., Rosner, B.A., Speizer, F.E. (1990)Relation of meat, fat and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *N Engl J Med* 323, 1664-1672
- Winter, G. and Harris, W.J. (1993). Humanized antibodies. *Immunol Today* 14, 243-246.
- Ye, W., Lagergren, J, Weiderpass, E., Nyrén, O., Adami, A.-D., Ekblom, A. (2002). Pancreatic Disease: Alcohol abuse and the risk of pancreatic cancer. *Gut* 51, 236-239
- Yun, YH., Jung, KW., Bae, JM., et al (2005). Cigarette smoking and cancer incidence risk in adult men: National Health Insurance Corporation Study. *Cancer Detect Prev* 29, 15-24
- Zuber, M.E., Zhou, Z., Burrus, L.W., and Olwin, B.B. (1997). Cysteine-rich FGF receptor regulates intracellular FGF-1 and FGF- 2 levels. *J Cell Physiol* 170, 217-227.

## 7 Anhang

### 7.1 Tabelle 9

Auflistung der Ergebnisse mit ausführlicheren Informationen bzgl. des jeweiligen untersuchten Tumors:

Co1	Co2	Co3	Co4	Patient		RPMI	CpIgM		AE1/AE3		PAM-1	LM-1
				Geschlecht	Alter		Negativ-Kontrolle	Negativ-Kontrolle	Positiv-Kontrolle	Grading/Intensität	Grading/Intensität	
Tumor				Patient		RPMI	CpIgM	AE1/AE3	PAM-1	LM-1		
Histologie, Organ(-bereich), Material, Staging und Grading (soweit bekannt)				Geschlecht		Negativ-Kontrolle	Negativ-Kontrolle	Positiv-Kontrolle	Grading/Intensität	Grading/Intensität	Prozent positiver TU-zellen	
Mäßig differenziertes, kribriiformes, ulzeriertes Adeno-Ca, olon descendens pT <sub>3</sub> pN <sub>2</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 53a	-	-	-	+	+++ >95%	++ >95%					
Mäßig differenziertes, aus einem tubulovillösen Adenom entstandenes Adeno-Ca, Rectum pT <sub>2</sub> N <sub>0</sub> G <sub>2</sub>	m 62a	-	-	-	+	++ 60-70%	neg - + 60-70%					
Mäßig - wenig differenziertes, tubulär und kribriiformes, pleomorphes Adeno-Ca, l linkes Hemicolon, Lymphangiostis carcinomatosa pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> G <sub>3</sub>	w 75a	-	-	-	+	++ 90%	++ >95%					
Mäßig differenziertes, ulzeriertes Adeno-Ca Lymphangiostis carcinomatosa Colon transversum & Flexur beidseits pT <sub>4</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>		-	-	-	+	++ >95%	+++ >95%					

<b>Co5</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes, teils muzinöses, tubulär und kribriform wachsendes Adeno-Ca, rechtes Hemicoalon, Ileocecalpol pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 73a	-	-	-	+	+++ >95%	+	40-50%
<b>Co6</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes, tubulär und kribriform wachsendes Adeno-Ca, rechtes Hemicoalon pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 86a	-	-	-	+	+++ >95%	+++ 90%	
<b>Co7</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes, tubulär-drüsig und kribriform wachsendes, teils nekrotisches Adeno-Ca, rectosigmoidal pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 88a	-	-	-	+	++ >95%	++ >95%	
<b>Co8</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes, im villösen Adenom entstandenes Adeno-Ca, linkes Hemicoalon pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 67a	-	-	-	+	neg - + 60-70%	neg - + 60-70%	
<b>Co9</b>	Wenig differenziertes, ulceriertes, solide wachsendes großzelliges Adeno-Ca, Colon transversum pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> G <sub>3</sub>	w 68a	-	-	-	+	+ 90%	+ 90%	
<b>Co10</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes, tubulär und kribriform wachsendes nekrotisches Adeno-Ca, Rectum pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 59a	-	-	-	+	neg - ++ 30-40%	neg - + 40-50%	

<b>Co11</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes, tubuläres Adeno-Ca, Sigma pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 70a	-	-	-	+	+++ >95%	+++ >95%
<b>Co12</b>	Ulzeriertes, muzinöses Adeno-Ca, rechtes Hemicolon pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> Mutation DNA-Mismatch-Repair-Proteins (H-MLH1 im TU-gewebe negativ), HNPCC-Syndrom (Mikrosatelliten-Instabilität für 4 spezif. Amplifikate, Phänotyp MSI-high (MSI-H), 5x höhere Rate syn- oder metachrone 2. Cas)	w 66a	-	-	-	+	neg - ++ 70-80%	neg - + 60-70%
<b>Co13</b>	Mäßig differenziertes Adeno-Ca, Colon transversum Hämangiosis carcinomatosa pT <sub>2</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 63a	-	-	-	+	neg - + 90%	+++ >95%
<b>Co14</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes Adeno-Ca, Sigma ypT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 59a	-	-	-	+	+++ 40-50%	neg - + 40-50%
<b>Co15</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes Adeno-Ca, Rectum ypT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 75a	-	-	-	+	+++ 90%	+++ 90%
<b>Co16</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes Adeno-Ca, Rectum Lymphangiosis carcinomatosa ypT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 78a-	-	-	-	+	neg - +++ 30-40%	neg - +++ 10-20%

<b>Co17</b>	Mäßig differenziertes Adeno-Ca, linkes Hemicolon pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 63a	-	-	-	+	neg - + 10-20%	neg 0-10%
<b>Co18</b>	Mäßig bis wenig differenziertes Adeno-Ca, Rectum pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	w 49a	-	-	-	+	+ 40-50%	+ - + + 60-70%
<b>Co19</b>	Mäßig differenziertes, in einem tubulovillösen Adenom entstandenes Adeno-Ca, Rectum pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 71a	-	-	-	+	+ + >95%	+ - + + >95%
<b>Co20</b>	Mäßig differenziertes Adeno-Ca, Rectum pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub> Mutation DNA-Mismatch-repair-Proteins (H-MLH1) im TUGewebe negativ, HNPCC-Syndrom (Mikrosatelliten- Instabilität für 5 spezif. Amplifkate, Phänotyp MSI-high (MSI- H), 5x höhere Rate syn- oder metachroner 2.Cas)	m 60a	-	-	-	+	neg - + 70-80%	+ - + + 90%
<b>Co21</b>	Hoch differenziertes, kleinherdig muzinöses, im tubulo-villösen Adenom entstandenes Adeno-Ca, Rectum pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>1</sub>	m 72a	-	-	-	+	neg 0-10%	neg - + 40-50%
<b>Co22</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes Adeno-Ca, Rectum Lymphangiosis carcinomatosa ypT <sub>3</sub> pN <sub>2</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 65a	-	-	-	+	+ - + + 90%	+ - + - + + >95%



<b>Co23</b>	Mäßig differenziertes Adeno-Ca, Rectum pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 54a	-	-	+	neg - + 30-40%	++ - - ++ 90%
<b>Co24</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes, kleinherdig muzinöses Adeno-Ca, Rectum Lymphangioid carcinomatosa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 82a	-	-	+	+++ + 90%	+++ + >95%
<b>Co25</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes Adeno-Ca, Rectum Lymphangioid carcinomatosa pT <sub>2</sub> pN <sub>2</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 68a	-	-	+	+++ + >95%	+++ - - ++ >95%
<b>Co26</b>	Wenig differenziertes ulzeriertes, muzinöses Adeno-Ca Rechtes Hemicolon pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub> Mutation DNA-Mismatch-repair-Proteins (H-MLH1 im TU-gewebe negativ), HNPCC-Syndrom (Mikrosatelliten-Instabilität für 4 spezif. Amplifikate, Phänotyp MSI-high (MSI-H), 5x höhere Rate syn- oder metachroner 2.Cas)	w 72a	-	-	+	+++ + 60-70%	+ 40-50%
<b>Co27</b>	Wenig differenziertes, ballenförmig und trabekulär solide wachsendes, teils nekrotisches Adeno-Ca Linkes Hemicolon pT <sub>4</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	m 74a	-	-	+	+ 70-80%	neg - + 60-70%

<b>Co28</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes Adeno-Ca Rechtes Hemicolon pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 82a	-	-	+	+++ >95%	++++ >95%
<b>Co29</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes Adeno-Ca Rechtes Hemicolon pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 47a	-	-	+	+++ >95%	++++ >95%
<b>Co30</b>	Mäßig differenziertes, ulzeriertes Adeno-Ca Rechtes Hemicolon pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 71a	-	-	+	+++ 70-80%	++++ 90%
<b>Co31</b>	Mäßig differenziertes, kleinherdig muzinöses Adeno-Ca Rechtes Hemicolon pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub> Mikrosatelliten-Instabilität für ein spezifisches Amplifikat entsprechend Phänotyp MSI-low (MSI-L), kein erhöhtes Risiko für 2.Carcinome	w 74a	-	-	+	neg - 60-70%	+++ 70-80%

Auflistung der Ergebnisse mit ausführlicheren Informationen bzgl. des jeweiligen untersuchten Tumors:

Tumor	Patient	RPMI	CpIgM	CK 8	PAM-1	LM-1
Histologie, Organ(-bereich), Material, Staging und Grading (soweit bekannt)	Geschlecht Alter	Negativ- Kontrolle	Negativ- Kontrolle	Positiv- Kontrolle	Prozent positiver TU-zellen	Prozent positiver TU-zellen
<b>LA1</b> Mäßig differenziertes, papilläres Adeno-Ca (intrapulmonale Metastase)	m 71a	-	-	+	+ 90%	+ 90%
<b>LA2</b> Gut differenziertes, bronchiolo-alveoläres Adeno-Ca	m 72a	-	-	+	+ - + + >95%	+ >95%
<b>LA3</b> Wenig differenziertes, z.T solide wachsendes Adeno-Ca mit Vernarbung und Alveolarzell-Hyperplasie pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> G <sub>3</sub>	w 58a	-	-	+	+ - + + >95%	neg - + >95%
<b>LA4</b> Wenig differenziertes, solide wachsendes Adeno-Ca	m 59a	-	-	+	+ + >95%	+ 90%
<b>LA5</b> Mäßig differenziertes, schleimbildendes, tubulär & kribriform wachsendes Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 40a	-	-	+	+ + >95%	+ - + + >95%

<b>LA6</b>	Wenig differenziertes, trabekulär und drüsiges, teils diskohäsiw wachsendes Adeno-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	m 59a	-	-	-	+	+ - + + 90%	+
<b>LA7</b>	Hochdifferenziertes, bronchiolo-alveoläres, mucöses Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> G <sub>1</sub>	w 58a	-	-	-	+	neg - + 40-50%	neg - + 40-50%
<b>LA8</b>	Bronchiolo-alveoläres Adeno-Ca (intrapulmonale Metastase eines bekannten Lungen-Ca)	w 44a	-	-	-	+	+	+
<b>LA9</b>	Mäßig differenziertes, in glandulären Formationen wachsendes Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 59a	-	-	-	+	+	+ + - - + + 90%
<b>LA10</b>	Mäßig differenziertes Adeno-Ca (Clarazell-/Pneumozyten-II-Typ) pT <sub>1</sub> pN <sub>x</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 77a	-	-	-	+	+	+ + + + >95%
<b>LA11</b>	Wenig differenziertes, teils solides und kribriiformes, Adeno-Ca, Lymphangiosis carcinomatosa pT <sub>2</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	m 78a	-	-	-	+	+ + - - + + + + >95%	+ + - - + + + + >95%

<b>LA12</b>	Mäßig differenziertes, v.a. nekrotisches, herdförmig unter Ausbildung einzelner Drüsen wachsendes Adeno-Ca	m 60a	-	-	-	+	neg - + 10-20%	+	30-40%
<b>LA13</b>	Mäßig differenziertes Adeno-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 67a	-	-	-	+	+++ >95%	+++ >95%	
<b>LA14</b>	Mäßig differenziertes, z.T. mucöses Adeno-Ca, Lymphangiosis carcinomatosa	m 73a	-	-	-	+	++++ 90%	++ 90%	
<b>LA15</b>	Zentral nekrotisches Adeno-Ca, peritumoröse Lymphangiosis carcinomatosa pT <sub>1</sub> G <sub>2</sub>	m 74a	-	-	-	+	+++ >95%	+++ >95%	
<b>LA16</b>	Bronchiolo-alveoläres, teils kribriform, teils papillär wachsendes Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub>	m 70a	-	-	-	+	neg - + >95%	+ 90%	
<b>LA17</b>	Wenig differenziertes solides Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 67a	-	-	-	+	++++ >95%	+++ >95%	
<b>LA18</b>	Mäßig differenziertes, bronchiolo-alveoläres Adeno-Ca	m 68a	-	-	-	+	+++ >95%	+++ >95%	

<b>LA19</b>	Mäßig differenziertes, z.T. bronchiolo-alveoläres Adeno-Ca (intrapulmonale Metastase bei bekanntem Lungen-Ca), peritumoröse Lymphangiosis carcinomatosa	m 69a	-	-	+	+++ >95%	+-+ 90%
<b>LA20</b>	Papilläres Adeno-Ca	m 68a	-	-	+	++++ >95%	++ >95%
<b>LA21</b>	Gut differenziertes, tubulär und teils papillär wachsendes Adeno-Ca pT <sub>2</sub> G <sub>2</sub>	m 52a	-	-	+	+ 90%	+ 90%
<b>LA22</b>	Hoch bis teils mäßig differenziertes, bronchio-alveoläres Adeno-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 66a	-	-	+	+ 90%	+ 60-70%

7.3 Tabelle 11

Auflistung der Ergebnisse mit ausführlicheren Informationen bzgl. des jeweiligen untersuchten Tumors:

Tumor	Patient	RPMI			CpIgM		CK 5/6		PAM-1	LM-1
		Geschlecht	Negativ-Kontrolle	Negativ-Kontrolle	Negativ-Kontrolle	Positiv-Kontrolle	Grading/Intensität	Grading/Intensität		
	Alter									
	Grading (soweit bekannt)									
<b>LP1</b>	m 58a		-	-	-	+	+	+	+++ > 95%	
<b>LP2</b>	m 71a		-	-	-	+	+++	+++	+++ > 95%	
<b>LP3</b>	m 70a		-	-	-	+	neg - + 90%	neg - + > 95%	neg - + > 95%	
<b>LP4</b>	m 62a		-	-	-	+	++ > 95%	++ > 95%	++ > 95%	
<b>LP5</b>	m 61a		-	-	-	+	+++ > 95%	+++ > 95%	+++ > 95%	

<b>LP6</b>	Fast vollständig nekrotisierendes, wenig differenziertes PE-Ca	m 75a	-	-	-	+	+++ > 95%	+++ > 95%
<b>LP7</b>	Mäßig differenziertes, nicht verhornendes, solide in nestartigen Verbänden wachsendes PE-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 61a	-	-	-	+	+++ > 95%	+++ > 95%
<b>LP8</b>	Wenig differenziertes, solide wachsendes unverhornendes PE-Ca Tumornekrosen und Lymphangiosis carcinomatosa	m 65a	-	-	-	+	+++ > 95%	+++ > 95%
<b>LP9</b>	Subpleurales, solide wachsendes, nekrotisches, wenig differenziertes, kleinherdig verhornendes PE-Ca Lymphangiosis carcinomatosa pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	m 75a	-	-	-	+	+++ 70-80%	+++ 60-70%
<b>LP10</b>	Nekrotisch zerfallendes, mäßig differenziertes, verhornendes PE-Ca Lymphangiosis carcinomatosa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 44a	-	-	-	+	+++ > 95%	+++ > 95%



<b>LP11</b>	Wenig differenziertes, nicht verhornendes PE-Ca pT <sub>4</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	m 66a	-	-	+	+ + + + 60-70%	neg - + 30-40%
<b>LP12</b>	Subpleurales, mäßig differenziertes, solide wachsendes, zentral nekrotisches, kleinherdig verhornendes PE-Ca 2.Carcinom nach LungenCa, pT <sub>1</sub> G <sub>2</sub>	m 70a	-	-	+	+ 90%	+ 90%
<b>LP13</b>	Mäßig differenziertes, verhornendes PE-Ca Lymphangiosis carcinomatosa pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 67a	-	-	+	+ + + + > 95%	+ + + + > 95%
<b>LP14</b>	Subpleurales, nekrotisches, mäßig differenziertes, wenig verhornendes PE-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>2</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	m 74a	-	-	+	+ + > 95%	+ - - + + > 95%
<b>LP15</b>	Mäßig bis wenig differenziertes, z.T. akantholytisches, wenig verhornendes PE-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	m 64a	-	-	+	+ + - - + + + + 90%	+ + - - + + + + > 95%
<b>LP16</b>	Wenig differenziertes, solide wachsendes, nicht verhornendes PE-Ca pT <sub>2</sub> G <sub>3</sub>	m 76a	-	-	+	+ - - + + > 95%	+ + 90%

<b>LP17</b>	Mäßig bis wenig differenziertes, gering vorhandenes PE-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>2</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	m 65a	-	-	+	++ > 95%	+++ 40-50%
<b>LP18</b>	Mäßig differenziertes, vorhandenes PE-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 65a	-	-	+	+++ > 95%	+++ > 95%
<b>LP19</b>	Mäßig differenziertes, solide wachsendes, zentral stark nekrotisches, nicht vorhandenes PE-Ca pT <sub>2</sub> pN <sub>x</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 71a	-	-	+	+++ 70-80%	+ 70-80%
<b>LP20</b>	Mäßig differenziertes, wenig vorhandenes PE-Ca (Intrapulmonale Metastase eines vordiagnostizierten PE-Ca der Lunge) pT <sub>2</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>1</sub> G <sub>2</sub>	m 67a	-	-	+	+++ > 95%	+++ > 95%
<b>LP21</b>	Mäßig differenziertes, nicht vorhandenes PE-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 70	-	-	+	+++ > 95%	++ 70-80%
<b>LP22</b>	Wenig differenziertes PE-Ca pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 71a	-	-	+	++ > 95%	++ 90%

7.4 Tabelle 12

Auflistung der Ergebnisse mit ausführlicheren Informationen bzgl. des jeweiligen untersuchten Tumors:

Tumor	Histologie, Organ(-bereich), Material, Staging und Grading (soweit bekannt)	Patient	RPMI		CpIgM		CK 7		PAM-1		LM-1	
			Negativ-Kontrolle	Negativ-Kontrolle	Negativ-Kontrolle	Positiv-Kontrolle	Grading/Intensität	Grading/Intensität	Prozent positiver TU-zellen	Prozent positiver TU-zellen		
<b>PAN1</b>	Wenig differenziertes, tubulär und verstreutzellig wachsendes, ductales Adeno-Ca, Pancreaskopf/corpus, Whipple-Resektat pT <sub>2</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	m 62a	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<b>PAN2</b>	Wenig differenziertes, teils muzinöses, ductales, teils ausgedehnt nekrotisches Adeno-Ca, Pancreasschwanz, Hämangiosis carcinomatosa pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	w 80a	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<b>PAN3</b>	Hochdifferenziertes, endokrines, Somatostatin produzierendes Carcinoid Pancreaskopf, Whipple-Resektat pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub>	w 58a	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<b>PAN4</b>	Wenig differenziertes, solides, endokrines, Calcitonin, Chromogranin, Gastrin produzierendes Pancreas-Ca (Carcinoid), Pancreasschwanz, Lymphangiosis carcinomatosa Pos. p53-Immunreaktion, Ki-67-Index bei 20%	m 42a	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

<b>PAN5</b>	Mäßig differenziertes, solide und kribriiformes, ductales Adeno-Ca, Pancreasteilresektat Lymphangiosis carcinomatosa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>1</sub> G <sub>2</sub>	w 61a	-	-	+	+ - + + 70-80%	+ 90%
<b>PAN6</b>	Hellzelliges, tubuläres Adeno-Ca (Acinuszell-Ca) Pancreasschwanz pT <sub>1</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub>	m 69a	-	-	+	+ + >95%	+ + + + + + >95%
<b>PAN7</b>	Periapulläres, muzinöses, siegelringzellhaltiges AdenCa Lymphangiosis carcinomatosa, Whipple-Resektat pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	m 69a	-	-	+	neg - + 40-50%	+ - - + + 90%
<b>PAN8</b>	Mäßig differenziertes, mikroglanduläres, tubuläres und teils bizarren schleimproduzierenden Drüsenformationen wachsendes, ductales AdenoCa, Pancreasschwanz pT <sub>4</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 80a	-	-	+	neg - + 40-50%	+ - - + + 70-80%
<b>PAN9</b>	Wenig differenziertes, in soliden und teils drüsig Verbänden wachsendes Adeno-Ca, Pankreaskopf Lymphangiosis carcinomatosa	m 65a	-	-	+	+ - + + 70-80%	+ + + + >95%

<b>PAN10</b>	Mäßig differenziertes, in atypischen drüsigen Verbänden wachsendes ductales Adeno-Ca Pancreas Kopf, Whipple-Resektat Lymphangiosis carcinomatosa pT <sub>3</sub> pN <sub>1a</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 69a	-	-	-	+	neg - + 70-80%	++ 90%
<b>PAN11</b>	Mäßig differenziertes, in drüsigen Verbänden wachsendes Adeno-Ca Pancreas Kopf, Whipple-Resektat Lymphangiosis carcinomatosa	w 79a	-	-	-	+	+ - + + 70-80%	neg - + + + 90%
<b>PAN12</b>	Mäßig differenziertes, diffus in atypischen drüsigen Verbänden wachsendes Adeno-Ca, Pancreas pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 69a	-	-	-	+	+ - + + + 70-80%	neg - + + 70-80%
<b>PAN13</b>	Mäßig differenziertes, teils muzinöses Adeno-Ca Pancreas Kopf, Whipple-Resektat pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 64a	-	-	-	+	+ - + + + 60-70%	+ - + + + 90%
<b>PAN14</b>	Hoch differenziertes, ductales Adeno-Ca mit atypischen, irregulären Drüsen, ektatisch und unregelmäßig konfiguriert Lymphangiosis carcinomatosa Whipple-Resektat	w 71a	-	-	-	+	+ + 90%	+ + + >95%

<b>PAN15</b>	Mäßig differenziertes, teils muzinöses, ductales Adeno-Ca mit atypisch, irregulär angeordneten Drüsen mit tubulärem Wachstum Pancreaskopf, Whipple-Resektat pT <sub>3</sub> pN <sub>1a</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 77a	-	-	-	+	+++ >95%	++++ >95%
<b>PAN16</b>	Mäßig differenziertes, tubulär und kribriform wachsendes, ductales Adeno-Ca Pancreasgang, Whipple-Resektat pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 59a	-	-	-	+	+++ >95%	++++ >95%
<b>PAN17</b>	Mäßig differenziertes, kleintubuläres, herdförmig kribriformes, wenig schleimbildendes Adeno-Ca Hämangiosis carcinomatosa pT <sub>4</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub>	w 90a	-	-	-	+	+++ >95%	++++ >95%
<b>PAN18</b>	Mäßig differenziertes, muzinöses, tubulär und kribriform wachsendes, ductales Adeno-Ca, Pancreascorpus + -cauda pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> G <sub>2</sub>	m 36a	-	-	-	+	+++ >95%	++++ >95%
<b>PAN19</b>	Wenig differenziertes Adeno-Ca + papillennahes Zystadenom, Pancreaskopf pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> G <sub>3</sub>	w 55a	-	-	-	+	+++ 90%	++++ >95%

<b>PAN20</b>	Mäßig differenziertes, teils muzinöses, ductales Adeno-Ca Whipple-Resektat pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 69a	-	-	-	+	++ ++ 90%	++ ++ >95%
<b>PAN21</b>	Mäßig bis wenig differenziertes, in neoplastischen Drüsen wachsendes, nekrotisches, ductales Adeno-Ca Lymphangiosis & Hämangiosis carcinomatosa Whipple-Resektat pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2,3</sub>	m 68a	-	-	-	+	++ 90%	++ ++ ++ ++ 90%
<b>PAN22</b>	Wenig differenziertes, ductales Adeno-Ca Pankreskopf + -corpus, Whipple-Resektat Lymphangiosis & Hämangiosis carcinomatosa pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	m 62a	-	-	-	+	neg - + 70-80%	neg - + 90%
<b>PAN23</b>	Mäßig differenziertes ductales Adeno-Ca Pancrasschwanz pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 60a	-	-	-	+	++ ++ 90%	++ >95%
<b>PAN24</b>	Wenig differenziertes Adeno-Ca Ductus Choledochus Lymphangiosis carcinomatosa, Whipple-Resektat pT <sub>3</sub> pN <sub>1</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	m 68a	-	-	-	+	++ ++ >95%	++ 90%

<b>PAN25</b>	Gut differenziertes, v.a. trabekulär und solide wachsendes, neuroendokrines Carcinom des Pancreas Pancreasschwanz	m 54a	-	-	-	+	+	+ >95%	+ - + + >95%
<b>PAN26</b>	Wenig differenziertes, ductales Adeno-Ca Pancreaskopf, Whipple-Resektat pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	w 71a	-	-	-	+	-	- 0-10%	+ + + 90%
<b>PAN27</b>	Mäßig bis wenig differenziertes, ductales Adeno-Ca Whipple-Resektat pT <sub>3</sub> pN <sub>1a</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2-3</sub>	m 73a	-	-	-	+	+ + +	+ + + >95%	+ + + >95%
<b>PAN28</b>	Hoch differenziertes, v.a. solide und teils trabekulär und ballenförmig wachsendes, endokrines (Gastrin) Carcinom Pancreascorpus Ki67-Index 10%	m 59a	-	-	-	+	+ +	+ + >95%	+ + >95%
<b>PAN29</b>	Mäßig differenziertes, gering muzinöses, ductales Adeno-Ca Pancreaskopf, Whipple-Resektat pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 64a	-	-	-	+	neg - + 90%	neg - + 90%	+ + >95%



<b>PAN30</b>	Mäßig bis wenig differenziertes, muzinöses, teils zystisches Adeno-Ca, Pancreasschwanz pT <sub>4</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>1</sub> G <sub>2</sub>	w 84a	-	-	+	+ + + + 90%	+ - + + 90%
<b>PAN31</b>	Mäßig bis wenig differenziertes, papilläres, muzinöses Adeno-Ca, Pancreasschwanz pT <sub>4</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>1</sub> G <sub>3</sub>	m 80a	-	-	+	+ + >95%	+ + >95%
<b>PAN32</b>	Wenig differenziertes, teils anaplastisches Adeno-Ca Pancreaskopf, Whipple-Resektat Lymphangiosis carcinomatosa pT <sub>3</sub> pN <sub>1b</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>3</sub>	w 65a	-	-	+	+ + >95%	+ - + + >95%
<b>PAN33</b>	Mäßig differenziertes, ductales und papilläres Adeno-Ca Pancreaskopf pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	m 71a	-	-	+	+ - + + >95%	+ + >95%
<b>PAN34</b>	Hoch differenziertes, ballenförmig und trabekulär wachsendes, neuroendokrines Carcinom Pancreaskopf Ki67-Index 2%	m 50a	-	-	+	+ + >95%	+ + >95%
<b>PAN35</b>	Mäßig differenziertes, ductales Adeno-Ca Pancreaskopf pT <sub>3</sub> pN <sub>0</sub> pM <sub>x</sub> G <sub>2</sub>	w 64a	-	-	+	+ + >95%	+ - - + + + >95%



## **Danksagung**

Mein Dank gilt natürlich in erster Linie meinen Eltern, die mir alles erst ermöglicht haben, und vor allem meinem Vater, der mich immer wieder angespornt hat. Auch an meine zweite Hälfte Dirk, der über all die Jahre alles miterleben durfte und erdulden musste, sei hier mein tiefster Dank ausgesprochen.

Vielen lieben Dank auch meiner Steffi und der wunderbaren Mannschaft aus Nele, Tina und Ewa für Eure grenzenlose Geduld und Liebenswürdigkeit – Mädels, ihr seid toll!! - und nicht zu vergessen auch Frank und natürlich: unser aller Chef,

Prof. Dr. Dr. H. P. Vollmers.

