

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Institut für Pathologie

Prof. Dr. med. Guido Sauter

Eine verminderte Expression von CD151 führt zu einem höheren Tumorstadium beim Harnblasenkarzinom

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Colin De Silva
geboren in Bad Oldesloe

Hamburg 2012

(wird von der Medizinischen Fakultät ausgefüllt)

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 19.02.2013**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. G. Sauter

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. M. Fisch

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: Prof. Dr. T. Schlomm

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	3
2. Harnblasenkarzinom	4
2.1. Einleitung Harnblasenkarzinom	4
2.2. Epidemiologie	4
2.3. Ätiologie	6
2.3.1. Zigarettenkonsum	6
2.3.2. Berufliche Exposition	7
2.3.3. Analgetika	7
2.3.4. Cyclophosphamid	7
2.3.5. Chronische Infektion	8
2.3.6. Arsen	8
2.3.7. Kaffeekonsum	9
2.4. Klinische Symptome	9
2.5. Diagnostik	10
2.6. Tumorklassifikation	12
2.7. Molekulare Grundlagen	14
2.7.1. Genetische Anfälligkeit	14
2.7.2. Chromosomenabnormalitäten	14
2.7.3. Onkogene	15
2.7.4. Tumorsuppressorgene	16
2.8. Therapie	17
2.8.1. Oberflächliches Harnblasenkarzinom	17
2.8.2. Muskelinvasives Harnblasenkarzinom	18
2.9. Prognose	19
2.9.1. Klinische Faktoren	19
2.9.2. Morphologische Faktoren	19
2.9.3. Genetische Faktoren	20
3. CD151	21
3.1. Einleitung	21
3.2. Aufbau	21
3.3. Funktion	23

3.4. CD151 und Tumormetastasierung	24
3.5. CD151, ein prognostischer Indikator bei Tumoren	26
3.6. CD151 beim Harnblasenkarzinom	26
4. Material und Methoden	28
4.1. Harnblasengewebe und Patienten	28
4.2. TMA-Herstellung	29
4.3. Qualitative Immunhistochemie	31
4.4. Statistische Methoden	33
5. Ergebnisse	34
5.1. Verwertbarkeit des Materials	34
5.2. Immunhistochemie	34
5.3. Immunhistochemische Färbung und klinische Tumorendpunkte	39
6. Diskussion	42
7. Fazit	48
8. Zusammenfassung	49
9. Literaturverzeichnis	50
10. Abbildungsverzeichnis	56
11. Tabellenverzeichnis	57
12. Abkürzungsverzeichnis	57
13. Danksagung	58
14. Lebenslauf	59
15. Eidesstattliche Erklärung	60

1. Einleitung

Für viele Tumorarten wurden in den letzten Jahren immer mehr Studien zu spezifischen Biomarkern durchgeführt. Als Beispiele können das Prostata-spezifische Antigen (PSA) für den Prostatakrebs, HER2 beim Brustkrebs oder Calcitonin beim medullären Schilddrüsenkarzinom aufgeführt werden. Auch bei Harnblasentumoren, welche weltweit zu den häufigsten Tumoren zählen, gibt es solche Marker. So werden verschiedene Onkogene häufig überexprimiert.

Bis heute gab es nur eine Studie, welche einen Zusammenhang zwischen dem Oberflächen-Glykoprotein CD151 und dem Urothelkarzinom vermutete und untersuchte, ob eine Korrelation besteht {Williams et al. 2011}.

In der vorliegenden Arbeit soll der Frage nachgegangen werden, ob CD151, welches zur Transmembran 4 Superfamilie – also den Tetraspaninen – gehört, einen prognostischen Biomarker beim Harnblasenkarzinom darstellen kann. Dazu sollen folgende Fragen beantwortet werden:

- 1) Wird CD151 beim Harnblasenkarzinom exprimiert?
- 2) Wenn ja, gibt es eine Korrelation zwischen der Expression von CD151 und dem Tumorstadium?
- 3) Kann CD151 als prognostischer Biomarker beim Harnblasenkarzinom fungieren?
- 4) Ist die vorliegende Arbeit mit anderen Studien zur Expression von CD151 vergleichbar?

Sollte es eine Korrelation zwischen der Expression von CD151 und dem Stadium des Harnblasentumors geben beziehungsweise könnte CD151 als prognostischer Marker verwendet werden, dann müsste in weiteren Studien geklärt werden, ob CD151 im Falle des Harnblasenkarzinoms ein therapeutisches Angriffsziel darstellt.

2. Harnblasenkarzinom

2.1. Einleitung Harnblasenkarzinom

Harnblasenkarzinome sind besonders in den hoch entwickelten Regionen wie Westeuropa und Nordamerika vertreten. In der Liste der häufigsten Krebsarten steht der Harnblasenkrebs bereits an 7. Stelle {Eble et al. 2004}. Bei den meisten Patienten wird der Tumor allerdings schon in frühen Stadien entdeckt, sodass potenziell kurative Therapieansätze meist noch möglich sind. Zigarettenrauchen oder die berufliche Exposition gegenüber aromatischen Aminen stellen die Hauptrisikofaktoren für diese Krebsart dar, welche meist mit einer schmerzlosen Makrohämaturie beginnt und erst im fortgeschrittenen Stadium Symptome wie zum Beispiel Dysurie, Flankenschmerzen, Pollakisurie oder einen tastbaren Unterbauchtumor zeigt.

Histologisch handelt es sich in über 90% der Fälle um ein Urothelkarzinom, selten um ein Plattenepithel- oder Adenokarzinom. Die Stadieneinteilung findet anhand der TNM-Klassifikation (Tumorausdehnung, Lymphknotenbefall, Fernmetastasen) statt.

Therapeutisch kommen mehrere Verfahren in Betracht. Möglich sind die transurethrale Resektion der Harnblase (TUR-B) ebenso wie intravesikale Therapien mit Mitomycin, einem Chemotherapeutikum, oder dem Bacillus-Calmette-Guérin, einer Immuntherapie. Zuletzt steht die radikale Zystektomie mit anschließender postoperativer Radiatio oder Chemotherapie zur Wahl. Die 5-Jahres-Überlebensrate liegt je nach Therapieform und Schwere der Erkrankung zwischen 20 und 80%.

2.2. Epidemiologie

Harnblasentumoren stehen in der Liste der häufigsten Krebsarten an 7. Stelle. Pro Jahr gibt es weltweit 260.000 Neuerkrankungen bei Männern und 76.000 bei Frauen {Ferlay et al. 2001}. Männer erkranken somit im Schnitt 3,5 Mal häufiger als Frauen an Harnblasentumoren. Das mittlere Alter der betroffenen Patienten liegt zwischen 65 und 70 Jahren {Hautmann und Huland 1997}.

3,2% aller Krebsarten entfallen auf diese Tumorart, die bei beiden Geschlechtern am

häufigsten in Westeuropa, Nordamerika und Australien vertreten ist {Parkin et al. 2003}. Die höchste Prävalenz für die Entstehung von Harnblasentumoren liegt sowohl beim Mann als auch bei der Frau in Nordamerika und in den Ländern der Europäischen Union {Ferlay et al. 2001}. Sie ist in den Industriestaaten 6 Mal höher als in den Entwicklungsländern. Die häufigste Krebsform, die hierbei vorkommt, ist das Urothelkarzinom. Es ist mit über 90% in den USA, Frankreich und Italien vertreten, kommt allerdings etwas seltener in Ost- und Nordeuropa, Afrika und Asien vor {Eble et al. 2004}. Diese regionalen Unterschiede kommen für das Harnblasenkarzinom vor allem aufgrund der Risikofaktoren, wie zum Beispiel des Zigarettenkonsums, zustande.

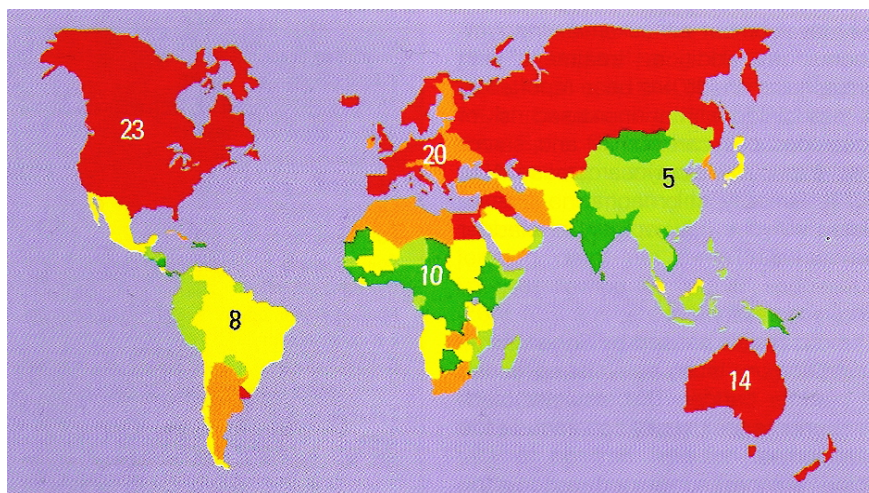


Abbildung 1: Geschätzte altersstandardisierte Inzidenz-Raten des Harnblasenkarzinoms bei Männern mit Anpassung an die weltweite durchschnittliche Altersverteilung (ASR) {Ferlay et al. 2001}.

84% der Harnblasentumoren bei den Männern und 79% derjenigen bei den Frauen liegt ein Urothelkarzinom zugrunde. Viel seltener kommen das Adenokarzinom (1,5% bei den Männern und 1,9% bei den Frauen) und das Plattenepithelkarzinom vor (1,1% bei den Männern und 2,8% bei den Frauen) {Parkin et al. 2003}.

Ungefähr 75% der Patienten mit neuer Diagnose eines Harnblasentumors befinden sich im Stadium nicht-invasiv oder früh-invasiv (Ta, Tis oder T1). Man spricht auch vom oberflächlichen Harnblasenkarzinom {Hautmann und Huland 1997}. 20% haben bereits ein invasives und 5% sogar ein metastasiertes Karzinom.

2.3. Ätiologie

Harnblasentumoren gehen mit einer ganzen Reihe von Risikofaktoren einher, von denen die Wichtigsten das Zigarettenrauchen und die berufliche Exposition gegenüber aromatischen Aminen darstellen {Negri und La Vecchia 2001}. Dies erklärt auch zum Teil die große Verbreitung dieser Krebsart in den Industriestaaten.

- Chemische Farbstoffe – Rehn 1895 2 beta Naphthylamin 1 Naphthylamin Auramin Fuchsin Benzidin Anilin (?) 4 Amino-biphenyl Dichlorobenzidin Phenacetin Cyclophosphamid Chlornaphazin Orthotolidin
- Zigarettenkonsum (1:2 bis 1:6) höheres Risiko (2-beta-Naphthylamin)
- chronische HWI (Nitrosamine)
- Bilharziose
- Endemische (Balkan-)Nephropathie (Mykotoxine)
- Medikamente Chlornaphazin Phenacetin Zyklophosphamid
- Radiatio Kaffee (?) Süßstoffe (?)

Tabelle 1: Kanzerogene beim Urothelkarzinom {Hautmann und Hulan 1997}.

2.3.1. Zigarettenkonsum

Durch das Rauchen von Zigaretten steigt das Risiko an einem Harnblasentumor zu erkranken auf 66% für Männer und 30% für Frauen {IARC = Internationale Agentur für Krebsforschung 2004b}. Gegenüber Nicht-Rauchern haben Raucher ein 2-6fach höheres Risiko diese Krebsart zu erleiden {Brennan et al. 2000 und Negri und La Vecchia 2001}.

Des Weiteren steigt die Gefahr zu erkranken zum einen mit der Dauer des Rauchens (bei

60 Jahren und mehr ergibt sich bei Männern ein 6faches und bei Frauen ein 5faches Risiko) und zum anderen mit der Anzahl der Zigaretten pro Tag (bei 40 oder mehr Zigaretten pro Tag steigt das Risiko auf das Dreifache) {Brennan et al. 2000}.

Nach Einstellen des Rauchens vermindert sich das Risiko über die Jahre hinweg langsam. 15 Jahre der Abstinenz bringen den ehemaligen Raucher ungefähr auf denselben Stand wie den Nicht-Raucher {IARC 2004b}. Dies ist bei beiden Geschlechtern ähnlich {Brennan et al. 2000}.

2.3.2. Berufliche Exposition

Der Zusammenhang zwischen beruflicher Exposition gegenüber bestimmten Stoffen und Harnblasentumoren wurde erstmals 1895 beobachtet. In der Anilinfarbstoffindustrie erkrankten Arbeiter viel häufiger an Harnblasenkrebs als in anderen Industriezweigen. Als Risikofaktoren und damit Harnblasenkarzinogene wurden vor allem Benzidin (Azofarbstoff) und 2-Naphthylamin (Gummiindustrie) ausgemacht {IARC 1987}. Der Kontakt zu diesen Stoffen verursacht bis zu 25% aller Harnblasentumoren. Der tierexperimentelle Nachweis, dass aromatische Amine Blasentumoren verursachen, gelang 1938 {Hautmann und Hulan 1997}.

2.3.3. Analgetika

Der chronische Gebrauch von Analgetika, die Phenacetin enthalten, wird in mehreren Studien als Risikofaktor für die Entwicklung eines Urothelkarzinoms im Nierenbecken, den Ureteren und der Harnblase angesehen. Das Risiko ist unter der ständigen Einnahme dieser Medikamente auf das 2,4-6fache erhöht {IARC 1987}. Zusätzlich kann Phenacetin zu einer interstitiellen Nephritis führen {Hautmann und Hulan 1997}.

2.3.4. Cyclophosphamid

Cyclophosphamid, ein Chemotherapeutikum, welches normalerweise mit Leukämie und Lymphomen in Verbindung gebracht wird, zeigt bei längerer Einnahme neben den bekannten toxischen Effekten der Zytostatika wie zum Beispiel Leukozytopenie oder Alopezie ein erhöhtes Risiko für Plattenepithelkarzinome, welche selten in der Harnblase vorkommen, und

Sarkome, hier speziell für Leiomyosarkome der Harnblase {IARC 1987}.

2.3.5. Chronische Infektionen

Der Erreger der Bilharziose, *Schistosoma haematobium*, welcher zur Familie der Trematoden (Saugwürmer) gehört und besonders in Afrika sowie im mittleren Osten weit verbreitet ist, kann unter Umständen das Risiko für Plattenepithelkarzinome der Harnblase erhöhen. Es kommt hierbei zu einer chronischen Entzündungsreaktion (Zystitis mit Hämaturie) mit folgender Fibrosierung und Verkalkung der Harnblasenwand und Fistelbildung. Anschließend kann dann ein Harnblasenkarzinom entstehen. Beweisend dafür, dass *Schistosoma haematobium* letztendlich zum Plattenepithelkarzinom führen kann, ist zum Beispiel eine deskriptive Studie, welche zeigt, dass es eine Korrelation zwischen den zwei Krankheiten Bilharziose und Harnblasenkarzinom in verschiedenen Bevölkerungsgruppen gibt {Cheever 1978}.

Auch andere Infektionen der Harnwege können, insbesondere bei Dauerkatheterträgern, zur Ausbildung von Plattenepithelkarzinomen der Harnblase führen {Hautmann und Huland 1997}. Ebenso wird die Urolithiasis, welche eine chronische Irritation der Harnblasenwand verursachen kann, als Risikofaktor für die Entstehung des Harnblasenkarzinoms angesehen {Eble et al. 2004}.

2.3.6. Arsen

In Studien konnte gezeigt werden, dass Trinkwasser, welches Chlor-Nebenprodukte enthält oder mit Arsen kontaminiert ist, das Risiko an Harnblasentumoren zu erkranken, erhöht {IARC 1987}. Diese Verunreinigung des Trinkwassers ist besonders in Ballungsgebieten der Fall. Daher erscheint in ländlichen Gebieten das Harnblasenkarzinomrisiko vergleichsweise niedrig. Eine Arbeitsgruppe der Internationalen Agentur für Krebsforschung wies nach, dass Arsen ein Karzinogen für Harnblasenkrebs darstellt und diesen verursachen kann. Sie stufte Arsen als Karzinogen der Klasse 1 ein, was bedeutet, dass es beim Menschen Krebserkrankungen der Harnblase, der Lunge und der Haut verursachen kann. Gefestigt wird dieses Ergebnis durch ökologische Studien aus Chile und Taiwan. Untersuchungen von großen Populationen, die gegenüber kontaminiertem Trinkwasser exponiert waren, zeigten in diesen Ländern, dass Arsen ein Risikofaktor für die Entstehung von Harnblasentumoren

ist {IARC 2004a}.

2.3.7. Kaffeekonsum

In Tierversuchen wurden keine klaren Beweise für den Effekt von Kaffee oder Koffein auf die Harnblase gefunden. In einigen Studien wird allerdings berichtet, dass das Risiko an einem Harnblasenkarzinom zu erkranken bei Kaffeetrinkern gegenüber Nicht-Kaffeetrinkern erhöht ist {Hartge et al. 1983}. Eine andere Studie besagt, dass das Risiko bei Menschen, die nie geraucht haben aber Kaffee trinken, ansteigt, wohingegen das Risiko bei Menschen, die schon immer geraucht haben aber nicht erhöht ist {Woolcott et al. 2002}. Entsprechend gibt es aber auch Studien, welche keine Übereinstimmungen zwischen erhöhtem Kaffeekonsum und dem Auftreten von Harnblasentumoren gefunden haben {Nomura et al. 1991}. Ob ein erhöhter Kaffeekonsum also wirklich einen Risikofaktor für Harnblasenkarzinome darstellt, bleibt vorerst unklar.

2.4. Klinische Symptome

Je nach Ausdehnung und Lokalisation des Tumors, meist an der Harnblasenrück- oder seitenwand, ergeben sich zum Teil völlig unterschiedliche Symptome, die wie bei vielen malignen Erkrankungen eher unspezifisch sind. Bei den meisten Patienten mit Harnblasentumoren findet sich aber zumindest eine Mikrohämaturie oder Leukozyturie {Hautmann und Huland 1997}.

Das häufigste Symptom, welches bei 85% der Patienten vorkommt, ist die schmerzlose Makrohämaturie {Hautmann und Huland 1997}, bei der eine anschließende Gerinnung des Blutes und eine schmerzhaftige Miktions auftreten können. Damit stellt sie das Leitsymptom beim Harnblasenkarzinom dar. Eine sofortige Zystoskopie sollte durchgeführt werden, da eine Blutung solange als tumorverdächtig gilt, bis das Gegenteil bewiesen worden ist.

Bei großen Tumoren kann es aufgrund der Kapazitätsminderung der Harnblase auch zu einer Pollakisurie kommen. Daneben tritt die Pollakisurie zusammen mit Dysurie, Harndrang und Nykturie auch bei Tumoren auf, die am Blasen Hals lokalisiert sind oder eine große Fläche der Harnblasenwand bedecken. Diese Symptome können aber auch fehlen. Ebenfalls möglich sind sie beim ausgedehnten Carcinoma in situ {Hautmann und Huland 1997

und Eble et al. 2004}.

Durch Tumoren, die die Uretermündung infiltrieren und verschließen, kann es durch den folgenden Harnrückstau zu einer Hydronephrose, also einer Dilatation des Nierenbeckenkelchsystems, kommen. Diese stellt ein schlechtes prognostisches Zeichen dar. Selten zeigen sich bei ausgedehntem Befund ein tastbarer Beckentumor oder Ödeme der unteren Extremitäten {Eble et al. 2004}.

Schreitet die Erkrankung fort, kommt es häufig wie bei den meisten malignen Tumoren zum Gewichtsverlust. Auch Intestinal- oder Knochenschmerzen können auftreten, die für eine Metastasierung des Tumors sprechen {Eble et al. 2004}. Diese erfolgt früh in die regionalen, also in die Lymphknoten des kleinen Beckens in der Fossa obturatoria, und in die präsakralen und iliakalen Lymphknoten {Hautmann und Huland 1997}, aber erst recht spät hämatogen in Leber, Lunge und Knochen.

Bei Harnblasentumoren kann es in weniger als 10% der Fälle zusätzlich zum Auftreten von Tumoren der oberen Harnwege kommen. Als erstes wegweisendes Zeichen ist hier wieder eine Mikrohämaturie möglich, wie sie bei der Nierenbecken- und Ureterinfiltration vorkommt. 50% der Patienten zeigen allerdings eine Makrohämaturie {Eble et al. 2004}. Durch Obstruktionen, die durch die Blutgerinnsel hervorgerufen werden können, kann es bei diesen Patienten zu akuten und starken ureteralen Flankenschmerzen in Form von Koliken kommen. Nicht selten wird dann die Fehldiagnose einer Urolithiasis gestellt.

Durch die Obstruktion ist auch eine Hydronephrose möglich, die allerdings klinisch unbemerkt bleibt, falls sich diese langsam entwickelt. Sollte aber nur noch eine Niere vorhanden sein oder hat der Patient in sehr seltenen Fällen eine beidseitige Obstruktion der Ureteren, dann resultiert schließlich eine Anurie und eine Niereninsuffizienz {Eble et al. 2004}.

2.5. Diagnostik

Die klinische Bildgebung dient der Auffindung und dem Staging des infiltrativen Urothelkarzinoms. Genutzt werden hier das Ultraschall, das intravenöse Urogramm, die Computertomographie (CT) und die Magnetresonanztomographie (MRT) {Eble et al. 2004}.

Die Zystoskopie mit anschließender Biopsie bestätigt die Diagnose eines Tumors. Andere Verfahren sind hierfür nicht ausreichend. Daher ist die Zystoskopie bei schmerzloser Makro- oder Mikrohämaturie unerlässlich, auch wenn an erster Stelle der Untersuchungsmethoden nicht-invasive Verfahren stehen, wie zum Beispiel die Sonographie {Hautmann und Huland 1997}. Die histologische Diagnosesicherung erfolgt dann mittels Tumorresektion in der tiefen Muskelschicht der Blasenwand {Eble et al. 2004}.

Die transabdominelle Ultraschalluntersuchung ist schnell durchführbar, nicht-invasiv, billiger als andere bildgebende Verfahren und in den meisten medizinischen Institutionen verfügbar. Allerdings beträgt die Staging-Genauigkeit weniger als 70% beim infiltrativen Harnblasenkarzinom {Denkhaus et al. 1985}. Deshalb wird diese Untersuchung nicht für das Staging verwendet. Die Sensitivität liegt bei 63%, während die Spezifität mit 99% sehr hoch ist {Datta et al. 2002}. Das bedeutet, dass mit diesem Verfahren nur 63% der Harnblasentumoren überhaupt erkannt werden, weshalb immer noch eine weitere bildgebende Untersuchung angeschlossen werden sollte.

Die Rate der falsch-negativen Ergebnisse ist aufgrund der Tumorlokalisierung, postoperativen Veränderungen und bei Adipositas hoch. Allerdings erhöht sich die Genauigkeit bei Harnblasentumoren im Stadium T2 oder T3 bis über 95% {Koraitim et al. 1995}.

Das intravenöse Urogramm zur Darstellung der ableitenden Harnwege ist aufgrund des verabreichten Kontrastmittels zuverlässig bei der Diagnose von intraluminalen Prozessen im Ureter, den Nierenbecken und der Harnblase (hier aber weniger genau) {Eble et al. 2004}. Allerdings kann mit dieser Methode die Ausdehnung extramuraler Tumoren nicht bestimmt werden. Zusätzlich werden viele extraluminale pathologische Prozesse übersehen, weil die Weichteilstrukturen nur schwer darstellbar sind. Folglich wird das intravenöse Urogramm häufig durch das CT oder das MRT ersetzt {Eble et al. 2004}.

Die Computertomographie wird in den meisten Institutionen für das primäre Staging eingesetzt, da sie besser zugänglich und kostengünstiger ist als die Magnetresonanztomographie. Beide bildgebenden Verfahren versagen aber oft bei der Differenzierung zwischen Ödem nach post-transurethraler Resektion und Tumor {Eble et al. 2004}.

Die Staging-Genauigkeit der Computertomographie für das Urothelkarzinom der Harnblase liegt bei 55% {Paik et al 2000}, falsche Ergebnisse sind häufig. Durch das Spiral-CT kann die Genauigkeit erhöht werden, da Atmungsartefakte wegfallen {Eble et al. 2004}.

Die Magnetresonanztomographie ist besser geeignet zur Beurteilung der Tiefe von intramuralen Invasionen und extravasikalem Tumorwachstum, weil die Weichteilstrukturen gut beurteilt werden können. Die Genauigkeit beträgt immerhin 83% {Sohn et al. 1990}.

2.6. Tumorklassifikation

Die Einteilung der Harnblasentumoren erfolgt anhand der TNM-Klassifikation, welche die Tumorausbreitung, den Lymphknotenbefall und Fernmetastasen berücksichtigt. Mithilfe der transurethralen Resektion von allen sichtbaren Läsionen ist eine genaue Beurteilung der Tiefe der Tumorinvasion möglich. Für das Harnblasenkarzinom ergibt sich nach den Kriterien der UICC (Union Internationale Contre le Cancer) folgende TNM-Klassifikation:

T0 = kein Anhalt für Primärtumor

Tis = nicht exophytisch, nicht infiltrativ (Carcinoma in situ)

Ta = exophytisch, nicht infiltrativ

T1 = Invasion in die Lamina propria

T2 = Invasion in die Muskulatur

T2a = oberflächliche Muskulatur

T2b = tiefe Muskulatur

T3 = Invasion in das
perivesikale Fettgewebe

T3a = mikroskopisch

T3b = makroskopisch

T4 = Invasion in die Nachbarorgane

T4a = Prostata, Samenbläschen,
Uterus, Vagina

T4b = Bauch- oder Beckenwand

TX = Angaben zur Infiltration können nicht gemacht werden

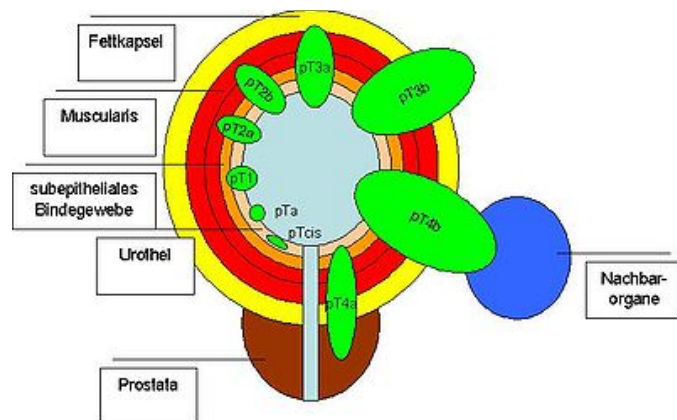


Abbildung 2: Tumorausbreitung des Harnblasenkarzinoms.

N0 = kein regionaler Lymphknotenbefall

N1 = Metastasen in einem einzigen Lymphknoten im Becken (hypogastrischer, obturatorischer, äußerer iliakaler oder präsakraler Lymphknoten)

N2 = Metastasen in mehreren Lymphknoten im Becken (hypogastrische, obturatorische, äußere iliakale oder präsakrale Lymphknoten)

N3 = Metastasen in anderen iliakalen Lymphknoten

NX = regionale Lymphknoten können nicht beurteilt werden

M0 = keine Fernmetastasen

M1 = Fernmetastasen

MX = das Vorliegen von Fernmetastasen kann nicht beurteilt werden

Bei der Klassifizierung in pT1 und pT2 ist zu beachten, dass ein Tumor, der den Muskel durchsetzt, nicht gleichzusetzen ist mit einer Invasion der Muscularis propria, da schmale Muskelfaserbündel häufig als Muscularis mucosae in der Lamina propria vorhanden sind {Ro et al. 1987}.

Bei positiver Urinzytologie ohne erkennbare Läsionen oder ohne den Beweis für Tumoren der oberen Harnwege sollten Biopsien von unterschiedlichen Orten der Harnblasenwand zur Erkennung eines Carcinoma in situ entnommen werden {Eble et al. 2004}.

Das Carcinoma in situ wächst flächenhaft nur im Schleimhautniveau und kann zystoskopisch leicht übersehen werden. Harnblasentumoren im Tis-Stadium werden als besonders aggressiv eingeschätzt {Hautmann und Huland 1997}.



Abbildung 3: Carcinoma in situ {Eble et al. 2004}.

Die Genauigkeit der bildgebenden Verfahren (CT, MRT, PET) zur Bestimmung der T-Klassifikation ist limitiert und gibt nicht immer das genaue Stadium des Tumors wieder {Paik et al. 2000 und Shvarts et al. 2002}. Auch bei der Erkennung von Lymphknotenmetastasen

(N-Klassifikation) erreichen diese Methoden weder eine hohe Sensitivität noch eine hohe Spezifität {Buszello et al. 1994}. Allerdings hat der Nachweis einer Lymphknotenvergrößerung einen hohen prognostischen Wert für Metastasen.

Die Dissektion der Beckenlymphknoten bis zur Aortenbifurkation stellt das derzeitige Verfahren der Wahl zur Beurteilung des N-Stadiums dar und scheint sogar therapeutisch wirksam zu sein {Vieweg et al. 1999}. Andere Verfahren, wie die Resektion des Sentinel-Lymphknotens oder die laparoskopische Dissektion zur Klassifikation des N-Stadiums sind nur experimenteller Natur.

Um Metastasen der Lunge auszuschließen sollte ein Röntgenbild des Thorax gemacht werden. Metastasen der Leber erkennt man mit bildgebenden Verfahren wie Ultraschall, CT oder MRT. Um Knochenmetastasen zu diagnostizieren, muss eine Skelettszintigraphie gemacht werden, wenn der Patient Symptome zeigt {Eble et al. 2004}.

2.7. Molekulare Grundlagen

2.7.1. Genetische Anfälligkeit

In manchen Fällen findet sich beim Urothelkarzinom eine familiäre Häufung {Schoenberg et al. 1996}, obwohl diese Form des Karzinoms nicht zu den familiären Erkrankungen gehört. Verwandte ersten Grades haben ein 1,5 bis 2fach erhöhtes Risiko ein Urothelkarzinom zu bekommen {Goldgar et al. 1994}. Allerdings wurde bis jetzt nur in einer Familie mit Urothelkarzinomen eine Translokation $t(5;20)(p15;q11)$ als genetische Veränderung nachgewiesen {Schoenberg et al. 1996}.

2.7.2. Chromosomenabnormalitäten

Es wird angenommen, dass invasive Urothelkarzinome entweder von nicht-invasiven hochgradigen papillären Karzinomen oder von Urothelkarzinomen in situ abstammen. Genetisch gesehen ist das invasiv wachsende Karzinom (pT1-4) sehr verschieden vom niedriggradigen nicht-invasiven papillären Karzinom {Eble et al. 2004}.

Viele unterschiedliche Chromosomenveränderungen können sich bei invasiven

Harnblasenkarzinomen finden, durchschnittlich 7-10, wie in vielen Studien beschrieben {Simon et al. 1998 und Simon et al. 2000}. Dazu gehören die Verluste von 2q, 5q, 8p, 9p, 9q, 10q, 11p, 18q und des Y-Chromosoms, sowie der Zugewinn von 1q, 5p, 8q und 17q. Dennoch ist es schwierig, die einzelnen Gene jener Chromosomen zu identifizieren, welche für die Entwicklung und Progression von Harnblasenkarzinomen am wichtigsten sind.

Oft kommt es zu einer Co-Amplifikation und gleichzeitiger Überexpression vieler benachbarter Onkogene. Dadurch kann es bei der Amplifikation von CCND1 auf Chromosom 11q13 zu einer begleitenden Amplifikation von FGF4/FGF3 in 88% der Fälle kommen, zu einer Co-Amplifikation von MDM2 auf Chromosom 12q15 und CDK4 bei 11% der Patienten {Simon et al. 2002} oder zu einer HER2-Amplifikation mit gleichzeitiger TOP2A-Amplifikation in 15% der Fälle {Eble et al. 2004}.

2.7.3. Onkogene

HER2/neu, ein membranständiger Tyrosinkinase-Rezeptor, ist eigentlich bekannt geworden als Therapieziel von Trastuzumab (Herceptin®) in der Brustkrebstherapie. Allerdings wird dieses Protein auch bei invasiv wachsenden Harnblasentumoren in 10-20% der Fälle amplifiziert und in 10-50% der Fälle überexprimiert {Lofts und Gullick 1992}. Im Gegensatz zum Mammakarzinom, bei dem die HER2-Überexpression fast immer auf eine Genamplifikation zurückzuführen ist, ist die Mehrheit der HER2-positiven Harnblasenkarzinome nicht amplifiziert. Der Grund der Überexpression ist hier unbekannt.

Beim H-ras, einem Protein der ras-Gruppe, wurden je nach Untersuchungsmethode in bis zu 45% der Harnblasenkarzinome Mutationen dieses Gens in den Codons 12, 13 und 61 gefunden {Levesque et al. 1993}.

Ein weiterer membranständiger Tyrosinkinase-Rezeptor, EGFR, welcher auch therapeutisches Ziel diverser Medikamente ist, wird beim invasiv wachsenden Harnblasentumor in 3-5% der Fälle amplifiziert und in 30-50% der Fälle überexprimiert {Lipponen und Eskelinen 1994}.

Auch die Zyklin-abhängigen Kinasen und ihre regulatorischen Untereinheiten, die Zykline, spielen eine Rolle bei invasiven Harnblasentumoren. Das Zyklin-D1-Gen zeigt in 10-20% der

Harnblasenkarzinome Amplifikationen und wird in 30-50% der Karzinome überexprimiert {Sgambato et al. 2002}.

MDM2 ist ein Gen, welches für mehr als 40 verschiedene Splice-Varianten kodiert, von denen 2 mit dem Tumorsuppressorgen p53 interagieren und dabei die Fähigkeit des MDM2-Gens, die Transkription zu aktivieren, inhibieren {Bartel et al. 2002}. Im umgekehrten Fall wird die Transkription von MDM2 durch einen Wildtyp von p53 induziert. In normalen Zellen regulieren sich beide Gene also gegenseitig {Eble et al. 2004}. Zusätzlich ist die MDM2-Überexpression eine alternative Möglichkeit zur Inaktivierung von p53. In 4-6% der invasiv wachsenden Harnblasentumoren findet sich eine MDM2-Amplifikation {Simon et al. 2002}. Die Expression von MDM2 wurde bei 10-40% der Harnblasenkarzinome festgestellt.

2.7.4. Tumorsuppressorgene

Das Tumorsuppressorgen p53 ist in vielen verschiedenen Prozessen der Zelle involviert, wie dem Zellzyklus, der geeigneten Antwort auf eine Beschädigung der DNA, dem programmierten Zelltod und der Neovaskularisation {Hickman et al. 2002}. Es ist bei invasiv wachsenden Harnblasentumoren meist zentral am DNA bindenden Teil des Gens mutiert. 40-60% der Karzinome zeigten bei einer Mutationsanalyse {Olivier et al. 2002} diese Mutationen, welche zu über 90% in den Exons 4-9 gefunden wurden.

Auch das PTEN-Gen, welches auf Chromosom 10q23.3 lokalisiert ist, ist ein bekanntes Tumorsuppressorgen und zeigte in einer Studie Mutationen in 23% der Fälle {Wang et al. 2000}.

Genauso kann das Retinoblastomgen RB1, lokalisiert auf Chromosom 13q14, durch Mutationen inaktiviert sein. Dies ist in 30-80% der muskelinvasiven Harnblasentumoren der Fall {Ioachim et al. 2000}. Das Retinoblastomgen ist für die Zellzyklusregulation von entscheidender Bedeutung.

Für viele Tumorarten sind zusätzlich Veränderungen der DNA-Reparaturgene wichtig. Beim invasiven Harnblasenkarzinom sind Veränderungen der Mismatch-Reparaturgene jedoch selten. Eine Metaanalyse aus 7 Studien zeigte, dass eine Mikrosatelliten-Instabilität nur in 12 von 524 Fällen gefunden worden ist und daher nicht besonders die Entwicklung von

Harnblasenkarzinomen fördert {Hartmann et al. 2002}.

Eine weitere Beobachtung ließ erkennen, dass Veränderungen von 9p21 und p15/16 in nicht-invasiven niedriggradigen Neoplasien gleich häufig oder sogar häufiger vertreten sind als in invasiven hochgradig wachsenden Tumoren {Eble et al. 2004}.

2.8. Therapie

Je nach Tumorstadium entscheidet sich auch die Wahl der Therapie. Die Prognose ist umso günstiger, je früher der Tumor diagnostiziert wird und je niedriger das Tumorstadium ist. Therapieoptionen sind die transurethrale Resektion der Harnblase (TUR-B), intravesikale Therapien – wie die Behandlung mit Mitomycin, einem Chemotherapeutikum, oder mit dem Bacillus-Calmette-Guérin, einer Immuntherapie – die radikale Zystektomie mit postoperativer Radiatio oder Chemotherapie oder die alleinige Radiatio {Meyer et al. 2007, Nishimura et al. 2009, Engel und Witjes 2009, Yafi und Kassouf 2009}.

2.8.1. Oberflächliches Harnblasenkarzinom

Die adäquate Therapie oberflächlicher Harnblasenkarzinome (Ta G1-3, T1 G1-2, T1 G3, Tis) ist die komplette chirurgische Entfernung {Hautmann und Huland 1997}. Es wird die TUR-B angewandt, bei der zunächst das exophytisch wachsende Tumorgewebe abgetragen wird und anschließend die Tumorbasis bei einer zweiten Resektion. Eine Nachresektion bei zystoskopisch fraglicher vollständiger Tumorentfernung erfolgt nach 1-4 Wochen {Engel und Witjes 2009}.

Sollten sich bei oberflächlichen Harnblasenkarzinomen Rezidive ergeben, dann kann direkt nach erfolgter TUR-B Mitomycin in die Harnblase instilliert werden, was dann die Implantation von Tumorzellen verhindert und den Zeitraum bis zum nächsten Rezidiv verlängert {Malmstrom und Sylvester 2009}.

Auch zur Prophylaxe von Rezidiven von oberflächlichen Harnblasenkarzinomen ist die Therapie mit Mitomycin oder aber dem Bacillus-Calmette-Guérin, einem attenuierten Tuberkuloseerreger, der eine komplexe lokale Immunantwort auslöst, sinnvoll. Entweder erfolgt die Behandlung als Kurzzeittherapie für 6-8 Wochen oder als Langzeittherapie für 12-

36 Monate {Engel und Witjes 2009 und Orsola et al. 2010}.

2.8.2. Muskelinvasives Harnblasenkarzinom

Beim muskelinvasiven Harnblasenkarzinom (T2-4 Nx M0) sind potenziell kurative Therapieansätze möglich. Zunächst erfolgt eine bilaterale pelvine Lymphadenektomie. Beim Mann werden während der radikalen Zystektomie zusätzlich noch Prostata und Samenblasen entfernt und bei der Frau wird noch eine Ovariectomie und eine Hysterektomie inklusive Entfernung der vorderen Scheidenmanschette durchgeführt. Eine kontinente oder inkontinente Harnableitung wird anschließend angelegt {Yafi und Kassouf 2009}.

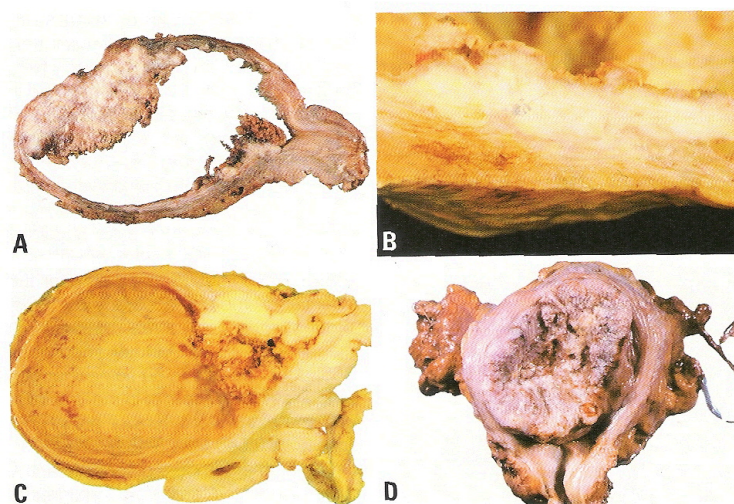


Abbildung 4: Invasive Urothel-Karzinome. **A** Papilläres invasives Harnblasenkarzinom. **B** Invasives Urothelkarzinom mit Infiltration der muskulären Harnblasenwand. **C** Invasives Urothelkarzinom mit tiefer Infiltration der Harnblasenwand. **D** Ulzerierendes Karzinom. {Eble et al. 2004}

Sollte der Patient für eine radikale Zystektomie nicht geeignet sein oder sollte er diese ablehnen, dann kommen eine Radiotherapie oder eine Radiochemotherapie in Betracht {Nishimura et al. 2009}. Als günstig erweist sich hier die vorausgegangene vollständige transurethrale Tumorresektion. Eine Radiotherapie kann auch im Anschluss an eine Zystektomie erfolgen, um die Möglichkeit der Rezidivbildung zu verhindern {Kalogeras et al. 2008}.

Liegen ein T4-Tumor oder bereits Fernmetastasen vor, so scheint ein kurativer Ansatz nicht erfolgsversprechend zu sein. Als palliative Maßnahmen empfehlen sich hier die

Zystektomie zur Verbesserung des Allgemeinzustandes sowie eine Verhinderung von möglichen Tumorkomplikationen. Sollte eine Zystektomie nicht möglich sein, dann kann auch eine umfangreiche Resektion des Harnblasentumors stattfinden {Meyer et al. 2007}.

2.9. Prognose

2.9.1. Klinische Faktoren

Klinische Faktoren können nur mehr oder weniger schlecht zur Bestimmung der Prognose von Harnblasenkarzinomen herangezogen werden. Sollte der Tumor allerdings multifokal vorkommen, hat er mehr als 3cm Durchmesser oder gibt es begleitend ein Carcinoma in situ, dann ist das Risiko für ein Rezidiv und eine Progression erhöht {Rodriguez-Alonso et al. 2002}. Eine schlechte Prognose ergibt sich, wenn der Tumor bei der bimanuellen Untersuchung außerhalb der Harnblasenwand getastet werden kann, die Ureterenmündungen infiltriert sind oder Lymphknoten- oder sogar Fernmetastasen vorliegen.

2.9.2. Morphologische Faktoren

Zu den morphologischen Prognosefaktoren zählen vor allem das histologische Grading und das TNM-Stadium des Tumors. Dabei ist das Grading besonders für pT1-Tumoren wichtig, während die meisten pT2-4 Tumoren als hochgradig einzustufen sind und somit ein weiteres Grading hier kaum noch einen Sinn hat {Eble et al. 2004}.

Ein wichtiger Prognosefaktor ist allerdings die Tiefe der Invasion des Tumors in die Lamina propria. Sobald die Muscularis mucosae überschritten worden ist, spricht dies für eine höhere Progressionsrate {Eble et al. 2004}.

Sollte sich ein Tumor im Stadium T1 befinden und hochgradig sein, dann beträgt die Rezidivrate 80%, die Progressionsrate 60% und die 10-Jahres-Überlebensrate 35% {Mostofi et al. 1999}.

Auch beim Carcinoma in situ hängt die Prognose vom Grading und vom Staging des Tumors ab. Sollte sich hier schon eine Mikroinvasion zeigen, dann spricht dies für ein aggressives Verhalten des Tumors {Lopez-Beltran et al. 2002}.

Eine Invasion der lymphatischen oder vaskulären Gefäße geht mit einer herabgesetzten 5-Jahres-Überlebensrate von 44% bei pT1-Tumoren einher. Allerdings wird die vaskuläre Invasion häufig überdiagnostiziert und ist deshalb ein fraglicher Prognoseparameter {Lapham et al. 1997}.

Weitere Faktoren, die Einfluss auf die Prognose des Harnblasenkarzinoms nehmen, sind die histologische Art des Tumors (zum Beispiel kleinzellig, sarkomatoid oder mikropapillär), der Absetzungsrand nach einer Zystektomie und die Form des Tumorwachstums {Eble et al. 2004}.

2.9.3. Genetische Faktoren

Zurzeit gibt es keinen ausreichend geprüften molekularen Parameter, der anerkannten klinischen Wert bei invasiven Harnblasentumoren hat {Eble et al. 2004}.

In einer Studie schien die Veränderung des Tumorsuppressorgens p53 zwar mit einer schlechteren Prognose einherzugehen {Grossman et al. 1998}, dies konnte aber durch eine nachfolgende Studie nicht bestätigt werden {Peyromaure et al. 2002}. Auch sind die gebräuchlichen Methoden der immunhistochemischen Analyse des p53 im Moment noch nicht gut genug für die klinische Bewertung von p53-Veränderungen {Eble et al. 2004}.

Für die Regulationsproteine des Zellzyklus, p21 und p27, welche die Zyklin-abhängigen Kinasen inhibieren oder stimulieren, wurde in einer Studie gezeigt, dass beim Phenotyp p53+/p21- die Prognose nach Zystektomie oder radikaler Radiatio schlechter ist als beim Phenotyp p53+/p21+ {Qureshi et al. 2001}.

Der Einfluss der bereits beschriebenen Onkogene HER2 und EGFR, welche zum Teil überexprimiert werden {Lofts und Gullick 1992 und Lipponen und Eskelinen 1994}, und das Retinoblastomgen, welches inaktiviert sein kann {Ioachim et al. 2000}, auf die Prognose konnte bis jetzt noch nicht bestätigt werden {Skriplakich et al. 1999 und Korkopolou et al. 2000}.

3. CD151

3.1. Einleitung

Tetraspanine sind in vielen biologischen Prozessen involviert. Als kleine Membranproteine, die in Organismen verschiedener Arten vorkommen, sind sie beteiligt an der Fertilisation, der parasitären und viralen Infektion, synaptischen Kontakten bei der neuromuskulären Erregungsbildung, der Plättchenaggregation, der Einleitung einer Immunantwort, aber auch in der Tumorsuppression und -progression {Zöller 2009}. Trotzdem sind ihre genaue Funktion und der spezifische Ablauf ihrer Interaktionen bisher noch weitgehend unaufgeklärt geblieben.

Besonders die Funktion und Beteiligung am Tumorgeschehen machten einige Proteine der Transmembran 4 Superfamilie, wie zum Beispiel CD9, CD82 und CD151, in den Studien der letzten Jahre seit 1990 bekannt. Als Promoter der Metastasierung bei vielen Krebsarten ist es von großem wissenschaftlichem Interesse den genauen Aufbau, die Funktion und die Interaktionen von CD151 zu identifizieren, um mögliche Therapieansätze zu kreieren.

In der vorliegenden Arbeit soll gezeigt werden, dass CD151 beim Harnblasenkarzinom einen neuen prognostischen Biomarker darstellen könnte, der bei dieser Tumorart noch nicht beschrieben worden ist und somit Ziel therapeutischer Ansätze werden könnte.

3.2. Aufbau

Das Oberflächen-Glykoprotein CD151, bei welchem „CD“ für Cluster of Differentiation“ steht, gehört zur Transmembran 4 Superfamilie, die auch als Tetraspanine bezeichnet werden. Mit den über 20 Mitgliedern dieser Familie ist CD151 zu 25-30% homolog {Fitter et al. 1995}. Es besitzt vier hydrophobe Domänen, die die Membran durchspannen, hat mit 253 Aminosäuren eine vergleichbare Größe (202 bis 351 Aminosäuren) und besitzt viele Sequenzmuster, wie zu Beispiel CCG in den Codons 155 und 157, die mit anderen Tetraspaninen identisch sind. Die hydrophobe Hauptdomäne von CD151 besteht aus 106 Aminosäuren {Hasegawa et al. 1996}.

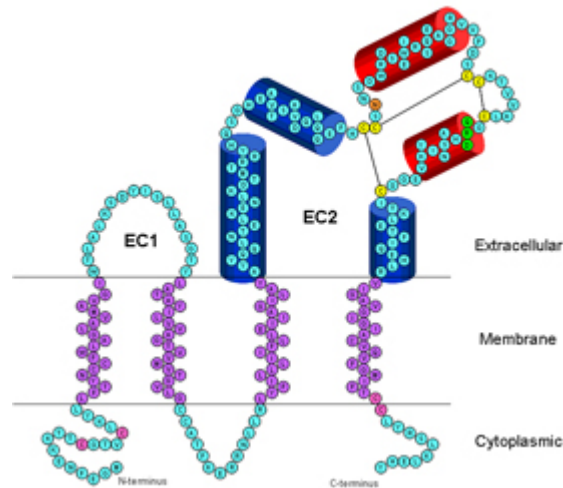


Abbildung 5: Molekularer Aufbau von CD151.

Tetraspanine haben kurze zytosolische N- und C-Termini und eine kleine (EC1) und eine große (EC2) extrazelluläre Schleife, von denen die große Schleife 78 bis 150 Aminosäuren und 4 Cysteine enthält {Karamatic et al. 2004}. Wichtig ist vor allem diese große extrazelluläre Schleife (EC2), die sich zwischen der dritten und vierten Transmembrandomäne befindet, da sie für die Funktion und Interaktion von CD151 mit Integrinen und anderen Mitgliedern der Transmembran 4 Superfamilie von großer Bedeutung ist.

Zuerst entdeckt wurde CD151 1991 unter dem Namen gp27 durch eine Wissenschaftlergruppe um Ashman, die nachwies, dass gp27 auf Blutplättchen vorkommt {Ashman et al. 1991}. 1995 kloneten Fitter et al. dieses Gen und nannten es PETA-3, für Platelet-Endothelial Cell Tetraspanin Antigen 3 {Fitter et al. 1995}. PETA-3 wird in den meisten Geweben exprimiert. Eine Ausnahme bildet das Gehirn.

Das Gen für CD151 liegt auf dem langen Arm von Chromosom 11, genauer 11p15.5 {Hasegawa et al. 1997}, und besteht aus 8 Exons.

Zunächst wurde angenommen, dass CD151 nur in der Plasmamembran vorkommt, doch eine Studie über die Lokalisation dieses Glykoproteins zeigte, dass 66% des exprimierten CD151 in intrazellulären Kompartimenten angesiedelt ist. Die genaue Bestimmung dieses Zellorganells wurde mit der Immun-Elektronen-Mikroskopie durchgeführt. Schließlich konnte gezeigt werden, dass es sich bei dem Ort des häufigsten Auftretens von CD151 um späte Endosomen und bzw. oder Lysosomen handelte {Sincock et al. 1999}.

Auf der Zelloberfläche ist CD151 in der basolateralen Membran in endothelialen und epithelialen Zellen lokalisiert {Sincock et al. 1999}.

3.3. Funktion

Die Mitglieder der Transmembran 4 Superfamilie, zu denen auch CD151 gehört, sind maßgeblich im Rahmen der Signaltransduktion der meisten Zellen beteiligt. Sie wirken damit regulierend auf Zellwachstum, Zellaktivierung, Zellentwicklung und Zellmotilität {Hasegawa et al. 1997}. CD151 ist zudem involviert in der Zelladhäsion und kann die Motilität, Invasion und Metastasierung von Krebszellen steigern.

Seine Funktion vermittelt dieses Oberflächenprotein durch Interaktion mit anderen Mitgliedern der Tetraspanine und durch Bindung an Integrine, welche Transmembran-Rezeptoren mit α - und β -Untereinheiten darstellen {Karamatic et al. 2004}. Sie verbinden die Extrazellulärmembran mit dem Zytoskelett durch extrazelluläre Domänen, welche während der Biosynthese in eine schwere und eine leichte Kette gespalten werden. Bei Mutation dieser extrazellulären Domäne kann es nicht mehr zu dieser Spaltung kommen, wodurch stabile Komplexbildungen mit Tetraspaninen dann nicht mehr möglich sind {Yauch et al. 2000}. Von Bedeutung sind vor allem die Integrin-Komplexe $\alpha3\beta1$, $\alpha6\beta1$ und $\alpha6\beta4$. Die Aggregation mit diesen Integrinen und auch mit anderen Tetraspaninen führt zur Ausbildung des so genannten Tetraspanin-Netzes oder der Tetraspanin-reichen Mikrodomänen {Karamatic et al. 2004}.

Die Interaktion mit den Integrinen kann in drei Kategorien klassifiziert werden {Claas et al. 2001}. Starke, sehr stabile Verbindungen entstehen im CD151- $\alpha3\beta1$ Komplex, welche damit Kategorie 1 entsprechen. Etwas schwächere Bindungen kommen bei den meisten anderen Komplexen der Tetraspanine vor, wie zum Beispiel die Bindung zwischen CD151 und $\alpha6\beta4$. Diese Verbindungen sind sehr selektiv und gehören Kategorie 2 an. Der Komplex CD151- $\alpha6\beta1$ fällt je nach Zelltyp in Kategorie 1 oder 2. In die letzte Kategorie, also Kategorie 3, gehören die Verbindungen der Tetraspanine untereinander, sowie die Komplexe zwischen Tetraspaninen und anderen Molekülen, die nicht in die Klassen der Mitglieder der Transmembran 4 Superfamilie oder der Integrine gehören.

Zwischen $\alpha3\beta1$ und CD151 kommt es zu einer direkten Verbindung, welche sehr stabil und spezifisch ist {Yauch et al. 2000}. Die Funktion des $\alpha3\beta1$ -CD151 Komplexes blieb lange

unklar und die Aufgabe vieler anderer Tetraspanin-Integrin Verbindungen ist bis heute noch nicht aufgeklärt worden. Dennoch zeigt eine Studie, dass der $\alpha 3\beta 1$ -CD151-Komplex einen hohen Beitrag zur Anzahl, Länge und Wachstum der Neuriten leistet {Stipp und Hemler 2000}. In einer anderen Forschung reguliert CD151 die Endozytose von $\alpha 3\beta 1$ {Hasegawa et al. 2007} und fördert damit die Zellmigration.

Für $\alpha 6\beta 1$ wurde gezeigt, dass es sich mit CD151 zu einer funktionellen Einheit verbinden kann. Die zytoplasmatische Seite des Integrins $\alpha 6$ kann so die Aktivierung der MAP-Kinasen und die Zellmigration regulieren {Wei et al. 1998}. CD151 zeigt sich hier als Verbindungsmolekül zwischen Signalen von außen und der Weitergabe über die Signaltransduktion in die Zelle hinein.

Das Integrin $\alpha 6\beta 4$ kommt vor allem in basalen Keratinozyten vor und ist hier in den Hemidesmosomen konzentriert vorzufinden {Sterk et al. 2000}. Man unterscheidet Typ I - Hemidesmosomen, welche in den basalen Keratinozyten von vielschichtigen Plattenepithelien oder Urothelien vorkommen von Typ II - Hemidesmosomen, die in zylindrischen Epithelien, wie zum Beispiel im Gastrointestinaltrakt vorkommend, enthalten sind {Uematsu et al. 1994}. Hemidesmosomen und hier vor allem Typ I werden in der stabilen Phase der Wundheilung geformt, was wiederum für eine Funktion von CD151 bei der Zellmigration spricht {Uematsu et al. 1994}.

3.4. CD151 und Tumormetastasierung

Es ist noch nicht lange bekannt, dass Tetraspanine sowohl als Tumorsuppressoren, wie zum Beispiel CD82 {Tonoli und Barrett 2005}, als auch als Induktoren der Tumorprogression, wie zum Beispiel CD151 {Zöller et al. 2006 und Lazo 2007} eine Rolle spielen.

Wie schon beschrieben gehen die Mitglieder der Transmembran 4 Superfamilie Bindungen untereinander sowie mit verschiedenen Integrinen ein. Zusätzlich werden sie auch mit Cholesterol und Gangliosiden in Verbindung gebracht {Odintsova et al. 2006}, wodurch Tetraspaninkomplexe höherer Ordnung entstehen können. Man bezeichnet sie als Tetraspanin-enriched membrane microdomains (TEMs). Diese Signalplattformen sind Ausgangspunkt für die verschiedenen Wege der Signaltransduktion, die durch Tetraspanine initiiert werden.

Für die Tumorausbreitung und das Tumorwachstum ist vor allem die Beeinflussung anderer Zellen durch bestimmte Signalwege notwendig. Für Tetraspanine wie zum Beispiel CD151 wurde gezeigt, dass sie in großem Maße in Exosomen vorkommen {Sincock et al. 1999}.

Es handelt sich hierbei um 30-100nm große Vesikel, die in vielen Zellen vorhanden sind. Sie werden von multivesikulären Organellen, die mit Lysosomen oder der Plasmamembran fusionieren, abgegeben und können so eine interzelluläre Kommunikation, wie zum Beispiel bei der Tumorprogression {Zöller 2006}, aufrechterhalten. Wichtig ist, dass die Proteine bei der Prozessierung dieser Exosomen ihre Funktionen behalten.

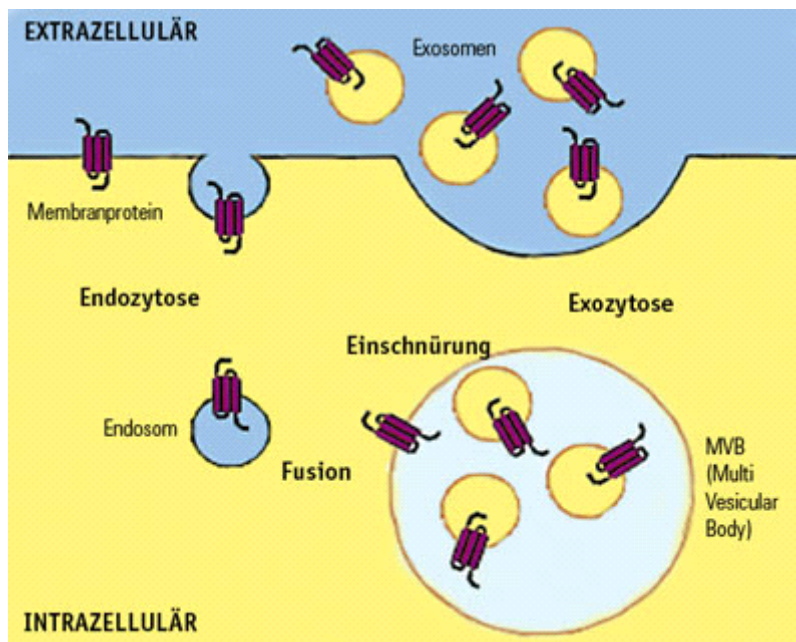


Abbildung 6: Die Herstellung von Exosomen durch die Zelle.

Ein weiterer bedeutender Aspekt, der darauf hinweist, dass CD151 maßgeblich an der Invasion und Metastasierung von Tumoren beteiligt ist, wird von einer Studie über die Eigenschaften von CD151 in der Karzinom-Stroma Interaktion dargestellt. Bei Zellen der Linie HSC5 (Human epidermal carcinoma cell line 5) kam es nach Knockdown von CD151 zur Herunterregulierung der Metalloproteinasen MMP2, MMP7 und MMP9 {Hasegawa et al. 2007}. Im Gegenzug kam es bei einer Hochregulierung von CD151 zu einer hohen proteolytischen Aktivität durch die Produktion und Sekretion von Metalloproteinasen. Für

MMP7 wurde zudem gezeigt, dass es zusammen mit CD151 in den Vorderseiten der Lamellipodien während der Migrationsphase der Zelle lokalisiert ist. Zu den Matrix-Metalloproteinasen gehören auch die Kollagenasen, welche bei hoher Expression von CD151 somit verstärkt Kollagenfasern abbauen und dadurch die Tumordinvasion begünstigen.

3.5. CD151, ein prognostischer Indikator bei Tumoren

In vielen verschiedenen Tumorarten kommt es zu einer Überexpression von CD151. Kohno et al. zeigten bereits, dass die Zellmotilität beim Kolonkarzinom, Glioblastom und Fibrosarkom durch solch eine Überexpression von CD151 zunimmt {Kohno et al. 2002}. Für Tumoren in der Brust, der Bauchspeicheldrüse, im Kolon- und Rektumbereich und nichtkleinzellige Tumoren der Lunge wurde festgestellt, dass die Überexpression von CD151 zu einer schlechteren Prognose führt {Zöller 2006 und Lazo 2007}.

Auch andere Studien zeigen, dass CD151 als prognostischer Indikator für das Fortschreiten des Tumors genutzt werden kann. Beim gingivalen Plattenepithelkarzinom wurde in einer Studie festgestellt, dass der Expressionsstatus von CD151 mit dem Tumorausgang korrelierte {Hirano et al. 2009}. Auch bei einer Studie über den prognostischen Wert von CD151 beim Prostatakarzinom konnte aufgedeckt werden, dass die Prognose schlechter wurde, je höher die Expression von CD151 war {Ang et al. 2004}. CD151 hatte sogar einen besseren Vorhersagewert für den klinischen Ausgang bei den untersuchten Patienten als das histologische Grading nach dem Gleason-Score. Eine weitere Studie zeigt, dass die Überexpression von CD151 bei Mammakarzinomen mit einer höheren Letalität einhergeht {Sadej et al. 2009}. So lag die 5-Jahres-Überlebensrate bei CD151-negativen Patientinnen bei 79,9%, während sie bei CD151-positiven Patientinnen nur 45,8% betrug. Zusätzlich zeigten sich Korrelationen zwischen CD151 und dem Metastasierungsstatus in die axillären Lymphknoten.

3.6. CD151 beim Harnblasenkarzinom

Der Zusammenhang zwischen CD151 und dem Urothelkarzinom wurde bis jetzt nur in einer Studie untersucht {Williams et al. 2011}. Tumorproben von 67 Patienten, bei denen eine radikale Zystektomie durchgeführt worden ist, wurden auf die Expression von CD151 getestet. Doch obwohl sowohl das Tumorstadium als auch der Lymphknotenstatus starke

prognostische Werte für die Rezidivbildung darstellten, konnte keine Korrelation zwischen der Expression von CD151 und dem Auftreten eines Rezidivs hergestellt werden.

4. Material und Methoden

4.1. Harnblasengewebe und Patienten

Für die vorliegende Studie wurde der Harnblasen-TMA (Tissue Microarray) (Tissue Microarray) der Urothelkarzinome aus der Abteilung Molekulare Pathologie des Universitätsspitals Basel verwendet, welcher 686 in Paraffin eingebettete Gewebeprobe von ebenso vielen Patienten mit Urothelkarzinomen beinhaltet. Eine 0,6mm große Materialprobe wurde aus jedem Fall ausgestanzt und in ein TMA-Format transferiert. Beschrieben wurde dieser TMA von Wild PJ et al im Jahre 2005. Einen Überblick über den H&E gefärbten Array zeigt Abbildung 7.

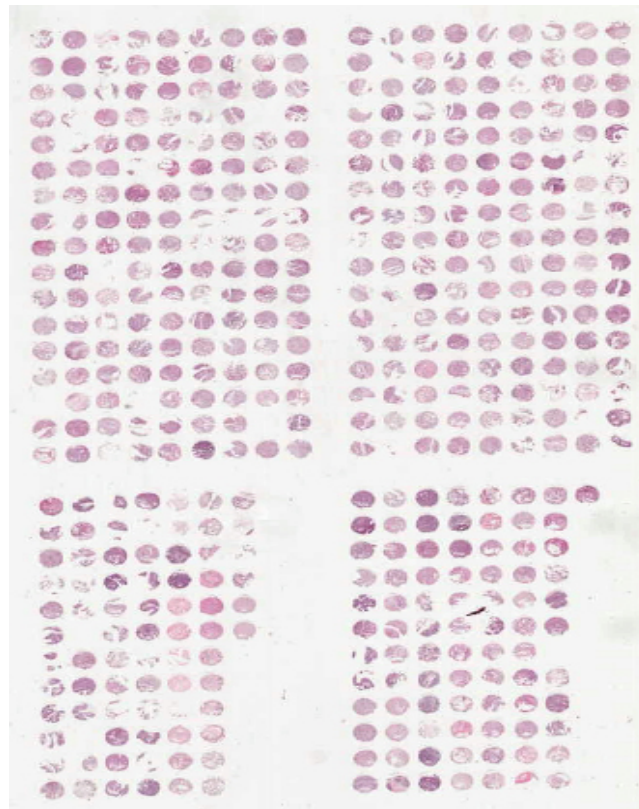


Abbildung 7: Die 4 Array Blöcke mit den 686 Gewebeprobe im Überblick (H&E, 4,5 fache Vergrößerung) {Wild et al. 2005}.

Alle Objektträger wurden durch einen Pathologen überprüft. Tumorstadium und -grad wurden nach der UICC und WHO definiert (Mostofi et al. 1999 und UICC 1997). Eine Klassifikation fand hier nicht nach der aktuellen WHO-Klassifikation statt, da der Aufbau des TMA vor dem Jahre 2004 überprüft wurde. Stadium pT1 wurde durch die Präsenz von eindeutiger Tumorinvasion in das suburotheliale Stroma und tumorfreien Arealen der

muskulären Harnblasenwand definiert. Karzinome mit Stromainvasion aber ohne Anteile der muskulären Harnblasenwand in der Biopsie wurden zumindest als Stadium pT1 (pT1-) gewertet. Klinische Daten waren hier von 639 Patienten vorhanden. Die mittlere Follow-Up Periode betrug 40 Monate (bei einer Spannweite zwischen 1-120 Monaten). Rezidivbildung und Tumorprogression (zu Stadium pT2 oder höher) wurden ausgewählt als Studien-Endpunkte für Patienten mit Tumoren im Stadium pTa oder pT1. Die Follow-Up Informationen wurden als vollständig genug angesehen, um Patienten der Stadien pTa und pT1 in die Studie einzuschließen, wenn Zystoskopien zumindest nach 3, 9 und 15 Monaten und danach jährlich bis zum Endpunkt der Studie (Rezidiv oder letzte Kontrolle) durchgeführt worden sind. Um einen Patienten zur Analyse bis hin zur Tumorprogression in die Studie einzuschließen, wurden längere zeitliche Intervalle zwischen den Kontrollen akzeptiert, wenn die letzte Nachuntersuchung eine Tumorprogression ausschloss.

Rezidive wurden definiert als zystoskopisch sichtbare Tumoren, während eine Tumorprogression die Präsenz einer Muskelinvasion in einer anschließenden Biopsie nach sich zog (Stadium pT2 oder höher).

4.2. TMA-Herstellung

Der Harnblasen-TMA aus der Abteilung Molekulare Pathologie des Universitätsspitals Basel, welcher in dieser Studie verwendet wurde, wurde wie folgt hergestellt.

Zunächst wurde ein so genanntes „Punchfile“ erstellt, in welcher die Eingangsnummern sowie die relevanten histopathologischen und klinischen Daten der ausgesuchten Schnittpräparate dokumentiert wurden. Zusätzlich wurde hier gleich die Anordnung der Gewebe-Spots auf dem Tissue Microarray mithilfe eines mit Koordinaten beschrifteten Rasters („Cartoon“) festgelegt, welches die Anordnung der verwendeten Schnittpräparate auf dem Objektträger zeigte.

Da zu den meisten Proben mehrere Schnittpräparate mit teilweise unterschiedlicher Qualität vorhanden waren, wurde vom Pathologen das Präparat angefordert, welches am besten geeignet war. Alle Schnittpräparate waren HE (Hämatoxylin-Eosin)-gefärbt. Auf diesen ausgesuchten Schnitten zeichnete der Pathologe dann das Tumoreal mit größtmöglichem Bereich an. Dabei stand „rot“ für „Tumor“, „schwarz“ für „Carcinoma in

situ“ und „blau“ für „normales Gewebe“. Zur Kontrolle musste auch immer tumorfreies Gewebe mit auf den TMA-Block gebracht werden.

Der Empfängerblock wurde aus Paraffin hergestellt, indem dieses bei 60°C geschmolzen und in eine Metallform gegossen wurde. Danach kühlte der Block zirka 2 Stunden bei Raumtemperatur und weitere 2 Stunden bei 4°C aus.

Aus diesem Paraffinblock wurde nun mithilfe einer Kanüle eines Array-Stanzgeräts ein Hohlzylinder von 0,6mm Durchmesser entnommen. Dieses vorgefertigte Loch im Empfängerblock wurde nun mit einer ebenfalls 0,6mm im Durchmesser großen Stanze aus dem vom Pathologen markierten Areal des Spenderblocks mit einer zweiten Kanüle ausgefüllt. Diese Schritte wurden für alle Gewebeproben, welche in dem „Punchfile“ aufgeführt waren, wiederholt. Dabei war es wichtig, dass alle Gewebestanzungen gleich tief in den Empfängerblock eingebracht wurden, damit das herausragende Gewebe beim anschließenden Schneiden nicht verloren ging. Nur so konnte eine hohe Qualität des Empfängerblocks gewahrt werden.

Nach Fertigstellung des Blockes, der nun als TMA-Block bezeichnet werden durfte, wurde dieser bei 40°C im Brutschrank für 10 Minuten erhitzt. Aufgrund der Unebenheiten auf der Oberfläche musste der Block nun noch mithilfe eines Objektträgers geglättet werden.

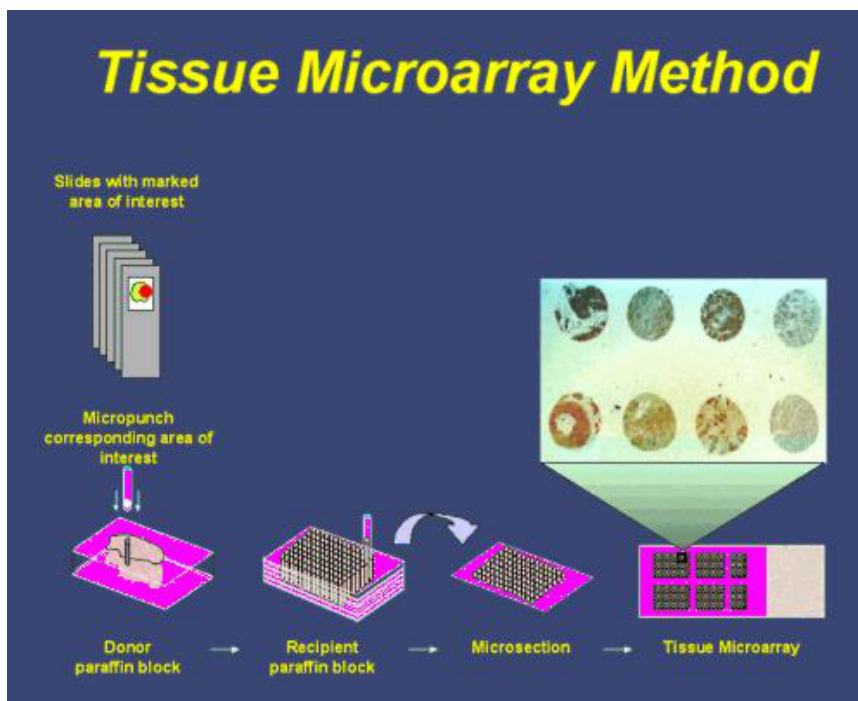


Abbildung 8: Die Grundlagen der Herstellung eines Tissue MicroArrays (TMA).

Das Rotationsmikrotom, eine Maschine mit speziell entwickeltem Schneideverfahren, fertigte nun Schnittpräparate mit Dicken zwischen 0,3 bis 0,5mm des TMA-Blocks an, auf den zuvor eine selbstklebende Folie aus einem „Tape sectioning kit“ (instrumedics Inc., NJ, USA) geklebt worden war. Der Schnitt wurde dann zusammen mit der Folie auf einen Objektträger übertragen, der mit Klebstoff versehen worden war. Um Schnitt und Objektträger zu verbinden, wurden beide für eine Minute unter eine UV-Lampe gelegt. Anschließend konnte die Folie mithilfe von TPC, einem speziellen Lösungsmittel, entfernt werden und das Schnittpräparat wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur getrocknet.

4.3. Qualitative Immunhistochemie

Zunächst mussten die Objektträger für mindestens eine Stunde in Xylol, und danach in absteigender Alkoholreihe (Isopropylalkohol 100%, Ethanol 96%, Ethanol 70%) bis hin zum destilliertem Wasser entparaffiniert werden. Die Schnitte wurden dann zusätzlich 5 Minuten im TBS-Puffer (Tris gepufferte Kochsalzlösung) abgespült.

Ein monoklonaler Antikörper (clone: RLM30, Novocastra, dilution 1:450) wurde für die Markierung von CD151 genutzt, nachdem die Schnitte zur Vorbehandlung für 5 Minuten in einem Autoklave in Citratpuffer (pH 7,8) erhitzt und anschließend für nochmals 5 Minuten im TBS-Puffer gespült wurden. Der Objektträger wurde danach in 3%igem Wasserstoffperoxid in Methanol inkubiert und zweimal jeweils 5 Minuten wieder in TBS-Puffer gespült, um die endogene Peroxidase zur Verhinderung von falsch-positiven Ergebnissen zu blockieren.

Die Objektträger wurden mit dem Antikörper in einer Verdünnung von 1:450 ausreichend bedeckt und anschließend 5 Minuten im TBS-Puffer gespült. Das EnVision System (DAKO) wurde für den Antikörper RLM30 zur Visualisierung der Immunmarkierung benutzt. Verwendet wurde das EnVision Polymer –HRP Rabbit (DAKO K4003), mit dem die Objektträger für 30 Minuten bei 30°C versehen und anschließend wieder mit TBS-Puffer zweimal jeweils 5 Minuten abgespült wurden.

Bei Raumtemperatur wurden die Objektträger dann für 10 Minuten mit dem DAB-Chromogen (Liquid DAB DAKO K3468) inkubiert, wobei vorher und nachher eine Spülung mit destilliertem Wasser für je 5 Minuten erfolgte. Anschließend wurde Haemalaun für 1 Minute appliziert und die Objektträger für 5 Minuten mit Leitungswasser gebläut. Die

Entwässerung fand dann über eine aufsteigende Alkoholreihe bis hin zum Xylol statt und die Objektträger konnten daraufhin eingedeckelt werden.

Nur Gewebeproben, bei denen ein Harnblasen-Karzinom bestätigt wurde, wurden auch für die CD151-Analyse verwendet. In diesen Proben wurde die Intensität der CD151 Expression in 4 Kategorien unterteilt: 0 (keine Färbung), 1+, 2+ und 3+ (starke Färbung). Die Prozentzahl zwischen 0 und 100 gab den Prozentwert positiver Tumorzellen an. Die Intensität der Färbung und die Anzahl der positiven Tumorzellen wurden für jeden „Gewebespot“ notiert. Aus diesen beiden Parametern wurde ein „End-Score“ entwickelt (Tabelle 2).

Die verwendeten Kriterien entsprechen den routinemäßig verwendeten Standardkriterien des Instituts für Pathologie im Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf.

Beurteilung der Färbung	Expression (End-Score)
keine Färbung (0)	negativ
Färbeintensität 1+ in bis zu 70% der Zellen oder 2+ in bis zu 30% der Zellen	schwach positiv
Färbeintensität 1+ in mehr als 70% der Zellen oder 2+ in mehr als 30% aber nicht mehr als 70% der Zellen oder 3+ in bis zu 30% der Zellen.	mittel positiv
Färbeintensität 2+ in mehr als 70% der Zellen oder 3+ in mehr als 30% der Zellen	stark positiv

Tabelle 2: End-Score, entwickelt aus der Intensität der Färbung und der Anzahl der positiven Tumorzellen.

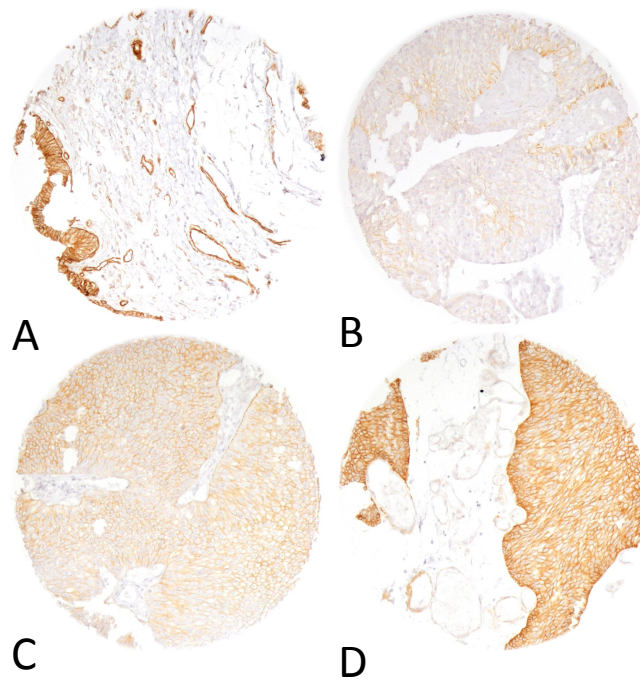


Abbildung 9: Repräsentative Beispielbilder für die immunhistochemische Färbung von CD151 in gutartigem und neoplastischem Urothel.

- A) Starke Anfärbung von CD151 in gutartigem Urothel und Endothelialen Zellen.
- B) Schwache Anfärbung von CD151 in einem Urothelkarzinom.
- C) Mittlere Anfärbung von CD151 in einem Urothelkarzinom.
- D) Starke Anfärbung von CD151 in einem Urothelkarzinom.

4.4. Statistische Methoden

Die statistischen Berechnungen wurden mit der JMP 8.0 Software (SAS) durchgeführt. Häufigkeitskurven wurden mit dem Chi-Quadrat-Test (Fisher's Exact Test) und Mehrfelder-Tests berechnet, um die Beziehung zwischen dem histologischen Tumortyp, Differenzierungsgrad, Stadium und der CD151 Expression zu untersuchen. Die Überlebenskurven wurden mithilfe der Kaplan-Meier Methode aufgestellt und mit dem Log-Rank Test verglichen. Abhängig vom ausgewählten Endpunkt der Studie wurden die Patienten zur Zeit der letzten klinischen Kontrolle, bei welcher sie keine Anzeichen der Erkrankung mehr zeigten oder zu dem Zeitpunkt an welchem die Zystektomie durchgeführt wurde, begutachtet.

5. Ergebnisse

5.1. Verwertbarkeit des Materials

Die Analyse des TMA zeigte, dass 620 Tumorproben, entsprechend 90,4%, interpretierbar waren. Gründe für nicht auswertbare Fälle waren das komplette Fehlen von Gewebeproben (2,8%) oder das Fehlen von eindeutigem Tumorgewebe (6.8%) im TMA-Abschnitt.

5.2. Immunhistochemie

Die immunhistochemische Färbung von CD151 war in den Gewebeproben vor allem in der Membran stark ausgeprägt. In 409 (66,0%) von 620 analysierbaren Fällen konnte CD151 in der Membran angefärbt werden. Hierbei zeigten sich folgende Unterschiede: Schwache Färbung ergab sich in 220 (35,5%), mittlere Färbung in 101 (16,3%) und starke Färbung in 88 (14,2%) der Tumorfälle. Bei 211 (34,0%) der Tumorfälle wurde keine Färbung von CD151 erzielt.

		n on TMA	n analyzable	negative (%)	weak (%)	moderate (%)	strong (%)	p-value
histology	urothelial	686	620	34.0	35.5	16.3	14.2	
stage	pTa	315	284	28.5	36.3	15.1	20.1	0.0033
	pT1	160	145	37.9	33.1	16.6	12.4	
	pT1-	4	4	25.0	75.0	0	0	
	pT2-4	207	187	39.6	35.3	18.2	6.9	
grade	G1	82	75	22.7	33.3	14.7	29.3	< 0.0001
	G2	300	273	28.9	36.6	18.0	16.5	
	G3	304	272	42.3	34.9	15.1	7.7	
stage and grade	pTa G1	82	75	22.7	33.3	14.7	29.3	
	pTa G2	185	166	27.1	37.4	16.2	19.3	
	pTa G3	48	43	44.2	37.2	11.6	7.0	
	pT1 G2	70	67	29.9	34.3	19.4	16.4	
	pT1 G3	94	82	43.9	34.2	13.4	8.5	
	pT2-4 G2	45	40	35.0	37.5	22.5	5.0	
growth pattern	papillary	540	483	33.1	35.6	16.2	15.1	
	solid	143	134	37.3	35.8	17.2	9.7	

Tabelle 3: Histologische Daten sowie die Anfärbbarkeit von CD151 in der Immunhistochemie von 686 Harnblasentumoren des TMA aus dem Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf.

Die Relation zwischen immunhistochemischer Färbung und Phänotyp des Tumors ist in Tabelle 3 dargestellt.

Zusätzlich zeigen die Abbildungen 10A bis 10F die einzelnen Werte im Vergleich grafisch dargestellt. Generell lässt sich sagen, dass eine hohe Expression von CD151 mit einem günstigeren Phänotyp einherging. Signifikante Übereinstimmungen wurden beim Tumorstadium ($p=0,0033$) und Tumor-Grading ($p<0,0001$) gefunden.

Eine Anfärbbarkeit der Proben für CD151 gelang bei knapp zwei Drittel der Tumorfälle, während ein Drittel negativ ausfiel (Abbildung 10A).

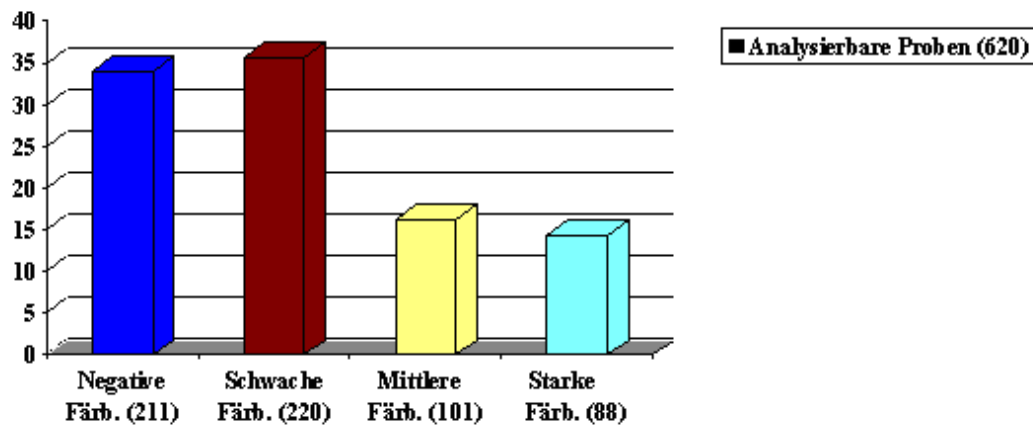


Abbildung 10A: Stärke der Anfärbbarkeit von CD151 in Prozent bei allen analysierbaren Proben (n=620).

Für alle Tumorstadien war die Anfärbbarkeit für CD151 überwiegend schwach bis negativ. Die pT1-negativen Tumorfälle, bei denen insgesamt nur 4 Proben vorhanden waren, ließen sich nur schwach färben (Abbildung 10B).

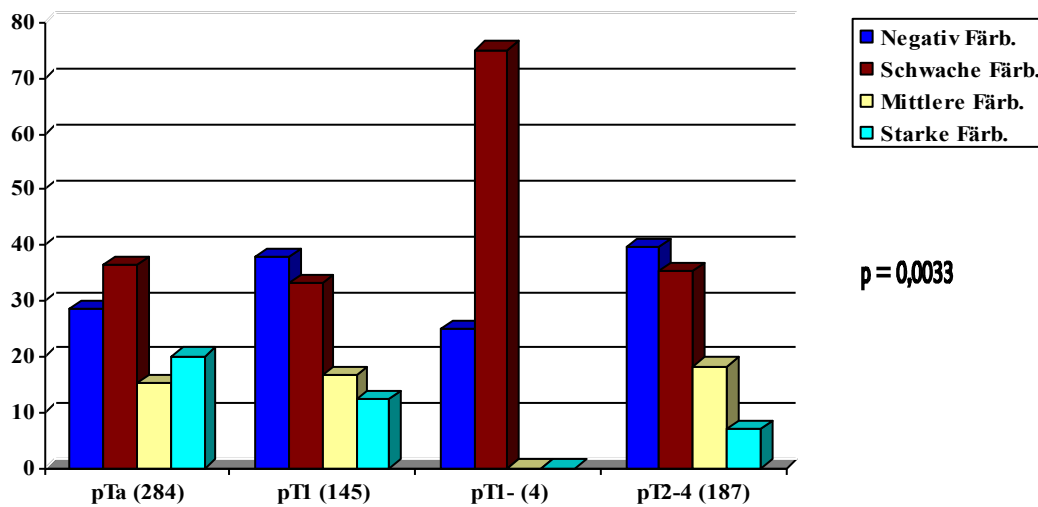


Abbildung 10B: Stärke der Anfärbbarkeit von CD151 in Prozent in den einzelnen Tumorstadien (n=620).

Beim Tumorgrading fiel auf, dass der Anteil an Proben, welche den Grad G1 bis G3 hatten, bei schwacher und mittlerer Anfärbbarkeit in allen Tumorgraden ungefähr gleich hoch war, während der Anteil von G1 in Prozent bei starker Anfärbbarkeit am höchsten war und bei G3 am niedrigsten. Genau anders herum verhielt es sich bei negativer Anfärbbarkeit (Abbildung 10C).

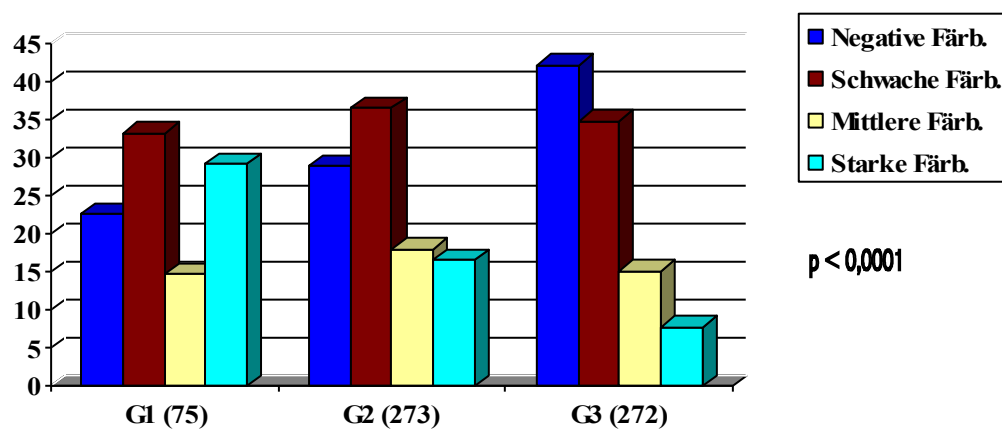


Abbildung 10C: Stärke der Anfärbbarkeit von CD151 in Prozent im Vergleich zum Tumorgrading (n=620).

Auch für den Vergleich der Anfärbbarkeit von CD151 mit dem pTa-Stadium und dem Tumorgrading konnte die Erkenntnis gewonnen werden, dass die Tumorgrade G1 bis G3 bei schwacher und mittlerer Anfärbbarkeit ähnlich stark vertreten waren, während bei starker Anfärbbarkeit der Anteil des Grades G1 am höchsten war und bei negativer Anfärbbarkeit der Anteil des Tumorgrades G3 (Abbildung 10D).

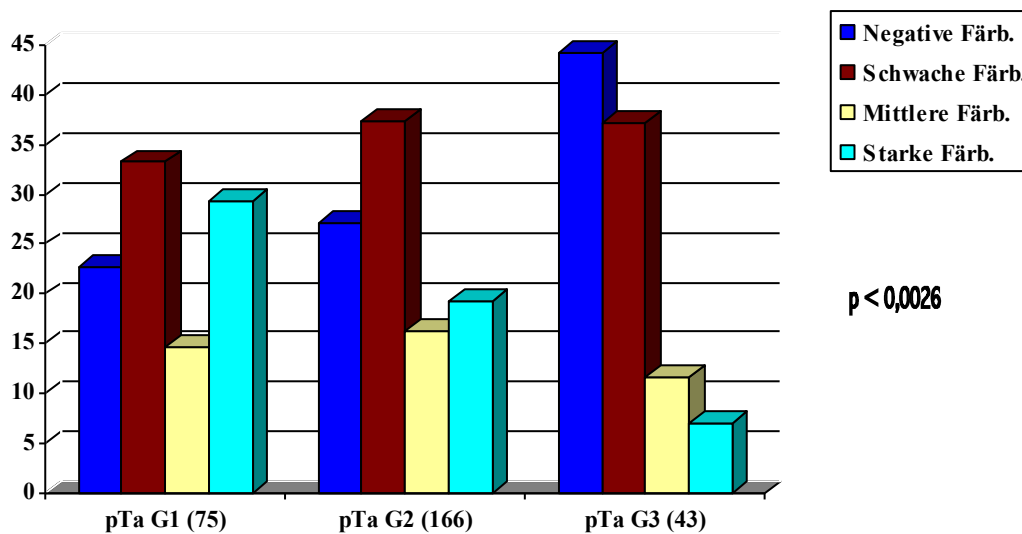


Abbildung 10D: Stärke der Anfärbbarkeit von CD151 in Prozent im Vergleich zum pTa-Stadium und Tumorgrading (n=284).

Beim Vergleich der Anfärbbarkeit von CD151 mit dem pT1-Stadium und dem Tumorgrading war die Anzahl an Proben, welche den Grad G2 und G3 hatten, bei schwacher Anfärbung ungefähr gleich (Abbildung 10E). Es zeigte sich, dass bei mittlerer und starker Anfärbbarkeit der Anteil an Proben mit dem niedrigeren Grad, also Grad 2, höher war als bei den Proben mit dem Tumorgrad G3.

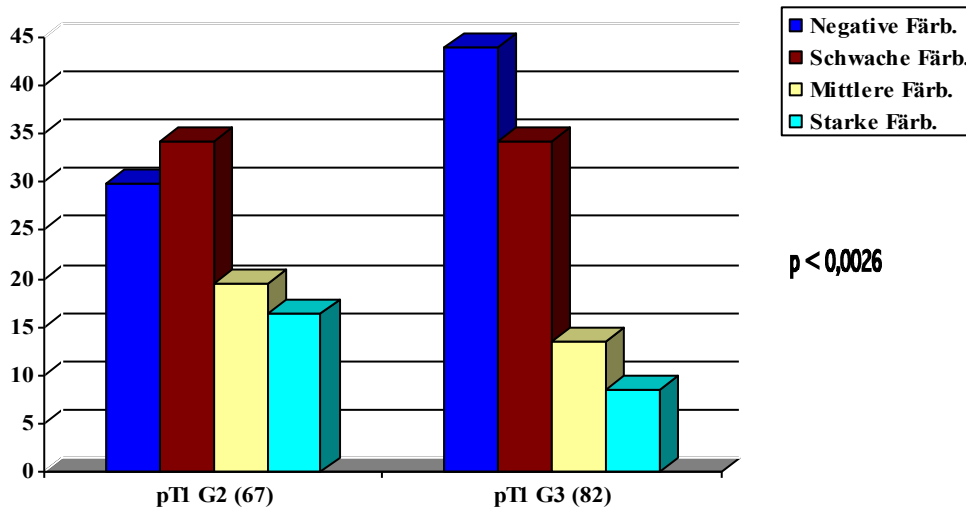


Abbildung 10E: Stärke der Anfärbbarkeit von CD151 in Prozent im Vergleich zum pT1-Stadium und Tumorgrading (n=149).

Bei den Tumorfällen in den Stadien pT2 bis pT4 war der Anteil an den Tumorgraden G2 und G3 für jede Intensität der Färbung ungefähr gleich groß (Abbildung 10F), wobei deutlich zu erkennen war, dass die Anfärbbarkeit bei diesen Tumorgraden eher schwach bis negativ ausfiel.

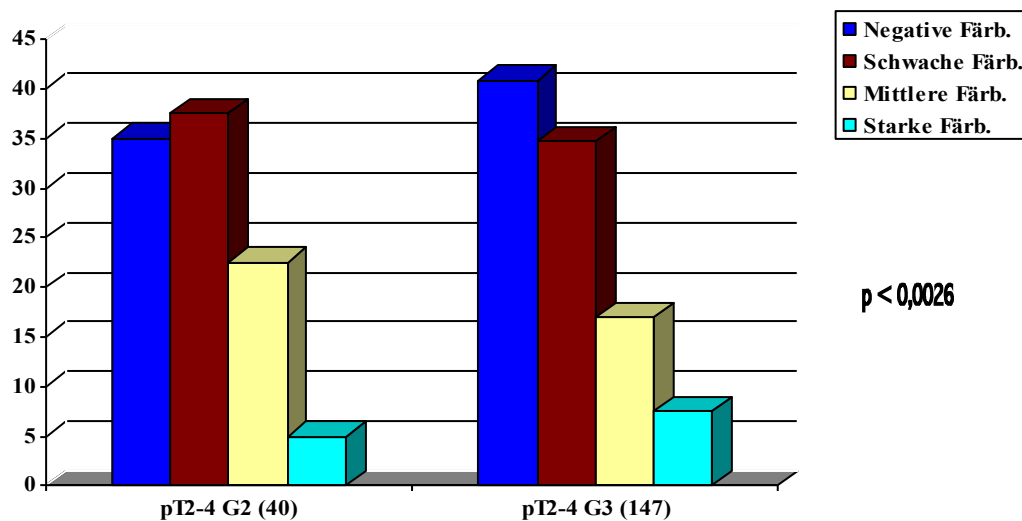


Abbildung 10F: Stärke der Anfärbbarkeit von CD151 in Prozent im Vergleich zum pT2-4-Stadium und Tumorgrading (n=187).

5.3. Immunhistochemische Färbung und klinische Tumorendpunkte

Um die prognostische Rolle der immunhistochemischen Färbung von CD151 zu untersuchen, wurden die Endpunkte des Harnblasentumors ausgewählt, welche klinisch am meisten relevant waren. Diese beinhalteten das tumorspezifische Überleben aller invasiven Karzinome (pT1-4), das tumorspezifische Überleben in der Untergruppe der muskelinvasiven Karzinome (pT2-4), die Tumorprogression von pT1 Tumoren und die Rezidive von pTa Tumoren. Signifikante Übereinstimmungen zwischen immunhistochemischer Färbung von CD151 und diesen Tumorendpunkten konnten nicht gefunden werden (Abbildungen 11A-D; $p > 0,1$ bei allen).

So zeigten beim tumorspezifischen Überleben aller invasiven Karzinome (pT1-4) zwar über 55% der Patienten mit starker Expression von CD151 eine Überlebenszeit von 100 Monaten oder mehr und bei schwacher Expression nur 5% eine Überlebenszeit von 60 Monaten oder mehr, allerdings ließ sich auch bei fehlender Expression von CD151 bei über 28% der Patienten eine Überlebenszeit von 100 Monaten oder mehr ausmachen (Abbildung 11A).

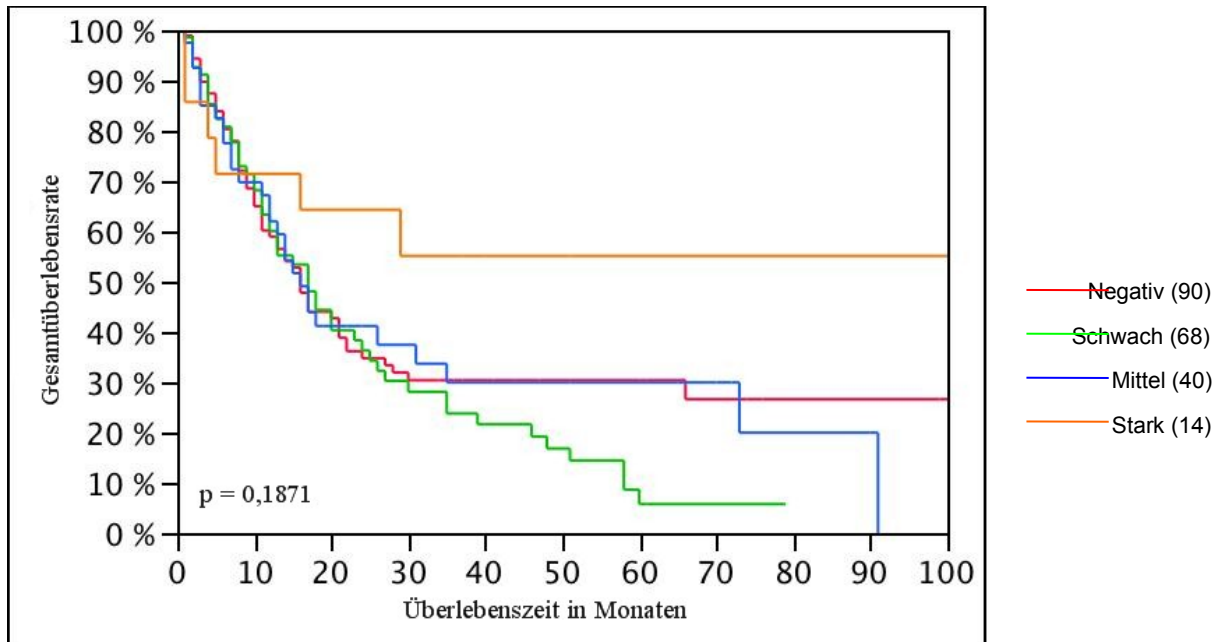


Abbildung 11A: CD151 und das tumorspezifische Überleben aller pT1-4 Tumoren (n=212).

Beim tumorspezifischen Überleben in der Untergruppe der muskelinvasiven Karzinome (pT2-4) sahen die Ergebnisse ähnlich aus. Auch hier zeigten 60% der Patienten mit einer starken Expression von CD151 eine Überlebenszeit von 100 Monaten oder mehr und nur ungefähr 25% der Patienten mit einer schwachen Expression 50 Monate oder mehr. Doch auch hier überlebten über 30% der Patienten ohne Expression von CD151 100 Monate oder mehr (Abbildung 11B).

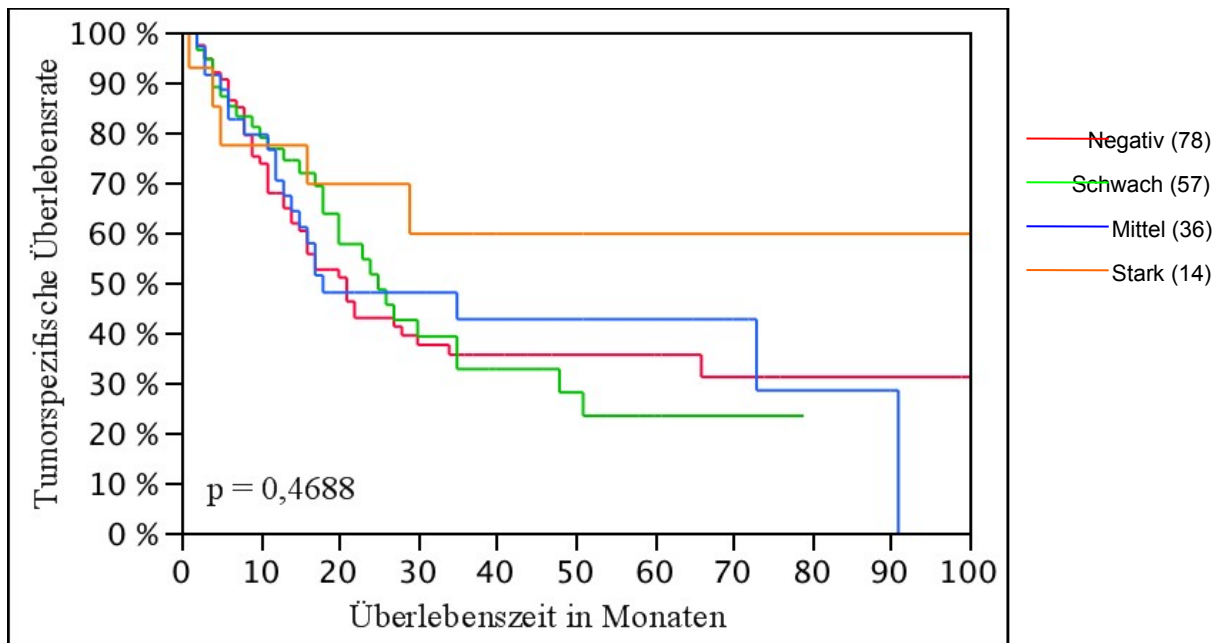


Abbildung 11B: CD151 und das tumorspezifische Überleben in der Untergruppe der muskelinvasiven pT2-4 Tumoren (n=185).

Bei der Untersuchung der Rezidivhäufigkeit bei pTa Tumoren konnte aufgezeigt werden, dass es bei ca. 38% der Patienten mit einer starken Expression von CD151 nach 56 Monaten zum Rezidiv kam, bei ca. 19% der Patienten mit mittlerer Expression von CD151 nach 55 Monaten, bei ca. 40% der Patienten mit einer schwachen Expression von CD151 erst nach 63 Monaten und bei ca. 27% der Patienten ohne Expression von CD151 kam es nach 52 Monaten zur Rezidivbildung (Abbildung 11C). Damit konnte auch bei diesem Endpunkt keine signifikante Übereinstimmung gefunden werden.

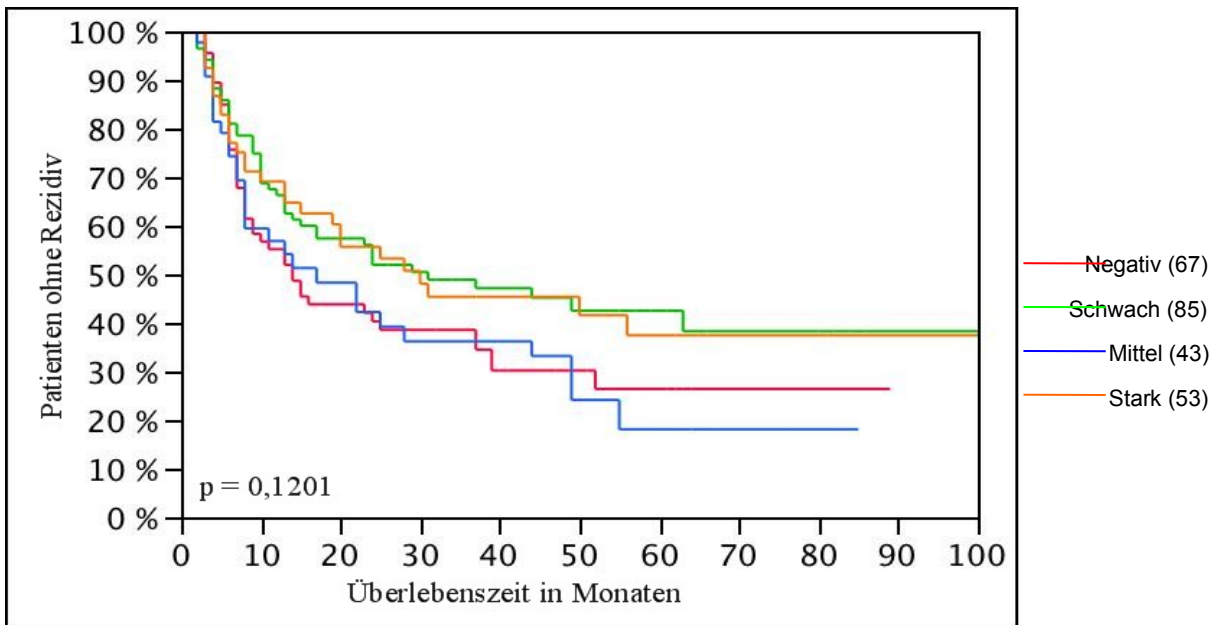


Abbildung 11C: CD151 und die Tumorrezidive in pTa Tumoren (n=248).

Der letzte untersuchte relevante klinische Endpunkt des Urothelkarzinoms der Harnblase, die Tumorprogression von pT1 Tumoren zu einem pT2 Tumor oder höher, konnte auch keine Übereinstimmung zwischen Progression und Expression von CD151 aufzeigen. Bei ca. 82% der Patienten mit starker Expression von CD151 ging der pT1 Tumor nach 26 Monaten oder noch längerer Zeit in einen pT2 Tumor oder ein höheres Tumorstadium über, bei schwacher Expression bei ca. 90% der Patienten nach 23 Monaten oder länger und bei ca. 78% der Patienten mit negativer Expression von CD151 nach 55 Monaten oder länger (Abbildung 11D).

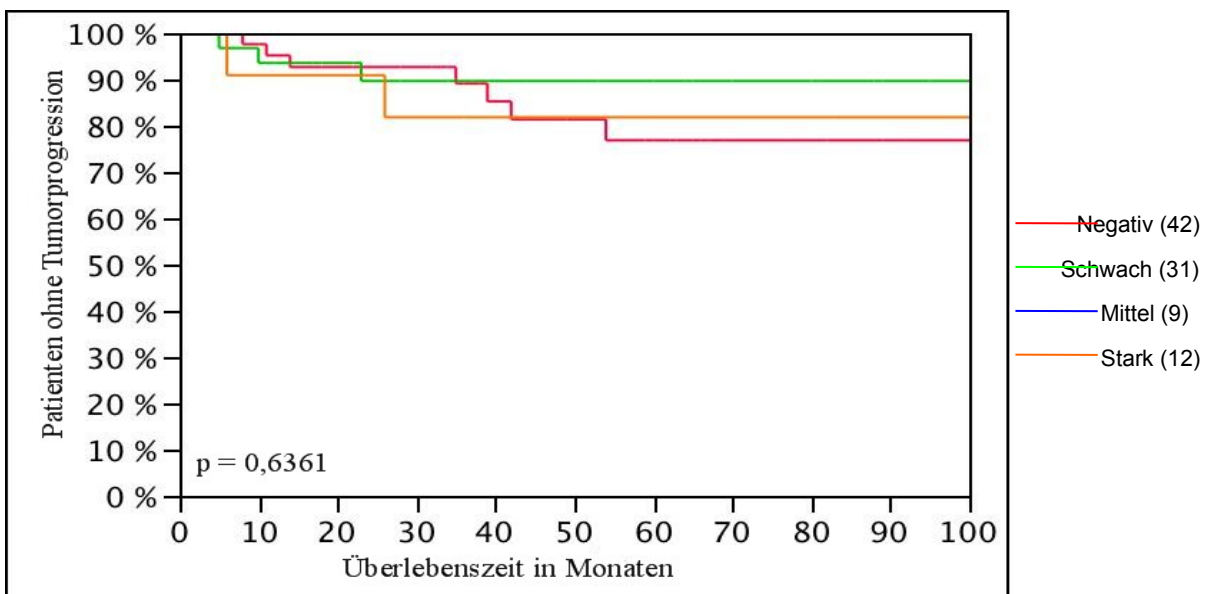


Abbildung 11D: CD151 und Tumorprogression in pT1 Tumoren (n=94).

6. Diskussion

Das Oberflächen-Glykoprotein CD151 wird in vielen verschiedenen Tumorarten exprimiert. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass dies auch häufig in Harnblasentumoren der Fall ist und dass eine hohe Expression von CD151 mit einem günstigeren Tumorstadium und Tumorgrading einhergeht. Dies widerspricht den meisten anderen Studien über CD151, welche bei einer hohen Expression von CD151 mit einem fortgeschrittenerem Tumorstadium und einer schlechteren Prognose einhergehen.

Obwohl nur eine kleine Anzahl von Proben mit gutartigem Urothel analysiert wurde, zeigte sich eine hohe Expression von CD151, welche vergleichbar war mit den höchsten Werten, die bei diesen Tumoren gefunden worden sind. Dies lässt den Schluss zu, dass CD151 in hochgradigen, also fortgeschrittenen Tumoren vermindert exprimiert wird, während es in niedrigergradigen, also frühen Tumoren vermehrt exprimiert wird. Leider zeigte sich trotz der Übereinstimmung zwischen den niedrigen Werten von CD151 und dem hohem Tumorstadium sowie hohem Grading, dass CD151 nicht als prognostischer Indikator in Frage kam, nachdem die relevanten klinischen Endpunkte in den Untergruppen pTa (Zeitpunkt des Auftretens von Rezidiven), pT1 (Progression in ein höheres Tumorstadium) und pT2-4 (Überleben in der Gruppe der muskelinvasiven Karzinome) separat analysiert worden sind. Hier zeigt sich, dass ein korrektes Tumor-Staging von größter Wichtigkeit ist {Tosoni et al. 2000}.

Verschiedene Tumorarten konnten bisher eine Expression von CD151 aufweisen und einige Studien zeigten einen Zusammenhang zwischen der Expression von CD151 und einer schlechteren Tumorprognose.

In einer Studie mit 76 Prostatatumoren {Ang et al. 2004} ging die erhöhte Expression von CD151 mit einem höherem Tumorstadium sowie mit einer schlechteren Prognose einher. Zusätzlich war CD151 prognostisch aussagekräftiger als die traditionelle histologische Grading-Methode (Gleason-Score).

Eine weitere Studie untersuchte 145 nicht-kleinzellige Lungentumoren {Tokuhara et al. 2001}. Es stellte sich heraus, dass die Überlebensrate der Patienten, welche CD151-positive Tumoren hatten, wesentlich geringer war als die der Patienten mit CD151-negativen Tumoren (51,9% gegenüber 73,1%). Daher wurde auch bei dieser Studie angenommen, dass eine hohe Genexpression von CD151 mit einer schlechteren Prognose einhergeht.

In der Studie von Zhu GH et al. wurden verschiedene Proteine untersucht, um die Expression und prognostische Signifikanz dieser Proteine beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas zu ermitteln, darunter auch CD151 {Zhu et al. 2011}. Es zeigte sich, dass sowohl CD151 als auch die Integrine $\alpha 3$ und $\alpha 6$, welche zusammen zur Ausbildung des Tetraspanin-Netz führen {Karamatic et al. 2004}, beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas überexprimiert werden. CD151 könnte hier ein neuer prognostischer Biomarker sein.

Zwei weitere Studien befassten sich mit hepatozellulären Tumoren und der Expression von CD151. Ke AW et al. fanden heraus, dass CD151 in hepatozellulären Tumoren gegenüber angrenzendem nicht-tumorösen und normalem Lebergewebe überexprimiert wird und für eine höhere Invasivität des Tumors spricht {Ke et al. 2009}. Shi GM et al. konnten zeigen, dass die Höhe der Expression von CD151 in hepatozellulären Tumoren positiv mit der Expression der Matrix-Metalloproteinase 9 (MMP9) aufgrund einer Hochregulierung der Expression durch den PI3K/Akt/GSK-3beta/Snail Signalweg korrelierte {Shi et al. 2010}. 2007 kam eine andere Studie bereits zu diesem Ergebnis und stellte dar, dass die Metalloproteinasen für die Migrationsphase der Zelle wichtig sind {Hasegawa et al. 2007}. Da auch die Kollagenasen zu den Metalloproteinasen gehören und bei erhöhter Expression von CD151 dadurch dann auch mehr Kollagenfasern abgebaut werden, wird die Tumorinvasion gefördert. Ob hier therapeutische Angriffspunkte sein könnten, müssen weitere Studien zeigen.

Eine andere Studie beschäftigte sich mit 146 kolorektalen Tumoren {Hashida et al. 2003}. Auch hier kam es bei einer hohen Expression von CD151 zu einer verminderten Überlebensrate der Patienten mit kolorektalen Tumoren.

Yoo SH et al. untersuchten die Expression von CD151 beim klarzelligen Nierenzellkarzinom in 489 Fällen {Yoo et al. 2011}. Dabei zeigte sich, dass die Expression von CD151 sowohl positiv mit dem pathologischen TNM-Stadium als auch mit dem Tumorgrading, der Tumorgröße und dem Alter des Patienten korrelierte. Im Gegensatz zur vorliegenden Studie konnte auch gezeigt werden, dass es Übereinstimmungen zwischen der immunhistochemischen Färbung von CD151 und verschiedenen Tumorendpunkten gab. Die Überlebensrate in der Gruppe mit der hohen Expression von CD151 war signifikant niedriger ($p < 0,001$) und auch die Progressionszeit zum nächsthöheren Tumorstadium war deutlich kürzer ($p < 0,001$).

In der Studie von Suzuki et al. wurden 138 operativ entfernte Plattenepithelkarzinome des Ösophagus auf die Expression von CD151 überprüft {Suzuki et al. 2011}. Man fand bei 57 Fällen (51,7%) eine positive Expression von CD151. Diese war stark assoziiert mit der

Tumorgröße, Lymphknotenmetastasen, Fernmetastasen und der lymphatischen Invasion. Zudem war die 5-Jahres-Überlebensrate bei diesen Patienten erheblich niedriger als bei den Patienten, welche keine Expression von CD151 aufzeigten. Somit kommt es bei einer erhöhten Expression von CD151 zur Tumorproliferation und Invasivität von Plattenepithelkarzinomen des Ösophagus.

Eine weitere Studie untersuchte 60 intrahepatische Cholangiokarzinome {Huang et al. 2010} und stellte fest, dass auch hier die Expression von CD151 viel höher war als in nichttumorösen Gewebeproben und in normalem Lebergewebe. Außerdem verloren die Tumorzellen nach Herunterregulierung von CD151 ihre Fähigkeit zur Metastasierung und Invasion in vitro. Die Überexpression hingegen korrelierte signifikant mit größeren Tumoren, mangelnder Differenzierung, multipler nodulärer, mikrovaskulärer Gallengangsinvasion und lymphatischer Metastasierung. Somit stellt CD151 auch beim intrahepatischen Cholangiokarzinom einen prognostischen Biomarker dar.

Die Überexpression von CD151 lässt sich auch bei verschiedenen Untergruppen von invasiven Mammakarzinomen feststellen {Kwon et al. 2012}. So fanden Kwon et al. bei 127 von 886 Mammakarzinom-Patientinnen eine Überexpression von CD151. Diese ging mit einer vermehrten Tumorgröße, einem höheren Lymphknotenstatus und einem höheren Tumorstadium einher. Daraus resultierend ergab sich eine schlechtere Überlebensrate sowie ein kürzeres rezidivfreies Intervall.

Des Weiteren ist der Zusammenhang zwischen einer hohen Expression von CD151 und einer schlechten Tumorprognose übereinstimmend mit Studien, welche vermuten, dass CD151 Effekte auf die Tumorzellmigration und Metastasierung haben könnte {Testa et al. 1999, Kohno et al. 2002, Sadej et al. 2010}. Testa et al. zeigten, dass ein monoklonaler Antikörper gegen CD151 die Metastasierung von humanen Epidermoid-Karzinomzellen verhindert {Testa et al. 1999}. Kohno et al. erkannten, dass die Überexpression des Wildtyps von CD151 die experimentelle Metastasierung sowie die Zellmotilität und die Invasivität von Kolonkarzinom- und Fibrosarkomzellen verbesserte {Kohno et al. 2002}. Die Studie von Sadej et al. wiederum identifizierte CD151 als einen positiven Regulator der Signalkaskade, welche durch TGF β 1 zur Aktivierung der MAP Kinase p38 initiiert wird und zeigte zusätzlich, dass CD151 eine wichtige Rolle bei der durch TGF β 1 ausgelösten Metastasierung beim Mammakarzinom spielt {Sadej et al. 2010}.

Die vorliegende Studie jedoch unterstützt im Gegensatz zu den meisten anderen Studien

nicht die Annahme, dass eine hohe Expression von CD151 zu einer erhöhten Tumordinvasion und Metastasierung in Harnblasentumoren beiträgt. Die verminderte Expression von CD151 ging in dieser Studie, in der mehr als 600 Harnblasentumoren untersucht worden sind, mit einem fortgeschrittenerem Tumorstadium und hohem Grading einher. Damit sind die Daten vergleichbar mit den Ergebnissen von Chien et al, welcher eine verminderte Expression von CD151 in Kolonkarzinomen im Vergleich zu normalem Tumorgewebe fand {Chien et al. 2008}. Hierfür wurden 137 kolorektale Karzinome auf die Expression von CD151 getestet. Zusätzlich zeigten klinische Untersuchungen, dass metastasierte Tumorzellen einen höheren Gehalt an CD151 verglichen mit den Zellen des Primärtumors hatten.

Da CD151 entscheidend an der Zelladhäsion mitwirkt {Hasegawa et al. 2007 und Sterk et al. 2000}, besteht die Möglichkeit, dass eine verminderte Expression von CD151 die Fähigkeit der Zelladhäsion schwächen könnte, was dann zu einer Tumordinvasion führen könnte. Sterk et al. zum Beispiel zeigten, dass CD151 ein Bestandteil hemidesmosomaler Strukturen ist und seine Rekrutierung in die Hemidesmosomen durch das Integrin $\alpha 6 \beta 4$ reguliert wird {Sterk et al. 2000}. Der Verlust des $\alpha 6 \beta 4$ -Integrins in Harnblasentumoren ging mit einem invasiven Verhalten des Tumors einher. Grund hierfür war die Beeinträchtigung der Bindung zwischen Tumorzellen und dem Kollagen VII der Basalmembran durch den Verlust des Integrins {Kohno et al. 2002}.

Wie schon beschrieben werden vor allem Typ I – Hemidesmosomen in der stabilen Phase der Wundheilung geformt und sind dadurch wichtig für die Zellmigration {Uematsu et al. 1994}, in die CD151 somit auch involviert ist. In der vorliegenden Studie wird bei niedriger oder fehlender Expression von CD151 ein höheres Tumorstadium vermutet. Ob es dadurch auch zu einer erhöhten Tumorzellmigration kommt, muss im Falle des Harnblasenkarzinoms noch untersucht werden.

In einer anderen Studie konnte gezeigt werden, dass die Expression von verschiedenen Integrinen in Harnblasentumoren mit fortgeschrittenerem Stadium und Grading verändert und herunterreguliert wurde {Syrigos et al. 1999}. Die angenommene Interaktion zwischen CD151 und dem $\alpha 6 \beta 4$ -Integrin könnte mit den Ergebnissen dieser Studie verglichen werden, welche eine verminderte Expression von CD151 in fortgeschrittenen und hochgradigen Tumoren vermutet.

Eine grundlegende Eigenschaft der Tetraspanin-Familie ist die Fähigkeit ihrer Mitglieder, Querverbindungen mit vielen Partnerproteinen und untereinander zu bilden, was als Tetraspanin-Netz oder Tetraspanin-reiche Mikrodomäne bezeichnet wurde {Karamatic et al. 2004}. Die Uroplakine Ia und Ib gehören zu dieser Protein-Familie und werden sowohl in normalem Urothel als auch in Urothelkarzinomen exprimiert. Uroplakine bilden die Hauptproteinbausteine des Urothelverbandes, welcher über 90% der Urotheloberfläche bedeckt und das Harnblasenurothel abschließt. Sie sind zudem gewebsspezifische und differenzierungsabhängige Marker für das Urothel und es wird angenommen, dass sie eine Rolle bei der Stabilisierung der apikalen Zellmembran der Deckzellen während der Ausdehnung bei Füllung der Harnblase spielen {Wu et al. 1994}.

In einer Studie konnte gezeigt werden, dass es eine zunehmende Verminderung der Expression von Uroplakinen während der Urotheltransformation und der Tumorgenese gibt. Zusätzlich war die mangelnde Expression von Uroplakinen stark gekoppelt an ein fortgeschrittenes pathologisches Tumorstadium, eine Lymphknotenmetastasierung, eine Rezidivbildung und an eine höhere tumorspezifische Mortalität {Syrigos et al. 1999}. Dennoch wurde eine Interaktion zwischen CD151 und den Uroplakinen Ia und Ib bisher noch in keiner Studie beschrieben, während die Verbindungen zwischen CD151 und anderen Integrinen wie zum Beispiel $\alpha 6 \beta 4$ oder $\alpha 3 \beta 1$ durchaus schon gut untersucht worden sind {Sterk et al. 2000 und Stipp und Hemler 2000}.

Vor einiger Zeit wurde vorgeschlagen CD151 als therapeutisches Ziel bei Tumoren zu nutzen. Aufgrund seiner Involvierung in den Bereichen der Zelladhäsion, des Zellwachstums, der Zellaktivierung, der Zellentwicklung und der Zellmotilität scheint CD151 gut geeignet für therapeutische Zwecke zu sein. Takeda et al zeigten, dass CD151 zur Tumor-Angiogenese im Versuchstier beitrug {Takeda et al. 2007}. Da CD151 nicht essenziell für die Angiogenese beim Versuchstier zu sein scheint, könnte es ein potenzielles Therapieziel repräsentieren, um die Gefäßzufuhr und damit die Nährstoffzufuhr zum Tumor zu unterbinden.

In einer anderen Studie wurde gezeigt, dass eine vermehrte Expression von CD151 eine Rolle bei der Resistenz gegen Trastuzumab bei HER2-positiven menschlichen Brustkrebszelllinien spielen könnte. Folglich erhöhte das Fehlen von CD151 die Sensitivität zur Therapie mit Trastuzumab {Huang et al. 2007}. Harnblasentumoren gehören zur Gruppe von Tumoren mit einer häufigen HER2-Amplifikation und Überexpression. Aufgrund dieser

Beziehung könnte ein kombiniertes Anvisieren von CD151 und HER2 von potentielltem Interesse sein.

Eine weitere Studie zeigte bereits anhand von Experimenten an Mäusen, dass verschiedene anti-CD151 mAbs (monoklonale Antikörper) in der Lage sind, potentielltes frühes Tumorwachstum in verschiedenen Tumorarten einschließlich Prostata-, Lungen- und Brustkrebs zu inhibieren {Haeuw et al. 2011}. Zusätzlich konnte in dieser Studie bei einem Lungenkrebs-Modell die Metastasierung in vivo verhindert werden. Es wird vermutet, dass CD151 ein erfolgreiches Angriffsziel in vielen verschiedenen Tumorstadien sein könnte. Ob monoklonale Antikörper gegen CD151 beim Harnblasenkarzinom auch den erwünschten Erfolg bringen, bleibt noch zu untersuchen.

7. Fazit

In der vorliegenden Studie konnte anhand von über 600 Harnblasentumoren gezeigt werden, dass eine erhöhte Expression von CD151 sowohl mit einem günstigerem Tumorstadium als auch einem besseren Tumorgrading einhergeht.

Da CD151 mit vielen Mitgliedern der Tetraspanin-Familie und anderen Proteinen Querverbindungen eingeht und die Höhe der Expression von CD151 deshalb auch häufig mit der Expression dieser Proteine korreliert, müssen hier weitergehende Studien durchgeführt werden, um das ganze Ausmaß der Involvierung von CD151 im Tumorgeschehen zu erkennen.

Auf Grundlage der Ergebnisse kann man folgern, dass das Fehlen von CD151 zur Progression von Harnblasenkarzinomen durch eine Verminderung der Zelladhäsion beitragen könnte.

In den klinisch definierten Untergruppen tumorspezifisches Überleben aller invasiven Karzinome (pT1-4), tumorspezifisches Überleben in der Untergruppe der muskelinvasiven Karzinome (pT2-4), Tumorprogression von pT1 Tumoren und Rezidive von pTa Tumoren liefert die Expression von CD151 keine weiteren prognostischen Informationen.

Schließlich könnte CD151 in Zukunft durchaus ein therapeutisches Angriffsziel darstellen, zum Beispiel durch den Einsatz von monoklonalen Antikörpern.

8. Zusammenfassung

Harnblasenkarzinome stehen heute an 7. Stelle der häufigsten Krebsarten. Meist kann der Tumor schon im frühen Stadium entdeckt werden und ein potentiell kurativer Therapieansatz ist noch möglich. Dennoch könnte eine größere Auswahl an Therapieoptionen, welche besonders in den Bereichen des Größenwachstums und der Metastasierung eingreifen würden, die Überlebensraten erhöhen. Ob eine Therapieform, welche in den Stoffwechsel von CD151 bei Harnblasentumoren eingreift bessere Erfolge erzielen kann, muss noch untersucht werden.

CD151 gehört zur Gruppe der Tetraspanine und wird in verschiedenen Tumoren unterschiedlich exprimiert. Je nach Expression von CD151 sind bisherige Studien zu teilweise abweichenden Prognosen hinsichtlich des Tumorausganges gekommen. Die vorliegende Studie sollte klären, ob eine Korrelation zwischen der Expression von CD151 und dem Tumorphänotyp sowie dem klinischen Ausgang von Harnblasenkarzinomen existiert.

Dazu wurde ein Harnblasenkarzinom-TMA, welcher Tumorproben von 686 Urothelkarzinomen enthielt, mittels Immunhistochemie untersucht.

CD151 konnte in 409 (66,0%) von 620 Fällen in der Membran angefärbt werden. Eine hohe Expression von CD151 zeigte sich in normalem Urothel und in nicht-invasiven Tumoren. Eine niedrige Expression von CD151 war mit einem ungünstigen Tumorphänotyp assoziiert. Bei 71,5% der 284 pTa-Tumoren, bei 62,1% der 145 pT1-Tumoren und bei 60,4% der 187 pT2-4-Tumoren ($p = 0,0033$) gelang die Anfärbung von CD151. Die Anfärbbarkeit variierte je nach Tumorgrad. Bei 77,3% der 75 Grad 1 Tumoren, bei 71,1% der 273 Grad 2 Tumoren und bei 57,7% der 272 Grad 3 Tumoren konnte CD151 nachgewiesen werden ($p < 0,0001$). Der Expressionsstatus von CD151 war nicht mit dem tumorspezifischen Überleben aller invasiven Karzinome (pT1-4), dem tumorspezifischen Überleben in der Untergruppe der muskelinvasiven Karzinome (pT2-4), der Tumorprogression von pT1 Tumoren und den Rezidiven von pTa Tumoren assoziiert.

Scheinbar widersprüchlich verhält sich die vorliegende Studie zu anderen Studien, die bei einer höheren Expression von CD151 auch ein höheres Tumorstadium erwarten. Allerdings hat sich bis zu diesem Zeitpunkt noch keine Studie mit dem Zusammenhang zwischen der Expression von CD151 und Harnblasenkarzinomen auseinandergesetzt. Daher scheint das Harnblasenkarzinom einen besonderen Stellenwert einzunehmen.

9. Literaturverzeichnis

1. Ang J, Lijovic M, Ashman LK, Kan K, Frauman AG (2004). CD151 protein expression predicts the clinical outcome of low-grade primary prostate cancer better than histologic grading: a new prognostic indicator? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14: 553
2. Ashman LK, Aylett GW, Mehrabani PA, Bendall LJ, Niutta S, Cambareri AC, Cole SR, Berndt MC (1991). The murine monoclonal antibody, 14A2.H1, identifies a novel platelet surface antigen. *Br J Haematol* 79: 263-70.
3. Bartel F, Taubert H, Harris LC (2002). Alternative and aberrant splicing of MDM2 mRNA in human cancer. *Cancer Cell* 2: 9-15.
4. Brennan MK, Bogillot O, Cordier S, Greiser E, Schill W, Vineis P, Lopez-Abente G, Tzonou A, Chang-Claude J, Bolm-Audorff U, Jockel KH, Donato F, Serra C, Wahrendorf J, Hours M, T'Mannetje A, Kogevinas M, Boffetta P (2000). Cigarette smoking and bladder cancer in men: a pooled analysis of 11 case-control studies. *Int J Cancer* 86: 289-294.
5. Buszello H, Muller-Mattheis V, Ackermann R (1994). [Value of computerized tomography in detection of lymph node metastases in bladder cancer]. *Urologe A* 33: 243-246.
6. Cheever AW (1978). Schistosomiasis and neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 61: 13-18.
7. Chien CW, Lin SC, Lai YY, Lin BW, Lee JC, Tsai SJ (2008). Regulation of CD151 by hypoxia controls cell adhesion and metastasis in colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 14: 8043-51.
8. Claas C, Stipp CS, Hemler ME (2001). Evaluation of prototype transmembrane 4 superfamily protein complexes and their relation to lipid rafts. *J Biol Chem* 276: 7974-7984.
9. Datta SN, Allen GM, Evans R, Vaughton KC, Lucas MG (2002). Urinary tract ultrasonography in the evaluation of haematuria – a report of over 1,000 cases. *Ann R Coll Surg Engl* 84: 203-205.
10. Denkhaus H, Crone-Munzebrock W, Huland H (1985). Noninvasive ultrasound in detecting and staging bladder carcinoma. *Urol Radiol* 7: 121-131.
11. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (2004). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. *IARC Press: Lyon*: 90-106.
12. Engel RP, Witjes JA (2009). Perioperative instillation therapy in superficial bladder cancer: is it effective regarding outcome and costs? *Curr Opin Urol* 19: 511-515.
13. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM (2001). *GLOBOCAN 2000: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide*. IARC Press: Lyon.
14. Fitter S, Tetaz TJ, Bendt MC, Ashman LK (1995). Molecular cloning of cDNA encoding a novel platelet-endothelial cell tetra-span antigen, PETA-3. *Blood* 86: 1348-1355.
15. Goldgar DE, Easton DF, Cannon-Albright LA, Skolnick MH (1994). Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands. *J Natl Cancer Inst* 86: 1600-1608.
16. Grossman HB, Liebert M, Antelo M, Dinney CP, Hu SX, Palmer JL, Benedict WF (1998). p53 and RB expression predict progression in T1 bladder cancer. *Clin Cancer Res* 4: 829-834.
17. Haeuw JF, Goetsch L, Bailly C, Corvaia N (2011). Tetraspanin CD151 as a target for antibody-based cancer immunotherapy. *Biochem Soc Trans* 39: 553-558.
18. Hartge P, Hoover R, West DW, Lyon JL (1983). Coffee drinking and risk of bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 70: 1021-1026.

19. Hartmann A, Zanardo L, Bocker-Edmonston T, Blaszyk H, Dietmaier W, Stoehr R, Cheville JC, Junker K, Wieland W, Knuechel R, Rueschoff J, Hofstaedter F, Fishel R (2002). Frequent microsatellite instability in sporadic tumors of the upper urinary tract. *Cancer Res* 62: 6796-6802.
20. Hasegawa H, Kishimoto K, Yanagisawa K, Fujita S (1996). SFA-1, a novel cellular gene induced by human T-cell leukemia virus type 1, is a member of the transmembrane 4 superfamily. *J Virol* 70: 3258-3263.
21. Hasegawa H, Kishimoto K, Yanagisawa K, Terasaki H, Shimadzu M, Fujita S (1997). Assignment of SFA-1 (PETA-3), a member of the transmembrane 4 superfamily, to human chromosome 11p15.5 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics* 40: 193-196.
22. Hasegawa M, Furuya M, Kasuya Y, Nishiyama M, Sugiura T, Nikaido T, Momota Y, Ichinose M, Kimura S (2007). CD151 dynamics in carcinoma-stroma interaction: integrin expression, adhesion strength and proteolytic activity. *Lab Invest* 87: 882-892.
23. Hashida H, Takabayashi A, Tokuhara T, Hattori N, Taki T, Hasegawa H, Satoh S, Kobayashi N, Yamaoka Y, Miyake M (2003). Clinical significance of transmembrane 4 superfamily in colon cancer. *Br J Cancer* 89: 158-67.
24. Hautmann R, Huland H (1997). Urologie. *Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York*: 198-210.
25. Hickman ES, Moroni MC, Helin K (2002). The role of p53 and pRB in apoptosis and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 12: 60-66.
26. Hirano C, Nagata M, Norman AA, Kitamura N, Ohnishi M, Ohyama T, Kobayashi T, Suzuki K, Yoshizawa M, Izumi N, Fujita H, Takagi R (2009). Tetraspanin gene expression levels as potential biomarkers for malignancy of gingival squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 124: 2911-2916.
27. Huang HY, Shariat SF, Sun TT, Lepor H, Shapiro E, Hsieh JT, Ashfaq R, Lotan Y, Wu XR (2007). Persistent uroplakin expression in advanced urothelial carcinomas: implications in urothelial tumor progression and clinical outcome. *Hum Pathol.* 20; 38: 1703-13.
28. Huang XY, Ke AW, Shi GM, Ding ZB, Devbhandari RP, Gu FM, Li QL, Dai Z, Zhou J, Fan J (2010). Overexpression of CD151 as an adverse marker for intrahepatic cholangiocarcinoma patients. *Cancer* 116: 5440-5451.
29. IARC (1987). *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs volumes 1 to 42*. IARC Press: Lyon.
30. IARC (2004a). *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Drinking-water Disinfectants and Contaminants, including Arsenic*. IARC Press: Lyon (in press).
31. IARC (2004b). *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Tobacco smoke and involuntary smoking*. IARC Press: Lyon (in Press).
32. Ioachim E, Charchanti A, Stavropoulos NE, Skopelitou A, Athanassiou ED, Agnantis NJ (2000). Immunohistochemical expression of retinoblastoma gene product (Rb), p53 protein, MDM2, c-erbB-2, HLA-DR and proliferation indices in human urinary bladder carcinoma. *Histol Histopathol* 15: 721-727.
33. Kalogeras D, Lampri E, Goussia A, Bai M, Capizzello A, Tassiou I, Stavropoulos NE, Tsekeris P (2008). Radical therapy for muscle-infiltrating bladder cancer (cystectomy or radiotherapy): does age affect the final therapeutic benefit for the patient? *J BUON* 13: 353-358.
34. Karamatic Crew V, Burton N, Kagan A, Green CA, Levene C, Flinter F, Brady RL, Daniels G, Anstee DJ (2004). CD151, the first member of the tetraspanin (TM4) superfamily detected on erythrocytes, is essential for

the correct assembly of human basement membranes in kidney and skin. *Blood* 104: 2217-2223.

35. Ke AW, Shi GM, Zhou J, Wu FZ, Ding ZB, Hu MY, Xu Y, Song ZJ, Wang ZJ, Wu JC, Bai DS, Li JC, Liu KD, Fan J (2009). Role of overexpression of CD151 and/or c-Met in predicting prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 49: 491-503.
36. Kohno M, Hasegawa H, Miyake M, Yamamoto T, Fujita S (2002). CD151 enhances cell motility and metastasis of cancer cells in the presence of focal adhesion kinase. *Int J Cancer*. 97: 336-43.
37. Koraitim M, Kamal B, Metwalli N, Zaky Y (1995). Transurethral ultrasonographic assessment of bladder carcinoma: its value and limitation. *J Urol* 154: 375-378.
38. Korkolopoulou P, Christodoulou P, Konstantinidou AE, Thomas-Tsagli E, Kapralos P, Davaris P (2000). Cell cycle regulators in bladder cancer: a multivariate survival study with emphasis on p27Kip1. *Hum Pathol* 31: 751-760.
39. Kwon MJ, Park S, Choi JY, Oh E, Kim YJ, Park YH, Cho EY, Kwon MJ, Nam SJ, Im YH, Shin YK, Choi YL (2012). Clinical significance of CD151 overexpression in subtypes of invasive breast cancer. *Br J Cancer* 106: 923-930.
40. Lapham RL, Grignon DJ, Ro JY (1997). Pathologic prognostic parameters in bladder urothelial biopsy, transurethral resection, and cystectomy specimens. *Semin Diagn Pathol* 14: 109-122.
41. Lazo PA (2007). Functional implications of tetraspanin proteins in cancer biology. *Cancer Sci* 98: 1666-1677.
42. Levesque P, Ramchurren N, Saini K, Joyce A, Libertino J, Summerhayes IC (1993). Screening of human bladder tumors and urine sediments for the presence of H-ras mutations. *Int J Cancer* 55: 785-790.
43. Lipponen P, Eskelinen M (1994). Expression of epidermal growth factor receptor in bladder cancer as related to established prognostic factors, oncoprotein (c-erbB-2, p53) expression and long-term prognosis. *Br J Cancer* 69: 1120-1125.
44. Lofts FJ, Gullick WJ (1992). c-erbB-2 amplification and overexpression in human tumors. *Cancer Treat Res* 61: 161-179.
45. Lopez-Beltran A, Cheng L, Andersson L, Brausi M, de Matteis A, Montironi R, Sesterhenn I, van der Kwast T, Mazerolles C (2002). Preneoplastic non-papillary lesions and conditions of the urinary bladder: an update based on the Ancona International Consultation. *Virchows Arch* 440: 3-11.
46. Malmstrom PU, Sylvester RJ, Crawford DE, Friedrich M, Krege S, Rintala E, Solsona E, Di Stasi SM, Witjes JA (2009). An individual patient data meta-analysis of the long-term outcome of randomised studies comparing intravesical mitomycin C versus bacillus Calmette-Guerin for non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 56: 247-256.
47. Meyer D, Schmid HP, Engeler DS (2007). [Therapy and follow-up of bladder cancer]. *Wien Med Wochenschr* 157: 162-169.
48. Mostofi FK, Davis CJ, Sesterhenn IA (1999). *World Health Organization International Histological Classification of Tumours. Histological Typing of Urinary Bladder Tumours*. 2nd Edition. Springer Verlag: Berlin Heidelberg.
49. Negri E, La Vecchia C (2001). Epidemiology and prevention of bladder cancer. *EUR J Cancer Prev* 10: 7-14.
50. Nishimura K, Fujiyama C, Nakashima K, Satoh Y, Tokuda Y, Uozumi J (2009). The effects of neoadjuvant chemotherapy and chemo-radiation therapy on MRI staging in invasive bladder cancer: comparative study based

on the pathological examination of whole layer bladder wall. *Int Urol Nephrol*.

51. Nomura AM, Kolonel LN, Hankin JH, Yoshizawa CN (1991). Dietary factors in cancer of the lower urinary tract. *Int J Cancer* 48: 199-205.
52. Odintsova E, Butters TD, Monti E, Sprong H, van Meer G, Berditchevski F (2006). Gangliosides play an important role in the organization of CD82-enriched microdomains. *Biochem J* 400: 315-325.
53. Olivier M, Eeles R, Hollstein M, Khan MA, Harris CC, Hainaut P (2002). The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users. *Hum Mutat* 19: 607-614.
54. Orsola A, Cecchini L, Raventós CX, Trilla E, Planas J, Landolfi S, de Torres I, Morote J (2010). Risk factors for positive findings in patients with high-grade T1 bladder cancer treated with transurethral resection of bladder tumour (TUR) and bacille Calmette-Guerin therapy and the decision for a repeat TUR. *BJU Int* 105: 202-207.
55. Paik ML, Scolieri MJ, Brown SL, Spirnak JP, Resnick MI (2000). Limitations of computerized tomography in staging invasive bladder cancer before radical cystectomy. *J Urol* 163: 1693-1696.
56. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB (2003). *Cancer Incidence in Five Continents. IARC Scientific Publications No. 155*. IARC Press: Lyon.
57. Peyromaure M, Weibing S, Sebe P, Verpillat P, Toub Blanc M, Dauge MC, Boccon-Gibod L, Ravery V (2002). Prognostic value of p53 overexpression in T1G3 bladder tumors treated with bacillus Calmette-Guerin therapy. *Urology* 59: 409-413.
58. Qureshi KN, Griffiths TR, Robinson MC, Marsh C, Roberts JT, Lunec J, Neal DE, Mellon JK (2001). Combined p21WAF1/CIP1 and p53 overexpression predict improved survival in muscle-invasive bladder cancer treated by radical radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 51: 1234-1240.
59. Ro JY, Ayala AG, el-Naggar A (1987). Muscularis mucosae of urinary bladder. Importance for staging and treatment. *Am J Surg Pathol* 11: 668-673.
60. Rodriguez-Alonso A, Pita-Fernandez S, Gonzalez-Carrero J, Nogueira-March JL (2002). Multivariate analysis of survival, recurrence, progression and development of metastasis in T1 and T2a transitional cell bladder carcinoma. *Cancer* 94: 1677-1684.
61. Sadej R, Romanska H, Baldwin G, Gkirtzimanaki K, Novitskaya V, Filer AD, Krcova Z, Kusinska R, Ehrmann J, Buckley CD, Kordek R, Potemski P, Eliopoulos AG, Lalani el-N, Berditchevski F (2009). CD151 regulates tumorigenesis by modulating the communication between tumor cells and endothelium. *Mol Cancer Res* 7: 787-798.
62. Sadej R, Romanska H, Kavanagh D, Baldwin G, Takahashi T, Kalia N, Berditchevski F (2010). Tetraspanin CD151 regulates transforming growth factor beta signaling: implication in tumor metastasis. *Cancer Res.* 70: 6059-70.
63. Schoenberg M, Kiemeny L, Walsh PC, Griffin CA, Sidransky D (1996). Germline translocation t(5;20) (p15;q11) and familial transitional cell carcinoma. *J Urol* 155: 1035-1036.
64. Sgambato A, Migaldi M, Faraglia B, de Aloysio G, Ferrari P, Ardito R, de Gaetani C, Capelli G, Cittadini A, Trentini GP (2002). Cyclin D1 expression in papillary superficial bladder cancer: its association with other cell cycle-associated proteins, cell proliferation and clinical outcome. *Int J Cancer* 97: 671-678.
65. Shi GM, Ke AW, Zhou J, Wang XY, Xu Y, Ding ZB, Devbhandari RP, Huang XY, Qiu SJ, Shi YH, Dai Z, Yang XR, Yang GH, Fan J (2010). CD151 modulates expression of matrix metalloproteinase 9 and promotes neoangiogenesis and progression of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 52: 183-96.

66. Shvarts O, Han KR, Seltzer M, Pantuck AJ, Belldegrun AS (2002). Positron emission tomography in urologic oncology. *Cancer Control* 9: 335-342.
67. Simon R, Burger H, Brinkschmidt C, Bocker W, Hertle L, Terpe HJ (1998). Chromosomal aberrations associated with invasion in papillary superficial bladder cancer. *J Pathol* 185: 345-351.
68. Simon R, Burger H, Semjonow A, Hertle L, Terpe HJ, Bocker W (2000). Patterns of chromosomal imbalances in muscle invasive bladder cancer. *Int J Oncol* 17: 1025-1029.
69. Simon R, Struckmann K, Schraml P, Wagner U, Forster T, Moch H, Fijan A, Bruderer J, Wilber K, Mihatsch MJ, Gasser T, Sauter G (2002). Amplification pattern of 12q13-q15 genes (MDM2, CDK4, GLI) in urinary bladder cancer. *Oncogene* 21: 2476-2483.
70. Sincock PM, Fitter S, Parton RG, Berndt MC, Gamble JR, Ashman LK (1999). PETA-3/CD151, a member of the transmembrane 4 superfamily, is localised to the plasma membrane and endocytic system of endothelial cells, associates with multiple integrins and modulates cell function. *J Cell Sci* 112: 833-844.
71. Sohn M, Neuerburg J, Teufl F, Bohndorf K (1990). Gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging in the staging of urinary bladder neoplasms. *Urol Int* 45: 142-147.
72. Sriplakich S, Jahnson S, Karlsson MG (1999). Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int* 83: 498-503.
73. Sterk LM, Geuijen CA, Oomen LC, Calafat J, Janssen H, Sonnenberg A (2000). The tetraspan molecule CD151, a novel constituent of hemidesmosomes, associates with the integrin $\alpha 6\beta 4$ and may regulate the spatial organization of hemidesmosomes. *J Cell Biol* 149: 969-982.
74. Stipp CS, Hemler ME (2000). Transmembrane-4-superfamily proteins CD151 and CD81 associate with $\alpha 3\beta 1$ integrin, and selectively contribute to $\alpha 3\beta 1$ -dependent neurite outgrowth. *J Cell Sci* 113: 1871-1882.
75. Suzuki S, Miyazaki T, Tanaka N, Sakai M, Sano A, Inose T, Sohda M, Nakajima M, Kato H, Kuwano H (2011). Prognostic significance of CD151 expression in esophageal squamous cell carcinoma with aggressive cell proliferation and invasiveness. *Ann Surg Oncol* 18: 888-93.
76. Syrigos KN, Harrington KJ, Pignatelli M (1999). Role of adhesion molecules in bladder cancer: an important part of the jigsaw. *Urology*. 53: 428-34.
77. Takeda Y, Kazarov AR, Butterfield CE, Hopkins BD, Benjamin LE, Kaipainen A, Hemler ME (2007). Deletion of tetraspanin Cd151 results in decreased pathologic angiogenesis in vivo and in vitro. *Blood*. 109: 1524-32.
78. Testa JE, Brooks PC, Lin JM, Quigley JP (1999). Eukaryotic expression cloning with an antimetastatic monoclonal antibody identifies a tetraspanin (PETA-3/CD151) as an effector of human tumor cell migration and metastasis. *Cancer Res*. 59: 3812-20.
79. Tokuhara T, Hasegawa H, Hattori N, Ishida H, Taki T, Tachibana S, Sasaki S, Miyake M (2001). Clinical significance of CD151 gene expression in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 7: 4109-14.
80. Tonoli H, Barrett JC (2005). CD82 metastasis suppressor gene: a potential target for new therapeutics? *Trends Mol Med* 11: 563-570.
81. Tosoni I, Wagner U, Sauter G, Egloff M, Knonagel H, Alund G, Bannwart F, Mihatsch MJ, Gasser TC, Maurer R (2000). Clinical significance of interobserver differences in the staging and grading of superficial bladder cancer. *BJU Int*. 85: 48-53.
82. Uematsu J, Nishizawa Y, Sonnenberg A, Owaribe K (1994). Demonstration of type II hemidesmosomes in a

- mammary gland epithelial cell line, BMGE-H. *J Biochem* 115: 469-476.
- 83.** UICC (=Union International Contre le Cancer) (1997). TNM classification of malignant tumours. *Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.Tokio, 5.Auflage*.
- 84.** Vieweg J, Gschwend JE, Herr HW, Fair WR (1999). Pelvic lymph node dissection can be curative in patients with node positive bladder cancer. *J Urol* 161: 449-454.
- 85.** Wang DS, Rieger-Christ K, Latini JM, Moinzadeh A, Stoffel J, Pezza JA, Saini K, Libertino JA, Summerhayes IC (2000). Molecular analysis of PTEN and MXI1 in primary bladder carcinoma. *Int J Cancer* 88: 620-625.
- 86.** Wei J, Shaw LM, Mercurio AM (1998). Regulation of mitogen-activated protein kinase activation by the cytoplasmic domain of the $\alpha 6$ integrin subunit. *J Biol Chem* 273: 5903-5907.
- 87.** Wild PJ, Kunz-Shugart LA, Stoehr R, Burger M, Blaszyk H, Simon R, Gasser T, Mihatsch M, Sauter G, Hartmann A (2005). High-throughput tissue microarray analysis of COX-2 expression in urinary bladder cancer. *Int J Oncol* 27: 385-391.
- 88.** Williams A, McPherson V, Martinez C, Vasquez C, Chan S, Gomez-Lemus J, Rizkalla K, Chalasani V, Rajgopal R, Zijlstra A (2011). CD151 as a prognostic indicator in malignancy of the bladder and prostate. *J Clin Oncol* 29: Online abrufbar unter http://www.asco.org/ascov2/Meetings/Abstracts?&vmview=abst_detail_view&confID=104&abstractID=72512, letzter Abruf: 31.05.2012.
- 89.** Woolcott CG, King WD, Marrett LD (2002). Coffee and tea consumption and cancers of the bladder, colon and rectum. *Eur J Cancer Prev* 11: 137-145.
- 90.** Wu XR, Lin JH, Walz T, Häner M, Yu J, Aebi U, Sun TT (1994). Mammalian uroplakins. A group of highly conserved urothelial differentiation-related membrane proteins. *J Biol Chem* 18: 13716-13724
- 91.** Yafi FA and Kassouf W (2009). Radical cystectomy is the treatment of choice for invasive bladder cancer. *Can Urol Assoc J* 3: 409-412.
- 92.** Yauch RL, Kazarov AR, Desai B, Lee RT, Hemler ME (2000). Direct extracellular contact between integrin $\alpha(3)\beta(1)$ and TM4SF protein CD151. *J Biol Chem* 275: 9230-9238.
- 93.** Yoo SH, Lee K, Chae JY, Moon KC (2011). CD151 expression can predict cancer progression in clear cell renal carcinoma. *Histopathology*: 191-197.
- 94.** Zhu GH, Huang C, Qiu ZJ, Liu J, Zhang ZH, Zhao N, Feng ZZ, Lv XH (2011). Expression and prognostic significance of CD151, c-Met, and integrin $\alpha 3/\alpha 6$ in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Dig Dis Sci* 56: 1090-1098.
- 95.** Zöller M (2006). Gastrointestinal Tumors: metastasis and tetraspanins. *Z Gastroenterol* 44: 573-586.
- 96.** Zöller M (2009). Tetraspanins: push and pull in suppressing and promoting metastasis. *Nat Rev Cancer* 9: 40-55

10. Abbildungsverzeichnis

Abb.1: Geschätzte altersstandardisierte Inzidenz-Raten des Harnblasenkarzinoms bei Männern mit Anpassung an die weltweite durchschnittliche Altersverteilung (ASR).

Aus: Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM (2001). GLOBOCAN 2000: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. *IARC Press: Lyon*.

Abb.2: Tumorausbreitung des Harnblasenkarzinoms.

<http://de.wikipedia.org/wiki/Blasenkrebs>

Abb.3: Carcinoma in situ.

Aus: Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (2004). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. *IARC Press: Lyon*: 119.

Abb.4: Invasive Urothel-Karzinome. A Papilläres invasives Harnblasen-Karzinom.

B Invasives Urothelkarzinom mit Infiltration der muskulären Harnblasenwand.

C Invasives Urothelkarzinom mit tiefer Infiltration der Harnblasenwand.

D Ulzerierendes Karzinom.

Aus: Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (2004). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. *IARC Press: Lyon*: 96.

Abb.5: Molekularer Aufbau von CD151.

http://www.cipf.com/public/cipf/html/en/our_projects/project.php?aid=123

Abb.6: Die Herstellung von Exosomen durch die Zelle.

http://www.laborjournal.de/rubric/archiv/stichwort/w_06_11.lasso

Abb.7: Die 4 Array Blöcke mit den 686 Gewebeproben im Überblick (H&E, 4,5 fache Vergrößerung).

Abb.8: Tissue Microarray Method.

http://www.sunnybrook.ca/research/?page=sri_core_genom equip_8

Abb.9: Repräsentative Beispielbilder für die immunhistochemische Färbung von CD151 in gutartigem und neoplastischem Urothel. A) Starke Anfärbung von CD151 in gutartigem Urothel und Endothelialen Zellen.

B) Schwache Anfärbung von CD151 in einem Urothelkarzinom.

C) Mittlere Anfärbung von CD151 in einem Urothelkarzinom.

D) Starke Anfärbung von CD151 in einem Urothelkarzinom.

Abb.10: 10A) Stärke der Anfärbbarkeit von CD151 in Prozent bei allen analysierbaren Proben (n=620).

10B) Stärke der Anfärbbarkeit von CD151 in Prozent in den einzelnen Tumorstadien (n=620).

10C) Stärke der Anfärbbarkeit von CD151 in Prozent im Vergleich zum Tumorgrading (n=620).

10D) Stärke der Anfärbbarkeit von CD151 in Prozent im Vergleich zum pTa-Stadium und Tumorgrading (n=284).

10E) Stärke der Anfärbbarkeit von CD151 in Prozent im Vergleich zum pT1-Stadium und Tumorgrading (n=149).

10F) Stärke der Anfärbbarkeit von CD151 in Prozent im Vergleich zum pT2-4-Stadium und Tumorgrading (n=187).

Abb.11: 11A) CD151 und das tumorspezifische Überleben aller pT1-4 Tumoren (n=212).

- 11B) CD151 und das tumorspezifische Überleben in der Untergruppe der muskelinvasiven pT2-4 Tumoren (n=185).
- 11C) CD151 und die Tumorrezidive in pTa Tumoren (n=248).
- 11D) CD151 und Tumorprogression in pT1 Tumoren (n=94).

11. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kanzerogene beim Urothelkarzinom.

Aus: Hautmann R, Huland H (1997). Urologie. *Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York*: 198-210.

Tabelle 2: End-Score, entwickelt aus der Intensität der Färbung und der Anzahl der positiven Tumorzellen.

Tabelle 3: Histologische Daten sowie die Anfärbbarkeit von CD151 in der Immunhistochemie von 686 Harnblasentumoren des TMA aus dem Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf.

12. Abkürzungsverzeichnis

CD: Cluster of Differentiation

Cis: Carcinoma in situ

CT: Computertomographie

DNA: Deoxyribonucleic acid

H & E: Hämatoxylin & Eosin

IARC: International Agency for Research on Cancer

MRT: Magnetresonanztomographie

PET: Positronenemissionstomographie

TBS: Tris-gepufferte Salzlösung

TEMs: Tetraspanin-enriched membrane microdomains

Tis: Carcinoma in situ

TMA: Tissue Microarray

TNM: Tumor, Nodus, Metastasis (-Klassifikation)

TPC: Tissue Processing Center

TUR-B: Transurethrale Tumoresektion der Harnblase

UICC: Union Internationale Contre le Cancer

UV: Ultraviolett

WHO: World Health Organization

13. Danksagung

Nach mehreren Jahren harter Arbeit konnte ich nun meine Dissertation zu Ende bringen. Ohne die Unterstützung vieler Helfer hätte ich dieses Ziel nicht erreicht. Sei es durch wissenschaftliche Mithilfe oder den dauerhaften Ansporn aus dem privaten Umfeld, haben viele Personen einen erheblichen Beitrag geleistet.

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Guido Sauter für die Möglichkeit danken, in der Pathologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf eine Dissertation zu beginnen und fertigzustellen. Auch für die Gelegenheit zur Mitarbeit an zwei verschiedenen wissenschaftlichen Studien bin ich ihm sehr dankbar.

Kompetent betreut über die lange Zeit hat mich Dr. Sarah Minner. Mit ihrer netten Art und ihrer Hilfsbereitschaft hat sie mich stets ermutigt und motiviert weiterzumachen, wofür ich ihr sehr dankbar bin.

Der wissenschaftlichen Mitarbeiterin Lia Burkhardt und meinen Mitdoktoranden am Institut für Pathologie danke ich für eine gute Zusammenarbeit und gegenseitige Hilfe während meiner Zeit am UKE.

Auch im privaten Bereich haben mich viele Menschen unterstützt. Besonderer Dank geht an meine langjährige Freundin Fenja Schmidt, die mir nicht nur in der Phase der eigentlichen Forschungsarbeit den Rücken freigehalten hat, sondern auch wertvolle Hinweise zur Korrektur beigetragen hat. Sie hat mich stets emotional unterstützt.

Meiner Familie, insbesondere meinem Vater, danke ich für ihr andauerndes Interesse an meiner Arbeit und ihren Ansporn. Die ständigen Nachfragen haben mich immer wieder motiviert, meine Arbeit zu vollenden.

Hasloh, den 30. Juli 2012

Colin De Silva

14. Lebenslauf

"entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen"

15. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift: