

4 Diskussion

Das Barrett-Adenokarzinom des Ösophagus ist ein äußerst aggressiver maligner Tumor mit rapid steigender Inzidenz in der westlichen Welt (Blot et al., 1991; Pera et al., 1993; Botterweck et al., 2000). Da die Diagnose für gewöhnlich sehr spät gestellt wird, ist die Prognose für die betroffenen Patienten schlecht und die Überlebensraten entsprechend gering (Hoff et al., 1998). Mittels Endoskopie und histopathologischer Gewebeuntersuchung kann man zwischen einer niedrig- und einer hochgradigen Dysplasie differenzieren und somit diejenigen Patienten mit hohem Risiko der Entwicklung eines Barrett-Karzinoms ermitteln. Dennoch ist das Interesse darauf gerichtet, zusätzliche Marker mit diagnostischem Wert, vor allem für das Frühstadium Barrett-Mukosa, zu identifizieren. Vor diesem Hintergrund wird, wie bei einer Vielzahl anderer maligner Tumoren, seit einigen Jahren gezielt untersucht, welche Rolle Angiogenese und Lymphangiogenese für die Barrett-Karzinogenese spielen, welche Wachstumsfaktoren an der Aussprossung neuer Gefäße beteiligt sind und welche Ansätze sich daraus für Screening und Therapie der Patienten ergeben (Auvinen et al., 2002; Brundler et al., 2006; Möbius et al., 2004; Möbius et al., 2003; Lord et al., 2003; Couvelard et al., 2000; Torres et al., 1999).

Die Beobachtung, dass Tumorgefäße unreife, proliferierende Endothelzellen besitzen, führte zu der Vermutung, dass sich aus der Expression von Angiogenesefaktoren möglicherweise neue diagnostische Marker ableiten lassen. Die Ergebnisse dieser Studien sind allerdings kontrovers, was darauf hinweist, dass die Effekte und Interaktionen des VEGF-/VEGF-Rezeptor-Systems in der Tumorbologie äußerst komplex sind. Von daher erscheint es notwendig, die bisherigen Erkenntnisse über Veränderungen des VEGF-Systems im Rahmen der refluxbedingten Erkrankungen Barrett-Mukosa, Barrett-Dysplasie und Barrett-Adenokarzinom kritisch zu hinterfragen und innerhalb eines größeren Patientenkollektivs auf der Grundlage statistisch-objektiver Daten zu überprüfen.

Im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit stand deshalb die immunhistochemische Untersuchung von Vorkommen, Häufigkeit und differentieller Expression der Angiogenesemarker VEGF-A, -C und -D sowie ihrer Rezeptoren VEGFR-1, -2 und -3 in den Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz und in normalen Ösophagusgeweben. Die Expressionsbefunde sollten im Kontext der bisherigen Erkenntnisse zur Rolle des VEGF-Systems in der Barrett-Karzinogenese diskutiert werden. Von besonderer Relevanz war die Frage, ob insbesondere in der Barrett-Mukosa Faktoren mit Voraussagewert für die Entwicklung eines Barrett-Karzinoms identifiziert werden können.

4.1 Interpretation der Kerneergebnisse

4.1.1 Epitheliale Expression der Angiogenesemarker

In Bezug auf die epitheliale Expression der untersuchten Angiogenesefaktoren und Rezeptoren zeigt sich im Stadium der Barrett-Mukosa ein signifikanter Anstieg der Fallzahl mit VEGFR-3-positiven Epithelzellen (siehe Abb. 13) und in der Barrett-Dysplasie eine hochsignifikante Zunahme der VEGFR-3-positiven Epithelzellen (siehe Abb. 14). Weiterhin zeigt sich in der Barrett-Dysplasie eine signifikante Zunahme der VEGF-A-positiven Epithelzellen (siehe Abb. 10) – obwohl die Zahl der immunopositiven Fälle im Laufe der Barrett-Karzinogenese nicht signifikant ansteigt (siehe Abb. 9). Darüber hinaus ist die Fallzahl mit VEGF-C-positiven Epithelzellen in der Barrett-Dysplasie signifikant erhöht (siehe Abb. 9). Im Barrett-Adenokarzinom zeigen sich signifikante Anstiege der Fallzahlen mit VEGF-D- (siehe Abb. 9) sowie VEGFR-1- und VEGFR-2-positiven Epithelzellen (siehe Abb. 13).

Die Funktion der Angiogenesefaktoren in gesunden Ösophagusgeweben liegt hauptsächlich in der Aufrechterhaltung der Homöostase zwischen Gefäßneubildung und Gefäßabbau. Auffallend ist, dass im Normalgewebe des Ösophagus nur ein verhältnismäßig geringer prozentualer Anteil an Fällen für die drei untersuchten Gefäßwachstumsfaktoren VEGF-A, -C und -D immunopositiv ist (siehe Abb. 9). Vermutlich ist die Synthese und Expression so gering, dass ein Nachweis mit der gewählten immunhistochemischen Methode bzw. mit den verwendeten Antikörpern nicht möglich ist. Im Ösophagus-Normalgewebe scheint es damit Unterschiede in Bezug auf das Ausmaß der Expression (und damit auch der immunhistochemischen Nachweisbarkeit) der Gefäßwachstumsfaktoren VEGF-A, -C und -D zwischen den einzelnen Fällen zu geben. Die Korrelation von VEGF-C und LYVE-1 im Normalgewebe (siehe 3.3, Tab. 7 A) könnte dafür sprechen, dass VEGF-C die Aufrechterhaltung der physiologischen Lymphgefäße unterstützt (Veikkola et al., 2003; Mäkinen et al., 2001). Die Korrelation von CD31- und VEGFR-1-Immunopositivität (siehe 3.3, Tab. 7 A) liefert Hinweise darauf, dass VEGFR-1 physiologischerweise auf Blutgefäßen im Ösophagus-Normalgewebe vorkommt.

Sowohl der Anstieg der Fallzahl mit VEGFR-3-positiven Epithelzellen in der Barrett-Mukosa als auch die Zunahme der immunopositiven Epithelzellen in der Barrett-Dysplasie liefern Hinweise darauf, dass dieser Rezeptor möglicherweise eine wichtige Rolle im Rahmen der Neovaskularisierung in diesen Stadien der Karzinogenese ausübt. Über Bedeutung und Funktion der epithelialen VEGFR-3-Expression kann auf Grundlage der

vorliegenden Daten nur spekuliert werden. Möglicherweise steht die Synthese und Expression von VEGFR-3 durch Epithelzellen der Barrett-Mukosa und Barrett-Dysplasie im Dienst einer auto- und parakrinen Stimulation bzw. Regulation der Gefäßneubildung, wie es bereits aus der Literatur für eine Vielzahl anderer Tumoren beschrieben worden ist (Meister et al., 1999; von Marschall et al., 2000; Tian et al., 2001). Das heißt, die verstärkte Synthese und Expression von VEGFR-3 in Barrett-Epithelzellen könnte zum einen autokrin die Bildung eines Liganden für VEGFR-3 durch dieselben Epithelzellen und zum anderen parakrin die Expression von VEGFR-3 in benachbarten Gefäßendothelzellen stimulieren.

Die Tatsache, dass in der Barrett-Dysplasie die Zahl der VEGF-A-positiven Epithelzellen zunimmt, obwohl die Fallzahl nicht signifikant gegenüber dem Ösophagus-Normalgewebe ansteigt, spricht zunächst dafür, dass in allen Stadien der Karzinogenese annähernd gleich viele Patienten für VEGF-A positiv sind und damit keine Unterscheidung zwischen gesunden Personen und Patienten mit Barrett-Mukosa, Barrett-Dysplasie oder Barrett-Karzinom möglich ist. Allerdings lässt sich festhalten, dass die mittlere VEGF-A-Syntheserate dann signifikant ansteigt, wenn intraepitheliale Neoplasien (= Dysplasie) in der Barrett-Schleimhaut auftreten. Da die epitheliale Expression von VEGF-A in der Barrett-Dysplasie signifikant mit der endothelialen Expression von CD31 (siehe 3.3, Tab. 7 C) korreliert und auch die Zahl der CD31-positiven Gefäße in diesem Stadium ansteigt (siehe 4.1.2, endotheliale Expression der Angiogenesemarker), vermittelt VEGF-A möglicherweise Wachstumsprozesse, welche zu einer Zunahme von Blutgefäßnetzen führen. Es können keine Aussagen darüber getroffen werden, über welchen Rezeptor diese Prozesse vermittelt werden.

Der signifikante Anstieg der Fallzahl mit VEGF-C-positiven Epithelzellen in der Barrett-Dysplasie lässt vermuten, dass nicht nur VEGF-A, sondern auch VEGF-C an der Gefäßneubildung in diesem Stadium beteiligt ist, wobei für VEGF-C die Fallzahl und für VEGF-A die Zahl der immunomarkierten Epithelzellen zunimmt. Da sich für VEGF-C, im Gegensatz zu VEGF-A, keine Korrelationen mit einem Gefäßmarker bzw. VEGF-Rezeptor zeigen, lässt sich nicht sagen, ob VEGF-C die Bildung von Blut- oder Lymphgefäßen vermittelt.

Im Barrett-Karzinom steigen schließlich die Fallzahlen mit VEGF-D-, VEGFR-1- und VEGFR-2-positiven Epithelzellen signifikant an. Dies spricht für eine Hochregulierung wichtiger Angiogenesefaktoren und Rezeptoren zu einem Zeitpunkt, an dem die Neo-

vaskularisierung mit Blut- und Lymphgefäßen maximale Level erreicht (siehe Abb. 11 und Abb. 12: CD31 und LYVE-1). Hier findet die Synthese und Expression von VEGF-Rezeptoren anscheinend nicht nur in Endothelzellen, sondern (unterstützend) auch in Epithelzellen statt, was, in Analogie zu den oben beschriebenen Vorgängen bei VEGFR-3, für eine Autoregulation und -stimulation der Gefäßneubildung sprechen könnte.

4.1.2 Endotheliale Expression der Angiogenesemarker

Die Betrachtung der endothelialen Expression der VEGF-Rezeptoren zeigt einen signifikanten Anstieg der Fallzahl mit VEGFR-3-positiven Gefäßen in der Barrett-Mukosa (siehe Abb. 11) und eine hochsignifikante Zunahme der VEGFR-3-positiven Gefäße in der Barrett-Dysplasie (siehe Abb. 12; vgl. Abschnitt 4.1.1, epitheliale VEGFR-3-Expression). Desweiteren zeigt sich in der Barrett-Dysplasie eine signifikante Zunahme der Zahl CD31-positiver Gefäße (siehe Abb. 12). Im Barrett-Karzinom sind signifikant mehr LYVE-1-positive Gefäße vorhanden als in den Vorläuferstadien (siehe Abb. 12).

Der Anstieg der VEGFR-3-positiven Gefäße im Stadium der Barrett-Dysplasie könnte, in Zusammenschau mit der signifikanten Zunahme der Zahl CD31-positiver Gefäße und den signifikanten Korrelationen (CD31 mit VEGFR-3, CD31 mit VEGF-A sowie VEGFR-3 mit VEGF-A (siehe 3.3, Tab. 7 C)), ein Hinweis auf eine erhöhte Blutgefäßvaskularisation in der Barrett-Dysplasie sein. Da die Expression von VEGF-A hierbei mit der Expression von CD31 korreliert, ist VEGF-A möglicherweise ein regulierender Gefäßwachstumsfaktor in diesem Stadium der Barrett-Karzinogenese (siehe 4.1.1). Vermutlich exprimieren die Blutgefäße in der Barrett-Dysplasie VEGFR-3 (vgl. auch Abb. 8 P und 8 S). Unterstützt wird diese Vermutung dadurch, dass laut Literatur VEGFR-3 in pathologischen Bedingungen, wie der Barrett-Dysplasie, nicht nur in Lymphendothelien, sondern auch in Blutgefäßendothelien exprimiert werden kann (Valtola et al., 1999; Jüttner & Wißmann et al., 2006).

Die signifikante Zunahme der LYVE-1-positiven Gefäße im Barrett-Karzinom und die Korrelation von LYVE-1- und VEGFR-3-Immunopositivität in Gefäßendothelien (siehe 3.3, Tab. 7 D) sprechen für eine Zunahme von Lymphgefäßnetzen im Tumor. Die erhöhte Lymphvaskularisation könnte für die Tumorausbreitung und lymphogene Metastasierung wichtig sein.

Zusammenfassend kann man sagen, dass eine erhöhte Vaskularisation an Blutgefäßen

vermutlich früher auftritt (Barrett-Dysplasie) als eine erhöhte Vaskularisation an Lymphgefäßen (Barrett-Karzinom).

4.2 Einordnung der Befunde in das bisherige Angiogenesekonzept in refluxassoziierten Veränderungen des Ösophagus

Eine zentrale Hypothese des bisherigen Konzepts von Angiogenese in der Barrett-Mukosa bzw. in den (Reflux-) assoziierten Veränderungen Barrett-Dysplasie und Barrett-Karzinom ist die Initiierung eines „angiogenen Switch“ (Folkman, 1971), d. h. einer Umschaltung zwischen avaskulärem und vaskulärem Zellwachstum, vermittelt durch die Wirkung von VEGF-A, im Stadium der Barrett-Mukosa (Auvinen et al., 2002). Die Autoren belegten diese These durch eine verstärkte Expression von VEGF-A in Barrett-spezifischen Drüsenepithelzellen und Becherzellen sowie durch eine Zunahme der Zahl VEGFR-2-positiver Gefäße. Die Endothelzellen der VEGFR-2-positiven Gefäße waren hierbei weder von glatten Muskelzellen noch von Perizyten umgeben, was für unreife, proliferierende Endothelzellen charakteristisch ist. Die Autoren nahmen an, dass VEGF-A das Überleben der unreifen Endothelzellen in Abwesenheit von Perizyten und glatten Muskelzellen gewährleistet.

Nach den Beobachtungen der vorliegenden Arbeit steigt der prozentuale Anteil der VEGF-A-synthetisierenden Epithelzellen im Stadium der Barrett-Mukosa im Vergleich zum Ösophagus-Normalgewebe zwar ebenfalls leicht an (siehe Abb. 10), dies stellt allerdings keinen statistisch signifikanten Anstieg dar. Ähnlich verhält es sich mit der Microvessel Density (Zahl der CD31-positiven Gefäße). Auch diese steigt im Stadium der Barrett-Mukosa im Vergleich zum Ösophagus-Normalgewebe leicht an, ein signifikanter Anstieg ist aber erst in der Barrett-Dysplasie zu verzeichnen (siehe Abb. 12). Die Zahl der VEGFR-2-positiven Gefäße nimmt im Verlauf der Barrett-Karzinogenese nicht signifikant zu (siehe Abb. 12).

Die bislang vertretene Hypothese der Induktion von Angiogeneseprozessen im Stadium der Barrett-Mukosa, vermittelt durch die Stimulation von VEGFR-2 durch VEGF-A, kann somit auf der Grundlage der vorliegenden Daten nicht bestätigt werden. Statt dessen ergeben sich in der Barrett-Dysplasie Hinweise auf eine erhöhte Blutgefäßvaskularisation, erkennbar an der oben beschriebenen signifikanten Zunahme der CD31-positiven Gefäße (siehe Abb. 12), des signifikanten Anstiegs der VEGF-A-positiven Epithelzellen (siehe Abb. 10) und der Korrelation von CD31-Immunopositivität in Gefäßendothelien

und VEGF-A-Immunopositivität in Epithelzellen (siehe 3.3, Tab. 7 C). Diese Abweichung von der Studie von Auvinen et al. (2002) lässt sich zum einen möglicherweise dadurch erklären, dass diese Arbeitsgruppe keine statistischen Analysen mit p-Wert-Berechnungen durchführte, sondern nur lichtmikroskopisch die Färbeintensitäten von VEGF-A und VEGFR-2 nach immunhistochemischer Antikörperinkubation beurteilte. Zum anderen waren die Fallzahlen deutlich geringer als in der vorliegenden Arbeit. Darüber hinaus ließ sich keine eindeutige Zuordnung der Fälle zu den Stadien der Barrett-Karzinogenese vornehmen, da ausschließlich Ösophagusbiopsate verwendet wurden, bei denen mehrere Stadien nebeneinander auftraten.

Bestätigt wird die Beobachtung einer gesteigerten Blutgefäßvaskularisation im Stadium der Barrett-Dysplasie durch die Studie von Möbius et al. (2003). Diese Arbeitsgruppe konnte einen signifikanten Anstieg der mittleren VEGF-A-Expression und des Neovaskularisationskoeffizienten (CD31-positive Gefäße/ α -SMA-positive Gefäße) in der hochgradigen Dysplasie (im Vergleich zur Barrett-Mukosa) nachweisen.

Um auf die Hypothese des „angiogenen Switch“ im Stadium der Barrett-Mukosa zurück zu kommen: Auvinen et al. beobachteten neben einer verstärkten Expression von VEGF-A in Barrett-spezifischen Epithelzellen und einer Zunahme der Zahl VEGFR-2-positiver Gefäße auch einen kontinuierlichen Anstieg der epithelialen VEGF-C-Expression ab dem Stadium der Barrett-Mukosa (Auvinen et al., 2002). Sie deuteten dies ebenfalls als Hochregulierung dieses Gefäßwachstumsfaktors im Rahmen des frühzeitigen „angiogenen Switch“. Im Stadium der Barrett-Dysplasie beobachteten sie zudem einen Anstieg der Zahl VEGFR-3-positiver, dünnwandiger, Erythrozyten-freier Gefäße und konnten anhand des Färbeverhaltens (Kofärbung mit PAL-E, EN4) belegen, dass VEGFR-3 in lymphatischen Endothelzellen exprimiert wurde und nicht in angiogenen Microvessels. Da VEGFR-3 bekanntermaßen als Rezeptor für VEGF-C fungiert, vermuteten die Autoren einen Zusammenhang zwischen diesem Expressionsmuster und der Wegbereitung für eine lymphogene Metastasierung (Auvinen et al., 2002).

Die von Auvinen et al. beobachtete Zunahme der Zahl VEGFR-3-positiver Gefäße in der Barrett-Dysplasie deckt sich mit dem Ergebnis der vorliegenden Arbeit (siehe Abb. 12). Allerdings zeigt sich hier eine erhöhte epitheliale VEGF-C-Expression, erkennbar an einer signifikanten Zunahme der Fallzahl (siehe Abb. 9), erst in der Barrett-Dysplasie und nicht schon im Stadium der Barrett-Mukosa. Über eine mögliche Rezeptor-Liganden-Interaktion kann aufgrund dieser Beobachtungen keine Aussage gemacht

werden.

Eine gänzlich neue Beobachtung dieser Arbeit, welche das bisherige Konzept von Angiogenese in der Barrett-Mukosa und den assoziierten Veränderungen der Barrett-Dysplasie und des Barrett-Karzinoms wesentlich erweitert, ist die erhöhte Expression des VEGF-Rezeptors 3 nicht nur in Gefäßendothelien sondern auch in Epithelzellen der Barrett-Dysplasie (siehe Abb. 14). Das legt einen Einfluss dieses Rezeptors auf beide Zellkompartimente in diesem Stadium nahe und könnte möglicherweise, wie oben beschrieben, Ausdruck einer gesteigerten (und autoregulierten) Gefäßneubildung sein und damit auf einen Übergang zwischen avaskulärem und vaskulärem Wachstum der dysplastischen Barrett-Epithelzellen hinweisen. Dazu passt, dass in der Barrett-Dysplasie die Zahl CD31-positiver Gefäße signifikant erhöht (siehe Abb. 12) und CD31- mit VEGFR-3-Immunopositivität in Gefäßendothelien korreliert (siehe 3.3, Tab. 7 C). Dies legt nicht nur die Vermutung einer Zunahme von Blutgefäßnetzen in der Barrett-Dysplasie nahe, sondern auch, dass VEGFR-3 auf diesen Blutgefäßen exprimiert wird. Das ist eher untypisch, da man vielmehr eine Korrelation von VEGFR-3- und LYVE-1-Immunopositivität in Gefäßendothelien in diesem Stadium erwarten würde. Eine solche Korrelation zeigt sich jedoch nicht (siehe 3.3, Tab. 7 C).

In Bezug auf Angiogenese im Barrett-Karzinom konnten Couvelard und Mitarbeiter zeigen, dass die Expression von VEGF-A mit einer hohen Blutgefäßvaskularisierung (viele CD34-positive Gefäße) korreliert war, allerdings zeigte diese Korrelation keine prognostische Relevanz (Couvelard et al., 2000). Die höhere Vaskularisierung war erstaunlicherweise mit einer geringeren Zahl an Lymphknoten- und Fernmetastasen sowie einem längeren Überleben korreliert (Couvelard et al., 2000).

In Bezug auf die Lymphvaskularisierung zeigten Brundler et al. in einer Studie, dass die Lymphatic Vessel Density im Barrett-Karzinom, speziell im Zentrum der Tumoren, niedriger war als im Ösophagus-Normalgewebe und in den anderen Stadien der Barrett-Karzinogenese (Brunner et al., 2006). Sie folgerten daraus, dass Lymphknotenmetastasen beim Barrett-Karzinom nicht auf einer gesteigerten Lymphvaskularisierung beruhen. Auvinen und Mitarbeiter konnten dagegen belegen, dass im Barrett-Adenokarzinom vermehrt Lymphgefäße vorkamen, welche sich in ihrer Morphologie von normalen Lymphgefäßen unterschieden (lockere Struktur), VEGFR-3 sowie VEGF-C exprimierten und die Lamina propria durchbrachen (Auvinen et al., 2002).

Die Beobachtung von Couvelard et al. deckt sich zum Teil mit den Ergebnissen der vor-

liegenden Arbeit. Eine Korrelation zwischen der epithelialen Expression von VEGF-A und der endothelialen Expression von CD31 zeigt sich ebenfalls, allerdings schon in der Barrett-Dysplasie (siehe 3.3, Tab. 7 C). Auch die Zahl der CD31-positiven Gefäße (siehe Abb. 12) und der VEGF-A-positiven Epithelzellen (siehe Abb. 10) ist in diesem Stadium signifikant erhöht. Obwohl diese Ergebnisse die Beobachtung von Couvelard et al. untermauern, erlauben sie nicht dieselbe Schlussfolgerung einer Korrelation von VEGF-A mit einer erhöhten Blutgefäßvaskularisation im Barrett-Karzinom. Dadurch, dass die von Couvelard et al. verwendeten CD34-Antikörper auch Lymphgefäße färben (Vermeulen et al., 1996), wurde die MVD im Barrett-Karzinom von ihnen möglicherweise zu hoch bestimmt.

Auf der anderen Seite ist die Lymphvaskularisation, gemessen an der Zahl der LYVE-1-positiven Gefäße (siehe Abb. 12), im Barrett-Karzinom eindeutig und signifikant erhöht. Dies widerspricht der Beobachtung von Brundler et al. (2006), deckt sich aber mit der Beobachtung von Auvinen et al. (2002). Letztere verwendeten allerdings VEGFR-3-Antikörper (und nicht LYVE-1-Antikörper) und identifizierten immunomarkierte Lymphgefäße anhand morphologischer Kriterien. VEGFR-3 ist zudem nicht komplett spezifisch für Lymphgefäße, sondern wird auch auf Endothelzellen von Blutgefäßen exprimiert (Valtola et al., 1999). In der vorliegenden Arbeit kann durch kombinierte Anwendung der Antikörper VEGFR-3 und LYVE-1, der oben beschriebenen, beobachteten, signifikanten Zunahme der LYVE-1-positiven Gefäße und der Korrelation von VEGFR-3- und LYVE-1-Immunopositivität in Gefäßendothelien (siehe 3.3, Tab. 7 D) eindeutig belegt werden, dass die Lymphvaskularisation im Barrett-Karzinom erhöht ist.

Eine Erklärung für die Abweichung von der Studie von Brundler et al. könnte sein, dass hier der Unterschied in der Zahl der LYVE-1-positiven Gefäße nur zwischen Normalgewebe und Barrett-Karzinom signifikant war, nicht aber zwischen Barrett-Dysplasie und Barrett-Karzinom (Brundler et al., 2006).

Eine gänzliche neue Beobachtung ist, wie oben bereits andiskutiert, eine epitheliale, in den Stadien der Barrett-Karzinogenese kontinuierlich zunehmende Expression von VEGF-Rezeptoren (siehe Abb. 13). Dies wurde bislang in keiner Arbeit, welche sich mit Angiogenese in refluxassoziierten Veränderungen des Ösophagus befasst hat, beobachtet. Man ging im Übrigen lange Zeit davon aus, dass VEGF-Rezeptoren hochspezifisch nur in Endothelzellen exprimiert werden. Einige neuere Studien zeigten jedoch, dass sie auch in nicht-endothelialen Zellen exprimiert werden, insbesondere in Tumore-

pithelzellen verschiedener Gewebe (Meister et al., 1999; von Marschall et al., 2000; Price et al., 2001; Tian et al., 2001; Zhukova et al., 2003; Fan et al., 2005). In diesen Studien konnte bislang allerdings nur die epitheliale Expression von VEGFR-1 und VEGFR-2 belegt werden und es existieren (noch) keine Untersuchungen zur Expression von VEGFR-3 in Tumorepithelzellen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sprechen eindeutig für eine epitheliale VEGFR-1-, VEGFR-2- und VEGFR-3-Expression in allen Stadien der Barrett-Karzinogenese und auch im Ösophagus-Normalgewebe. Zum Teil zeigen sogar mehr Fälle eine epitheliale VEGF-Rezeptor-Expression als eine Expression in Gefäßendothelien (siehe Abb. 13 und 14). Die vorliegenden Ergebnisse belegen, dass insbesondere VEGFR-3 frühzeitig, in der Barrett-Mukosa und Barrett-Dysplasie, in Epithelzellen exprimiert wird (siehe Abb. 13 und Abb. 14). Zusammen mit der erhöhten endothelialen Expression von VEGFR-3 in der Barrett-Mukosa und Barrett-Dysplasie (siehe Abb. 11 und Abb. 12) spricht dies für einen besonderen Einfluss von VEGFR-3 auf beide Zellkompartimente.

4.3 Klinische Implikationen der Ergebnisse

Es lässt sich festhalten, dass viele der untersuchten Gefäßwachstumsfaktoren und Rezeptoren erst relativ spät, nämlich in der Barrett-Dysplasie bzw. im Barrett-Karzinom einen signifikanten Anstieg der Fallzahlen mit immunpositiven Epithelzellen oder Gefäßen aufweisen. Auch aus der Literatur ist bekannt, dass vor allem bei malignen Tumoren verstärkt Gefäßwachstumsfaktoren der VEGF-Familie und VEGF-Rezeptoren synthetisiert und exprimiert werden (Kato et al., 2002; Tian et al., 2001; von Marschall et al., 2000; Valtola et al., 1999; Brown et al., 1993). Dennoch scheint insbesondere die Expression von VEGFR-3, und möglicherweise auch die Expression von VEGF-A und VEGF-C, eine Assoziation zu den prämaligen, ösophagealen Veränderungen Barrett-Mukosa und Barrett-Dysplasie zu haben. Die in dieser Arbeit durchgeführte Quantifizierung von Gefäßen bzw. Epithelzellen und die Expressionsmuster der Angiogenesefaktoren erlauben dennoch keine Vorhersage einer Karzinomentwicklung oder gar einer Krankheitsprognose. Dazu müssten statistische Prüfungen auf unabhängige prognostische Parameter durchgeführt sowie Überlebenskurven nach Kaplan-Meier erstellt werden. Hinsichtlich der prognostischen Bedeutung von Angiogenesefaktoren für das Überleben der Patienten liegen bereits diverse Studien, jedoch mit widersprüchlichen Ergebnissen, vor (Couvelard et al., 2000; Möbius et al., 2004; Brundler et al., 2006). Weitere Studien, welche den Effekt der Expression oben genannter Angiogenesemarker auf die

Gefäßneubildung bestätigen und Assoziationen zwischen Angiogenese bzw. Lymphangiogenese und dem Outcome der Patienten verifizieren, stehen also noch aus. Eine anti-angiogene Therapie des Barrett-Karzinoms ist somit derzeit noch nicht möglich, weil konkrete klinische Daten fehlen, sie stellt aber einen vielversprechenden Ansatzpunkt dar. Es wäre ein bedeutender medizinischer Fortschritt, wenn es gelänge, Epithelzellen der Barrett-Mukosa bzw. Barrett-Dysplasie durch anti-angiogene Medikamente an der Proliferation und Progression zu einem malignen Tumor zu hindern.