

1. Einleitung

1.1. Meningeome

Meningeome sind langsam wachsende und zumeist gutartige Tumore der Hirnhäute, die intrakraniell oder intraspinal wachsen. Sie werden eingeteilt nach WHO Grad I bis III und gehören zu den häufigsten intrakraniellen Primärtumoren (Kleihues, Louis et al. 2002) (Shaw, Paez et al. 2001).

1.1.1. Inzidenz

Intrakranielle Meningeome machen zwischen 13 und 26% aller primären intrakraniellen Hirntumore aus. Dies entspricht einer Inzidenz von 6-8 pro 100000 (DeAngelis 2001). Spinale Meningeome sind mit 12% aller Meningeome weitaus seltener, machen aber unter den spinalen Neoplasmen bis zu 25,5% aus (Greenfield, Graham et al. 1996). Bei bestimmten hereditären Tumorsyndromen kommen Meningeome gehäuft vor. Dies ist besonders bei Patienten mit Neurofibromatose Typ 2 auffällig, die neben anderen Charakteristika, wie Schwannomen und Ependymomen, auch multiple Meningeome entwickeln (Louis, Ramesh et al. 1995). Multiple Meningeome kommen auch sporadisch vor (unter 10% der Fälle) (Kleihues, Louis et al. 2002)

Meningeome sind Tumoren der mittleren bis höheren Lebensalter, können aber auch im Kindesalter (1,2-1,9% der Meningeome) und im Senium auftreten. Bei Kindern werden zumeist aggressivere Verläufe beobachtet, wobei bei alten Menschen asymptomatische Verläufe nicht untypisch sind. Frauen sind mit einer Rate von 2:1 im mittleren Lebensalter häufiger betroffen (Kleihues, Louis et al. 2002), bei spinalen Meningeomen ist die Rate 10:1. Dagegen treten Meningeome beim Kind und atypische und anaplastische Subtypen gehäuft bei Männern auf. Liegt ein hereditäres Tumorsyndrom zugrunde, sind Frauen und Männer gleichermaßen betroffen (Perry, Stafford et al. 1997).

1.1.2. Lokalisation

Meningeome sind eine histologisch vielschichtige Gruppe arachnoidaler Neoplasien. Sie wachsen intrakraniell und intravertebral und stehen im engen Zusammenhang mit den Hirnhäuten. Nur von wenigen Fällen wurde berichtet, in denen andere Organe primär betroffen waren.

Von den intrakraniellen Meningeomen betreffen 40% die Konvexität der Hemisphären. Oft sind sie mit der Falx verbunden und es kann zu bilateralem Befall der Hemisphären mit spiegelbildlichem Tumorwachstum kommen. Parasagittal finden sich Meningeome zumeist im mittleren und vorderen Drittel. Weitere übliche Lokalisationen sind Keilbeinflügel, vordere und hintere Schädelgrube, parasellare Region und Tentorium cerebelli. Tumorwachstum in den Sinusoiden und intraventrikuläres Wachstum kommen vor. Seltene Meningeomvarianten finden sich dabei auch intrazerebral ohne jede Verbindung zu den Hirnhäuten.

Intraspinale Meningeome finden sich gehäuft im thorakalen Bereich, wobei sie bevorzugt anterior und lateral lokalisiert sind.

1.1.3. Ätiologie

Die Ätiologie konnte für die meisten Meningeome bislang nicht eindeutig geklärt werden. Neben der bereits erwähnten genetischen Disposition bei NF2 Patienten und dem seltenen Gorlin und Cowden Syndrom werden Meningeome im Kontext von Röntgen- und radioaktiver Strahlung beobachtet (Albrecht, Goodman et al. 1994) (Lyons, Wilson et al. 1993) (Shibata, Sadamori et al. 1994). Sowohl nach Hochdosis-Strahlentherapie (>20 Gy) von primären Hirntumoren als auch nach der Behandlung mit geringer Strahlendosis (<8 Gy), wie sie zur Therapie der Tinea Capitis praktiziert wurde, kommt es nach einer Latenz von mehreren Jahrzehnten zum gehäuften Auftreten von Meningeomen (Sadetzki, Modan et al. 2000). Hierbei wird eine höhere Inzidenz von atypischen Meningeomen sowie eine höhere Rezidivrate beobachtet (Soffer, Gomori et al. 1989; Harrison, Wolfe et al. 1991). Auch ein Zusammenhang mit Schädeltraumata, Virusinfektionen und Einnahme von Sexualhormonen wird diskutiert. Studienergebnisse, aus denen entsprechende Hinweise abgeleitet wurden, konnten bislang nicht verifiziert werden.

1.1.4. Klinik

Da Meningeome an nahezu allen intrakraniellen und intraspinalen Lokalisationen vorkommen, sind die resultierenden klinischen Symptome entsprechend vielseitig. Das verdrängende Wachstum äußert sich besonders bei intrakraniellen Tumoren in Kopfschmerzen, epileptischen Anfällen und neurologischen Ausfällen. Entsprechend

der Lokalisation können neben motorischer und sensorischer Schwäche, Veränderungen der Persönlichkeit, Inkontinenz oder der Verlust des Sehvermögens beobachtet werden. Oftmals bleiben Meningeome aber lange symptomlos und erreichen beachtliche Größen.

Meningeome können zudem Hirnödeme provozieren, die sich dann in den Symptomen oft aggressiver als der Tumor selbst darstellen. Ein Zusammenhang mit einer erhöhten Expression vom vascular endothelial growth factor (VEGF) wurde hierbei beobachtet (Goldman, Bharara et al. 1997).

Besonders die seltenen Subtypen präsentieren sich auch mit paraneoplastischen Symptomen. So sind chordoide Meningeome mit hämatologischen Veränderungen, wie Hypergammaglobinämie und Anämie, assoziiert (Kepes, Chen et al. 1988). Bei sekretorischen Varianten wurden erhöhte Werte des Carcinoembryonalen Antigens (CEA) beobachtet (Louis, Hamilton et al. 1991). Auch über Erythropoetin produzierende Meningeome wurde berichtet (Bruneval, Sassy et al. 1993).

1.1.5. Radiologie

Auch wenn bis zu 60% der Meningeome in der nativen Röntgenaufnahme durch Hyperostosen oder Kalzifikationen auffallen, wird heute zur genaueren Darstellung meist eine Angiographie und ein MRT angefertigt. Hierbei zeigen sich Meningeome typischerweise als isodense bis leicht hyperdense, klar begrenzte Raumforderungen, die Kontrastmittel anreichern und oft Kalzifizierungen aufweisen (1/5 der Fälle). Charakteristisch ist der so genannte „dural tail“, der die Ausbreitung des Tumors entlang der Dura oder peritumorale Gefäße darstellt.

Bei 50% der Tumoren lassen sich Umgebungsödeme feststellen. Besonders auffallend ist dies bei sekretorischen und meningotheiomatösen Meningeomen (Kirsch, Zhu et al. 1997) (Alguacil-Garcia, Pettigrew et al. 1986). Eine geringe Kontrastmittelanreicherung wird bei mikrozystischen Meningeomen beobachtet (Shimoji, Yasuma et al. 1999).

1.1.6. Makroskopische Pathologie

Meningeome stellen sich als scharf begrenzter Tumor dar, welcher fest der Dura anhaftet und diese oft infiltriert. Das Hirnparenchym ist im allgemeinen gut abgrenzbar.

Auch Infiltrationen des knöchernen Schädels werden beobachtet. Die Konsistenz von Meningeomen ist prall-elastisch oder fest, die Schnittfläche stellt sich grau-gelblich dar. Im Tumorgewebe kommen fokale Verkalkungen vor. Das Meningeom „en plaque“ bedeckt flächenhaft die Dura als dünne Platte und tritt gehäuft an der Schädelbasis auf.

1.1.7. Einteilung

Die einzelnen Meningeomsubtypen werden nach histologischen Kriterien unterschieden und nach ihrem klinischen Verhalten nach WHO Grad I bis III eingeteilt (Kleihues, Louis et al. 2002). Die meisten Meningeome werden als gutartig beschrieben und nach WHO Grad I gradiert. Einige Varianten haben allerdings eine erhöhte Tendenz zum aggressiveren Wachstum und gehen mit höheren Rezidivquoten einher. Diese werden nach WHO Grad II (atypisch) bis III (anaplastisch) eingeteilt (siehe Tabelle 1) (Radner, Katenkamp et al. 2001). Invasives Wachstum kann dabei bei allen Subtypen beobachtet werden.

Unter den klassischen Meningeomsubtypen vom WHO Grad I sind die meningotheliomatösen, fibroblastischen und transitionalen am häufigsten. Auch psammomatöse und angiomatöse Meningeome werden noch zu den klassischen Meningeomsubtypen gezählt (Radner, Blumcke et al. 2002).

Atypische Meningeome machen zwischen 4,7 und 7,2% der Meningeome aus und werden aufgrund ihrer signifikant erhöhten Rezidivrate nach WHO Grad II eingestuft (Maier, Ofner et al. 1992). Anaplastische Meningeome werden auch zu den klassischen gezählt, machen aber nur unter 3% aus. Sie zeigen aggressives Wachstumsverhalten und können systemisch metastasieren. Wegen der schlechten Prognose werden diese Tumoren nach WHO Grad III eingeordnet.

Zu den seltenen Meningeomvarianten, die ihrer biologischen Wertigkeit nach dem WHO Grad I entsprechen, zählen das sekretorische, mikrozystische, lymphoplasmazellreiche und das metaplastische Meningeom. Das klarzellige und das chordoide Meningeom werden als WHO-Grad II gradiert. Papilläre und rhabdoide Meningeome sind nach WHO-Grad III einzuteilen (Radner, Blumcke et al. 2002).

Tabelle 1: WHO-Einteilung von Meningeomen. Modifiziert nach (Radner, Katenkamp et al. 2001)

Klassische Meningeomsubtypen WHO-Grad I:

	Meningotheliomatös	Fibroblastisch	Transitional	Psammomatös	Angiomatös
Charakteristika	Läppchen arachnoidaler Zellen in oft synzytialer Anordnung	Spindelige fibroblasten ähnliche Zellen, kollagenreich	Kombination fibroblastisch/meningotheliomatös	Reichlich Psammomkörper	Reichlich Blutgefäße, verdecken eigentliches Meningeom

Seltene Meningeomsubtypen WHO-Grad I:

	Sekretorisch	Mikrozystisch	Lymphoplasmazellreich	Metaplastisch
Charakteristika	Keratin+, PAS+, CEA+, Pseudopsammomkörper	elongierte Fortsätze in mikrozystischer Matrix	Chronische Entzündungsinfiltrate verdecken Meningeom	Ossär, kartilaginär, lipomatös, myxoid oder xanthomatös

Seltene Meningeomsubtypen WHO-Grad II und III:

	Klarzellig	Chordoid	Papillär	Rhabdoid
Charakteristika	Vakuolen im Zytoplasma, PAS+, wächst aggressiver	Läppchen oder Trabekel chordoider Zellen, myxoide Matrix	perivaskuläre Pseudopapille, Zytokeratin positiv	Rhabdoide Zellkomponente, häufig Anaplasie Zeichen
WHO-Grad	II	II	III	III

1.1.8. Therapie und Prognose

Für die erfolgreiche Behandlung von Meningeompatienten ist wichtig, ob ein Rezidiv des Tumors auftritt oder nicht.

Dies hängt neben dem histopathologischen Grad besonders von der Lokalisation des Tumors ab, die es dem Chirurgen erlaubt, eine Totalresektion durchzuführen. Die chirurgische Therapie ist somit die wichtigste Option bei Meningeomen. Besonders bei Tumoren der Schädelbasis und solchen, welche die Sinusoide betreffen, ist oft nur eine subtotale Entfernung möglich. Mit präoperativer Embolisation wird versucht, die Tumormasse zu reduzieren und somit Tumorreste zu vermeiden sowie intraoperative Blutungen zu minimieren (Nelson, Setton et al. 1994). Selbst nach Resektion kommt es bei benignen Meningeomen in 7-20% der Fälle, bei atypischen bei 29-40% und bei anaplastischen bei 50-78% zum Rezidiv. Die mittlere Zeit bis zum Rezidiv korreliert mit

dem pathologischen Grad. Sie reicht von 7,5 Jahren bei benignen bis zu 2,4 Jahren bei atypischen und 3,5 Jahren bei anaplastischen Meningeomen (Maier, Ofner et al. 1992) (Jaaskelainen, Haltia et al. 1986).

Radiotherapie wird nach Subtotalresektion und grundsätzlich bei malignen Varianten empfohlen, während Chemotherapie bei malignen Meningeomen eingesetzt wird (Milosevic, Frost et al. 1996).

1.1.9. Proliferation

Der monoklonale Antikörper MIB-1 zum Nachweis des Ki-67 Antigen hat sich neben der Histologie als hilfreich erwiesen, um Malignität, Wachstum und Rezidivrisiko von Meningeomen zu bewerten. Hohe MIB-1 Indices korrelieren mit einer höheren Rezidivrate (Nakaguchi, Fujimaki et al. 1999). Allerdings findet sich eine hohe Proliferation vermehrt in Tumorabschnitten mit hoher Zelldichte. Aus diesem Grund ist keine zuverlässige Aussage über die Rezidivrate möglich. Ab einem MIB-1 Proliferationsindex von 1% wird von einem Rezidivrisiko von 30,6% ausgegangen (Kleihues, Louis et al. 2002). Ab einem Proliferationsindex von 5% ist eine nahezu 100%ige Rezidivrate zu erwarten (Shibuya, Hoshino et al. 1992).

1.1.10 Histologie

Einige histologische Merkmale sind bei allen Meningeomvarianten zu finden. Es wird aufgrund struktureller Ähnlichkeiten davon ausgegangen, dass die Deckzellen der Arachnoidea die Ursprungszellen der Meningeome sind, was allerdings nicht als bewiesen gilt (Drummond, Zhu et al. 2004). Wie eine einzige Ursprungszelle so histologisch diverse Tumore hervorbringen kann, bleibt unklar und es werden weitere Ursprungszellen der Meningen diskutiert.

Die typischen Meningeomzellen sind rund bis oval geformt und besitzen typische rund-ovale Zellkerne. Diese haben ein feines Euchromatin ohne deutliche Nucleoli. Intranucleäre Einschlüsse sind zu beobachten, entweder als cytoplasmatische Protrusionen oder „Lochkerne“. Diese Charakteristiken sind jedoch nicht pathognomisch. Pleomorphe Zellen und Mitosen können in allen Meningeomvarianten auftreten, ohne dass dieses für ein aggressiveres Wachstum sprechen würde. Die Zahl der Mitosen ist das wichtigste Kriterium für die Gradierung von Meningeomen. Über 4 Mitosen pro 10 „high power fields“ (HPF, 0,16 mm²) ist ein Meningeom des WHO-

Grades II zu diagnostizieren. Bei mehr als 20 Mitosen pro 10 HPF handelt es sich um ein Meningeom des WHO-Grades III.

Im Lichtmikroskop macht das eosinophile Cytoplasma von Meningeomen den fälschlichen Eindruck eines synzytialen Verbandes. Dieser erste Eindruck lässt sich elektronenmikroskopisch durch zahlreiche Desmosomen erklären.

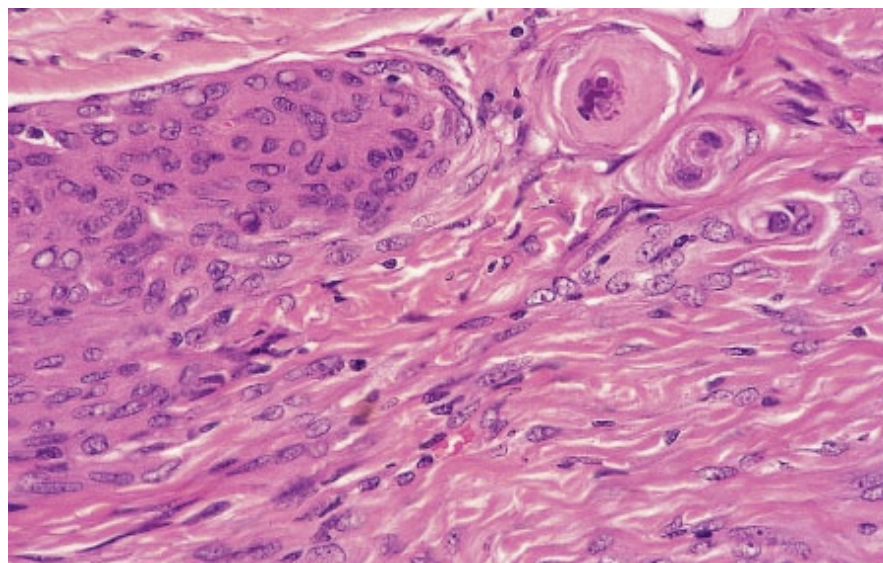
Charakteristisch und damit diagnostisch relevant für viele Meningeome sind Zellnester und Psammomkörper. Die fein lamellierten, „zwiebelschalenartig“ angeordneten Zellnester sind konzentrische Zellansammlungen, in deren Zentrum sich polygonale Zellen befinden. Aus dem Zentrum dieser Zellnester entstehen die so genannten Psammomkörper, die aus konzentrischen Kalzifizierungen bestehen.

In dieser Arbeit wurden fibroblastische, transitionale, psammomatöse, angiomatöse, sekretorische, mikrozystische, lymphoplasmazellreiche, metaplastische, klarzellige, chordoide, papilläre und rhabdoide Meningeome untersucht. Diese werden im Folgenden kurz charakterisiert:

Transitionales Meningeom WHO-Grad I:

Diese haben sowohl Züge klassischer meningotheliomatöser Meningeome als auch fibroblastischer Meningeome. So zeigen sich lobuläre und faszikuläre Abschnitte neben meningotheliomatösen. Enge Zellnester sind typisch, während Psammomkörper seltener zu finden sind.

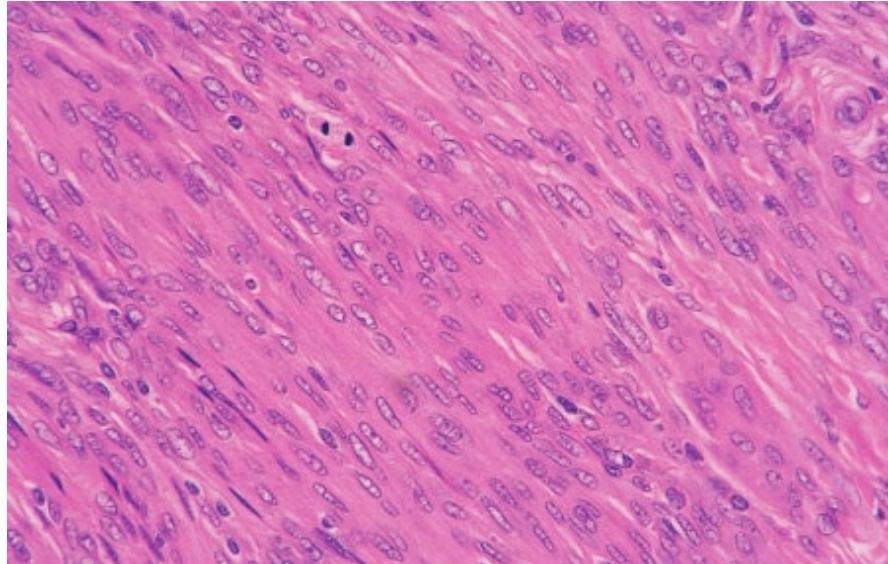
Abb.1: Transitionales Meningeom WHO-Grad I, HE-Färbung



Fibroblastisches Meningeom WHO-Grad I:

Die spindelförmigen Zellen in paralleler Anordnung ähneln Fibroblasten. Die Matrix ist auffallend retikulिन- und kollagenreich, wobei Zellnester und Psammomkörper selten zu finden sind.

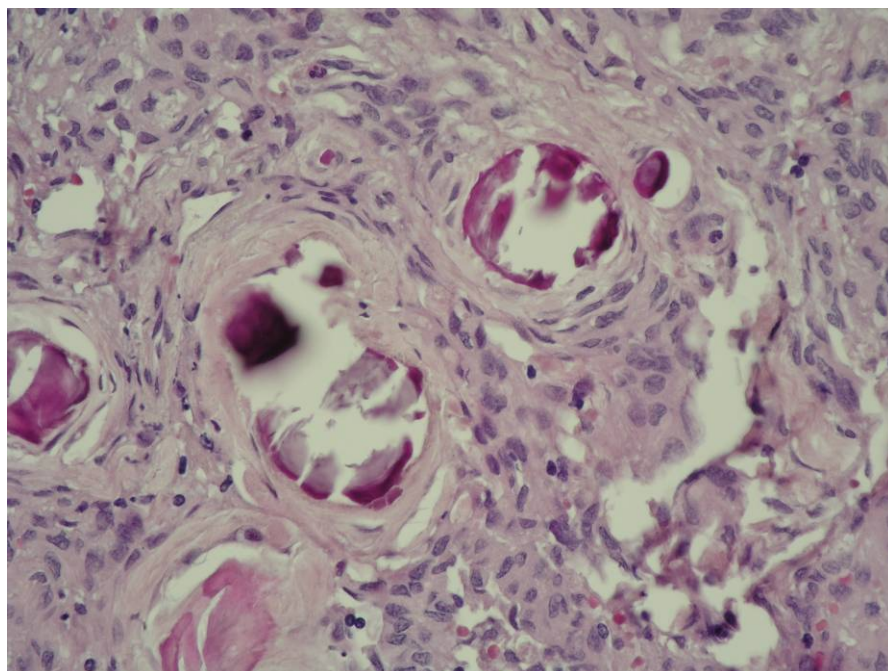
Abb.2: Fibroblastisches Meningeom WHO-Grad I, HE-Färbung



Psammomatöses Meningeom WHO-Grad I:

Zeigen reichlich Psammomkörper, die besonders groß werden und meningothele Tumorzellen kaum noch erkennen lassen. Amyloidablagerungen sind bei dieser Variante häufiger.

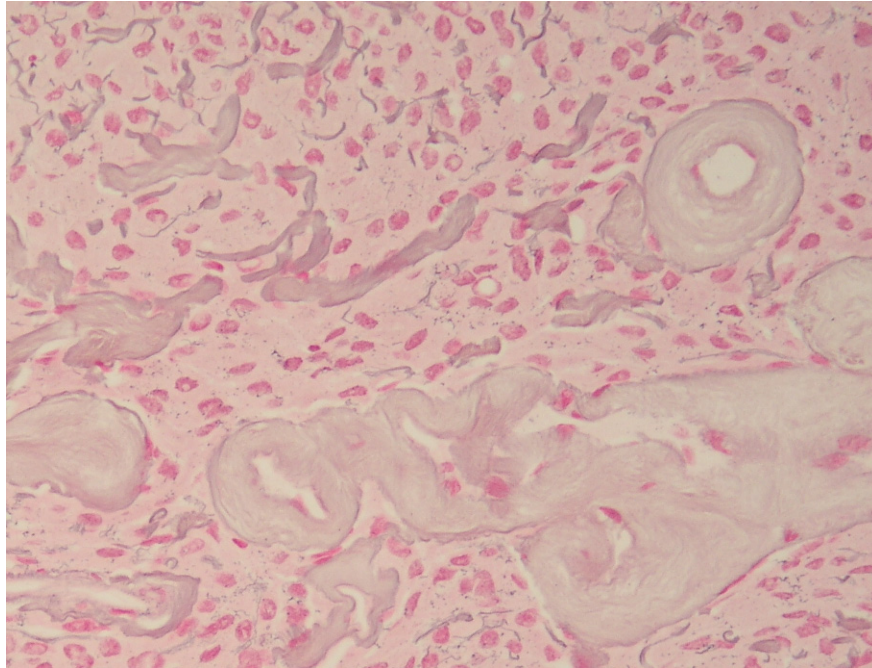
Abb.3: 26870 Psammomatöses Meningeom WHO-Grad I, HE-Färbung



Angiomatöses Meningeom WHO-Grad I:

Zahlreiche Blutgefäße mit meist einschichtigem Endothel können so im Vordergrund stehen, dass der eigentliche Tumor verdeckt wird.

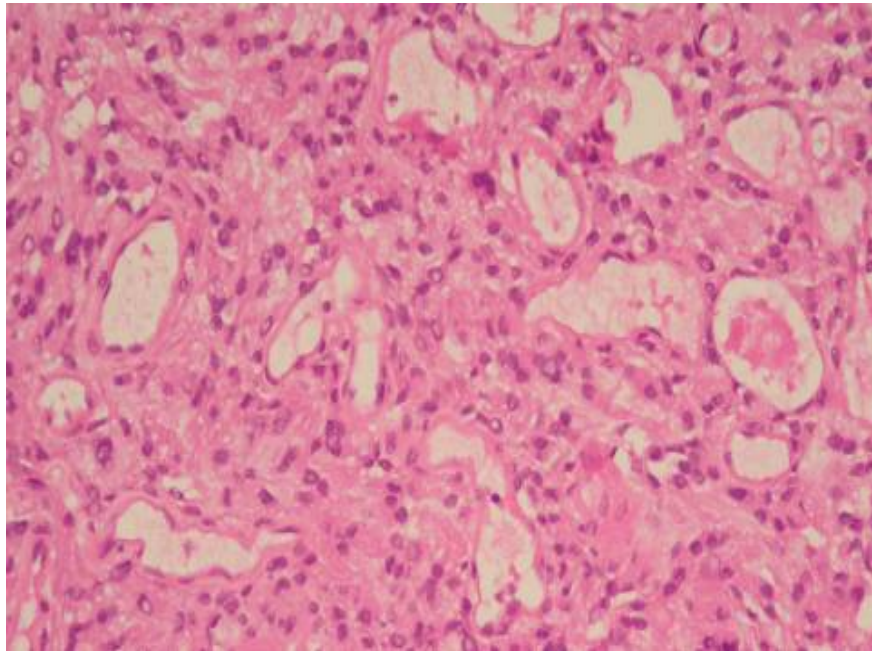
Abb. 4: 22856 Angiomatöses Meningeom WHO-Grad I, Retikulin versilbert



Sekretorisches Meningeom WHO-Grad I:

Glandulär anmutende Strukturen epithelialer Differenzierung mit meist in intrazellulären Lumina gelegenen, PAS-positivem Material (so genannte Pseudopsammomkörper) stehen im Vordergrund. Die Tumore sind Keratin-, PAS- und CEA-positiv und oft mit perifokalem Hirnödem vorkommend.

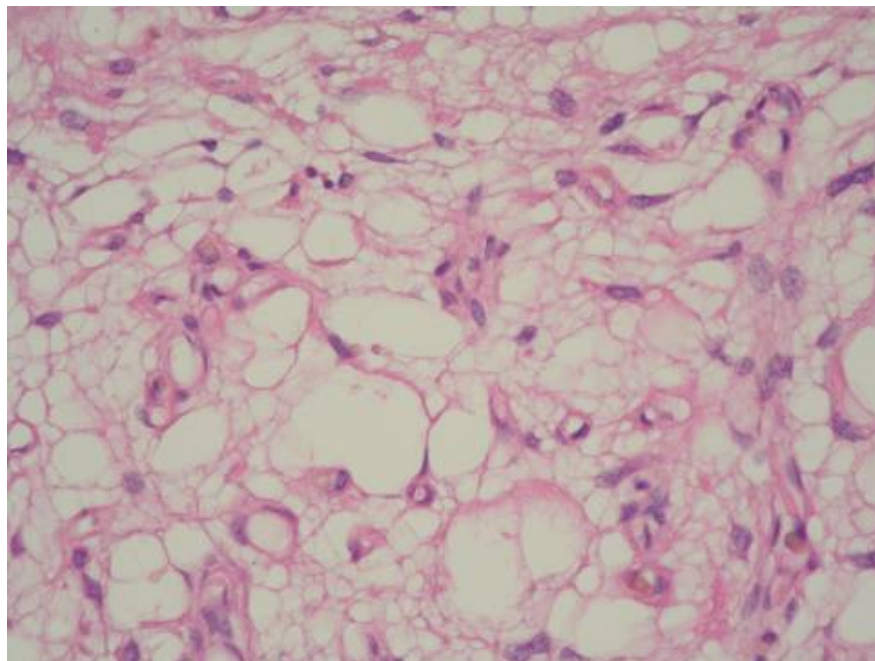
Abb. 5: 22970 Sekretorisches Meningeom WHO-Grad I, HE-Färbung



Mikrozystisches Meningeom WHO-Grad I:

Elongierte Tumorzellfortsätze formen interzelluläre freie Räume, die Muzin enthalten. Diese mikrozystische, aufgelockerte Matrix kann astrozytomähnlich imponieren. Pleomorphien sind zahlreich.

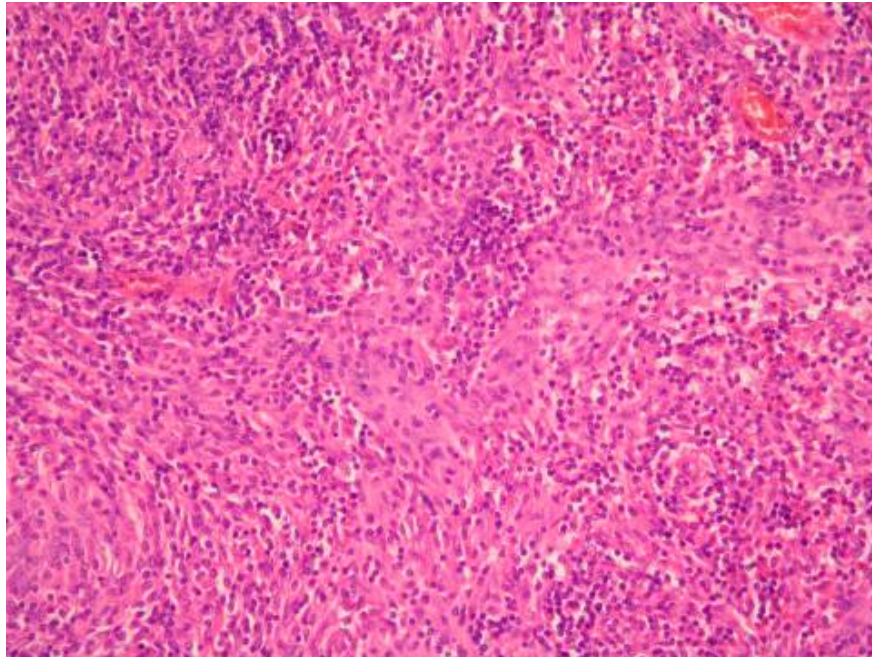
Abb. 6: 26838 Mikrozystisches Meningeom WHO-Grad I, HE-Färbung



Lymphoplasmozytenreiches Meningeom WHO-Grad I:

Chronische Entzündungsinfiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen können so im Vordergrund stehen, dass die zugrunde liegenden klassischen Meningeomzellen schwer erkannt werden. Differentialdiagnostisch sind Lymphome auszuschließen.

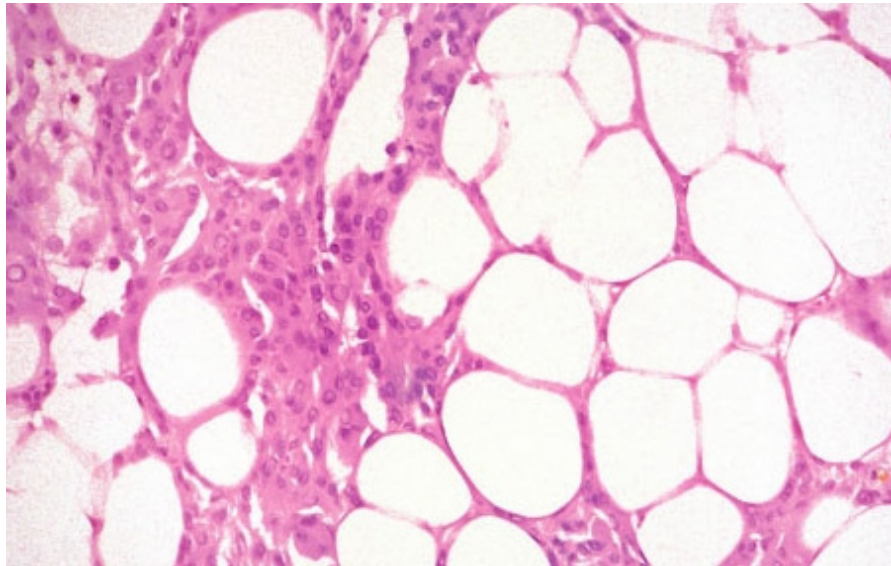
Abb. 7: 20808 Lymphoplasmozytenreiches Meningeom WHO-Grad I, HE-Färbung



Metaplastisches Meningeom WHO-Grad I:

Ossäre, kartilaginäre, lipomatöse, myxoide oder xanthomatöse Komponenten im Sinne einer Metaplasie finden sich in zumeist klassischen Meningeomvarianten. Die klinische Relevanz ist bislang unklar.

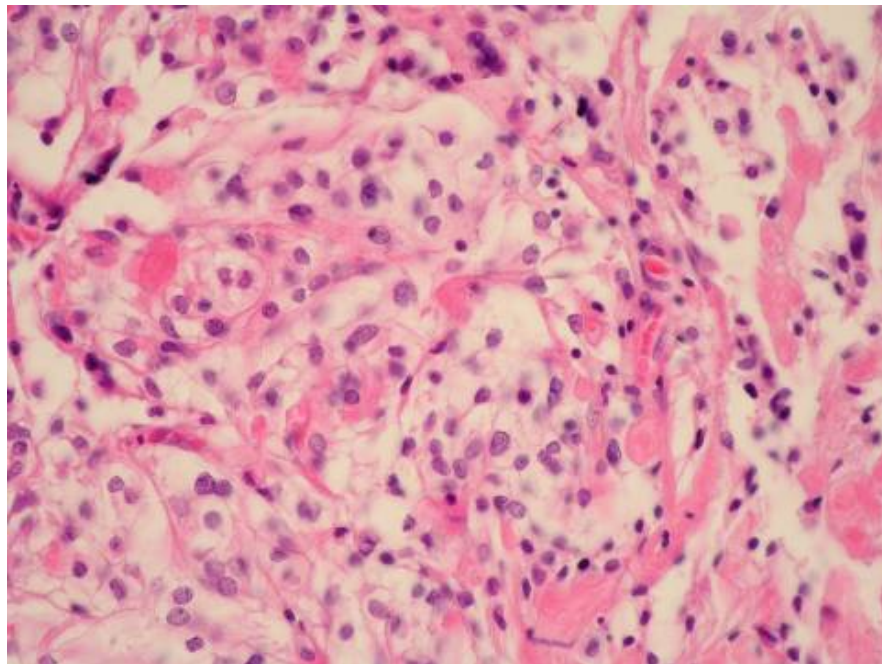
Abb.8: Metaplastisches Meningeom WHO-Grad I, HE-Färbung



Klarzelliges Meningeom WHO-Grad II:

Hier finden sich polygonale Tumorzellen mit klarem, glykogenreichem Zytoplasma (PAS positiv), mit im Verlauf oft ausgedehnten Hyalinisationen. Bevorzugte Lokalisationen sind Cauda equina und Kleinhirnbrückenwinkel. Besonders intrakranielle Tumore wachsen aggressiv.

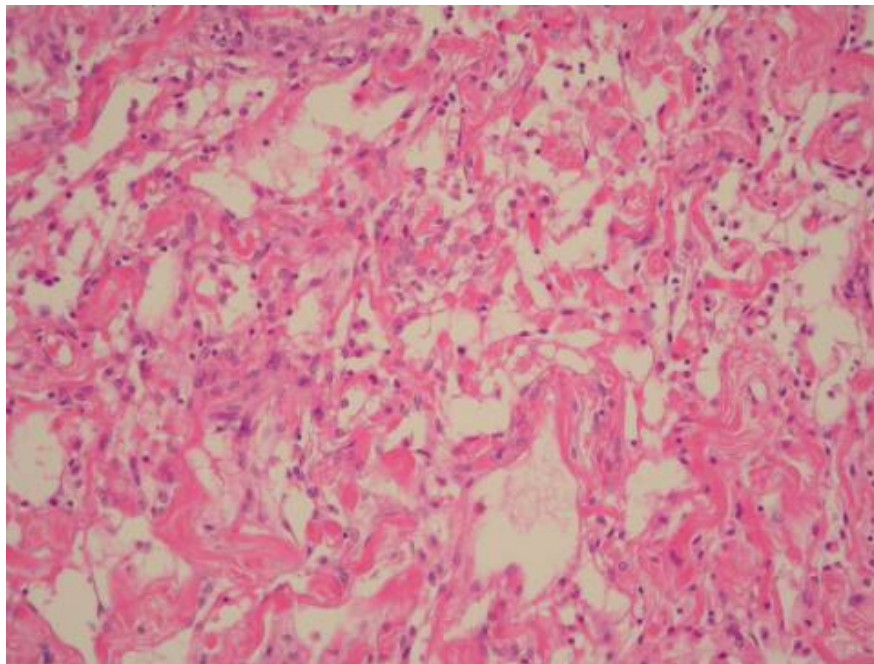
Abb. 9: 23336 Klarzelliges Meningeom WHO-Grad II, HE-Färbung



Chordoides Meningeom WHO-Grad II:

Man sieht Lämpchen oder Trabekel chordoider Zellen in einer myxoiden Matrix, die mit Regionen typischer Meningeomzellen abwechseln. Lymphoplasmozytäre Infiltrate kommen vor. Ein Zusammenhang mit hämatologischen Erkrankungen wird diskutiert (Kepes, Chen et al. 1988). Eine hohe Rezidivquote nach Subtotalresektion wird beobachtet.

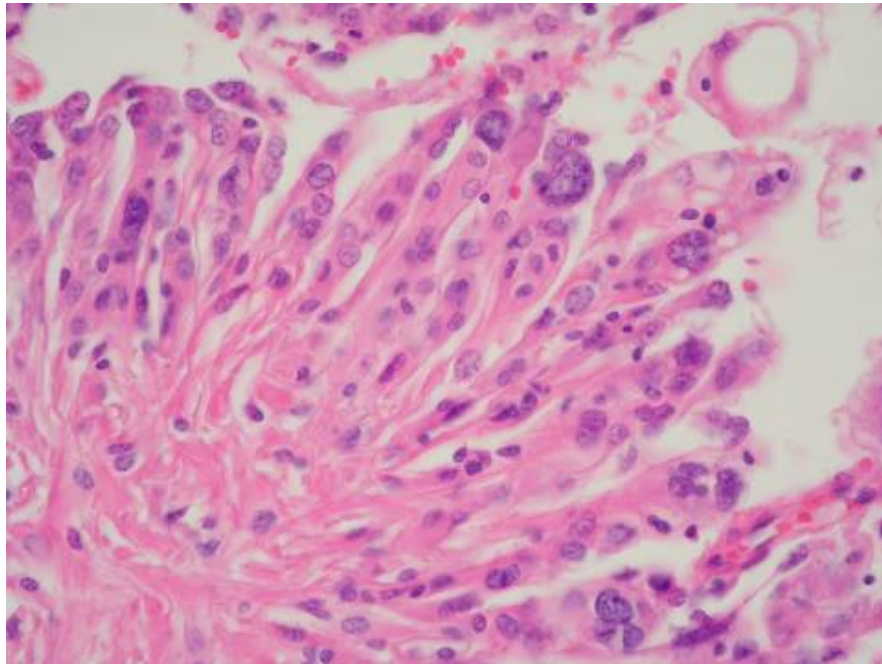
Abb. 10: 27928 Chordoides Meningeom WHO-Grad II, HE-Färbung



Papilläres Meningeom WHO-Grad III:

Perivaskuläre Pseudopapillen sind typisch und Mitosen sind häufig zu sehen. Lokale Infiltrationen treten in 75%, Rezidive in 55% der Fälle auf. Metastasen kommen in 20% der Fälle vor (Pasquier, Gasnier et al. 1986). Häufiger sind Kinder betroffen (Ludwin, Rubinstein et al. 1975).

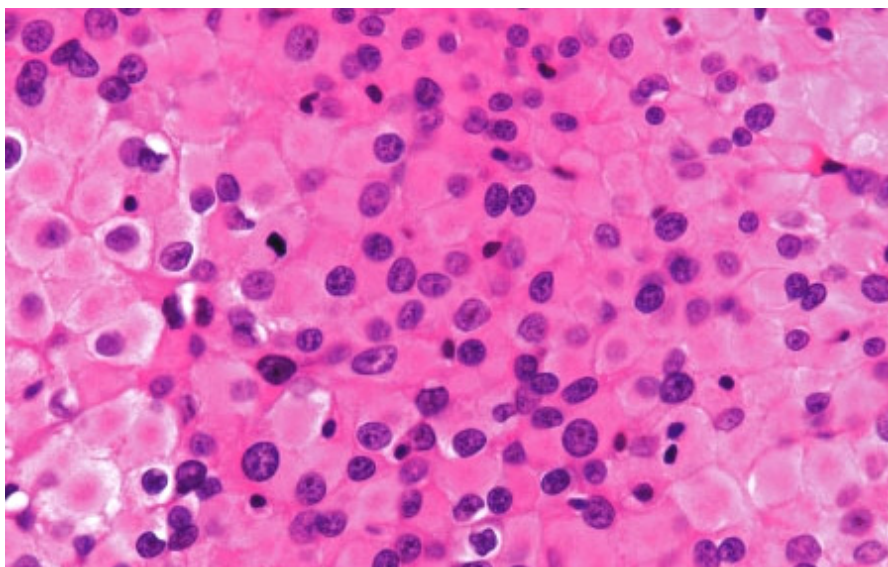
Abb. 11: 27862 Papilläres Meningeom WHO-Grad III, HE-Färbung



Rhabdoides Meningeom WHO-Grad III:

Eine rhabdoide Zellkomponente aus rundlichen Zellen mit prominentem Zellkern und eosinophilen Zytoplasmaeinschlüssen, die Tumoren anderer Organe ähneln können, präsentiert sich oft erst im Rezidiv. Hoher Proliferationsindex, häufige Anaplasien und Nekrosen weisen auf die Malignität des Tumors hin.

Abb.12: Rhabdoides Meningeom WHO-Grad III, HE-Färbung



1.1.11. Immunhistologie

Hilfreich in der Diagnostik von Meningeomen ist der Nachweis des „epithelial membrane antigen“ (EMA), welches an die meisten Meningeome (94%), allerdings auch an viele andere Karzinome bindet (Schnitt and Vogel 1986). Vimentin-positiv sind alle Meningeome. Allerdings sind viele neuroektodermale Tumore Vimentin-positiv, weswegen diese Färbung bei der Differentialdiagnose kritischer Fälle kaum weiterhilft. In Studien zum Protein S-100 wurden unterschiedliche Ergebnisse beschrieben (15 - 60%) und die Methode findet kaum Anwendung (Winek, Scheithauer et al. 1989; Artlich and Schmidt 1990). Besonders bei sekretorischen Meningeomen lassen sich CEA (carcinoembryonic antigen, 4%) und der epitheliale Marker Zytokeratin (50%) finden, letzterer zum Teil auch bei anderen Subtypen.

1.1.12. Zytogenetik und Molekulargenetik

Unter den zytogenetischen Veränderungen ist bereits in den frühen 1970ern die Deletion von Chromosom 22 beschrieben worden (Zang 1982) (Mark, Levan et al. 1972) (Zankl and Zang 1972). Während Chromosomenverluste meist bei rezidivierenden oder atypischen Varianten beobachtet wurden, traten Allelverluste (LOH) auf 22q12 in beinahe der Hälfte sporadischer benigner Meningeome auf (Dumanski, Carlom et al. 1987) (Ruttledge, Xie et al. 1994). Neuere Studien fanden bei bis zu 60% sporadischer Meningeome LOH auf Chromosom 22q (Lee, Sundaram et al. 1997) (Ueki, Wen-Bin et al. 1999). In verschiedenen Studien wurden weitere zytogenetische Auffälligkeiten beobachtet. Darunter waren Deletionen des kurzen Arms von Chromosom 1 (Kolles, Niedermayer et al. 1995) und der Verlust von Chromosom 14 (Schneider, Shashi et al. 1995) die häufigsten. Bei zunehmender Malignität werden weitere Allelverluste (1p, 6q, 9, 10q, 14q und 18q) und Zugewinne beobachtet (1q, 9q, 12q, 15q, 17q und 20q) (Weber, Bostrom et al. 1997; Lamszus, Kluwe et al. 1999; Cai, Banerjee et al. 2001; Cai, James et al. 2001; Buschges, Ichimura et al. 2002) (Maltby, Ironside et al. 1988). Weitere Gene der Tumorgenese werden in diesen Regionen vermutet, sind aber bis dato größtenteils noch nicht beschrieben.

1.2. Das NF2-Gen

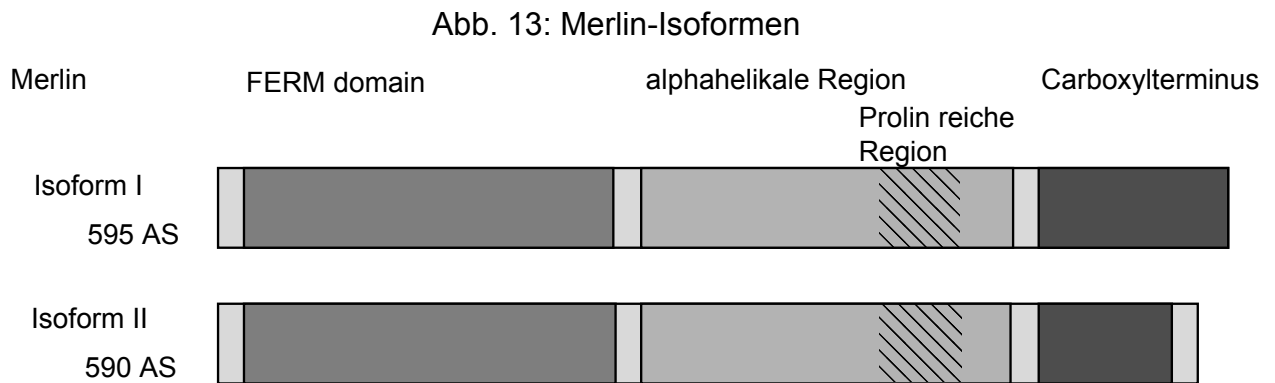
Bei der seltenen autosomal dominant vererbten Tumorerkrankung Neurofibromatose Typ 2 von Recklinghausen mit einer Inzidenz von rund 1/40000 (Evans, Huson et al. 1992) stehen multiple Neoplasien des Nervensystems, wie Schwannome, Meningeome, Gliome und seltener Neurofibrome oder Ependymome im Vordergrund. Bilaterale vestibuläre Schwannome sind diagnoseweisend. Bei der Mehrzahl der Patienten entwickeln sich multiple Meningeome.

Nachdem zytogenetische Veränderungen immer wieder auf dem langen Arm des Chromosoms 22 gefunden wurden, vermutete man in dieser Region ein Gen, welches in der mutierten Form Neurofibromatose Typ 2 verursacht und welches sich wie ein klassisches Tumorsuppressorgen verhält. Die erstmals von Knudson an Retinoblastomen aufgestellte „two hit“ Hypothese geht davon aus, dass es unkontrolliertes Zellwachstum verhindernde Gene gibt (Knudson 1971). Genetische Veränderungen dieser Gene, die vererbt oder erworben werden, können diese Gene inaktivieren und führen so zur Tumorgenese. Wird man bereits mit einer defekten Kopie dieses Tumorsuppressorgens geboren, verbleibt nur eine intakte Kopie, deren Inaktivierung bereits früh im Leben zu multiplen Tumoren führt. In den letzten Jahren wurden so zahlreiche Tumorsuppressorgene charakterisiert.

Um die Gen-Region einzugrenzen, wurden bei Familien mit NF2 zunächst „family DNA linkage“ (Wertelecki, Rouleau et al. 1988)-Untersuchungen und Deletion Mapping (Trofatter, MacCollin et al. 1993) durchgeführt, was die Region um 22q11.2 auf mehrere Millionen Nukleotide eingrenzte. Weiterführende Untersuchungen mittels Pulsed-field Elektrophorese, cosmid walking und exon trapping wurden durchgeführt, welche das genetische Intervall auf einige hunderttausend Basenpaare verkleinern konnten, bis es schließlich gelang, spezifische cDNA-Klone der Region zu identifizieren. Bei Patienten mit NF2 wurden diese Klone untersucht und nicht überlappende Deletionen bestätigten, dass dieses Kandidatengen das *NF2* Gen sei (MacCollin 1995).

1993 gelang es dann erstmals zwei unabhängigen Studiengruppen, das *NF2* Gen zu klonen (Trofatter, MacCollin et al. 1993) (Rouleau, Merel et al. 1993). Das identifizierte Gen besteht aus 17 Exonen mit 1785 Nukleotiden mit einem Open Reading frame von 595 Aminosäuren. Das *NF2* Gen besitzt mindestens zwei alternativ splicende Exone (Exon 1a und Exon 16), woraus sich Protein-Isoformen ergeben. Dabei dominieren

Isoform I und II im Gewebe. Isoform I wird von Exon 1 bis 15 und Exon 17 codiert, bestehend aus 595 Aminosäuren. Bei Isoform II wird durch das eingefügte Exon 16 ein Stop-Codon generiert, was zu einem Protein mit 590 Aminosäuren führt (Bianchi, Hara et al. 1994).



Die Namensgebung spiegelt die Ähnlichkeit des Proteins zur 4.1-Familie der Zytoskelett-assoziierten Proteine wieder. Hierzu gehören Protein 4.1, Talin, Moesin, Ezrin, Radixin und Protein Tyrosinphosphatase 1. Das Produkt des *NF2* Gens wurde Merlin genannt, aufgrund der Homologie zu **Moesin** (48% Sequenzhomologie im ganzen Protein, 62% in der N-terminalen Region), **Ezrin** (48% Sequenzhomologie im ganzen Protein, 62% in der N-terminalen Region) und **Radixin** (47% Sequenzhomologie im ganzen Protein, 62% in der N-terminalen Region), so genannte EMR-Proteine. Auch der Name Schwannomin wurde vorgeschlagen (Rouleau, Merel et al. 1993). Dieser setzte sich aber nicht durch, da er Verbindungen zum Schwannomen vermuten ließ.

EMR-Proteine der 4.1-Familie verbinden die Zellmembran mit dem Aktin-Zytoskelett. Sie bestehen aus einer konservierten FERM Domain am Aminoterminus (Aminosäure 1 bis 313), einer alpha-helicalen Domäne mit einer prolinreichen Region (Aminosäure 314 bis 478) und einer Aktin-bindenden Domäne am geladenen Carboxyterminus (Aminosäure 479 bis 595) (Algrain, Turunen et al. 1993). Der Aminoterminus interagiert mit Rezeptoren der Zellmembran (CD44, CD43, ICAM-1 und ICAM-2). Der Carboxyterminus von Merlin weist jedoch keinerlei Gemeinsamkeiten mit den ERM-Proteinen auf und besitzt keinen Aktinbindungs-Rezeptor. Merlin soll mit β II-Spectrin (auch Fodrin) interagieren und über dieses mit der Zellmembran binden (Scoles, Huynh et al. 1998). Merlin ist in vielen Geweben nachweisbar. Es finden sich hohe Expressionen im Nervengewebe, besonders in Neuronen und in glatten Muskelfasern,

aber nicht in Gliazellen (Lutchman and Rouleau 1996). Auch in Schwann-Zellen, Melanozyten, Erythrozyten und Endothelzellen wurde das Protein detektiert (den Bakker, Vissers et al. 1999). Aufgrund immunhistochemischer Untersuchungen wurde vermutet, dass Merlin in oder nahe der Zellmembran lokalisiert ist. Merlin soll mit F-Aktin-Filamenten in diesen Regionen co-lokalisiert sein, eine head-to-tail Verbindung mit Ezrin wurde beschrieben (Meng, Lowrie et al. 2000). Bei der embryonalen Entwicklung scheint Merlin eine wichtige Rolle zu spielen. Die genaue Funktion des Merlins ist letztlich noch nicht endgültig geklärt. Neben der Eigenschaft als Tumorsuppressor (Kalamarides, Niwa-Kawakita et al. 2002) wird der Einfluss auf Zellwachstum und Beweglichkeit von diversen Studien bekräftigt (Shaw, Paez et al. 2001) (Lallemand, Curto et al. 2003).

Abb. 14: Merlin FERM domain



Auch Untersuchungen an sporadisch auftretenden Meningeomen und Schwannomen zeigten Mutationen im *NF2* Gen. Bei 35-50% der Schwannome und bei 30-60% der sporadischen Meningeome wurden Mutationen des *NF2* Gens beobachtet (Ruttledge, Sarrazin et al. 1994) (Lekanne Deprez, Bianchi et al. 1994) (Merel, Hoang-Xuan et al. 1995). Weiterführende Studien untersuchten einzelne Meningeomsubtypen auf ihr

Mutationsverhalten. Dabei wurde erstmals eine signifikant höhere *NF2* Gen Mutationsrate in fibroblastischen (70%), transitionalen (83%), atypischen (60%) und anaplastischen (75%) Meningeomen im Vergleich zu meningotheiomatösen Formen (25%) festgestellt (Wellenreuther, Kraus et al. 1995). Die Mehrzahl dieser somatischen Mutationen verursachen Nonsense Mutationen, Frameshifts, Splicing Variationen und Deletionen. Das resultierende Protein ist verkürzt und grob verändert, so dass Funktionsverluste zu vermuten sind. In Analogie zu den *NF2* Genmutationen wurde eine reduzierte Proteinexpression bei rund 60% der Meningeome festgestellt (Wellenreuther, Waha et al. 1997) (Lee, Sundaram et al. 1997).

2. Fragestellung

Histopathologisch definierte Meningeomvarianten zeigen erhebliche Unterschiede in der Mutationsfrequenz des *NF2*-Gens. Dies lässt verschiedene Mechanismen der Tumorgenese auf molekularer Ebene vermuten. So wäre neben der histologischen auch eine molekulargenetische Klassifikation von Meningeomen sinnvoll. Bislang wurden keine molekulargenetischen Daten zu seltenen Meningeomsubtypen erhoben. Um auf lange Sicht solchen Patienten neue Therapieoptionen bieten zu können, bei denen die Meningeome mit chirurgischen, radiologischen und medikamentösen Therapien bislang nicht in den Griff zu bekommen sind (10% nach (Kondziolka, Levy et al. 1999) (Nutting, Brada et al. 1999)), ist es wichtig, die molekulargenetischen Vorgänge in Meningeomen zu untersuchen. So können Mechanismen der Tumorgenese besser verstanden und neue Therapieansätze entwickelt werden.

Folgende Fragen standen in dieser Arbeit im Vordergrund:

1. Wieviel Prozent der seltenen Meningeomvarianten weisen Mutationen des *NF2*-Gens auf?
2. Erreicht die Häufigkeit der Mutationen in einzelnen Meningeomvarianten überzufällig hohe bzw. niedrige Werte, die Hinweise auf die Tumorgenese geben können?