

5 Zusammenfassung

Hintergrund und Zielsetzung: Angiogenese bezeichnet die Neubildung von Blutgefäßen durch Ausknospen und Sprossen von Kapillaren aus bereits bestehenden Gefäßen. Sie ist eine wichtige Voraussetzung für Tumorwachstum und Metastasierung. Die Tumorhämangiogenese beruht im Wesentlichen auf der Aktivierung von VEGFR-1 durch den Gefäßwachstumsfaktor VEGF-A. Für die Tumorlymphangiogenese ist hingegen vor allem die Aktivierung von VEGFR-2 und VEGFR-3 durch VEGF-C und VEGF-D von großer Bedeutung. Das Adenokarzinom des distalen Ösophagus (Barrett-Karzinom) entsteht meist im Rahmen einer Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz auf dem Boden einer spezialisierten, glandulären, intestinalen Metaplasie, dem sogenannten Barrett-Ösophagus. Im Mittelpunkt dieser Arbeit stehen Untersuchungen zum Vorkommen, der Häufigkeit und der differentiellen Expression der Gefäßwachstumsfaktoren VEGF-A, -C und -D zusammen mit ihren Rezeptoren VEGFR-1, -2 und -3 in den Stadien der Barrett-Karzinogenese und in normalem Ösophagusgewebe. **Methoden:** VEGF-A, -C und -D sowie VEGFR-1, -2 und -3 wurden in 88 Barrett-Adenokarzinomen, 23 Barrett-Dysplasie-Fällen, 43 Barrett-Metaplasie-Fällen und 38 Normalgeweben des Ösophagus mit Hilfe von immunhistochemischen Methoden untersucht. Blut- und Lymphgefäßdichten wurden nach immunhistochemischer Färbung mit CD31- und LYVE-1-spezifischen Antikörpern ermittelt. **Ergebnisse:** In der Barrett-Mukosa ist die Anzahl der Fälle mit VEGFR-3-positiven Gefäßen und Epithelzellen gegenüber Ösophagus-Normalgewebe signifikant erhöht. In der Barrett-Dysplasie nimmt die Zahl der VEGFR-3-positiven Gefäße und Epithelzellen im Vergleich zum Normalgewebe bzw. zur Barrett-Mukosa hochsignifikant zu. Desweiteren zeigt sich in der Barrett-Dysplasie eine signifikante Zunahme der Zahl CD31-positiver Gefäße. In diesem Stadium treten signifikante Korrelationen von CD31 mit VEGFR-3, von CD31 mit VEGF-A sowie von VEGFR-3 mit VEGF-A auf. Darüber hinaus ist in der Barrett-Dysplasie die Anzahl der Fälle mit VEGF-C-positiven Epithelzellen im Vergleich zum Normalgewebe und der prozentuale Anteil der VEGF-A-positiven Epithelzellen im Vergleich zum Normalgewebe bzw. zur Barrett-Mukosa signifikant erhöht. Im Barrett-Karzinom zeigt sich ein signifikanter Anstieg der Zahl der LYVE-1-positiven Gefäße und eine Korrelation von LYVE-1 mit VEGFR-3. **Schlussfolgerungen:** Viele der untersuchten Gefäßwachstumsfaktoren und Rezeptoren zeigen erst relativ spät, nämlich in der Barrett-Dysplasie bzw. im Barrett-Karzinom einen signifikanten Anstieg der Fälle mit immunopositiven Epithelzellen

oder Gefäßen. Die bislang existente Hypothese der Induktion von Angiogeneseprozessen im Stadium der Barrett-Mukosa, vermittelt durch VEGFR-2, kann auf Grundlage der vorliegenden Daten nicht bestätigt werden. Statt dessen ergeben sich Hinweise auf eine erhöhte Blutgefäßvaskularisation im Stadium der Barrett-Dysplasie, erkennbar an der signifikanten Zunahme der CD31-positiven Gefäße und der VEGF-A-positiven Epithelzellen sowie der Korrelation von CD31-Immunopositivität in Gefäßendothelien und VEGF-A-Immunopositivität in Epithelzellen. Da auch die Zahl VEGFR-3-positiver Gefäße in diesem Stadium signifikant erhöht ist und sich eine Korrelation zwischen VEGFR-3- und CD31-Immunopositivität in Gefäßendothelien zeigt, ist zu vermuten, dass die Blutgefäße in der Barrett-Dysplasie VEGFR-3 exprimieren. Die erhöhte Expression von VEGFR-3 nicht nur in Endothelzellen, sondern auch in Epithelzellen legt einen Einfluss dieses Rezeptors auf beide Zellkompartimente nahe. Möglicherweise steht die epitheliale Synthese und Expression von VEGFR-3 im Dienst einer auto- und parakrinen Stimulation bzw. Regulation der Gefäßneubildung. Die signifikante Zunahme der LYVE-1-positiven Gefäße im Barrett-Karzinom und die Korrelation von LYVE-1- und VEGFR-3-Immunopositivität in Gefäßendothelien sprechen für eine Zunahme von Lymphgefäßnetzen im Tumor, welche für die Tumorausbreitung wichtig sein könnte.

Abstract

Background and Aims: Angiogenesis is the formation of new blood vessels from pre-existing vasculature through budding and branching of capillary vessels. It is a prerequisite for tumor growth and metastasis. Tumor-related hemangiogenesis is crucially influenced by VEGFR-1-mediated signalling via VEGF-A. In contrast, tumor-related lymphangiogenic processes depend on the activation of VEGFR-2 and VEGFR-3 by VEGF-C and VEGF-D. The adenocarcinoma of the distal esophagus (Barrett's carcinoma) develops from a specialized, glandular, intestinal metaplasia, the Barrett esophagus, and usually follows a metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence. This paper focuses on the investigation of presence, frequency and differential expression pattern of Vascular Endothelial Growth Factors A, C and D along with their receptors VEGFR-1, -2 and -3 in Barrett's metaplasia-dysplasia-carcinoma-sequence and in normal esophageal tissue. **Methods:** VEGF-A, -C and -D as well as VEGFR-1, -2 and -3 were analyzed in 88 Barrett adenocarcinomas, 23 cases of Barrett's dysplasia, 43 cases of Barrett's metaplasia and 38 non-cancerous esophageal tissues employing immunohistochemistry. Blood and lymph vessel densities were assessed after immunohistochemical staining

with CD31- and LYVE-1-specific antibodies. **Results:** In Barrett's metaplasia, the percentage of cases with VEGFR-3-immunopositive vessels and epithelial cells increases significantly in comparison to non-cancerous esophageal tissue. In Barrett's dysplasia, the mean vessel count of VEGFR-3-positive vessels and the mean percentage of VEGFR-3-positive epithelial cells increases significantly in comparison to normal esophageal tissue or Barrett's metaplasia. Furthermore, the number of CD31-positive vessels increases significantly in Barrett's dysplasia in comparison to normal esophageal tissue. In this stage of carcinogenesis, vascular expression of CD31 is correlated with vascular expression of VEGFR-3 and epithelial expression of VEGF-A, as well as vascular expression of VEGFR-3 is correlated with epithelial expression of VEGF-A. Furthermore, the mean percentage of cases with epithelial VEGF-C-immunopositivity increases significantly in Barrett's dysplasia in comparison to normal esophageal tissue and the mean percentage of VEGF-A-positive epithelial cells increases in Barrett's dysplasia in comparison to normal esophageal tissue and Barrett's metaplasia. In Barrett's carcinoma, a significant increase in the number of LYVE-1-positive vessels and correlation of vascular expression of LYVE-1 and VEGFR-3 can be proved. **Conclusions:** For most of the investigated vascular growth factors and receptors, significant increases in the percentage of immunopositive cases occur late (in Barrett's dysplasia or carcinoma). The established hypothesis of an induction of angiogenic processes in Barrett's metaplasia, through VEGFR-2, can not be confirmed. Instead, there are clues for an increased blood vascularization in Barrett's dysplasia recognizable by significant increases in the number of CD31-positive vessels, the percentage of VEGF-A-positive epithelial cells and correlation of vascular CD31- and epithelial VEGF-A-immunopositivity. As the number of VEGFR-3-positive vessels also increases in this stage and a significant correlation of vascular VEGFR-3- and CD31-immunopositivity can be proved, endothelial cells of blood vessels in Barrett's dysplasia seem to express VEGFR-3. The increased expression of VEGFR-3 not only in endothelial cells but also in epithelial cells suggests the relevance of this receptor for both cellular compartments. Most likely, epithelial synthesis and expression of VEGFR-3 serves as an auto- and paracrine stimulation of angiogenesis. In Barrett's carcinoma, we find an increased number of LYVE-1-positive vessels and a significant correlation of vascular LYVE-1- and VEGFR-3-immunopositivity. Thus, we are able to demonstrate an increased lymphatic vascularization that might be important for tumor dissemination.

Schlagwörter:

Barrett-Karzinom, Barrett-Dysplasie, Barrett-Ösophagus, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, Angiogenese, Lymphangiogenese

Keywords:

Barrett's carcinoma, Barrett's dysplasia, Barrett esophagus, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, angiogenesis, lymphangiogenesis