

5. Diskussion

Obwohl in dieser Arbeit große Datenmengen erhoben wurden, traten signifikante Effekte mit prognostischer Relevanz nur selten deutlich hervor. Die Untersuchung zeigt ganz generell, dass das Immunzellprofil in bestimmten Tumorentitäten nur wenig variiert. Die Klärung einer gegenseitigen Einflußnahme der Immunzellpopulationen steht trotz der Fülle bisher gewonnener Erkenntnisse noch am Anfang.

5.1 Häufigkeit von equinen Neoplasien

5.1.1 Neoplasien beim Pferd

In der bislang umfangreichsten epidemiologischen Untersuchung zur Inzidenz von Neoplasien bei Haustieren in den USA (Priester and Mantel 1971; Priester 1973; Priester and McKay 1980) waren von 155.259 erfassten Pferden 2.209 Tumorträger. Dies entspricht einer relativen Inzidenz von 1,42%. 116 Pferde wiesen maligne Hauttumoren auf, vor allem Melanome (n=23), Plattenepithelkarzinome (n=11) und Fibrosarkome (7). 703 Tiere hatten benigne Hauttumore, vor allem Papillome (n=243), Fibrome (n=83) und Neurinome (n=24). Leider wurden Sarkoide in der Untersuchung nicht mit einbezogen, da nur Entitäten, die in allen Haustierspezies auftraten, erfasst waren.

Im (selektiven) Obduktionsgut des Instituts für Veterinär-Pathologie lag die Inzidenz für die Jahre 1995 bis 2000 mit 2,78% höher als bei Priester und Mantel (1971). Das könnte daran liegen, daß in der vorliegenden Untersuchung Sarkoide mit einbezogen wurden.

5.1.2 Relative Häufigkeit einzelner Entitäten

Die durchschnittliche Inzidenz der equinen Sarkoide in Hautbiopsien lag in dieser Arbeit bei 22,29%. Diese Zahlen entsprechen den in der Literatur beschriebenen Inzidenzen, obwohl einzelne Autoren wie z.B. Strafuss et. al. (1973) sowie Sullins et. al. (1986) sogar von Inzidenzen bis zu 67% ausgehen.

Diskussion

Beim equinen Melanom lag die durchschnittliche Inzidenz im Institut für Veterinär-Pathologie in den Jahren 1995 bis 2000 bei durchschnittlich 3,36%. Head (1953) beschreibt eine Inzidenz von 6%, und Cotchin (1960) von einer Inzidenz von bis zu 15%.

Zu den übrigen equinen Hauttumoren finden sich in der Literatur nur wenige belegbaren Zahlen (Sundberg et al. 1977).

Damit ergeben sich für das Einzugsgebiet des Instituts für Veterinär-Pathologie relative Häufigkeiten von 1,87% Papillome, 2,37% Fibrosarkome und 3,11% Plattenepithelkarzinome, die wegen fehlender Daten nicht mit der Literatur korrelierbar waren.

Die in der Literatur erwähnten equinen Hauttumoren wie z.B. kutane Lymphosarkome, Hämangiome und Hämangiosarkome, Mastzelltumore sowie Basalzelltumore wurden im Untersuchungszeitraum am Institut für Veterinär-Pathologie nicht eingesandt.

Insgesamt sind veterinärmedizinische epidemiologische Untersuchungen zu Neoplasien wegen fehlender allgemeiner Zensusdaten mit sehr großen Fehlern behaftet und ermöglichen somit im engeren Sinne keine allgemeingültigen Aussagen über das Vorkommen von Neoplasien beim Pferd. Zusätzlich beeinflussen allgemeine sozioökonomische Bedingungen und Grundeinstellungen zum Tier die Zusammensetzung des Sektionsmaterials und damit die Tumorst Statistik in unbekanntem Ausmaß (Stünzi and Lott-Scholz 1965; Stünzi 1970; Stünzi 1972; von Sandersleben et al. 1973; Saracci 1993; Merlo et al. 1995). Problematisch bei dieser wie bei allen retrospektiven Untersuchungen über größere Zeiträume ist, daß in der Vergangenheit unvollständige Dokumentation und unterschiedliche Auffassungen und Bewertungen der Neoplasien (Veress et al. 1993) vorlagen, die Fehler implizierten, die auch nach Durchsicht, Überarbeitung und Reklassifizierung der Fälle nicht vollständig vermieden werden konnten. Dadurch können die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung nur Hinweise auf Tendenzen geben, die allerdings in vielen Details in Übereinstimmung mit den Ergebnissen in der Literatur stehen. Die notwendige Abklärung von darüber hinausgehenden Risikofaktoren, wie zum Beispiel Umweltfaktoren, erfordern intensive anamnestische Erhebungen, die noch

mehr von Referenzdaten abhängen, als die hier untersuchten Faktoren (Misdorp 1996; Misdorp 2003). Um die Aussagekraft derartiger Untersuchungen zu erhöhen, werden weitere vergleichbare statistische Evaluierungen benötigt, wobei ein umfassenderes Bild durch Verknüpfung von Klinik-, Sektions- und Biopsiestatistiken entstehen könnte. In Konsequenz bleibt nur, dringend die Einführung eines zentralen Tumorregisters für spontane Neoplasien bei Haustieren zu fordern, wie es für Versuchstiere bereits besteht (Mohr et al. 1980), und sich mit anderen europäischen Ländern abzusprechen, wo solche Rahmenbedingungen teilweise bereits erfüllt sind (Arnesen et al. 1995; Brouwer et al. 1995; Merlo et al. 1995). Nur so kann die sich erst entwickelnde veterinärmedizinische Onkologie in Europa auf eine breite und sichere Basis gestellt werden.

5.2 Phänotypisierung equiner Hauttumore

Um in-situ in equinen Hauttumoren vorkommende Immunzellen ausreichend charakterisieren zu können, waren immunhistochemische und molekularbiologische Methoden zu modifizieren bzw. zu etablieren. In erster Linie sollten damit T-Zellen und antigen-präsentierende Zellen differenziert werden, da die Anwesenheit von Immunzellen in Tumoren grundsätzlich auf eine günstigere Prognose schließen läßt (Fernandez-Bussy et al. 1983; Ardeleanu et al. 1998; Deng et al. 1998). Prinzipiell kann über eine Immunzellphänotypisierung Aussagen zur Immunkompetenz eines Tumorträgers einerseits und über Immunogenität eines spezifischen Tumors andererseits getroffen werden.

5.3 Immunhistochemischer Nachweis von Immunzellpopulationen in equinen Tumoren

In der H&E Routinefärbung waren lediglich die Menge und die Lokalisation von Immunzellpopulationen in equinen Hauttumoren darstellbar. Zur weiteren Charakterisierung wurden spezifischere Methoden etabliert bzw. variiert.

5.3.1 Methodik der Immunhistochemie

Die APAAP-Methode ist bereits in der Vergangenheit u.a. erfolgreich zur immunhistochemischen Darstellung des caninen CD3-Oberflächenantigens zur Identifizierung von caninen T-Lymphozyten angewendet worden.

Zur Sensibilisierung der Technik wurde die sogenannte BSA-Methode an das Pferd adaptiert, wobei dabei die hohen Verdünnungen von 1:500 in der BSA-Methode (Stark et al. 2000; Stark and Walter 2002) erstaunte, sodaß diese Methode in der vorliegenden Arbeit zur CD3-Antigen-Markierung bevorzugt wurde.

Die immunhistochemische Färbung mit dem Antikörper gegen CD79a konnte so optimiert werden, daß bei einer Mikrowellenvorbehandlung der Schnitte und einer Verdünnung von 1:25 immunreaktive B-Lymphozyten nachweisbar waren (Stark et al. 2000; Stark and Walter 2002).

Die gegen humanes CD68-Oberflächenantigen gerichteten Antikörper wurden lediglich in den Vorversuchen am Lymphknoten getestet und kamen aufgrund der unbefriedigenden Färberesultate für die Hauptuntersuchungen nicht zum Einsatz. Nur der anti-CD68 Antikörper Klon Ki-M6 der Firma Dako zeigte, wie bereits woanders beschrieben (Siedek et al. 2000), ein positives Reaktionsmuster, allerdings nur am equinen Lymphknoten am Gefrierschnitt. Gefriermaterial konnte naturgemäß nicht verwendet werden, da das in die Pathologie eingesandte Material formalinfixiert war.

Erschwerend ist bei allen Tumoren, daß die Formalinkonzentrationen, die die Einsender benutzten, unbekannt war, sodaß eine Demaskierung der Antigenepitope durch eine entsprechende Vorbehandlung notwendig wurden.

Der CD1a-Antikörper zeigte zwar an humanen Tonsillen suffiziente Ergebnisse, die an equinen Geweben jedoch nicht reproduzierbar waren.

Prinzipiell gilt für die Immunhistochemie, daß eine „zu lange“ Fixierung, eine zu hohe Formalinkonzentration oder ein falsches Fixans zu Qualitätsverschlechterung durch Maskierung der Oberflächen führt. Deshalb wurde durch eine enzymatische Verdauung (Protease) oder mittels einer Hitzebehandlung (z.B. Mikrowelle oder

Autoklav) versucht, ein Antigenretrieving durchzuführen, wobei jedoch die Qualität in Mitleidenschaft gezogen wurde.

5.3.2 Molekularpathologische Methodik

Da es sich bei der eingesetzten in-situ Hybridisierung um eine RNA-Hybridisierung handelt, wurde eine Hybridisierung mittels radioaktivem Schwefel (^{35}S) bevorzugt, da im Gegensatz zur Hybridisierung mit Digoxigenin-markierten Sonden, ^{35}S -markierte Sonden um ein vielfaches sensitiver sind. Somit sind sehr viel geringere RNA-Mengen im Gewebe nachweisbar.

Ein möglicher Einsatz von Oligonukleotiden wäre ebenfalls denkbar gewesen, allerdings hätten hierfür jedoch starke Enhancersysteme zum Einsatz kommen müssen, um eine anschließende Visualisierung zu gewährleisten. Diese Systeme hätten zusätzlich Fehlerquoten bedeutet.

Um eine Degradierung der RNA zu unterbinden, wäre eine Gewebefixierung in gepuffertem Formalin eigentlich unumgänglich gewesen.

Findet beispielsweise keine oder eine ungenügende Acetylierung der Schnitte statt, kann es zur massenhaften „Fehlbindung“ der Sonden kommen und damit zum falsch positiven Ergebnis oder zu nicht auswertbaren „Überfärbungen“. Ein ähnliches Problem stellt die abschließende Entwicklung der Photoemulsion dar, wobei es hier auf die passende Entwicklungszeit ankommt.

5.4 Makrophagen-Nachweis

In dieser Arbeit wurde versucht equine APCs, speziell Makrophagen über den Nachweis verschiedener humaner spezifischer Epitope, wie das CD68, zu definieren.

Antikörper gegen humanes CD68 oder seine biologischen Äquivalente werden routinemäßig zum Nachweis von humanen Makrophagen verwendet (Martinez-Pomares et al. 1996; Ramprasad et al. 1996; Baldus et al. 1998; McKnight and Gordon 1998; Zheng et al. 1998). Lediglich Siedek et al. (2000) berichten über CD68 positive Zellenachweise in equinen Geweben.

In dieser Arbeit wurde der Antikörper gegen CD68 zwar erfolgreich an Gefriermaterial immunhistochemisch eingesetzt. Die von Siedek et al. (2000) behauptete Paraffingängigkeit konnte in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht nachvollzogen werden.

5.4.1 MAC387

Der in der Humanmedizin routinemäßig zum Einsatz kommende Makrophagen- und Monozyten-Marker MAC387 zeigte auch im equinen Gewebe eine positive Reaktion. Da dieser Antikörper jedoch gegen Makrophagen UND Monozyten gerichtet ist und sich hierdurch eine relative Unspezifität ergab, mußte das equine CD68 sequenziert und anschließend mittels in-situ Hybridisierung dargestellt werden.

5.4.2 CD68

Das molekularbiologische Ergebnis zeigte das zu erwartende Bild der Makrophagenpopulationen: Während Makrophagen deutliche immunhistochemische Reaktionen gegen CD68 ausweisen, zeigen unreife Langerhanszellen der Haut keine CD68 Reaktion. Dies zeigten auch Untersuchungen von Petzelbauer et al. (1993). Da reife DCs zu ihren regionären Lymphknoten wandern (homing), sind erst dort hohe Expressionen von CD68 nachweisbar (Petzelbauer et al. 1993; Hart 1997). Dies zeigen auch die Vorversuche an equinen Lymphknoten in dieser Untersuchung.

Antitumorimmunität wird hauptsächlich über zytotoxische Lymphozyten und NK-Zellen vermittelt, wobei DCs die entscheidende Rolle haben: Nach dem Antigen-Capturing, reifen DCs aus und wandern zum regionären Lymphknoten (Hart 1997; Banchereau and Steinman 1998). Dort präsentieren sie das Antigen zusammen mit MHC-II-Molekülen CD4+-Zellen, die dadurch aktiviert werden (Turley et al. 2000). Aktivierte CD4+-Zellen stimulieren ihrerseits CD8+ CTLs via Zytokine (z.B. IL-2, INF-gamma). Zusätzlich präsentieren DCs das Antigen MHC-I-restringierten CTLs (z.B. bei Virusinfektionen) und triggern NK-Zellen direkt (Fernandez et al. 1999). Daher kann die Anwesenheit von DCs in Tumorgeweben als Marker für die Immunitätslage herangezogen werden: Je mehr DCs, desto besser die Prognose. Dies bestätigen viele Untersuchungen von Tumoren des Menschen (Tsujitani et al. 1987; Ambe et al.

1989; Furihata et al. 1992; Inoue et al. 1994; Yamakawa et al. 1995; Banchereau and Steinman 1998; Hillenbrand et al. 1999; Tsuge et al. 2000; Katsenelson et al. 2001; Reichert et al. 2001; Schwaab et al. 2001).

5.5 CD1

Der anti-CD1a-Antikörper (Fa. Dako) war zwar an humanen Tonsillen positiv, zeigte aber keine Kreuzreaktivität in der Immunhistochemie beim Pferd, sodaß equines CD1a aus aktivierten Blutmonozyten sequenziert werden mußte.

Daß in Pferdehaut prinzipiell CD1a positive Zellen vorhanden sind, konnte durch CD1a RT-PCR mit frischer equiner Haut gezeigt werden.

Die anschließende in-situ Hybridisierung erbrachte leider keine positiven Reaktionsmuster im Gewebe. Ursache dafür war höchstwahrscheinlich eine „falsche“ Fixation des Gewebes. Fixierung in ungepufferten Formalin führt offensichtlich zur Denaturierung von RNA, welche dann nicht mehr zum Nachweis zur Verfügung stand.

Da aber ein CD68 in-situ Nachweis gelang, ist von einem hochgradig, quantitativem Unterschied zwischen CD68- und CD1a-positiven Zellen auszugehen, wobei auch mit der hochgradig sensitiven radioaktiven in-situ Hybridisierung CD1a unterhalb der Nachweisgrenze lag. Als Surrogatbiomarker mußte daher S100-Färbung eingesetzt werden. Siedek et al. (2000), im Gegensatz dazu, beschreiben geringe Mengen CD68 positive Zellpopulationsen in der equinen Epidermis, welche sie als mögliche Langerhanszellen ansprechen. Die in dieser Arbeit durchgeführte Hybridisierung mit CD68 zeigte eine große Anzahl positiver Zellen, die morphologisch Makrophagen entsprechen. Andererseits gelang es, in equiner Epidermis S100-positiven Zellen, die morphologisch Langerhanszellen entsprechen, nachzuweisen. In Konsekutivschnitten zeigten diese Zellen jedoch in der in-situ Hybridisierung keine Reaktivität zu CD68. Daher ist davon auszugehen, daß die von Siedek et al. (2000) beobachteten CD68 positiven Zellen in der equinen Haut keine unreifen Langerhanszellen waren.

5.6 Equine Neoplasien und Immunzellpopulationen

5.6.1 Sarkoide

Die Immunzellpopulation innerhalb equiner Sarkoide war insgesamt relativ hoch.

Sarkoide scheinen relative viele „Immunogene“ zusammen mit MHC-Produkten zu exprimieren, sodaß eine starke Immunantwort induziert wurde.

Die semiquantitative Auswertung ergab einen nahezu gleichwertigen Anteil an Makrophagen und T-Zellen. Da gleichzeitig keine Regressionserscheinungen im Tumor erkennbar waren, scheint zwar eine gute Stimulierung der Makrophagen mit entsprechender T-Zellaktivierung stattzufinden, die allerdings keinen zytotoxischen Effekt auslösten. Möglicherweise ist die hohe Immunzellinfiltration auf eine Virusinfektion zurückzuführen: Eine Infektion mit BPV führt zu einer deutlichen Expression viraler Antigene an der Zelloberfläche, stimuliert das Immunsystem (Bastien and McBride 2000; He et al. 2000), führt aber nicht zur effizienten Tumorbekämpfung.

5.6.2 Papillome

Die insgesamt geringgradige Immunzellproliferation der Papillome erstaunt. Der relativ hohe Anteil von S100-positiven Langerhanszellen und CD3-positiven T-Zellen spricht trotzdem für ein aktives Immungeschehen, wie auch Hamada et al. bereits 1992 darstellten. Obwohl Papillome zur Spontanregression neigen, waren im untersuchten Material keine Beeinträchtigungen von Tumorwachstum festzustellen.

5.6.3 Melanome

In Melanomen findet sich eine minimale bis sehr geringe Anzahl an Immunzellen.

Bedingt durch S100-positive Melanozyten einerseits als auch durch den Verlust der melanozytären Antigenität durch Bleichverfahren andererseits, war eine weitergehende Differenzierung der Immunzellen nicht möglich. Möglicherweise führt die massive Melanophagenpopulation durch Phagozytose immunogene Komponenten wie z.B. MAGE1 (Melanoma-associated antigen 1) zu einem Tumor-Escape.

5.6.4 Plattenepithelkarzinome

Von allen untersuchten Tumoren wiesen Plattenepithelkarzinome die höchste Anzahl von Immunzellinfiltration auf. Neben massiven T-Zell- und Makrophagenpopulationen stellen v.a. die mittelgradigen DC-Populationen den größten Anteil.

Das Phänomen der starken Begleitentzündung beim equinen Plattenepithelkarzinom ist bekannt (Fessler et al. 1993). Häufige Tumorulzeration führt zu massiven Freisetzungen von Antigenen, die offensichtlich insbesondere DCs stimulieren, welche sich in charakteristischer Weise basal der Epidermis anlagern.

Pazzi et al. (1996) beschrieben eine erhöhte Expression vom Tumorsuppressorgen p53 im Plattenepithelkarzinom. Die Aktivierung von p53 leitet Apoptose ein und könnte damit ursächlich für die auch in dieser Arbeit beobachteten regressiven Erscheinungen wie z.B. Ulzerationen verantwortlich sein.

5.6.5 Fibrosarkome

Von allen untersuchten Tumoren zeigten Fibrosarkome die geringste Infiltration mit Immunzellen.

Während in der Immunhistochemie nur minimale MAC387 positive Makrophagen nachweisbar waren, zeigte sich in der RNA-Hybridisierung eine mittelgradige Infiltration CD68-positiver Zellen.

Auch hier überrascht die vergleichsweise geringe Immunzellreaktion. Das deutliche Überwiegen CD68-positiver Zellen spricht jedoch für ein permanentes Antigenprozessing.

Möglicherweise findet aufgrund der massiven Kollagensynthese des Tumors eine Maskierung der Tumorzellen statt, was evtl. als eine Art „escape“- oder „pseudo escape“-Mechanismus (Matzinger 1994) zu deuten ist.

5.7 Beurteilung der Immunzellbefunde

In Übereinstimmung mit Untersuchungen beim Menschen (Kopper and Lapis 1985; Borrebaeck and Carlsson 2001; Naumova et al. 2005) nahmen CD68-positive

Makrophagen und T-Zellen in dieser Untersuchung bei allen Tumoren, mit Ausnahme bei Fibrosarkomen, den größten Anteil ein.

Die Nichtverfügbarkeit paraffingängiger Antikörper gegen CD8+-T-Zellen und gegen NK-Zellen, verhinderten leider eine weitere Subtypisierung der CD3+-T-Zellen.

Mit dem Nachweis von T-Zellen in allen Tumorentitäten, besaßen alle untersuchten Patienten zumindest potentiell zytotoxische Effektorzellen. Diese Ergebnisse sprechen für eine aktive Auseinandersetzung des Immunsystems mit den Tumoren. Trotz ihres zytotoxischen Potentials scheinen die T-Zellen häufig keine ausreichende Tumorkontrolle in vivo ausgeübt zu haben, da in den meisten Fällen in dieser Untersuchung die Tumore keine Anzeichen von Regression aufwiesen.

Die Immunzellinfiltrate der untersuchten Fibrosarkome unterschieden sich von den anderen Tumoren dadurch, daß Lymphozyten nur eine untergeordnete Rolle spielten. Auffallend war das Dominieren von APCs (S100- und CD68-positive Zellen). Zwei Interpretationen sind hier möglich: Einerseits könnten die Fibrosarkome reaktiv auf Verletzungen entstanden sein oder den Tumoren war es unmöglich das Antigen zu präsentieren.

Posttraumatische Sarkome sind bei Mensch (Ott 1970; Delpla et al. 1998), Hamster (Ott 1970), Hund (Ott 1970), Katze (Jelinek 2003), Frettchen (Munday et al. 2003), Ratte (Ott 1970; Elcock et al. 2001) und Maus (Ott 1970; Tillmann et al. 1997) beschrieben. Dabei scheinen maligne Transformationen mesenchymaler Zellen, ausgehend von entzündlichen Veränderungen, häufig bei Katzen (Dubielzig 1984; Jelinek 2003) und Labornagern (Brand et al. 1975), selten bei Hunden (Ott 1970; McCarthy et al. 1996) und Menschen (Brand and Brand 1980; Delpla et al. 1998) abzulaufen. Mutmaßlich hängt die Tumorentstehung mit der positiven Selektion mesenchymaler Zellen bei Gewebshypoxie im Rahmen chronischer Entzündungen zusammen (Brand et al. 1975; Choi et al. 2003; Karhausen et al. 2005).

5.8 Ausblicke

Hat sich ein Tumor etabliert, muss von einem vollständigen oder teilweisen Versagen der Immunsurveillance ausgegangen werden. Neben einer Behinderung der Immunfunktionen der Immunzellen durch vom Tumor sezernierte Substanzen sind die Ursachen für das Versagen einer Tumorbekämpfung auch in einer inadäquaten

Diskussion

Reaktion der Immunzellen auf den Tumor-Antigen-Reiz zu suchen. Weiterhin muss in Betracht gezogen werden, daß Immunzellen nicht nur als spezifische Reaktion auf Tumorantigene und/oder tumorassoziierte Antigene vor Ort auftreten, sondern auch eher zufällig oder als unspezifische Reaktion auf entzündliche Reize (z.B. auf mechanische Läsionen) auftauchen können. In den hier untersuchten Tumoren bestehen die Immuzellinfiltraten aus T-Zellen und weiteren Immunzellen. Deren weitere phänotypische Charakterisierung könnte Rückschlüsse auf ihre funktionellen Fähigkeiten in der Tumorumgebung und eventuelle Gründe für ausbleibende tumorzerstörende Aktivitäten aufdecken. Da prognostische Aussagen in Verbindung mit Immunzellen eine differenziertere Analyse der exprimierten Oberflächenmoleküle erfordern, sollten die Ergebnisse dieser Arbeit nur als Basis für weitere Untersuchungen (z.B. flowzytometrische Analysen) angesehen werden. Die hier vorgenommenen Immunphänotypisierungen der Tumorzellinfiltrate entsprechen nur einer Momentaufnahme der im betreffenden Tumorabschnitt befindlichen Immunzellen zum Zeitpunkt der Resektion.

Im Hinblick auf das Thema dieser Arbeit wäre es interessant, ob die gewonnenen Erkenntnisse dieser Arbeit für eine immunmodulierende Therapie herangezogen werden können. Einen Überblick über verschiedene Immuntherapien bei caninen Mammatumoren geben beispielsweise Rutten et al. (1990). Immunmodulatorische Substanzen selbst sind unspezifische oder spezifische Stimulatoren der humoralen und zellulären Immunität, die z.B. Makrophagen aktivieren, Immunzelltypshift induzieren (z.B. Th1 zu Th2-Zellen), Zytokinproduktion induzieren und verschiedene Effekte wie die Aktivierung und Proliferation von Immunzellen haben (Van Kampen 1997).

Bereits 1983 beschrieb Parodi et al. (1983), daß eine BCG-Vakzinierung eine B-Zellaktivierung induziert, die allerdings nicht mit einer Tumorregression assoziiert ist. Zahlreiche Autoren beschreiben verschiedene erfolgreiche immunmodulatorische Ansätze bei Tumorerkrankungen mit z.T. synthetischen Substanzen (Jakob et al. 1998; Wagner et al. 1999; Cuadrado et al. 2003) oder auch z.B. mit rekombinanten Pockenviren beim feline Fibrosarkom (Jourdiere et al. 2003).