

Aus dem Pathologischen Institut  
am Städtischen Krankenhaus Friedrichshafen  
(Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen)  
Leiter: Professor Dr. H. Steininger

---

**Die Expression von Muzinen, Keratinen und von  
CDX-2 in der Barrett-Mukosa. Eine histochemische und  
immunhistologische Untersuchung an Biopsiematerial**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von  
Denis Alexander Pfofe  
aus  
Leonberg

2004

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen  
1. Berichterstatter: Professor Dr. H. Steininger  
2. Berichterstatter: Professor Dr. B. Bültmann

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	Geschichte des Barrett-Ösophagus.....	1
1.2	Heutige Definition des Barrett-Ösophagus.....	3
1.3	Risikofaktoren und Pathogenese.....	4
1.4	Barrett-Ösophagus und Adenokarzinom.....	7
1.5	Probleme in der Diagnostik.....	9
1.6	Möglichkeiten einer frühen histologischen Diagnose.....	14
1.7	Fragestellung.....	15
<b>2</b>	<b>Material und Methodik</b> .....	<b>16</b>
2.1	Patienten und Biopsien.....	16
2.2	Färbungen.....	16
2.2.1	Hämatoxilin-Eosin Färbung.....	16
2.2.2	Alzianblau-PAS-Reaktion.....	16
2.2.3	Alzianblau-HID-Reaktion.....	16
2.2.4	Muzinfärbung nach Mowry.....	17
2.3	Immunhistochemie.....	17
2.3.1	Ablauf der immunhistochemischen Reaktion.....	18
2.4	Charakteristika verwendeter Antikörper.....	19
2.4.1	Muzinantikörper (MUC).....	19
2.4.2	Zytokeratine.....	20
2.4.3	CDX-2.....	21

<b>3. Ergebnisse</b> .....	23
3.1 Hämatoxilin-Eosin Färbung.....	23
3.2 Beginnende Barrett-Mukosa.....	23
3.3 Alzianblau-HID und Alzianblau-PAS-Färbung.....	25
3.4 Mowry-Färbung.....	25
3.5 CDX-2.....	26
3.6 Zytokeratine CK-7, CK-13, CK-20 und das Barrett-Muster.....	26
3.7 Muzine.....	27
<b>4. Diskussion</b> .....	40
<b>5. Zusammenfassung</b> .....	50
<b>6. Literaturverzeichnis</b> .....	51
<b>7. Danksagung</b> .....	59
<b>8. Lebenslauf</b> .....	60

# **1. Einleitung**

## **1.1 Geschichte des Barrett-Ösophagus**

Der britische Chirurg Norman R. Barrett beschrieb 1950 mehrere Fälle von chronischen Geschwüren des distalen Ösophagus, die von einer Schleimhaut umgeben waren, die histologisch der des Magens ähnelte [3]. Da der Ösophagus jedoch immer von Plattenepithel ausgekleidet ist, folgerte Barrett, dass es sich bei dieser Schleimhaut um intrathorakal gelegene Magenanteile handeln müsse. Den Grund hierfür sah er in einem kongenital zu kurzen Ösophagus. Diese Läsion wertete er als eigenständige Entität und stellte sie den verschiedenen Formen der Hiatushernien und den Fällen von ektopter Magenschleimhaut im Ösophagus gegenüber. Nach Barretts Ansicht könnten sich in der bis allzu weit in den Thorax reichenden Magenschleimhaut typische chronische Magengeschwüre entwickeln, die von rein refluxbedingten Ulzerationen des ösophagealen Plattenepithels abzugrenzen seien.

Zur Bestätigung seiner Theorie schilderte er den Fall eines 13-jährigen Kindes, das an der Perforation eines chronischen Ulkus der Speiseröhre in eine große Pulmonalvene gestorben war. Bei der Autopsie fand sich ein kurzer, lediglich bis an den Aortenbogen reichender, Ösophagus mit plattenepithelialer Auskleidung. Im Anschluss hieran zeigte sich intrathorakal gelegene magenähnliche Schleimhaut mit dem perforierten chronischen Ulkus. Als Grundleiden nahm Barrett einen kongenital kurzen Ösophagus an. Darüber hinaus führte er histologische Untersuchungen an Ösophagusgeschwüren durch, die zuvor als Ulzera in ektopter Magenschleimhaut diagnostiziert worden waren. Auch hier vermutete Barrett intrathorakal gelegene Magenanteile als eigentliche Ursache dieser Geschwürsbildungen.

In der Folge zeigten auch Allison und Johnstone [1], dass sich bei Patienten mit Refluxsymptomatik und Ulzerationen im distalen Ösophagus magenähnliche

Schleimhaut nachweisen lässt, und sie prägten den Begriff des Barrett-Ulkus. Als Ursache für diese Läsion vermuteten auch sie eine kongenitale Fehlbildung. Barrett selbst nahm allerdings 1957 Abstand von seiner Theorie des kongenital kurzen Ösophagus [4]. In seinem Artikel „The lower esophagus lined by columnar epithelium“ führte er neben den Hiatushernien und Inseln ektopen Zylinderepithels eine Entwicklungsstörung der ösophagealen Schleimhaut, die eine Ausreifung des Epithels verhindere, als Ursache für das Vorliegen von Zylinderepithel in den distalen Abschnitten des Ösophagus an. Er nannte diese Läsion nun columnar epithelium lined lower oesophagus: „CELLO“.

Dass es sich bei den von Barrett beschriebenen Veränderungen immer um einen krankhaften Zustand handeln muss, wurde 1960 von dem Chirurgen John Hayward in Frage gestellt [31]. Hayward behauptete, dass auch der normale Ösophagus nicht nur von Plattenepithel ausgekleidet ist, sondern dass seine distalen ein bis zwei Zentimeter immer von einem Zylinderepithel bedeckt sind, das dann kontinuierlich in die Magenschleimhaut übergeht.

Das histologische Bild des Barrett-Ösophagus wurde erstmals 1975 durch Paull genauer beschrieben [52]. In einer Serie von 11 Patienten konnte er drei unterschiedliche Typen von Barrett-Mukosa identifizieren. Einen „Junktionstyp“, der nahezu ausschließlich aus Schleim sezernierenden Zylinderepithelien bestand, einen „Magenfundustyp“, der Haupt- und Belegzellen enthielt, sowie einen bestimmten Typ der intestinalen Metaplasie, der von ihm als „spezialisiertes Zylinderepithel“ bezeichnet wurde. Das spezialisierte Zylinderepithel ist gekennzeichnet durch eine zottenförmige Oberfläche, muköse Drüsen, Alzian-Blau positive Becherzellen, und es weist keine Haupt- und Belegzellen auf. Es war stets das am weitesten proximal lokalisierte Epithel innerhalb der Läsionen, während der Magenfundustyp immer am weitesten distal gelegen war. Der Junktionstyp ließ sich zwischen Magenfundustyp und spezialisiertem Zylinderepithel nachweisen.

Aus der von Hayward publizierten Behauptung, dass auch der normale Ösophagus an seinem distalen Ende ein Zylinderepithel aufweist, ergab sich die Gefahr falsch positiver Diagnosen bei Biopsien aus dem unteren Ösophagus auf der Suche nach Barrett-Mukosa. In den 1980er Jahren wurden

deshalb willkürliche Kriterien für das Längenausmaß des Zylinderepithels im unteren Ösophagus aufgestellt, welche die Diagnose einer Barrett-Mukosa rechtfertigten sollten. Ergab sich bei der endoskopischen Untersuchung eine Ausdehnung des Zylinderepithels unterhalb einer vorgegebenen Länge, so sollte der Befund als normal angesehen werden [63]. Für Rothery war das Vorliegen eines Barrett-Ösophagus z.B. erst ab einer Länge des Zylinderepithels von mindestens fünf Zentimetern oberhalb des ösophagogastralen Überganges gegeben [57]. Skinner nahm in seine Studie über den Barrett-Ösophagus nur Patienten auf, die ein mindestens drei Zentimeter langes Zylinderepithelsegment im unteren Ösophagus aufwiesen [62]. Diese Längenvorgaben verringerten das Problem der falsch positiven Diagnosen, sie bargen jedoch die Gefahr in sich, dass metaplastische Läsionen innerhalb eines kurzen Zylinderepithelsegmentes nicht diagnostiziert wurden [63].

Der Versuch den Barrett-Ösophagus über die Länge des Zylinderepithels im unteren Ösophagus zu definieren ist die Ursache für die zum Teil heute noch gebräuchliche, auf dem endoskopischen Befund basierende, Einteilung in einen „short-segment“ und einen „long-segment“ Barrett-Ösophagus. Bei einem „short-segment“ Barrett-Ösophagus findet sich Zylinderepithel in einer Ausdehnung von zwei bis drei Zentimetern oberhalb des ösophagogastralen Überganges, der „long-segment“ Barrett-Ösophagus wird ab einer Länge von mindestens drei Zentimetern diagnostiziert [47, 61].

Mittlerweile war erkannt worden, dass bei Patienten mit einem Barrett-Ösophagus ein erhöhtes Risiko für das Entstehen eines Adenokarzinoms des Ösophagus besteht [29]. Es zeigte sich jedoch, dass dies nur für Fälle gilt, bei denen histologisch das von Paull beschriebene spezialisierte Zylinderepithel innerhalb des Barrett-Ösophagus nachgewiesen werden kann [54].

## **1.2 Heutige Definition des Barrett-Ösophagus**

Heute ist das Vorliegen eines Barrett-Ösophagus dadurch definiert, dass eine Veränderung des normalen ösophagealen Epithels unbestimmter, d.h. nicht per

Definition festgelegter, Länge endoskopisch erkannt wird und die Biopsie eine intestinale Metaplasie aufweist [59]. Die Begriffe „spezialisiertes Zylinderepithel“ oder „CELLO“ sind heute obsolet. Die bei einem Barrett-Ösophagus vorliegenden Veränderungen werden „Barrett-Mukosa“ oder „Barrett-Schleimhaut“ genannt [22]. Dabei ähnelt die Schleimhaut histologisch einer inkompletten intestinalen Metaplasie vom Typ II bzw. vom Typ III. Der Typ II ist charakterisiert durch Becherzellen und ausdifferenzierte Zylinderepithelien und wird auch gastroenterale Metaplasie genannt. Die Zellen sezernieren neutrale Muzine, geringe Mengen an sauren Sialomuzinen und gelegentlich geringe Mengen an Sulfomuzinen. Der Typ III ähnelt der unreifen Dickdarmschleimhaut und wird auch kolische oder enterokolische Metaplasie genannt. Hier werden überwiegend Sialo- und Sulfomuzine produziert [23, 33]. Entscheidend für die Diagnose einer Barrett-Mukosa ist aber in jedem Fall der eindeutige histologische Nachweis von Becherzellen („no goblets – no Barrett’s“). Die mit reichlich Schleim gefüllten und foveolär differenzierten Epithelzellen, so genannte Pseudo-Becherzellen, rechtfertigen nicht die Diagnose einer Barrett-Mukosa und können mit Hilfe der Alzian-Blaufärbung abgegrenzt werden. „Echte“ Becherzellen enthalten eine Mischung aus sauren Sulfo- und Sialomuzinen mit Überwiegen der Sialomuzine [22].

### **1.3 Risikofaktoren und Pathogenese**

Als Risikofaktor für das Entstehen einer Barrett-Mukosa gilt vor allem die chronische gastroösophageale Refluxerkrankung („GERD“) mit dem Leitsymptom des Sodbrennens, einer Erkrankung unter der 20-30 Prozent der Bevölkerung leiden und die als Volkskrankheit angesehen werden kann [69]. Bei der Erstdiagnose einer Barrett-Mukosa sind die Patienten im Durchschnitt 55 Jahre alt, Männer sind vierfach häufiger betroffen als Frauen [69]. Die Prävalenz der Erkrankung erhöht sich mit dem Alter [66].

Der entscheidende Schritt in der Entstehung der Barrett-Mukosa ist die wiederholte, durch Magensäure ausgelöste, Schädigung der Ösophagus-



schleimhaut, die zu Ulzerationen mit nachfolgender Reepithelialisierung durch Zylinderepithel führt [56].

Liegt bei GERD eine Barrett-Mukosa vor, so besteht typischerweise neben einer erhöhten Säureexposition des Ösophagus, ein niedriger Tonus des unteren Ösophagussphinkters und/oder eine Hiatushernie mit großem Hiatusdefekt [21]. Da sich jedoch nicht aus jeder GERD ein Barrett-Ösophagus entwickelt, müssen noch weitere Faktoren eine Rolle spielen [66]. Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass die Barrett-Mukosa häufiger bei hellhäutigen als bei schwarzen Menschen auftritt. Auch regionale Unterschiede konnten beobachtet werden. So ist beispielsweise in Japan der gastroösophageale Reflux eine häufige Erkrankung, während der Barrett-Ösophagus relativ selten ist [48]. Auch eine genetische Prädisposition wird diskutiert. So konnte in einer Zwillingsstudie bei monozygoten Zwillingen ein höheres gleichzeitiges Auftreten einer Refluxerkrankung aufgezeigt werden als bei dizygoten Zwillingen [13]. Der genaue Zusammenhang zwischen genetischer Prädisposition und krankheitsauslösenden Noxen, der dazu führt, dass einige Patienten mit GERD eine Barrett-Mukosa entwickeln, andere jedoch nicht, ist bislang aber noch nicht erkannt worden [56].

Zur Herkunft der Barrett-Schleimhaut gibt es unterschiedliche Theorien. Die größte Beachtung findet heute die These des Entstehens aus primordialen Stammzellen mit der Kapazität der multipotentialen Differenzierung. Daneben wird ein proximal gerichtetes Wachstum von Kardiazellen und ein Entstehen aus oberflächlichen Zellen des Ösophagusepithels diskutiert [57].

Anhand des Verteilungsmusters der Zytokeratine CK-4, CK-8, CK-13 und CK-19 konnte ein mehrschichtiges Epithel innerhalb der Barrett-Mukosa nachgewiesen werden, das die histologischen Merkmale sowohl des Plattenepithels als auch des Zylinderepithels beinhaltet [5]. Dieses mehrschichtige Epithel wird als ein Übergangsstadium innerhalb der Schleimhaut angesehen und deutet die Herkunft der Barrett-Mukosa aus einer multipotenten Stammzelle des basalen Plattenepithels an, die durch

refluxbedingte Schädigung des oberflächlichen Epithels zur Differenzierung in Zylinderepithel angeregt wurde.

Molekularpathologische Erkenntnisse schreiben dem epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGFr) eine Rolle in der Pathogenese der Barrett-Mukosa zu [47]. EGFr findet sich in den basalen Zellschichten des normalen ösophagealen Plattenepithels und in der Barrett-Mukosa. Säure stimuliert den EGFr, wodurch eine zelluläre Proliferation angeregt wird. Es wird daher vermutet, dass sich, ausgelöst durch den chronischen Reflux, eine Entzündung im Bereich des ösophagogastralen Überganges entwickelt, die den EGFr aktiviert. Hierdurch kommt es dann zu einer Fehldifferenzierung des Epithels und zur Ausbildung einer intestinalen Metaplasie.

Die Rolle einer Infektion mit dem Bakterium *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) in der Pathogenese der Barrett-Mukosa wird heute kontrovers diskutiert [21].

*H. pylori* ist als wichtiger ätiologischer Faktor bei der Entstehung verschiedener Magenerkrankungen, wie z.B. der chronischen Gastritis, der Ulkuskrankheit, dem MALT- Lymphom und dem Magenkarzinom, allgemein anerkannt [12].

Innerhalb einer bestehenden Barrett-Mukosa kann *H. pylori* in bis zu 62% der Fälle nachgewiesen werden [41]. Für die Entstehung einer Barrett-Mukosa wird *H. pylori* in den meisten Arbeiten jedoch keine direkte Bedeutung zugemessen. Dies wird damit begründet, dass Patienten mit einem Barrett-Ösophagus keine erhöhten *H. pylori* Infektionsraten im Vergleich zu Kontrollgruppen aufweisen [21], und dass *H. pylori* im normalen Plattenepithel des Ösophagus nicht nachgewiesen werden kann [12]. Es wird deshalb davon ausgegangen, dass *H. pylori* die Barrett-Mukosa nicht direkt primär besiedelt, sondern retrograd vom Magen aus [41].

Bei entzündeter Barrett-Mukosa besteht, im Gegensatz zu der Gastritis im Magenantrum, keine Korrelation zwischen dem Ausmaß der bakteriellen Besiedelung und dem Schweregrad der Schleimhautentzündung. Darüber hinaus ist bei Patienten mit einer Entzündung der Barrett-Mukosa *H. pylori* oft überhaupt nicht nachweisbar [41].

Es gibt aber sogar Anhaltspunkte dafür, dass eine Besiedelung des Magens mit *H. pylori* einen Schutz vor dem Entstehen einer Barrett-Mukosa darstellen kann. Entfernt man das Bakterium durch eine Eradikationstherapie bei Patienten mit einer durch *H. pylori* ausgelösten chronischen Pangastritis, so kann durch den nun, nach Rückbildung der Atrophie, erhöhten Anfall von Säure und bei bestehendem gastroösophagealen Reflux, in der Folge eine Barrett-Mukosa entstehen [12]. Eine Infektion mit *Helicobacter pylori* hat daher möglicherweise auch einen protektiven Effekt bei der Genese eines Adenokarzinoms im Ösophagus [12].

Die intestinale Metaplasie der Magenkardia ist stark mit einer *H. pylori* Infektion in anderen Magenregionen assoziiert und ist keine Vorläuferläsion der Barrett-Mukosa [20].

#### **1.4 Barrett-Ösophagus und Adenokarzinom**

Das Adenokarzinom des Ösophagus zeigt seit 1970 eine Verfünffachung der Inzidenz in Amerika. Weltweit ist es der Tumor mit der stärksten Zunahme der Prävalenz in den letzten 25 Jahren [69]. Die Prognose des invasiven Adenokarzinoms des Ösophagus ist mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von nur 11 Prozent generell ungünstig [21]. Wird jedoch in einem nicht invasiven Stadium der Tumorerkrankung operativ therapiert, so steigt die 5-Jahres-Überlebensrate auf bis zu 100% [15]. Mittlerweile sind etwa 50 Prozent der malignen Tumoren des Ösophagus Adenokarzinome [15]. Die Ursache dieser Zunahme ist unklar, sie steht aber wahrscheinlich in einem engen Zusammenhang mit der gleichzeitig gestiegenen Inzidenz der Refluxerkrankung in Amerika und West-Europa [15]. Die Inzidenz der Barrett-Mukosa ist ebenfalls beträchtlich gestiegen, was allerdings auch auf eine erhöhte Anwendung der Endoskopie des oberen Gastrointestinaltraktes zurückzuführen ist. Autopsiedaten deuten zudem darauf hin, dass auf jeden erkannten Fall von Barrett-Schleimhaut zusätzlich etwa 20 unerkannte Fälle kommen [21]. Eine

Ursache hierfür ist, dass die Barrett-Schleimhaut an sich keine Symptome verursacht [66].

Zur Risikoabschätzung der Barrett-Schleimhaut hat sich die so genannte Zehnerregel bewährt [69]. Sie besagt, dass etwa 10 Prozent der Patienten mit Refluxsymptomatik eine Barrett-Mukosa entwickeln, von denen wiederum 10 Prozent an einem Adenokarzinom des Ösophagus erkranken. Die 5-Jahres-Überlebensrate des Adenokarzinoms liegt bei etwa 10 Prozent.

Ein Adenokarzinom des Ösophagus entsteht aus einer Dysplase in der durch gastroösophagealen Reflux verursachten Barrett-Mukosa. Die Dysplasien, die definitionsgemäß zweifelsfreie intraepitheliale Neoplasien sind, werden nach ihrem Schweregrad eingeteilt in low-grade und high-grade Dysplasien [69]. Diese Abfolge der Schleimhautveränderungen, die letztendlich zu einem Karzinom führt, wird als Metaplasie-Dysplasie-Karzinomsequenz bezeichnet [30]. Spezifische genetische Veränderungen wie Mutation und Verlust von p53 Tumor Suppressor Gen und andere chromosomale Aberrationen begleiten die Dysplasie [38].

Die Erkenntnis, dass die Barrett-Mukosa die wichtigste Vorläuferläsion für das Adenokarzinom ist, darf nicht darüber hinwegtäuschen, dass 94-98 Prozent der Adenokarzinome des Ösophagus ohne vorhergehende Diagnose einer Barrett-Schleimhaut manifest werden [21]. Das bedeutet auch, dass sich bei vielen Patienten, die sich aufgrund histologisch gesicherter dysplastischer Veränderungen, einer Ösophagusresektion unterziehen müssen, bei der weiteren histologischen Aufarbeitung des Operationspräparates bereits ein Adenokarzinom finden kann. Das erhöhte Risiko für diese Patienten sollte daher schon vor Entstehung einer Dysplasie erkannt werden [28].

Heute ist die Barrett-Mukosa der einzige anerkannte Risikofaktor für die Entstehung eines Adenokarzinoms im unteren Ösophagus [61]. Adenokarzinome, die in ösophagealen Drüsen oder auf dem Boden heterotoper Magenschleimhaut entstehen sind dagegen extrem selten [40].

## **1.5 Probleme in der Diagnostik**

Diagnostische Unsicherheiten finden sich sowohl in der klinisch endoskopischen als auch in der histologischen Beurteilung des Barrett-Ösophagus.

In einer prospektiv randomisierten Studie an 192 Patienten mit gastroösophagealem Reflux, wurden Biopsien aus dem unteren Ösophagus gewonnen [37]. Nach jeweils sechs Wochen wurde in einem standardisierten Verfahren rebiopsiert. Dabei fand sich eine große Diskrepanz innerhalb der Diagnosen. Insbesondere bei einer Barrett-Mukosa, die eine Länge von weniger als 3 cm aufwies zeigten sich diagnostische Unregelmäßigkeiten, die überwiegend auf fehlerhafte Biopsiegewinnung zurückzuführen waren.

Die Diagnose eines Barrett-Ösophagus hängt primär von der endoskopischen Untersuchung mit der Entnahme einer Biopsie aus dem veränderten Epithel des distalen Ösophagus ab. Hierbei muss sichergestellt werden, dass die Probe eindeutig aus dem Ösophagus und nicht aus dem Magen entnommen wird, um falsch positive Diagnosen zu vermeiden [54]. Für die histologische Diagnostik wird empfohlen vier Biopsien aus der Barrett-Schleimhaut zu entnehmen, aus jedem Quadranten eine und in 2 cm langen Abständen entlang der Läsion [66].

Unter endoskopischer Sicht zeigt sich bei normalem Epithel am ösophagogastralen Übergang eine zirkulär verlaufende Linie, die das weißlich glänzende Plattenepithel des Ösophagus von dem lachsfarbenen und samtartigen Zylinderepithel der Magenkardia trennt. Diese Linie wird auch Z-Linie oder Ora serrata genannt, da die beiden unterschiedlichen Epitheltypen hier wellenartig ineinander übergehen. Die zweite wichtige Struktur zur Festlegung des ösophagogastralen Überganges ist der untere Ösophagussphinkter, der ein zirkuläres Muskelbündel mit erhöhtem Tonus am Übergang in den Magen darstellt und dessen Lage man mit Hilfe der Manometrie durch seinen erhöhten Tonus direkt bestimmen kann [37]. Die Lage der Z-Linie stimmt aber nicht immer mit der des unteren Ösophagussphinkters überein. Bei Patienten mit Refluxösophagitis z.B. kann die Z-Linie nach oral verschoben sein [17].

Endoskopisch ähnelt die Barrett-Mukosa dem Epithel der Magenkardea. Deshalb sind lange Segmente von Zylinderepithel oral des unteren Ösophagus-sphinkters, eine stark unregelmäßige Z-Linie, sowie eine fleckförmige Verteilung des Zylinderepithels oral der Z-Linie hilfreich bei der endoskopischen Suche nach der Barrett-Mukosa [63]. Der endoskopische Nachweis langer Segmente einer Barrett-Schleimhaut ist für den erfahrenen Endoskopiker weitgehend unproblematisch, während der Nachweis kurzer Segmente schwieriger ist [35].

Aufgrund von Atembewegungen und Peristaltik kann die Identifizierung der Z-Linie bei der endoskopischen Untersuchung nicht einfach sein [63]. Auch große Hiatushernien können das endoskopische Festlegen des ösophagogastralen Überganges erschweren. Hierbei kann jedoch durch endoskopische Luftinsufflation in den distalen Ösophagus erreicht werden, dass sich die sackförmige Hiatushernie von dem tubulären Ösophagus besser abzeichnet [27]. Die Manometrie zur Bestimmung des unteren Ösophagus-sphinkters ist für die klinische Praxis ungeeignet, da sie mit einem sehr hohen Aufwand und großen Kosten verbunden ist [37].

Neuere Methoden können die endoskopische Diagnostik weiter verbessern. So scheinen sich auch sehr kurze Segmente einer Barrett-Mukosa mit Hilfe der hochauflösenden Videoendoskopie nachweisen zu lassen [69]. Auch mittels verschiedener in vivo Färbungen kann die endoskopische Identifizierung der Z-Linie und der Barrett-Schleimhaut verbessert werden. Eine Sprühfärbung mit Lugolscher Lösung z.B. markiert das Plattenepithel des Ösophagus und lässt somit die Z-Linie besser zur Darstellung kommen [6]. Daneben ist es möglich durch Methylenblau selektiv die intestinale Metaplasie der Barrett-Mukosa anzufärben und danach gezielt aus dem angefärbten Bereich Biopsien zu entnehmen [21].

Ein weiteres diagnostisches Problem stellen Inseln heterotoper Magenschleimhaut dar, die unter endoskopischer Sicht der Barrett-Mukosa ähneln. Bei etwa 10 Prozent aller endoskopischen Untersuchungen findet sich heterotope Magenschleimhaut im Ösophagus, die aber dadurch gekennzeichnet ist, dass sie durch intaktes Plattenepithel vom Magen getrennt

liegt. Es handelt sich hierbei um eine kongenitale Läsion bei der Magenschleimhaut inselförmig an verschiedenen Stellen des Ösophagus vorkommen kann [27].

Auch bei der nachfolgenden histologischen Begutachtung der endoskopisch entnommenen Biopsien zeigen sich diagnostische Schwierigkeiten.

Insbesondere die Bedeutung der intestinalen Metaplasie der Magenkardia (CIM) und ihre Abgrenzung von der Barrett-Mukosa wird in der neueren Literatur kontrovers diskutiert [69]. Ausgelöst wurde diese Diskussion durch die Beobachtung, dass auch in Biopsien direkt unterhalb der Z-Linie eine intestinale Metaplasie nachgewiesen werden konnte [63]. Es ergab sich daraus die Frage ob es sich bei dieser intestinalen Metaplasie um eine besondere Form des Barrett-Ösophagus handelt oder ob eine eigenständige Erkrankung der Magenkardia vorliegt [20].

Die normale Mukosa der Magenkardia ist durch schleimbildende Drüsen definiert, denen endokrine Zellen fehlen, die gelegentlich aber Belegzellen enthalten können [44]. Die Schleimhautveränderung der Magenkardia im Rahmen einer CIM ist zumeist eine komplette intestinale Metaplasie vom Typ I und unterscheidet sich hierdurch von der inkompletten intestinalen Metaplasie der Barrett-Mukosa. Die CIM zeichnet sich histologisch ferner durch einen höheren Schleimhautaufbau, angrenzendes normales foveoläres Magenepithel und darunterliegende Magendrüsen vom Kardia- und/oder Korpusstyp aus [22]. Auch die Ätiologie der CIM scheint sich von derjenigen der Barrett-Mukosa zu unterscheiden. Während die GERD der Hauptrisikofaktor für das Entstehen einer Barrett-Schleimhaut ist, wird bei der CIM neben der GERD auch eine Infektion mit dem Bakterium *Helicobacter pylori* als pathogenetischer Faktor diskutiert [68]. Unklar ist bislang noch ob die intestinale Metaplasie der Magenkardia, wie die Barrett-Mukosa, mit einem erhöhten Karzinomrisiko assoziiert ist [20].

Der Nachweis eines bestimmten Zytokeratinmusters in der Barrett-Mukosa könnte die Unterscheidung von der intestinalen Metaplasie der Magenkardia erleichtern. Ormsby konnte mit Hilfe der Zytokeratine CK-7 und CK-20 ein

solches Muster innerhalb der Barrett-Schleimhaut nachweisen, das er Barrett-Muster nannte (Abb. 1) [50]. Hierbei exprimieren oberflächliche und tiefe Drüsenanteile der Barrett-Mukosa CK-7, während CK-20 nur in oberflächlichen Drüsenanteilen exprimiert wird. In der intestinalen Metaplasie der Magenkardia fand sich lediglich eine Expression von CK-20 in den oberflächlichen Drüsen, CK-7 wurde nicht exprimiert. Dieses Barrett-Muster wurde von Ormsby als spezifisch für die Barrett-Mukosa angesehen.

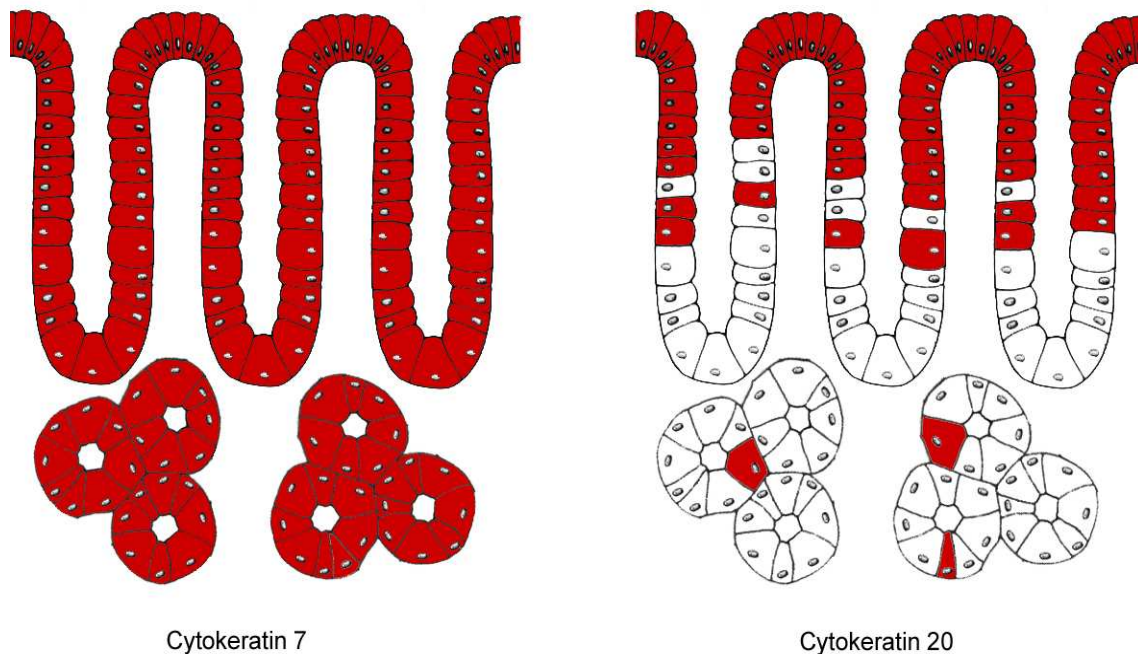


Abb. 1: Barrett-Muster der Zytokeratine CK-7 und CK-20

Eine weitere Schwierigkeit in der histologischen Beurteilung der Barrett-Mukosa liegt in der Einschätzung der Atypien, die ein Hinweis auf die Entwicklung eines Adenokarzinoms sind. Diese atypischen Veränderungen werden Dysplasien



genannt und in low-grade und high-grade Dysplasien unterteilt [54]. Eine Dysplasie zeigt histologisch eine Kombination aus Architekturstörungen der Schleimhaut und zytologischen Veränderungen. Im Gegensatz zur „normalen“ Barrett-Mukosa weist die dysplastische Schleimhaut keine Ausreifung der Zellen zur Oberfläche hin auf. Ferner finden sich häufiger Mitosen und die Kern-Plasma-Relation ist zugunsten der Kerne verschoben [30]. Reaktive Veränderungen im Randbereich einer Entzündung oder Ulzeration sind jedoch manchmal nur schwer abzugrenzen. Andererseits sind frühinvasive Adenokarzinome meist von dysplastischer Schleimhaut umgeben und somit unter Umständen schwer zu erkennen [27]. Bei der histologischen Beurteilung zeigt sich daher eine beträchtliche Interobservervariabilität in der Diagnostik neoplastischer Veränderungen innerhalb der Barrett-Mukosa [22]. Dies gilt vor allem für low-grade Dysplasien. Die Unterscheidung eines Adenokarzinoms von einer high-grade Dysplasie zeigt dagegen eine bessere Übereinstimmung [27].

## **1.6 Möglichkeit einer früheren histologischen Diagnose**

Die histologische Diagnose einer Barrett-Mukosa hängt heute von dem Nachweis einer intestinalen Metaplasie des unteren Ösophagus mit eindeutig vorhandenen Becherzellen ab. Das heißt, dass lediglich bei dieser Diagnose von einem erhöhten Risiko für die Entwicklung eines Adenokarzinoms des Ösophagus ausgegangen wird. Möglicherweise gibt es aber frühere Indikatoren für das Risiko einer malignen Transformation der Schleimhaut, die eine engmaschige endoskopische Überwachung der betroffenen Patienten notwendig machen würde [53].

Chaves und Offner konnten Zylinderepithelzellen mit Expression von sauren Muzinen im distalen Ösophagus nachweisen und vermuteten, dass es sich hierbei um eine Vorstufe der Barrett-Mukosa handelt. In Nachuntersuchungen von Patienten, die sich wegen eines Adenokarzinoms einer Teilresektion des Ösophagus unterziehen mussten, fand Chaves im Anastomosenbereich Zylinderepithel, das zum Teil saure Muzine produzierte aber keine Becherzellen enthielt. Diese Schleimhautveränderung war auch mehrere Jahre nach der Operation noch nachweisbar und könnte eine Vorstufe der Barrett-Mukosa darstellen [8]. Zuvor hatte bereits Offner Alzian-Blau positive Zylinderepithelien innerhalb der Barrett-Mukosa beschrieben und sie als häufigen und vernachlässigten Zelltyp bezeichnet, der einen Vorläufer der Becherzellen darstelle [49].

## **1.7 Fragestellung**

Die hier vorgestellte Studie beschäftigt sich mit der Frage, ob metaplastische Veränderungen im distalen Ösophagus vor dem Entstehen einer typischen Barrett-Mukosa mit dem Nachweis von Becherzellen histologisch erkennbar sind. Wir haben hierzu mit unterschiedlichen histochemischen und immunhistologischen Verfahren Muzinprofile in Biopsien aus dem distalen Ösophagus untersucht. Wir sind zusätzlich der Frage nachgegangen ob der Antikörper gegen das CDX-2 Protein einen nützvollen Marker in der Diagnostik der Barrett-Mukosa darstellt. Des weiteren wurde in Frage gestellt ob das von Ormsby beschriebene Barrett Muster der Zytokeratine CK-7 und CK-20 sensitiv für die Barrett-Mukosa ist und somit eine Unterscheidung von der intestinalen Metaplasie der Magenkardia ermöglicht, und ob dieses Muster für die tägliche Routine geeignet ist.

## **2. Material und Methodik**

### **2.1 Patienten und Biopsien**

Es wurden 56 Biopsien von 48 Patienten untersucht. Hierunter waren 12 Frauen und 36 Männer mit einem Durchschnittsalter von 63 Jahren und mit einem Altersmedian von 63,5 Jahren. Das Durchschnittsalter bei Männern betrug 61,5 und bei Frauen 67,75 Jahre.

Nach klinischen Angaben stammten alle Biopsien definitiv aus dem Ösophagus und endoskopisch lag ein Barrett-Ösophagus vor.

Die Biopsien wurden in 4 prozentigem neutralen Formalin fixiert und für die histologische Untersuchung in Paraffin eingebettet. Es wurden 4 µm dicke Schnitte angefertigt und auf Objektträger aufgebracht. Für die Immunhistologie wurden beschichtete Adhäsiv-Objektträger verwendet.

### **2.2 Färbungen**

#### **2.2.1 Hämatoxilin-Eosin Färbung**

Der normalen histologischen Diagnostik dienten die mit Hämatoxilin-Eosin gefärbten Präparate.

#### **2.2.2 Alzianblau-PAS-Reaktion**

Die Alzianblau-PAS-Reaktion (pH 2,5) diente zum Nachweis von neutralen Muzinen, die sich in dieser Färbung rot darstellen, und PAS-negativen sauren Muzinen, die blau erscheinen.

#### **2.2.3 Alzianblau-HID-Reaktion**

Die Alzianblau-HID-Reaktion wurde zur Unterscheidung von Sulfomuzinen und Sialomuzinen verwendet. Saure Sialomuzine zeigen sich hier türkisfarben, Sulfomuzine dunkelbraun. Die HID (High-Iron-Diamin) Lösung wurde vor jeder Färbung frisch angesetzt. Die Salze (N,N-dimethyl-meta-phenylendiamin

dihydrochlorid und N,N-dimethyl-para-phenylendiamin dihydrochlorid) wurden in Aqua dest. gelöst und mit 60% Eisenchloridlösung versetzt. Abschließend erfolgte die Alzianblaufärbung.

#### **2.2.4 Muzinfärbung nach Mowry**

Die Muzinfärbung nach Mowry weist saure Mukosubstanzen nach, die sich kräftig türkisblau anfärben [46]. Hierzu wird zunächst eine kolloidale Eisenlösung mit Aqua dest. und einer 29% Ferrichloridlösung hergestellt. Anschließend wird das Präparat nach der Färbung mit der kolloidalen Eisenlösung und nach Spülen mit 12% Essigsäure in eine Mischung aus 2% Kaliumferrocyanidlösung und 1% HCl eingestellt. Zum Abschluss erfolgt eine Gegenfärbung mit Kernechtrot-Aluminiumsulfat.

### **2.3 Immunhistochemie**

Die immunhistologischen Untersuchungen wurden nach der APAAP-Methode (Alkalische-Phosphatase-Anti-Alkalische-Phosphatase) durchgeführt (Abb. 2). Diese Methode dient dem indirekten Nachweis von Antigenen. Hierbei bindet der Primärantikörper an das nachzuweisende Antigen. Ein Brückenantikörper bindet an den Primärantikörper und an diesen wird der Enzym-Chromogen-Komplex, der eine alkalische Phosphatase enthält, gebunden.

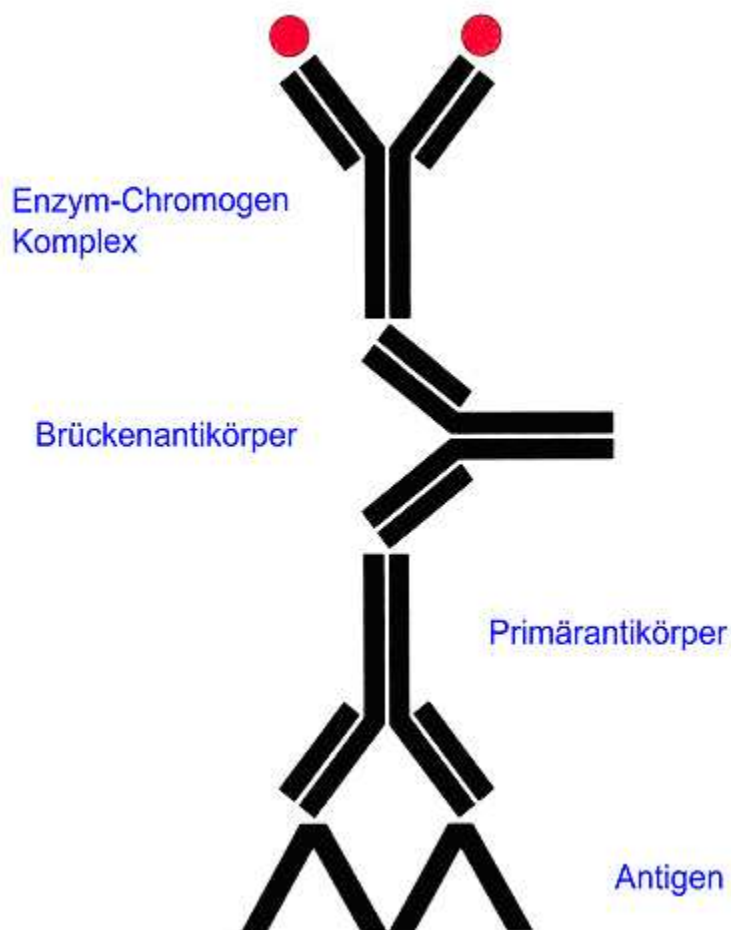


Abb.2: Schema der Immunhistochemie

### **2.3.1 Ablauf der immunhistochemischen Reaktion**

Zunächst erfolgte die Entparaffinierung der Schnittpräparate in Xylol und die Rehydrierung in der absteigenden Alkoholreihe (100, 96, 70 Prozent). Danach ein Waschvorgang für 10 Minuten mit Tris-Puffer pH 7,6.

Die Primärantikörper (Tab. 1) wurden in folgenden Verdünnungsverhältnissen eingesetzt: MUC-1 (Zytomed) 1:100; MUC-2 (Novocastra) 1:100; MUC-5AC (Novocastra) 1:50; MUC-6 (Novocastra) 1:50; CK 13 (Dako) 1:25. CK 7 (BioGenex) und CK 20 (BioGenex) sowie CDX-2 (BioGenex) lagen vorverdünnt vor.

Für einige Antikörper war eine Vorbehandlung nötig. Bei den Muzinantikörpern MUC-2, MUC-5AC und MUC-6 sowie bei CDX-2 wurde mithilfe der Mikrowelle eine Hitzedemaskierung der Antigene durchgeführt. Hierzu wurden die Antikörper 5 Minuten bei 800 Watt und 15 Minuten bei 600 Watt in 0,1 M Citrat-Puffer pH 6,0 gekocht. Bei Zytokeratin 20 wurde die Antigendemaskierung durch Protease-24 (10 Minuten) und bei Zytokeratin 7 mittels Pepsin (5 Minuten) erreicht.

Bei den Antikörpern MUC-1 und Zytokeratin 13 war keine Antigendemaskierung erforderlich.

Die Primärantikörper wurden wie folgt appliziert: MUC-1, MUC-2, MUC-5AC und MUC-6 wurden für 60 Minuten, CDX-2 für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. CK-7 und CK-13 wurden für 30 Minuten und CK-20 für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden die Objektträger mit Tris-Puffer gespült.

Nach der Inkubation mit dem Sekundär (= Brücken) -Antikörper (20 Minuten bei Raumtemperatur) erfolgte ein erneutes Spülen mit Tris-Puffer. Der Inkubation mit dem Alkalische Phosphatasekomplex (20 Minuten bei Raumtemperatur) folgte ein erneutes Spülen mit Tris-Puffer.

Inkubation mit Substratlösung Fast Red für 5 - 10 Minuten bei Raumtemperatur. Abschließendes Spülen mit Tris-Puffer und Gegenfärbung mit Hämalan.

## **2.4 Charakteristika verwendeter Antikörper:**

### **2.4.1 Muzinantikörper (MUC)**

Muzine sind hochmolekulare Glykoproteine, die an der Oberfläche epithelialer Zellen exprimiert werden (Tab.2).

#### **MUC-1, MUC-5AC und MUC-6**

Das Genprodukt von MUC-1 ist ein membranassoziiertes Muzin während MUC-5AC und MUC-6 sekretorische Muzine sind. MUC-1 findet sich in Ösophagus, Magen, Dünn- und Dickdarm. MUC-5AC und MUC-6 können im Magen, nicht

jedoch im Darm nachgewiesen werden. Zusammengefasst werden MUC-1, MUC-5AC und MUC-6 auch als „gastrale“ Muzine bezeichnet.

### **MUC-2**

Das MUC-2 Glykoprotein, auch bekannt unter dem Namen intestinal-mucin related antigen protein, ist ein intestinales Apomuzin. MUC-2 wird in muzinösen Tumoren exprimiert, nicht jedoch in serösen. In normalem Gewebe wird MUC-2 in Dünndarm, Kolon und dem Respirationstrakt nachgewiesen.

Die sogenannten „gastralen“ Muzine MUC-1 , MUC-5AC und MUC-6 dienen zusammen mit MUC-2 der Identifizierung des Typs der intestinalen Metaplasie. Typ I der intestinalen Metaplasie ist durch eine verringerte Expression der „gastralen“ Muzine (MUC-1, MUC-5AC und MUC-6) und Expression von MUC-2 definiert, während Typ II und III der intestinalen Metaplasie eine Koexpression der „gastralen“ Muzine mit MUC-2 aufweisen.

### **2.4.2 Zytokeratine**

Zytokeratine sind Intermediärfilamente, die im Zytoplasma epithelialer Zellen exprimiert werden (Tab. 2).

### **CK-20**

Zytokeratin 20 ist ein niedrig molekulares Zytokeratin. Die Expression von CK-20 beschränkt sich auf intestinales Epithel, oberflächliche Anteile des Epithels der Magenfoveolen, sowie auf Merkelzellen der Epidermis und Urothelien.

### **CK-7**

Zytokeratin 7 ist ein Polypeptid, das im normalen Epithel von Lunge, Zervix, Brust und Gallengängen, sowie im Urothel der Harnblase gefunden wird. In den Epithelien des Gastrointestinaltraktes und im Plattenepithel findet sich normalerweise keine Expression von CK-7.



## CK-13

Zytokeratin 13 wird in normalem Gewebe in suprabasalen Zellen der Epidermis, des Urothels, in Hassalschen Körperchen des Thymus und in verschiedenen nicht verhornenden Plattenepithelien, wie z.B. Ösophagusepithel, exprimiert.

### 2.4.3 CDX-2

CDX-2 ist ein für intestinales Epithel typisches homeodomain Protein. Homeodomain Proteine spielen eine wichtige Rolle in der regionalen Zuordnung von Geweben, der Organogenese und der Spezifizierung des zellulären Phänotyps also der Zelldifferenzierung. In normalen Epithelien wurde CDX-2 in Dün- und Dickdarm sowie im Pankreasgangsystem gefunden.

Name	MW	Verdünnung	Herkunft, Klon	Hersteller
<b>Anti-MUC-1</b>	122 kD	1:100	Monoklonal, Maus, VU-4-H5	Zytomed
<b>Anti-MUC-2</b>	540 kD	1:100	Monoklonal, Maus, Ccp58	Novocastra
<b>Anti-MUC-5AC</b>	130 kD	1:50	Monoklonal, Maus, CLH2	Novocastra
<b>Anti-MUC-6</b>	42 kD	1:50	Monoklonal, Maus, CLH5	Novocastra
<b>Anti-CDX-2</b>	33 kD	Vorverdünnt	Monoklonal, Maus, CDX2-88	BioGenex
<b>Anti-CK-7</b>	54 kD	Vorverdünnt	Monoklonal, Maus, OV-TL12/30	BioGenex
<b>Anti-CK-13</b>	51 kD	1:25	Monoklonal, Maus, DE-K13	Dako
<b>Anti-CK-20</b>	46 kD	Vorverdünnt	Monoklonal, Maus, IT-KS20.8	BioGenex

Tab. 1: Charakteristika verwendeter Antikörper.

Abkürzungen: (MW) Molekulargewicht; (kD) Kilo Dalton

	CK-7	CK-13	CK-20	MUC-1	MUC-2	MUC-5AC	MUC-6	CDX-2
<b>Ösophagus</b>	-	+	-	+	-	k.A.	k.A.	-
<b>Magen</b>	-	-	+	+	-	+	+	-
<b>Dünndarm</b>	-	-	+	-	+	-	+	+
<b>Kolon</b>	-	-	+	-	+	+	+	+

Tab. 2: Verteilung der Zytokeratine und Muzine in normaler Schleimhaut des Gastrointestinaltraktes.

Abkürzungen: (-) keine Expression im Epithel; (+) vorhandene Expression im Epithel; (k.A.) keine Angaben

## **3. Ergebnisse**

### **3.1 Hämatoxilin-Eosin Färbung**

In 49 der 56 Biopsien zeigte sich in der HE-Färbung eine eindeutige Barrett-Mukosa mit intestinaler Metaplasie vom Typ II und/oder III mit Becherzellen (Abb. 4-6).

38 mal wurde eine intestinale Metaplasie überwiegend vom Typ II vorgefunden, 7 mal überwiegend Typ III und 4 mal ein Mischbild aus Typ II und Typ III. In 12 der Präparate bestand zudem das Bild einer floriden Entzündung, z.T. mit Ulzeration.

### **3.2 Beginnende Barrett-Mukosa**

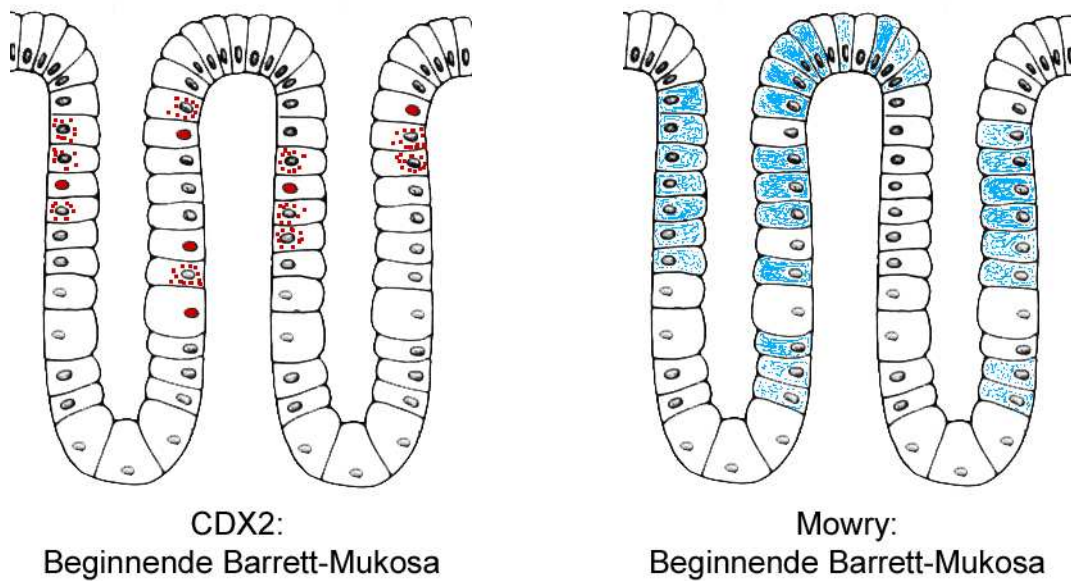
In 7 Biopsien fand sich keine eindeutige Barrett-Mukosa mit Becherzellnachweis. Es zeigte sich hier jedoch ein Bild, das wir als beginnende Barrett-Mukosa interpretierten (Abb. 3, 11-16).

Die beginnende Barrett-Mukosa ist nach unseren Beobachtungen gekennzeichnet durch fehlende Becherzellen und eine positive Reaktion in der Mowry-Färbung in einzelnen Zylinderepithelzellen (Abb. 3, 12, 15)

CDX-2 zeigt hier entweder eine feine zytoplasmatische oder eine nur fokale Kernexpression. In einem Fall war CDX-2 überhaupt nicht nachweisbar (Abb. 3, 13, 16, 18).

MUC-2 wird an keiner Stelle in der beginnenden Barrett-Schleimhaut exprimiert (Abb. 17).

Die beginnende Barrett-Mukosa exprimiert saure Sialomuzine. Sulfomuzine werden hier nicht oder nur schwach exprimiert (Abb.19).



**Abb. 3:** Beginnende Barrett-Mukosa mit Expression von CDX-2 und von Muzinen in der Mowry-Färbung

Färbung / Expression		Beginnende Barrett-Mukosa (n=7)
<b>CDX-2</b>	negativ	1
	zytoplasmatisch positiv	2
	im Kern positiv	4 (fokal)
<b>MUC-2</b>	positiv	0
<b>MOWRY</b>	positiv	7
<b>HID</b>	Sulfomuzine positiv	3 (schwach)
	Sialomuzine positiv	7

**Tab. 3:** Färbemuster und Antikörperexpression in den 7 Fällen der beginnenden Barrett-Mukosa

### **3.3 Alzianblau-HID und Alzianblau-PAS-Färbung**

In der HID-Färbung zum Nachweis von sauren Sialomuzinen und Sulfomuzinen zeigten 5 Präparate eine ausschließliche Expression von Sialomuzinen, 33 mal überwogen die Sialomuzine die Sulfomuzine, 7 mal waren Sialo- und Sulfomuzine gleichhäufig vorhanden und 10 mal überwogen die Sulfomuzine (Abb. 19). Eine Biopsie konnte nicht beurteilt werden, da nicht mehr ausreichend Gewebe vorhanden war. Von den 5 Präparaten mit ausschließlicher Expression von Sialomuzinen gehörten 4 zur beginnenden Barrett-Mukosa (Tab. 3). Die Muzinexpression erfolgte nicht ausschließlich in Becherzellen sondern auch in Zylinderepithelien und den sogenannten Pseudo-Becherzellen. Saure Sialomuzine konnten eher in den oberflächlichen Drüsenanteilen dargestellt werden, während Sulfomuzine eher in den tiefen Drüsenanteilen lagen.

Die Alzianblau-PAS-Färbung war in allen Fällen der Barrett-Mukosa positiv (Abb. 7). In der beginnenden Barrett-Mukosa konnten saure Muzine nachgewiesen werden.

### **3.4 Mowry-Färbung**

Die Mowry-Färbung zum Nachweis saurer Mukosubstanzen war in allen 56 Fällen positiv. Hierbei fand sich eine Expression in allen Becherzellen und Zylinderepithelien der Barrett-Mukosa. Im Randbereich der Barrett-Mukosa, konnte eine feine zytoplasmatische Expression in Zylinderepithelien nachgewiesen werden (Abb. 8, 12, 15). Diese Schleimhautareale entsprechen der beginnenden Barrett-Mukosa. Die Muzinfärbung nach Mowry ist unserer Meinung nach zum Nachweis saurer Muzine deutlich sensitiver als die Alzianblau-PAS-Färbung und zeigt insbesondere bei beginnender Barrett-Mukosa Vorteile im Auffinden veränderter Schleimhaut. Die Mowry-Färbung färbt auch saure Mucopolysaccharide der Interzellulärsubstanz im Stroma (Abb. 12).

### **3.5 CDX-2**

Die Kernexpression von CDX-2 war in 53 Fällen positiv.

In 2 Fällen zeigte sich bei fehlender Kernexpression eine feine zytoplasmatische Expression (Abb. 13, 16). In einem Fall fand sich keine Expression von CDX-2. Diese 3 Fälle boten das Bild einer beginnenden Barrett-Mukosa (Tab. 3).

CDX-2 war in allen Zelltypen der intestinalen Metaplasie positiv, in Becherzellen wie auch in Zylinderepithelien. In den tieferen Drüsenabschnitten war die Expression stärker als zur Oberfläche hin.

### **3.6 Zytokeratine CK-7, CK-13, CK-20 und das Barrett-Muster**

Das sogenannte Barrett-Muster [50] der Zytokeratine CK-7 und CK-20 konnte nur in 15 der 56 Biopsien dargestellt werden (Abb. 20).

CK-7 war in 44 der Fälle in oberflächlichen und tiefen Anteilen der Drüsen nachweisbar. In 11 Fällen konnte CK-7 in tiefen Drüsenanteilen nicht nachgewiesen werden. In einer Biopsie war CK-7 komplett negativ.

CK-20 zeigte in 36 Fällen eine Expression in oberflächlichen Drüsenanteilen bei gleichzeitigem Fehlen der Expression in tiefen Drüsenanteilen. In 16 Fällen zeigten auch die tiefen Drüsenanteile eine Expression von CK-20. 4 Fälle konnten nicht beurteilt werden.

Zytokeratin CK-13 zeigte eine ausschließliche Expression im Plattenepithel des Ösophagus.

### **3.7 Muzine**

MUC-1 war in allen Biopsien positiv. Es zeigte sich eine zytoplasmatische, z.T. perinukleär betonte Expression in Zylinder- und Becherzellen. Die Expression war herdförmig betont und nicht in allen Abschnitten der Barrett-Mukosa nachweisbar. Auch die oberflächlichen Schichten des Plattenepithels des Ösophagus wiesen eine deutliche Positivität auf.

MUC-2 war in 49 Fällen positiv. Hierbei fand sich eine zytoplasmatische Expression ausschließlich in Becherzellen der intestinalen Metaplasie. In 7 Fällen konnte keine Expression von MUC-2 nachgewiesen werden. Es handelte sich in diesen Fällen stets um eine beginnende Barrett-Mukosa (Abb. 17, Tab. 3).

MUC-5AC war in 55 Fällen in den oberflächlichen Drüsenanteilen zytoplasmatisch positiv. 1 Fall war negativ.

MUC-6 war in 51 der Fälle zytoplasmatisch positiv. Die Expression konnte hauptsächlich in den tiefen Drüsenanteilen dargestellt werden.

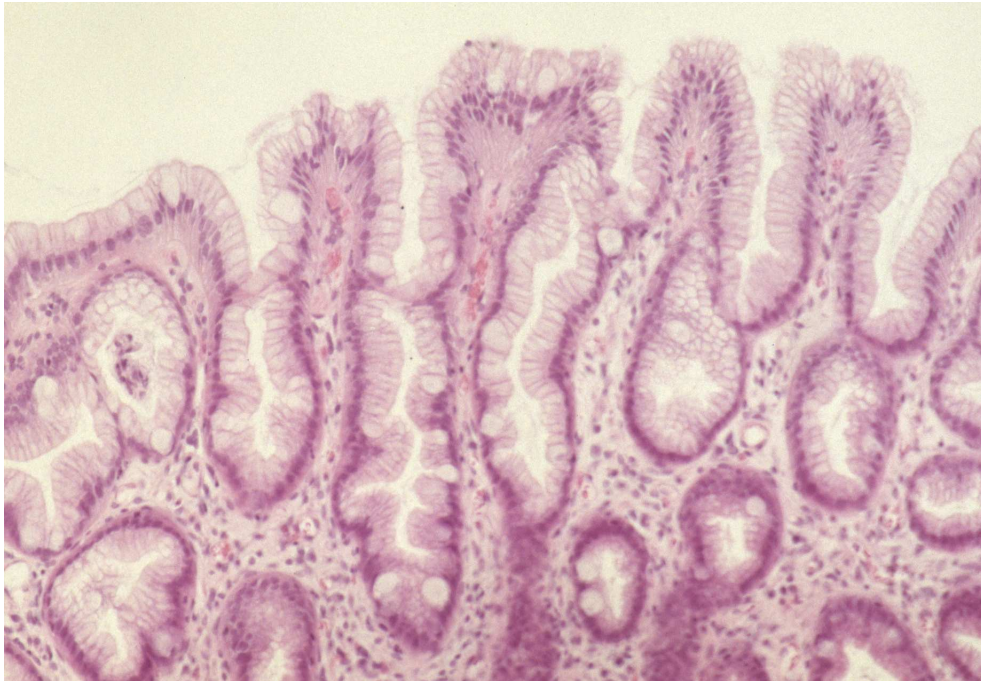


Abb. 4 : Barrett-Mukosa mit unreifer intestinaler Metaplasie und mit nur einzelnen Becherzellen (HE; x250).

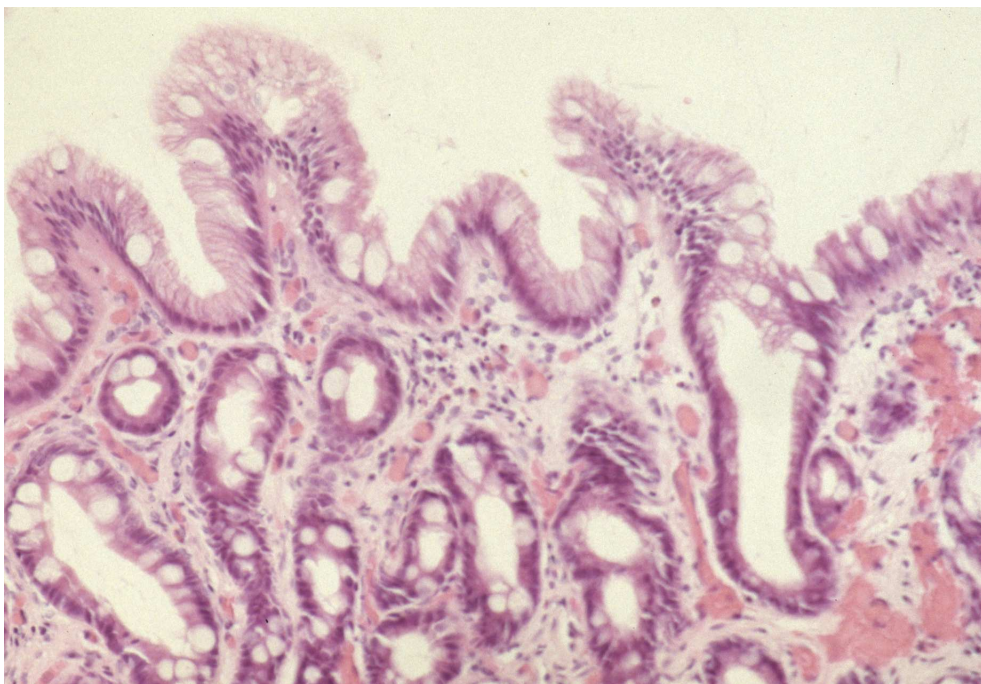


Abb. 5 : Barrett-Mukosa mit unreifer intestinaler Metaplasie und mit höherem Becherzellgehalt im Vergleich zu Abb. 4 (HE; x250).



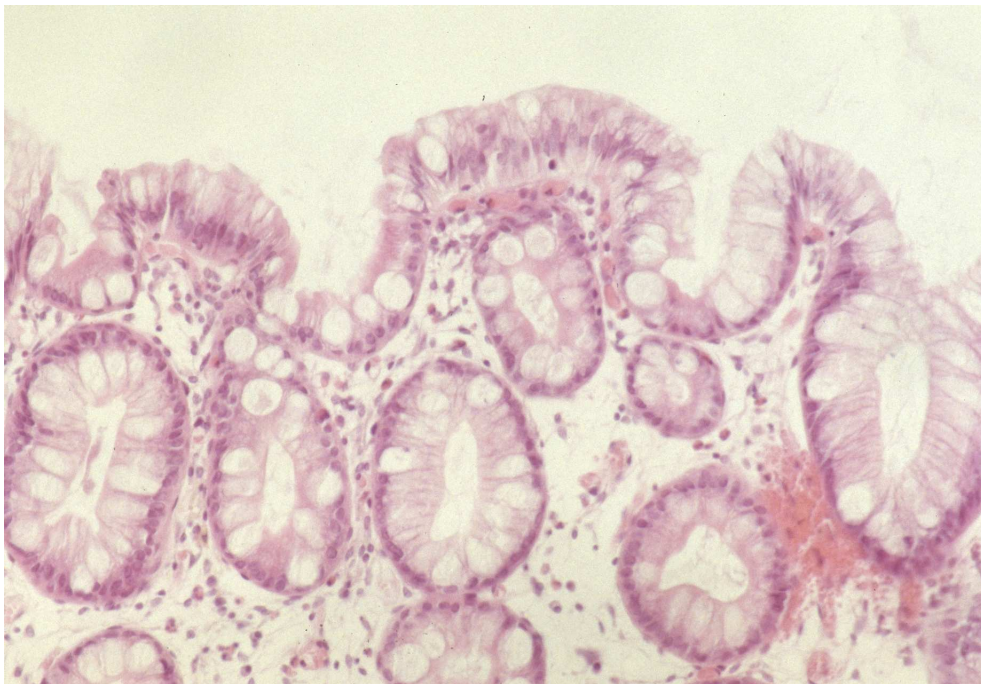


Abb. 6 : Barrett-Mukosa mit unreifer intestinaler Metaplasie und zahlreichen Becherzellen (HE; x250).

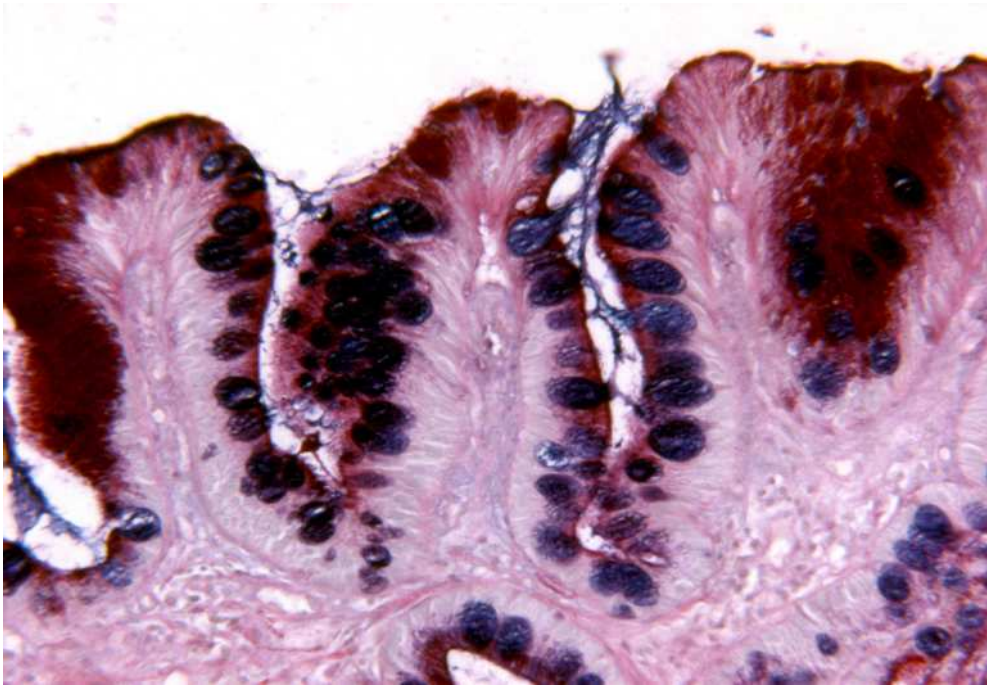
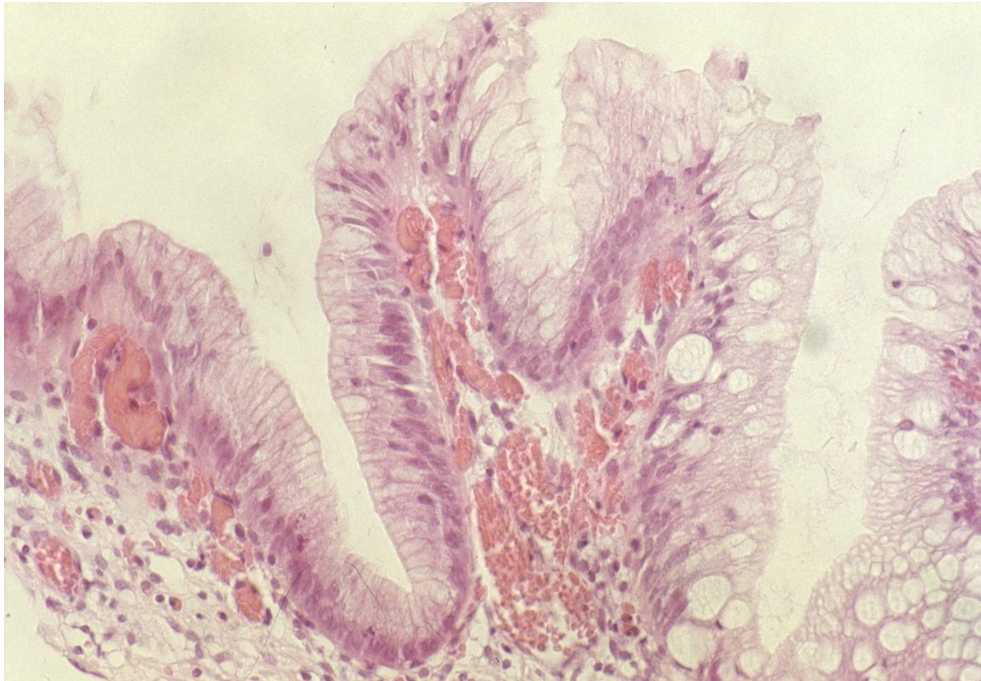
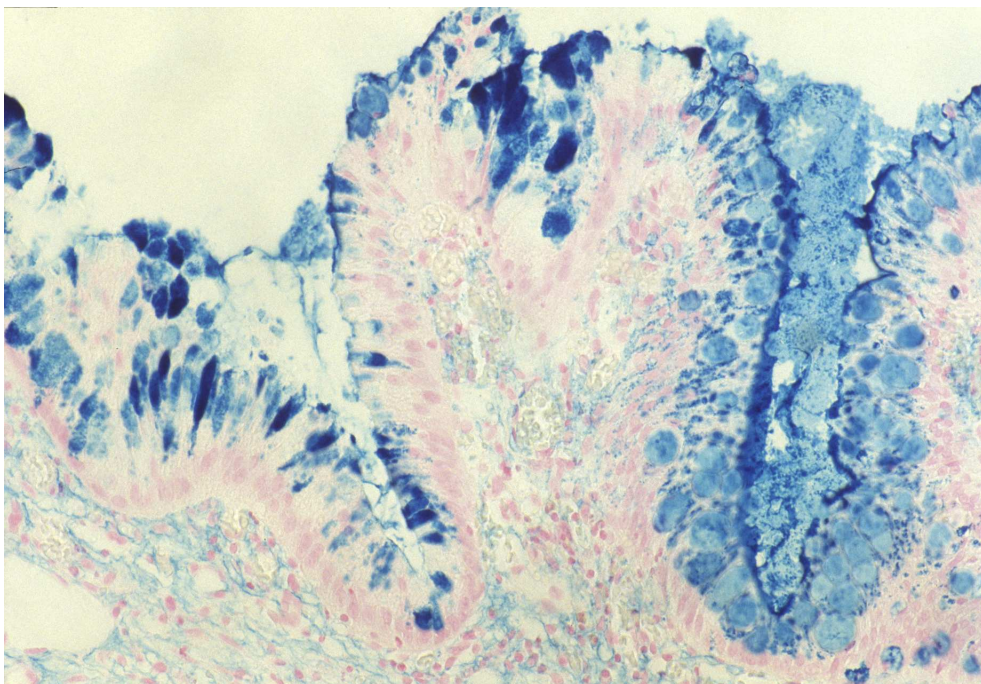


Abb. 7: Barrett-Mukosa mit Darstellung neutraler Muzine (rot) und saurer Muzine (blau) (Alcianblau-PAS; x160).



**Abb. 8 :** Übergang von beginnender Barrett-Mukosa (linke Bildhälfte) in eindeutige Barrett-Mukosa mit Becherzellen (rechte Bildhälfte) (HE; x400).



**Abb. 9:** Deutliche Expression von sauren Muzinen in der eindeutigen Barrett-Mukosa (rechte Bildhälfte). Geringere Expression in der beginnenden Barrett-Mukosa (linke Bildhälfte) (Mowry; x400).



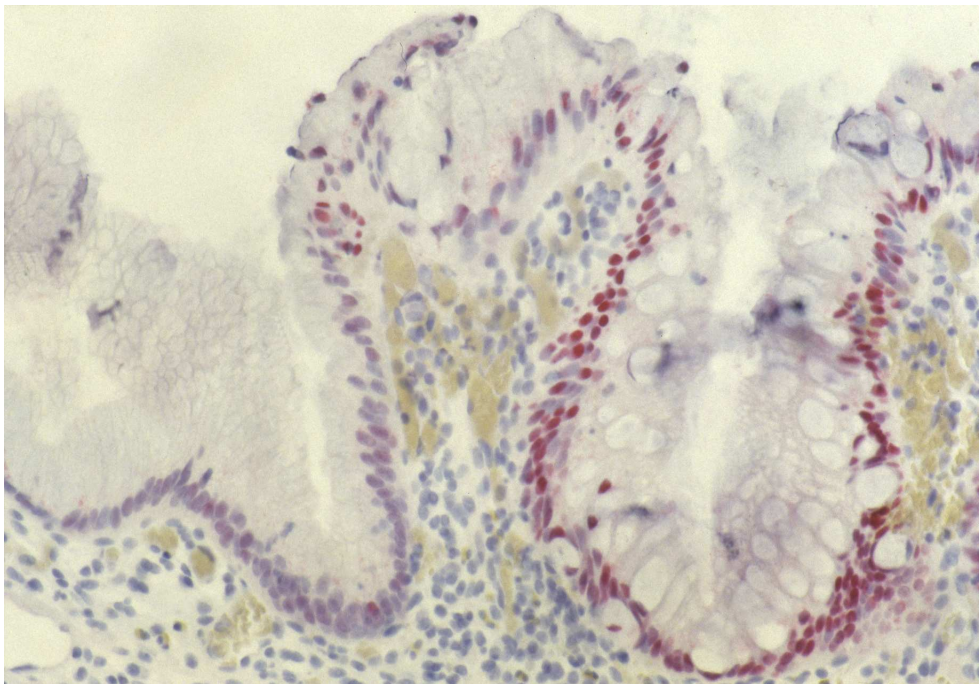


Abb. 10: Deutliche Kernexpression von CDX-2 in der eindeutigen Barrett-Mukosa (rechte Bildhälfte). Nur fokale Kernexpression, bzw. zytoplasmatische Expression in der beginnenden Barrett-Mukosa (linke Bildhälfte) (CDX-2; x400).

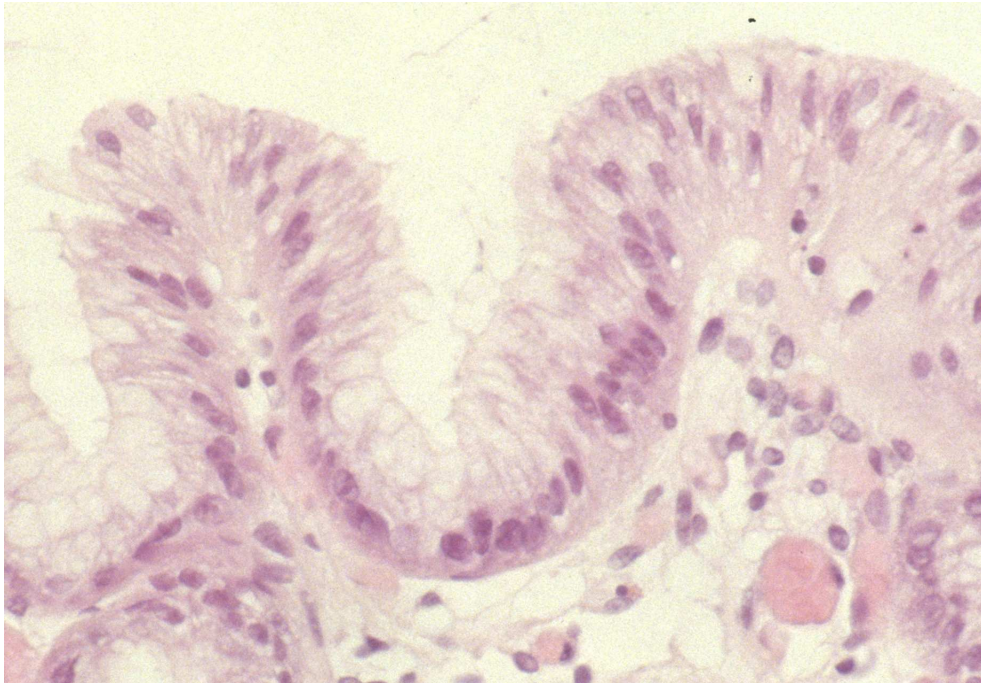


Abb. 11: Beginnende Barrett-Mukosa ohne Nachweis eindeutiger Becherzellen (HE; x800).

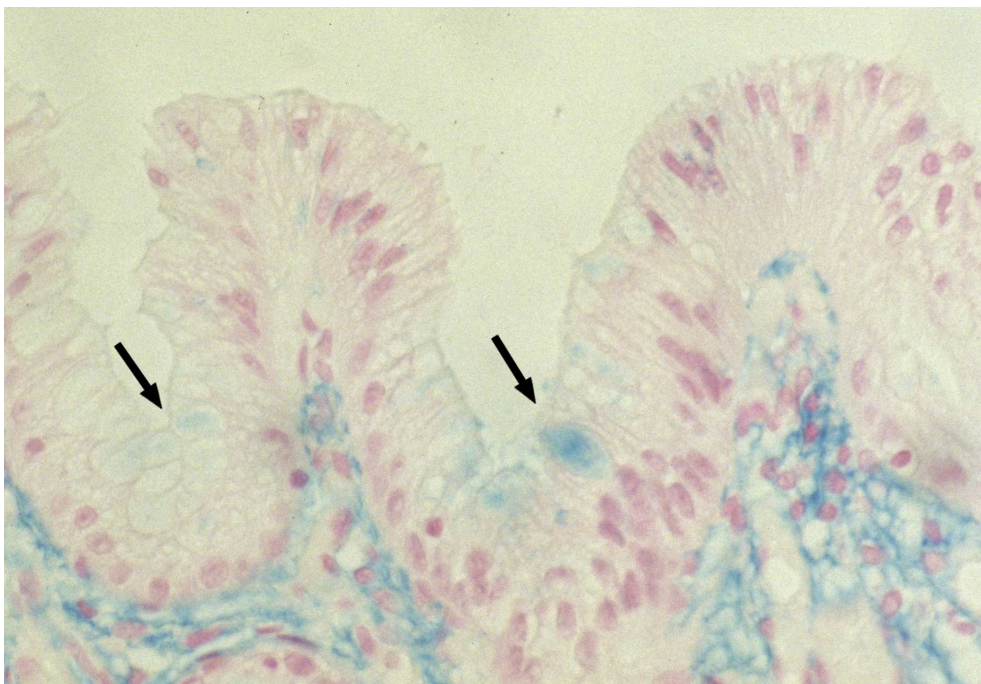


Abb. 12: Beginnende Barrett-Mukosa mit fokaler Expression von sauren Muzinen im Oberflächenepithel (Pfeile). Positive Reaktion saurer Mucopolysaccharide auch im Stroma (unterer Bildrand) (Mowry; x800).

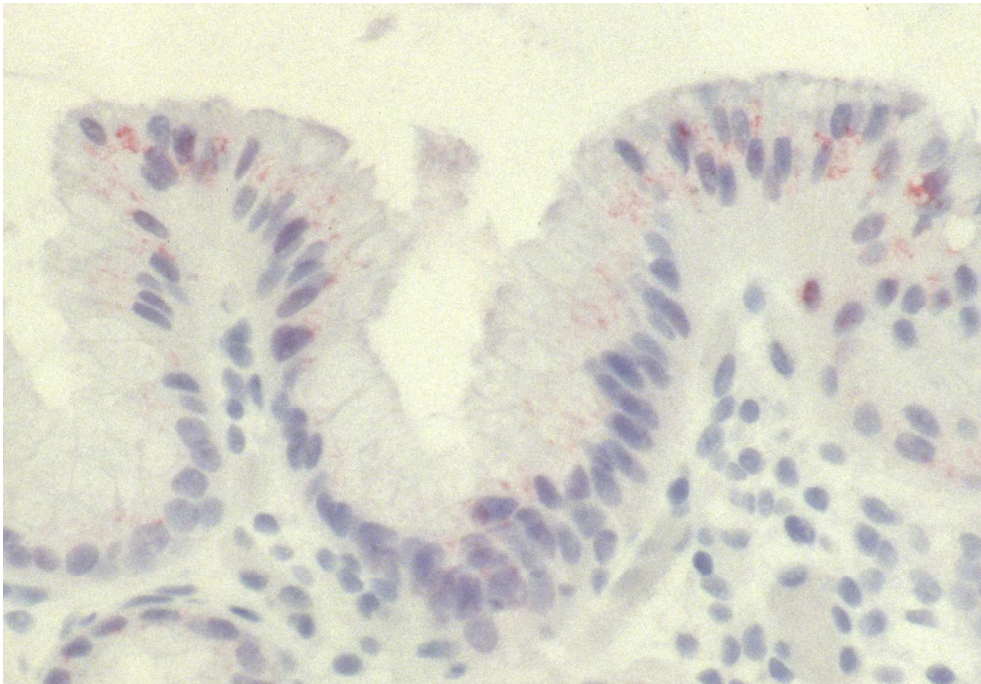


Abb. 13: Beginnende Barrett-Mukosa mit feiner zytoplasmatischer Expression von CDX-2 (CDX-2; x800).



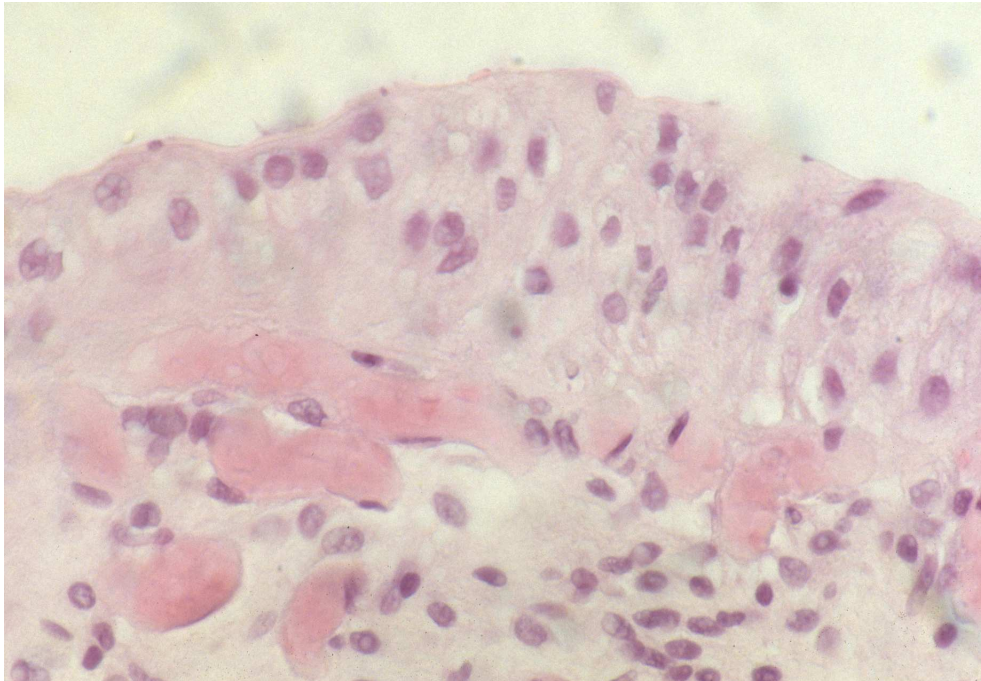


Abb. 14: Beginnende Barrett-Mukosa (HE; x1000).

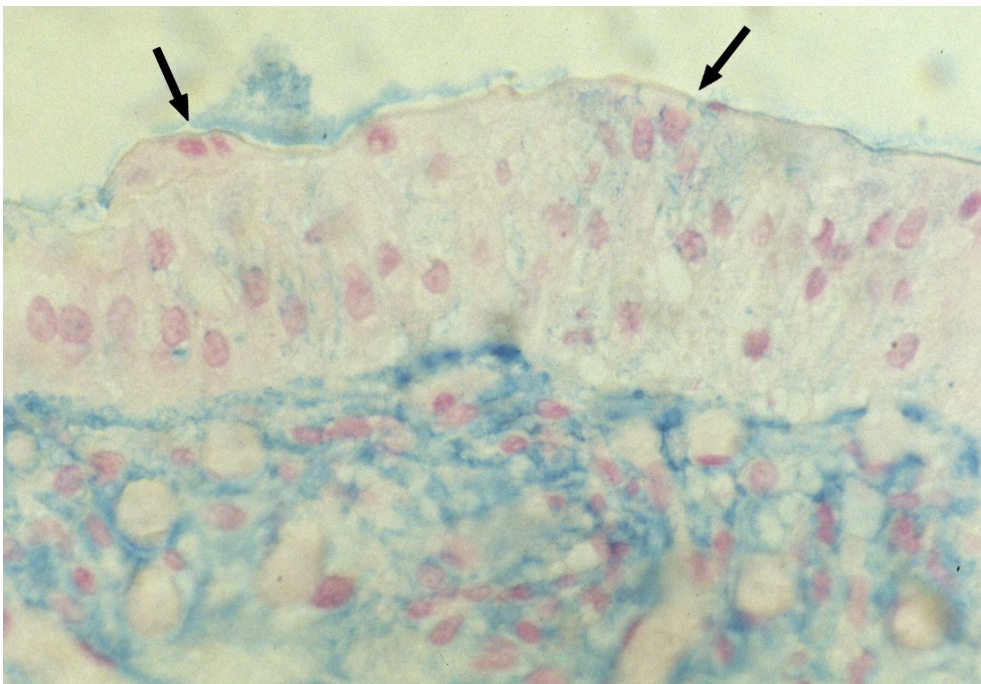


Abb. 15: Beginnende Barrett-Mukosa mit geringer Expression von sauren Muzinen im Oberflächenepithel (Pfeile) (Mowry; x1000).

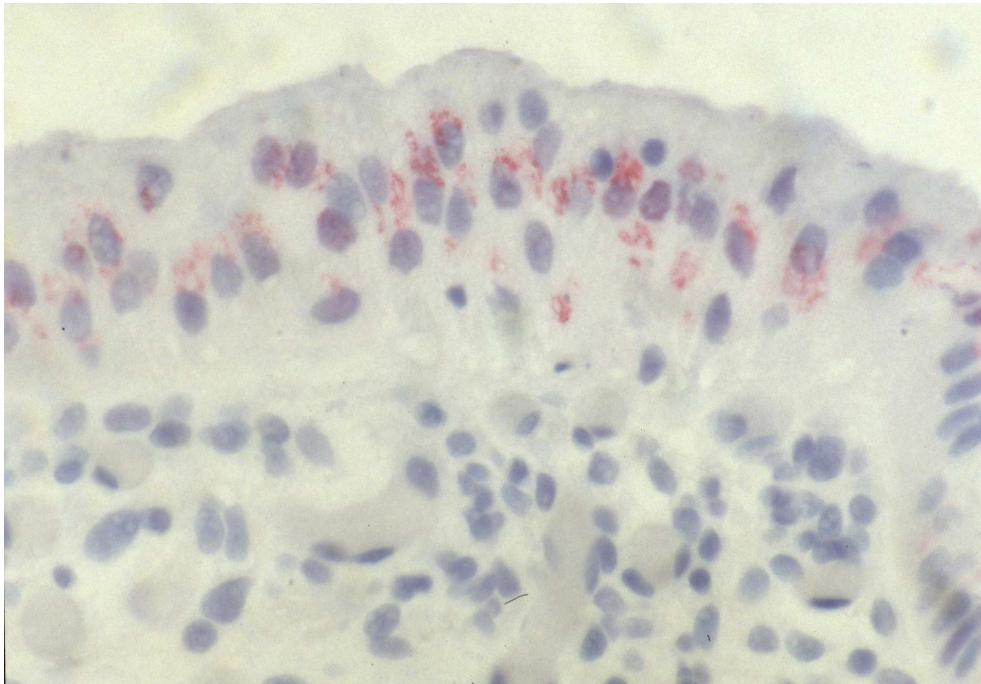


Abb. 16: Beginnende Barrett-Mukosa mit feiner zytoplasmatischer Expression von CDX-2 (CDX-2; x1000).



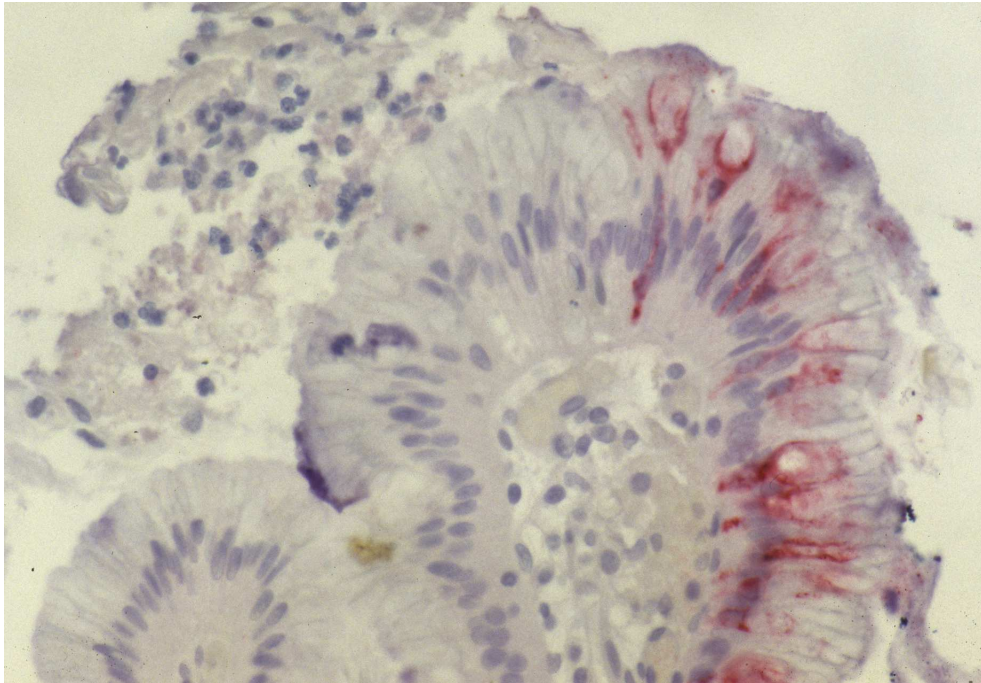


Abb. 17: Übergang von beginnender Barrett-Mukosa (linke Bildhälfte), in eindeutige Barrett-Mukosa mit Becherzellen (rechte Bildhälfte). Deutliche Expression von MUC-2 in eindeutiger Barrett-Mukosa (MUC-2; x400).

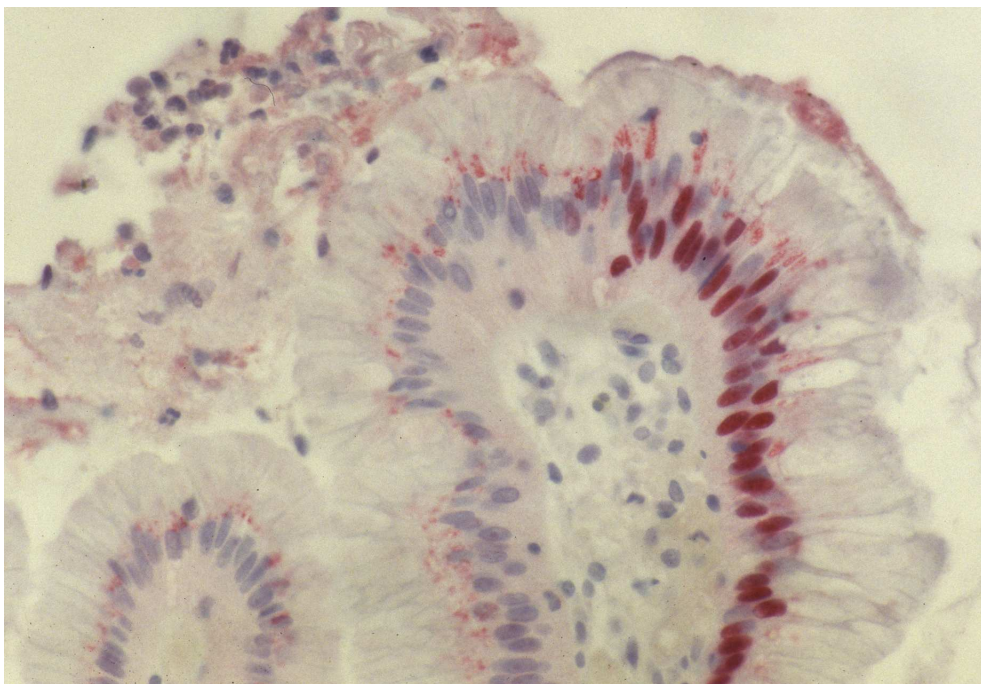


Abb. 18: Feine zytoplasmatische Expression von CDX-2 in beginnender Barrett-Mukosa. Deutliche Kernexpression in eindeutiger Barrett-Mukosa (CDX-2; x400).

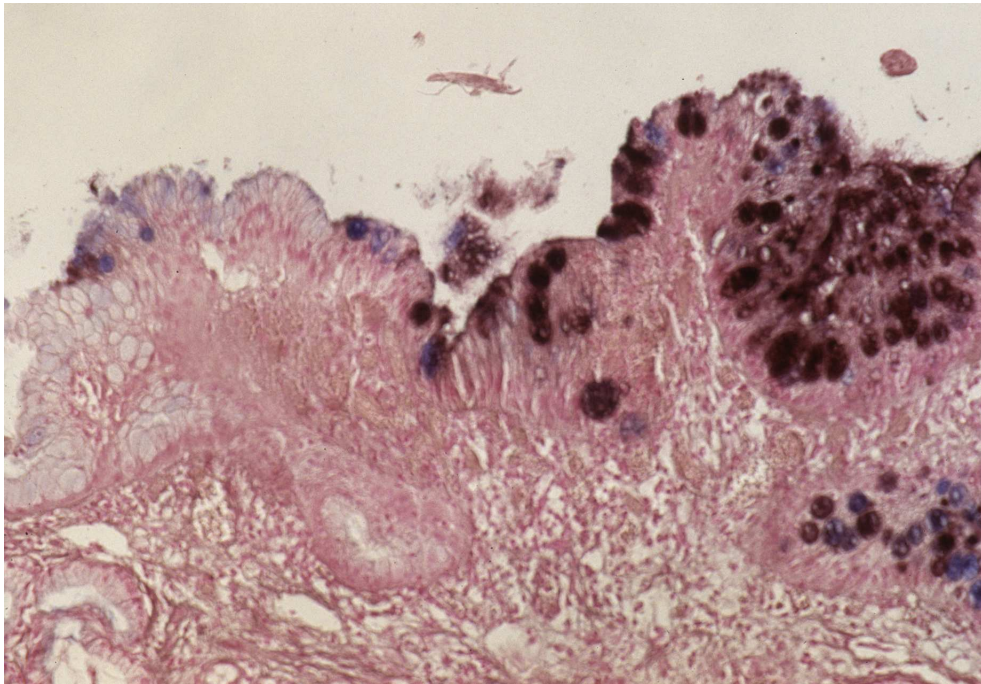


Abb. 19: Übergang von beginnender Barrett-Mukosa (linke Bildhälfte), in eindeutige Barrett-Mukosa (rechte Bildhälfte). Deutliche Expression von Sulfomuzinen in der eindeutigen Barrett-Mukosa (HID; x250).



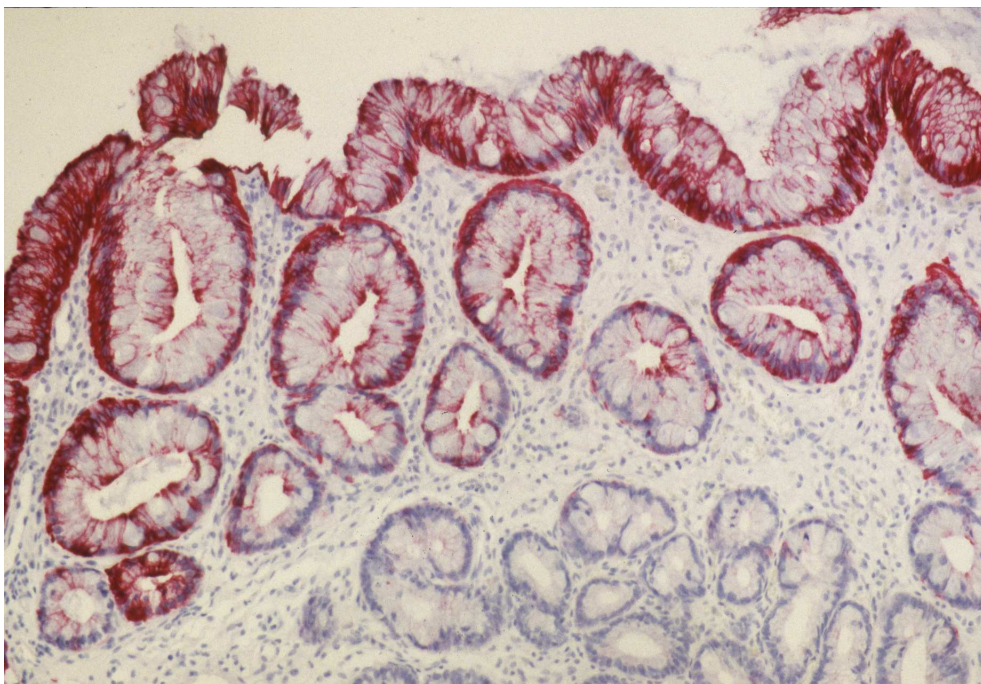
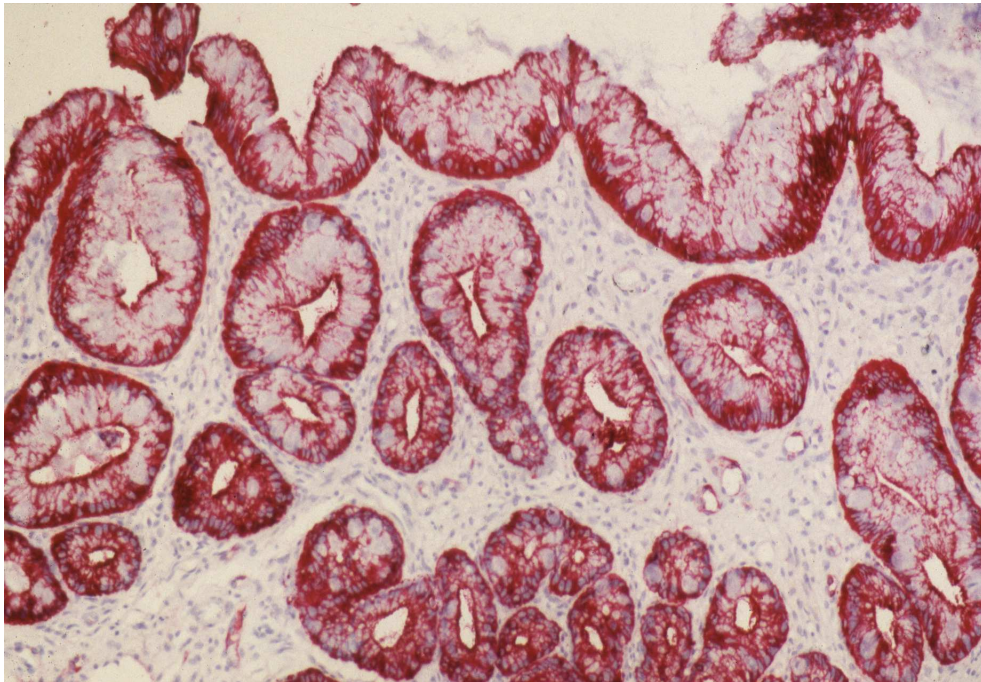


Abb. 20: Sogenanntes Barrett-Muster der Zytokeratine CK-7 (oben) und CK-20 (unten). Expression von CK-7 in den oberflächlichen und tiefen Drüsenanteilen der Barrett-Mukosa. Expression von CK-20 nur in den oberflächlichen Drüsenanteilen (CK-7, CK-20; x250).

## **4. Diskussion**

Die steigende Inzidenz des Adenokarzinoms im Ösophagus und seine schlechte Prognose in einem invasiven Stadium erfordern ein möglichst frühes Erkennen bestehender Risikofaktoren. Zur Zeit ist die Barrett-Mukosa der einzig anerkannte Risikofaktor für die Entwicklung eines Adenokarzinoms im unteren Ösophagus. Die hier vorgestellten Ergebnisse beschreiben mit Hilfe der Expression von CDX-2 und der Muzin-Färbung nach Mowry, das Bild einer beginnenden Barrett-Mukosa, noch bevor diese durch histologisch eindeutig nachweisbare Becherzellen auch in der Routinefärbung darstellbar geworden ist. Daneben wurden die Expressionsmuster der Muzine MUC-1, MUC-2, MUC-5AC und MUC-6 sowie der Zytokeratine CK-7, CK-13 und CK-20 in der Barrett-Mukosa untersucht.

Wir konnten CDX-2 in allen Fällen der eindeutigen, durch Becherzellen histologisch bestätigten, Barrett-Mukosa nachweisen. Hier war stets eine deutliche Kernexpression von CDX-2 vorhanden. Daneben zeigte sich in 7 Fällen ohne Becherzellnachweis ein Expressionsmuster, das wir als beginnende Barrett-Mukosa bezeichnen (Abb. 13-16). Hierbei lag entweder eine feine zytoplasmatische oder nur fokale Kernexpression von CDX-2 vor. Da die zytoplasmatische Expression nur in der beginnenden Barrett-Mukosa nachzuweisen war, ist davon auszugehen, dass sie der Kernexpression voraus geht [18]. In eindeutiger Barrett-Mukosa mit Becherzellen zeigte sich keine zytoplasmatische Expression von CDX-2. Im Randbereich eindeutiger Barrett-Mukosa war oft eine beginnende Barrett-Mukosa mit nur fokaler Kernexpression von CDX-2 nachweisbar (Abb. 7-9, 19-21).

CDX-2 ist ein homeodomain Protein, das für intestinales Epithel typisch ist. Es gibt zunehmend Hinweise darauf, dass homeodomain Proteine eine wichtige Rolle in der Karzinogenese spielen [42]. CDX-2 wird in normalen Geweben nur in Kolon und Rektum exprimiert und zeigt dabei einen abnehmenden Gradienten in der Stärke der Expression in rostrocaudaler Richtung [19]. Es konnte CDX-2 auch in kolorektalen Karzinomen nachweisen und stellte mit zunehmendem Grad der Dysplasie eine abnehmende Expression von CDX-2

fest [19]. In entdifferenzierten Karzinomen war CDX-2 teilweise nicht mehr nachweisbar. Dieser Expressionsverlust in späten Tumorstadien wurde mit dem Abweichen des Tumors von der normalen intestinalen Differenzierung begründet. Möglicherweise spielt CDX-2 daher auch eine Rolle in der Entwicklung und im Erhalt des intestinalen Phänotyps [42]. Die qualitativen und quantitativen Veränderungen der Expression von CDX-2 während der Karzinogenese könnten zudem ein Hinweis darauf sein, dass es sich bei CDX-2 um ein Tumor Suppressor Gen handelt [42]. Mutationen innerhalb des CDX-2 Genes scheinen jedoch im Vergleich zu anderen Tumor Suppressor Genen wie z.B. p53 nur eine untergeordnete Rolle in der Karzinogenese zu spielen. Nähere Untersuchungen des Regulationsmechanismus des Genes sind daher notwendig [71].

Auch in Karzinomen außerhalb von Kolon und Rektum konnte CDX-2 nachgewiesen werden. In einer Studie an 745 Proben aus zahlreichen unterschiedlichen Tumorgeweben konnte Moskalkuk CDX-2, neben der Expression im Adenokarzinom des Kolon, in 20-30 Prozent der Fälle, in Karzinomen von Ösophagus, Magen und Ovar nachweisen. Andere Karzinome exprimierten CDX-2 in weniger als einem Prozent [45].

Bai zeigte ein ähnliches Expressionsmuster von CDX-2 in Magenkarzinomen, wie es zuvor im Kolon beschrieben wurde. Auch hier war die Expression von CDX-2 in Tumoren, die die Tendenz aufwiesen Drüsen zu bilden, stärker als in entdifferenzierten Tumoren. Ferner schien CDX-2 eine wichtige Rolle in der Entwicklung der intestinalen Metaplasie des Magens zu spielen, da die Expression innerhalb der intestinalen Metaplasie signifikant höher war als im Karzinom [2].

CDX-2 zeigt keine Expression in normaler Ösophagus- und Magenschleimhaut. Untersuchungen mittels PCR belegen allerdings eine hohe Expression von CDX-2 messenger-RNA in der Barrett-Mukosa [18]. Wie wir gezeigt haben kann CDX-2 auch mittels Immunhistochemie in der Barrett-Mukosa nachgewiesen werden. Auch Eda fand eine hohe Kernexpression von CDX-2 in der Barrett-Schleimhaut [18]. Phillips hat in einer Studie an 134 Ösophagusbiopsien in allen Fällen einer Barrett-Mukosa eine CDX-2

Expression nachweisen können [53]. Bei Dysplasien innerhalb der Barrett-Mukosa, vornehmlich bei high-grade Dysplasien, und innerhalb der Adenokarzinome fand sich dann eine Verringerung oder sogar ein Verlust von CDX-2, ähnlich wie bei Dysplasien oder Karzinomen von Magen und Kolon. CDX-2 färbte jedoch auch 30 Prozent des Epithels am ösophagogastralen Übergang, ohne definitiven Nachweis von Becherzellen. Diese Beobachtung wertete Phillips als einen Mangel an Spezifität für die Expression von CDX-2. Unsere Ergebnisse zeigen jedoch, dass in diesen 30% der von Phillips beschriebenen Fälle, wahrscheinlich bereits eine beginnende Barrett-Mukosa im Randbereich der eindeutigen Barrett-Mukosa vorgelegen hat (Abb. 10).

Wir haben in der beginnenden Barrett-Mukosa eine zytoplasmatische Expression von CDX-2 darstellen können (Abb. 13, 16). Auch bereits im durch chronischen gastroösophagealen Reflux entzündlich veränderten Plattenepithel des Ösophagus konnte von Eda eine Expression von CDX-2 in Form einer schwachen zytoplasmatischen Expression nachgewiesen werden [18]. Er wertete diese Beobachtung als ein frühes Ereignis in der Entwicklung einer Barrett-Mukosa. Während der Entwicklung von entzündlich veränderter Schleimhaut hin zur Barrett-Mukosa scheint die Expression von Zytoplasma zu Kern zu wechseln. CDX-2 spielt also eine entscheidende Rolle bei der Entstehung der Barrett-Schleimhaut. Unsere Ergebnisse zeigen, dass CDX-2 auch ein Marker für histologisch unsichere Fälle von Barrett-Mukosa sein kann, in denen keine eindeutigen Becherzellen nachweisbar sind. Auch Phillips wertete CDX-2 als hilfreich in histologisch unsicheren Fällen einer Barrett-Mukosa [53].

Aberrante Muzinexpressionen wurden bei verschiedenen Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes beobachtet [14]. Muzine sind Glykoproteine, die durch einen hohen Gehalt an O-glykosidisch gebundenen Oligosaccharidketten charakterisiert sind, die an Threonin und Serin reiche Peptidcores besitzen. Diese Muzine werden von MUC Genen kodiert [26]. Die Abkürzung MUC wird in der Literatur abwechselnd für Gene und Proteine verwendet [10]. Bis heute wurden 12 MUC Gene, genannt MUC 1-12, in menschlichen Zellen identifiziert, wovon jedes für ein spezifisches Polypeptid codiert. Es handelt sich hierbei

entweder um transmembrane oder zytoplasmatische Glykoproteine, die in unterschiedlicher Stärke in den verschiedenen Anteilen des Gastrointestinaltraktes exprimiert werden [24]. Muzine spielen eine protektive Rolle für das darunter liegende Epithel und schützen es vor luminalen Noxen und mechanischer Schädigung. Die regionale Verteilung der unterschiedlichen Muzine deutet daneben auf eine zusätzliche spezifische Funktion hin [67]. In normalem Plattenepithel des Ösophagus finden sich sekretorische Muzine nur in geringer Menge, sie sind jedoch in der Barrett-Mukosa vorhanden. Dixon nahm deshalb an, dass sekretorische Muzine keine Schutzfunktion im normalen Ösophagus vor gastroösophagealem Reflux spielen, dass sie aber wahrscheinlich die Barrett-Mukosa vor einer Schädigung durch sauren Reflux schützen [16].

Über die Muzinexpression in normaler Ösophagusschleimhaut liegen bisher nur wenige Ergebnisse vor. Für MUC-1 zeigt sich eine deutliche Expression im nicht veränderten Plattenepithel des Ösophagus, MUC-2, MUC-5AC und MUC-6 werden hier nicht exprimiert [14, 70]. Muzingene nehmen an der Differenzierung im metaplastischen Prozess der Barrett-Mukosa teil [26]. Untersuchungen zur Muzinexpression in der Barrett-Mukosa zeigen neben der physiologischen Muzinexpression von MUC-1 auch eine Expression von MUC-2, MUC-5AC und MUC-6 [70]. Wir konnten MUC-1, MUC-2, MUC-5AC und MUC-6 in allen Fällen der Barrett-Mukosa nachweisen. War normales Plattenepithel bei der Biopsie miterfasst worden, so zeigte sich auch hier stets eine Expression von MUC-1.

Ähnliche Ergebnisse zeigte Reis in einer Studie über die Muzinexpression in der intestinalen Metaplasie des Magens [55]. Hier fanden sich zwei unterschiedliche Muster in der Expression von Muzinen. Die komplette intestinale Metaplasie vom Typ I wies wenig oder keine Expression von MUC-1, MUC-5AC und MUC-6, jedoch eine starke Expression von MUC-2 in Becherzellen auf. Bei der inkompletten intestinalen Metaplasie vom Typ II/III fand sich dagegen eine Expression von MUC-1 und MUC-5AC in Zylinderepithelien und Becherzellen, MUC-6 wurde unterschiedlich stark und MUC-2 in jedem Fall und hauptsächlich in Becherzellen exprimiert. Diese

Ergebnisse stellten den klassischen Weg der intestinalen Metaplasie von Typ I über Typ II zu Typ III in Frage und führten zu der Hypothese, dass Typ II der erste Schritt der intestinalen Metaplasie sein kann, der entweder in die komplette intestinale Metaplasie mit Verlust der Expression vom MUC-1, MUC-5AC und MUC-6 mündet oder zu einer weiteren Deregulation in Typ III führt [55].

In der Barrett-Schleimhaut exprimieren Zylinderepithelien „gastrale“ apomuzin mRNA, die von MUC-5AC und MUC-6 encodiert werden und „intestinale“ apomuzin mRNA, die von MUC-2 encodiert wird. MUC-2 ist streng auf Becherzellen beschränkt. MUC-5AC findet sich in den tieferen Anteilen der oberflächlichen, MUC-6 in den tiefen Drüsen [26]. Die Expression von MUC-5AC und MUC-6 innerhalb der Drüsen überlappt sich dabei nur geringfügig [70]. Auch in unserem Biopsiematerial konnten wir eine Expression von MUC-6 in den tiefen und von MUC-5AC in den oberflächlichen Drüsenanteilen innerhalb der Barrett-Mukosa beobachten.

Glickman [25] fand darüber hinaus eine signifikant höhere Expression von MUC-1 und MUC-6 in Becherzellen und Zylinderepithelien der Barrett-Mukosa im Vergleich zur intestinalen Metaplasie der Magenkardia und des Magenanstrum. Somit könnten MUC-1 und MUC-6 bei der Unterscheidung der Barrett-Mukosa von der intestinalen Metaplasie der Magenkardia von Nutzen sein.

Die Expression von MUC-1 in Barrett-Mukosa und ösophagealem Adenokarzinom wurde von Sagara [58] als prognostischer Faktor bewertet, da das Genprodukt von MUC-1 ein großes zellmembranassoziiertes Glykoprotein ist und in malignen Tumoren aufgrund seiner Größe als anti-Adhäsionsmolekül wirken könnte. Somit hätte MUC-1 eine Beziehung zu Invasion und Metastasierung. In unserem Biopsiematerial fand sich lediglich eine herdförmige Expression von MUC-1 in der Barrett-Mukosa. Dies könnte entsprechend der Ergebnisse von Sagara bereits als Merkmal eines frühen Stadiums innerhalb eines neoplastischen Prozesses gewertet werden.

In allen Fällen der eindeutigen Barrett-Mukosa mit Ausbildung von Becherzellen fanden wir eine spezifische Expression von MUC-2 ausschließlich innerhalb der



Becherzellen. Auch Guillem [26] zeigte eine auf Becherzellen beschränkte Expression von MUC-2 in der Barrett-Mukosa. In dysplastischer Barrett-Mukosa und im Adenokarzinom des Ösophagus war eine signifikant verringerte Expression von MUC-2 zu beobachten. Chinyama [10] wertete in seinem Biopsiematerial diese ausschließliche Expression von MUC-2 in Becherzellen als Zeichen der fortgeschrittenen Differenzierung, da sekretorische Muzine von hochdifferenzierten Zellen sezerniert werden und die MUC-2 Expression in der Barrett-Mukosa bei Dysplasie verloren geht. Warson [70] fand eine signifikant niedrigere Expression von MUC-2 bei Patienten mit entzündlich veränderter im Vergleich zu dysplastischer Barrett-Schleimhaut. Da MUC-2 ein exklusiver Marker für die intestinale Metaplasie ist, schloss er daraus, dass die MUC-2 Expression mit einem erhöhten Risiko für eine weitere Progression hin zu einer malignen Umwandlung verbunden ist und dass Patienten mit entzündeter Barrett-Mukosa das geringste Risiko für die Entwicklung eines Adenokarzinoms haben.

In zwei vor kurzem veröffentlichten Studien konnten Yamamoto und Mesquita [43, 72] unabhängig voneinander einen direkten Zusammenhang zwischen der Expression von CDX-2 und von MUC-2 nachweisen. Yamamoto zeigte, dass CDX-2 die Transkription von MUC-2 aktiviert und somit eine wichtige Rolle in der Differenzierung von Becherzellen und der intestinalen Metaplasie spielt. Mesquita konnte CDX-2 als wichtigen Regulator für die Expression von MUC-2 in Zelllinien von Magen- und Kolonkarzinomen nachweisen. Die zytoplasmatische Expression von CDX-2, in der von uns beschriebenen beginnenden Barrett-Mukosa, in der aufgrund fehlender Becherzellen noch keine MUC-2 Expression stattfindet, wird durch die Ergebnisse von Yamamoto und Mesquita als frühes Stadium innerhalb des metaplastischen Prozesses bestätigt.

In der Alzianblau-HID-Färbung (Abb. 19) zum Nachweis von sauren Sialomuzinen und Sulfomuzinen zeigte sich in den meisten Fällen unserer Biopsien ein Überwiegen der sauren Sialomuzine. Sulfomuzine überwogen in nur 10 Fällen. Die Muzinexpression erfolgte nicht ausschließlich in Becherzellen sondern auch in Zylinderepithelien und den sogenannten Pseudobecherzellen.

Saure Sialomuzine konnten eher in den oberflächlichen Drüsenanteilen dargestellt werden, während Sulfomuzine eher in den tiefen Drüsenanteilen lagen.

Saure Muzine werden in zwei Gruppen unterteilt: Sialomuzine, entweder N- oder O-azetyliert und Sulfomuzine. Sulfomuzine kommen normalerweise nur in den distalen Darmabschnitten des Ileums und im Dickdarm vor, während Sialomuzine in Dünndarm und in geringer Menge auch im Magen nachgewiesen werden können [9]. Ihre Bedeutung in der intestinalen Metaplasie des Ösophagus wird kontrovers diskutiert. Für Chen [9] sind Sulfomuzine ein spezifischer Marker für eine Becherzellmetaplasie im distalen Ösophagus, während saure Sialomuzine einen sensitiven Marker für die Barrett-Mukosa darstellen. Für einige Autoren deuten Sulfomuzine in der Barrett-Mukosa auf ein erhöhtes Risiko hin, ein Adenokarzinom zu entwickeln [34, 65]. Jass [34] zeigte im Typ III der intestinalen Metaplasie des Ösophagus und in gut differenzierten Adenokarzinomen ähnliche Muzinprofile mit Dominanz der Sulfomuzine. Auch Torrado [65] wies eine höhere Expression von Sulfomuzinen in Adenokarzinomen als in der Barrett-Schleimhaut nach und vermutete deshalb ein höheres Risiko für das Entstehen eines Adenokarzinoms bei Sulfomuzinexpression in der Barrett-Mukosa. Neben einer höheren Expression von Sulfomuzinen könnte auch eine Verringerung der O-azetylierten sauren Sialomuzine eine Rolle in der Pathogenese des Adenokarzinoms des Ösophagus spielen. In einer Multicenterstudie konnte Lapertosa [39] einen kompletten Verlust von O-azetylierten sauren Sialomuzinen in dysplastischer Barrett-Mukosa feststellen. O-azetylierte saure Sialomuzine könnten als Zeichen für eine komplette und reife Kolondifferenzierung angesehen werden. Ein Verlust von O-azetylierten sauren Sialomuzinen in intestinaler Metaplasie vom kolonischen Typ (Typ III) könnte daher ein weiterer Marker für ein erhöhtes Karzinomrisiko sein. Dagegen maß Haggitt [28] weder der Präsenz noch der Prädominanz von Sulfomuzinen in der Barrett-Mukosa eine genügend hohe Sensibilität oder Spezifität für eine Dysplasie oder ein Karzinom zu und sah kein erhöhtes Risiko für das Entstehen eines Adenokarzinoms in einer Barrett-Mukosa mit hohem Anteil an sulfatierten Muzinen im Zylinderepithel.

Auch Jaskiewicz [32] konnte in seinem Biopsiematerial keine Korrelation zwischen einer vorhandenen Dysplasie in der Barrett-Mukosa und der Prädominanz von Sulfomuzinen herstellen. Unsere Ergebnisse zeigen ein Überwiegen der Expression von sauren Sialomuzinen in der Barrett-Mukosa. Hierbei erwies sich vor allem die Muzin-Färbung nach Mowry als sehr sensitiv für den Nachweis von sauren Muzinen. Insbesondere ist dies deutlich in der von uns beschriebenen beginnenden Barrett-Mukosa. Das Überwiegen der sauren Sialomuzine könnte ein Hinweis darauf sein, dass in den frühen Stadien des metaplastischen Prozesses noch keine Expression von Sulfomuzinen stattfindet. Ob die im weiteren Verlauf zunehmende Expression von Sulfomuzinen einen Marker für das Entstehen eines Adenokarzinoms darstellt kann anhand unserer Befunde nicht gesagt werden und müsste in weiteren Studien untersucht werden.

Die histologische Abgrenzung der Barrett-Mukosa des distalen Ösophagus von der intestinalen Metaplasie der Magenkardia wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Die Barrett-Mukosa gilt als anerkannter Risikofaktor für das Entstehen eines Adenokarzinoms, während dies für die intestinale Metaplasie der Magenkardia noch nicht abschließend geklärt ist [20]. Daher ist es von entscheidender Bedeutung für die Risikoeinschätzung eines Patienten, dass eine genaue Lokalisationsbestimmung möglichst bereits bei der endoskopischen Biopsieentnahme vorgenommen wird. Dies ist aber in Fällen einer kurzen Barrett-Mukosa unmittelbar am ösophagogastralen Übergang oftmals schwierig [54]. Vor diesem Hintergrund wurde von Ormsby [51] ein für die Barrett-Mukosa spezifisches Muster der Zytokeratine CK-7 und CK-20 beschrieben (Abb. 1, 20), welches eine Lokalisationsbestimmung nach der endoskopischen Entnahme am Biopsiematerial ermöglichen soll. Die Expression der Zytokeratine CK-7 und CK-20 hat sich bereits zuvor in der Differentialdiagnose verschiedener Karzinome als nutzvoll erwiesen [11]. Ormsby zeigte eine Expression von CK-20 in den oberflächlichen Drüsenanteilen bei gleichzeitiger Expression von CK-7 in oberflächlichen und tiefen Drüsenanteilen der Barrett-Mukosa [51]. Dagegen wird bei der intestinalen Metaplasie der Magenkardia nur CK-20 in den oberflächlichen

Drüsenanteilen exprimiert, während sich CK-7 nicht nachweisen lässt. Dieses sogenannte Barrett Muster CK-7/20 wurde von Jovanovic als spezifisch und sensitiv für einen long-segment Barrett-Ösophagus gewertet [36]. Glickman konnte es auch im short-segment Barrett-Ösophagus nachweisen [25]. Diese Ergebnisse führten zu der Annahme, dass CK-7 und CK-20 verwendet werden können, um die Herkunft der intestinalen Metaplasie am ösophagogastralen Übergang eindeutig auch am Biopsiematerial zu bestimmen [36]. Innerhalb der verschiedenen Typen der intestinalen Metaplasie der Barrett-Mukosa scheint es jedoch auch unterschiedliche Expressionsmuster für diese Zytokeratine zu geben. Der Typ I der intestinalen Metaplasie zeigt eine diffuse CK-7 Expression an der Oberfläche sowie in den oberflächlichen und tiefen Drüsenanteilen. CK-20 wird diffus an der Oberfläche und von oberflächlichen Drüsen exprimiert. Der Typ II ist negativ oder schwach positiv für CK-7 an der Oberfläche und in den Drüsen. CK-20 wird fleckförmig in Drüsen exprimiert. Der Typ III weist eine starke und fleckige CK-7 Expression an der Oberfläche und in den Drüsen auf. CK-20 wird stark diffus an der Oberfläche exprimiert und fleckförmig in Drüsen [36]. Von Glickman wurden jedoch Zweifel an der Praktikabilität dieses Barrett Musters in der täglichen Bewertung von Biopsiematerial geäußert [24]. Voraussetzung für die Anwendung sind nämlich eine genaue Ausrichtung der Gewebeproben, ein vorhandener Ausschnitt der vollständigen Mukosadicke und signifikante Anteile der intestinalen Metaplasie in der Biopsie. In unserem Biopsiematerial konnten wir das sogenannte Barrett-Muster nur in 15 der 56 Biopsien nachweisen (Abb. 20). Zum einen lag dies, wie von Glickman beschrieben, an einer mangelhaften Ausrichtung der Biopsien mit einer horizontalen oder schrägen Schnittebene, so dass in einem Teil der Fälle nur oberflächliche oder nur tiefe Drüsenanteile zur Darstellung kamen. Andererseits war CK-7 in 11 Fällen nicht in den tiefen Drüsenanteilen nachweisbar und CK-20 zeigte in 16 Fällen auch eine Expression in den tiefen Drüsenanteilen. Wir sind daher der Meinung, dass das sogenannte Barrett-Muster der Zytokeratine CK-7 und CK-20 in der täglichen Routine nicht für die Unterscheidung von Barrett-Mukosa und intestinaler Metaplasie der Magenkardea geeignet ist.

Die hier vorgestellte Studie beschreibt das Bild einer beginnenden Barrett-Mukosa mit zytoplasmatischer oder nur fokaler Kernexpression von CDX-2 und dem Nachweis von sauren Muzinen in der Mowry-Färbung, bevor eindeutige Becherzellen nachweisbar sind. Die beginnende Barrett-Mukosa konnte auch im Randbereich der eindeutigen, durch Becherzellen histologisch gesicherten, Barrett-Mukosa dargestellt werden (Abb. 7-10).

Ein Hauptmerkmal der beginnenden Barrett-Mukosa ist das Fehlen einer Expression von MUC-2, was durch die noch nicht vorhandenen Becherzellen erklärt wird (Abb. 17). Das Fehlen einer Expression von MUC-2 und die zytoplasmatische Expression von CDX-2 in der beginnenden Barrett-Mukosa wird durch die Ergebnisse von Yamamoto und Mesquita [43, 72] als frühes Stadium innerhalb des metaplastischen Prozesses bestätigt.

Unsere Ergebnisse zeigen ferner ein Überwiegen der Expression von sauren Sialomuzinen in der Barrett-Mukosa. Insbesondere wird dies deutlich in der beginnenden Barrett-Mukosa (Abb. 19). Dies ist ein Hinweis darauf, dass in den frühen Stadien des metaplastischen Prozesses noch keine oder nur eine geringe Expression von Sulfomuzinen stattfindet.

Die nur herdförmig nachweisbare Expression von MUC-1 in der Barrett-Mukosa könnte entsprechend der Ergebnisse von Sagara [58] als Merkmal eines frühen Stadiums innerhalb eines neoplastischen Prozesses gewertet werden.

Wir konnten zeigen, dass es möglich ist, schon frühe Stadien in der Entwicklung des Adenokarzinoms im distalen Ösophagus nachzuweisen. In der täglichen Routine der histologischen Untersuchungen von Ösophagusbiopsien kann dies mit der einfach handzuhabenden Muzinfärbung nach Mowry gelingen. Bestätigung kann mit Hilfe der immunhistochemischen Expression von CDX-2 erreicht werden. Prospektiv randomisierte Studien sind nun notwendig, um zu zeigen, dass bereits Patienten mit einer beginnenden Barrett-Mukosa einer verstärkten endoskopisch-bioptischen Überwachung unterzogen werden sollten.

## **6. Zusammenfassung**

Das Adenokarzinom des Ösophagus ist weltweit der Tumor mit der stärksten Zunahme der Prävalenz in den letzten 25 Jahren. Die Prognose, besonders in fortgeschrittenen Stadien, ist generell ungünstig. Unsicherheiten in der endoskopischen, wie auch in der histologischen Diagnostik erschweren die Risikoeinschätzung für den einzelnen Patienten. Der einzige anerkannte Risikofaktor für das Entstehen eines Adenokarzinoms des unteren Ösophagus ist die Barrett-Mukosa. Die histologische Diagnose der Barrett-Mukosa ist nur bei einem Nachweis von Becherzellen in der metaplastischen Schleimhaut möglich ("no goblets – no Barrett's"). Wir konnten in der vorliegenden Arbeit an 56 Biopsien zeigen, dass es bereits vor dem Nachweis von Becherzellen möglich ist, eine Barrett-Mukosa histologisch zu diagnostizieren. Mit Hilfe der in der histologischen Routine einfach handzuhabenden Muzinfärbung nach Mowry und dem immunhistochemischen Nachweis des homeodomain Proteins CDX-2, fanden wir eine Schleimhautveränderung im unteren Ösophagus, die wir als beginnende Barrett-Mukosa bezeichnen. Diese beginnende Barrett-Mukosa zeigt eine Expression von sauren Muzinen in der Färbung nach Mowry. CDX-2 wird hier fokal in den Kernen oder zytoplasmatisch exprimiert. Die beginnende Barrett-Mukosa weist keine Becherzellen auf und zeigt daher keine Expression von MUC-2.

Wir konnten ferner zeigen, dass das von Ormsby vorgeschlagene Barrett-Muster der Zytokeratine CK-7 und CK-20 in der täglichen Routine nicht für die Unterscheidung der intestinalen Metaplasie der Magenkardia von der Barrett-Mukosa geeignet ist.

Mit dem Nachweis einer beginnenden Barrett-Mukosa in Biopsien aus dem unteren Ösophagus ist es möglich schon frühzeitig ein erhöhtes Risiko für die Entstehung eines Adenokarzinoms des Ösophagus zu erkennen. Weitere Studien sind notwendig um die Prognose der betroffenen Patienten einschätzen zu können.

## **7. Literaturverzeichnis:**

1. Allison PR, Johnstone AS      The Oesophagus Lined With Gastric Mucous Membrane  
Thorax, 8: 87-101, 1953
2. Bai YQ, Yamamoto H,      Ectopic expression of homeodomain protein  
Akiyama Y, Tanaka H,      Cdx2 in intestinal metaplasia and  
Takizawa T, Koike M, Yagi      carcinomas of the stomach.  
OK, Saitoh K, Takeshita K,      Cancer Letters, 176: 47-55, 2002  
Iwai T, Yuasa Y
3. Barrett NR      Chronic Peptic Ulcer of the Oesophagus and  
"Oesophagitis"  
Br J Surg, 38: 175-182, 1950
4. Barrett NR      The Lower Esophagus Lined by Columnar  
Epithelium  
Surgery, 41: 881-894, 1957
5. Boch JA, Shields HM,      Distribution of Zytokeratin Markers in  
Antonioli DA, Zwas F,      Barrett's Specialized Columnar Epithelium  
Sawhney RA, Trier JS      Gastroenterology, 112: 760-765, 1997
6. Bremner CG, Bremner RM      Barrett's Esophagus  
Surg Clin North Am, 77: 1115-1137, 1997
7. Chandrasoma PT, Der R,      Histological Classification of Patients Based  
Ma Y, Peters J, Demeester      on Mapping Biopsies of the  
T      Gastroesophageal Junction  
Am J Surg Pathol, 27, 929-936, 2003
8. Chaves P, Dias Pereira A,      Recurrent columnar-lined esophageal  
Cruz C, Suspiro A,      segments – study of the phenotypic  
Mendes de Almeida JC,      characteristics using intestinal markers  
Leitao CN, Soares J      Dis Esophagus, 15: 282-286, 2002
9. Chen YY, Wang HH,      Significance of Acid-Mucin-Positive  
Antonioli DA, Spechler SJ,      Nongoblet Columnar Cells in the Distal  
Zeroogian JM, Goyal R,      Esophagus and Gastroesophageal Junction  
Shahsafaei A, Odze R      Hum Pathol, 30: 1488-1495, 1999

10. Chinyama CN, Marschall REK, Owen WJ, Mason RC, Kothari D, Wilkinson ML, Sanderson JD  
Expression of MUC1 and MUC2 mucin gene products in Barrett's metaplasia, dysplasia and adenocarcinoma; an immunopathological study with clinical correlation  
Histopathology, 35: 517-524, 1999
11. Chu P, Wu E, Weiss LM  
Zytokeratin 7 and Zytokeratin 20 Expression in Epithelial Neoplasms: A Survey of 435 Cases  
Mod Pathol, 13: 962-972, 2000
12. Clark GWB  
Effect of Helicobacter pylori Infection in Barrett's Esophagus and the Genesis of Esophageal Adenocarcinoma.  
World J Surg, 27: 994-998, 2003
13. Conio M, Lapertosa G, Bianchi S, Filiberti R  
Barrett's esophagus: an update.  
Crit Rev Oncol Hematol, 46:187-206, 2003
14. Cornberg M, Enss ML, Wagner S  
Differenzielle Muzinexpression im Gastrointestinaltrakt  
Z Gastroenterol, 39: 369-378, 2001
15. DeMeester TR  
Esophageal Carcinoma: Current Controversies  
Semin Surg Oncol, 13: 217-233, 1997
16. Dixon J, Strugala V, Griffin SM, Welfare MR, Dettmar PW, Allen A, Pearson JP  
Esophageal Mucin: An Adherent Mucus Gel Barrier Is Absent in the Normal Esophagus but Present in Columnar-Lined Barrett's Esophagus  
Am J Gastroenterol, 96: 2575-2583, 2001
17. Donahue D, Navab F  
Significance of Short-Segment Barrett's Esophagus  
J Clin Gastroenterol, 25: 480-484, 1997
18. Eda A, Osawa H, Satoh K, Yanaka I, Kihira K, Ishino Y, Mutoh H, Sugano K  
Aberrant expression of CDX2 in Barrett's epithelium and inflammatory esophageal mucosa  
J Gastroenterol, 38: 14-22, 2003



19. Ee HC, Eler T, Bhathal PS, Young GP, James RJ CDX-2 Homeodomain Protein Expression in Human and Rat Colorectal Adenoma and Carcinoma  
Am J Pathol, 147: 586-592, 1995
20. El-Zimaity HMT, Verghese VJ, Ramchatesingh J, Graham DJ The gastric cardia in gastro-oesophageal disease  
J Clin Pathol, 53: 619-625, 2000
21. Falk GW Barrett's Esophagus  
Gastroenterology, 22: 1569-1591, 2002
22. Faller G Histopathologische Diagnostik der Barrett-Schleimhaut und ihrer Neoplasien  
Pathologe, 24: 9-14, 2003
23. Filipe MI Borderline lesions of the gastric epithelium: new indications of cancer risk and clinical implications  
Progress in surgical pathology, 12: 269-290, 1992
24. Glickman JN, Shahsafaei A, Odze RD Mucin Core Peptide Can Help Differentiate Barrett's Esophagus From Intestinal Metaplasia of the Stomach  
Am J Surg Pathol, 27: 1357-1365, 2003
25. Glickman JN, Wang H, Das KM, Goyal RK, Spechler SJ, Antoniolo D, Odze RD Phenotype of Barrett's Esophagus and Intestinal Metaplasia of the Distal Esophagus and Gastroesophageal Junction  
Am J Surg Pathol, 25: 87-94, 2001
26. Guillem P, Billeret V, Buisine MP, Flejou JF, Lecomte-Houcke M, Degand P, Aubert JP, Triboulet JP, Porchet N Mucin Gene Expression And Cell Differentiation In Human Normal, Premalignant and Malignant Esophagus  
Int J Cancer, 88: 856-861, 2000
27. Haggitt RC Barrett's Esophagus, Dysplasia, and Adenocarcinoma  
Hum Pathol, 25: 982-993, 1994
28. Haggitt RC, Reid BJ, Rabanovitch PS, Rubin CE Correlation Between Mucin Histochemistry, Flow Cytometry, and Histologic Diagnosis for Predicting Increased Cancer Risk  
Am J Pathol, 131: 53-61, 1988

29. Haggitt RC, Tryzelaar J, Ellis FH, Colcher H      Adenocarcinoma complicating columnar epithelium lined (Barrett's) esophagus  
Am J Clin Pathol, 70: 1-5, 1978
  
30. Hamilton SR, Smith RRL      The Relationship Between Columnar Epithelial Dysplasia and Invasive Adenocarcinoma Arising in Barrett's Esophagus  
Am J Clin Pathol, 87: 301-312, 1987
  
31. Hayward J      The lower end of the oesophagus  
Thorax, 16: 36-41, 1960
  
32. Jaskiewicz K, Louw J, Anichkov N      Barrett's Oesophagus: Mucin Composition, Neuroendocrine Cells, p53 Protein, Cellular Proliferation and Differentiation  
Anticancer Research, 14: 1907-1912, 1994
  
33. Jass JR      Role of intestinal metaplasia in the histogenesis of gastric carcinoma  
J Clin Pathol, 33: 801-810, 1980
  
34. Jass JR      Mucin histochemistry of the columnar epithelium of the oesophagus: a retrospective study  
J Clin Pathol, 34: 866-870, 1981
  
35. Johnston MH, Hammond AS, Laskin W, Jones DM      The Prevalence and Clinical Characteristics of Short Segments of Specialized Intestinal Metaplasia in the Distal Esophagus on Routine Endoscopy  
Am J Gastroenterol, 91: 1507-1511, 1996
  
36. Jovanovic J, Tzardi M, Mouzas IA, Micev M, Pesko P, Milosavljevic T, Zois M, Sganzos M, Delides G, Kanavaros P      Changing pattern of Zytokeratin 7 and 20 expression from normal epithelium to intestinal metaplasia of the gastric mucosa and gastroesophageal junction  
Histol Histopathol, 17: 445-454, 2002
  
37. Kim SL, Waring JP, Spechler SJ, Sampliner RE, Doos WG, Krol WF, Williford WO      Diagnostic Inconsistencies in Barrett's Esophagus  
Gastroenterology, 107: 945-949, 1994

38. Krishnadath KK, Tilanus HW, van Blankenstein M, Hop WCJ, Teijgeman R, Mulder AH, Bosman FT, van Dekken H  
Accumulation of Genetic Abnormalities during Neoplastic Progression in Barrett's Esophagus  
*Cancer Res*, 55: 1971-1976, 1995
39. Lapertosa G, Baracchini P, Fulcheri E  
Mucin Histochemical Analysis in the Interpretation of Barrett's Esophagus  
*Am J Clin Pathol*, 98: 61-66, 1992
40. Lauwers GY, Scott GV, Vauthey JN  
Adenocarcinoma of the Upper Esophagus Arising in Cervical Ectopic Gastric Mucosa. Rare Evidence of Malignant Potential of So-Called "Inlet Patch"  
*Dig Dis Sci*, 43: 901-907; 1998
41. Loffeld RJLF, Ten Tije BJ, Arends JW  
Prevalence and Significance of Helicobacter pylori in Patients with Barrett's Esophagus  
*Am J Gastroenterol*, 87: 1598-1600, 1992
42. Mallo GV, Rechreche H, Frigerio JM, Rocha D, Zweibaum A, Lacasa M, Jordan BR, Dusetti NJ, Dagorn JC, Iovanna JL  
Molecular cloning, sequencing and expression of the mRNA encoding human Cdx1 and Cdx2 homeobox. Down-regulation of Cdx1 and Cdx2 mRNA expression during colorectal carcinogenesis.  
*Int J Cancer*, 74: 35-44, 1997
43. Mesquita P, Jonckheere N, Almeida R, Ducourouble MP, Serpa J, Silva E, Pigny P, Santos Silva F, Reist C, Silberg D, Van Seuningen I, David L  
Human MUC2 Mucin Gene Is Transcriptionally Regulated by Cdx Homeodomain Proteins in Gastrointestinal Carcinoma Cell Lines.  
*J Biol Chem*, 278: 51549-51556, 2003
44. Mohammed IA, Streutker CJ, Riddell RH  
Utilization of Zytokeratins 7 and 20 Does Not Differentiate between Barrett's Esophagus and Gastric Cardiac Intestinal Metaplasia  
*Mod Pathol*, 15: 611-616, 2002
45. Moskalkuk CA, Zhang H, Powell SM, Cerilli LA, Hampton GM, Frierson HF  
Cdx2 Protein Expression in Normal and Malignant Human Tissues: An Immunohistochemical Survey Using Tissue Microarrays  
*Mod Pathol*, 16: 913-919, 2003

46. Mowry RW Improved Procedure for the Staining of Acidic Polysaccharides by Müller's Colloidal (Hydrous) Ferric Oxide and Its Combination with the Feulgen and the Periodic Acid-Schiff Reactions  
Lab Invest, 7: 566-576, 1958
47. Nandurkar S, Talley NJ, Martin CJ, Ng THK, Adams S Short Segment Barrett's oesophagus: prevalence, diagnosis and associations  
Gut, 40: 710-715, 1997
48. Noffsinger A Neoplastic Risk Assessment in Barrett's Esophagus: How Far Have We Come?  
Hum Pathol, 34: 965-967, 2003
49. Offner FA, Lewin KJ, Weinstein WM Metaplastic Columnar Cells in Barrett's Esophagus: A Common and Neglected Cell Type  
Hum Pathol, 27: 885-889, 1996
50. Ormsby AH, Goldblum JR, Rice TW, Richter JE, Falk GW, Vaezi MF, Gramlich TL Zytokeratin Subsets Can Reliably Distinguish Barrett's Esophagus From Intestinal Metaplasia of the Stomach  
Hum Pathol, 30: 288-294, 1999
51. Ormsby AH, Vaezi MF, Richter JE, Goldblum JR, Rice TW, Falk GW, Gramlich TL Zytokeratin Immunoreactivity Patterns in the Diagnosis of Short-Segment Barrett's Esophagus  
Gastroenterology, 119: 683-690, 2000
52. Paull A, Trier JS, Dalton D, Camp RC, Loeb P, Goyal RK The Histologic Spectrum of Barrett's Esophagus  
N Engl J Med, 295: 476-480, 1976
53. Phillips RW, Frierson HF, Moskalkuk CA CDX2 as a Marker of Epithelial Intestinal Differentiation in the Esophagus  
Am J Surg Pathol, 27: 1442-1447, 2003
54. Reid BJ Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma  
Gastroenterol Clin North Am, 20: 817-834, 1991

55. Reis CA, David L, Correa P, Carneiro F, de Bolos C, Garcia E, Mandel U, Clausen H, Sobrinho-Simones M Intestinal Metaplasia of Human Stomach Displays Distinct Patterns of Mucin (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) Expression *Cancer Res*, 59: 1003-1007, 1999
56. Reynolds RPE Pathophysiology and investigation of Barrett's esophagus *Can J Gastroenterol*, 11: 41B-44B, 1997
57. Rothery GA, Patterson JE, Stoddard CJ, Day DW Histological and histochemical changes in the columnar lined (Barrett's) oesophagus *Gut*, 27: 1062-1068, 1986
58. Sagara M, Yonezawa S, Nagata K, Tezuka Y, Natsugoe S, Xing PX, McKenzie IFC, Aikou T, Sato E Expression of Mucin 1 (MUC1) In Esophageal Squamous-cell Carcinoma: Its Relationship With Prognosis *Int J Cancer*, 84: 251-257, 1999
59. Sampliner RE Practice Guidelines on the Diagnosis, Surveillance, and Therapy of Barrett's Esophagus. *Am J Gastroenterol*, 93: 1028-1032, 1998
60. Shet T, Desai S, Pranbhu S, Amarapurkar D Mucin histochemistry of esophagus in health and malignancy *Indian J Gastroenterol*, 16: 140-141, 1997
61. Siewert JR, Stein HJ Barrett's Cancer: Indications, Extent, and Results of Surgical Resection *Semin Surg Oncol*, 13: 245-252, 1997
62. Skinner DB, Walther BC, Riddel RH Barrett's Esophagus: Comparison of benign and malignant cases *Ann Surg*, 198: 554-565, 1983
63. Spechler SJ Esophageal Columnar Metaplasia (Barrett's Esophagus) *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 7: 1-18, 1997
64. Spechler SJ, Zeroogian JM, Antonioli DA, Wang H, Goyal RK Prevalence of metaplasia at the gastro-esophageal junction *Lancet*, 344: 1533-1536, 1994

65. Torrado J, Ruiz B, Garay J, Asenjo JLG, Tovar JA, Cosme A, Correa P  
Blood-Group Phenotypes, Sulfomucins, and Helicobacter Pylori in Barrett's Esophagus  
Am J Surg Pathol, 21: 1023-1029, 1997
66. Van den Boogert J, Van Hillegersberg R, de Bruin RWF, Tilanus HW, Siersema PD  
Barrett's Oesophagus: Pathophysiology, Diagnosis, and Management  
Scand J Gastroenterol, 33: 449-453, 1998
67. Van Klinken BJW, Dekker J, Büller HA, De Bolod C, Einerhand AWC  
Biosynthesis of mucins (MUC2-6) along the longitudinal axis of the human gastrointestinal tract  
Am J Physiol, 273: 296-302, 1997
68. Van Sandick JW, Van Lanschot JB, Van Felius L, Haringsma J, Tygat GNJ, Dekker W, Drilenburg P, Offerhaus GJA, Ten Kate FJW  
Intestinal Metaplasia of the Esophagus or Esophagogastric Junction  
Am J Clin Pathol, 117: 117-125, 2002
69. Vieth M, Seitz G  
50 Jahre Barrett-Ösophagus. Aktuelle diagnostische Möglichkeiten in der Pathologie  
Pathologe, 22: 62-71, 2001
70. Warson C, Van de Bovenkamp JHB, Korteland-Van Male AM, Büller HA, Einerhand AWC, Ectors NLEY, Dekker J  
Barrett's Esophagus is Characterized by Expression of Gastric-type Mucins (MUC5AC, MUC6) and TFF Peptides (TFF1 and TFF2), but the Risk of Carcinoma Development may be Indicated by the Intestinal-type Mucin, MUC2  
Hum Pathol, 33: 660-668, 2002
71. Yagi OK, Akiyama Y, Yuasa Y  
Genomic structure and alterations of homeobox gene CDX2 in colorectal carcinomas  
Br J Cancer, 79: 440-444, 1999
72. Yamamoto H, Bai YQ, Yuasa Y  
Homeodomain protein CDX2 regulates goblet-specific MUC2 gene expression  
Biochem Biophys Res Commun, 300: 813-818, 2003

## **8. Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen bedanken, die durch ihre Hilfe zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen haben.

Besonders danke ich:

Herrn Prof. Dr. H. Steininger für die Vergabe des Themas und für sein großes persönliches Engagement bei der Betreuung der Arbeit. Insbesondere danke ich ihm für seine stets motivierenden Ratschläge und Anmerkungen, die die Fertigstellung der Arbeit zu jedem Zeitpunkt begleitet haben.

Herrn Dr. H. Müller für die Überlassung der Präparate und des Arbeitsmaterials, sowie für die Möglichkeit die Arbeit am Pathologischen Institut durchzuführen.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen Frau Haag-Sunjic, Frau Fratianu und Frau Marquardt für die Durchführung der Sonderfärbungen und der immunhistochemischen Verfahren.

Den Mitarbeiterinnen des Pathologischen Instituts am Städtischen Krankenhaus Friedrichshafen für Ihre Hilfe beim Heraussuchen und Anfertigen der Schnittpräparate.