

Aus der Klinik für Dermatologie und Venerologie  
der Universität zu Lübeck  
Direktor: Prof. Dr. D. Zillikens

---

Expression von Cadherinen und Kateninen in melanozytären  
Tumoren – Beeinflussbarkeit durch  
UV-Strahlung

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck  
**-Aus der medizinischen Fakultät-**

vorgelegt von  
Florian Grotelüschen  
aus Freiburg

Lübeck 2006

1. Berichtstatter: Prof. Dr. med. M. Tronnier
2. Berichtstatterin: Priv.-Doz. Dr. med. Beate Stöckelhuber

Tag der mündlichen Prüfung: 13.07.07

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 13.07.07

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach

- Dekan der Medizinischen Fakultät -

# Inhaltsverzeichnis

<b><u>1 EINLEITUNG.....</u></b>	<b><u>3</u></b>
<b><u>1.1 Melanozytäre Nävi.....</u></b>	<b><u>3</u></b>
<b><u>1.2 Die Theorie der Abtropfung.....</u></b>	<b><u>4</u></b>
<b><u>1.3 Melanome.....</u></b>	<b><u>5</u></b>
<b><u>1.4 Cadherine und Katenine.....</u></b>	<b><u>8</u></b>
<u>1.4.1 Cadherine.....</u>	<u>8</u>
<u>1.4.2 Katenine.....</u>	<u>9</u>
<b><u>2 FRAGESTELLUNG.....</u></b>	<b><u>10</u></b>
<b><u>3 MATERIAL UND METHODEN.....</u></b>	<b><u>12</u></b>
<b><u>3.1 Gewebematerial.....</u></b>	<b><u>12</u></b>
<u>3.1.1 Archivierte Fälle von melanozytären Tumoren.....</u>	<u>12</u>
<u>3.1.2 Experimentell halbseitig UV-exponierte melanozytäre Nävi.....</u>	<u>12</u>
<u>3.1.2.1 Probanden.....</u>	<u>12</u>
<u>3.1.2.2 UV-Bestrahlung.....</u>	<u>13</u>
<u>3.1.3 Gewebeaufarbeitung.....</u>	<u>13</u>
<b><u>3.2 Immunhistologie.....</u></b>	<b><u>13</u></b>
<u>3.2.1 Reagenzien und Antikörper.....</u>	<u>13</u>
<u>3.2.2 Färbetechnik.....</u>	<u>15</u>
<b><u>3.3 Auswertung.....</u></b>	<b><u>16</u></b>
<b><u>4 ERGEBNISSE.....</u></b>	<b><u>18</u></b>
<b><u>4.1 Patientendaten.....</u></b>	<b><u>18</u></b>
<b><u>4.2 Ergebnisse der immunhistologischen Auswertung.....</u></b>	<b><u>18</u></b>
<u>4.2.1 E-Cadherin .....</u>	<u>19</u>

4.2.2 P-Cadherin.....	20
4.2.3 N-Cadherin.....	21
4.2.4 $\alpha$ -Katenin .....	22
4.2.5 $\beta$ -Katenin.....	23
4.2.6 $\gamma$ -Katenin .....	24
4.2.7 Zelltypen.....	25
4.2.7.1 E-Cadherin.....	26
4.2.7.2 P-Cadherin.....	26
4.2.7.3 N-Cadherin.....	27
4.2.7.4 $\alpha$ -Katenin .....	28
4.2.7.5 $\beta$ -Katenin.....	28
4.2.7.6 $\gamma$ -Katenin.....	29
4.2.8 Pigmentierung.....	30
4.2.8.1 E-Cadherin.....	30
4.2.8.2 P-Cadherin.....	30
4.2.8.3 N-Cadherin.....	31
4.2.8.4 $\alpha$ -Katenin .....	32
4.2.8.5 $\beta$ -Katenin .....	33
4.2.8.6 $\gamma$ -Katenin.....	34
4.2.9 Experimentell halbseitig UV-exponierte melanozytäre Nävi.....	35
<b>4.3 Grafiken.....</b>	<b>36</b>
<b>4.4 Bilder.....</b>	<b>42</b>
<b>5 DISKUSSION.....</b>	<b>48</b>
<b>6 ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>52</b>
<b>7 ANHANG - LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>53</b>
<b>8 DANKSAGUNG.....</b>	<b>60</b>
<b>9 LEBENS LAUF.....</b>	<b>61</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Melanozytäre Nävi

Melanozytäre Nävi, volkstümlich auch „Leberflecke“ genannt, sind eine der häufigsten Hautveränderungen. Sie können angeboren sein. Die meisten entstehen jedoch während der Kindheit und Adoleszenz, ihre Zahl schwankt erheblich. Während sie bei dunkelhäutigen Rassen deutlich seltener sind, haben mitteleuropäische Erwachsene durchschnittlich etwa 20 melanozytäre Nävi (Braun-Falco et al., 2005).

Pathogenetisch handelt es sich bei melanozytären Nävi um benigne Tumoren, die aber zum Teil auf dem Boden autogenetischer „Webfehler“ entstehen (Misapo, 2000). Daher sind sie auch als Hamartome anzusprechen.

Histologisch bestehen melanozytäre Nävi aus den sogenannten Nävuszellen. Diese weisen gegenüber den normalen, dendritischen, einzeln stehenden Melanozyten der epidermalen Basalschicht einige Besonderheiten auf:

- Es sind eher runde Zellen.
- Sie sind meistens in Nestern oder Strängen angeordnet und besitzen eine Basalmembran.
- Sie liegen sowohl in der Junktionszone als auch in der Dermis, die Fähigkeit zur Melaninproduktion nimmt mit zunehmender Tiefe ab.

Da es sich bei Nävuszellen jedoch um eine besondere Differenzierung von Melanozyten handelt, wird in der vorliegenden Arbeit bei der Besprechung der Nävi der Begriff „Melanozyten“ verwendet.

Klinisch und vor allem histologisch lassen sich verschiedene Nävustypen unterscheiden.

- **Junktionsnävus**

Junktionsnävi zeichnen sich histologisch durch eine Vermehrung von Melanozyten ausschließlich in der dermoepidermalen Junktionszone aus. Sie haben die Tendenz, relativ runde Zellnester zu bilden. Klinisch imponieren sie als meist kleine, runde, flache, hell- bis dunkelbraune, regelmäßige Hautveränderungen.

- **Compoundnävus**

Neben Zellnestern in der Junktionszone finden sich in Compoundnävi auch Melanozyten in der Dermis. Diese bilden eher strangförmige oder flächige Zellnester. Klinisch können Compoundnävi leicht erhaben sein.

- **Dermaler Nävus**

Dermale Nävi finden sich vermehrt im Erwachsenenalter. Die Melanozyten liegen ausschließlich in der Dermis, sind in tieferen Schichten meist kleiner und verlieren mit zunehmender Tiefe die Fähigkeit, Melanin zu bilden. Sie sind daher heller als Compoundnävi, in der 2. Lebenshälfte meist hautfarben und oft erhaben.

- **Spitz-Nävus**

Spitz-Nävi kommen vor allem in der Kindheit bis zur Adoleszenz vor. Wegen seiner histologischen Ähnlichkeit zum Melanom wurde der Nävus Spitz früher auch als „juvinales Melanom“ bezeichnet. Es handelt sich jedoch um einen benignen Tumor. Typisch sind epitheloid- und spindelförmige, aber auch bizarre polymorphe Melanozyten. Spitz-Nävi finden sich bevorzugt im Gesicht, sind meist etwa erbsgroß, haben eine rötlich-braune Farbe und typischerweise eine glänzende Oberfläche.

- **Blaue Nävi**

Der Blaue Nävus, auch Naevus coeruleus genannt, entsteht meist in der Kindheit. Typisch ist ein blau-grauer Farbton, der durch dermale, spindelige, pigmentbildende Melanozyten hervorgerufen wird. Dabei besteht ein fließender Übergang zwischen zellarmen und zellreichen Varianten. Letztere weisen häufig auch um Adnexstrukturen gelegene Gruppen rundlicher Melanozyten auf.

## **1.2 Die Theorie der Abtropfung**

1893 publizierte Paul Gerson Unna einen Artikel in der Berliner Klinischen Wochenschrift, in dem er nicht nur den Begriff Nävus zelle prägte, sondern auch eine Theorie beschrieb, nach der Nävus zellen im Laufe des Lebens verschiedene Stadien durchlaufen: die junktionalen Nävus zellen in der frühen Kindheit „tropfen“ demnach im Laufe des Lebens in tiefere Hautschichten ab, es entstehen Compoundnävi und schließlich dermale Nävi.

Auch wenn längst nicht alle Nävi in der frühen Kindheit junktionale Nävi sind und man im Senium nicht nur dermale Nävi findet (Worret und Burgdorf, 1998), wie nach dieser Theorie eigentlich zu erwarten wäre, hat sie bis heute nicht ihre Gültigkeit verloren.

Eine andere Theorie, die des „upward migration“, nach der Nävuszellen, wie auch Melanozyten, direkt von pluripotenten Vorläuferzellen der Neuralleiste abstammen, scheint jedoch mit einigen Studien besser übereinzustimmen (Cramer, 1991; Gontier et al., 2003).

### **1.3 Melanome**

Das Melanom, der maligne Tumor der Melanozyten, ist die häufigste tödlich verlaufende Hauterkrankung. Die Inzidenz des Melanoms lag in Schleswig-Holstein in den Jahren 2001 bis 2003 bei 12,3 / 100 000 Einwohner für Männer und 14,8 / 100 000 Einwohner für Frauen (Katalinic et al., 2003). Weltweit wird eine Zunahme der Erkrankung beobachtet. In Queensland/Australien, dem Land mit der größten Zunahme der Erkrankungshäufigkeit, lag die Inzidenz 1966 bei 16,4 /100 000, 1977 bei 32,7 / 100000 und 1987 bei 49,3 /100000 Einwohner (Katsambas und Nicolaidou, 1996).

Wichtige Risikofaktoren für die Entwicklung maligner Melanome sind die Zahl der melanozytären Nävi am gesamten Integument und die Anzahl atypischer melanozytärer Nävi sowie phänotypische Faktoren wie Hauttyp, Haar- und Augenfarbe. Daneben ist das Ausmaß der Sonnenexposition, insbesondere in Kindheit und Jugend, ein weiterer wichtiger Risikofaktor für die Melanomentstehung (Holman und Armstrong, 1984; Green et al., 1985; Armstrong et al., 1986; Holly et al., 1987; Osterlind et al., 1988; Gallegher et al., 1990; Kelly et al., 1994; Gallegher und McLean, 1995; Carli et al., 2002).

Melanozytäre Nävi stellen die wichtigste und mitunter schwierig abzugrenzende Differentialdiagnose zum Melanom dar. Als klinische Entscheidungshilfe hat sich dabei die sogenannte ABCD-Regel (Asymmetry, Border, Color, Diameter) etabliert. Diese kann mit weiteren Untersuchungen kombiniert werden. Eine wichtige Ergänzung stellt dabei die auflichtmikroskopische Untersuchung dar.

Melanome können klinisch und histologisch weiter unterteilt werden in superfiziell-spreitende Melanome (SSM), noduläre maligne Melanome (NMM), akrolentiginöse Melanome und das Lentigo-maligna-Melanom. In dieser Studie haben wir superfiziell-spreitende Melanome (im Folgenden als SSM abgekürzt) und noduläre Melanome (im

Folgenden als NMM abgekürzt) untersucht, so dass ich hier näher auf diese beiden Melanomtypen eingehen möchte.

- **Das superfiziell-spreitende Melanom**

Das SSM ist der häufigste Typ eines Melanoms (ca. 65%). In der Pubertät ist das SSM extrem selten, tritt aber schon bei jungen Erwachsenen auf und hat sein Erkrankungsmaximum zwischen dem 50. und 60. Lebensjahr. Häufigste Tumorlokalisationen sind bei Frauen die Unterschenkel, bei Männern der Rücken, der Brustbereich sowie der Kopf und Hals. In einem frühen Stadium, der sogenannten radial growth phase (RGP) oder horizontalen Wachstumsphase haben SSM die Tendenz, horizontal in der Epidermis und der oberen (papillären) Dermis zu wachsen. Es entsteht hierbei eine flache, häufig unregelmäßig pigmentierte und unscharf begrenzte Plaque. Erst in der sogenannten vertical growth phase (VGP) oder vertikalen Wachstumsphase potenziert sich offenbar die Fähigkeit der Melanomzellen, invasiv zu wachsen: Es entstehen knotige, erhabene Areale innerhalb der Läsion. Diese Melanome werden auch sekundär knotige Melanome genannt.

- **Das noduläre Melanom**

In nodulären Melanomen ist die horizontale Wachstumsphase sehr kurz und klinisch meist nicht erkennbar. Sie treten daher sehr viel früher in die vertikale Wachstumsphase ein, und es entstehen eher knotige, oft erhabene und zum Teil ulzerierte Tumoren.

- **Stadieneinteilung**

Für die histologische Stadieneinteilung sind vor allem die Tumordicke und die Eindringtiefe wichtig:

Breslow beschrieb 1970 eine Methode, die Tumordicke zu bestimmen (Breslow, 1970). Dabei benutzte er ein okulares Mikrometer und maß den Abstand zwischen der tiefsten Tumordinfiltration und dem Stratum granulosum der Epidermis in Millimetern.

Clark formulierte 1969 eine Einteilung der Eindringtiefe eines Melanoms (Clark et al., 1969). Dabei unterschied er insgesamt fünf Level, auch als Clark Level (Clark's level of invasion) bezeichnet:

- Level 1: Tumor ist auf die Epidermis beschränkt.
- Level 2: Tumor erreicht die papilläre Dermis.
- Level 3: Tumor füllt die papilläre Dermis aus.
- Level 4: Tumor erreicht die retikuläre Dermis.
- Level 5: Tumor füllt die retikuläre Dermis aus und erreicht das subkutane Fettgewebe.

In der Dermatohistologie werden heute sowohl Clark Level als auch die Tumordicke nach Breslow angegeben. Prognostisch entscheidend und daher für die klinische Stadieneinteilung (TNM-Klassifikation) maßgebend ist jedoch die Tumordicke nach Breslow. Einen weiteren wichtigen zusätzlichen Prognosefaktor (verschlechternd) stellt die Ulzeration des Primärtumors dar.

Die TNM-Klassifikation des American Joint Committee on Cancer (AJCC) unterscheidet eine Tumordicke von  $\leq 1,0$  mm (T1), 1,01- 2,0 mm (T2), 2,01- 4,0 mm (T3) und  $> 4,0$  mm (T4). Die T-Klassifikation sowie die resultierenden 5-Jahres- und 10-Jahres-Überlebensraten in der US-amerikanischen Bevölkerung sind in 1.3 dargestellt (Balch et al., 2001).

Bei der Lymphknotenmetastasierung unterscheidet man zwischen einer Mikrometastasierung und einer Makrometastasierung. Als Mikrometastasierung wird eine klinisch nicht erkennbare Metastasierung des Sentinel-Lymphknotens (erster Lymphknoten des Versorgungsgebietes) bezeichnet, welche histologisch nach einer Sentinel-node-biopsy diagnostiziert wird. Als Makrometastasierung wird demgegenüber eine klinisch erkennbare Metastasierung von Lymphknoten bezeichnet, welche durch die therapeutische Lymphadenektomie bestätigt wird.

**Tabelle 1:** T-Klassifikation des AJCC sowie die 5-Jahres- und 10-Jahres-Überlebensraten in der US-amerikanischen Bevölkerung (für N0,M0) nach Balch et al., 2001

T-Klassifikation	Tumordicke nach Breslow	Clark Level (CL) /Ulzeration	5-Jahres-Überlebensrate	10-Jahres-Überlebensrate
T1a	$\leq 1,0$ mm	CL II-III / keine Ulzeration	95,3	87,9
T1b	$\leq 1,0$ mm	CL IV-V oder Ulzeration	90,9	83,1
T2a	1,01- 2,0 mm	Keine Ulzeration	89,0	79,2
T2b	1,01- 2,0 mm	Mit Ulzeration	77,4	64,4
T3a	2,01- 4,0 mm	Keine Ulzeration	78,7	63,8
T3b	2,01- 4,0 mm	Mit Ulzeration	63,0	50,8
T4a	$> 4,0$ mm	Keine Ulzeration	67,4	53,9
T4b	$> 4,0$ mm	Mit Ulzeration	45,1	32,3

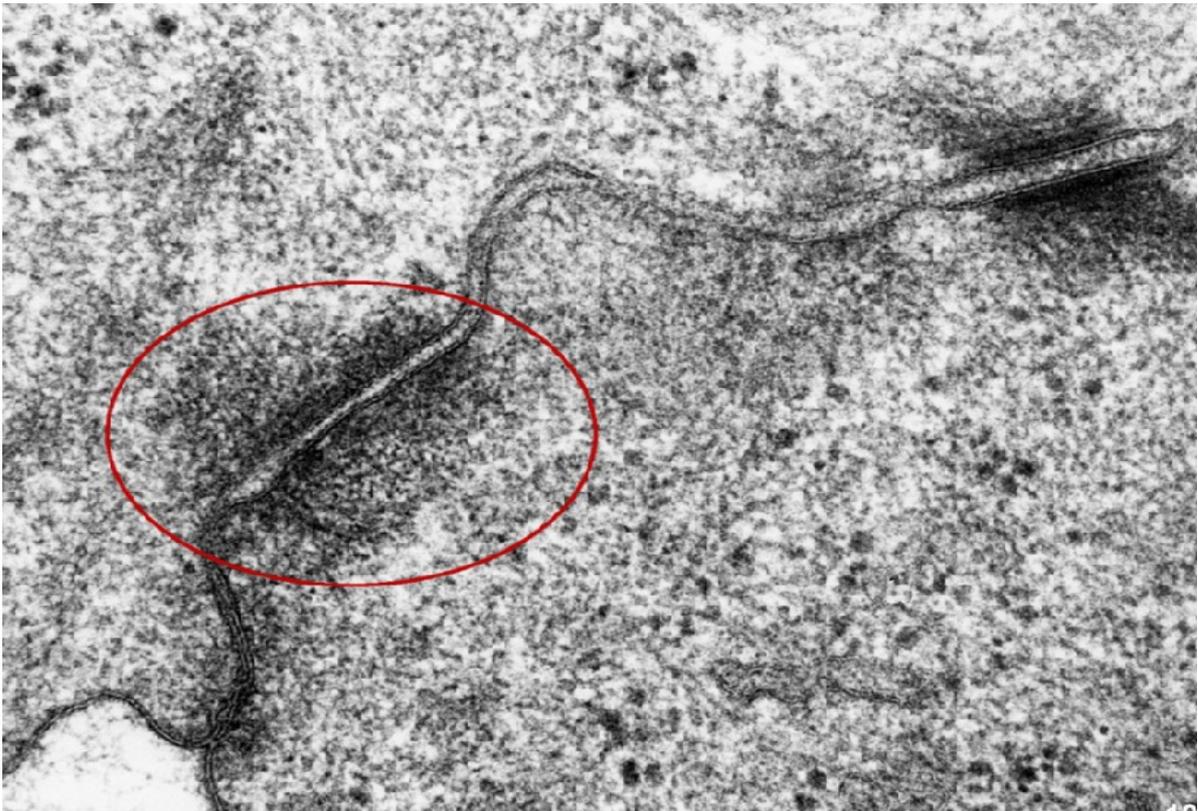
## **1.4 Cadherine und Katenine**

### **1.4.1 Cadherine**

Cadherine sind eine Gruppe von kalziumabhängigen, transmembranösen Glykoproteinen. Sie finden sich auf Zelloberflächen in allen soliden Geweben, mit Verdichtung im Bereich der Adhäsionsorganellen. Sie dienen vor allem der Zell-Zell-Adhäsion, aber auch der Signaltransduktion, der Kontrolle von Zellwachstum (Kandikonda et al., 1996; Soler et al., 1999) und Zelldifferenzierung (Lewis et al., 1994; Jawhari et al., 1997; Redfield et al., 1997). Basierend auf phylogenetischen Studien schlug Pouliot 1992 eine Einteilung der Cadherine in drei Gruppen vor. Zur Gruppe I gehören N-, E-, P-, B-, und R-Cadherin sowie L-CAM, zur Gruppe II gehört M-Cadherin, zur Gruppe III T-Cadherin (Pouliot, 1992). Dabei werden die Cadherine nach dem Gewebe benannt, in dem sie zuerst entdeckt wurden, z.B. E- (epithelial), P- (placental) und N- (neural) Cadherine. Eine andere Einteilung basiert auf molekularen Charakteristika der extrazellulären Domäne und unterscheidet eine „4-repeated family“, „multi-repeated cadherins“ und „others“ (Furukawa et al., 1997).

Die in dieser Arbeit untersuchten sogenannten klassischen Cadherine gehören zur Gruppe I nach Pouliot bzw. zur „4-repeated family“, da sie neben einer transmembranösen und einer kleinen zytoplasmatischen Domäne aus fünf relativ großen extrazellulären Domänen bestehen. Klassische Cadherine findet man vor allem im Bereich der Zonula adhaerens, auch Gürteldesmosom genannt. In der Epidermis sind sie die wichtigsten Zelladhäsionsmoleküle, dabei scheint sowohl für die Interaktion zwischen den Keratinozyten als auch zwischen Keratinozyten und Melanozyten E-Cadherin die größte, P-Cadherin eine untergeordnete und N-Cadherin keine Bedeutung zu haben (Tang et al., 1994).

Bild 1 Elektronenmikroskopische Aufnahme einer Zonula adhaerens (hier Darmmukosa). Rechts oben ist noch ein Desmosom mit dargestellt. (Vergrößerung x 100.000)



© Prof. Dr. H. Wartenberg, Universität Bonn. Mit freundlicher Genehmigung durch Dr. med. H. Jastrow, Universität Mainz (<http://www.uni-mainz.de/FB/Medizin/Anatomie/workshop/EM/EMAlles.html>)

#### 1.4.2 Katenine

Mit ihrer zytoplasmatischen Domäne binden Cadherine (neben Molekülen der p120 Subfamilie) an  $\beta$ - oder  $\gamma$ - Katenin, welche wiederum mit einer Reihe weiterer Zellstrukturen und Moleküle interagieren: Über  $\alpha$ -Katenin, welches mit seinem N-terminalen Ende an  $\beta$ - oder  $\gamma$ - Katenin gebunden ist, bindet der  $\beta$ - /  $\gamma$ - Katenin-Cadherin-Komplex entweder direkt oder indirekt, z.B. über  $\alpha$ -Actinin, an das Zytoskelett und bildet damit die Grundlage der Zell-Zell-Adhäsion. Die Stärke der Katenin-Cadherin-Bindung ist jedoch nicht statisch, sondern wird durch Phosphorylierung von  $\beta$ - oder  $\gamma$ - Katenin reguliert. So führt z.B. eine Exposition mit verschiedenen Wachstumsfaktoren zu einer Phosphorylierung und damit zu einer Abdissoziation des Katenin-Cadherin-Komplexes. Interessanterweise ist  $\beta$ -Katenin in der nicht an Cadherin gebundenen Form darüber hinaus ein wichtiges Molekül des sogenannten Wnt-Signalwegs, welcher über verschiedene Transkriptionsfaktoren die Differenzierung und Regenerierung von Geweben steuert. (Steinberg und McNutt, 1999; Van Aken et al., 2001).

## 2 Fragestellung

Cadherine und Katenine spielen eine wichtige Rolle bei der Zelladhäsion, der Zelldifferenzierung und dem Zellwachstum. Merkmale maligner Tumoren und damit auch der Melanome sind ein unkontrolliertes Wachstum, eine abnorme Differenzierung der Tumorzellen, und im Falle der Metastasierung eine Aufhebung der Zell-Zell-Adhäsion.

Bei der Entstehung maligner Tumoren könnte daher eine Veränderung der Expression von Cadherinen und/oder Kateninen eine Rolle spielen (Vleminckx und Kemler, 1999). So wurde für verschiedene Tumoren eine negative Korrelation von E-Cadherin-Expression und Invasivität bzw. Dedifferenzierung beschrieben (Otto et al., 1993; Slagle et al., 1993; Kinsella et al., 1994; Otto et al., 1994; Pignatelli et al., 1994; Umbas et al., 1994; Veatch et al., 1994; Katagiri et al., 1995; Andrews et al., 1997; Hunt et al., 1997). Beim Melanom zeigen in-vitro Studien ebenfalls eine im Vergleich zu normalen Keratinozyten verminderte Expression von E-Cadherin und eine vermehrte Expression von N-Cadherin (Tang et al., 1994). Eine Transfektion E-Cadherin negativer Melanomzellen mit E-Cadherin cDNA reduzierte das Zellwachstum der Melanomzellen in vitro (Hsu et al., 2000). Eine Herunterregulierung von E-Cadherin wird demnach als ein möglicherweise wichtiges Ereignis in der Tumorentstehung angesehen (Johnson, 1999; Herlyn et al., 2000). In den oben angesprochenen in-vitro Studien wurden Melanomzellen mit normalen Melanozyten verglichen. Hieraus sind nur bedingt Rückschlüsse auf dynamische Veränderungen im Gewebeverband im Rahmen der melanozytären Tumorgenese zu ziehen. Verschiedene immunhistologische Studien, die sich mit Teilaspekten der Cadherinexpression bei melanozytären Tumoren befassten, erbrachten zum Teil widersprüchliche Ergebnisse (Cowley und Smith, 1996; Silye et al., 1998; Sanders et al., 1999). Während zu E- und N-Cadherin, sowie zu  $\beta$ -Katenin bereits publizierte Daten vorliegen, ist über die Expression und Funktion von P-Cadherin sowie  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Katenin bislang recht wenig bekannt.

In dieser Arbeit wurde daher mit immunhistologischen Methoden die Expression von E-, N- und P-Cadherin sowie  $\alpha$ -  $\beta$ - und  $\gamma$ - Katenin in Melanozyten typischer Compoundnävi, dermalen Nävi, blauer Nävi und Spitz-Nävi sowie in Melanomzellen superfiziell spreitender und nodulärer Melanome untersucht, um detaillierte Informationen über die Expression der Zelladhäsionsmoleküle in vivo zu erlangen.

Mit UVB-Licht bestrahlte melanozytäre Nävi zeigen sowohl morphologische als auch immunhistologische Veränderungen, unter anderem eine veränderte Expression von  $\beta$ 1-

Integrinen, einer weiteren Familie melanozytärer Adhäsionsmoleküle (Tronnier et al., 1995 ; Tronnier et al., 1997). Man könnte daher auch eine Veränderung der Expression von Cadherinen und/oder Kateninen erwarten. Daher wurde zusätzlich die Expression von o.g. Cadherinen und Kateninen in zuvor mit UV-Licht bestrahlten melanozytären Nävi untersucht.

## 3 Material und Methoden

Mit Ausnahme der UV-Bestrahlung und Exzision habe ich alle Schritte des experimentellen Teils selbstständig durchgeführt. Bei der Durchführung der Experimente wurde ich eingearbeitet durch die medizinisch-technischen Assistentinnen des histologischen und immunhistologischen Labors, bei der Auswertung wurde ich unterstützt durch Dr. S. Kregel und Dr. S. Bartsch.

### **3.1 Gewebematerial**

#### 3.1.1 Archivierte Fälle von melanozytären Tumoren

Es handelt sich um Gewebematerial von 12 Compoundnävi, 10 dermalen Nävi, 9 Spitz-Nävi, 6 blauen Nävi sowie von 10 superfiziell-spreitenden Melanomen und 7 nodulären Melanomen.

Die Gewebeschnitte stammen aus dem Archiv des histologischen Institutes der Klinik für Dermatologie und Venerologie der Universität S-H Campus Lübeck. Die Gewebelöcke suchte ich anhand der schriftlichen histologischen Befundberichte heraus. Es handelt sich dabei um Paraffinblöcke von formalinfixiertem Exzisionsmaterial. Dabei wurde auch auf eine gute Fixierung vor allem der nodulären Melanome und auf repräsentative Tumorabschnitte geachtet. Die so selektierten Gewebelöcke wurden noch einmal auf die Eindeutigkeit der Diagnose überprüft.

#### 3.1.2 Experimentell halbseitig UV-exponierte melanozytäre Nävi

##### 3.1.2.1 Probanden

Es handelt sich um Gewebematerial von 8 Compoundnävi gesunder Probanden. Die Nävi zeigten weder klinisch noch in der Auflichtmikroskopie Malignitätskriterien. Die Probanden wurden über mögliche Risiken der UV-Bestrahlung und Exzision der melanozytären Nävi aufgeklärt und waren mit dem Eingriff einverstanden. Die Methode war 1992 von der Ethik-Kommission der Universität Lübeck genehmigt worden (Genehmigung 11/92 an Prof. M. Tronnier) und wurde für diese Arbeit nicht abgeändert.

### 3.1.2.2 UV-Bestrahlung

Nach Bestimmung der individuellen minimalen Erythemdosis (MED) mittels einer vorherigen UV-Exposition („Lichttreppe“) wurden die Nävi jeweils zur Hälfte mit schwarzem Klebeband abgedeckt und anschließend einmalig mit der vierfachen MED mit UV-Licht bestrahlt.

Dazu verwendeten wir eine Hochdruck-Quecksilberlampe („bluepoint“ Dr. Hönle, Deutschland) mit einer Wellenlänge von 295-400 nm und einer Intensität von 3,5 mJ/cm<sup>2</sup> im UVB- und 24 mJ/cm<sup>2</sup> im UVA-Bereich. Die Exzision der Nävi erfolgte zwei (n=3) bzw. sieben (n=5) Tage nach der Bestrahlung. Unmittelbar vor der Exzision wurde die Grenze zwischen der bestrahlten und der nicht bestrahlten Hälfte, die an einem scharf begrenzten Erythem erkennbar war, mit einem sehr oberflächlichen Skalpellschnitt markiert. Nach der Exzision wurde das Gewebe in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet.

### 3.1.3 Gewebeaufarbeitung

Von dem Gewebematerial wurden mit einem Rotationsmikrotom (Reichert-Jung, Berlin, Deutschland) Schnitte von ca. 5 µm Dicke angefertigt. Diese wurden über ein Wasserbad auf Poly-Lysin-beschichtete Objektträger (Super Frost Plus, Menzel, Braunschweig, Deutschland) aufgebracht und bei 37 °C 24 h getrocknet. Vor dem Färbeprozess wurden die Schnitte 15 min. in Paraclearlösung (Quartett, Berlin, Deutschland) entparaffiniert und anschließend in Alkohollösungen absteigender Konzentration rehydriert.

## 3.2 Immunhistologie

### 3.2.1 Reagenzien und Antikörper

Verwendete Reagenzien:

a) Tris-Puffer (pH 7,6) :

- 60,55 g Trishydroxymethylaminomethan (Merck, Darmstadt, Deutschland) und 85,20 g Natriumchlorid (Merck, Darmstadt, Deutschland) in 400 ml Aqua dest..
- Mit 1N Salzsäure (Merck, Darmstadt, Deutschland) auf pH 7,6 einstellen.
- Mit Aqua dest. auf 10 l auffüllen.

b) Zitrat-Puffer (pH 6,0):

- Lösung A: 2,101 g Zitronensäure (Merck, Darmstadt, Deutschland) in 100 ml Aqua dest..

- Lösung B: 5,882 g Natriumcitrat (Merck, Darmstadt, Deutschland) in 200 ml Aqua dest..
- Gebrauchslösung: 4,5 ml von Lösung A und 20,5 ml von Lösung B mit Aqua dest. auf 250 ml auffüllen.
- c) Vectastain elite ABC (Avidin-Biotin-Komplex) Kit-Peroxidase, Vector laboratories Inc., USA:  
Verdünnung der Gebrauchslösungen:
  - Normalserum: 15 µl Normalserum auf 1 ml Tris-Puffer.
  - Biotinylierter Sekundärantikörper: 5 µl auf 1 ml Tris-Puffer.
  - Avidin-Biotin-Komplex: je 20 µl der Avidin- und Biotingebrauchslösung auf 1 ml Tris-Puffer.
- d) Peroxidase Substratkit AEC (3-Amino-9-Ethyl-Carbazol), BioPrime Inc, USA:  
Herstellung der Gebrauchslösung: 10 µl AEC-Lösung auf 240 µl Peroxid-Substratpuffer.
- e) Hämalaulösung (Hämatoxylin nach Mayer) zur Gegenfärbung.

Verwendete Antikörper:

- a) E-Cadherin: monoclonaler Maus E-Cadherin Antikörper (sc-8426 Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA) Verdünnung 1:200, entspricht einer Endkonzentration von 2 µg/ml.
- b) P-Cadherin: polyclonaler Ziegen P-Cadherin Antikörper (sc-1501 Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA), Verdünnung 1:200, entspricht einer Endkonzentration von 2 µg/ml.
- c) N-Cadherin: polyclonaler Kaninchen N-Cadherin Antikörper (sc-7939 Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA), Verdünnung 1:100, entspricht einer Endkonzentration von 2 µg/ml.
- d) α-Katenin: polyclonaler Ziegen α-Katenin Antikörper (sc-1495 Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA), Verdünnung 1:200, entspricht einer Endkonzentration von 2 µg/ml.
- e) β-Katenin: polyclonaler Ziegen β-Katenin Antikörper (sc-1496 Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA), Verdünnung 1:200, entspricht einer Endkonzentration von 2 µg/ml.

- f)  $\gamma$ -Katenin: polyclonaler Ziegen  $\gamma$ -Katenin Antikörper (sc-1497 Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA), Verdünnung 1:200, entspricht einer Endkonzentration von 2  $\mu$ g/ml.
- g) Maus anti Ziegen Brückenantikörper (DAKO, Hamburg, Deutschland).

Für die Verdünnung der Antikörper wurde Antibody Diluent with background reducing components (DAKO, Hamburg, Deutschland) verwendet.

### 3.2.2 Färbetechnik

Da es durch die Formalinfixierung zu einer Proteinquervernetzung kommt, war es für die in dieser Arbeit verwendeten Antikörper notwendig, alle Schnitte nach dem Entparaffinieren und Rehydrieren für drei Minuten in Zitratpuffer im Dampfdrucktopf zu kochen. Dadurch wird eine Antigendemaskierung erreicht, das heißt, die durch die Formalinfixierung verursachte Proteinquervernetzung wird wieder aufgehoben, und die Antigenepitope der Cadherine und Katenine können durch die Antikörper wieder erkannt werden. Nach dem Trocknen wurden alle Schnitte für 5 Minuten in Tris-Puffer gespült.

Für die immunhistochemischen Färbungen wurde die Avidin-Biotin-Methode gewählt. Diese nutzt die starke Affinität des Avidins zum Biotin. Dabei wird ein Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex verwendet, der über einen biotinylierten Sekundärantikörper an die Primärantikörper bindet. Die Färbung erfolgte mit AEC (3-Amino-9-Ethyl-Carbazol), das in Gegenwart von Peroxid durch die an das Avidin gebundene Peroxidase eine rötliche Farbe annimmt.

Um die endogene Peroxidase zu blockieren, wurden die Schnitte zuvor in 3% Wasserstoffperoxid für 5 Minuten inkubiert und anschließend wiederum für 5 Minuten in Tris-Puffer gespült.

Die Färbung erfolgte weitestgehend nach dem von Vector laboratories und BioPrime vorgeschlagenen Verfahren.:

1. Inkubation mit Normalserum (Bestandteil des Vectastain elite ABC Kit-Peroxidase-Kits) für 15 Minuten.

2. Inkubation mit dem Primärantikörper für 40 Minuten (zu den verwendeten Konzentrationen der Antikörper siehe Kapitel 3.2.1). Nach Inkubation mit dem N-Cadherin Antikörper erfolgte die Inkubation mit dem Maus anti-Ziege Brückenantikörper für 30 Minuten, da für Ziegen-Primärantikörper kein geeignetes Vectastain elite ABC Kit zur Verfügung stand.
3. Zweimaliges Spülen für jeweils 5 Minuten in Tris-Puffer.
4. Inkubation mit dem biotinylierten Sekundärantikörper (Bestandteil des Vectastain elite ABC Kit-Peroxidase-Kit) für 30 Minuten.
5. Zweimaliges Spülen für jeweils 5 Minuten in Tris-Puffer.
6. Inkubation mit dem Avidin-Biotin-Peroxidase Komplex für 30 Minuten.
7. Spülen für 5 Minuten in Tris-Puffer.
8. Färbung mit AEC für 15 Minuten (zur Vorbereitung der Färbelösung siehe Kapitel 3.2.1 unter Peroxidase Substratkit AEC).
9. Spülen für 15 Minuten in Tris-Puffer.
10. Gegenfärbung mit Hämalaulösung für 10 Minuten.
11. Spülen in Leitungswasser für 15 Minuten.
12. Eindecken mit Glyceringelatine (Kaisers Glyceringelatine, Merck, Darmstadt, Deutschland) und Deckgläsern (Menzel, Braunschwig, Deutschland)

Alle Inkubationsschritte wurden in einer feuchten Kammer durchgeführt, um ein Austrocknen der Gewebeschnitte zu vermeiden.

Als Negativkontrolle (Kontrolle der Spezifität) wurde der Primärantikörper jeweils durch Tris-Puffer ersetzt und die übrigen Schritte gemäß obiger Anleitung durchgeführt.

Als Positivkontrolle dienten Zellen der gefärbten Gewebeschnitte, die das entsprechende Antigen bekannterweise exprimieren:

- Epidermale Keratinozyten für E- und P-Cadherin sowie  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Katenin
- Dermale glatte Muskelzellen und Nerven für N-Cadherin

### **3.3 Auswertung**

Beurteilt wurde die Expression der Cadherine und Katenine auf Melanozyten in den verschiedenen melanozytären Tumoren. Da Cadherine und Katenine Membranmoleküle sind, war es nicht möglich, die Zahl positiver Melanozyten zu bestimmen, da nicht beurteilt werden konnte, welche von zwei benachbarten Melanozyten ein positives Reaktionsmuster aufweist. Es wurde daher eine semiquantitative Einteilung von 0-3 verwendet. Dabei bedeuten

- 0: keine positiven Melanozyten.
- 1: etwa ein Drittel positiver Melanozyten, im folgenden Text als schwache Expression bezeichnet.
- 2: etwa zwei Drittel positiver Melanozyten, im folgenden Text als mäßige Expression bezeichnet.
- 3: annähernd alle Melanozyten waren positiv, im folgenden Text als starke Expression bezeichnet.

Dabei erfolgte die Auswertung getrennt für die jeweilige anatomische Lokalisation der Melanozyten (Epidermis, papilläre Dermis, obere retikuläre Dermis und mittlere bis untere retikuläre Dermis). In Melanomen entsprechen diese der Klassifikation der Eindringtiefen nach Clark. Zusätzlich wurde die Anwesenheit von Melaningranula, die Aggregation der Melanozyten (Aggregation in Nestern oder Strängen vs. einzeln liegende Melanozyten), sowie den morphologischen Typ der Melanozyten bzw. Melanomzellen ausgewertet. Dabei wurde in Anlehnung an die Arbeit von Cowley und Smith (Cowley und Smith, 1996) zwischen kleinen (lymphozytoiden), mittleren, großen (epitheloiden) und spindelförmigen Zellen unterschieden. Auffällige Verteilungsmuster positiver Reaktionen wurden zudem in freier Textform festgehalten.

Aufgrund der semiquantitativen Auswertung war es nur sehr eingeschränkt möglich, statistische Aussagen zu machen, da das verwendete Skalenniveau für die meisten gängigen statistischen Verfahren nicht ausreicht. Daher wurden die Ergebnisse zusammenfassend grafisch und tabellarisch dargestellt.

# 4 Ergebnisse

## 4.1 Patientendaten

Die Patientendaten wurden den Datenblättern der zugehörigen histologischen Präparate entnommen. Das Durchschnittsalter (das jeweils niedrigste und höchste Alter ist in Klammern angegeben) lag bei den Compoundnävi bei 32 (min. 22, max. 47), bei den dermalen Nävi bei 38 (min. 21, max. 67), bei den Spitz-Nävi bei 20 (min. 8, max. 50), bei den blauen Nävi bei 32 (min. 10, max. 46), bei den SSM bei 51 (min. 20, max. 95) und bei den NMM bei 62 (min. 27, max. 91) Jahren. Erwartungsgemäß lag also das Durchschnittsalter der Patienten mit Spitz-Nävi deutlich unter, das der Patienten mit SSM und NMM deutlich über dem der übrigen Gruppen. Zur Verdeutlichung der Altersverteilung habe ich in 4.1 jeweils fünf Altersklassen gebildet und die Anzahl der Patienten in den jeweiligen Klassen aufgelistet. Die Anzahl der UV-bestrahlten Nävi war für eine sinnvolle statistische Auswertung zu gering, so dass darauf verzichtet wurde.

**Tabelle 2** Anzahl der Patienten in der jeweiligen Altersklasse

Alter in Jahren	Compoundnävi	Dermale Nävi	Spitz-Nävus	Blaue Nävi	SSM	NNM	Total
Bis 20	0	0	6	1	1	0	8
21 bis 40	9	6	2	3	2	2	24
41 bis 60	2	4	1	2	4	1	14
61 bis 80	0	1	0	0	2	1	4
Über 80	0	0	0	0	1	3	4

## 4.2 Ergebnisse der immunhistologischen Auswertung

Generell waren die positiven Reaktionen der immunhistologischen Färbungen von E- und P-Cadherin sowie  $\beta$ - und  $\gamma$ -Katenin nur entlang der Zellmembran, von  $\alpha$ -Katenin und N-Cadherin sowohl entlang der Zellmembran als auch im Zytoplasma lokalisiert.

Die Keratinozyten der basalen Epidermis waren mit allen Antikörpern außer N-Cadherin positiv, in den suprabasalen Schichten der Epidermis nahm die Intensität hier generell, besonders aber bei P-Cadherin ab. In periläsionaler Epidermis konnten wir im Allgemeinen keine Veränderung im Vergleich zur Expression der läsionalen Keratinozyten beobachten

(Ausnahmen siehe unten). Wie bereits erwähnt, beziehen sich die Angaben in den folgenden Abschnitten auf die Immunreaktivität der Melanozyten bzw. Melanomzellen.

#### 4.2.1 E-Cadherin

Die Expression von E-Cadherin war in den junktionalen Anteilen der Compoundnävi mäßig bis stark, in der Dermis deutlich schwächer. Dermale Nävi zeigten eine eher mäßige Expression in der papillären Dermis. Diese nahm in tieferen Schichten ebenfalls ab und war in der mittleren bis tiefen retikulären Dermis nur noch schwach ausgeprägt. Die junktionalen Nester der Spitz-Nävi zeigten durchgehend eine mäßige bis starke Expression. Nur einer der von uns untersuchten Spitz-Nävi hatte sowohl junktionale als auch dermale Nester. In diesem Fall war die Expression sowohl der junktionalen als auch der dermalen Nester nur schwach ausgeprägt. Bei den von uns untersuchten blauen Nävi war die Expression nicht einheitlich. Zwei zeigten eine schwache, zwei eine mäßige und zwei eine starke Expression, bei allen nahm die Expression aber in den tieferen Schichten der Dermis nicht ab. In den superfiziell-spreitenden Melanomen war die Expression von E-Cadherin in den epidermalen Anteilen mäßig bis stark, deutlich schwächer in der Dermis und insgesamt in etwa vergleichbar mit der der Compoundnävi. In nodulären Melanomen war sie demgegenüber deutlich schwächer und nahm auch nicht zur Tiefe hin ab. Hier zeigte sich im allgemeinen eine eher uneinheitliche, anscheinend klonale Verteilung mit deutlich positiven und negativen Bereichen in einem Präparat. Die Mittelwerte der Expression von E-Cadherin auf den Melanozyten in den verschiedenen Nävi und Melanomen sind in 4.2.1 aufgeführt. Für eine detaillierte Zusammenfassung siehe 4.3 bis 4.3 auf Seite 35.

**Tabelle 3:** Mittelwert der Expression von E-Cadherin in Melanozyten bzw. Melanomzellen. Unter dem Mittelwert ist jeweils die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in der entsprechenden Hautschicht Melanozyten aufwiesen. Die Farbgebung erfolgte für den Mittelwert gemäß unten abgebildeter Skala.

	Epidermis	Papilläre Dermis	Obere retikuläre Dermis	Mittlere und untere retikuläre Dermis
Compoundnävi (n=12)	2,25 n=12	0,92 n=12	0 n=3	
Dermale Nävi (n=10)		1,33 n=9	0,7 n= 10	0,5 n=10
Spitz-Nävi (n=9)	2,33 n=9	1 n=1		
Blaue Nävi (n=6)		3 n=1	2 n=6	2 n=6
SSM (n=10)	2,3 n=10	1,8 n=10	2 n=2	2 n=1
NMM (n=6)	1,83 n=6	1,43 n=7	1,67 n=6	1,67 n=6



#### 4.2.2 P-Cadherin

In Compoundnävi, dermalen Nävi und Spitz-Nävi war die Expression von P-Cadherin ähnlich der von E-Cadherin. Die Abnahme der Expression in den tieferen Hautschichten war hier jedoch weniger ausgeprägt, aber immer noch deutlich erkennbar. Blaue Nävi zeigten sich bis auf einen Fall mit schwacher Expression in der papillären Dermis P-Cadherin negativ. Die Expression von P-Cadherin in SSM und NMM war mäßig bis stark. Auch hier fanden wir eine leichte Abnahme der Expression in tieferen Hautschichten. Die Mittelwerte der Expression von P-Cadherin auf den Melanozyten in den verschiedenen Nävi und Melanomen sind in 4.2.2 aufgeführt. Für eine detaillierte Zusammenfassung siehe 4.3 bis 4.3 auf Seite 35.



**Tabelle 5:** Mittelwert der Expression von N-Cadherin in Melanozyten bzw. Melanomzellen. Unter dem Mittelwert ist jeweils die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in der entsprechenden Hautschicht Melanozyten aufwiesen. Die Farbgebung erfolgte für den Mittelwert gemäß unten abgebildeter Skala.

	Epidermis	Papilläre Dermis	Obere retikuläre Dermis	Mittlere und untere retikuläre Dermis
Compoundnävi (n=12)	0 n=12	0 n=12	0 n=3	
Dermale Nävi (n=10)		0 n=8	0 n=9	0 n=9
Spitz-Nävi (n=9)	0,67 n=9	2 n=1		
Blaue Nävi (n=6)		0 n=1	0,2 n=5	0 n=5
SSM (n=10)	0,2 n=10	0,7 n=10	0,5 n=2	1 n=1
NMM (n=6)	0 n=5	0,33 n=6	0,5 n=6	0,4 n=5



#### 4.2.4 $\alpha$ -Katenin

$\alpha$ -Katenin wurde in den meisten der von uns untersuchten Nävi und Melanomen stark exprimiert. In Compoundnävi, dermalen Nävi und SSM ging die Expression in der Dermis kontinuierlich zurück. In NMM war allenfalls eine leichte Reduktion der Expression in der unteren retikulären Dermis zu beobachten. Spitz-Nävi (nur in Epidermis und papillärer Dermis vorhanden) und blaue Nävi waren in allen Hautschichten stark positiv. Die Mittelwerte der Expression von  $\alpha$ -Katenin auf den Melanozyten in den verschiedenen Nävi und Melanomen sind in 4.2.4 aufgeführt. Für eine detaillierte Zusammenfassung siehe 4.3 bis 4.3 auf Seite 35.

**Tabelle 6:** Mittelwert der Expression von  $\alpha$ -Katenin in Melanozyten bzw. Melanomzellen. Unter dem Mittelwert ist jeweils die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in der entsprechenden Hautschicht Melanozyten aufwiesen. Die Farbgebung erfolgte für den Mittelwert gemäß unten abgebildeter Skala.

	Epidermis	Papilläre Dermis	Obere retikuläre Dermis	Mittlere und untere retikuläre Dermis
Compoundnävi (n=12)	2,92 n=12	2,25 n=12	1,67 n=3	
Dermale Nävi (n=10)		3 n=9	2,5 n=10	2 n=10
Spitz-Nävi (n=9)	3 n=9	3 n=1		
Blaue Nävi (n=6)		3 n=2	3 n=5	3 n=5
SSM (n=10)	3 n=9	2,22 n=9	2 n=2	1 n=1
NMM (n=6)	2,2 n=5	2,33 n=6	2,2 n=5	1,6 n=5

#### 4.2.5 $\beta$ -Katenin

Die Expression von  $\beta$ -Katenin war in der Junctionszone, der papillären Dermis sowie der oberen retikulären Dermis aller melanozytären Nävi deutlich positiv, in der mittleren bis unteren retikulären Dermis der dermalen Nävi geringfügig schwächer. Einige wenige Melanome waren demgegenüber z.T. schon in der Epidermis und papillären Dermis negativ. Insgesamt zeigte  $\beta$ -Katenin die stärkste Expression aller untersuchten Antikörper. Die Mittelwerte der Expression von  $\beta$ -Katenin auf den Melanozyten in den verschiedenen Nävi und Melanomen sind in 4.2.5 aufgeführt. Für eine detaillierte Zusammenfassung siehe 4.3 bis 4.3 auf Seite 35.

**Tabelle 7:** Mittelwert der Expression von  $\beta$ -Katenin in Melanozyten bzw. Melanomzellen. Unter dem Mittelwert ist jeweils die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in der entsprechenden Hautschicht Melanozyten aufwiesen. Die Farbgebung erfolgte für den Mittelwert gemäß unten abgebildeter Skala.

	Epidermis	Papilläre Dermis	Obere retikuläre Dermis	Mittlere und untere retikuläre Dermis
Compoundnävi (n=12)	3 n=12	3 n=12	3 n=3	
Dermale Nävi (n=10)		3 n=9	2,7 n=10	2,1 n=10
Spitz-Nävi (n=9)	3 n=9	3 n=1		
Blaue Nävi (n=6)		3 n=2	3 n=5	3 n=5
SSM (n=10)	2,9 n=10	2,8 n=10	2,5 n=2	3 n=1
NMM (n=6)	2,8 n=5	2,67 n=6	2,6 n=5	2,6 n=5



#### 4.2.6 $\gamma$ -Katenin

Bis auf einen blauen Nävus, zwei superfiziell-spreitenden Melanome und ein noduläres Melanom waren alle Präparate  $\gamma$ -Katenin-negativ. Der Nävus zeigte eine mäßige Expression sowohl in papillärer wie auch in retikulärer Dermis. Die Melanome hatten nur vereinzelt schwach positive Melanozyten. Die Mittelwerte der Expression von  $\gamma$ -Katenin auf den Melanozyten in den verschiedenen Nävi und Melanomen sind in 4.2.6 aufgeführt. Für eine detaillierte Zusammenfassung siehe 4.3 bis 4.3 auf Seite 35.

**Tabelle 8:** Mittelwert der Expression von  $\gamma$ -Katenin in Melanozyten bzw. Melanomzellen. Unter dem Mittelwert ist jeweils die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in der entsprechenden Hautschicht Melanozyten aufwiesen. Die Farbgebung erfolgte für den Mittelwert gemäß unten abgebildeter Skala.

	Epidermis	Papilläre Dermis	Obere retikuläre Dermis	Mittlere und untere retikuläre Dermis
Compoundnävi (n=12)	0 n=12	0 n=12	0 n=3	
Dermale Nävi (n=10)		0 n=9	0 n=10	0 n=10
Spitz-Nävi (n=9)	0 n=9	0 n=1		
Blaue Nävi (n=6)		0 n=2	0,4 n=5	0,4 n=5
SSM (n=10)	0,11 n=9	0,22 n=9	1 n=1	1 n=1
NMM (n=6)	0 n=6	0,14 n=7	0,17 n=6	0 n=6



#### 4.2.7 Zelltypen

Die Auswertung der Expression der Cadherine und Katenine erfolgte getrennt für unterschiedliche morphologische Typen von Melanozyten bzw. Melanomzellen (siehe Seite 17). Wenn also z.B. in einem bestimmten Präparat 20 spindelförmige Zellen vorkamen und alle positiv waren, werteten wir dies als starke Expression, auch wenn diese nur eine Minderheit der gesamten Melanozyten in diesem Präparat darstellten.

In Compoundnävi und den oberen Hautschichten der dermalen Nävi stellten die mittelgroßen Melanozyten die größte Zellpopulation dar, während in der mittleren bis unteren retikulären Dermis der dermalen Nävi die kleinen, (lymphozytoiden) Melanozyten die Mehrheit bildeten. Die von uns untersuchten Spitz-Nävi bestanden größtenteils aus großen (epitheloiden) und spindeligen Melanozyten. Letztere machten auch den Großteil der Melanozyten in den blauen Nävi aus. Melanome zeigten eine deutlich stärkere Polymorphie der Zellformen, z.T. in scheinbar klonaler Verteilung.

Insgesamt waren die Unterschiede in der Expression der Cadherine und Katenine zwischen den morphologischen Typen der Melanozyten eher gering. Auffallende Tendenzen sind nachfolgend behandelt.

#### 4.2.7.1 E-Cadherin

Tendenziell zeigten die großen (epitheloiden) Melanozyten in den Melanomen (SSM und NMM) eine etwas geringere Expression von E-Cadherin, während die spindelförmigen Melanozyten dort eine etwas stärkere Expression aufwiesen. Diese Tendenz setzte sich allerdings in den anderen Präparaten nicht fort. Kleine Melanozyten waren nur in der mittleren bis unteren retikulären Dermis der dermalen Nävi vorhanden und zeigten eine etwas geringere Expression als die mittelgroßen Melanozyten.

**Tabelle 9:** Mittelwert der E-Cadherin-Expression in Melanozyten bzw. Melanomzellen. Unter dem Mittelwert ist jeweils in Klammern die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in den entsprechenden Hautschichten entsprechende Melanozyten aufwiesen. Die Spalte „Alle“ ist eine Wiederholung der 4.2.1 und nur zum besseren Vergleich hier aufgeführt

	Epidermis				Papilläre Dermis				Obere retikuläre Dermis				Mittlere und untere retikuläre Dermis				
	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Klein	Mittel	Groß	Spindel
Compound-nävi	2,3 (12)	2,3 (12)	2,0 (1)	2,0 (5)	0,9 (12)	0,9 (12)		2,0 (1)	0,0 (3)	0,0 (3)		0,0 (1)					
Dermale Nävi					1,3 (9)	1,2 (9)	1,3 (3)		0,7 (10)	0,7 (10)	1,3 (4)	1,3 (3)	0,5 (10)	0,3 (10)	0,6 (8)		
Spitz-Nävi	2,3 (9)	2,0 (1)	2,3 (9)	2,0 (6)	1,0 (1)	1,0 (1)											
Blaue Nävi					3,0 (1)			3,0 (1)	2,0 (6)	3,0 (1)	3,0 (1)	2,0 (6)	2,0 (6)		3,0 (1)	3,0 (1)	2,0 (6)
SSM	2,3 (10)	2,3 (9)	1,9 (9)	2,4 (7)	1,8 (10)	1,9 (8)	1,7 (9)	2,5 (2)	2,0 (2)	2,5 (2)	1,0 (1)	3,0 (1)	2,0 (1)		2,0 (1)	1,0 (1)	2,0 (1)
NMM	1,8 (6)	2,0 (2)	1,5 (6)	2,0 (1)	1,4 (7)	1,3 (4)	1,5 (6)	2,0 (2)	1,7 (6)	1,3 (4)	1,6 (5)	2,0 (2)	1,7 (6)		1,3 (4)	1,6 (5)	2,0 (2)

#### 4.2.7.2 P-Cadherin

Auch hier zeigten die kleinen Melanozyten in der mittleren bis unteren retikulären Dermis der dermalen Nävi eine etwas geringere Expression als die mittelgroßen Melanozyten. Ansonsten konnten wir keine nennenswerten Unterschiede in der Expression von P-Cadherin auf den verschiedenen morphologischen Typen der Melanozyten bzw. Melanomzellen erkennen.

**Tabelle 10:** Mittelwert der P-Cadherin-Expression in Melanozyten bzw. Melanomzellen. Unter dem Mittelwert ist jeweils in Klammern die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in den entsprechenden Hautschichten entsprechende Melanozyten aufwiesen. Die Spalte „Alle“ ist eine Wiederholung der 4.2.2 und nur zum besseren Vergleich hier aufgeführt.

	Epidermis				Papilläre Dermis				Obere retikuläre Dermis				Mittlere und untere retikuläre Dermis				
	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Klein	Mittel	Groß	Spindel
Compound-nävi	2,8 (12)	2,8 (12)	3,0 (1)	2,8 (5)	1,8 (12)	1,8 (12)		3,0 (1)	1,0 (2)		1,0 (2)	1,0 (1)					
Dermale Nävi					2,1 (8)	2,1 (8)	3,0 (2)		1,1 (10)	1,1 (10)	1,8 (4)	2,0 (2)	0,4 (10)	0,3 (10)	0,4 (7)		1,0 (1)
Spitz-Nävi	2,9 (9)	3,0 (1)	2,9 (9)	2,8 (6)	3,0 (1)	3,0 (1)											
Blaue Nävi					0,5 (2)		0,0 (1)	0,5 (2)	0,0 (5)		0,0 (1)	0,0 (5)	0,0 (5)		1,0 (1)		0,0 (5)
SSM	2,6 (8)	2,7 (7)	2,4 (7)	2,6 (5)	2,3 (8)	2,3 (6)	1,9 (7)	3,0 (1)	1,0 (1)	2,0 (1)	1,0 (1)		2,0 (1)		2,0 (1)	1,0 (1)	3,0 (1)
NMM	2,5 (6)	2,5 (2)	2,6 (5)	2,5 (2)	2,3 (7)	1,8 (4)	2,3 (6)	2,0 (1)	2,0 (6)	1,7 (3)	2,0 (5)	2,0 (1)	1,7 (6)		1,3 (4)	1,7 (6)	2,0 (2)

#### 4.2.7.3 N-Cadherin

Interessanterweise waren sowohl in den Spitz-Nävi als auch in den malignen Melanomen vor allem die großen (epitheloiden) Zellen positiv. Die mittelgroßen Melanozyten bzw. Melanomzellen zeigten eine geringere Expression, die kleinen und spindelförmigen Melanozyten waren komplett negativ.

**Tabelle 11:** Mittelwert der N-Cadherin-Expression in Melanozyten bzw. Melanomzellen. Unter dem Mittelwert ist jeweils in Klammern die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in den entsprechenden Hautschichten entsprechende Melanozyten aufwiesen. Die Spalte „Alle“ ist eine Wiederholung der 4.2.3 und nur zum besseren Vergleich hier aufgeführt

	Epidermis				Papilläre Dermis				Obere retikuläre Dermis				Mittlere und untere retikuläre Dermis				
	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Klein	Mittel	Groß	Spindel
Compound-nävi	0,0 (12)	0,0 (12)	0,0 (1)	0,0 (5)	0,0 (12)	0,0 (12)		0,0 (1)	0,0 (3)	0,0 (3)		0,0 (1)					
Dermale Nävi					0,0 (8)	0,0 (8)	0,0 (3)		0,0 (9)	0,0 (9)		0,0 (1)	0,0 (9)	0,0 (9)	0,0 (5)		0,0 (1)
Spitz-Nävi	0,7 (9)	0,0 (1)	0,7 (9)	0,0 (5)	2,0 (1)	2,0 (1)		0,0 (1)									
Blaue Nävi					0,0 (1)			0,0 (1)	0,2 (5)	2,0 (1)		0,0 (5)	0,0 (5)		0,0 (1)		0,0 (5)
SSM	0,2 (10)	0,1 (9)	0,4 (9)	0,0 (6)	0,7 (10)	0,4 (8)	0,7 (9)	0,0 (2)	0,5 (2)	0,0 (2)	1,0 (1)		1,0 (1)	0,0 (1)	1,0 (1)	1,0 (1)	0,0 (1)
NMM	0,0 (5)	0,0 (2)	0,0 (5)	0,0 (1)	0,3 (6)	0,5 (4)	0,3 (6)	0,0 (2)	0,5 (6)	0,5 (4)	0,5 (6)	0,0 (2)	0,4 (5)		0,5 (4)	0,4 (5)	0,0 (2)

#### 4.2.7.4 $\alpha$ -Katenin

In der Expression von  $\alpha$ -Katenin konnten wir keine nennenswerten Unterschiede zwischen den einzelnen morphologischen Typen der Melanozyten bzw. Melanomzellen feststellen.

**Tabelle 12:** Mittelwert der  $\alpha$ -Katenin-Expression in Melanozyten bzw. Melanomzellen. Unter dem Mittelwert ist jeweils in Klammern die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in den entsprechenden Hautschichten entsprechende Melanozyten aufwiesen. Die Spalte „Alle“ ist eine Wiederholung der 4.2.4 und nur zum besseren Vergleich hier aufgeführt.

	Epidermis				Papilläre Dermis				Obere retikuläre Dermis				Mittlere und untere retikuläre Dermis				
	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Klein	Mittel	Groß	Spindel
Compound-nävi	2,9 (12)	2,9 (12)	3,0 (1)	2,6 (5)	2,3 (12)	2,3 (12)			1,7 (3)	1,7 (3)		3,0 (1)					
Dermale Nävi					3,0 (9)	3,0 (9)	3,0 (2)		2,5 (10)	2,5 (10)	3,0 (4)	2,7 (3)	2,0 (10)	1,3 (9)	2,0 (8)		2,0 (1)
Spitz-Nävi	3,0 (9)	3,0 (7)	2,9 (8)	2,8 (6)	2,2 (9)	2,3 (8)	2,3 (8)	3,0 (1)	2,0 (2)	2,5 (2)	1,0 (1)	3,0 (1)	1,0 (1)		2,0 (1)	1,0 (1)	1,0 (1)
Blaue Nävi	2,2 (5)	2,5 (2)	2,0 (5)	3,0 (1)	2,3 (6)	2,8 (4)	2,4 (5)	3,0 (2)	2,2 (5)	2,7 (3)	2,0 (4)	3,0 (2)	1,6 (5)		2,0 (3)	1,6 (5)	2,0 (2)
SSM	3,0 (9)	3,0 (1)	3,0 (9)	3,0 (6)	3,0 (1)	3,0 (1)		3,0 (1)									
NMM					3,0 (2)			3,0 (2)	3,0 (5)	3,0 (1)	3,0 (1)	3,0 (5)	3,0 (5)		3,0 (1)	3,0 (1)	3,0 (5)

#### 4.2.7.5 $\beta$ -Katenin

Die Expression von  $\beta$ -Katenin war in allen morphologischen Zelltypen in allen Präparaten stark positiv. Die geringere Expression einiger NMM zeigte sich vor allem in mittelgroßen, z.T. auch in großen (epitheloiden) Zellen.

**Tabelle 13:** Mittelwert der  $\beta$ -Katenin-Expression in Melanozyten bzw. Melanomzellen. Unter dem Mittelwert ist jeweils in Klammern die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in den entsprechenden Hautschichten entsprechende Melanozyten aufwiesen. Die Spalte „Alle“ ist eine Wiederholung der 4.2.5 und nur zum besseren Vergleich hier aufgeführt.

	Epidermis				Papilläre Dermis				Obere retikuläre Dermis				Mittlere und untere retikuläre Dermis				
	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Klein	Mittel	Groß	Spindel
Compound-nävi	3,0 (12)	3,0 (12)	3,0 (1)	3,0 (5)	3,0 (12)	3,0 (12)		3,0 (1)	3,0 (3)	2,7 (3)		3,0 (1)					
Dermale Nävi					3,0 (9)	2,9 (9)	3,0 (2)		2,7 (10)	2,8 (10)	2,8 (5)	2,3 (3)	2,1 (10)	1,7 (10)	2,1 (8)		
Spitz-Nävi	3,0 (9)	3,0 (1)	3,0 (9)	3,0 (6)	3,0 (1)	3,0 (1)		3,0 (1)									
Blaue Nävi					3,0 (2)			3,0 (2)	3,0 (5)	3,0 (1)	3,0 (1)	3,0 (5)	3,0 (5)		3,0 (1)	3,0 (1)	3,0 (5)
SSM	2,9 (10)	2,8 (8)	2,9 (9)	2,9 (7)	2,8 (10)	2,6 (8)	2,6 (8)	3,0 (1)	2,5 (2)	2,5 (2)	2,0 (1)	3,0 (1)	3,0 (1)		3,0 (1)	2,0 (1)	3,0 (1)
NMM	2,8 (5)	3,0 (2)	2,8 (5)	3,0 (2)	2,7 (6)	2,3 (4)	2,8 (5)	3,0 (1)	2,6 (5)	2,3 (3)	2,5 (4)	3,0 (1)	2,6 (5)		2,3 (3)	2,5 (4)	3,0 (2)

#### 4.2.7.6 $\gamma$ -Katenin

Interessanterweise waren große (epitheloide) und spindelförmige Melanozyten deutlich häufiger  $\gamma$ -Katenin positiv als mittelgroße Melanozyten. Kleine (lymphozytoide) Melanozyten waren komplett negativ.

**Tabelle 14:** Mittelwert der  $\gamma$ -Katenin Expression in Melanozyten bzw. Melanomzellen. Unter dem Mittelwert ist jeweils in Klammern die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in den entsprechenden Hautschichten entsprechende Melanozyten aufwiesen. Die Spalte „Alle“ ist eine Wiederholung der 4.2.6 und nur zum besseren Vergleich hier aufgeführt

	Epidermis				Papilläre Dermis				Obere retikuläre Dermis				Mittlere und untere retikuläre Dermis				
	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Mittel	Groß	Spindel	Alle	Klein	Mittel	Groß	Spindel
Compound-nävi	0,0 (12)	0,0 (12)	0,0 (1)	0,0 (5)	0,0 (12)	0,0 (12)		0,0 (1)	0,0 (3)	0,0 (3)		0,0 (1)					
Dermale Nävi					0,0 (9)	0,0 (9)	0,0 (1)		0,0 (10)	0,0 (10)	0,0 (5)	0,0 (3)	0,0 (10)	0,0 (9)	0,0 (8)		0,0 (1)
Spitz-Nävi	0,0 (9)	0,0 (1)	0,0 (9)	0,0 (6)	0,0 (1)	0,0 (1)		0,0 (1)									
Blaue Nävi					0,0 (2)			0,0 (2)	0,4 (5)	0,0 (1)	3,0 (1)	0,6 (5)	0,4 (5)		0,0 (1)	2,0 (1)	0,4 (5)
SSM	0,1 (9)	0,0 (7)	0,0 (8)	0,2 (6)	0,2 (9)	0,0 (7)	0,1 (7)		1,0 (1)	1,0 (1)	0,0 (1)		1,0 (1)		0,0 (1)	1,0 (1)	1,0 (1)
NMM	0,0 (6)	0,0 (2)	0,0 (6)	0,0 (2)	0,1 (7)	0,0 (4)	0,2 (6)	0,0 (2)	0,2 (6)	0,0 (4)	0,2 (5)	0,0 (2)	0,0 (6)		0,0 (4)	0,0 (5)	0,0 (2)

#### 4.2.8 Pigmentierung

Bei der Auswertung beurteilten wir für jedes Präparat und jede Hautschicht die lichtmikroskopisch sichtbare Pigmentierung der Melanozyten bzw. Melanomzellen. Dabei

unterschieden wir „nicht pigmentiert“ (keine oder fast keine pigmentierten Melanozyten bzw. Melanomzellen), „zum Teil pigmentiert“ (sowohl pigmentierte als auch nicht pigmentierte Melanozyten bzw. Melanomzellen) und „pigmentiert“ (alle oder fast alle Melanozyten bzw. Melanomzellen zeigten eine Pigmentierung). Die Auswertung der Expression erfolgte analog zu Kapitel 4.2.1 bis 4.2.6.

#### 4.2.8.1 E-Cadherin

Während in Compoundnävi keine Unterschiede in der Expression von E-Cadherin zwischen den einzelnen Gruppen bestanden, zeigte sich in dermalen Nävi, SSM, NMM und in der Epidermis der Spitz-Nävi eine stärkere Expression von E-Cadherin in den Präparaten mit stärkerer Pigmentierung. Die von uns untersuchten blauen Nävi hatten fast ausschließlich pigmentierte Melanozyten, so dass ein Vergleich hier nicht möglich war.

**Tabelle 15:** Mittelwert der Expression von E-Cadherin in Melanozyten bzw. Melanomzellen, aufgeteilt nach dem Pigmentierungsgrad. Unter dem Mittelwert ist jeweils die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in den entsprechenden Hautschichten Melanozyten bzw. Melanomzellen aufwiesen.

Pigment	Epidermis			Papilläre Dermis			Obere retikuläre Dermis			Mittlere und untere retikuläre Dermis		
	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja
Compound-nävi (n=12)		2,3 n=3	2,2 n=9		1,0 n=5	0,9 n=7	0,0 n=1	0,0 n=1	0,0 n=1	0,1 n=7		
Dermale Nävi (n=10)				1,0 n=2	1,3 n=6	2,0 n=1	0,3 n=4	0,8 n=4	1,5 n=2		1,3 n=3	
Spitz-Nävi (n=9)		2,0 n=3	2,5 n=6	1,0 n=1								
Blaue Nävi (n=6)						3,0 n=1			2,0 n=6	2,0 n=1		2,0 n=6
SSM (n=10)	1,8 n=5	2,7 n=3	3,0 n=2	2,0 n=4	1,4 n=5	3,0 n=1	2,0 n=2			1,7 n=6		
NMM (n=6)	1,3 n=3	2,5 n=2	2,0 n=1	1,3 n=4	1,7 n=3		1,5 n=4	2,0 n=2		0,9 n=14		

#### 4.2.8.2 P-Cadherin

In Compoundnävi, dermalen Nävi und in der Epidermis der Spitz-Nävi war die Expression von P-Cadherin in den stärker pigmentierten melanozytären Nävi etwas geringer ausgeprägt, in den Melanomen (SSM und NMM) dagegen etwas stärker. Die von uns untersuchten blauen Nävi hatten auch hier fast ausschließlich pigmentierte Melanozyten, so dass auch hier kein Vergleich möglich war.

**Tabelle 16:** Mittelwert der Expression von P-Cadherin in Melanozyten bzw. Melanomzellen, aufgeteilt nach dem Pigmentierungsgrad. Unter dem Mittelwert ist jeweils die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in den entsprechenden Hautschichten Melanozyten bzw. Melanomzellen aufwiesen.

pigmentiert	Epidermis			Papilläre Dermis			Obere retikuläre Dermis			Mittlere und untere retikuläre Dermis		
	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja
Compound-nävi (n=12)	3,0 n=1	3,0 n=2	2,7 n=10		2,0 n=4	1,8 n=8	1,0 n=1	1,0 n=1				
Dermale Nävi (n=10)				2,5 n=2	2,2 n=5	1,0 n=1	1,5 n=4	0,8 n=5	1,0 n=1	0,4 n=7	0,3 n=3	
Spitz-Nävi (n=9)	3,0 n=1	3,0 n=2	2,8 n=6	3,0 n=1								
Blaue Nävi (n=6)						0,5 n=2			0,0 n=5			0,0 n=5
SSM (n=10)	2,4 n=5	3,0 n=2	3,0 n=1	2,0 n=4	2,3 n=3	3,0 n=1	1,0 n=1			2,0 n=1		
NMM (n=6)	2,3 n=3	2,5 n=2	3,0 n=1	2,3 n=4	2,3 n=3		1,8 n=4	2,5 n=2		1,7 n=6		

#### 4.2.8.3 N-Cadherin

Compoundnävi und dermale Nävi waren N-Cadherin negativ. Bei Spitz-Nävi, SSM und NMM waren interessanterweise ausschließlich nicht- bzw. teilpigmentierte Tumoren positiv, vollständig pigmentierte dagegen negativ.

**Tabelle 17:** Mittelwert der Expression von N-Cadherin in Melanozyten bzw. Melanomzellen, aufgeteilt nach dem Pigmentierungsgrad. Unter dem Mittelwert ist jeweils die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in den entsprechenden Hautschichten Melanozyten bzw. Melanomzellen aufwiesen.

pigmentiert	Epidermis			Papilläre Dermis			Obere retikuläre Dermis			Mittlere und untere retikuläre Dermis		
	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja
Compound-nävi (n=12)		0,0 n=3	0,0 n=9		0,0 n=4	0,0 n=8	0,0 n=1	0,0 n=1	0,0 n=1			
Dermale Nävi (n=10)				0,0 n=2	0,0 n=6		0,0 n=3	0,0 n=5	0,0 n=1	0,0 n=6	0,0 n=3	
Spitz-Nävi (n=9)		2,0 n=3	0,0 n=6	2,0 n=1								
Blaue Nävi (n=6)						0,0 n=1			0,2 n=5			0,0 n=5
SSM (n=10)	0,4 n=5	0,0 n=4	0,0 n=1	0,83 n=6	0,67 n=3	0,0 n=1	0,5 n=2			1,0 n=1		
NMM (n=6)	0,0 n=3	0,0 n=1	0,0 n=1	0,5 n=4	0,0 n=2		0,8 n=4	0,0 n=2		0,4 n=5		

#### 4.2.8.4 $\alpha$ -Katenin

Es zeigte sich kein Unterschied in der Expression von  $\alpha$ -Katenin in Melanozyten der nichtpigmentierten, teilpigmentierten und vollständig pigmentierten Nävi. Bei den Melanomen schien die Expression in den teilpigmentierten und vollständig pigmentierten Tumoren etwas stärker zu sein als in den nicht pigmentierten Tumoren.

**Tabelle 18:** Mittelwert der Expression von  $\alpha$ -Katenin in Melanozyten bzw. Melanomzellen, aufgeteilt nach dem Pigmentierungsgrad. Unter dem Mittelwert ist jeweils die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in den entsprechenden Hautschichten Melanozyten bzw. Melanomzellen aufwiesen.

	Epidermis			Papilläre Dermis			Obere retikuläre Dermis			Mittlere und untere retikuläre Dermis		
	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja
Compound-nävi (n=12)		3,0 n=3	2,9 n=9		2,3 n=4	2,3 n=8	1,0 n=1	2,0 n=1	2,0 n=1			
Dermale Nävi (n=10)				3,0 n=2	3,0 n=7		2,0 n=3	2,6 n=5	3,0 n=2	2,0 n=7	2,0 n=3	
Spitz-Nävi (n=9)		3,0 n=3	3,0 n=6	3,0 n=1								
Blaue Nävi (n=6)						3,0 n=2			3,0 n=5			3,0 n=5
SSM (n=10)	3,0 n=6	3,0 n=2	3,0 n=1	2,4 n=5	2,0 n=3	2,0 n=1	3,0 n=1	1,0 n=1		1,0 n=1		
NMM (n=6)	2,0 n=2	2,0 n=2	3,0 n=1	1,7 n=3	3,0 n=3		1,7 n=3	3,0 n=2		1,6 n=5		

#### 4.2.8.5 $\beta$ -Katenin

Auch in der Expression von  $\beta$ -Katenin zeigte sich kein Unterschied zwischen nicht-, teilpigmentierten und vollständig pigmentierten Nävi. Bei den Melanomen schien die Expression auch hier in den teilpigmentierten und vollständig pigmentierten Tumoren etwas stärker zu sein als in den nicht pigmentierten Tumoren.

**Tabelle 19:** Mittelwert der Expression von  $\beta$ -Katenin in Melanozyten bzw. Melanomzellen, aufgeteilt nach dem Pigmentierungsgrad. Unter dem Mittelwert ist jeweils die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in den entsprechenden Hautschichten Melanozyten bzw. Melanomzellen aufwiesen.

	Epidermis			Papilläre Dermis			Obere retikuläre Dermis			Mittlere und untere retikuläre Dermis		
	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja
pigmentiert												
Compound-nävi (n=12)		3,0 n=3	3,0 n=9		3,0 n=4	3,0 n=8	3,0 n=1	3,0 n=1	3,0 n=1			
Dermale Nävi (n=10)				3,0 n=2	3,0 n=7		2,3 n=3	2,8 n=5	3,0 n=2	2,2 n=6	2,0 n=4	
Spitz-Nävi (n=9)		3,0 n=3	3,0 n=6	3,0 n=1								
Blaue Nävi (n=6)						3,0 n=2			3,0 n=5			3,0 n=5
SSM (n=10)	2,8 n=6	3,0 n=3	3,0 n=1	2,7 n=7	3,0 n=2	3,0 n=1	2,5 n=2			3,0 n=1		
NMM (n=6)	2,5 n=2	3,0 n=2	3,0 n=1	2,7 n=3	2,7 n=3		2,3 n=3	3,0 n=2		2,6 n=5		

#### 4.2.8.6 $\gamma$ -Katenin

Compoundnävi, dermale Nävi und Spitz-Nävi waren  $\gamma$ -Katenin negativ. Alle von uns untersuchten Blauen Nävi waren pigmentiert, und zum Teil  $\gamma$ -Katenin positiv. Bei den Melanomen waren demgegenüber nur nicht pigmentierte Tumoren  $\gamma$ -Katenin positiv.

**Tabelle 20:** Mittelwert der Expression von  $\gamma$ -Katenin in Melanozyten bzw. Melanomzellen, aufgeteilt nach dem Pigmentierungsgrad. Unter dem Mittelwert ist jeweils die Anzahl der Präparate aufgeführt, die in den entsprechenden Hautschichten Melanozyten bzw. Melanomzellen aufwiesen..

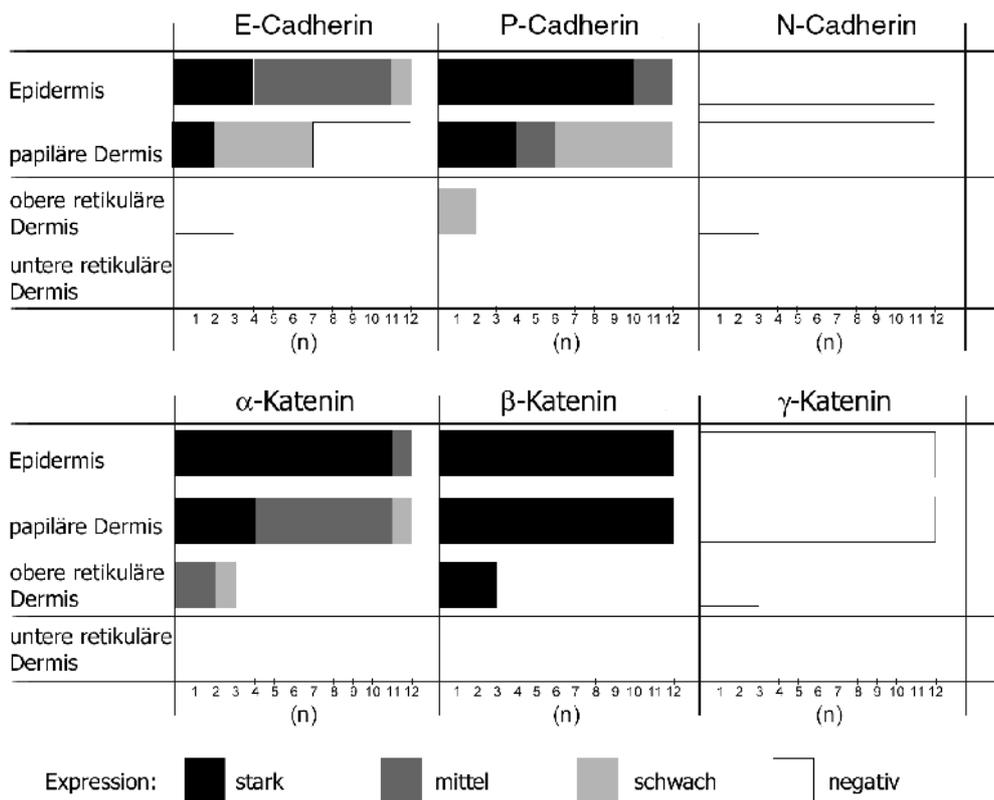
pigmentiert	Epidermis			Papilläre Dermis			Obere retikuläre Dermis			Mittlere und untere retikuläre Dermis		
	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja	nicht	z.T.	ja
Compound-nävi (n=12)		0,0 n=3	0,0 n=9		0,0 n=4	0,0 n=8	0,0 n=1	0,0 n=1	0,0 n=1			
Dermale Nävi (n=10)				0,0 n=2	0,0 n=7		0,0 n=5	0,0 n=3	0,0 n=2	0,0 n=7	0,0 n=3	
Spitz-Nävi (n=9)		0,0 n=3	0,0 n=6	0,0 n=1								
Blaue Nävi (n=6)						0,0 n=2			0,4 n=5			0,4 n=5
SSM (n=10)	0,2 n=5	0,0 n=3	0,0 n=1	0,3 n=6	0,0 n=2	0,0 n=1	1,0 n=1			1,0 n=1		
NMM (n=6)	0,0 n=3	0,0 n=2	0,0 n=1	0,3 n=4	0,0 n=3		0,3 n=4	0,0 n=2		0,0 n=6		

#### 4.2.9 Experimentell halbseitig UV-exponierte melanozytäre Nävi

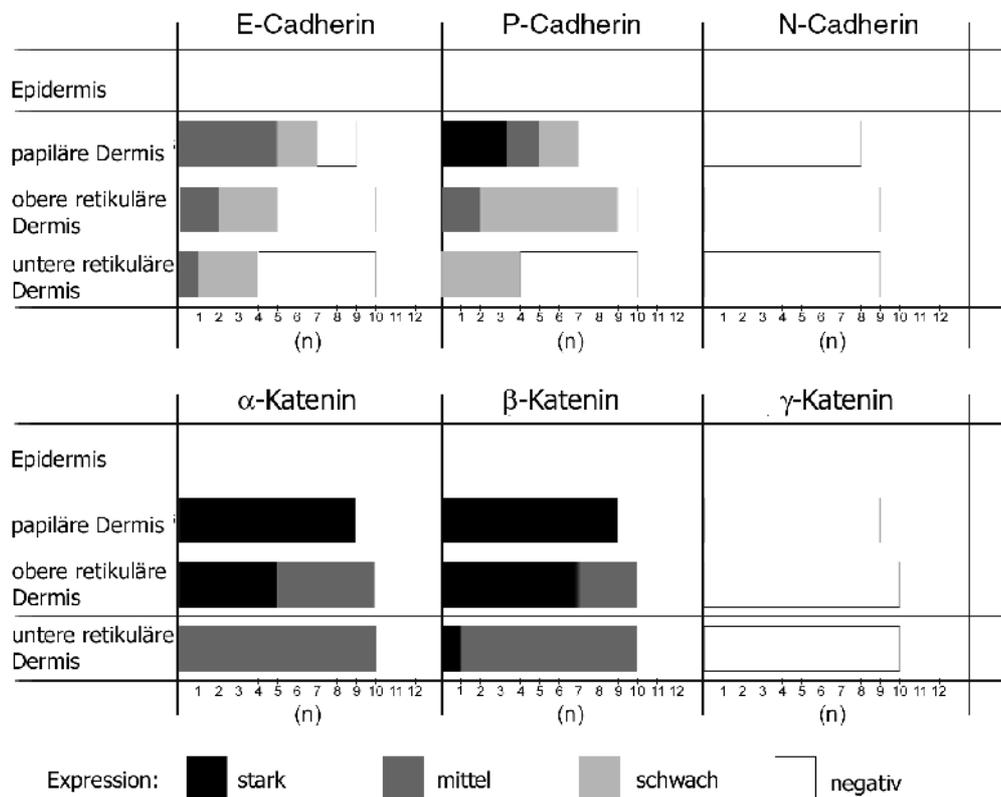
Sowohl bei den nach zwei als auch bei den nach sieben Tagen nach UV-Bestrahlung exzidierten Nävi zeigte sich in der UV-bestrahlten Hälfte der Nävi im Vergleich zur unbestrahlten Hälfte keine signifikante Veränderung der Expression von Cadherinen oder Kateninen. In einigen Präparaten war die Expression von E-Cadherin in den Keratinozyten leicht erhöht. P-Cadherin wurde in der bestrahlten Hälfte der Nävi auch in suprabasalen Schichten, zum Teil bis zum Stratum granulosum, exprimiert.

### 4.3 Grafiken

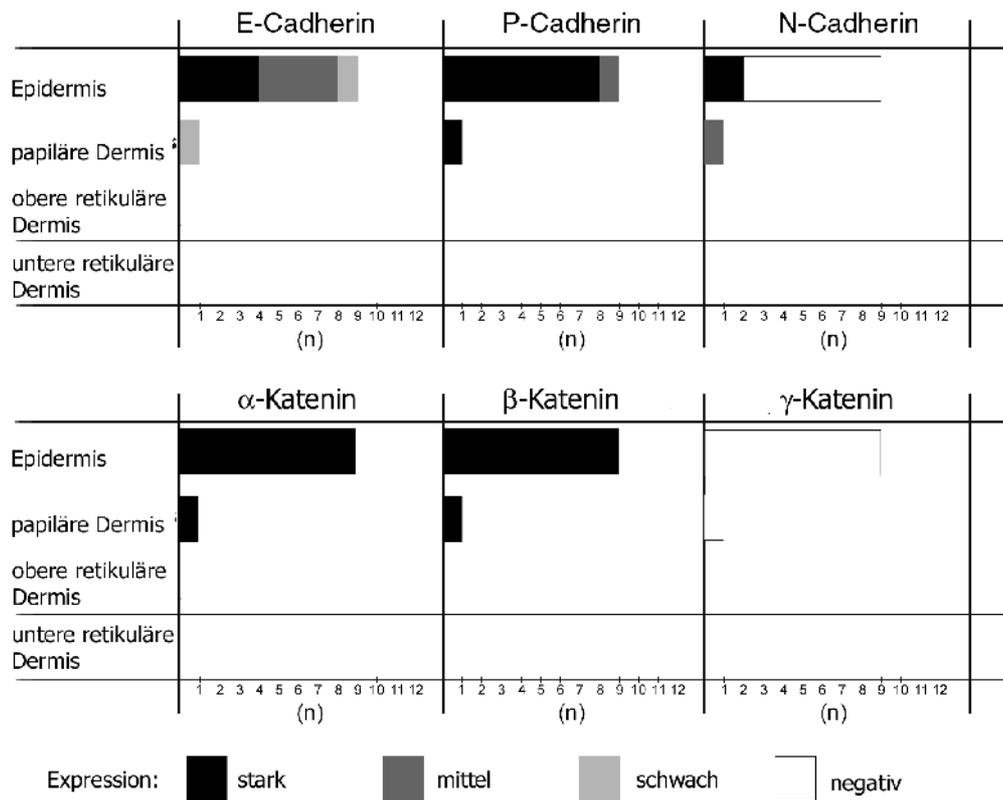
Grafik 1. Cadherin- und Katenin-Expression in Compoundnävi (n=12). Das Ausmaß der Immunreaktivität ist in semiquantitativer Abstufung für die jeweilige histologische Schicht dargestellt.



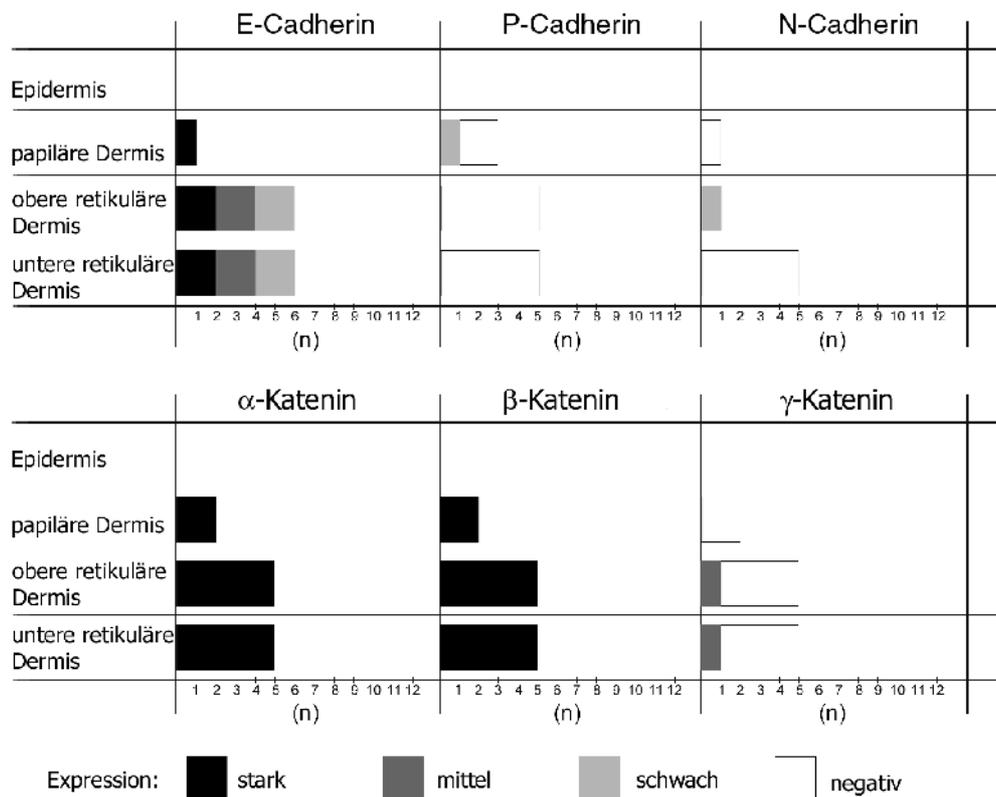
Grafik 2. Cadherin- und Katenin-Expression in dermalen Nävi (n=10). Das Ausmaß der Immunreaktivität ist in semiquantitativer Abstufung für die jeweilige histologische Schicht dargestellt.



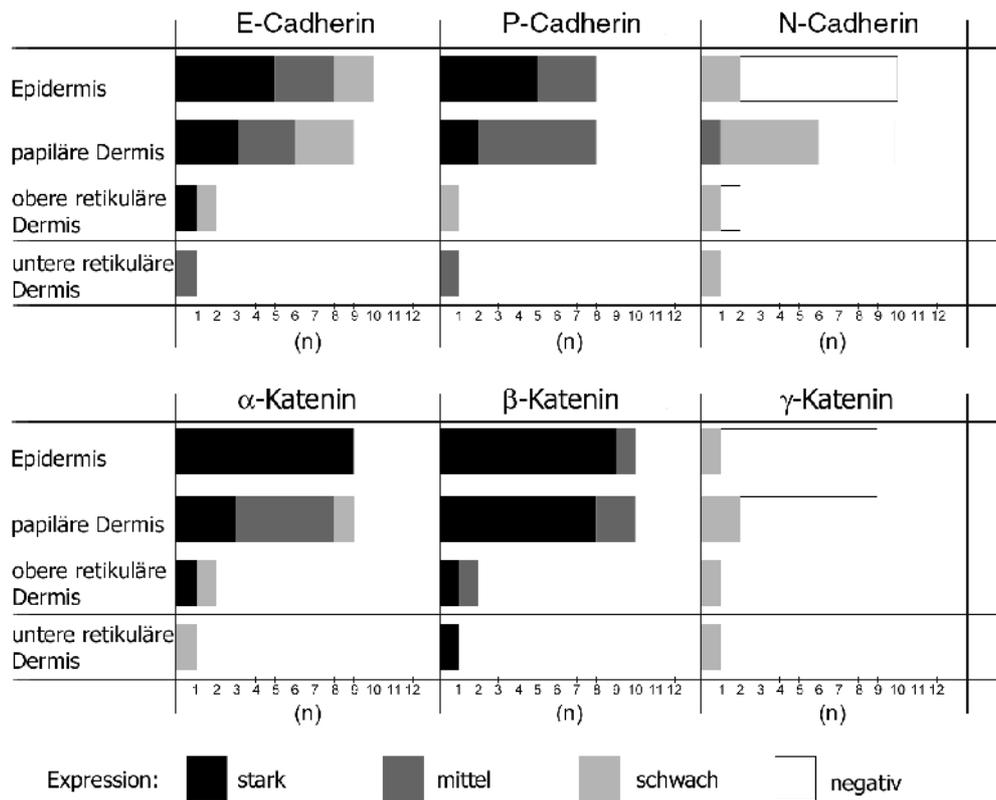
Grafik 3. Cadherin- und Katenin-Expression in Spitz-Nävi (n=9). Das Ausmaß der Immunreaktivität ist in semiquantitativer Abstufung für die jeweilige histologische Schicht dargestellt.



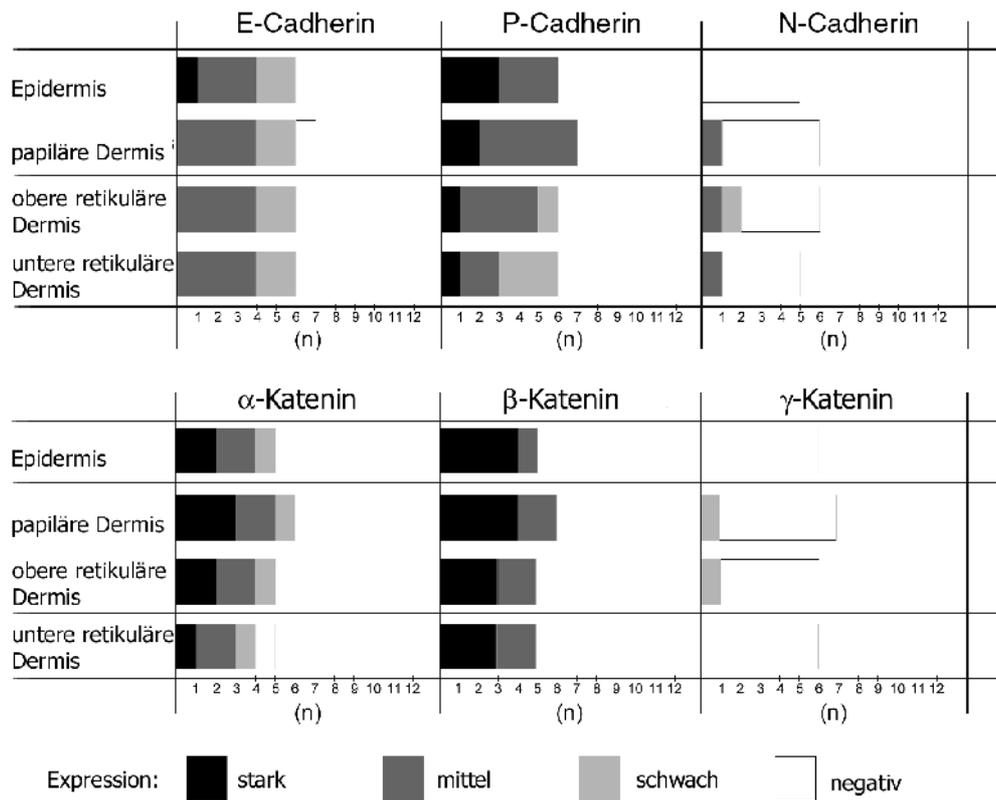
Grafik 4. Cadherin- und Katenin-Expression in blauen Nävi (n=6). Das Ausmaß der Immunreaktivität ist in semiquantitativer Abstufung für die jeweilige histologische Schicht dargestellt.



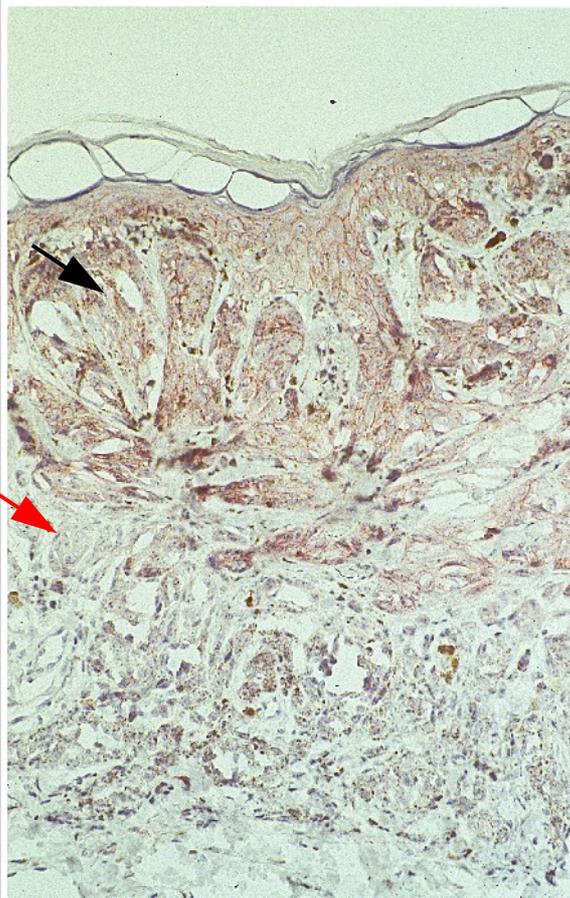
Grafik 5. Cadherin- und Katenin-Expression in superfiziell spreitenden Melanomen (n=10). Das Ausmaß der Immunreaktivität ist in semiquantitativer Abstufung für die jeweilige histologische Schicht dargestellt.



Grafik 6. Cadherin- und Katenin-Expression in nodulären Melanomen (n=7). Das Ausmaß der Immunreaktivität ist in semiquantitativer Abstufung für die jeweilige histologische Schicht dargestellt.



#### 4.4 Bilder



**Bild 2** (oben): Expression von E-Cadherin in einem Compoundnävus (100x).

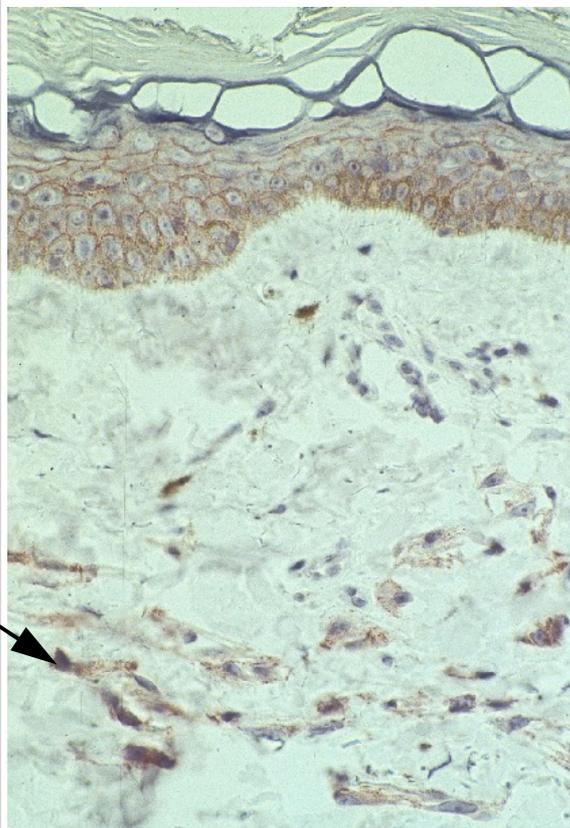
→ E-Cadherin-positive spindelförmige Melanozyten.

→ Deutlich geringere E-Cadherin-Expression in der papillären und retikulären Dermis.

**Bild 3** (unten links): Expression von E-Cadherin in einem blauen Nävus (100x).

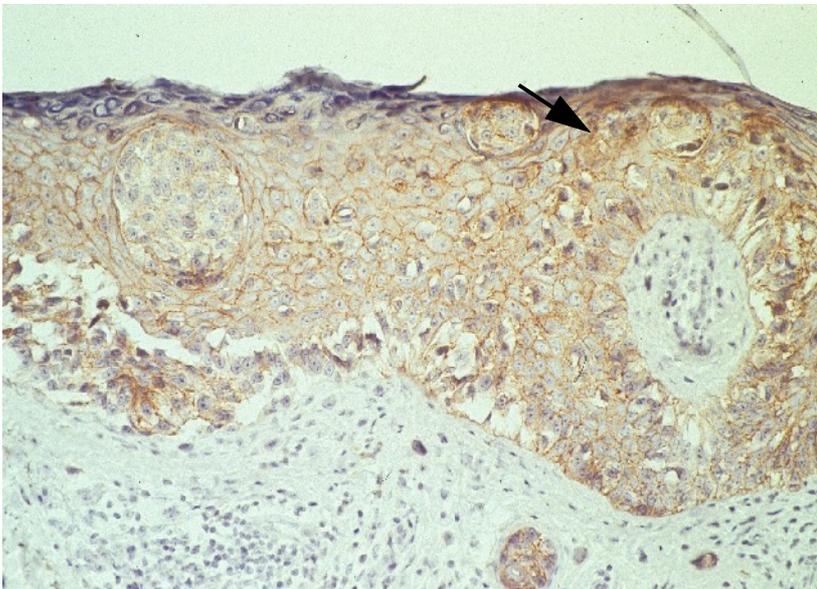
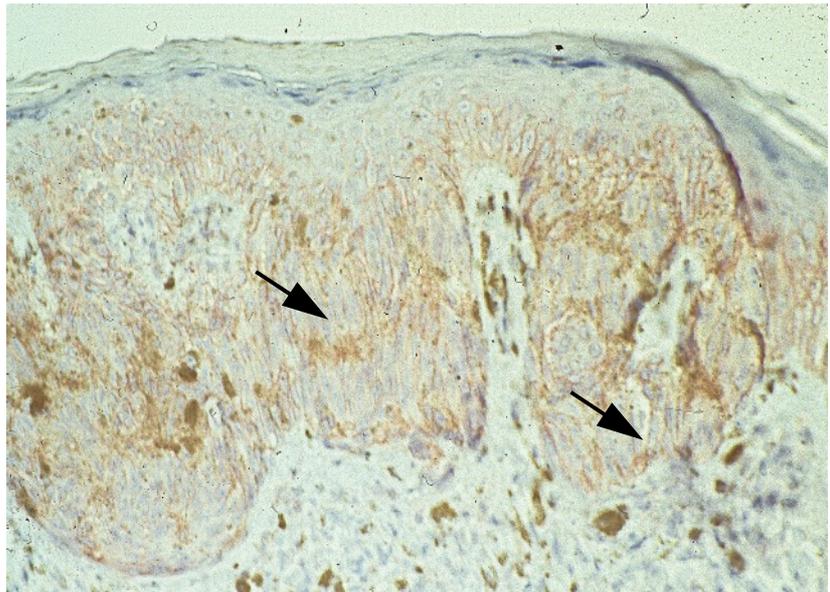
→ Spindelförmige Nävuszellen finden sich hier ausschließlich in der Dermis.

**Bild 4** (unten rechts): Perifollikuläre Expression von E-Cadherin in einem zellreichen blauen Nävus (100x).



**Bild 5:** Expression von E-Cadherin in einem Spitz-Nävus (100x).

➔ Überwiegend E-Cadherin-positive spindelförmige Melanozyten in der Junctionszone.

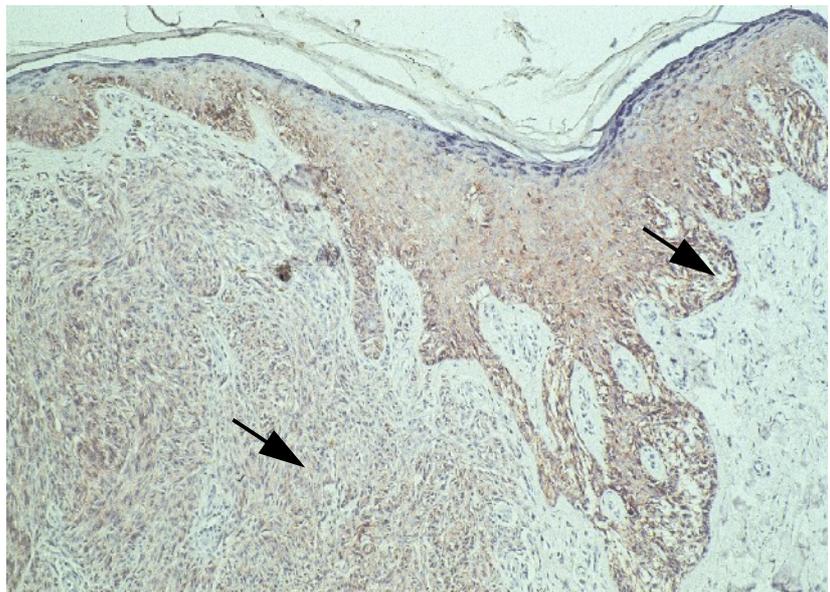


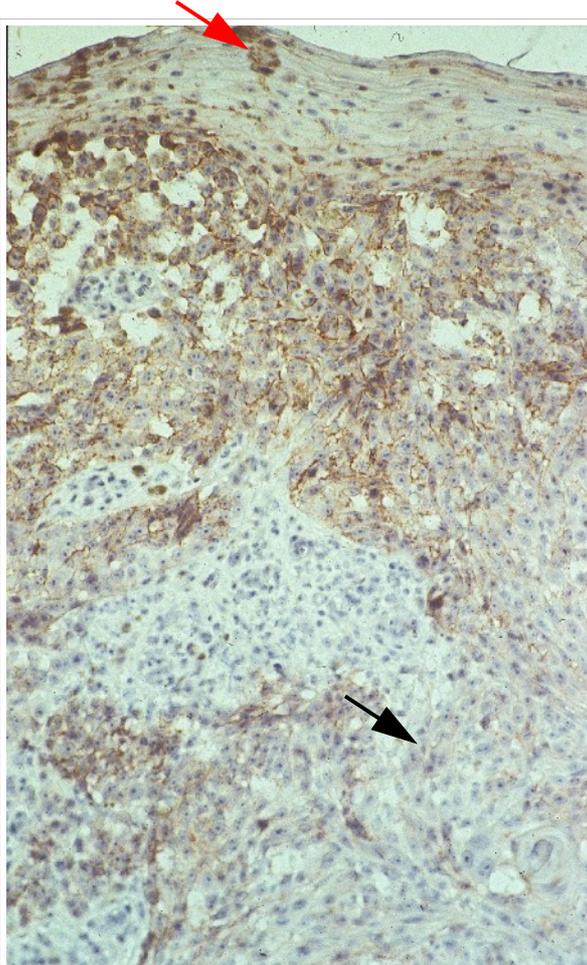
**Bild 6:** Expression von E-Cadherin in einem SSM (100x).

➔ Intra-epidermal aufsteigende E-Cadherin-positive Melanom-zellen.

**Bild 7:** Expression von E-Cadherin im Randbereich eines SSM (100x).

➔ Stärkere Expression in der Junctionszone, schwächere Expression in der oberen Dermis.



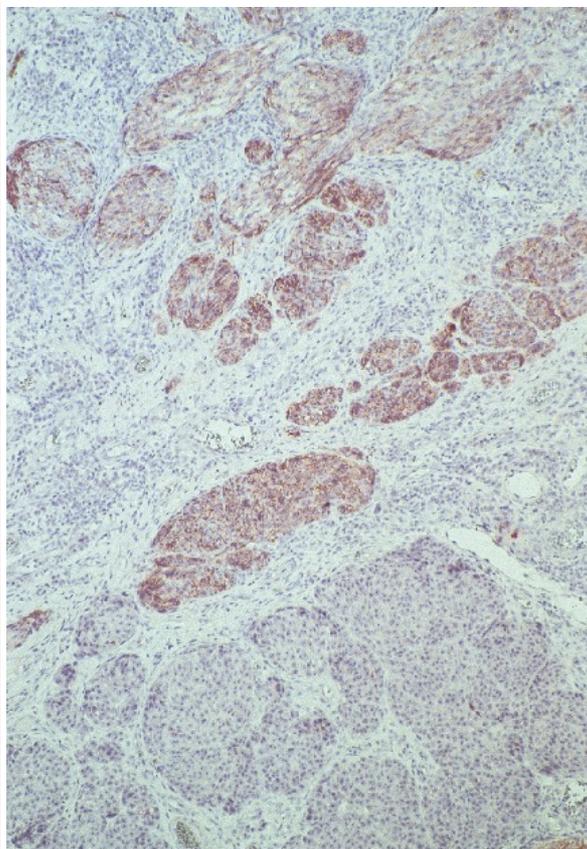


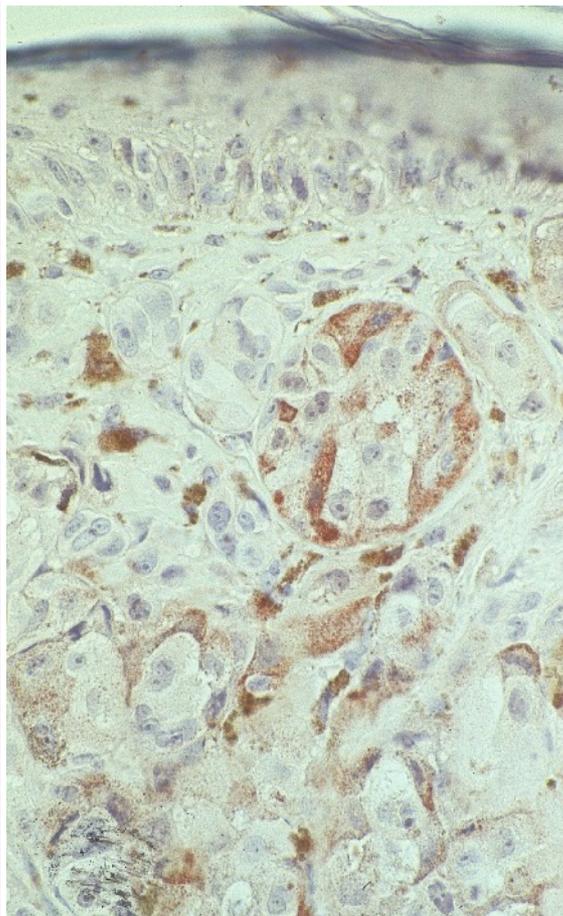
**Bild 8** (oben): Expression von E-Cadherin in einem NMM (100x).

- Intraepidermal aufsteigende E-Cadherin-positive Melanomzellen.
- Abnahme der Expression in der retikulären Dermis.

**Bild 9** (unten links): Expression von E-Cadherin in einem NMM (dermaler Ausschnitt) (100x). Deutlich heterogene, anscheinend klonale Verteilung der E-Cadherin-Expression.

**Bild 10** (unten rechts): Expression von P-Cadherin in einem dermalen Nävus (100x). Abnahme der P-Cadherin-Expression in der mittleren bis tiefen retikulären Dermis, hier überwiegend kleine (lymphozytoide) Melanozyten in typischer perifollikulärer Anordnung.





**Bild 11** (oben): Expression von N-Cadherin in einem SSM (200x).

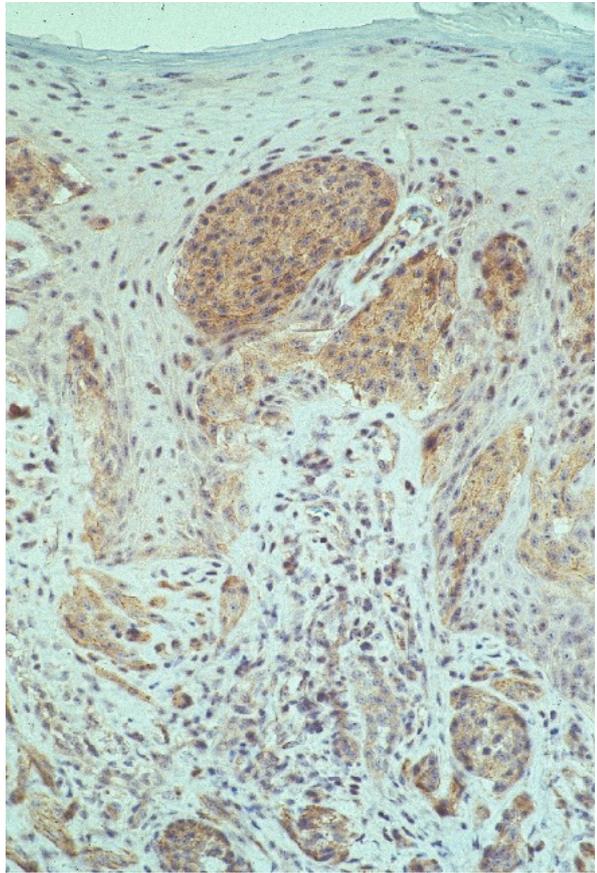
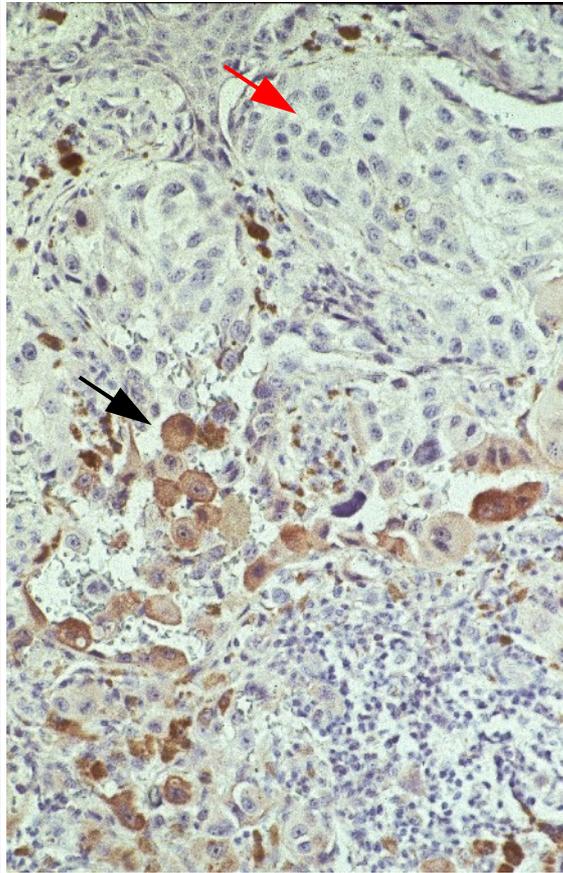
Deutlich heterogene Verteilung der Expression von N-Cadherin in epitheloiden Melanomzellen; epidermale Keratinozyten N-Cadherin-negativ.

**Bild 12** (unten links): Expression von N-Cadherin in einem NMM (100x).

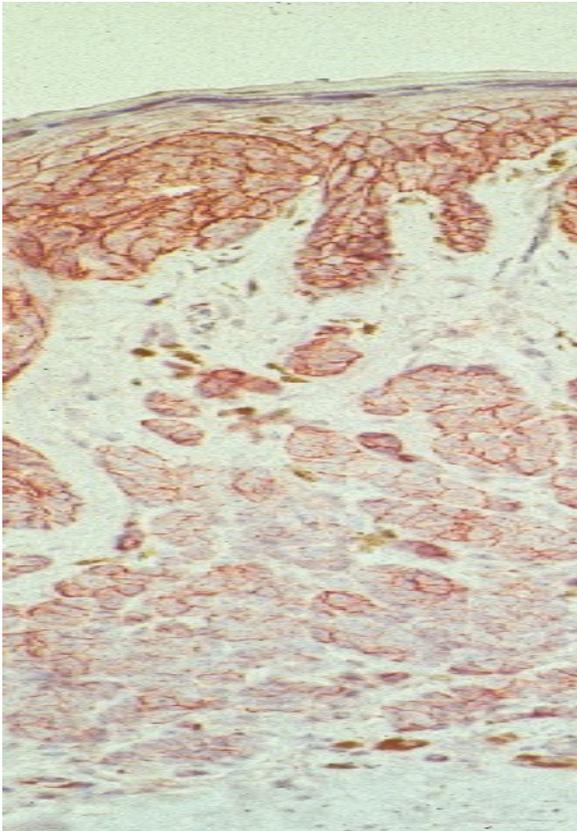
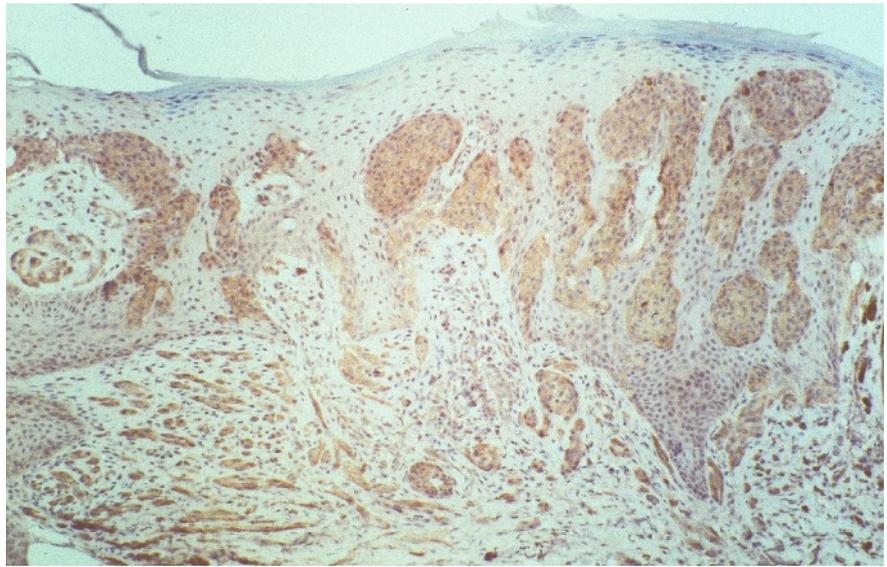
➔ Vor allem große (epitheloide) Melanomzellen N-Cadherin-positiv,  
 ➔ mittelgroße dagegen überwiegend negativ.

**Bild 13** (unten rechts): Expression von N-Cadherin in einem Spitz-Nävus (100x).

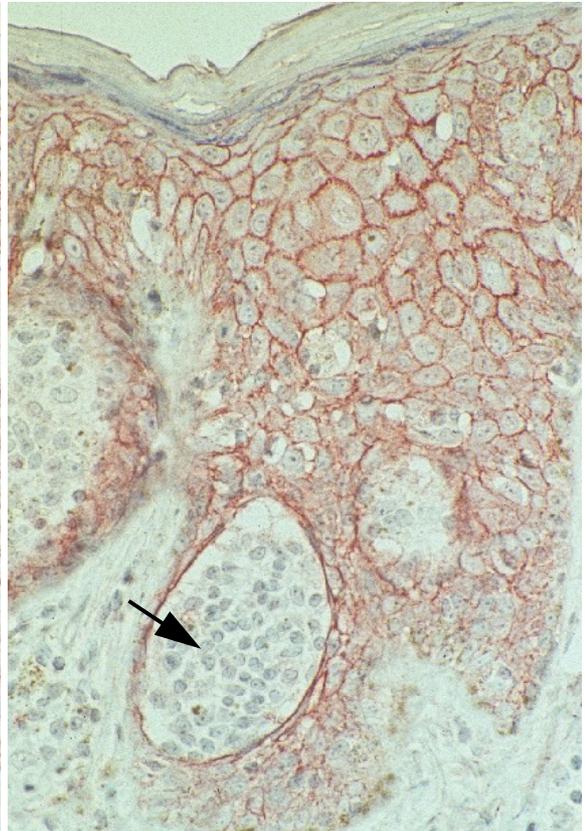
Positive N-Cadherin-Expression der junctionalen und dermalen Melanozyten.



**Bild 14:** Expression von N-Cadherin in einem Spitz-Nävus (größerer Ausschnitt) (100x).

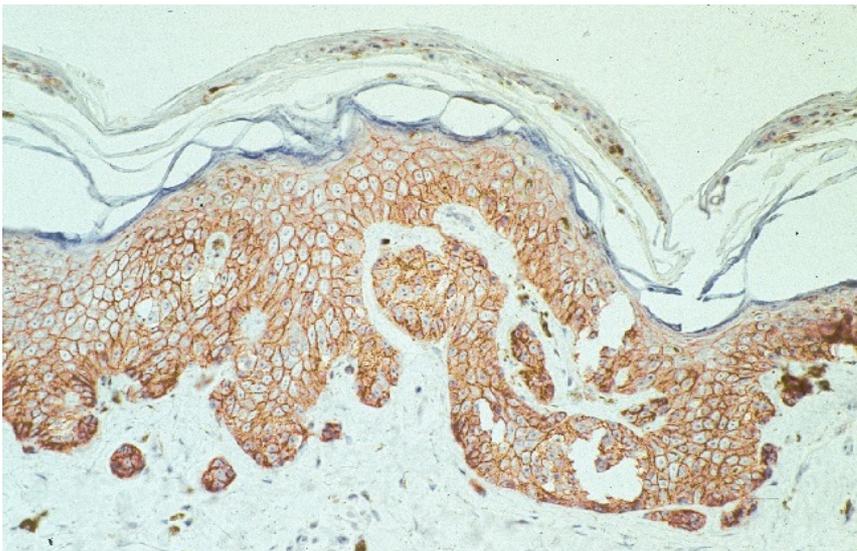
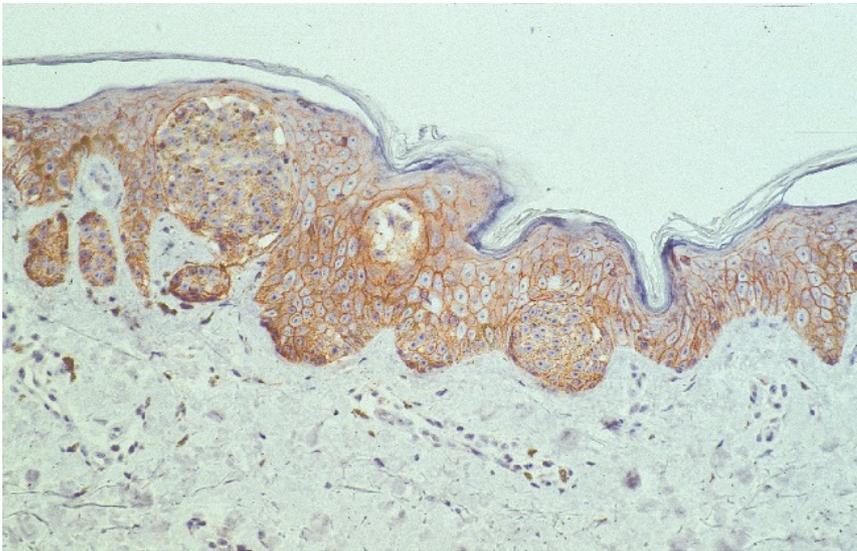
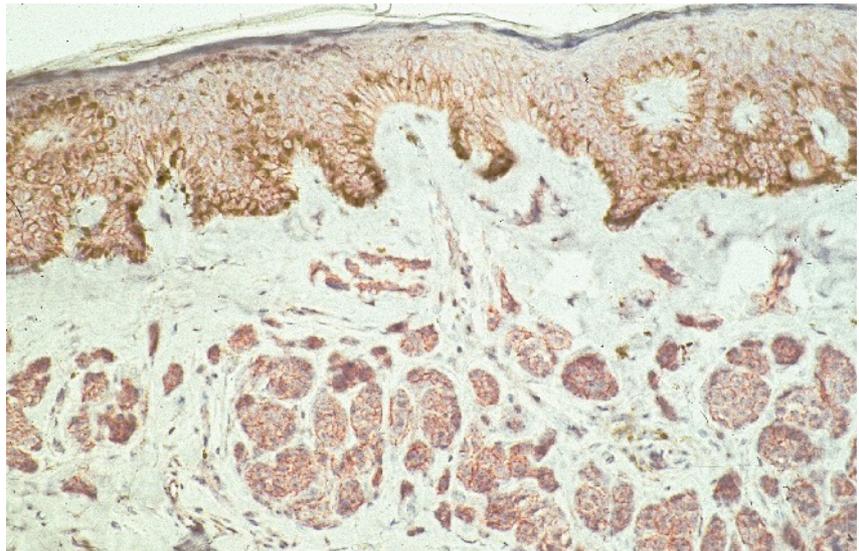


**Bild 15:** Expression von  $\beta$ -Katenin in einem Compoundnävus (100x). Deutlich positive  $\beta$ -Katenin-Expression in der Junctionszone, Abnahme in der retikulären Dermis



**Bild 16:** Expression von  $\gamma$ -Katenin in einem Compoundnävus (100x). Keratinozyten  $\gamma$ -Katenin-positiv.  $\rightarrow$  Melanozyten  $\gamma$ -Katenin negativ.

**Bild 17:** Expression von  $\alpha$ -Cadherin in einem Compoundnävus (100x).



**Bild 18 und 19:** Vergleichbare Expression von E-Cadherin in der bestrahlten Hälfte (unten) und der unbestrahlten Hälfte (oben) eines halbseitig UV-bestrahlten Compoundnävus. (100x).

Die Exzision erfolgte 7 Tage nach der Bestrahlung.

## 5 Diskussion

In allen von uns untersuchten Nävi und Melanomen exprimierte die Mehrzahl der Melanozyten bzw. Melanomzellen in der Junktionszone E-Cadherin und P-Cadherin. Diese Tatsache bestätigt die Ergebnisse mehrerer früherer Studien. (Cowley und Smith, 1996; Silye et al., 1998; Sanders et al., 1999). Von der papillären bis zur tiefen retikulären Dermis beobachteten wir eine Verminderung der Expression von E- und P-Cadherin. Diese war bei den Nävi noch deutlicher ausgeprägter als bei den Melanomen. Die Mehrzahl der Melanozyten in der oberen retikulären Dermis der Compoundnävi und in der mittleren bis unteren retikulären Dermis der dermalen Nävi waren sogar komplett E-Cadherin-negativ. Alle Melanomzellen der NMM zeigten demgegenüber auch in der unteren retikulären Dermis zumindest noch eine schwache E- und P-Cadherin-Expression.

Insgesamt war die Expression von E- und P-Cadherin in den Melanomzellen der SSM jedoch in etwa vergleichbar mit der Expression in den Melanozyten der Compound- bzw. dermalen Nävi. NMM zeigten eine etwas geringere E-Cadherin-Expression. Auffällig war jedoch die deutlich heterogene Verteilung der Expression von E-Cadherin in NMM, welche auf einen klonalen Aufbau dieser Läsionen mit teils E-Cadherin-negativen und teils E-Cadherin-positiven Zellklonen schließen lässt. Eine solche Verteilung haben wir in melanozytären Nävi nicht gefunden.

Die bislang publizierten Daten aus immunhistologischen Untersuchungen zur Expression von E-Cadherin bei Melanomen sind widersprüchlich. Silye et al. berichteten von komplett E-Cadherin-negativen Tumorzellen in der horizontalen Wachstumsphase, dagegen E-Cadherin-positiven Tumorzellen in der vertikalen Wachstumsphase (Silye et al., 1998). Sanders et al. fanden eine deutliche E- und P-Cadherin-Expression der Tumorzellen sowohl in der horizontalen als auch in der vertikalen Wachstumsphase (Sanders et al., 1999). Cowley und Smith berichteten, vergleichbar mit unseren Ergebnissen, von einer verminderten Expression von E-Cadherin in Tumorzellen der tieferen Anteile der Hälfte der Melanome (Cowley und Smith, 1996).

Die Melanomzellen der von uns untersuchten Melanome zeigten nur fokal eine N-Cadherin-Expression. Sanders et al. berichteten dagegen von einer starken Expression von N-Cadherin in einzelnen Melanomen (Sanders et al., 1999). Verschiedene Studien zeigen, dass N-Cadherin-positive Tumorzellen eine höhere Tendenz zur Invasion und Metastasierung besitzen als N-Cadherin-negative (Nieman et al., 1999; Hazan et al., 2000). Die genauen Mechanismen dieses Phänomens sind noch nicht bekannt. Wenn jedoch die

N-Cadherin-Expression eine wichtige Voraussetzung für invasives Wachstum darstellte, würde man in den von uns untersuchten Melanomen eine deutlich höhere Expression dieses Moleküls erwarten. Interessanterweise zeigten die Melanozyten in zwei von uns untersuchten Spitz-Nävi eine deutliche N-Cadherin-Expression. Ob die bei diesen Nävi häufig zu beobachtenden zytologischen Atypien der Melanozyten in einem direkten oder indirekten Zusammenhang mit der erhöhten N-Cadherin-Expression stehen, ist nicht bekannt. Die beiden N-Cadherin-positiven Spitz-Nävi zeigten im Vergleich zu den übrigen von uns untersuchten Spitz-Nävi keine höhere Rate zytologischer Atypien. Bei der von mir untersuchten geringen Fallzahl ist ein Zusammenhang aber nicht sicher zu beurteilen.

Cowley und Smith beschrieben für melanozytäre Nävi eine vor allem auf große (epitheloide) Zellen beschränkte Expression von E-Cadherin. Kleine (lymphozytoide) und spindelförmige Zellen seien dagegen negativ (Cowley und Smith, 1996). Im Gegensatz dazu konnten wir keine nennenswerten Unterschiede in der E-Cadherin-Expression zwischen den morphologischen Typen der Melanozyten beobachten. Lediglich die kleinen (lymphozytoiden) Melanozyten der mittleren bis unteren retikulären Dermis zeigten eine etwas geringere E-Cadherin-Expression als die mittelgroßen Melanozyten. Stärker als von der Zellmorphologie aber war die Expression von E-Cadherin abhängig von der Lage der Melanozyten in den jeweiligen Hautschichten. In Melanomen beobachteten wir in den spindelförmigen Melanomzellen eine etwas stärkere Expression von E-Cadherin als in den epitheloiden Melanomzellen.

Eine Korrelation von Expression und der Zellmorphologie konnten wir für N-Cadherin beobachten. Hier waren vor allem epitheloide Melanozyten positiv, die mittelgroßen Melanozyten zeigten eine geringere Expression und die kleinen und spindelförmigen Melanozyten waren komplett negativ.

Sowohl nach Unnas Theorie der ‚Abtropfung‘ als auch nach dem Konzept der ‚upward migration‘ (Siehe Kapitel 1.2) sind Melanozyten in Nävi bei einem Wechsel der histologischen Schicht veränderten Umgebungsbedingungen wie z.B. veränderten Zellkontakten und parakrinen Veränderungen unterworfen. So könnte in dermalen Melanozyten eine über längere Zeit fehlende parakrine Stimulation durch Keratinozyten für eine Verminderung von E- und P-Cadherin verantwortlich sein. Es konnte gezeigt werden, dass dermale Melanozyten in Nävi bFGF produzieren, einen normalerweise von Keratinozyten produzierten Wachstumsfaktor, der sie durch eine autokrine Stimulation zum Überleben befähigen könnte (Alanko et al., 1999). Andererseits konnte in Zelllinien von Pankreaskarzinomen gezeigt werden, dass die Kollagene I und III an der

Herunterregulation des E-Cadherin-Genes beteiligt sein können (Menke et al., 2001). Interessant ist in diesem Zusammenhang die Tatsache, dass Melanozyten in blauen Nävi auch in der unteren retikulären Dermis noch eine unverändert hohe Expression von E-Cadherin aufwiesen. Zugleich waren blaue Nävi die einzigen aller von uns untersuchten Nävi, die noch eine nennenswerte Melaninproduktion in der mittleren bis unteren retikulären Dermis zeigten. Anscheinend gibt es einen, wenn auch bislang unbekanntem Mechanismus, der Melanozyten in blauen Nävi in dieser Hinsicht teilweise autonome Eigenschaften verleiht. Die Expression von P-Cadherin in blauen Nävi war wiederum auffallend niedrig. Bis auf einen Fall, der eine schwache Expression in den Melanozyten in der papillären Dermis zeigte, waren alle blauen Nävi P-Cadherin-negativ. Anscheinend wird die Expression von E- und P-Cadherin, auch wenn sie häufig simultan exprimiert werden, durch unterschiedliche Faktoren beeinflusst.

$\alpha$ - und  $\beta$ -Katenin wurde in praktisch allen Tumoren unabhängig von der Dignität in den junktionalen Melanozyten stark exprimiert. Eine Abnahme der Expression in der Dermis war hier nicht so deutlich zu beobachten wie bei E- oder P-Cadherin. Sanders et al. berichteten ähnliche Ergebnisse. Sie fanden einen signifikanten Rückgang der Expression von  $\beta$ -Katenin in metastasierenden Melanomen (Sanders et al., 1999). Allerdings muss bei  $\beta$ -Katenin beachtet werden, dass dieses Molekül im Rahmen des Wnt-Signalwegs auch in einer nicht an Cadherine gebundenen Form (siehe Kapitel 1.4.2) vorkommt. So fanden wir neben einer membranösen in etwa 30 % der Melanozyten/Melanomzellen eine nukleäre/zytoplasmatische Lokalisation von  $\beta$ -Katenin, die auf eine Aktivierung des Wnt-Signalwegs hindeuten könnte (Rimm et al., 1999).

$\gamma$ -Katenin war in der überwiegenden Zahl der von uns untersuchten melanozytären Tumoren negativ. Ähnliche Ergebnisse wurden von Silye et al. und Sanders et al. berichtet (Silye et al., 1998; Sanders et al., 1999). Interessanterweise zeigte ein blauer Nävus eine starke  $\gamma$ -Katenin Expression in der retikulären Dermis. Insgesamt unterstreichen die Ergebnisse die Rolle von  $\beta$ -Katenin als Brückenmolekül zwischen Cadherinen und dem Zytoskelett.  $\gamma$ -Katenin scheint, wenn überhaupt, nur eine geringe Rolle zu spielen.

UVB-Licht hatte in den von uns untersuchten Nävi keinen erkennbaren Einfluß auf die Expression von Cadherinen oder Kateninen. Seline et al. berichteten über einen leichten Rückgang der Expression von E-Cadherin in Melanozyten nach einer UVB-Bestrahlung in vitro (Seline et al., 1996). Das histologisch erkennbare intraepidermale Aufsteigen von Melanozyten in UV-bestrahlten Nävi würde zu einem solchen Rückgang passen, da dafür Interzellularbrücken gelöst und wieder neu verknüpft werden müssen. Eventuell handelt es

sich hierbei aber um funktionale Veränderungen, die nicht zwangsläufig mit einem Rückgang der Immunreaktivität von Cadherinen verbunden sein müssen. Jamal und Schneider berichteten, daß Endothelin 1, welches von Keratinozyten bei UV-Bestrahlung sezerniert wird, über den Endothelin-B-Rezeptor zu einer Herunterregulierung von E-Cadherin in Melanozyten führt (Jamal und Schneider, 2002). Demgegenüber fanden Nakazawa et al. keine erkennbare Veränderung der Expression von E-Cadherin in Melanozyten nach UVB-Bestrahlung in vitro (Nakazawa et al., 1995).

Insgesamt war die Expression von Cadherinen und Kateninen in den verschiedenen Nävistypen unterschiedlicher als zu Beginn dieser Arbeit erwartet, wobei jeder Nävistyp ein für ihn mehr oder weniger typisches Expressionsmuster aufweist. Einen Wechsel der Expression von E-Cadherin nach N-Cadherin in malignen Melanomen wie er von Tang et al. beschrieben wurde, konnten wir nur in Einzelfällen feststellen (Tang et al., 1994). Vermutlich stellt dieser Mechanismus einen späten Schritt in der Melanomprogression dar, der sich immunhistologisch mit den von mir verwendeten Antikörpern nicht demonstrieren ließ. Es bleibt jedoch zu bedenken, dass bei unseren Untersuchungen auch gutartige melanozytäre Tumoren (Spitz-Nävi) N-Cadherin exprimierten.

Die Expression von E-Cadherin war in unserer Studie vor allem von der anatomischen Lokalisation der Melanozyten in der Haut abhängig. Die Dignität spielte eine untergeordnete Rolle. Weder Cadherine noch Katenine sind nach dieser Untersuchung als Malignitäts- oder Progressionsindikatoren bei melanozytären Tumoren einzustufen.

## 6 Zusammenfassung

Cadherine und Katenine haben wichtige Aufgaben bei der Zelladhäsion und Zellkommunikation. Vor allem E-Cadherin spielt eine wichtige Rolle für die Zelladhäsion zwischen Keratinozyten und Melanozyten. Unklarheit besteht darüber, ob eine maligne Transformation melanozytärer Zellen mit einer Herunterregulation von E-Cadherin und ggf. mit einer erhöhten Expression von N-Cadherin einhergeht. Die vorgelegten Untersuchungen hatten zum Ziel, die Expression der Cadherine und ihrer Bindungspartner, den Kateninen, in melanozytären Tumoren zu untersuchen. Dazu wurde die Expression von E-, P- und N-Cadherin sowie von  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Katenin in Compound-Nävi, dermalen Nävi, Spitz-Nävi, blauen Nävi, superfiziell spreitenden Melanomen, nodulären Melanomen sowie in experimentell halbseitig UV-bestrahlten Nävi immunhistologisch untersucht.

Sowohl in Compound- und dermalen Nävi als auch in Melanomen nahm die Expression von E-Cadherin von der Junktionszone zu tieferen histologischen Hautschichten hin ab. Dabei zeigte sich in Melanomen ein heterogeneres Verteilungsmuster der Expression als in Nävi. Blaue Nävi zeigten demgegenüber auch in der mittleren bis tiefen retikulären Dermis noch eine starke E-Cadherin Expression. Die Expression von P-Cadherin war in etwa vergleichbar mit der von E-Cadherin, in blauen Nävi jedoch deutlich schwächer. N-Cadherin wurde nur von einer Minderheit der Melanomzellen in einigen Melanomen exprimiert. Einige Spitz-Nävi zeigten demgegenüber eine starke Expression von N-Cadherin. Die meisten Zellen sowohl in Nävi als auch in Melanomen waren  $\alpha$ - und  $\beta$ -Katenin positiv sowie  $\gamma$ -Katenin negativ. Die UV-Bestrahlung hatte keinen Einfluss auf die Expression von Cadherinen oder Kateninen.

Die zur Tiefe abnehmende Expression von E- und P-Cadherin findet sich in ähnlicher Weise in Nävi und in Melanomen. Dies legt die Schlussfolgerung nahe, dass die veränderten molekularen Umgebungsbedingungen in der Dermis bzw. der fehlende Zellkontakt zu Keratinozyten für die Abnahme der Expression eine wichtigere Rolle spielt als die Dignität des Tumors. Die stärkere intratumorale Heterogenität der Cadherinexpression in Melanomen ist vermutlich Ausdruck von klonalen Änderungen der Zelldifferenzierung. Bei Invasion und Metastasierung kann eine relativ flexible, klonale Expression von Zelladhäsionsmolekülen eine wichtige Rolle spielen. Die aufgrund von in-vitro Voruntersuchungen vermutete Rolle eines Wechsels von E- zur N-Cadherin Expression bei der melanozytären Tumorprogression wird durch die vorliegende Arbeit jedoch nicht gestützt.

## 7 Anhang - Literaturverzeichnis

- Alanko T, Rosenberg M, Saksela O: FGF expression allows nevus cells to survive in three-dimensional collagen gel under conditions that induce apoptosis in normal human melanocytes. *J Invest Dermatol* 113, 111-6 (1999)
- Andrews NA, Jones AS, Helliwell TR, Kinsella AR: Expression of the E-cadherin-catenin cell adhesion complex in primary squamous cell carcinomas of the head and neck and their nodal metastases. *Br J Cancer* 75, 1474-80 (1997)
- Armstrong BK, de Klerk NH, Holman CD: Etiology of common acquired melanocytic nevi: constitutional variables, sun exposure, and diet. *J Natl Cancer Inst* 77, 329-35 (1986)
- Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A, Jr., Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA, Thompson JF: Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 19, 3635-48 (2001)
- Breslow A: Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. *Ann Surg* 172, 902-8 (1970)
- Carli P, Naldi L, Lovati S, La Vecchia C: The density of melanocytic nevi correlates with constitutional variables and history of sunburns: a prevalence study among Italian schoolchildren. *Int J Cancer* 101, 375-9 (2002)
- Clark WH, Jr., From L, Bernardino EA, Mihm MC: The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res* 29, 705-27 (1969)
- Cowley GP, Smith ME: Cadherin expression in melanocytic naevi and malignant melanomas. *J Pathol* 179, 183-7 (1996)

- Cramer SF: The origin of epidermal melanocytes. Implications for the histogenesis of nevi and melanomas. *Arch Pathol Lab Med* 115, 115-9 (1991)
- Furukawa F, Fujii K, Horiguchi Y, Matsuyoshi N, Fujita M, Toda K, Imamura S, Wakita H, Shirahama S, Takigawa M: Roles of E- and P-cadherin in the human skin. *Microsc Res Tech* 38, 343-52 (1997)
- Gallagher RP, McLean DI, Yang CP, Coldman AJ, Silver HK, Spinelli JJ, Beagrie M: Suntan, sunburn, and pigmentation factors and the frequency of acquired melanocytic nevi in children. Similarities to melanoma: the Vancouver Mole Study. *Arch Dermatol* 126, 770-6 (1990)
- Gallagher RP, McLean DI: The epidemiology of acquired melanocytic nevi. A brief review. *Dermatol Clin* 13, 595-603 (1995)
- Gontier E, Cario-Andre M, Vergnes P, Bizik J, Surleve-Bazeille JE, Taieb A: The 'Abtropfung phenomenon' revisited: Dermal nevus cells from congenital nevi cannot activate matrix metalloproteinase 2 (MMP-2). *Pigment Cell Res* 16, 366-73 (2003)
- Greene MH, Clark WH, Jr., Tucker MA, Kraemer KH, Elder DE, Fraser MC: High risk of malignant melanoma in melanoma-prone families with dysplastic nevi. *Ann Intern Med* 102, 458-65 (1985)
- Hazan RB, Phillips GR, Qiao RF, Norton L, Aaronson SA: Exogenous expression of N-cadherin in breast cancer cells induces cell migration, invasion, and metastasis. *J Cell Biol* 148, 779-90 (2000)
- Herlyn M, Berking C, Li G, Satyamoorthy K: Lessons from melanocyte development for understanding the biological events in naevus and melanoma formation. *Melanoma Res* 10, 303-12 (2000)
- Holly EA, Kelly JW, Shpall SN, Chiu SH: Number of melanocytic nevi as a major risk factor for malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 17, 459-68 (1987)

- Holman CD, Armstrong BK: Pigmentary traits, ethnic origin, benign nevi, and family history as risk factors for cutaneous malignant melanoma. *J Natl Cancer Inst* 72, 257-66 (1984)
- Hsu MY, Meier FE, Nesbit M, Hsu JY, Van Belle P, Elder DE, Herlyn M: E-cadherin expression in melanoma cells restores keratinocyte-mediated growth control and down-regulates expression of invasion-related adhesion receptors. *Am J Pathol* 156, 1515-25 (2000)
- Hunt NC, Douglas-Jones AG, Jasani B, Morgan JM, Pignatelli M: Loss of E-cadherin expression associated with lymph node metastases in small breast carcinomas. *Virchows Arch* 430, 285-9 (1997)
- Jamal S, Schneider RJ: UV-induction of keratinocyte endothelin-1 downregulates E-cadherin in melanocytes and melanoma cells. *J Clin Invest* 110, 443-52 (2002)
- Jawhari A, Farthing M, Pignatelli M: The importance of the E-cadherin-catenin complex in the maintenance of intestinal epithelial homeostasis: more than intercellular glue? *Gut* 41, 581-4 (1997)
- Johnson JP: Cell adhesion molecules in the development and progression of malignant melanoma. *Cancer Metastasis Rev* 18, 345-57 (1999)
- Kandikonda S, Oda D, Niederman R, Sorkin BC: Cadherin-mediated adhesion is required for normal growth regulation of human gingival epithelial cells. *Cell Adhes Commun* 4, 13-24 (1996)
- Katagiri A, Watanabe R, Tomita Y: E-cadherin expression in renal cell cancer and its significance in metastasis and survival. *Br J Cancer* 71, 376-9 (1995)
- Katalinic A, Kunze U, Schafer T: Epidemiology of cutaneous melanoma and non-melanoma skin cancer in Schleswig-Holstein, Germany: incidence, clinical subtypes, tumour stages and localization (epidemiology of skin cancer). *Br J Dermatol* 149, 1200-6 (2003)

- Katsambas A, Nicolaidou E: Cutaneous malignant melanoma and sun exposure. Recent developments in epidemiology. *Arch Dermatol* 132, 444-50 (1996)
- Kelly JW, Rivers JK, MacLennan R, Harrison S, Lewis AE, Tate BJ: Sunlight: a major factor associated with the development of melanocytic nevi in Australian schoolchildren. *J Am Acad Dermatol* 30, 40-8 (1994)
- Kinsella AR, Lepts GC, Hill CL, Jones M: Reduced E-cadherin expression correlates with increased invasiveness in colorectal carcinoma cell lines. *Clin Exp Metastasis* 12, 335-42 (1994)
- Lewis JE, Jensen PJ, Wheelock MJ: Cadherin function is required for human keratinocytes to assemble desmosomes and stratify in response to calcium. *J Invest Dermatol* 102, 870-7 (1994)
- Menke A, Philippi C, Vogelmann R, Seidel B, Lutz MP, Adler G, Wedlich D: Down-regulation of E-cadherin gene expression by collagen type I and type III in pancreatic cancer cell lines. *Cancer Res* 61, 3508-17 (2001)
- Misago N: The relationship between melanocytes and peripheral nerve sheath cells (Part I): melanocytic nevus (excluding so-called "blue nevus") with peripheral nerve sheath differentiation. *Am J Dermatopathol* 22, 217-29 (2000)
- Nakazawa K, Nakazawa H, Bonnard M, Damour O, Collombel C: Ca<sup>2+</sup> and UVB radiation have no effect on E-cadherin-mediated melanocyte-keratinocyte adhesion. *Pigment Cell Res* 8, 255-62 (1995)
- Nieman MT, Prudoff RS, Johnson KR, Wheelock MJ: N-cadherin promotes motility in human breast cancer cells regardless of their E-cadherin expression. *J Cell Biol* 147, 631-44 (1999)
- Osterlind A, Tucker MA, Stone BJ, Jensen OM: The Danish case-control study of cutaneous malignant melanoma. II. Importance of UV-light exposure. *Int J Cancer* 42, 319-24 (1988)

- Otto T, Rembrink K, Goepel M, Meyer-Schwickerath M, Rubben H: E-cadherin: a marker for differentiation and invasiveness in prostatic carcinoma. *Urol Res* 21, 359-62 (1993)
- Otto T, Birchmeier W, Schmidt U, Hinke A, Schipper J, Rubben H, Raz A: Inverse relation of E-cadherin and autocrine motility factor receptor expression as a prognostic factor in patients with bladder carcinomas. *Cancer Res* 54, 3120-3 (1994)
- Pignatelli M, Ansari TW, Gunter P, Liu D, Hirano S, Takeichi M, Kloppel G, Lemoine NR: Loss of membranous E-cadherin expression in pancreatic cancer: correlation with lymph node metastasis, high grade, and advanced stage. *J Pathol* 174, 243-8 (1994)
- Pouliot Y: Phylogenetic analysis of the cadherin superfamily. *Bioessays* 14, 743-8 (1992)
- Redfield A, Nieman MT, Knudsen KA: Cadherins promote skeletal muscle differentiation in three-dimensional cultures. *J Cell Biol* 138, 1323-31 (1997)
- Rimm DL, Caca K, Hu G, Harrison FB, Fearon ER: Frequent nuclear/cytoplasmic localization of beta-catenin without exon 3 mutations in malignant melanoma. *Am J Pathol* 154, 325-9 (1999)
- Sanders DS, Blessing K, Hassan GA, Bruton R, Marsden JR, Jankowski J: Alterations in cadherin and catenin expression during the biological progression of melanocytic tumours. *Mol Pathol* 52, 151-7 (1999)
- Seline PC, Norris DA, Horikawa T, Fujita M, Middleton MH, Morelli JG: Expression of E and P-cadherin by melanoma cells decreases in progressive melanomas and following ultraviolet radiation. *J Invest Dermatol* 106, 1320-4 (1996)

- Silye R, Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Poole S, van Noorden S, Batchelor W, Regele H, Sega W, Boesmueller H, Krausz T, Pignatelli M: E-cadherin/catenin complex in benign and malignant melanocytic lesions. *J Pathol* 186, 350-5 (1998)
- Slagle BL, Zhou YZ, Birchmeier W, Scorsone KA: Deletion of the E-cadherin gene in hepatitis B virus-positive Chinese hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 18, 757-62 (1993)
- Soler C, Grangeasse C, Baggetto LG, Damour O: Dermal fibroblast proliferation is improved by beta-catenin overexpression and inhibited by E-cadherin expression. *FEBS Lett* 442, 178-82 (1999)
- Steinberg MS, McNutt PM: Cadherins and their connections: adhesion junctions have broader functions. *Curr Opin Cell Biol* 11, 554-60 (1999)
- Tang A, Eller MS, Hara M, Yaar M, Hirohashi S, Gilchrist BA: E-cadherin is the major mediator of human melanocyte adhesion to keratinocytes in vitro. *J Cell Sci* 107, 983-992 (1994)
- Tronnier M, Smolle J, Wolff HH: Ultraviolet irradiation induces acute changes in melanocytic nevi. *J Invest Dermatol* 104, 475-8 (1995)
- Tronnier M, Alexander M, Wolff HH: Adhesion molecule expression in normal skin and melanocytic lesions. Role of UV-irradiation and architectural characteristics in nevi. *J Cutan Pathol* 24, 278-85 (1997)
- Tronnier M: Melanozytäre Nävi, Kapitel 92  
In: Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH, Burgdorf WHC, Landthaler M: *Dermatologie und Venerologie*. 5.Aufl., 1299-1312, Springer Medizin Verlag Heidelberg 2005
- Umbas R, Isaacs WB, Bringuier PP, Schaafsma HE, Karthaus HF, Oosterhof GO, Debruyne FM, Schalken JA: Decreased E-cadherin expression is associated with poor prognosis in patients with prostate cancer. *Cancer Res* 54, 3929-33 (1994)

- Van Aken E, De Wever O, Correia da Rocha AS, Mareel M: Defective E-cadherin/catenin complexes in human cancer. *Virchows Arch* 439, 725-51 (2001)
- Veatch AL, Carson LF, Ramakrishnan S: Differential expression of the cell-cell adhesion molecule E-cadherin in ascites and solid human ovarian tumor cells. *Int J Cancer* 58, 393-9 (1994)
- Vleminckx K, Kemler R: Cadherins and tissue formation: integrating adhesion and signaling. *Bioessays* 21, 211-20 (1999)
- Worret WI, Burgdorf WH: Which direction do nevus cells move? Abtropfung reexamined. *Am J Dermatopathol* 20, 135-9 (1998)

## 8 Danksagung

Zuerst möchte ich Herrn Prof. Dr. M. Tronnier für die Überlassung des Themas und die intensive Betreuung bei der Durchführung dieser Promotionsarbeit danken.

Mein besonderer Dank geht an Herrn Dr. S. Kregel für die unermüdliche Unterstützung bei allen kleineren und größeren Fragen und Problemen, bei den Bestrahlungen und den Exzisionen der zur Hälfte bestrahlten Nävi, bei der Auswertung und nicht zuletzt bei der Korrektur.

Ebenso möchte ich Herrn Dr. S. Bartsch für die große Hilfe bei der Auswertung danken.

Mein Dank gilt auch dem ehemaligen Direktor der Klinik für Dermatologie und Venerologie, Prof. Dr. H. H. Wolff, für die Möglichkeit, diese Arbeit in seiner Klinik durchzuführen.

Außerdem möchte ich den medizinisch-technischen Assistentinnen des histologischen und immunhistologischen Labors der Dermatologie, namentlich Frau M. Alexander und Frau I. Schaller-Atefi, für die Hilfestellung bei den immunhistologischen Färbungen und Frau Kelletat für die Beratung bei der Auswahl der archivierten melanozytären Tumoren danken.

# 9 Lebenslauf

## Lebenslauf von Florian Grotelüsch

### Persönliches

- Geboren am 27.04.1976 in Freiburg Breisgau als ältestes von fünf Geschwistern.
- 1978: Umzug nach Lübeck.
- 1983 bis 1996: Besuch der Freien Waldorfschule Lübeck und Abitur.
- 01.08.1996 bis 31.08.1997: Zivildienst im Heinrich-Sengelmann-Krankenhaus (Bargfeld-Stegen), Arbeit mit schizophrenen Patienten.
- 15.05.2004: Eheschließung mit Bettina Lenz.

### Medizinische Ausbildung

- 01.10.1997: Beginn des Medizinstudium an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz.
- 20.08.1999: Physikum.
- 29.08.2000: Erstes Staatsexamen.
- 10.10.2000: Hochschulwechsel an die Medizinische Universität Lübeck.
- 21.03.2003: Zweites Staatsexamen.
- 04.05.2004: Drittes Staatsexamen.
- 04.05.2004: Abschluß des Medizinstudiums.

Seit Mai 2005 Arbeit als Assistenzarzt in der Dermatologie der Asklepios Nordseeklinik Westerland / Sylt

## Promotionsarbeit

»Expression von Cadherinen und Kateninen in melanozytären Tumoren – Beeinflussbarkeit durch UV-Strahlung« bei Prof. M Tronnier, Oberarzt an der Hautklinik Lübeck, jetzt Chefarzt der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Klinikum Hildesheim GmbH.

Im Rahmen der Promotionsarbeit Mitarbeit an einer Publikation im Journal of Cutaneous Pathologie: Krengel S, Grotelüschen F, Bartsch S, Tronnier M: Cadherin expression pattern in melanocytic tumors more likely depends on the melanocyte environment than on tumor cell progression, J Cutan Pathol 31:1-7 (2004)