

Pankreaskarzinome

Holger Kalthoff, Martina Voß

Klinik für Allgemeine und
Thoraxchirurgie, Abteilung
Molekulare Onkologie, Kiel

Zusammenfassung

Der Nachweis von K-ras Mutationen in Kombination mit der Detektion der Telomerase-Aktivität im Blut, im Stuhl und in der Gallenflüssigkeit von Pankreastumorpatienten sind neue und vielversprechende Ansätze für die Diagnose des Pankreaskarzinoms. Es sind jedoch noch umfassende Ringversuche an Kliniken notwendig, bevor die Analyse von K-ras-Mutationen und die Detektion der Telomerase-Aktivität in großem Maßstab in der klinischen Praxis Anwendung finden. Auch bei der Detektion von p53-Antikörpern im Serum sowie von p16-Veränderungen (Deletionen im p16-Gen und Promotor-Hypermethylierung) im Pankreaskarzinomgewebe sind die verfügbaren Methoden noch nicht robust genug, um einen Verlauf der Krankheit zu prognostizieren. In der Gentherapie gibt es dagegen schon einige vielversprechende Ansätze in der klinischen Phase I.

Schlüsselwörter

Pankreaskarzinom, K-ras, p16, p53, Telomerase-Aktivität, Gentherapie

Summary

Detection of K-ras mutations in combination with detection of telomerase-activity in blood, stool, and bile of pancreatic cancer are new and promising approaches in the diagnosis of pancreatic cancer. However, K-ras-based mutation analysis and detection of telomerase activity is still not well established and robust assays which can be used clinically need to be developed. Detection of p53-antibodies in sera of pancreatic cancer patients seems to be a prognostic marker for malignancy as well as p16-Mutations (deletions and promoter-hypermethylation) in pancreatic cancer tissue, but available methods are still not sensitive enough. Gene therapy has revealed promising results in preclinical studies. Some of the strategies have already progressed to phase I clinical trials in humans.

Keywords

pancreatic cancer, K-ras mutations, p16, p53, telomerase activity, gene therapy

Einleitung

In Deutschland sterben jährlich ca. 12 000 Menschen an einem Pankreaskarzinom. Damit nimmt das Pankreaskarzinom als sechst-häufigste Tumorart mit 5 % aller Krebstoten einen wichtigen Platz in der Mortalitätsstatistik aller Tumoren ein. Das erste Jahr nach Diagnosestellung überleben weniger als 20 % der betroffenen Patienten und die Fünf-Jahres-Überlebensrate liegt unter 5 %. Damit hat das Pankreaskarzinom eine der schlechtesten Prognosen aller Tumorarten überhaupt. Ein Grund für diese außerordentlich schlechte Prognose ist, dass Frühsymptome des Pankreaskarzinoms selten und uncharakteristisch sind. Daher werden Pankreaskarzinome häufig erst in fortgeschrittenen Stadien diagnostiziert. Ein weiterer Grund für die schlechte Prognose ist die Resistenz von Pankreaskarzinomen gegenüber Strahlen- und Chemotherapie. Am häufigsten tritt das Pankreaskarzinom in der 6.–8. Lebensdekade auf, wobei Männer etwa doppelt so häufig betroffen sind wie Frauen („Arbeitsgemeinschaft Bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland“, 2002).

Die existierenden Methoden, die zur Diagnose des Pankreaskarzinoms eingesetzt werden, wie Tumor-Marker, Endoskopie und radiologischer Nachweis, sind alle nicht sensitiv genug, um das Pankreaskarzinom im Frühstadium zu diagnostizieren. Dies gilt insbesondere vor dem Hintergrund einer chronischen Pankreatitis. Beweisend ist die histopathologische Diagnose eines Pankreaskarzinoms. Bei

**Tab 1 Repräsentatives genetisches Profil
des Pankreas-Adenokarzinoms (Inoue, 2001)**

Gen	Locus	Häufigkeit von Mutationen (%)
Onkogen		
K-ras	12p12	80–95
Tumor-Suppressor-Gene		
p53	17p13	50
p16	9p21	85
DPC4	18q21.1	ca. 55
Mikrosatelliten-Instabilität		
Telomerase-Reaktivierung		3
		90

der Klassifizierung Pankreatischer Intraepithelialer Neoplasien (PanIN) werden histologisch 3 Läsionstypen (PanIN: „pancreatic intraepithelial Neoplasia“) unterschieden (<http://www.pathology.jhu.edu/pancreas/panin>): Normale flache duktale Läsionen (PanIN-1A), papilläre duktale Läsionen (PanIN-1B), atypische papilläre duktale Läsionen (PanIN-2) und schwere atypische duktale Läsionen (PanIN-3).

Trotz der Verbesserungen der Operationstechniken und der palliativen Therapien, hat sich die Prognose von Patienten mit Pankreaskarzinom in den letzten Jahrzehnten nur wenig verbessert. Die effektivste Therapie ist die chirurgische Resektion (Operation nach Whipple), wobei nur 20–30 % der Tumore reseziert werden können. Eine frühzeitigere Diagnose sollte die Prognose des Pankreaskarzinoms verbessern, da Patienten mit kleinen Tumoren, die auf das Pankreas beschränkt sind, eine 5-Jahres-Überlebensrate von 40 % haben.

Fragestellung

Angesichts der oben geschilderten Situation sind neue Strategien nötig, um das Pankreaskarzinom frühzeitig zu diagnostizieren und effektiver zu behandeln. Dabei könnte die Etablierung einer molekulargenetischen Diagnose, die ggf. parallel zur histopathologischen Diagnose Anwendung finden würde, die Erkennung des Pankreaskarzinoms im Frühstadium ermöglichen. Der Einsatz von gentherapeutischen Methoden soll zum einen mutierte oder deletierte Gene rekonstituieren, um Pankreastumoren

z.B. weniger resistent gegenüber chemotherapeutischen Behandlungen zu machen. Zum anderen könnte eine molekulargenetische Therapie eingesetzt werden, um Tumorzellen mit Hilfe von Viren gezielt zu zerstören.

In den nachfolgenden Abschnitten soll der aktuelle Stand der molekulargenetischen Charakterisierung des Pankreaskarzinoms, die Ansätze für die molekulargenetische Diagnostik, die Ansätze für eine Beurteilung der Prognose des Pankreaskarzinoms mit molekulargenetischen Methoden sowie die gentherapeutischen Ansätze zur Behandlung des Pankreaskarzinoms kurz erörtert werden.

Molekulargenetische Befunde bei sporadischen Pankreaskarzinomen

Es wird angenommen, dass die Anzahl der Gene, die von Mutationen betroffen sind, mit dem histopathologischen Progressionsstadium zunimmt. Biologisch „frühe“ Läsionen (z.B. Läsionen mit geringgradiger Dysplasie) sollten nur einzelne sehr wenige, „späte“ Läsionen dagegen mehrere Genveränderungen aufweisen. Mit Hilfe von molekularen Analysen der Vorläuferläsionen konnte festgestellt werden, dass aktivierende K-ras Mutationen sich meist früh ereignen, während Veränderungen in der Expression und der genetischen Integrität des p16-Gens in „intermediären Läsionen“ auftreten und die Inaktivierung von p53- und DPC4-Genen sowie Veränderungen der Telomerase-Aktivität erst spät in der neoplastischen Progression erfolgen.

In Pankreaskarzinomen wurden besonders häufig K-ras Onkogen Mutationen beobachtet, wobei eine beachtliche Prävalenz den Mutationen im Codon 12 zukommt. Das Produkt des K-ras Gens ist ein Plasmamembran-gebundenes 21-kD Guanin Nucleotid-bindendes Protein mit GTPase Aktivität. Mutationen dieses Proteins führen zu einem Verlust der GTPase Aktivität, wodurch die Signaltransduktion beeinflusst wird. Gleichzeitig sind drei Tumor-Suppressorgene, die negativ regulierend auf den Zellzyklus einwirken, besonders häufig von Mutationen betroffen: p53, p16 und DPC 4 („deleted in pancreatic cancer, locus 4“). p53 ist ein Tumorsuppressorgen, das für ein 53-kD nukleäres Phosphoprotein codiert. Mutationen im p53-Gen sind die häufigsten somatischen genetischen Alterationen in humanen Karzinomen und führen zu einem mutierten Protein mit einer erhöhten Halbwertszeit. Als Transkriptionsfaktor kontrolliert p53 eine große Zahl von Genen und ist für die Inhibition einer Onkogen-induzierten Transformation, die Erhaltung der genomischen Stabilität, der Modulation der G1-Phase des Zellzyklus und der Expression von Wachstums-Kontroll-Genen verantwortlich. Ein mutiertes p53-Gen verliert diese regulatorischen Funktionen und trägt so zur malignen Zelltransformation bei. Das Tumorsuppressorgen p16 codiert für einen Regulator des Zellzyklus. Funktionell ist p16 ein Inhibitor der CyclinD-Cdk4 und CyclinD-Cdk6 Kinase Komplexe, die die Aktivität des Zellzyklus-Inhibitor-Proteins Rb herunterregulieren. Das Tumor-

Tab 2 Familiäre Krebs syndrome mit erhöhtem Risiko für Pankreaskarzinome (siehe Omim-Datenbank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/>)

Syndrom	Verantwortliches Gen	Relatives Risiko	Assoziierte Tumoren
Familiäres Pankreaskarzinom (FPC)	noch nicht identifiziert	60–80	—
Hereditäre Pankreatitis (PCTT)	PRSS1 CFTR SPINK1	80–100	—
Familiäres atypisches multiples Mole Melanom Pankreas Karzinom-Syndrom (FAMMMPC)	p16/INK4 CDKN2A	25	Melanom Ösophaguskarzinom Platteneithelkarzinom
Peutz-Jeghers-Syndrom (PJS)	STK11 LKB1	100	Ovarialkarzinom Ösophaguskarzinom Colonkarzinom Brustkarzinom
Hereditäres Brust/Ovarialkarzinom	BRCA2	1–3,5	Brustkarzinom Ovarialkarzinom Prostatakarzinom
Li-Fraumeni-Syndrom (LFS)	p53 CHK2	5	Gehirntumoren Melanom Lungenkarzinom Prostatakarzinom Tumore der Gonaden Multiple Primärtumore
Hereditäres nicht-polyposis colorektales Karzinom (HNPCC)	hMSH2 hMSH3 PMS1 PMS2 HMSH6	5	Colonkarzinom Magenkarzinom Karzinome des Uretralstraktes Gallenkarzinome Endometriumkarzinom
Familiäres adenomatöses Polyposis coli Syndrom (APC)	APC	5	Colonkarzinom Endometriumkarzinom Multiple primäre Neoplasien Hepatoblastom

Suppressorprotein DPC4 vermittelt die durch den Wachstumsfaktor TGF β stimulierte Gentranskription über Sequenz-spezifische Bindung an die DNA. Da TGF β auf Zellen epithelialen Ursprungs eine Wachstums-inhibierende Wirkung hat, kann der Verlust von DPC4 zur malignen Transformation beitragen. Als Synonym für DPC4 wird in der Literatur auch häufig die Bezeichnung SMAD4 verwendet, die auf die Entdeckung des bei *Drosophila melanogaster* entdeckten homologen Proteins zurückzuführen ist.

Weiterhin kommt es beim Pankreaskarzinom – wie auch bei anderen Tumoren – zur Reaktivierung der Telomerase-Aktivität. Die Telomerase ist ein Enzym, das eine DNA-Sequenz von 6 Nukleotiden an die chromosomalen Enden in Keim- und Stammzellen anfügt und damit für die Immortalität der Zellen verantwortlich ist.

Molekulargenetische Befunde beim erblichen Pankreaskarzinom
4–16 % der Pankreaskarzinome zeigen eine familiäre Häufung. Diese ist zurückzuführen auf das Familiäre Atypische Multiple Mole Melanom Pankreas-Syndrom (FAMMMPC), das Peutz-Jeghers Syndrom (PJS), das erbliche Brust-Ovarial-Karzinom und

auf die hereditäre Pankreatitis (PCTT). Weitere Tumorsyndrome wie das Li-Fraumeni-Syndrom (LFS), das Hereditäre Nicht-Polyposis Colorektales Syndrom (HNPCC) und das Familiäre Adenomatöse Polyposis Coli-Syndrom (APC) scheinen ebenfalls mit einem erhöhten Pankreaskarzinomrisiko verbunden zu sein, allerdings wird auch für diese Syndrome, ähnlich wie für das erbliche Brust-/Ovarial-Syndrom, nur von einem relativen Risiko von maximal 5 ausgegangen. Ein deutlich erhöhtes Pankreaskarzinomrisiko weisen Risikopersonen aus Familien mit Familiärem Pankreaskarzinom (FPC) auf, wobei hier noch kein verantwortliches Gen identifiziert werden konnte. Die FPC's sollen ungefähr 5-7% aller Pankreaskarzinome ausmachen (Klein, 2001). Einen Überblick der familiären Krebs syndrome mit erhöhtem Risiko für Pankreaskarzinome zeigt die Tabelle 2.

Ansätze für die molekulargenetische Diagnostik des Pankreaskarzinoms
Obwohl noch keine klinischen Tests für die genetische Diagnostik des Pankreaskarzinoms etabliert sind, gibt es vielversprechende Ansätze. Bisher konzentrierten sich die meisten Anstrengungen darauf, ein sen-

sitives diagnostisches Werkzeug zu entwickeln, welches spezifisch die K-ras Codon 12 Mutation detektiert. K-ras Mutationen schienen gute potentielle Kandidaten für genetische Tests zu sein, da sie früh in der Pankreaskarzinogenese auftreten. Inzwischen hat sich jedoch abgezeichnet, dass die Spezifität der K-ras Mutationen zur Diagnose des Pankreaskarzinoms alleine nicht ausreicht, da auch bei Patienten mit Pankreatitis K-ras Mutationen detektiert wurden. Die Häufigkeitsangaben von K-ras Mutationen beim Pankreaskarzinom beziehen sich auf den Nachweis der K-ras Mutation im Gewebe und im Pankreassekret. Es ist jedoch zu bedenken, dass invasive Techniken zum Erhalt von Pankreassekret oder Pankreasgewebe für ein „Cancer-Screening“ ungeeignet sind.

Daher wurden K-ras Mutationen außer im Pankreassekret auch in Stuhlproben, Gallenflüssigkeit, Sputum und Plasma-DNA von Pankreastumorpatienten untersucht (Friess, 1997). Hier konnte je nach Herkunft der Probe eine K-ras Mutation in 25–87 % der Fälle nachgewiesen werden. Die Sensitivität hängt stark von der Methode sowie von der Qualität der klinischen Probe ab (Minamo-

to, 2000). Bezüglich der mangelnden Spezifität könnte der gleichzeitige Nachweis der Reaktivierung der Telomerase in differenzierten Zellen als Marker dienen, um das Pankreaskarzinom von der Pankreatitis zu unterscheiden. Die Reaktivierung der Telomerase kann mit Hilfe eines neuen hoch sensitiven auf PCR-basierenden Telomerase Tests (TRAP) erkannt werden. Im Gegensatz zum Pankreaskarzinom konnte bei der Pankreatitis bisher keine Reaktivierung der Telomerase detektiert werden. Beim gleichzeitigen Nachweis von K-ras Mutationen und Telomerase-Aktivität im Pankreassekret waren 100 % der getesteten Pankreaskarzinompatienten (12/12) positiv (Myung, 2000). Die weitere Entwicklung dieser Tests könnte in naher Zukunft ein neues diagnostisches Werkzeug für die frühzeitige Diagnostik des Pankreaskarzinoms schaffen.

Ansätze für die Beurteilung der Prognose des Pankreaskarzinoms mit molekulargenetischen

Methoden

Während der Nachweis von K-ras Mutationen und der Nachweis der Reaktivierung der Telomerase-Aktivität eher in der molekularen Diagnostik des Pankreaskarzinoms Anwendung finden könnten, dürfte der Nachweis von Mutationen/Deletionen in den Tumorsuppressorgenen p53 und p16 eher eine Hilfestellung für die Beurteilung der Prognose bieten (Inoue, 2001).

p53-Mutationen scheinen eine schnellere Progression des Pankreaskarzinoms zu induzieren. Sie sind assoziiert mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium, lokalem Lymphknotenbefall und kürzeren Überlebenszeiten aber nicht mit einer höheren Inzidenz von Fernmetastasen oder gesteigerter Tumorgroße. Weiterhin scheint die Anwesenheit von p53-Antikörpern im Serum von Patienten sehr spezifisch für die Malignität der Pankreaserkrankung zu sein. Damit könnte p53 – besonders postoperativ – ein prognostischer Indikator sein. Allerdings konnten im Serum von Pankreaskarzinompatienten (n = 160) nur bei 6,4 % der

Probanden p53-Antikörper detektiert werden, obwohl die p53-Mutationsrate bei > 50 % liegt (Marxsen, 1994). p53-Mutationen wurden allerdings auch – wenn auch selten – im Pankreassaft von Patienten mit chronischer Pankreatitis detektiert (Löhr, 2001a).

Als weiterer prognostischer Marker könnte auch der Nachweis von Veränderungen im Tumor-Suppressorgen p16 im Pankreasgewebe eingesetzt werden, da p16-Veränderungen bei der chronischen Pankreatitis ein Indikator für ein hohes Risiko einer Weiterentwicklung in ein Pankreaskarzinom sind. Die am häufigsten beschriebenen p16-Veränderungen bei Pankreastumoren sind eine Hypermethylierung des Promotors sowie Deletionen im p16-Gen. Die Anwesenheit von p16-Veränderungen in Pankreastumoren ist mit einer schlechten Prognose verbunden (Gerdes, 2002). Jedoch muss auch hier – wie beim Nachweis von p53-Mutationen – die Sensitivität des Nachweises noch verbessert werden.

Gentherapeutische Ansätze zur Behandlung des Pankreaskarzinoms

(Kasuya, 2001)

In der Gentherapie gibt es einige vielversprechende Ansätze, die hier im Einzelnen kurz vorgestellt werden sollen.

Bei der Antisense-Strategie werden Nukleinsäuren eingesetzt, die zu bestimmten Sequenzen der DNA oder RNA komplementär sind. Die Hybridisierung der Oligonukleotide an ihr Ziel kann die Transkription oder Translation des Gen-Produkts effektiv blockieren. *In vitro* und im Tiermodell zeigten Antisense-Oligonukleotide gegen K-ras eine Reduktion der K-ras Expression und ein supprimiertes Zellwachstum. In diesem Zusammenhang könnte auch doppelsträngige RNA Einsatz finden, welche die Expression korrespondierender Exon-Sequenzen in der RNA inhibiert (Paul, 2002).

Die Gen-gerichtete Prodrug Aktivierung Therapie (GPAT) beruht auf dem Einsatz von nicht-Säuger-Enzymen.

Die Thymidin Kinase des Herpes Simplex Virus (HSV-tk) und die Cytosindeaminase (CD) aus *E. coli* sind hier zwei klassische Enzyme. Die HSV-tk phosphoryliert die „Prodrug“ Ganciclovir (GCV) zu Ganciclovir Monophosphat. Diese Substanz wird dann durch die Wirtszelle weiter zu der toxischen Form Ganciclovir-Triphosphat phosphoryliert. Ganciclovir Triphosphat inhibiert die DNA-Polymerase und ist toxisch für Zellen, die sich in der S-Phase des Zellzyklus befinden. Gen-Therapien, die das HSV-tk-Gen benutzen, versuchen das Gen vorzugsweise in Pankreastumorzellen einzuschleusen und anschließend GCV hinzuzufügen, so dass selektiv die infizierten Tumorzellen sterben. Im Tiermodell konnten hierdurch vielversprechende Ergebnisse z.B. die Regression von Lebermetastasen erzielt werden. Nach dem gleichen Prinzip erfolgt der Einsatz des Enzyms Cytosindeaminase (CD), welches die Deamination von Cytosin zu Uracil katalysiert. Die CD kann die ungiftige Prodrug 5-Fluorcytosin (5-FC) zu 5-Fluoruracil (5-FU) umsetzen, welche anschließend zu 5-Fluoruracil-triphosphat (5-FUTP) oder Fluor-2-Deoxyuridin-5' Monophosphat (5-FdUMP) prozessiert wird. 5FUTP wird dann in die mRNA inkorporiert und interferiert mit dem mRNA Prozessing, während 5-FdUMP die Thymidylat Synthase inhibiert und dadurch mit der DNA-Synthase interferiert. Die CD wird mit Hilfe eines Vektors in Pankreastumorzellen eingebracht und anschließend wird 5-FC verabreicht. Mit dieser Methode konnte im Mausmodell eine Verminderung des Tumorwachstums beobachtet werden.

Eine Problematik dieser anti-Neoplastischen Therapien ist es, dass die eingesetzten Mengen an Therapeutika, die toxisch für Tumorzellen sind, auch zu einem gewissen Grad toxisch für normale Zellen sind. Hier könnte der Einsatz von Säuger-assoziierten Promotoren, die die Expression eingeschleuster Gene steuern (z.B. HSV-tk oder CD), Abhilfe schaffen. Da diese Promotoren in normalen Geweben theoretisch nicht aktiv sind, wird das eingeschleuste Gen nicht in normalen Zellen exprimiert, so dass diese Zel-

len nicht fähig sind, toxische Metaboliten aus Prodrugs wie Ganciclovir und 5-FC herzustellen. Ein Beispiel hierfür ist das Carcinoembryonale Antigen (CEA), ein Glycoprotein, das im allgemeinen von Colorektalen-, Gastro- und Pankreaskarzinomen stark exprimiert wird. Mit Hilfe eines adenoviralen Vektors, der ein CEA-tk-Konstrukt enthielt und direkt in einen subkutanen Tumor injiziert wurde, konnte eine signifikante Tumor-Regression im Mausmodell erzielt werden. Ein weiteres Beispiel ist das Glycoprotein MUC1, das von Pankreas- und Mammarkarzinomzellen häufig in veränderter Form exprimiert wird. Eine Transduktion mit Retroviren, die das HSV-tk Transgen unter der Kontrolle des MUC1-Promotors haben, resultiert in der Zellkultur in einem Anstieg der GCV-Sensitivität in MUC1 positiven Zellen.

Eine weitere Strategie ist der Einsatz von Tumor-spezifischen Replikationskompetenten Herpes- oder Adenoviren. Hierbei werden Replikationskompetente Viren auf Tumorzellen „gerichtet“, die dann durch virale Replikation und resultierende Zell-Lyse zerstört werden. Der Vorteil dieser Therapie ist, dass nicht jede Zelle transduziert werden muss, um eine erfolgreiche Therapie zu gewährleisten, da der Virus auch anliegende Tumorzellen zerstört. Ein Tumor-spezifischer Adenovirus produziert z.B. ein Protein, das die Replikation von Tumorzellen verhindert. In Kombination mit HSV-tk-Expression/Ganciclovir-Behandlung konnten Mäuse mit peritoneal disseminiertem Pankreaskarzinom effektiv behandelt werden: Die Überlebenszeit der behandelten Mäuse verbesserte sich signifikant. Ein Beispiel für einen Replikationskompetenten Virus ist Onyx-015, der bereits in der klinischen Phase I zur Behandlung des Pankreaskarzinoms getestet wird. Onyx-015 ist ein E1B55kDa Gen-deletierter Adenovirus, der das Tumorsuppressorgen p53 bindet und damit die p53-vermittelte transkriptionelle Aktivierung blockiert. Onyx-015 soll für seine effiziente Replikation in Tumorzellen auf Veränderungen im p53 Tumorsuppressor-Signalweg angewiesen sein. Obwohl die-

ser Effekt in neuesten Veröffentlichungen in Frage gestellt wurde, wurden in der Behandlung von Kopf-Hals-Tumoren mit diesem Virus bereits vielversprechende Ergebnisse erzielt. In der klinischen Phase I-Studie an Pankreastumorpatienten konnte bei der Behandlung mit Onyx-015 jedoch keine virale Replikation beobachtet werden (Mulvihill, 2001).

Eine weitere Methode ist der Transfer von genetisch modifizierten allogenen Zellen in das Blutgefäßsystem des Tumors. Hierfür werden die Zellen, die ein Cytochrom p450 Enzym exprimieren, in Cellulose-Sulphat eingebettet. Die Aktivierung der Zellen im Tumor erfolgt über die Verabreichung von geringen Mengen Ifofamid. In der klinischen Phase I/II-Studie zeigte sich hier bei 4/14 Pankreastumorpatienten eine Regression des Tumors, während der Tumor bei den anderen Patienten (10/14) zumindest unverändert blieb (Löhr, 2001b).

Literatur

Arbeitsgemeinschaft Bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland. Krebs in Deutschland. 3. Erweiterte, aktualisierte Ausgabe, Saarbrücken, 2002

Friess H, Kleeff J, Gumbs A, Buchler MW (1997) Molecular versus conventional markers in pancreatic cancer. *Digestion* 58: 557-563

Gerdes B, Ramaswamy A, Ziegler A, Lang SA, Kersting M, Baumann R, Wild A, Moll R, Rothmund M, Bartsch DK (2002) p16INK4a is a prognostic marker in resected ductal pancreatic cancer: an analysis of p16INK4a, p53, MDM2 and Rb. *Ann Surg* 235(1): 51-59

Inoue S, Tezel E, Nakao A (2001) Molecular diagnosis of pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology* 48 (40): 933-938

Kasuya HK, Nomoto S, Kimata H, Harada A, Takeda S, Hayashi S, Nakao A (2001) Gene therapy for pancreatic cancer. *Hepato-gastroenterology* 48(40): 957-961

Klein AP, Hruban RH, Brune KA, Petersen GM, Goggins M (2001) Familial pancreatic cancer 7(4): 266-273

Löhr M, Müller P, Mora J, Brinkmann B, Ostwald C, Farre A, Lluís F, Adam U, Stubbe J, Plath F, Nizze H, Hopt UT, Barten M, Capella G, Liebe S (2001a) p53 and K-ras mutations in pancreatic juice samples from patients with chronic pancreatitis. *Gastrointest Endosc* 53 (7): 734-743

Löhr M, Hoffmeyer A, Kroger J, Freund M, Hain J, Holle A, Karle P, Knofel WT, Liebe S, Müller P, Nizze H, Renner M, Saller RM, Wagner T, Haenstein K, Gunzburg WH, Salmons B (2001b) Mi-

croencapsulated cell-mediated treatment of inoperable pancreatic carcinoma. *Lancet* 357(9268): 1591-1592

Marxsen J, Schmiegel W, Roder C, Harder R, Juhl H, Henne-Bruns D, Kremer B, Kalthoff H (1994) Detection of the anti-p53 antibody response in malignant and benign pancreatic disease *Br J Cancer* 70(5): 1031-1034

Minamoto T, Mai M, Ronai Z (2000) K-ras mutation: early detection in molecular diagnosis and risk assessment of colorectal pancreas, and lung cancers – a review. *Cancer Detect Prev* 24(1): 1-12

Mulvihill S, Warren R, Venook A, Adler A, Randlev B, Heise C, Kirn D (2001) Safety and feasibility of injection with an E1B-55 kDa gene-deleted, replication-selektive adenovirus (ONYX-015) into primary carcinomas of the pancreas: a phase I trial. *Gene Ther* 8(4): 308-315

Myung SJ, Kim MH, Kim YS, Kim HJ, Park ET, Yoo KS, Lim BC, Wan Seo D, Lee SK, Min YI, Kim JY (2000) Telomerase activity in pure pancreatic juice for diagnosis of pancreatic cancer may be complementary to K-ras mutation. *Gastrointest Endosc* 51(6): 708-713

Paul CP, Good PD, Winer I, Engelke DR (2002) Effective expression of small interfering RNA in human cells. *Nat Biotechnol* 20(5): 505-508

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Holger Kalthoff
Dr. Martina Voß
Klinik für Allgemeine und Thoraxchirurgie
Abtlg. Molekulare Onkologie
Arnold-Heller-Str. 7
24105 Kiel
Tel. 04 31/597-1938
Fax 04 31/597-1939
hkalthoff@email.uni-kiel.de