

Ulrich Pachmann, Bayreuth

Krebsdiagnose über das Blutbild

Zirkulierende, epitheliale Tumorzellen aufspüren, isolieren und charakterisieren

Im Blutkreislauf zirkulierende Tumorzellen können Metastasen verursachen und die Heilungschancen von Krebspatienten verringern. Hochwertige onkologische Bluttests gewinnen zunehmend diagnostischen Wert durch den Nachweis der im Blut zirkulierenden Tumorzellen. Durch deren zuverlässige Identifizierung, Quantifizierung und Charakterisierung ermöglichen solche Tests eine zuverlässige Vor- und Nachuntersuchung sowie Therapiekontrolle. Damit können derartige Bluttests die Grundlage für die Wahl der individuell passenden Therapie und Medikation für den Patienten bilden.

Kaum etwas fürchten Krebspatienten mehr als nach einer erfolgreichen Entfernung des Primärtumors auftretende Fernmetastasen. Schließlich sind diese hauptverantwortlich für den oft tödlichen Verlauf von Krebserkrankungen. Warum gelingt es aber trotz der vielen medizinischen Möglichkeiten immer noch viel zu selten, die Ausbreitung von Tochtergeschwülsten zu verhindern? Der Grund dafür liegt darin, dass schon kleine Tumore zu einem frühen Zeitpunkt metastasierungsfähig sind. absondernde Epitheliale Tumorzellen (CETC), die sich vom Primärtumor ablösen, können sich über die Blutbahn oder die Lymphe ebenso schnell wie weiträumig im menschlichem Körper verbreiten, in fremdes Ge-

webe eindringen, sich dort ansiedeln und durch Zellwachstum lebenswichtige Organe bis zur Funktionsunfähigkeit schädigen. Wenn behandelnde Ärzte ein Rezidiv entdecken, haben sich die Tumorzellen oft bereits derart vermehrt, dass eine Behandlung nur noch geringe Erfolgschancen aufweist. In vielen Fällen kann das - etwa durch eine Chemotherapie - geschwächte Immunsystem des Patienten nicht verhindern, dass sich Metastasen bilden. Zytotoxische T-Lymphozyten sind oft nicht mehr hinreichend in der Lage, Tumorzellen zu erkennen, zu markieren und zu bekämpfen. Darüber hinaus ist es die Unberechenbarkeit der Tumorzellen, die sie derart gefährlich für den Menschen machen: Sogenann-

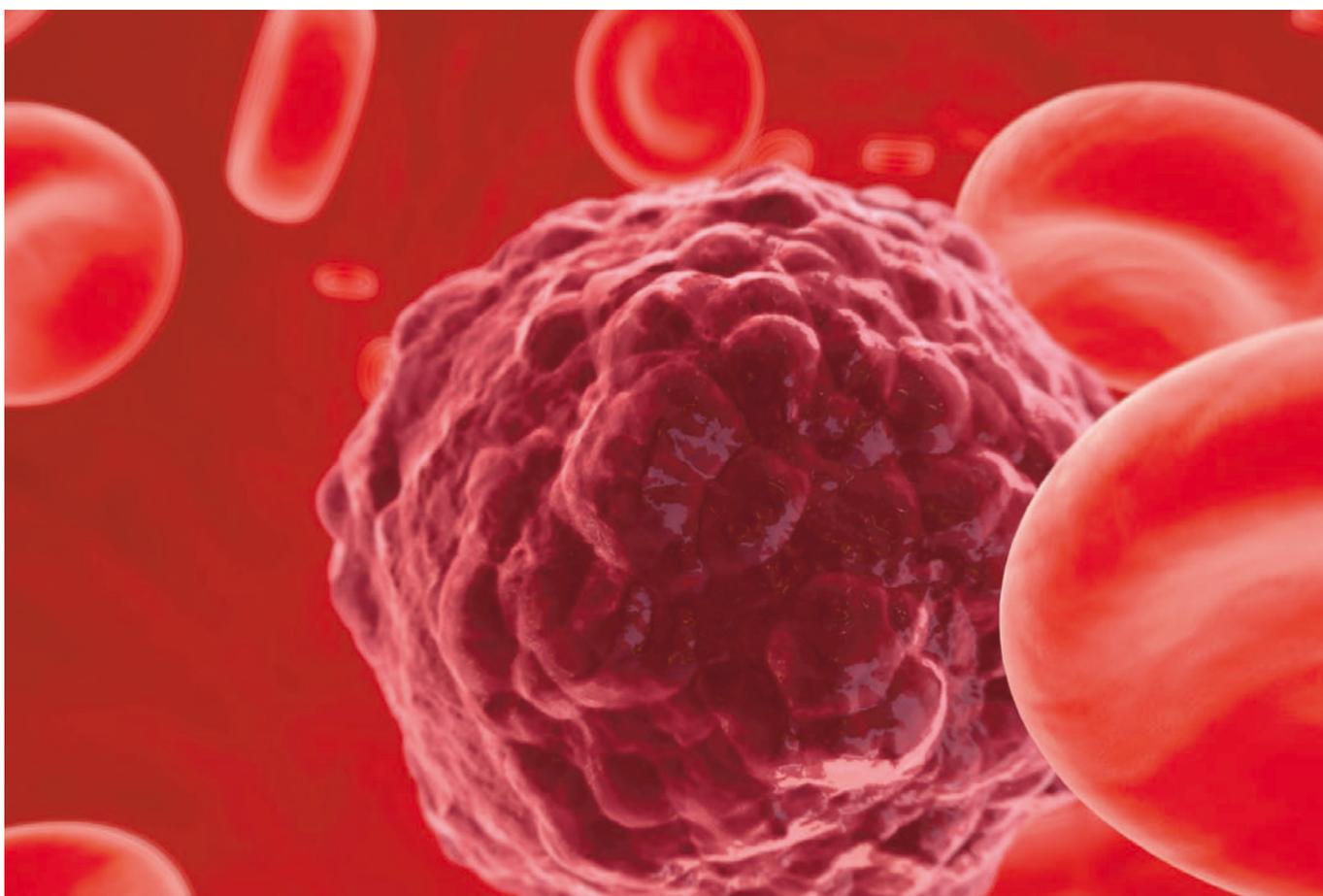


Abb. 1: CETC

te schlafende (dormante) Tumorzellen können lange im Blut zirkulieren ohne dabei zwangsläufig aktiv zu werden. Auch nach einem Zeitraum von mehr als fünf (Metastasen-freien) Jahren können Krebspatienten nicht sicher als geheilt gelten. Nach einer Latenzperiode können ruhende Tumorzellen wieder in Zellteilung gehen und Mikrometastasen bilden, die zur Bildung eines Rezidivs führen können.

Zirkulierende Tumorzellen als zuverlässige Indikatoren für die Therapie

Im Anbetracht dieser Ausgangslage stellt sich die Frage, in welchem Umfang die Existenz von Tumorzellen im Blut für den Patienten eine Bedrohung des erfolgreichen Therapieverlaufes darstellt. Moderne onkologische Diagnoseverfahren nutzen die im Blutkreislauf zirkulierenden Tumorzellen (CETC) zunehmend als zuverlässige Indikatoren, die Aufschluss über den Erfolg oder das fehlende Ansprechen auf eine Behandlung geben. Grundlage dafür ist die signifikante Korrelation zwischen der quantitativen Entwicklung von zirkulierenden Tumorzellen und dem Auftreten von Metastasen. Beispielhaft hierfür steht das maintrac-Verfahren, das bereits mit der schonenden und schmerzfreien Entnahme von nur rund 15 ml Patientenblut in ein Stan-

dard-EDTA-Blutbildröhrchen dazu beiträgt, noch zu erkennen, ob ein Rezidiv droht. Mit der Quantifizierung der zirkulierenden Tumorzellen lässt sich gerade in der adjuvanten Behandlungsphase, in der sich nur wenige Tumorzellen im Blut befinden, die individuelle Medikation optimal anpassen. Patienten, bei denen die im Blut zirkulierenden epithelialen Zellen um mehr als das Zehnfache reduziert oder vollständig eliminiert werden können, weisen eine deutlich geringere Rückfallquote auf. Maintrac kann so nicht nur dann zuverlässige Aussagen über die Existenz, Anzahl und den Charakter zirkulierender Tumorzellen treffen, wenn das körpereigene Abwehrsystem (hier vor allem in Form zytotoxischer T-Lymphozyten) versagt, sondern hat auch gegenüber anderen derzeitiger herangezogenen onkologischen Diagnoseverfahren deutliche Vorteile.

Onkologische Diagnoseverfahren im Vergleich

Bei der Knochenmarkdiagnostik gestaltet sich bereits die Entnahme des Diagnosematerials als überaus kostspielig und aufwendig. Um an Proben zu gelangen, muss sich der Patient einem teils schmerzhaften Eingriff während oder nach einer Operation unterziehen. Da auch bei der Knochenmarkdiagnostik eine ständige Überprüfung

der Tumoraktivität gewährleistet werden sollte, müsste dieser Eingriff in regelmäßigen Intervallen wiederholt werden. Die damit verbundene Belastung der Patienten steht dabei in einem deutlichen Kontrast zur Effizienz des Verfahrens: Die Häufigkeit der Tumorzellen in Bezug auf normale Knochenmarkzellen beträgt nämlich maximal 10⁻³ bis 10⁻⁷ Tumorzellen. Aber auch andere angebotene Untersuchungen des peripheren Blutes besitzen trotz einer im Vergleich zur Knochenmarkdiagnostik leichteren Zugänglichkeit zum Diagnosematerial deutliche Schwachstellen. Da angenommen wird, dass nachweisbare Karzinomzellen nur in geringer Anzahl vorhanden sind (im peripheren Blut treten Tumorzellen solider Tumoren nur mit einer Häufigkeit von 10⁻³ bis 10⁻⁸ auf) erfolgt die Detektion bei einem Teil der Analysen erst nach einer Voranreicherung wie beispielsweise beim CellSearch-Verfahren. Die maintrac-Analyse erfolgt dagegen direkt durch ein automatisches Mikroskop unter Hinzuziehen aufwändiger Bildanalyseverfahren. Dies kann die Genauigkeit und Geschwindigkeit entscheidend verbessern und führt bei den verschiedensten soliden Tumorarten zu zuverlässigen Ergebnissen. Wie erst unlängst beim internationalen Fachkongress „Circulating Tumor Cells 2012“ in San Diego festgestellt wurde, weist das CellSearch-Verfahren zudem erhebliche Schwächen in der Detektion auf. So werden nach Experteneinschätzung mit dem Verfahren zu wenige Tumorzellen im Patientenblut gefunden. Die diesbezüglich mit 10 bis 30 Prozent metastasierter Patienten bei 1 bis 100 Zellen in 7,5 ml Blut für deutlich zu gering befundene Erfolgsquote ist nicht ausreichend, um zuverlässige Aussagen über die tatsächliche Tumoraktivität zu treffen. Dagegen weist maintrac die höchste Nachweisrate bei der Suche nach CETCs auf.

Identifikation, Quantifikation und Charakterisierung von CETCs

Wie jedoch kommt eine hohe Zuverlässigkeit bei Identifikation, Quantifikation und Charakterisierung von zirkulierenden Tumorzellen zustande? Vitale tumorverdächtige Zellen können fluoreszierende, antihumane epitheliale Antikörper binden. Die auf diese Weise markierten Tumorzellen können anschließend auf einem entsprechenden Trägermaterial anhand der Laser-Scanning-Cytometrie oder mit Bildanalyse erfasst werden. Die Anzahl der CETCs lässt sich nun im Verhältnis zur entnommenen Blutmenge berechnen. Besondere Bedeutung kommt dabei der Tatsache zu, dass dieser Zähl- und Charakterisierungsprozess durchgeführt werden kann, ohne die Zellen

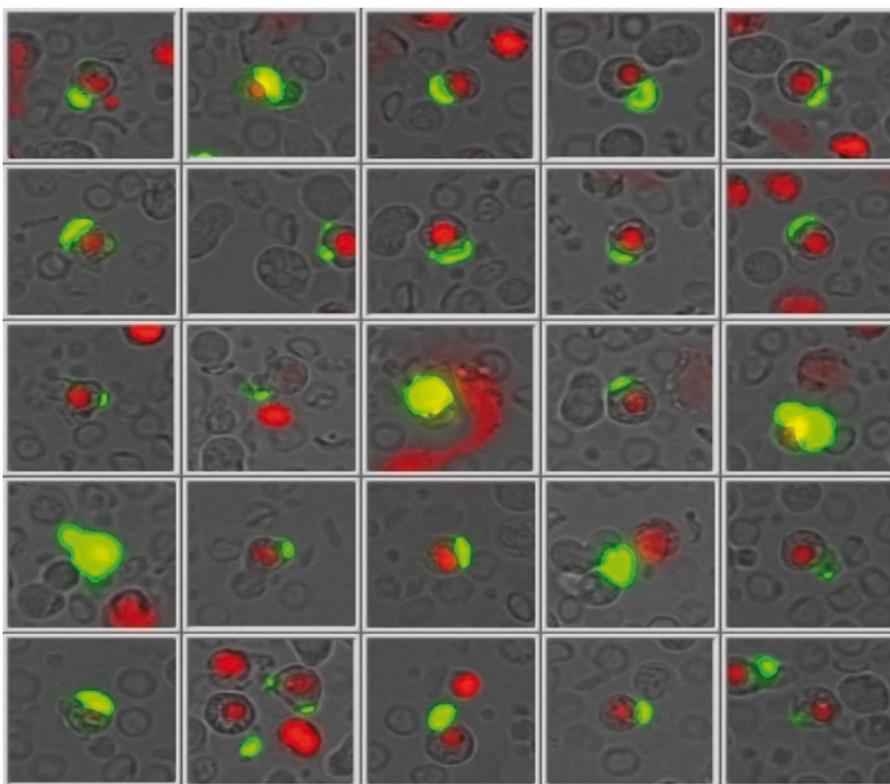


Abb. 2: Erscheinungsbild zirkulierender Tumorzellen

zu berühren. Die Quantifizierbarkeit ist somit gewährleistet, da keine Zellen unbeabsichtigter Weise zerstört werden können. Das Epitheliale Cytoadhäsions-Moleküle (EpCAM) ist auf mehr als 90 Prozent der Karzinomzellen präsentiert.

Hierin liegt die Grundlage für eine zuverlässige Quantifizierung und Charakterisierung der CETCs. Zusätzlich kann auf diesen Zellen sowohl Zellsterben, Zellteilung sowie der subzelluläre molekularebiologische Nanobereich verfolgt und ausgewertet werden. Hilfreich dabei ist auch der Einsatz der FISH-Technik (Fluorescence In Situ Hybridization-Technik). Selbst Zellen mit einer geringen EpCAM-Anzahl und einer somit abgeschwächten Signalstärke lassen sich aufgrund der hohen Automatisierung reproduzierbar erfassen. Dies ist ein elementarer Bestandteil für die zuverlässige Diagnose, da gerade Zellen mit niedriger EpCAM Expression möglicherweise für die Metastasierung von entscheidender Bedeutung sind. So lässt sich auch die Epithelial-Mesenchymale Transition (EMT) abbilden, die vermutlich für die Metastasierung mitverantwortlich ist. Unabhängig davon können zusätzlich Tumorstammzellen-Assays routinemäßig durchgeführt werden.

Onkologische Bluttests als Grundlage für die personalisierte Krebstherapie

Bestimmte Medikamente und Behandlungen wirken nicht bei jedem Patienten gleichermaßen. Das ist nicht weiter verwunderlich, denn unterschiedliche Tumoren und voneinander abweichende Patientenkonstitutionen erfordern eine jeweils individuelle, auf das spezifische Krankheitsbild ausgerichtete Behandlung. Das gilt ebenso für die Wahl wie die Dosierung eines Medikamentes. So könnte selbst bei der Behandlung eines einzelnen Patienten eine stetig gleich dosierte Chemotherapie unzureichend für die Heilung sein. Ein genaues und umfassendes Diagnoseverfahren ist für die Ausgestaltung einer personalisierten

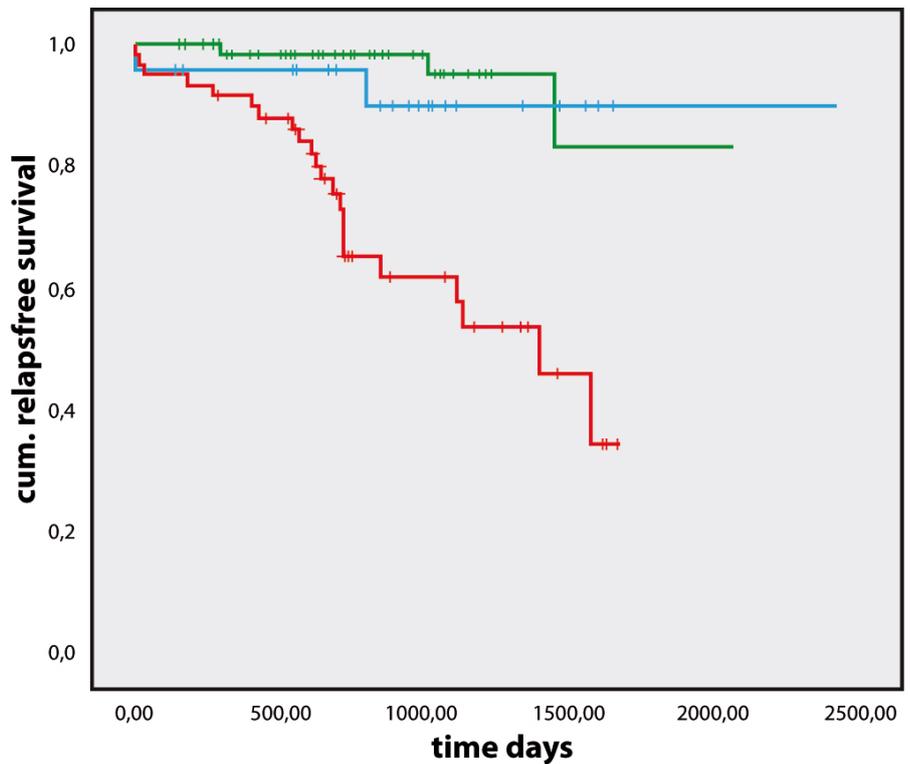


Abb. 3: klinische Relevanz

Krebstherapie daher unumgänglich. Bereits an der Struktur einer Tumorzelle lässt sich oftmals ablesen, ob eine spezielle Therapie geeignet ist, um die spezifische Krebserkrankung wirksam zu bekämpfen. Bislang diente meist der Primärtumor hierfür als Untersuchungsobjekt. Da sich der Primärtumor jedoch häufig aus verschiedenen (gereiften) Zellen zusammensetzt, stellt sich hier oft die Frage, welche dieser Zellen für die Herausbildung von Metastasen verantwortlich ist. Darüber hinaus ergibt sich häufig die Situation, dass der Primärtumor durch seine operative Entfernung für weitere Untersuchungen nicht mehr zur Verfügung steht. Dementsprechend stellt die Charakterisierung zirkulierender epithelialer Tumorzellen durch einen Bluttest eine deutlich sinnvollere Lösung bei der Suche nach der individuell passenden Therapie dar. Denn der Erfolg vieler Therapien korre-

liert direkt mit der individuellen CETC-Beschaffenheit. Ein weiterer Vorteil des maintrac-Bluttests besteht demnach darin, dass bereits vor Beginn einer geplanten Chemotherapie und ohne einen direkten Test am Körper des Patienten im Labor geprüft werden kann, ob die zirkulierenden Tumorzellen auf die geplanten Chemotherapie-Substanzen reagieren. Das Präparat mit dem höchsten Wirkungsgrad in diesem Test kann dann auch in der darauffolgenden Chemotherapie Anwendung finden. Auf diese Weise ist es möglich, den Patienten von Beginn an mit den Zytostatika zu therapieren, deren Wirkung auf die Tumorzellen in seinem Körper nachgewiesen wurde.

Bei Brustkrebs-Patientinnen ermöglichen es beispielsweise spezielle maintrac-Testverfahren festzustellen, ob und wie etwa die Blockade verschiedener Hormone-

GrossPath GP-1500 mit Aktivkohle-Umluftsystem



NEU

KUGEL Medizintechnik Vertriebs GmbH

Hermann-Köhl-Straße 2A DE-93049 Regensburg

Telefon 09 41/20 86 48-0
Telefax 09 41/20 86 48-29

www.KUGEL-medical.de

KUGEL
medical

Plug in and work!

Dieser Spezialarbeits Tisch ist die ideale Lösung für kleine Labore, die nicht an ein vorhandenes Abluftsystem angeschlossen werden können. **Liefern, Aufstellen, Anschalten:** Das neue Aktivkohle-Umluftsystem erfüllt zuverlässig alle Anforderungen an einen gesunden Arbeitsplatz.

Jetzt Informationen anfordern!
www.KUGEL-medical.de



zeptoren von Östrogen, über Progesteron- und Androgenrezeptoren bis hin zu EGFR und HER2/ neu, sogenannte kleine Moleküle oder alternative Therapien mit entsprechenden Medikamenten wirken. Auch in der Unterscheidung zwischen schnell wachsenden und dormanten Tumorzellen liegt oftmals ein wichtiges Indiz für die geeignete Behandlung, denn für beide stehen unterschiedliche Medikamente zur Verfügung. Weiterhin stehen für die Identifizierung von Karzinomen unbekannter Herkunft wertvolle Informationen bereit, da durch die Charakterisierung zirkulierender Tumorzellen nun festgestellt werden kann, welchem Organ diese Zellen ursprünglich zugehörig waren. maintrac bietet dabei angefangen bei den Eigenschaften der Zelloberfläche über intrazelluläre Marker bis hin zur An- und Abschaltung einzelner Gene oder ihrer Abweichung zuverlässige Einblicke in die Merkmale singulärer oder die Mehrheit zirkulierender Tumorzellen. Die potentielle Fokussierung auf singuläre genetische Tumorphile trägt darüber hinaus dazu bei, über neue Therapieformen nachzudenken, zu diskutieren und sie schlussendlich zu finden.

Mit der SingleCell Picking Methode wird es zugleich möglich, auf die Heterogenität der aus soliden Tumoren ausge-

schwemmten Zellen einzugehen. Zudem ist eine isolierte molekulargenetische Einzelzellanalyse besonders im Hinblick auf eine besondere Therapieeignung möglich. Darüber hinaus lassen sich die hochrein isolierten Zellen für spätere Untersuchungen kryokonservieren. Im Fall einer geplanten Immunisierung bietet die potentielle Vermehrung einer auf diese Weise isolierten Zelle einen vielversprechenden Lösungsansatz. Die Detektion von Mutationen und genomischen Veränderungen kann durch die SingleCell Picking-Methode ebenso gewährleistet werden wie die einer Therapie vorangestellte oder begleitende Ermittlung des Expressionsstatus der Tumorzellen.

Onkologische Diagnose mit psychoonkologischen Auswirkungen

Die sowohl Ärzte als auch Patienten oftmals belastende Ungewissheit, ob die Entscheidung für eine Therapie oder ein Medikament richtig war oder nicht, weicht mit einem Verfahren wie maintrac einem schnellen Vergeisserungsprozess, der sich bei vielen Patienten auch positiv auf den Heilungsprozess auswirkt. Gerade Patienten, die bereits über einen längeren Zeitraum mit ihrer Krebserkrankung kämpfen, wissen um den Fakt,

dass die bildgebenden Verfahren einen Tumor erst ab einer Größe von einem Zentimeter nachweisen können. Wenn Patienten zudem noch erfahren, dass schon ein Millimeter große Tumoren täglich bis zu 100.000 Zellen in den Blutkreislauf abgeben können, begleitet sie ständig die Angst vor einer möglichen Metastasierung – selbst dann, wenn sie eben erst ein negativen Befund erhalten haben, und vor allem dann, wenn dieser einem bekanntlich unpräzisen Diagnoseverfahren entstammt. Der Faktor Wissen kann jedoch von einem zusätzlich belastendem Parameter zu einem positiven Verstärker werden. Wenn der Patient weiß, dass die Veränderung der Zellzahl ab ungefähr 50.000 Zellen im gesamten Blutkreislauf erfasst und selbst die kleinsten Abweichungen genau erfasst werden können, trägt dies nicht nur zu einer deutlich gestiegenen Lebensqualität bei, sondern besitzt auch auf den Heilungsprozess positive Auswirkungen. Ein Langzeit-Monitoring wird somit als „Vorsorge innerhalb der Nachsorge“ wirksam. ■

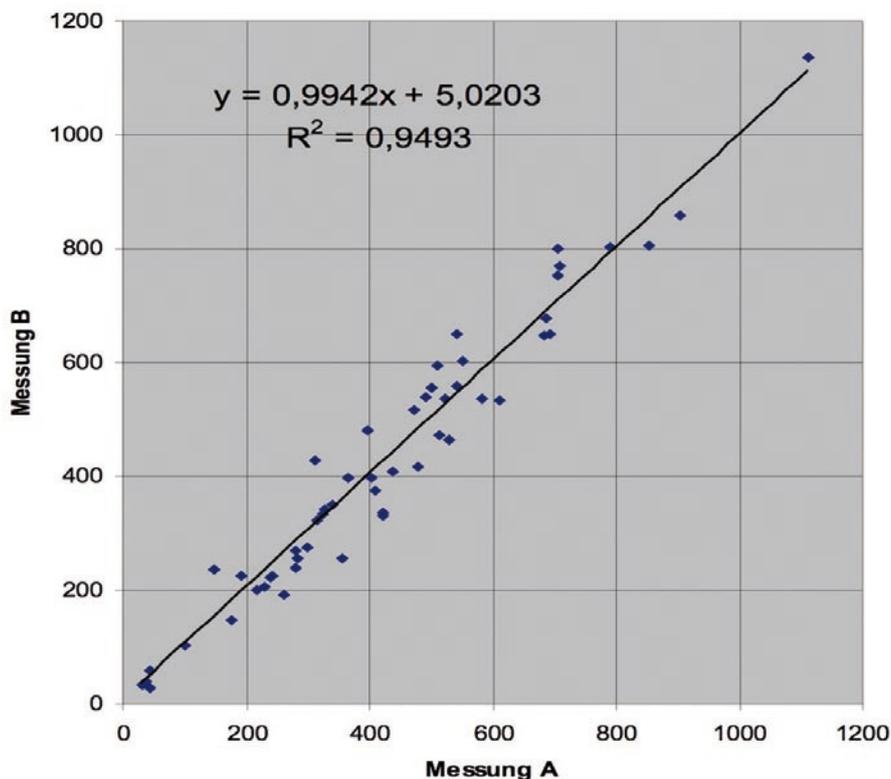


Abb. 4: Reproduzierbarkeit



Der Autor:
Dr. med. Ulrich Pachmann,
Leiter der Laborpraxis Pachmann im
Transfusions-medizinischen Zentrum
Bayreuth