

# Die Bedeutung der im Blut zirkulierenden Tumorzellen in der Metastasierungskaskade

Katharina Pachmann

## Zusammenfassung

Obgleich für die meisten Patienten die Diagnose eines bösartigen Tumors der größte Schock ist, ist der Primärtumor selten lebensbedrohlich, vielmehr sind Metastasen in lebenswichtige Organe wie Leber und Lunge die bedrohlichsten Folgen. Solche Absiedelungen können nur durch Zellen entstehen, die den Primärtumor verlassen haben und die Fähigkeit haben, an anderen Stellen wieder anzuwachsen. Die vorliegende Übersicht fasst ältere und neuere Daten darüber zusammen, welche Faktoren dazu beitragen, dass Zellen den Primärtumor verlassen können, geht der Frage nach, wie diese freigesetzten Zellen es bewerkstelligen, im Kreislauf zu überleben, dass der Nachweis solcher zirkulierender Tumorzellen zwar eine wichtige Momentaufnahme im Ablauf der Metastasierung darstellt, aber auch, dass zu einer erfolgreichen Absiedelung weitere, noch wenig verstandene Schritte gehören, die nur ein Bruchteil der freigesetzten Zellen vollbringen. Es wird die Hypothese diskutiert, dass weniger die komplette Elimination dieser Zellen als vielmehr Strategien, die es verhindern, dass diese Zellen sich absiedeln können, in Zukunft am erfolgreichsten im Kampf gegen die Metastasenbildung sein könnten.

**Schlüsselwörter:** Periphere Tumorstammzellen, Disseminierung, Metastasierung

## Einleitung

Die Diagnose „Krebs“ ist für die Menschen fast immer ein großer Schock. Es stellt sich die Frage, wie es weitergehen wird und ultimativ auch nach dem Tod. Die meisten Krebspatienten sterben aber nicht an dem Primärtumor, sondern an Tochtergeschwülsten, den Metastasen, die, manchmal nach Jahren, in anderen lebenswichtigen Organen auftreten. Man geht davon aus, dass nach dem Auftreten von Metastasen die Erkrankung nicht mehr heilbar ist.

Metastasen entstehen aus Tumorzellen, die den Tumor verlassen und sich in anderen Organen abgesiedelt haben und dort gewachsen sind. Hierzu müssen diese Zellen mehrere Schritte absolvieren:

- ▶ Sie müssen sich aus dem Zellverband lösen,
- ▶ sie müssen in den Blutkreislauf gelangen,

- ▶ sie müssen im Blutkreislauf überleben,
- ▶ sie müssen an Stellen gelangen, wo sie haften bleiben und in dem fremden Gewebe anwachsen können.

## Wann und wie kommt es dazu, dass Zellen den Primärtumor verlassen?

Man geht davon aus, dass dies schon sehr früh im Verlauf des Tumorwachstums geschieht. Es wird vermutet, dass die Freisetzung von Zellen bei einer Tumorzellzahl von ca. 1 Million Zellen (entspricht 1 mm Tumorgroße) mit dem Beginn der Gefäßversorgung einsetzt [17].

Eine Gelegenheit, sich aus dem Zellverband zu lösen, ist der Moment, in dem sich eine Zelle teilt. Dazu löst sie die Verbindungen zu den umliegenden Zellen [55] und teilt sich. Die beiden Tochterzellen müssen sich dann wieder in den Zellverband eingliedern. Dies ist der Au-

genblick, in dem die Zellen am ehesten aus dem Tumor ausgeschwemmt werden können. Deshalb haben wahrscheinlich schnell wachsende Tumoren eine höhere Tendenz zu metastasieren [36]. Norton und Massagué [41] haben das Wachstum eines Tumors als „Selbstaussaat“ (selfseeding) bezeichnet und mit dem Wachstum von Unkraut verglichen. Ausgehend von einer Pflanze wird Samen in die Umgebung ausgestreut. Daraus wachsen neue Pflanzen, die wiederum rund um sich Samen streuen, aus denen wieder Pflanzen wachsen, und so wird der Bewuchs immer dichter, bis nicht mehr genug Platz und Nahrung vorhanden ist [32]. Die Zellen wachsen nach dieser Hypothese von den Wachstumszentren aus gegeneinander. Durch das beschriebene Wachstumsmuster [27] herrscht im Tumor ein hoher Innendruck. Deshalb haben wahrscheinlich die meisten bösartigen Tumoren ein „blumenkohlartiges“ Aussehen verbunden mit einer oft sehr harten Konsistenz, mitbedingt durch den hohen Druck innerhalb des Tumors [30].

Der hohe Innendruck ist ein Grund, warum viele Tumoren zwar eine sehr starke Bildung von Blutgefäßen aufweisen, aber im Inneren sehr schlecht durchblutet sind [24]. Durch den hohen Innendruck können Zellen, die sich aus dem Verband gelöst haben, nach außen in die Gewebeflüssigkeit ausgepresst und ausgeschwemmt werden [3]. Sie gelangen über die Lympfflüssigkeit in die Lymphknoten [28]. Möglicherweise haben aber früh disseminierte Zellen eine geringere metastatische Aktivität als Zellen, die in einem späteren Entwicklungszustand den Tumor verlassen [33].

Schon lange war bekannt, dass auch Eingriffe am Tumor zur Ausschwemmung von Tumorzellen führen können [16].

Schon das Drücken oder Massieren eines Tumors kann zur Freisetzung von Tumorzellen führen [19, 35].

Die Beobachtung, dass die Operation selbst zur Mobilisierung von Tumorzellen führen kann [11], bewog Turnbull [56], eine „No Touch Operations-technik“ zu empfehlen. Andere [26] und wir konnten beim Bronchialkarzinom [51] und beim Brustkrebs [8] und jetzt auch beim Kolonkarzinom (unveröffentlichte Daten) zeigen, dass durch die Operation Zellen mobilisiert werden. Auch Zellklumpen und Zellaggregate können freigesetzt werden [35, 59].

Von Tumoren mit hoher metastatischer Aktivität werden offenbar mehr lebende Zellen ausgeschwemmt [23] und mit wachsendem Tumorumfang werden zunehmend mehr Zellen freigesetzt, sodass die Zahl der im Blut zirkulierenden Zellen mit der Tumorgroße steigt [7].

## Der Weg der Tumorzellen ins Blut

Für die Weiterverbreitung der ausgeschwemmten Zellen könnte die Gefäßweite von ausschlaggebender Bedeutung sein [27], möglicherweise werden Zellaggregate, die offenbar eine besonders hohe Metastasierungsaktivität haben, bereits durch die Lymphknoten herausgefiltert [62]. Das könnte der Grund dafür sein, dass befallene Lymphknoten ihre negative prognostische Bedeutung vor allen anderen Markern behalten haben.

Als befallen kann ein Lymphknoten aber erst dann bezeichnet werden, wenn die Zellen sich dort abgesiedelt haben und begonnen haben, sich zu teilen. Einzelne in die Lymphknoten ausgeschwemmte Zellen haben prognostisch offenbar nur geringe Bedeutung, solange die Zellen nicht die Fähigkeit, zu adherieren und zu wachsen, bewiesen haben [58].

Sicher ist, dass ein Teil der Zellen die Lymphknoten passieren kann [20, 62], um

dann weiter ins Blutgefäßsystem geschwemmt zu werden. In welchem Umfang der direkte Übertritt von Zellen in die Blutgefäße für die Ausschwemmung von Zellen von Bedeutung ist [1, 17], ist nicht klar, insbesondere im Hinblick darauf, dass im Tumor selbst die Blutgefäße großenteils kollabiert sind [24].

## Strategien der Tumorzellen, um im Kreislauf zu überleben

Glaves [23] stellte bei Tumoren von etwa 10 cm Größe fest, dass ca. 30 Millionen Zellen pro Tag freigesetzt werden. Wenn die Zellen erst einmal in die Blutbahn gelangt sind, überlebt ein Großteil der mobilisierten Zellen möglicherweise nicht und wird wieder aus dem Blut eliminiert. Es gibt Berechnungen, nach denen die Halbwertszeit von Tumorzellen etwa 2,4 Stunden beträgt [37]. Unter diesen Umständen würden nach einem Tag noch 60 000 Zellen im Körper verbleiben. Die Halbwertszeit gilt allerdings nur als statistischer Mittelwert. Ein Teil der Zellen, zum Beispiel ruhende (dormant) Zellen [25] in der G<sub>0</sub>-Ruhephase des Zellzyklus, kann möglicherweise sehr lange überleben [37, 42]. Die hämodynamische Zerstörung in der Mikrozirkulation spielt dabei wohl nur eine geringe Rolle [9]. Nach 3 Jahren hätte sich, wenn nur 1–2% der Zellen überleben, die Zellzahl auf ca. 50 Millionen aufsummiert, das sind ca. 12.000 Zellen im Milliliter. Wenn man beim Brustkrebs von Tumoren von der Größe von 1–2 cm von einem Zehntel dieser Zahl ausgeht, wären bei Patientinnen mit primärem Brustkrebs vor der Operation zwischen 1.000 und 10.000 Zellen im Milliliter zu erwarten. Das entspricht sehr gut den von uns gefundenen präoperativen Zahlen an zirkulierenden Tumorzellen [8].

Offenbar werden solche Zellen nicht vom Immunsystem erkannt und eliminiert. Einerseits handelt es sich um körpereigene Zellen, die nur erkannt würden, wenn die Zelloberfläche neue, dem Körper unbekannte Strukturen aufweist. Das scheint bei Tumorzellen selten der Fall zu sein. Andererseits scheinen manche Tumorzellen von Proteinen umhüllt zu sein [46], die verhindern, dass die Zellen von

Tumorzellen konnten noch nach Jahren im Knochenmark [37, 61] beziehungsweise Blut von rückfallfreien Tumorpatienten detektiert werden. Wir konnten zeigen, dass bei fast allen Tumorpatienten epitheliale Zellen, die höchstwahrscheinlich aus dem Primärtumor stammen, über lange Zeit im Blut rezirkulieren [42]. Wenn solche Zellen ein geeignetes Milieu finden, können sie sich möglicherweise auch noch zu einem späteren Zeitpunkt absiedeln und zur Metastasenbildung beitragen.

Antikörpern erkannt und zerstört werden. Mucin [39] beispielsweise scheint eine solche Funktion zu haben. Es wird angenommen, dass solche Mechanismen auch eine wichtige Rolle bei der Resistenzentwicklung gegen Tumormedikamente spielen.

Aus dem Tumor stammende Zellen im Blut haben damit aber nur die ersten Schritte in der Metastasierungskaskade vollzogen, zur Bildung manifester Metastasen sind weitere Schritte nötig.

## Absiedelung der Tumorzellen

Die für die Bildung von Metastasen notwendigen weiteren Schritte der Absiedelung zirkulierender Tumorzellen, ihr Wachstum und die Entstehung manifester Metastasen in anderen, oft lebenswichtigen Organen [40] sind offenbar ein sehr ineffektiver Prozess [59]. Dies scheint ein Grund dafür zu sein, warum trotz massiver Ausschwemmung und trotz der Möglichkeit, dass solche Zellen lange überleben, sich nur bei einem Teil der Tumorpatienten wenige und manchmal sehr spät Metastasen entwickeln. Chambers et al. [10] haben in experimentellen Systemen wiederholt gezeigt, dass nach der Injektion von Millionen von Tumorzellen einer Zelllinie nur wenige Zellen in der Lage sind, zu Metastasen zu wachsen, daneben aber dennoch viele der Zellen, ohne abzusterben, im Gewebe liegen bleiben [53] oder gleichmäßig zwischen den Blutgefäßen und dem Gewebe verteilt bleiben [9]. Zellen können offenbar über lange Zeit in fremden Geweben ruhen,

um bei geeigneter Genaktivierung wieder maligne zu wachsen [47]. Nach der Hypothese des „selfseedings“ [12] ist die Fernaussaat nur eine Variante der „Selbstaussaat“. Rezirkulierende Tumorzellen können wieder im Primärtumor eingefangen werden und tragen damit sowohl zum Wachstum des Primärtumors als auch zum Wachstum von Metastasen bei [34].

Doch trotz weit reichender Forschung über Voraussetzungen zur Absiedelung von Zellen [29, 52] ist wegen der Vielschichtigkeit dieser Vorgänge und der Schwierigkeiten bei Labormodellen weiterhin ungeklärt, welche einzelnen Schritte zur Metastasenbildung zwingend erforderlich sind [5].

Wenn einzelne im Blut zirkulierende Tumorzellen gefunden werden, kann das nicht schon als Mikrometastasierung bezeichnet werden, zumal solche Zellen nicht die oben geforderten Kriterien der Absiedelung und des Wachstums erfüllen und umgekehrt Zellen, die sich abgesiedelt haben, per definitionem nicht mehr im Blut zu finden sind. Ob dies auch für einzelne Tumorzellen im Knochenmark oder in Lymphknoten gilt, ist strittig, zumal es keine Korrelation zwischen der Detektion solcher Zellen und dem Auftreten von Knochenmetastasen beim Brustkrebs und Darmkrebs [6] gibt und für isolierte Tumorzellen in Lymphknoten nur eine geringe prognostische Relevanz gefunden werden konnte [58].

## Diagnostische Konsequenzen

Auf Grund der oben genannten Erkenntnisse gibt es theoretisch verschiedene Wege, um die Metastasenbildung zu verhindern:

Man kann versuchen, den Tumor früh genug zu entdecken, um die Freisetzung von Zellen während des Tumorwachstums zu verhindern. Das sollte im Prinzip das Ziel der Mammographie sein. Um von einem Tumor mit der Kantenlänge 1 mm ( $10^6$  Zellen), einer mit bildgebenden Verfahren noch nicht nachweisbaren Größe, dem Beginn der Blutversorgung und möglicherweise dem Beginn der Zellaus-

schwemmung, zu einem Tumor mit der Kantenlänge 5 mm (kleinste im Mammogramm detektierbare Größe) zu wachsen, braucht es 8 Zellverdoppelungen. (Eine Verdoppelung der Zellzahl von  $10^6$  Zellen auf  $2 \times 10^6$  Zellen führt nur zu einer Zunahme der Kantenlänge des Tumors auf etwa 1,3 mm.) Abhängig davon, wie hoch der Anteil Zellen ist, die sich teilen und wie viele Zellen absterben oder den Tumor verlassen, dauert es unterschiedlich lange, bis sich die Zellzahl verdoppelt hat. Bei einem langsam wachsenden Tumor könnte man eine Verdoppelungszeit von 180 Tagen annehmen. Dann dauert es 4 Jahre, bis der Tumor von 1 mm bis zur Nachweisgrenze gewachsen ist. Von da an dauert es noch zwei Zellzahlverdoppelungen, das heißt ein Jahr, bis der Tumor 1 cm groß ist, eine noch gut operable Größe. Man hat damit ausreichend Zeit für entsprechende Therapieentscheidungen.

Ist es dagegen ein schnell wachsender Tumor mit einer Zellverdoppelungszeit von 45 Tagen, braucht er 2 Jahre, um sich von 1 mm auf 5 mm zu vergrößern und nur  $\frac{1}{4}$  Jahr, um bis zu 1 cm zu wachsen. Solche Tumore sind meist Intervalltumore, das heißt, es besteht eine geringe Chance, sie im Rahmen der Screening Mammographie zu entdecken, sie werden meist von den Patientinnen selbst in der Zeit zwischen den Mammographietermen entdeckt.

Wenn man davon ausgeht, dass die Metastasen ähnlich schnell wie der Tumor wachsen, dann dauert es bei dem langsam wachsenden Tumor vom Beginn der Zellaussaat 5 Jahre, bis die Metastase 1 mm

Da wir nicht wissen, ob und wann die Metastasen zu wachsen beginnen, muss man sich fragen, ob sich mit den bisherigen Möglichkeiten der Frühdiagnose Metastasen vermeiden lassen. Nach der Diagnose eines Tumors bekommen wir dagegen, wenn wir mit mehrfachen Analysen der Zahl zirkulierender Tumorzellen einen Anstieg sehen, Hinweise darauf, wie schnell die Zellen zunehmen und damit möglicherweise auf die Wachstumsgeschwindigkeit des Tumors.

groß ist, und vom frühesten Zeitpunkt, an dem der Ausgangstumor nachgewiesen werden konnte, 6 Jahre, bis die Metastase 1 cm groß ist. Bei Metastasen eines schnell wachsenden Tumors dagegen dauert es 2,5 Jahre vom Beginn des Wachstums bis zu 1 mm Größe und von der Operation des Primärtumors, bis die Metastase entdeckt werden kann, nur 2–3 Jahre.

## Therapeutische Konsequenzen

Der Versuch, die Freisetzung von Zellen während der Operation zu verhindern, ist mit den neuen effektiven Operationsmethoden etwas in den Hintergrund getreten. Das sorgfältige Vermeiden, den Tumor bei der Operation auch nur zu berühren, könnte aber sehr viel dazu beitragen, die spätere Metastasenbildung zu verhindern.

Auch nach langen Nachbeobachtungszeiten hat die adjuvante Chemotherapie nach der Brustkrebsoperation ihre Bedeutung nicht verloren, auch wenn der absolute Überlebensvorteil selbst mit den neuen Generationen von Kombinationstherapien mit 4–5 % geringer ist als gedacht [21]. Dabei profitieren junge Frauen in höherem Maße von einer solchen Therapie als Frauen über 60 Jahren. Es stellt sich deshalb die Frage, ob einem Teil der Brustkrebspatientinnen die Chemotherapie nicht erspart bleiben kann [2].

Wir haben gezeigt, dass Zellen auch durch Chemotherapie, insbesondere die neoadjuvante Chemotherapie, freigesetzt werden können. Bisher gilt die Ansicht, dass neoadjuvante Chemotherapien nicht schlechter bezüglich des rezidivfreien Überlebens sind als adjuvante Chemotherapien. Es hat sich aber gezeigt, dass dies für bestimmte Tumorentitäten nicht uneingeschränkt gilt [31]. Zwar sind die Aussichten besser, wenn der Tumor vollständig zum Verschwinden gebracht werden konnte. Das aber ist bisher vor Beginn der Therapie nicht vorhersehbar. Deswegen sollten neoadjuvante Therapiekonzepte im Lichte dieser Beobachtungen neu überdacht werden.

Um die Absiedelung und das Wiederaufwachsen freigesetzter Zellen zu verhindern, wurde vor 30 Jahren beim Brustkrebs die adjuvante Chemotherapie [4] etabliert, um bereits vorhandene Mikrometastasen und die im Körper vorhandenen gestreuten Tumorzellen zu eliminieren.

## Tumorzelleigenschaften für die Abschätzung der Therapie-wirksamkeit

Um besser abschätzen zu können, bei welchen Patienten die geplante Therapie zu wirken verspricht, wird nach prognostischen und prädiktiven Markern gesucht. Die Etablierung prognostischer Marker gibt Hinweise darauf, welche Tumorentitäten ohne Therapie schlechtere Überlebenschancen haben und daher einer Therapie bedürfen. Prädiktive Marker geben Auskunft darüber, welche Tumoreigenschaften erwarten lassen, dass diese Tumoren auf eine bestimmte Therapie ansprechen. Als negativer prognostischer Marker haben tumorbefallene Lymphknoten eine überragende Stellung, wohl deshalb, weil die dort gefundenen Tumorzellen bereits gezeigt haben, dass sie nicht vom Immunsystem erkannt worden sind, sich absiedeln und anwachsen konnten.

Eine besondere Bedeutung kommt beim Brustkrebs auch dem Östrogenrezeptor zu. Frauen mit Tumoren, die den Östrogenrezeptor ausprägen, haben insgesamt langsamer wachsende Tumore mit besserer Prognose. Neoadjuvante Studien, bei denen Brustkrebspatientinnen mit dem Ziel der Tumorverkleinerung behandelt wurden, zeigten aber ein geringeres Ansprechen der Östrogenrezeptor-positiven Tumoren auf die Chemotherapie als von Tumoren, die den Östrogenrezeptor nicht exprimieren. Dies konnte von uns auch für die zirkulierenden Tumorzellen bestätigt werden [7]. Damit ist der Östrogenrezeptorstatus ein starker prognostischer Marker, aber auch ein prädiktiver Marker für die Empfindlichkeit der Tumorzellen für Chemotherapeutika. Es gibt Medikamente, die Hormonrezeptoren blockieren können, wie z.B. Tamoxifen [13], oder Medikamente, die die Hormonbildung

hemmen können (Aromataseinhibitoren). Dann ist der Östrogenrezeptorstatus auch ein starker prädiktiver Marker für das Ansprechen auf eine solche Therapie. Diese Form der Therapie ist die erste gezielt auf die Tumorzellen (targeted) wirkende Therapie.

Es wäre aber wünschenswert, direkt kontrollieren zu können, ob die verbliebenen Tumorzellen und eventuelle Metastasen wirklich auf die Therapie ansprechen. Am ehesten kommt diesem Ideal ein Vorgehen nahe, das die Kontrolle der zirkulierenden Tumorzellen und ihr Ansprechen auf die Therapie ermöglicht.

## Die Bedeutung der Bestimmung zirkulierender Tumorzellen für die Therapieüberwachung

Bereits zu Beginn der Suche nach Tumorzellen im Blut [54] wurde die Zahl der im Blut gefundenen Tumorzellen sehr unterschiedlich angegeben [57]. Dies liegt wahrscheinlich an den sehr unterschiedlichen Nachweismethoden [50].

Derzeit steht auf der einen Seite des Spektrums eine Analysemethode [38] mit dem von der FDA zugelassenen CellSearch System (Veridex), mit dem nur bei wenigen Patienten sehr wenige im Blut zirkulierende Tumorzellen gefunden werden. Nur bei 10% der Patientinnen mit primärem Brustkrebs werden überhaupt zwei oder mehr Tumorzellen im Blut gefunden [48] und selbst bei metastasiertem Brust- [14] oder Prostatakrebs [15] nur bei maximal 30% der Patienten. Zwar zeigt sich bei metastasierten Patienten ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Nachweis von solchen Zellen und dem Fortschreiten der Erkrankung, jedoch ist die Erkrankung auch bei vielen Patienten progredient, obgleich bei ihnen keine solchen Zellen im Blut gefunden werden, ein Hinweis auf die niedrige Sensitivität und geringe Spezifität dieser Methode [60]. Problematisch ist der fehlende Nachweis von zirkulierenden Tumorzellen im Blut bei Patienten, die noch metastasenfrem sind, bei denen aber die Erfahrung gezeigt hat, dass sie bei dem bei ihnen festgestellten Stadium von einer systemischen Therapie profitieren

würden. Sie könnten argumentieren, dass bei ihnen ja keine Zellen im Blut gefunden wurden und deshalb systemische Therapien verweigern.

Auf der anderen Seite des Spektrums steht die von uns entwickelte maintrac<sup>®</sup>-Methode, mit der bei fast allen Patienten mit bösartigen soliden Tumoren zirkulierende tumorverdächtige Zellen nachgewiesen werden. Hier besteht die Gefahr, dass bei den Patienten Ängste geschürt werden. Umgekehrt eröffnet dies aber die Möglichkeit, das Verhalten dieser Zellen unter der Therapie zu beobachten, denn im Gegensatz zu der erstgenannten Methode hat in unseren Händen alleine die Zahl der gefundenen Zellen keine prognostische Bedeutung. Wenn man aber davon ausgeht, dass Zellen beim Wachstum des Primärtumors und unter bestimmten Behandlungsbedingungen ausgeschwemmt werden können, dass ruhende Zellen lange Zeit im Blut und in Geweben, insbesondere mit großem Kapillarbett überleben können und dass solche Zellen auch beim Wiederaufwachsen von Absiedelungen gestreut werden, erschließen sich Hinweise auf die Krankheitsaktivität erst aus dem Verhalten der Zellen im Blut im Verlauf der Erkrankung und der Therapie.

So konnten wir zeigen, dass beim Lungenkrebs die Rezidivgefahr erhöht ist, wenn die durch die Operation freigesetzten Zellen ohne weitere Behandlung weiter zunehmen. Beim Brustkrebs zeigten Patientinnen, die trotz der adjuvanten Chemotherapie ansteigende Zellzahlen aufwiesen, einen ungünstigeren Krankheitsverlauf [43]. Patientinnen, deren ausgeschwemmte Zellen nach der neoadjuvanten Chemotherapie nicht adäquat behandelt werden, neigen zu raschen Rezidiven [22].

Die Strategie, das Absiedeln von disseminierten Zellen zu verhindern [49], wird sich möglicherweise als größter Fortschritt erweisen [18]. Die langsame graduelle Verringerung der zirkulierenden Tumorzellen über Jahre unter der Therapie mit Hormonblockern [44] und Antikörpern [45] scheint in unseren Augen für eine solche Wirkung zu sprechen. Diese Therapiekonzepte sollten in dieser Hinsicht weiter analysiert werden.



**Autorenerklärung:** Die Autorin besitzt das Patent Nr. 7615358 für die maintrac®-Methode außerhalb Europas und ist Vertragspartnerin bei SIMFCO GmbH, einer Firma, die sich mit der Entwicklung neuer Untersuchungen beschäftigt, jedoch diese Untersuchungen nicht direkt an Patienten verkauft. Die Untersuchungen werden im Auftrag für Ärzte und Patienten unternommen und durch das Labor für Transfusionsmedizin Dr. Ulrich Pachmann medizinisch indiziert und überwacht.

## Literatur

- [1] Banys M, Gruber I, Krawczyk N, et al. Hematogenous and lymphatic tumor cell dissemination may be detected in patients diagnosed with ductal carcinoma in situ of the breast. *Breast Cancer Res Treat* 2011; Apr 1. [Epub ahead of print]
- [2] Bedard PL, Cardoso F. Can some patients avoid adjuvant chemotherapy for early-stage breast cancer? *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8: 272–279
- [3] Bockhorn M, Jain RK, Nunn LL. Active versus passive mechanisms in metastasis: do cancer cells crawl into vessels, or are they pushed? *Lancet Oncol* 2007; 8: 444–448
- [4] Bonadonna G, Moliterni A, Zambetti M, et al. 30 years' follow up of randomised studies of adjuvant CMF in operable breast cancer: cohort study. *BMJ* 2005; 330: 217–220
- [5] Bos PD, Nguyen DX, Massagué J. Modeling metastasis in the mouse. *Curr Opin Pharmacol* 2010; 10: 571–577
- [6] Braun S, Marth C. Circulating tumor cells in metastatic breast cancer. Toward individualized treatment? *N Engl J Med* 2004; 351: 824–826
- [7] Camara O, Rengsberger M, Egbe A, et al. The relevance of circulating epithelial tumor cells (CETC) for therapy monitoring during neoadjuvant (primary systemic) chemotherapy in breast cancer. *Ann Oncol* 2007; 18: 1484–1492
- [8] Camara O, Kavallaris A, Nöschel H, et al. Seeding of epithelial cells into circulation during surgery for breast cancer: the fate of malignant and benign mobilized cells. *World J Surg Oncol* 2006; 4: 67
- [9] Cameron MD, Schmidt EE, Kerkvliet N, et al. Temporal progression of metastasis in lung: cell survival, dormancy, and location dependence of metastatic inefficiency. *Cancer Res* 2000; 60: 2541–2546
- [10] Chambers AF, Naumov GN, Vantyghe AS, Tuck AB. Molecular biology of breast cancer metastasis Clinical implications of experimental studies on metastatic inefficiency. *Breast Cancer Res* 2000; 2: 400–407
- [11] Choy A, McCulloch P. Induction of tumour cell shedding into effluent venous blood breast cancer surgery. *Br J Cancer* 1996; 73: 79–82.
- [12] Comen E, Norton L, Massagué J. Clinical implications of cancer self-seeding. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8: 369–377
- [13] Criscitiello C, Fumagalli D, Saini KS, Loi S. Tamoxifen in early-stage estrogen receptor positive breast cancer: overview of clinical use and molecular biomarkers for patient selection. *OncoTargets and Therapy* 2011; 4: 1–11
- [14] Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 781–791
- [15] De Bono JS, Scher HI, Montgomery RB, et al. Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 6302–6309
- [16] Demicheli R, Retsky MW, Hrushesky WJM, et al. The effects of surgery on tumor growth: a century of investigations. *Ann Oncol* 2008; 19: 1821–1828
- [17] Dhakal HP, Naume B, Synnestvedt M, et al. Vascularization in primary breast carcinomas: its prognostic significance and relationship with tumor cell dissemination. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2341–2350
- [18] Epstein RJ. Maintenance therapy to suppress micrometastasis: the new challenge for adjuvant cancer treatment. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5337–5341
- [19] Fidler IJ. The relationship of embolic homogeneity, number, size and viability to the incidence of experimental metastasis. *Eur J Cancer* 1973; 9:223–227
- [20] Fisher B, Fisher E. Transmigration of lymph nodes by tumor cells. *Science* 1966; 152: 1397–1398
- [21] Fisher B, Jeong JH, Bryant J, et al. National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project randomised clinical trials: Treatment of lymph-node-negative, oestrogen-receptor-positive breast cancer: long-term findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project randomised clinical trials. *Lancet* 2004; 364: 858–868
- [22] Gajda M, Camara O, Oppel S, Kroll T, et al. Monitoring circulating epithelial tumor cells (CETC) during primary systemic chemotherapy including trastuzumab for early prediction of outcome in patients with Her2/neu-positive tumors. *Ann Oncol* 2008; 19: 2090–2091
- [23] Glaves D, Huben RP, Weiss L. Haematogenous dissemination of cells from human renal adenocarcinomas. *Br J Cancer* 1988; 57: 32–35
- [24] Griffon-Etienne G, Boucher Y, Brekken C, et al. Taxane-induced apoptosis decompresses blood vessels and lowers interstitial fluid pressure in solid tumors: clinical implications. *Cancer Res* 1999; 67: 2729–2735
- [25] Hadfield G. The dormant cancer cell. *Br Med J* 1954; 2(4888): 607–610
- [26] Hansen E, Wolff N, Knuechel R, et al. Tumor cells in blood shed from the surgical field. *Arch Surg* 1995; 130: 387–393
- [27] Helmlinger G, Netti PA, Lichtenbeld HC, et al. Solid stress inhibits the growth of multicellular tumor spheroids. *Nat Biotechnol* 1997; 15: 778–783
- [28] Hoshida T, Isaka N, Hagendoorn J, et al. Imaging steps of lymphatic metastasis reveals that vascular endothelial growth factor-C increases metastasis by increasing delivery of cancer cells to lymph nodes: therapeutic implications. *Cancer Res* 2006; 66: 8065–8075
- [29] Hunter KW. Host genetics and tumour metastasis *Br J Cancer* 2004; 90: 752–755
- [30] Jain RK, Tong RT, Munn LL. Effect of vascular normalization by antiangiogenic therapy on interstitial hypertension, peritumor edema, and lymphatic metastasis: insights from a mathematical model. *Cancer Res* 2007; 67: 2729–2735
- [31] Kennedy CR, Gao F, Margenthaler JA. Neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy for triple negative breast cancer. *J Surg Res* 2010; 163: 52–57
- [32] Kim MY, Oskarsson T, Acharyya S, et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell* 2009; 139: 1315–1326
- [33] Kouros-Mehr H, Bechis SK, Slorach EM, et al. GATA-3 links tumor differentiation and dissemination in a luminal breast cancer model. *Cancer Cell* 2008; 13: 141–152
- [34] Leung CT, Brugge JS. Tumor self-seeding: bidirectional flow of tumor cells. *Cell* 2009; 139: 1226–1228
- [35] Liotta LA, Saidel MG, Kleinerman J. The significance of hematogenous tumor cell clumps in the metastatic process. *Cancer Res* 1976; 36: 889–894
- [36] Loddo M, Kingsbury SR, Rashid M, et al. Cell-cycle-phase progression analysis identifies unique phenotypes of major prognostic and predictive significance in breast cancer. *Br J Cancer* 2009; 100: 959–970
- [37] Meng S, Tripathy D, Frenkel EP, et al. Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8152–8162
- [38] Miller MC, Doyle GV, Terstappen LWMM. Significance of circulating tumor cells detected by the CellSearch System in patients with metastatic breast colorectal and prostate cancer. *J Oncol* 2010. DOI: 10.1155/2010/617421 (Epub ahead of print)
- [39] Nagy P, Friedländer E, Tanner M, et al. Decreased accessibility and lack of activation of ErbB2 in JM1T-1, a Herceptin-resistant, MUC4-expressing breast cancer cell line. *Cancer Res* 2005; 65: 473–482

- [40] Nguyen DX, Bos PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nature Reviews Cancer* 2009; 9: 274–284
- [41] Norton L, Massagué J. Is cancer a disease of self-seeding? *Nat Med* 2006; 12: 875–878
- [42] Pachmann K. Longtime recirculating tumor cells in breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5657–5658
- [43] Pachmann K, Camara O, Kavallaris A, et al. Monitoring the response of circulating epithelial tumor cells (CETC) to adjuvant chemotherapy in breast cancer allows detection of patients at risk of early relapse. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1208–1215
- [44] Pachmann K, Camara O, Kohlhase A, et al. Assessing the efficacy of targeted therapy using circulating epithelial tumor cells (CETC): the example of SERM therapy monitoring as a unique tool to individualize therapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 821–828
- [45] Pachmann K, Camara O, Kroll T, et al. Efficacy control of therapy using circulating epithelial tumor cells (CETC) as „liquid biopsy“: Trastuzumab in HER2/neu-positive breast carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011. DOI: 10.1007/s00432-011-1000-6
- [46] Pályi-Krekk Z, Barok M, Isola J, et al. Hyaluronan-induced masking of ErbB2 and CD44-enhanced trastuzumab internalisation in trastuzumab resistant breast cancer. *Eur J Cancer* 2007; 43: 2423–2433
- [47] Podsypanina K, Du YC, Jechlinger M, et al. Seeding and propagation of untransformed mouse mammary cells in the lung. *Science* 2008; 321: 1841–1844
- [48] Rack B, Schindlbeck C, Andergassen U, et al. Prognostic role of circulating tumor cells in the peripheral blood of primary breast cancer patients. *Cancer Res* 2010; 70: 93 (suppl 24; abstr S6–5)
- [49] Retsky MW, Hrushesky WJM, Gukas ID. Hypothesis: primary antiangiogenic method proposed to treat early stage breast cancer. *BMC Cancer* 2009; 9: 7
- [50] Ring AI, Zabaglo L, Ormerod MG, et al. Detection of circulating epithelial cells in the blood of patients with breast cancer: comparison of three techniques. *Br J Cancer* 2005; 92: 906–912
- [51] Rolle A, Günzel R, Pachmann U, et al. Increase in number of circulating disseminated epithelial cells after surgery for non-small cell lung cancer monitored by MAI-NTRAC® is a predictor for relapse: A preliminary report. *World J Surg Oncol* 2005; 3: 18

## Summary

It is rarely the primary malignant tumor but rather cells released from the primary tumor, settling in distant organs and growing into metastases, that determine the fate of the patient. In the present review older and more recent data on cell release from the primary tumor are discussed, revealing that probably many more cells than previously thought can be released into the circulation not only due to natural development but also due to diagnostic and therapeutic manipulations. Such cells circulating in peripheral blood must be the origin of metastases but circulating tumor cells by definition are not micro metastases themselves and only a minor fraction of these cells seems to be capable of settling and growing in distant loci. For this purpose cells must have strategies to survive in the circulation and although a wealth of research has been devoted to clarify the ways by which cells can resettle and re-grow in distant organs these steps have not been well understood until now. Since, however, approaches to eliminate these cells in order to prevent metastasis formation have been only partly successful, strategies to prevent them from settling such as hormone blocking therapies empirically known to be effective or metronomic therapies should in the future more closely be investigated.

**Keywords:** Circulating epithelial tumor cells, dissemination, metastasis formation

- [52] Sahai E. Illuminating the metastatic process. *Nat Rev* 2007; 7: 737–749
- [53] Townson JL, Chambers AF. Dormancy of solitary metastatic cells. *Cell Cycle* 2006; 5: 1744–1750
- [54] Salisbury AJ. The significance of the circulating cancer cell. *Cancer Treat Rev* 1975; 2: 55–72
- [55] Trzpis M, McLaughlin PMJ, de Leij LMFH, Harmsen MC. Epithelial cell adhesion molecule more than a carcinoma marker and adhesion molecule. *Am J Pathol* 2007; 171: 386–395
- [56] Turnbull RB, Kyle K, Watson FR, Spratt J. Cancer of the colon: The influence of the no-touch isolation technic on survival rates. *Ann Surgery* 1967; 166: 420–425
- [57] Vogelaar FJ, Mesker WE, Rijken AM, et al. Clinical impact of different detection methods for disseminated tumor cells in bone marrow of patients undergoing surgical resection of colorectal liver metastases: a prospective follow-up study. *BMC Cancer* 2010; 10: 153
- [58] Weaver DL, Ashikaga T, Krag DN, et al. Effect of occult metastases on survival in node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2011; 364: 412–421
- [59] Weis L. Cancer cell traffic from the lungs to the liver: an example of metastatic inefficiency. *Int J Cancer* 1980; 25: 385–392
- [60] Wicha MS, Hayes DF. Circulating tumor cells. Not all detected cells are bad and not all bad cells are detected. *J Clin Oncol* 2011. DOI: 10.1200/JCO.2010.34.0026
- [61] Wiedswang G, Borgen E, Kåresen R, et al. Isolated tumor cells in bone marrow three years after diagnosis in disease-free breast cancer patients predict unfavorable clinical outcome. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5342–5348
- [62] Wong CW, Song C, Grimes MM, et al. Intravascular location of breast cancer cells after spontaneous metastasis to the lung. *Am J Pathol* 2002; 161: 749–753

### online:

<http://dx.doi.org/10.1055/s-0031-1298684>

### Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. Katharina Pachmann  
Experimentelle Hämatologie und Onkologie  
II. Medizinische Klinik  
Friedrich-Schiller-Universität Jena  
Erlanger Allee 101  
D-07747 Jena, Germany  
E-Mail: Katharina.pachmann@med.uni-jena.de