

Dirk C. Gaugel
Dr. med.

Nachweis spezifischer anti-p53 Antikörper beim Mammakarzinom: Methodenvergleich und Korrelation mit anderen klinischen Parametern.

Geboren am 20.06.1969 in Überlingen am Bodensee.
Reifeprüfung am 22.05.1990 in Überlingen am Bodensee.
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1992 bis SS1999.
Physikum am 27.06.1995 an der Universität Semmelweis in Budapest/Ungarn.
Klinisches Studium in Heidelberg.
Praktisches Jahr in Heidelberg, Bern/Schweiz und Los Angeles/USA.
Staatsexamen am 26.05.1990 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Labormedizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. W. Fiehn

Spezifische Antikörper gegen p53, dem am meisten veränderten Genlokus bei Malignomen, wurden 1982 von Crawford und Mitarbeitern erstbeschrieben. Hierzu durchgeführte Immunpräzipitationen des p53 aus radioaktiv markierten Zellextrakten wurden in der Folge weitgehend durch Immunoblot- und ELISA-Verfahren ersetzt. Hierbei ergaben sich mit anti-p53 Raten in einem Bereich zwischen 5% und 40% unterschiedliche Aussagen hinsichtlich der Häufigkeit und prognostischer Bedeutung der p53-spezifischen Immunantwort beim Mammakarzinom.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung von anti-p53 bei 241 an Mammakarzinom erkrankten Patientinnen der Universitätsfrauenklinik in Heidelberg untersucht, die in der Zeit von September 1995 bis November 1996 operativ therapiert wurden. 200 Patientinnen hatten ein primäres Mammakarzinom. Siebenundzwanzig Patientinnen mit Rezidiv- und 14 Patientinnen mit primär metastasierten Tumoren bildeten die Gruppe der Patientinnen mit fortgeschrittener Erkrankung. Für den Nachweis von p53 Antikörpern wurden alle Seren sowohl mit dem anti-p53 ELISA („ELISA 1“) als auch mit dem methodisch weiterentwickelten „ELISA 2“ der Firma Dianova (Hamburg) untersucht. Die in wenigstens einer Methode testpositiven oder sich im „grenzwertigen Bereich“ befindlichen sowie 40 weitere, zufällig ausgewählte Seren wurden anschließend mit einem Test der Firma Biodiagnostics (Kiel; „ELISA 3“) auf ihren anti-p53 Gehalt überprüft. Alle in wenigstens einer ELISA Untersuchung positiven Seren wurden zusätzlich mittels Immunoblot untersucht. In ELISA 1 ergab sich ein Anteil von 12/241 (4%) anti-p53 positiver Seren, davon 9/200 (5%) bei Patientinnen mit Primärkarzinom, 2/27 (7%) bei Patientinnen mit Rezidiv- und 1/14 (7%) bei metastasierter Erkrankung. ELISA 2 ergab 10/241 (4%) Positive, davon 6/200 (3%) bei primärer, 3/27 (11%) bei rezidivierender und 1/14 (7%) bei metastasierter Erkrankung. Die Kontrolluntersuchungen in ELISA 3 bestätigten 6/12 (50%) der in ELISA 1 Positiven, jedoch 8/10 (80%) der Positiven in ELISA 2. Von 19 in mindestens einem ELISA anti-p53 positiv gemessenen Patientenserum waren damit lediglich fünf Seren (26%) in allen drei ELISA übereinstimmend positiv. Die 40 zufällig ausgewählten, in den anderen Assays anti-p53 negativen Seren, wurden in ELISA 3 ebenfalls negativ gefunden. Die Messung im Immunoblot bestätigte besonders die in mehreren ELISA positiven Seren.

Es ergaben sich keine Korrelationen zu klinisch relevanten Parametern zum anti-p53 Antikörpergehalt im Chi²-Test. Dies galt sowohl bei Betrachtung der in den einzelnen Tests positiven Patientinnen, als auch in der additiven Betrachtung aller Testpositiven. Um der zum Teil starken Divergenz der Meßergebnisse gerecht zu werden und insgesamt eine hohe

Spezifität der anti-p53 Positiven zu erreichen, wurde eine Gruppe „bestätigt anti-p53 Positiver“ definiert. Hierzu zählten Seren, die in mindestens drei der vier angewandten Methoden detektiert wurden. 6/241 Patientinnen (2,4%) konnten nach diesen Kriterien als anti-p53 positiv gewertet werden. Darunter waren 2/200 (1%) Patientinnen mit einem primär diagnostizierten Mammakarzinom und 4/41 (10%) Patientinnen in rezidiviertem oder metastasiertem Krankheitsstadium. Dies entsprach einer signifikant erhöhten Inzidenz des anti-p53 Titers in fortgeschrittenem Krankheitsstadium ($p < 0,01$). Ferner war in der Gruppe der Patientinnen mit fortgeschrittenem Krankheitsstadium das Durchschnittsalter der anti-p53 Positiven erniedrigt (45,5 versus 51,3 Jahre im Durchschnitt) sowie das rezidivfreie Intervall verkürzt (26 versus 48 Monate im Durchschnitt).

Im Ergebnis stellte sich anti-p53 durch die hier durchgeführten Untersuchungen als ein beim Mammakarzinom nur geringe Sensitivität aufweisender Marker dar, der jedoch möglicherweise mit dem Risiko eines frühen Rezidivs assoziiert sein könnte. Methodisch fiel in ELISA 1 eine erhöhte Anzahl positiver und grenzwertiger Seren auf, welche in Vergleichsmessungen nicht bestätigt und damit am ehesten unspezifischen Reaktionen zugeordnet werden konnten. Dieses Resultat verdeutlicht die Abhängigkeit der Befunde von der gewählten Analyseverfahren und könnte eine partielle Erklärung für hohe anti-p53 Raten in früher durchgeführten Studien sein. Die zur Zeit erhältlichen ELISA Tests (ELISA 2 und 3) ergeben vergleichbare, jedoch nicht identische Ergebnisse in der klinischen Diagnostik. Obwohl die Sensitivität der verfügbaren ELISAs der des Immunoblot überlegen scheint, ist aufgrund der insgesamt geringen Rate Testpositiver ein Einsatz der anti-p53 Bestimmung für die Routinediagnostik derzeit nicht zu empfehlen. Die in Einzelfällen hochtitrige, in allen verfügbaren Methoden nachweisbare Immunantwort gegen den bisher wichtigsten bekannten Tumorsuppressor stellt gleichwohl einen wichtigen Befund in der Aufdeckung der mit dem Mammakarzinom einhergehenden immunologischen Prozesse dar.