

ZHONG Xiao Yan

Dr. med.

Immunobeadsanreicherung, Immunzytologie und RT-PCR für den Tumorzellnachweis im Knochenmark, peripheren Blut und Leukaphereseprodukt bei Patientinnen mit Mammakarzinom

Geboren am 06. 09. 1961 in WUHAN, CHINA

Reifeprüfung am 01, 07, 1978 in Hubei

Studiengang der Fachrichtung Medizin von WS 1978 bis SS 1983 an der Universität Tongji in Wuhan, Abschluß mit dem Diplomtittel

Physikum am 01, 07, 1982 an der Universität Tongji

Klinisches Studium in 1986-1989, Abschluß mit dem Magistertitel

Praktisches Jahr in 1982-1983

Staatsexamen am 27, 12, 1989 an der Universität Tongji, Abschluß mit dem Magistertitel

Promotionsfach: Frauenheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. Dr. h.c. med. G. Bastert

Betreuer: PD. Dr. S. Kaul

Die häufigste Todesursache krebserkrankter Patienten in den westlichen Industrieländern sind Fernmetastasen, die in Folge einer frühzeitigen Tumorzellaussaat des Primärtumors entstanden sind.

Der frühe Nachweis von disseminierten malignen Zellen und Zellansammlungen im Organismus (Mikrometastasen) stellt somit eine Herausforderung für die moderne Medizin dar.

Zahlreiche Studien konnten zeigen, daß der Nachweis mikrometastatischer Zellen im Knochenmark von Patienten mit epithelialen Tumoren, insbesondere Mammakarzinom, ein unabhängiger prognostischer Parameter ist, der von großer Bedeutung für die Beurteilung des Rückfallrisikos der klinisch kurativ operierten Patientinnen ist. Diese Studien bedienen sich des immunzytochemischen und molekularbiologischen Nachweises der mikrometastasierten Tumorzellen.

Aufgrund der unterschiedlichen Ergebnisse in der Literatur im Hinblick auf Spezifität und Sensitivität bzw. Detektionshäufigkeiten war es das Ziel, in der vorliegenden Arbeit

immunzytochemische und molekularbiologische Methoden für den effektiven Tumorzellnachweis zu optimieren und standardisieren.

1. In Vergleichsuntersuchungen wurden MAK mit Spezifität für MUC1, humanes epitheliales Antigen und Zytokeratin für immunzytologischen Nachweis eingesetzt. Höchste Sensitivität ( $1/10^6$ ) und Spezifität (100%) wurde mit dem MAK 5D3 mit Zytokeratin 8, 18, und 19-Reaktivität erreicht.
2. Umfangreiche Untersuchungen zum Nachweis von Tumorzellen mittels RT-PCR ergaben höchste Sensitivität ( $1/10^6$ ) und Spezifität (100%) mit Primern für Zytokeratin 19.
3. Die immunmagnetische Isolierung von Karzinomzellen mittels BM2-Beads aus Knochenmark und peripherem Blut führte reproduzierbar zu einer Anreicherung um den Faktor 75.
4. Auf der Basis eines muzinspezifische MAK wurde eine schnelle und einfache Methode zur immunmagnetischen Anreicherung von seltenen Tumorzellen entwickelt und mit der nested-RT-PCR mit Zytokeratin 19 spezifischen Primern kombiniert. Damit steht ein neues, hochempfindliches und effizientes Verfahren zur Tumorzellsuche im Knochenmark und Blut von Patientinnen mit Mammakarzinom zur Verfügung mit dem reproduzierbar eine Tumorzelle in  $10^7$  KM-Zellen bzw.  $10^8$  PBL nachzuweisen ist.