

Beate Sabine Leichtweis  
Dr. med.

## **Stellenwert des Cytokeratin 19-Fragments CYFRA 21-1 für Diagnostik, Prognose und Verlaufskontrolle von Patienten mit nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen**

Geboren am 10.06.1964 in Karlsruhe  
Reifeprüfung am 07.06.1983 in Ettlingen  
Studiengang der Fachrichtung Chemie vom WS 1983/84 bis WS 1986/87  
Vordiplom (1. Teil) am 24.05.1985 an der Universität Karlsruhe  
Vordiplom (2. Teil) am 11.10.1986 an der Universität Karlsruhe  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1985/86 bis WS 1994/95  
Physikum am 15.03.1988 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg und Dumfries/Schottland  
Praktisches Jahr in Heidelberg und Boston, Farmington, New Haven/USA  
Staatsexamen am 15.12.1994 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Labormedizin  
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. W. Ebert

Unter dem Aspekt der diagnostischen Effizienz hat sich in der klinisch-serologischen Tumormarkeranalytik des Bronchialkarzinoms die Neuronenspezifische Enolase (NSE) aufgrund zufriedenstellender Sensitivitäts- und Spezifitätsdaten für die Therapieeffizienz- und Verlaufskontrolle einschließlich Rezidivdiagnostik der kleinzelligen Bronchialkarzinome (SCLC) bewährt. Für die nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinome (NSCLC) hingegen steht keine gleichwertige Indikatorsubstanz zur Verfügung; die bislang eingesetzten Marker Squamous Cell Carcinoma-Antigen (SCC-Ag) und Carcinoembryonales Antigen (CEA) konnten der durch die NSE vorgegebenen Qualität der Güteindices nicht ebenbürtig genügen. Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage, ob durch die Einführung des Cytokeratin 19 (CK19)-Fragments in das serologisch-diagnostische Repertoire des Bronchialkarzinoms die vorgezeichnete Lücke im klinischen Bedarfsfall zu schließen ist.

Ausgehend von Ergebnissen der morphologisch-histopathologischen Tumordiagnostik, die eine überdurchschnittlich starke Expression des Cytokeratin 19, eines Strukturproteins des Cytoskeletts, bei NSCLC belegen, wurde die Entwicklung eines Sandwich-ELISAs (CYFRA 21-1) zur Detektion serumlöslicher Cytokeratin 19-Fragmente mit Hilfe von 2 spezifischen, monoklonalen Antikörpern (BM 19.21, Ks 19.1) forciert.

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit verfolgten 3 Ziele:

1. Evaluierung der analytischen Leistungsfähigkeit des CYFRA 21-1 Tests.
2. Evaluierung der diagnostischen Leistungsfähigkeit des CYFRA 21-1 Tests.
3. Beurteilung des klinischen Stellenwertes des CYFRA 21-1 Tests bei NSCLC.

1. Die spezifischen Leistungsdaten des CYFRA 21-1 Tests belegen eine exzellente Performance ohne meßbare analytische Interferenzen. Der gesamte Meßbereich zeichnet sich durch ein hohes Maß an Präzision aus (Intra-Assay-VK < 6,82%, Inter-Assay-VK < 6,06%). Verdünnungstests von Seren mit CYFRA 21-1 Konzentrationen oberhalb des Meßbereichs (0–55 ng/ml) ergeben eine exzellente Linearität mit einer Wiederfindungsrate von 98–105%. Die analytische Empfindlichkeit beträgt 0,3 ng/ml.

2. Anhand eines umfangreichen, selektionsfreien Gesamtkollektivs (n = 233), das sich aus 133 Patienten mit Bronchialkarzinomen (57 Plattenepithel-, 39 Adeno-, 15 großzellige Karzinome, 22 SCLC), 50 Patienten mit benignen Lungenerkrankungen (Referenzkollektiv) respektive 50 klinisch Gesunden (Kontrollkollektiv) rekrutiert, wurde prospektiv die diagnostische Wertigkeit von

CYFRA 21-1 im Vergleich zu den etablierten Markern SCC-Antigen und CEA anhand prätherapeutisch gewonnener Seren evaluiert.

Als Berechnungsgrundlage der Tumorsensitivität des CYFRA 21-1 Tests wird der Schwellenwert zugrundegelegt, der definitionsgemäß auf der 95. Perzentile des Referenzkollektivs basiert (CYFRA 21-1: 3,3 ng/ml; SCC-Ag: 1,5 ng/ml; CEA: 5,0 ng/ml).

Die CYFRA 21-1 Spiegel der Gesamtpopulation der Bronchialkarzinomträger (Median: 4,2 ng/ml) einschließlich der histologisch stratifizierten Subpopulationen unterscheiden sich von den Werten der Referenz- (Median: 1,2 ng/ml) und Kontrollkollektive (Median: 0,7 ng/ml) ( $p < 0,01$ ); die höchsten CYFRA 21-1 Konzentrationen werden in den Gruppen mit plattenepithelialen (Median: 5,6 ng/ml) und großzelligen (Median: 8,4 ng/ml) Karzinomen ermittelt ( $p < 0,001$ ). Anhand der Sensitivitäts-Spezifitäts-Kurven der Marker läßt sich sowohl für das Gesamttumorkollektiv als auch das selektierte Patientenkollektiv mit Plattenepithelkarzinomen ein gegenüber SCC-Ag und CEA deutlich überlegenes Diskriminationsvermögen von CYFRA 21-1 ableiten. In der Gesamtpopulation der Malignompatienten ist CYFRA 21-1 bei 60,9% (SCC-Ag: 33,1%; CEA: 53,4%) erhöht. Unter Berücksichtigung der histologischen Subtypen wurden folgende CYFRA 21-1 Positivitätsraten ermittelt: Plattenepithelkarzinom 66,7% (SCC-Ag: 49,1%; CEA: 43,9%), SCLC 68,2% (SCC-Ag: 4,5%; CEA: 63,6%), Adenokarzinom 46,2% (SCC-Ag: 20,5%; CEA: 56,4%), großzelliges Karzinom 66,7% (SCC-Ag: 46,7%; CEA: 66,7%). Die diagnostische Genauigkeit beträgt für CYFRA 21-1 70,5% (SCC-Ag: 50,3%; CEA: 61,7%).

Die medianen CYFRA 21-1 Konzentrationen korrelieren mit zunehmendem Ausdehnungsgrad der Einzelkategorien (Primärtumor T1-T4, n.s.; Lymphknoten N0-N3, n.s.; Fernmetastasen M0, M1,  $p < 0,01$ ) respektive der Tumorstadien (TNM I-IV, n.s.). Die stadienabhängigen CYFRA 21-1 Detektionsraten betragen: TNM I 27,3% (SCC-Ag: 18,2%; CEA: 36,4%), TNM II 41,7% (SCC-Ag: 50,0%; CEA: 33,3%), TNM IIIa 46,4% (SCC-Ag: 39,3%; CEA: 50,0%), TNM IIIb 71,4% (SCC-Ag: 28,6%; CEA: 42,9%), TNM IV 75,0% (SCC-Ag: 31,2%; CEA: 70,8%). Ungeachtet der histologischen Typisierung weist CYFRA 21-1 in fortgeschrittenen Tumorstadien (TNM IIIb-IV) höhere Sensitivitätsraten auf als in operablen Stadien (TNM I-IIIa), in denen bei Plattenepithelkarzinomen die höchste Trefferquote resultiert.

3. Die klinische Wertigkeit des CYFRA 21-1 Tests läßt sich folgendermaßen zusammenfassen:

**Screening:** Infolge unzureichender Tumorsensitivität (60,9%) bei 95%iger Spezifität sowie niedriger Prävalenz in der Gesamtbevölkerung (ca. 0,05%) ist CYFRA 21-1 zum Screening und folglich zur Vorsorge asymptomatischer Individuen ungeeignet.

**Primärdiagnostik:** CYFRA 21-1 hat in Verbindung mit bildgebenden Verfahren bei symptomatischen Patienten einen begrenzten Stellenwert; zytopathologische Standardverfahren im prätherapeutischen Diagnostikprogramm sind hinsichtlich ihrer Trefferquoten den Markertests überlegen. Patienten, bei denen diese Standardverfahren versagen oder die aufgrund ihres Allgemeinzustandes invasiven Techniken nicht zugänglich sind, profitieren hinsichtlich der Diagnosefindung durch die CYFRA 21-1 Bestimmung.

**Differenzierung zwischen NSCLC und SCLC:** Aufgrund der annähernd gleichgelagerten Sensitivitätsraten beim NSCLC und SCLC bei einer 95%igen Spezifität gegenüber dem Referenzkollektiv ist CYFRA 21-1 für diese Fragestellung ungeeignet.

**Unterscheidung zwischen operablen und inoperablen Tumorentitäten:** Die CYFRA 21-1 Spiegel korrelieren positiv mit dem Tumorstadium, sodaß hohe Markerwerte mit Frühstadien in der Regel inkompatibel sind. Auch wenn im Patientenkollektiv mit Bronchialkarzinomen in nicht-operablen Stadien (TNM IIIb-IV) (Median: 5,8 ng/ml) die CYFRA 21-1 Konzentrationen höher als im Kollektiv mit potentiell kurativ operablen Tumoren (TNM I-IIIa) (Median: 2,7 ng/ml) liegen ( $p < 0,001$ ), ist diese Unterscheidung rein theoretischer Natur; im Einzelfall kann CYFRA 21-1 aufgrund überlappender Wertbereiche zur Diskriminierung nicht herangezogen werden.

**Prognostische Bedeutung:** Prätherapeutische CYFRA 21-1 Werte eignen sich zur prognostischen Abschätzung bei NSCLC: Patienten mit CYFRA 21-1 = 3,3 ng/ml (Median: 440 Tage) leben signifikant länger als solche mit CYFRA 21-1 > 3,3 ng/ml (Median: 204 Tage) ( $p = 0,035$ ). In der Multivarianzanalyse (Cox-Modell) erweist sich CYFRA 21-1 als ein von den Variablen Tumor-

histologie und TNM-Stadium unabhängiger prognostischer Faktor (mediane Überlebenszeiten: 575 Tage vs. 142 Tage;  $p < 0,001$ ).

**Verlaufskontrolle:** Hauptindikationsgebiete der CYFRA 21-1 Bestimmung sind die Therapieeffizienzkontrolle bei operablen NSCLC, Rezidivfrüherkennung in der postoperativen Phase und Anzeige einer Tumorprogression bei inoperablen NSCLC unter Radio- und/oder Chemotherapie. Bei präoperativ erhöhten CYFRA 21-1 Konzentrationen ( $n = 21$ ) signalisiert ein postoperativer Markerabfall eine erfolgreiche Resektion ( $P < 0,001$ ), bei initial normwertigen Spiegeln ( $n = 11$ ) zeigt die Markerkinetik nach Operation nur einen Abwärtstrend ( $p = 0,08$ ).

**Fazit:** Bei vergleichender Betrachtung mit den etablierten Tumormarkern SCC-Antigen und CEA erweist sich CYFRA 21-1 als überlegenes in vitro-Diagnostikum für Patienten mit NSCLC und avanciert zum Marker der Wahl für das Plattenepithelkarzinom der Lunge.