

Géza János  
Dr. med.

## **Technische und klinische Evaluierung des tumorassoziierten Muzinantigens MUC1 mit dem Tumormarker BM-27 und Vergleich mit CA 15-3 und CEA bei metastasiertem Mammakarzinom**

Geboren am 20.06.1970 in Székelyudvarhely (Siebenbürgen)  
Reifeprüfung am 14.06.1991 in Heidelberg  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1992/1993 bis SS 1999  
Physikum am 30.08.1994 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Budapest und Bruchsal  
Staatsexamen am 11.05.1999 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Frauenheilkunde  
Doktorvater: PD Dr. rer. nat. S. Kaul

Das mammakarzinomassoziierte Muzinantigen MUC1 ist ein Glykoprotein mit einem Proteingerüst aus einer bis zu 125 mal wiederholten Tandem-Repeat-Sequenz, die aus 20 Aminosäuren besteht. Karzinom-Zellen sezernieren und überexprimieren inkomplett glykosyliertes und somit phänotypisch verändertes Muzin.

Im onkologischen Labor der Universitäts-Frauenklinik wurde ein dort entwickelter manueller Tumormarker-ELISA, der BM-27-Test, technisch und klinisch bei metastasiertem Mammakarzinom evaluiert und mit den bereits etablierten Tumormarkern, dem *Enzymun-Test® CA 15-3* und dem *Enzymun-Test® CEA* der Firma *Roche Diagnostics*, damals *Boehringer Mannheim*, verglichen. Der BM-27-Test ist ein ELISA-Verfahren für die Detektion von MUC1 im Serum. In diesem Verfahren wird das MUC1-Muzin von zwei verschiedenen murinen Antikörper gebunden. Als Tracer wurde der Peroxidase-markierte, monoklonale Antikörper (mAk) BM-2 (2E11) eingesetzt, der als Epitop die Eiweiß-Sequenz APDTR auf dem Tandem Repeat des MUC1-Muzin bindet. Der mAk BM-7 detektiert als Catcher undefinierte Zuckerketten des MUC1-Muzins als Epitop.

Grundlage dieser Arbeit sind 175 Patientinnen, die sich im Zeitraum vom Juli 1996 bis zum Juli 1997 zu Nachsorgeuntersuchungen oder zur Chemotherapie-Applikation in der onkologischen Ambulanz der Universitätsfrauenklinik Heidelberg in monatlichen Abständen vorgestellt haben. Hierbei wurden die Tumormarker CA 15-3 und CEA routinemäßig im Zentrallabor der Medizinischen Klinik in Heidelberg simultan bestimmt, wobei auch etwa 10 ml Blut für die Bestimmung der Werte unseres Tumormarkers BM-27 abgenommen worden sind.

Die Reproduzierbarkeit unseres Tests BM-27 überprüften wir durch die intra- und inter-assay Variationskoeffizienten mit jeweils einem Kontrollserum aus dem niedrigen, mittleren und höheren Bereich. Die errechneten intra- bzw. inter-assay Variationskoeffizienten betragen jeweils  $\leq 6,1\%$  bzw.  $\leq 4,8\%$ . Sie lagen somit unterhalb der von der *Arbeitsgruppe Qualitätskontrolle und Standardisierung von Tumormarkertests im Rahmen der Hamburger Symposien* geforderten Höchstgrenze, die für die inter- bzw. intra-assay Variationskoeffizienten mit jeweils  $\leq 10\%$  festgelegt wurde. Die Serumverdünnungen von 5 Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom mit erhöhten Tumormarkerwerten des Markers BM-27 zwischen 38 und  $> 600$  U/ml, zeigten gute Wiederfindungen zwischen 90% und 110%. Die Ergebnisse lagen somit innerhalb der  $\pm 10\%$  Grenzen der erwarteten Werte.

Zur Berechnung der Sensitivität wurde das Hauptkollektiv der Frauen mit metastasiertem Mammakarzinom ( $n = 139$ ) und zur Berechnung der Spezifität das Kontrollkollektiv der 160

gesunden Blutspenderinnen zugrunde gelegt. Zur graphischen Demonstration wurde ein Sensitivitäts-Spezifitäts-Diagramm erstellt, das auch als ROC-Kurve bekannt ist. Die Summe aus Spezifität und Sensitivität erreichte für unseren Assay ihr Maximum am Grenzwert von 20 U/ml. Beim Cut-off von 20 U/ml erzielte unser Testkit bei einer Spezifität von 93,8% eine Sensitivität von 79,1%. Für das Kollektiv der Patientinnen im rezidivfreiem Intervall (n=13) ergab sich bei diesem Cut-off eine Spezifität von 100%.

Das Hauptkollektiv führten wir auch einer Analyse hinsichtlich der CEA und CA 15-3 Tumormarkerwerte, die aus der jeweiligen Patientinnen-Dokumentation stammten, zu. Der Cut-off für den Enzymun-Test® CA 15-3 war mit 25 U/ml definiert. Für den Enzymun-Test CEA lag der Grenzwert bei 2,5 ng/ml wobei es eine Grauzone gab, in der Werte bis 5,0 ng/ml als noch nicht pathologisch zu werten waren. Bezüglich der Spezifität der Tumormarkertests CA 15-3 und CEA sind jedoch, verglichen mit unserem Kollektiv, keine Angaben zu machen, da diese Untersuchungen nicht durchgeführt worden sind.

Erwartungsgemäß fanden wir den höchsten Korrelationskoeffizienten, mit einem Spearman-Rho von 0,800, zwischen den beiden Muzin-Testverfahren BM-27 und CA 15-3.

Durch die Kombination der Tumormarker konnte ein Sensitivitätsgewinn erreicht werden, jedoch waren diese Ergebnisse im Chi-Quadrat-Test nicht signifikant. So konnten wir bei gleichzeitiger Bestimmung aller drei Marker die Sensitivität auf 92,8% erhöhen. Die beste Zweierkombination bildeten BM-27 und CEA mit einer Sensitivität von 90,6%.

Wir untersuchten das Verhalten der Tumormarker in Abhängigkeit vom Krankheitsverlauf bezüglich klinischer bzw. diagnostischer Beurteilung bei 130 Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom. Alle drei Tumormarker korrelierten gut mit dem Krankheitsverlauf, und spiegelten, ohne sich signifikant zu unterscheiden, das Krankheitsgeschehen wider.

Bezüglich Grading, Hormonrezeptorstatus und Menopausenstatus ließ sich bei keinem der Tumormarker eine Korrelation zur Tumormarkerexpression nachweisen.

Erhöhte MUC1-Serumkonzentrationen konnten auch bei Patientinnen mit metastasiertem Ovarial-, Endometrium- und Tubenkarzinom beobachtet werden.

Insgesamt zeigt unser Testkit BM-27 gute technische Ergebnisse und ist den beiden anderen Markern gegenüber hinsichtlich Sensitivität, Tumormarkerkombination und Verlaufskontrolle als mindestens gleichwertig anzusehen.