

Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik

Vorlesung: Tumormarker



Dr. rer. nat. Manfred Fobker

Zentrale Einrichtung Labor

– UKM Labor –

Universitätsklinikum Münster

Albert-Schweitzer-Campus 1

48149 Münster

Tel.: 0251 83-48701

Fax: 0251 83-47225

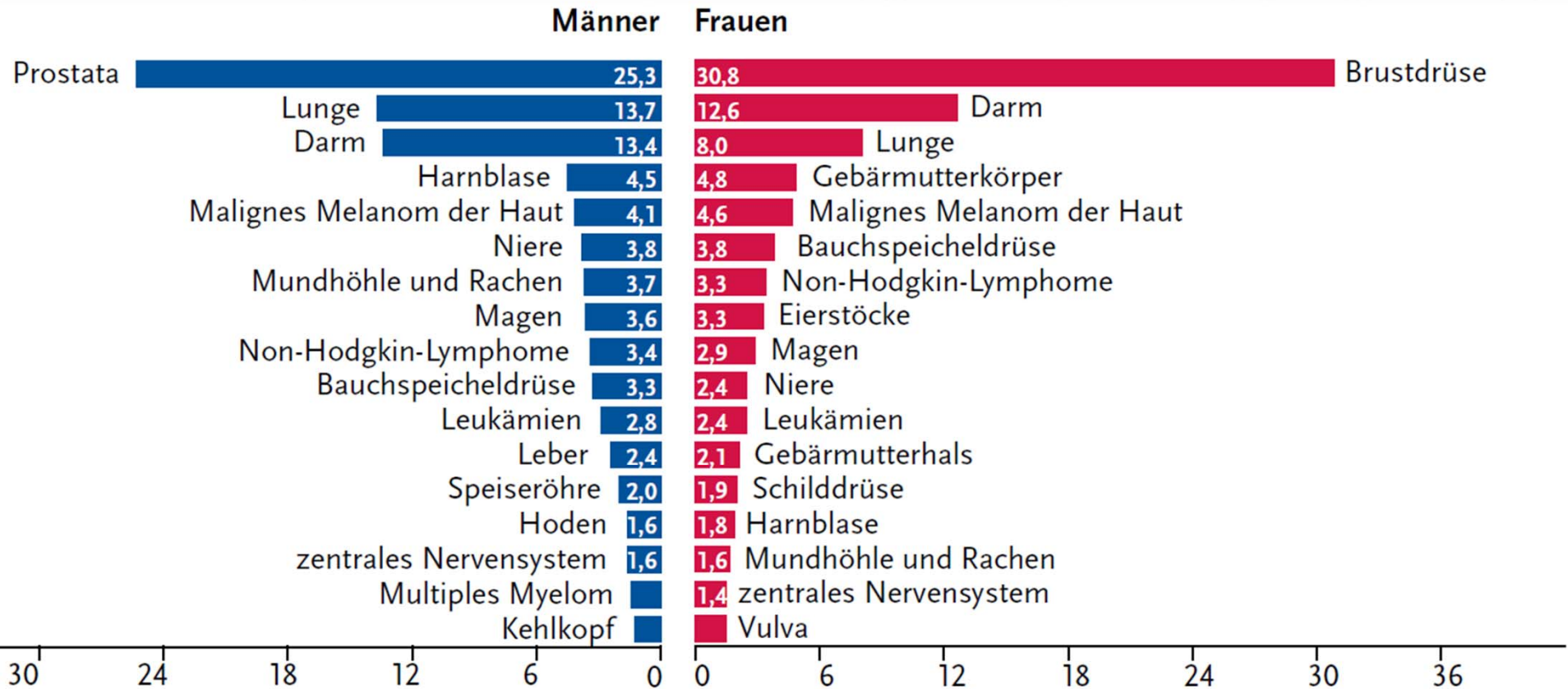
QR-Code/ Link für diese Vorlesung

www.klichi.uni-muenster.de/folien

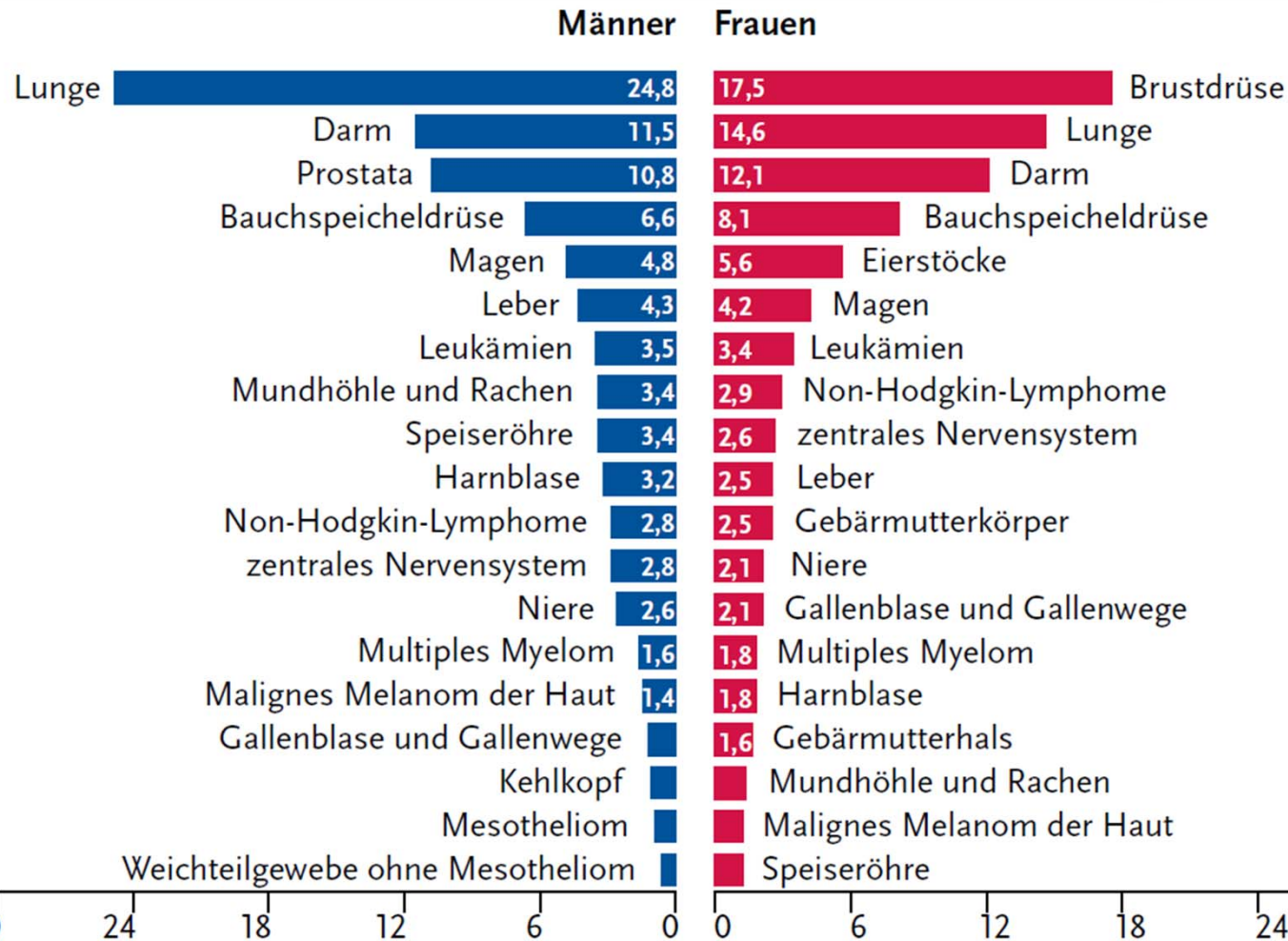


Sommersemester 2022

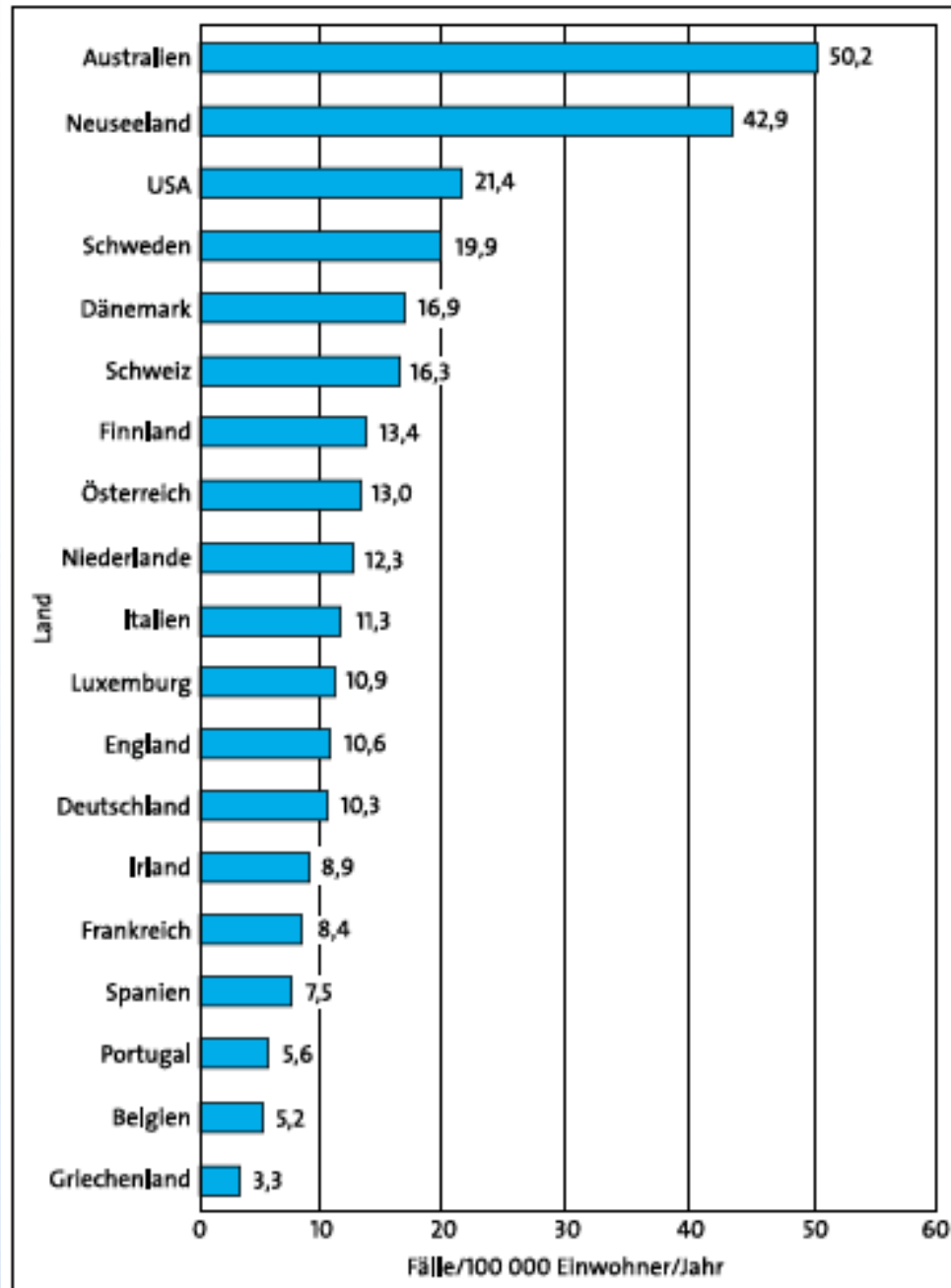
Häufigkeit von Tumorerkrankungen



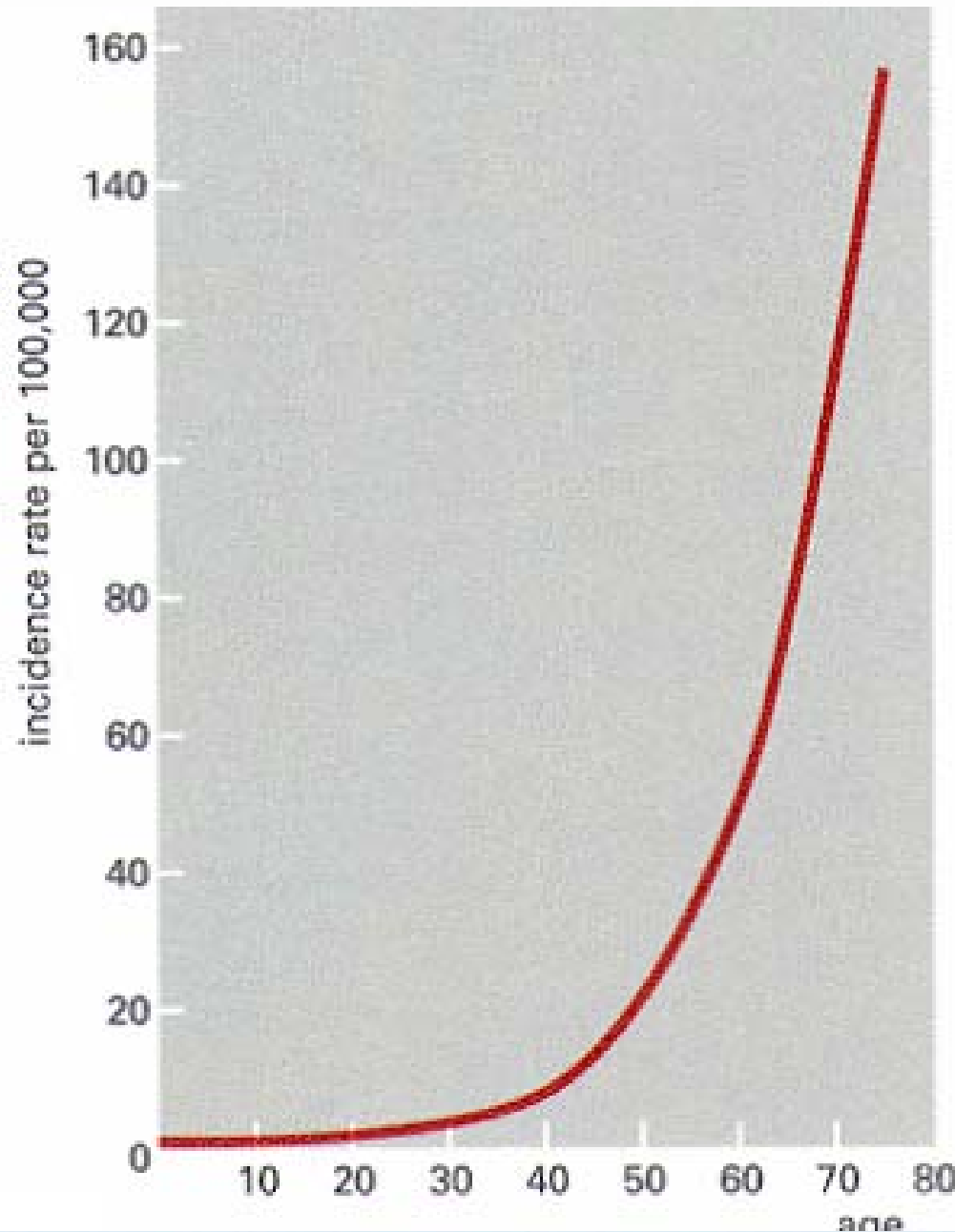
Prozentualer Anteil der Zahl der Krebssterbefälle in Deutschland



Inzidenzraten für maligne Melanome



Krebsrisiko steigt exponentiell mit dem Lebensalter



Gesetzliches Krebsfrüherkennungsprogramm

Untersuchung	Alter	Geschlecht	Häufigkeit	Anmerkungen
Genitaluntersuchung (zur Früherkennung von Gebärmutterhalskrebs)	ab dem Alter von 20 Jahren	Frauen	jährlich	Die Untersuchung umfasst: -gezielte Anamnese (z.B. Fragen nach Veränderungen / Beschwerden) -Inspektion des Muttermundes -Krebsabstrich und zytologische Untersuchung (Pap-Test) -gynäkologische Tastuntersuchung -Befundmitteilung mit anschließender Beratung
Brustuntersuchung (zur Früherkennung von Brustkrebs)	ab dem Alter von 30 Jahren	Frauen	jährlich	Die Untersuchung umfasst: -gezielte Anamnese (z.B. Fragen nach Veränderungen / Beschwerden) -Inspektion und Abtasten der Brust und der regionären Lymphknoten einschließlich der ärztlichen Anleitung zur Selbstuntersuchung -Beratung über das Ergebnis
Hautkrebs-Screening (zur Früherkennung von Hautkrebs: Malignes Melanom ("schwarzer Hautkrebs"), Basallzellkarzinom und Spinozelluläres Karzinom (beide "weißer Hautkrebs"))	ab dem Alter von 35 Jahren	Frauen und Männer	alle zwei Jahre	Das Screening soll, wenn möglich, in Verbindung mit der zweijährlichen Gesundheitsuntersuchung ("Check-up") durchgeführt werden und umfasst: - gezielte Anamnese (z.B. Fragen nach Veränderungen / Beschwerden) - visuelle (mit bloßem Auge), standardisierte Ganzkörperinspektion der gesamten Haut einschließlich des behaarten Kopfes und aller Körperhautfalten - Befundmitteilung mit anschließender Beratung (Im Falle eines verdächtigen Befundes erfolgt die weitere Abklärung durch einen/eine Facharzt/Fachärztin für Haut- und Geschlechtskrankheiten (Dermatologe/Dermatologin).)
Prostatauntersuchung Genitaluntersuchung (zur Früherkennung von Prostatakrebs)	ab dem Alter von 45 Jahren	Männer	jährlich	Die Untersuchung umfasst: -gezielte Anamnese (z.B. Fragen nach Veränderungen / Beschwerden) -Inspektion und Abtasten des äußeren Genitales -Tastuntersuchung der Prostata (vom Enddarm aus) -Tastuntersuchung der regionären Lymphknoten -Befundmitteilung mit anschließender Beratung
Dickdarm- und Rektumuntersuchung (zur Früherkennung von Darmkrebs)	im Alter von 50 bis 54 Jahren	Frauen und Männer	jährlich	Die Untersuchung umfasst: -gezielte Beratung -Tastuntersuchung des Enddarms -Guajak-Test (FOBT) auf verborgenes Blut im Stuhl
Darmspiegelung (zur Früherkennung von Darmkrebs)	ab dem Alter von 55 Jahren	Frauen und Männer	zwei Untersuchungen im Abstand von 10 Jahren	Die Untersuchung umfasst: -gezielte Beratung -zwei Darmspiegelungen im Abstand von 10 Jahren oder: Guajak-Test (FOBT) auf verborgenes Blut im Stuhl alle zwei Jahre
Mammographie-Screening (zur Früherkennung von Brustkrebs)	ab dem Alter von 50 Jahren bis zum Ende des 70. Lebensjahres	Frauen	alle zwei Jahre	Das Screening umfasst: - schriftliche Einladung in eine zertifizierte Screening-Einheit - Information (Merkblatt) - schriftliche Anamnese - Röntgen beider Brüste (Mammographie) - Doppelbefundung der Röntgenaufnahmen durch zwei unabhängige Untersucher - Befundmitteilung innerhalb von sieben Werktagen

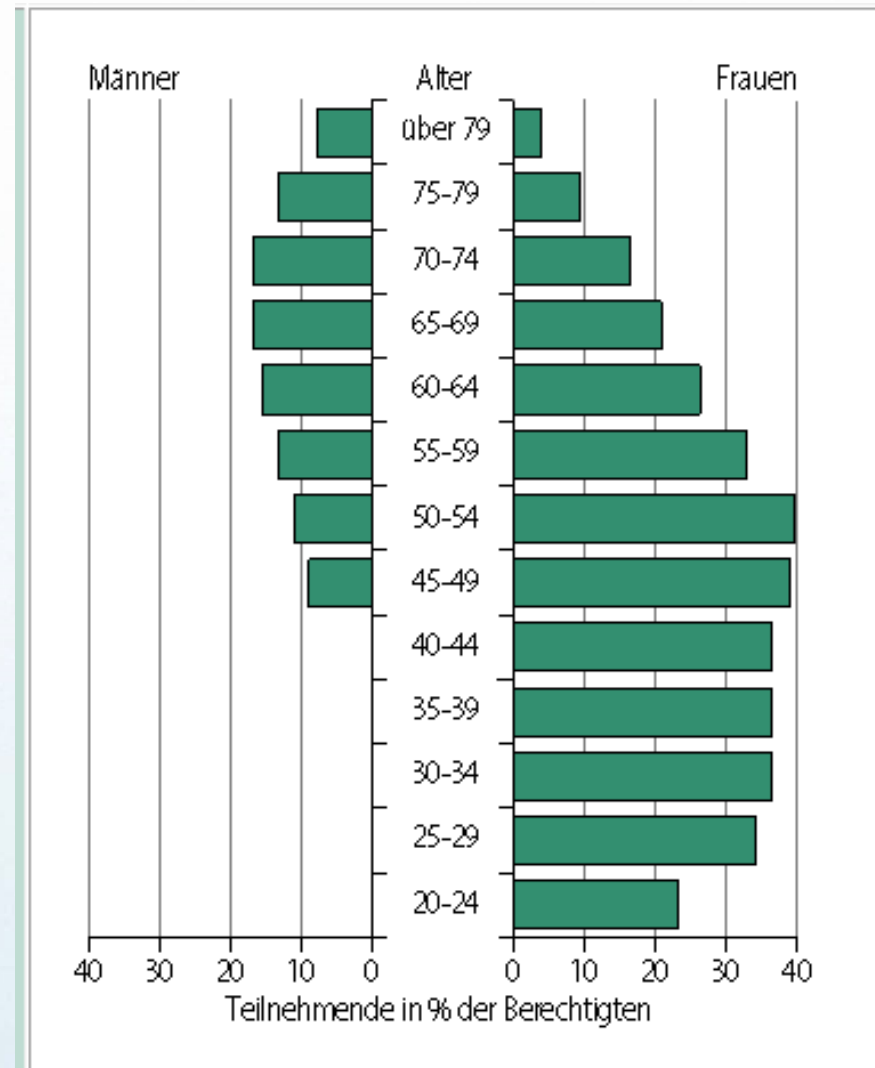
Teilnahme freiwillig

Gynäkologische Untersuchung als Screening ohne nachgewiesenen Nutzen

Donnerstag, 9. März 2017

Soweit die Frauen Symptome haben, besteht kein Zweifel am Sinn der gynäkologischen Untersuchung, doch als reine Vorsorgeuntersuchung bei asymptomatischen nicht schwangeren Frauen im Rahmen eines Arztbesuches wird der Sinn zunehmend infrage gestellt.

Gesetzliches Früherkennungsprogramm



Quelle: KBV, Krankheitsfrüherkennungsuntersuchung
Krebs Männer und Frauen.

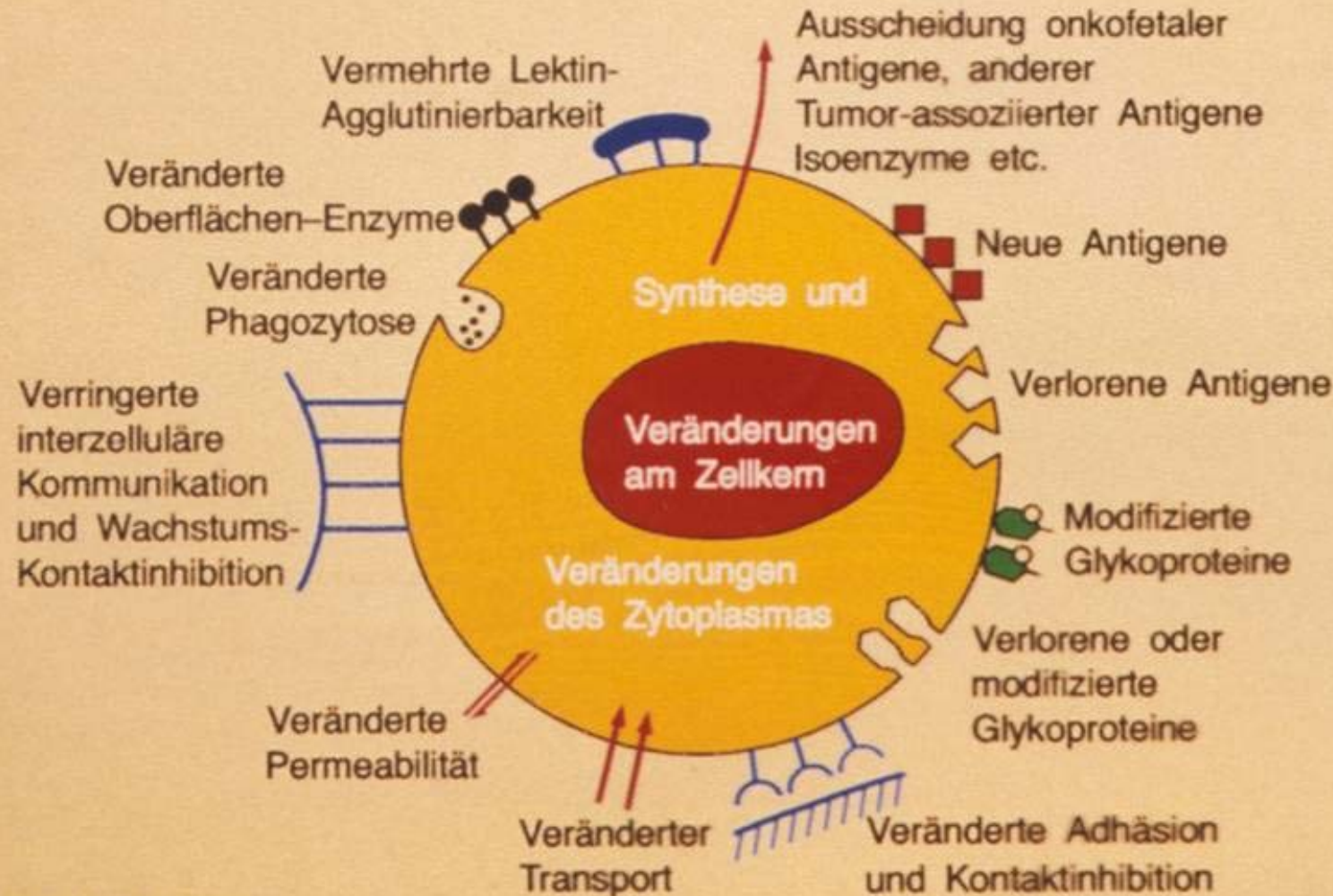
Männer können ab 45, Frauen ab 20 Jahren an
Krebsfrüherkennungsuntersuchungen teilnehmen.

„Es ist leicht verständlich, daß bis heute viel Aufmerksamkeit darauf verwandt wurde, die Serologie von Tumoren zu untersuchen, ... um eine diagnostische Methode für die Messung der Malignität zu entwickeln....“

K. Landsteiner, 1943

Markersubstanzen in der Diagnostik maligner Erkrankungen

Mögliche Strukturunterschiede bei malignen und entsprechenden nicht-malignen Zellen *



* nach Gericke und Drahovsky

Definition:Tumormarker

Alle nachweisbaren Substanzen, die auf einen Tumor hinweisen oder zur Charakterisierung und Messung seiner Ausbreitung und Therapie-Ansprechen beitragen können

–von malignen Tumorzellen direkt gebildet

–Synthese wird in normalen Zellen durch den Tumor induziert (CRP, Anti-p53, Ferritin)

besitzen folgende Struktur:

- **Onkofetale Antigene** (z.B. Carcinoembryonales Antigen)
- **Mit monoklonalen Antikörpern reagierende Epitope** (z.B. CA 19.9, CA 15.3)
- **Hormone** (z.B. HCG, Prolactin, ACTH, Calcitonin, VIP, Insulin, Adrenalin)
- **Enzyme** (z.B. Neuronenspezif. Enolase, Thymidinkinase, Alkal.-Phosphatase-Isoenz.)
- **Serumproteine** (Thyreoglobulin, β 2-Mikroglobulin)
- **Immunglobuline** (Bence-Jones-Proteine, monoklonale Ig)

...

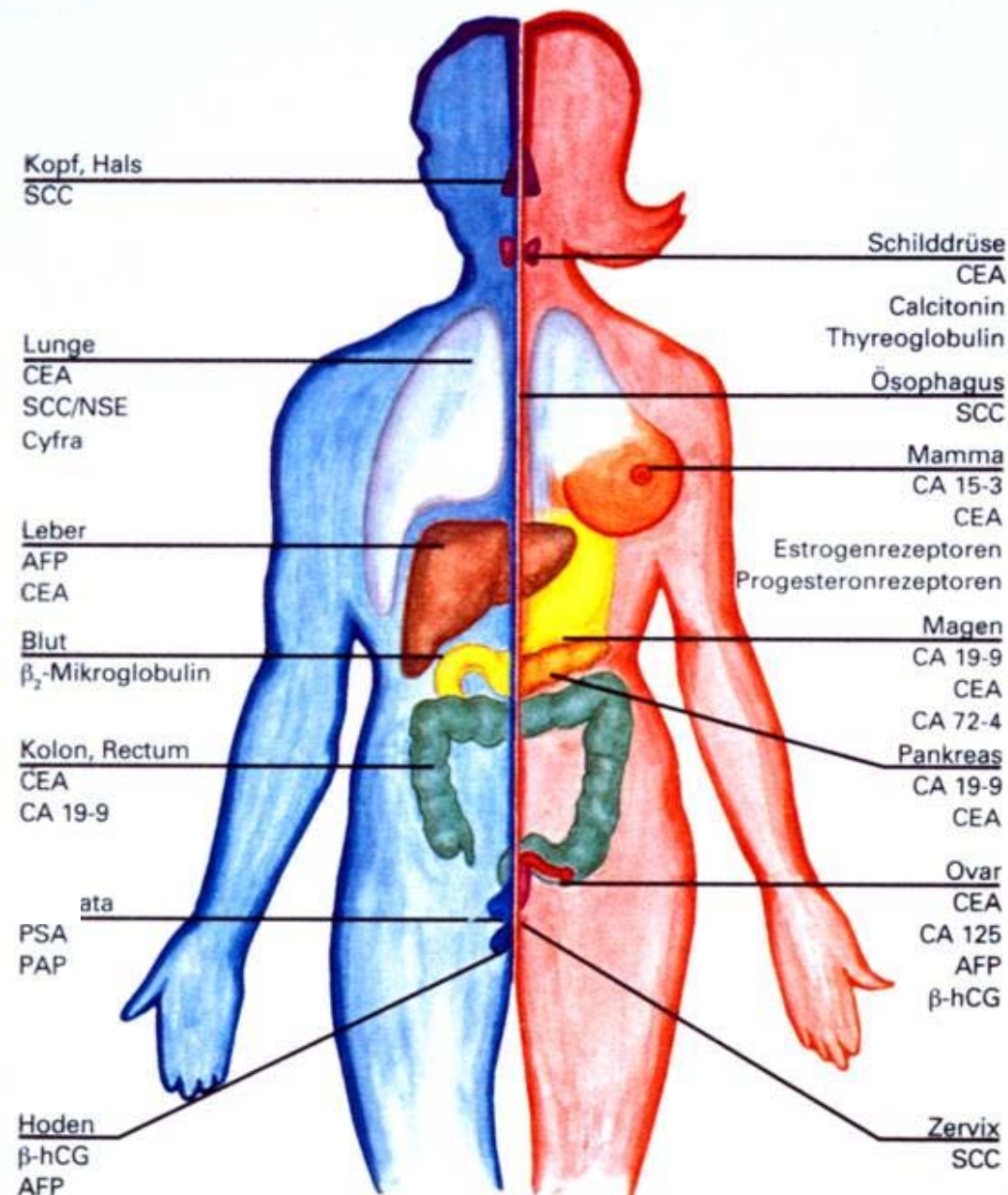
Einteilung

● **Humorale (Zirkulierende) Marker:**

Serum, Plasma (Material beachten) z.B.
Immunologische Verfahren

● **Zelluläre Marker:**

Tumorgewebe z.B. Histozytochemie,
Durchflusszytometrie, Zytogenetik, PCR



Alpha-Fetoprotein (AFP) = Leber, Hoden, Ovar

Calcitonin = C-Zellkarzinom

Cancer-Antigen 125 (CA 125) = Ovar

Cancer-Antigen 15.3 (CA 15.3) = Mamma

Cancer-Antigen 19.9 (CA 19.9) = Pankreas, Galle

Cancer-Antigen 72.4 (CA 72.4) = Magen, Ovar

Carcinoembryonal. Antigen (CEA) = Kolon, Mamma

**Cytokeratin-Fragment (Cyfra 21.1) =
Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom**

**Humanes Choriongonadotropin (HCG) =
Keimzelltumore**

**Neuronen-spezifische Enolase (NSE) =
Neuroblastom, Kleinzelliges Bronchialkarzinom**

**Pro Gastrin Releasing Peptide (ProGRP) =
kleinzelliges Bronchialkarzinom**

Prostata spezifisches Antigen (PSA) = Prostata

**Squamous cell carcinoma Antigen (SCC) =
Plattenepithelkarzinom (Zervix, HNO, Ösophagus)**

S100 = Melanom, Neurodestruktion

Thyreoglobulin = differenz. Schilddrüsenkarzinom



PS-A 9070

VOLKSWAGEN

GOLF C

Karzinom	Typ	AFP	β-2-M	CA 125	CA 15-3	CA 19-9	CA 72-4	CEA	Cyfra 21.1	erbB-2 p105	HCG	NSE	PSA	p53 Auto-Ak	SCC
Blase								2	1						
HNO															2
Hoden	● Seminom ● Nonseminom	1									3 1				
Kolon/Rektum						2	2+	1						2	
Leber	● HCC ● CCC ● Metastasen	1 1						1						2	
Lunge	● NSCLC ● SCLC							2 3	1			1		3	3
Lymphom (NHL)			2												
Magen							1	2+							
Mamma					1			2+		2+				3	
Nieren															
Ösophagus							2	2							
Ovar	● serös ● muzinös ● Keimzell	1		1			1				1				
Pankreas				3		1									
Prostata													1		
Uterus	● Corpus ● Endometr. ● Zervix ● Chorion							2 2 2			1				1

Tumormarkerkombinationen

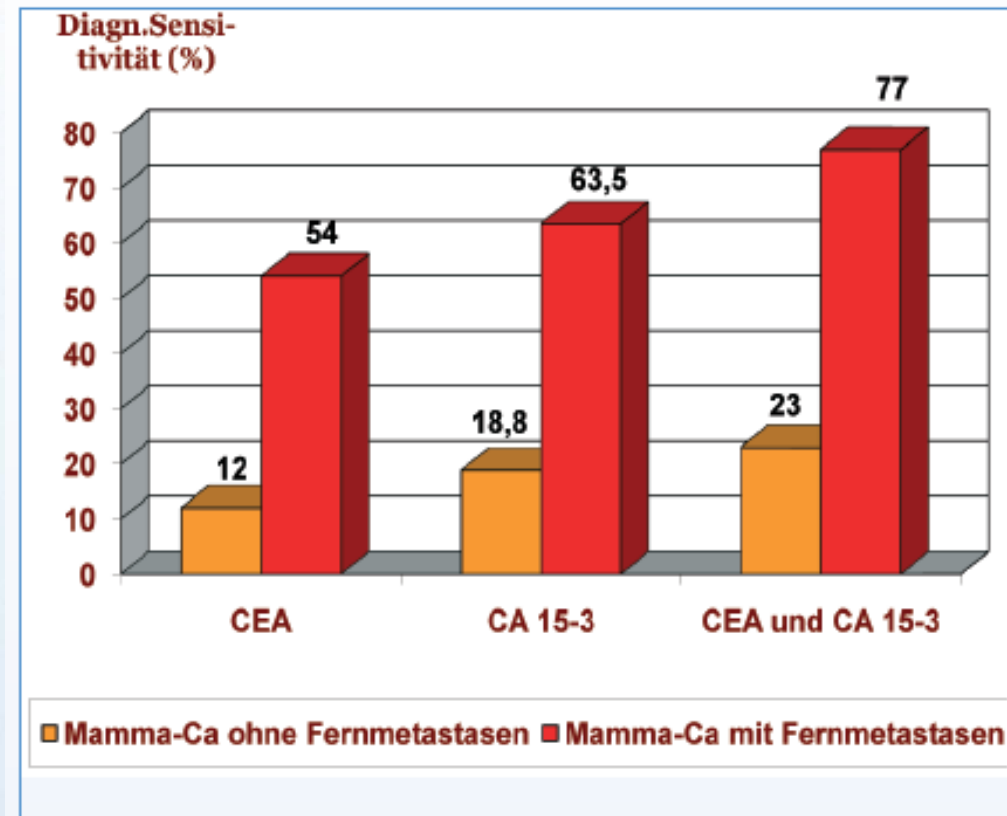
In der Regel nur 1 Tumormarker für Kontrolle eines Tumors

Ausnahme:

AFP+ β -HCG: Keimzelltumoren

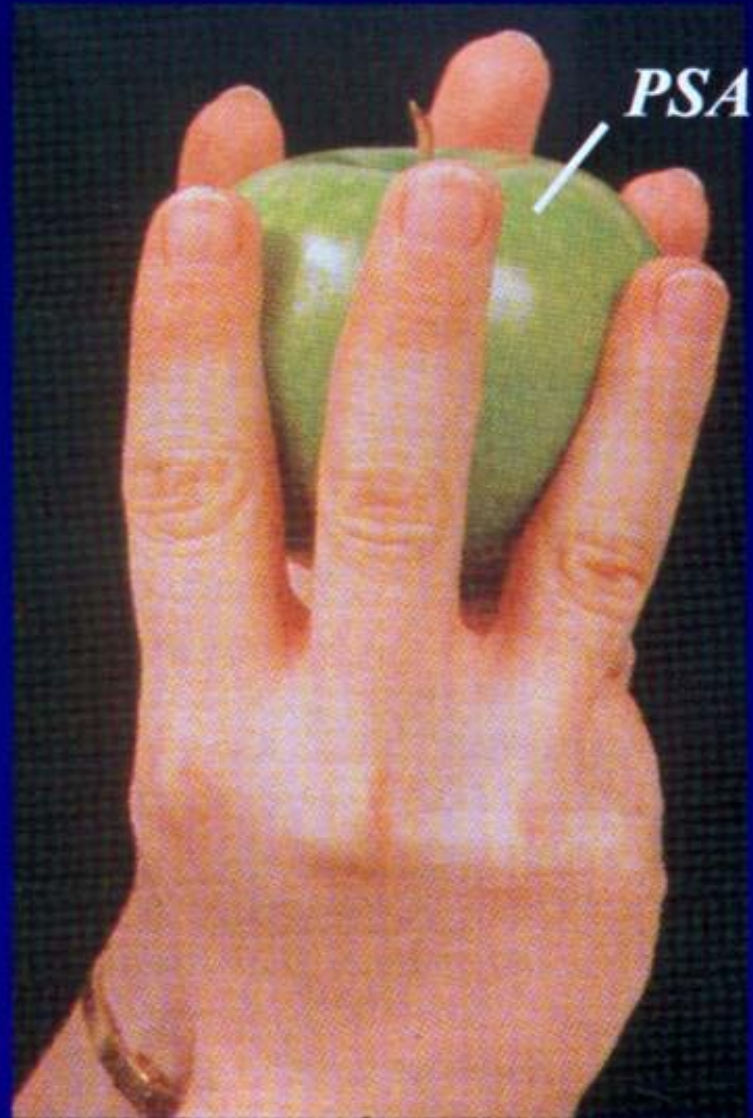
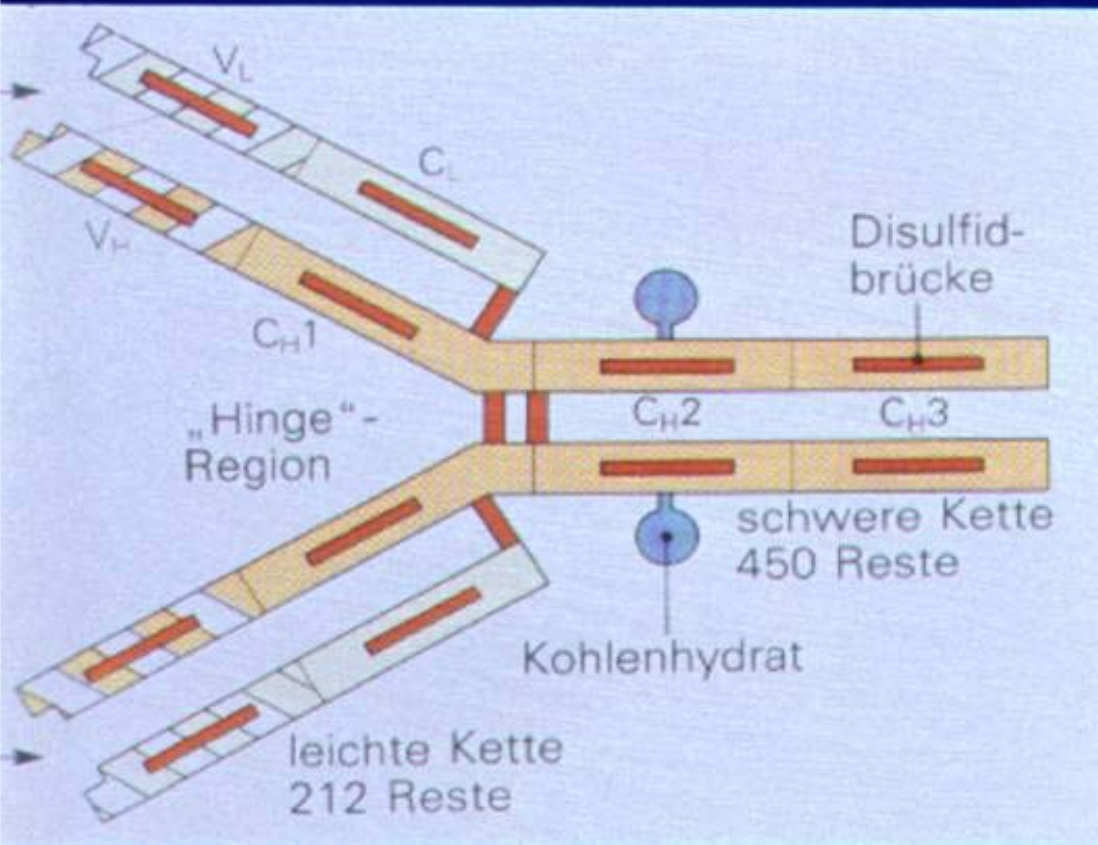
CA-15.3 +CEA: Mammakarzinom

CA72.4 + CEA: Magenkarzinom

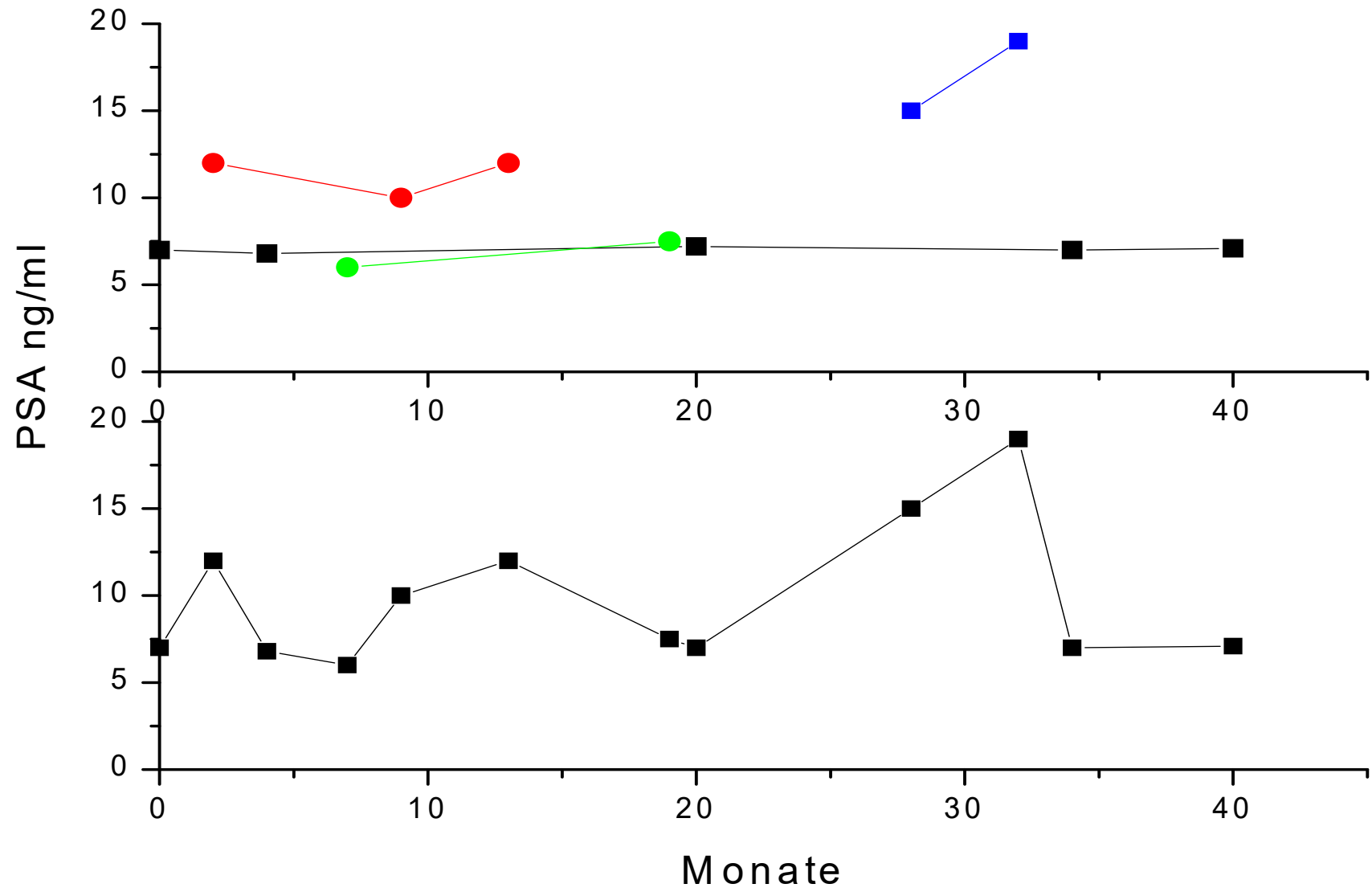


Wie werden humorale Tumormarker bestimmt?

Immunglobulin-Antigenbindung



Methodenwechsel



Methodenwechsel



Bei Verlaufskontrollen der gleiche Test vom gleichen Hersteller!

Laborbefund:
Hersteller/Datum bei
Umstellung/Referenzbereich
(testspezifisch)

Dtsch Arztebl 1996; 93(26): A-1779 / B-1503 / C-1403



Weining, Christoph; Semjonow, Axel; Hertle, Lothar

**Patientengefährdung durch unterschiedliche
Meßverfahren für PSA**

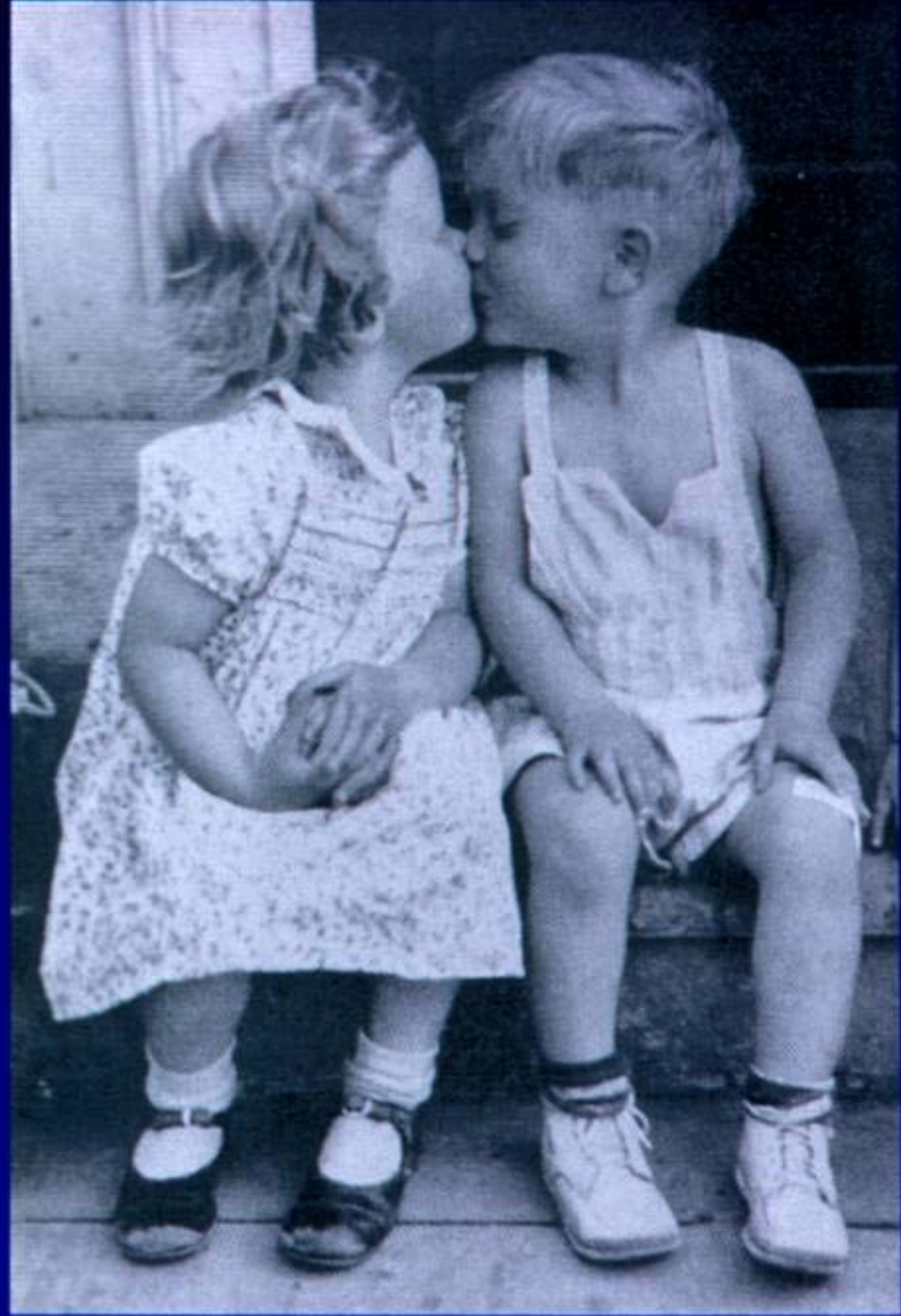


Assay Unterschiede

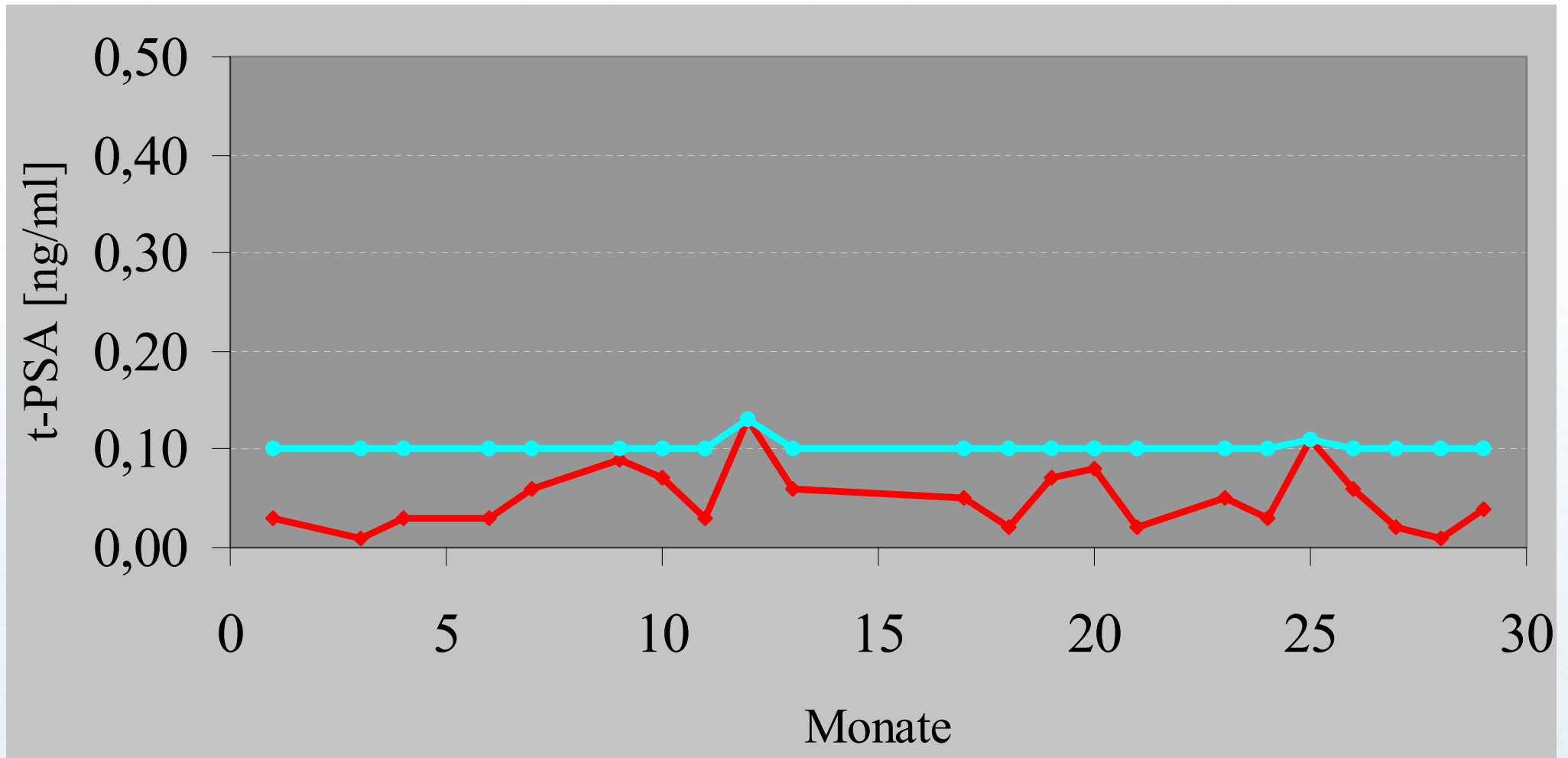
- Antikörper
- Kalibrierung
- Assay-Dynamik:
Equilibrium?
- Equimolarität

**Nicht
vergessen:**

**Kontakt
zum Labor
halten!**



Varianz ohne PSA Anstieg



Individuelle Varianz ca. 20% + analytischer Varianz ca. 10%

Signifikanter Markeranstieg/-abfall erst bei 30-50%



Aasee

Area: 40 Hektar

Depth: $\varnothing$ 2 m

= 8×10^8 Liter

PSA Assay

lower limit of detection

$\leq 0,01 \text{ ng/ml} = 10^{-8} \text{ g/l}$

Cube sugar 2 g:



**Patient
Stress
Amplifier**

Eigenschaften und Einsatzgebiete von Tumormarkern

Anzahl
Tumorzellen

10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
10^6
10^7
10^8
10^9
10^{10}
10^{11}
10^{12}
10^{13}

Transformation

Tumor (CA) in situ

Ausbreitungsphase

Generalisierter
Tumor

Langes, unsichtbares Stadium
(Monate bis viele Jahre)

Klinische Manifestation

1g/1cm
Tumor- Masse
1 kg
10 kg

biochemische
oder immunologische
Methoden

bio-
physikalische
Methoden

Erkennen des Tumors
durch:

Hohe Sensitivität!

Korrelation mit der Entstehung, dem Wachstum und der Therapie-bedingten Verkleinerung eines Tumors

Diagnostische Sensitivität:
(richtig Testpositive /Kranken

Frühstadium: 10-30%

Manifest: 30-50 %

Disseminierte: 70-90%

Die untere Nachweisgrenze klinischer und physikalischer Methoden (Radiologie, Endoskopie, Computertomographie, Kernspintomographie) liegt bei einer Tumormasse von 10^9 Zellen. Mit immunchemischen und biologischen Systemen ist es möglich geworden, Tumoren schon ab ca. 10^6 Zellen nachzuweisen.

Lead-Time kumulativ CA 15-3



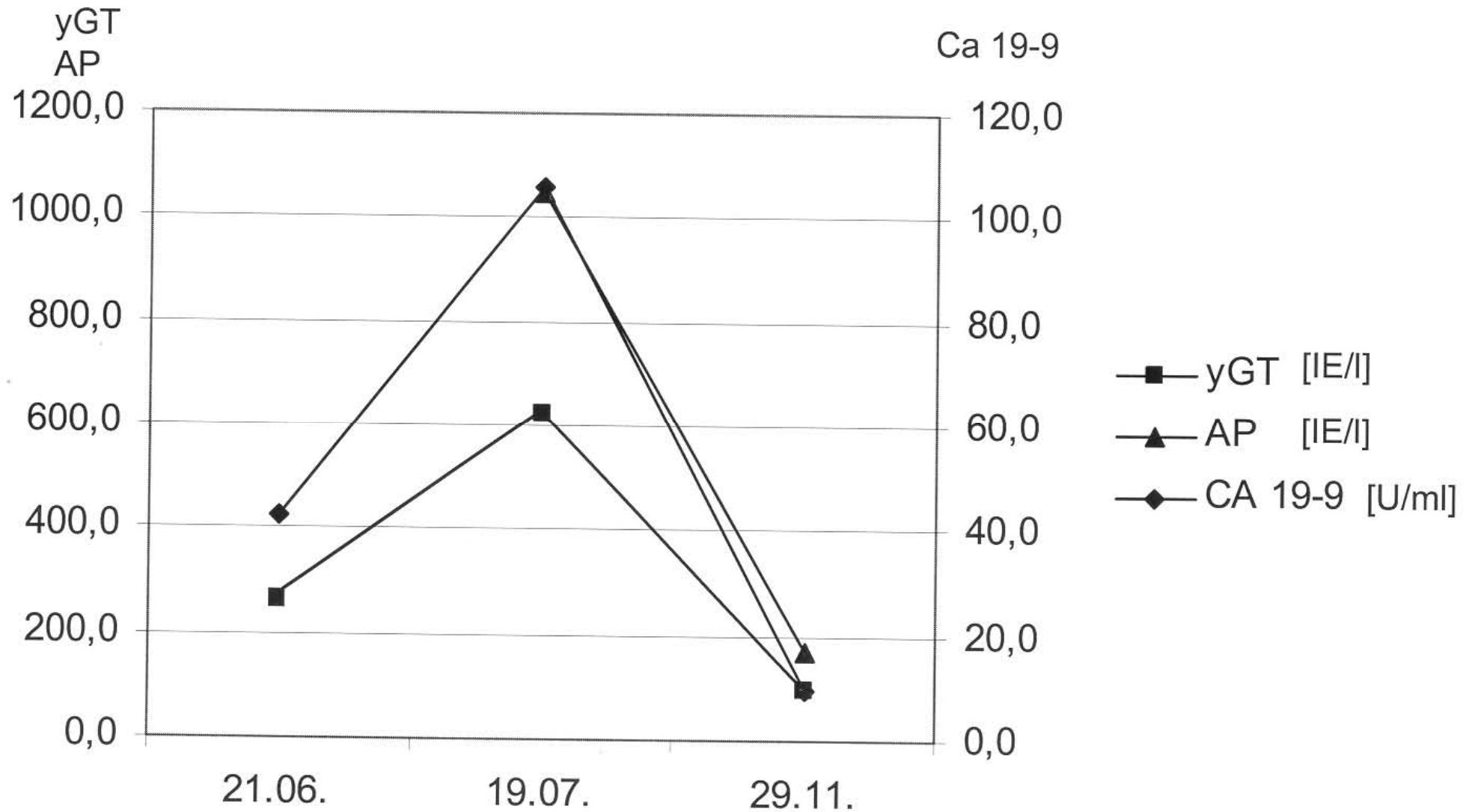
(n=42)

Störeinflüsse bei der Bestimmung von Tumormarkern

1) Benigne Erkrankungen	- Erhöhte Werte häufig auch bei Leberzirrhose, Cholestase, Niereninsuffizienz
2) Schwangerschaft	- Grenzwertige bzw. erhöhte Werte von AFP, HCG, CA 125
3) Palpation der Prostata sowie rektale Untersuchungen	Erhöhungen von PSA
4) Raucher	Höhere CEA-Werte (bis 10 µg/l)
5) Cholestase	CA 19-9 erhöht
6) Lewis a/b-negative Patienten (3-10 % der Bevölkerung)	CA 19-9 im Referenzbereich
7) Hämolyse (Zentrifugation innerhalb einer Stunde)	Erhöhte NSE-Werte

In-vivo Einflussgrößen: Tumormasse,-invasion,-vaskularisierung

Verlauf chron. Pankreatitis mit Cholestase



Der ideale Tumormarker

- Hohe Sensitivität
- Hohe Spezifität
- Unterstützung bei der Therapieentscheidung
- Gute Organspezifität
- Korrelation mit Tumormasse und -stadium
- Prognostische Aussage

Screening mit Tumormarker

Kein Tumormarker ist geeignet (zu geringe Sensitivität und Spezifität, zu geringe Prävalenz)

Screening von Risikogruppen:

AFP (Leberzirrhose)

PSA (Männer > 50Jahre)

Calcitonin/RET-Onkogen: familiäres Schilddrüsenkarzinom

Carcinoembryonales Antigen (CEA)

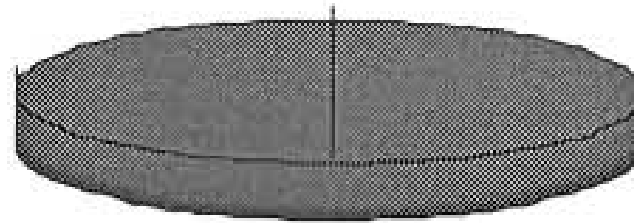
- embryonales Zelloberflächenantigen der kolorektalen Schleimhaut und Magenschleimhaut
- 180 kDa Glykoprotein (50-60% Kohlenhydratanteil)
- auch postnatal in geringen Mengen exprimiert
- CEA-ähnliche Antigene können mit einigen Anti-CEA-AK kreuzreagieren, deshalb Verwendung monoklonaler AK empfohlen
- Indikation: Verlaufskontrolle bei:
Kolorektalem Karzinom, Pankreaskarzinom,
Magenkarzinom, Mammakarzinom, Bronchialkarzinom
- Referenzbereich:
 < 5 µg/l (Nichtraucher)
 < 10 µg/l (Raucher)

Screening von Kolonkarzinomen mit CEA



Prävalenz: 100/200.000 (0,05%)

100 Kolonkarzinome



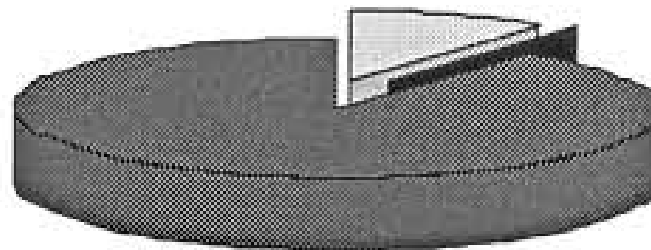
199.900
Gesunde

CEA-Test (5 µg/L): Diagn. Sensitivität 20%, Diagn. Spezifität 95%

20 richtig
positiv

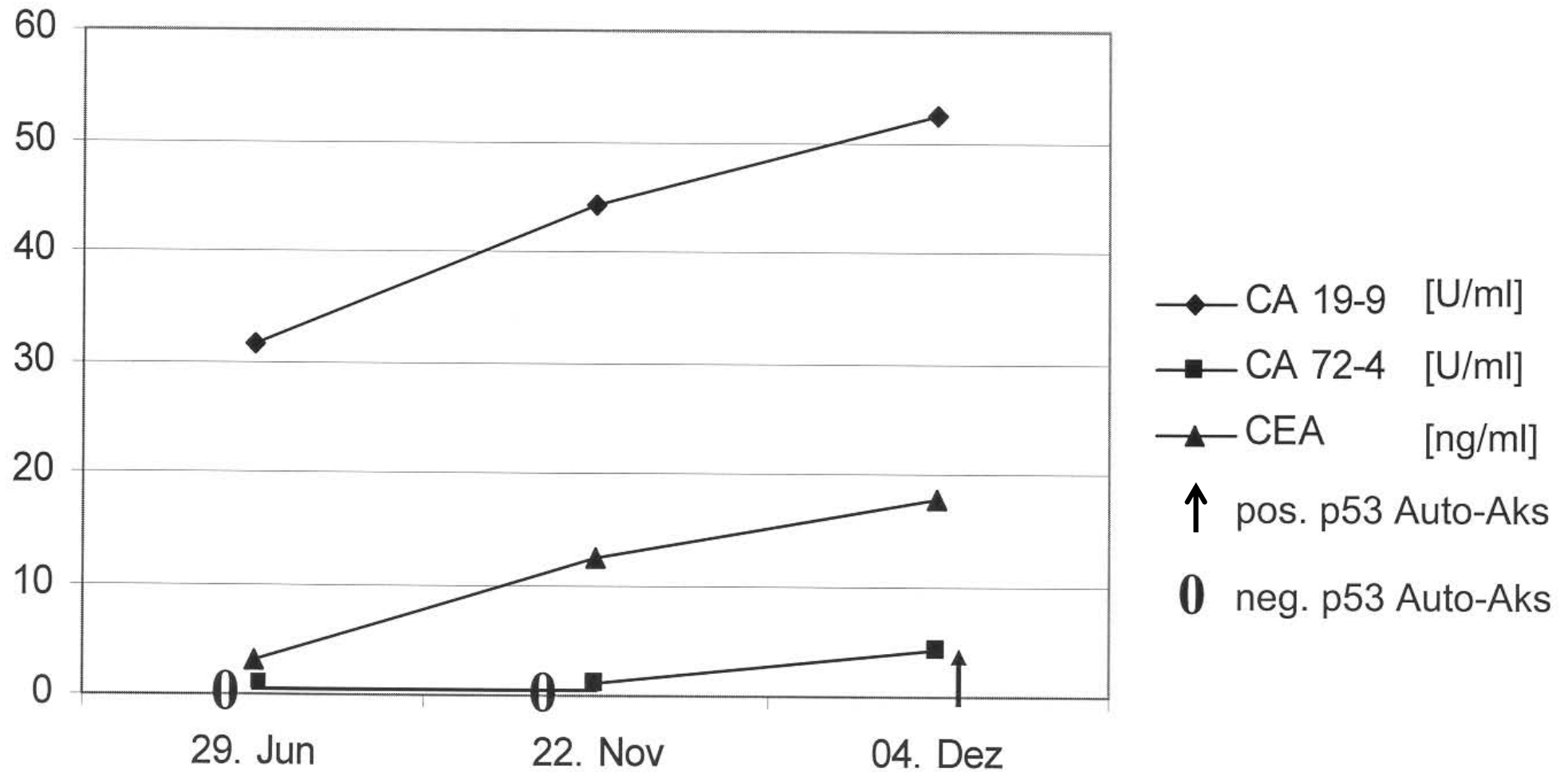
10.000 falsch
positiv

80 falsch
negativ



189.900
richtig negativ

Colitis ulcerosa- Übergang zum Kolonkarzinom



Tumorlokalisation

Meist unbrauchbar

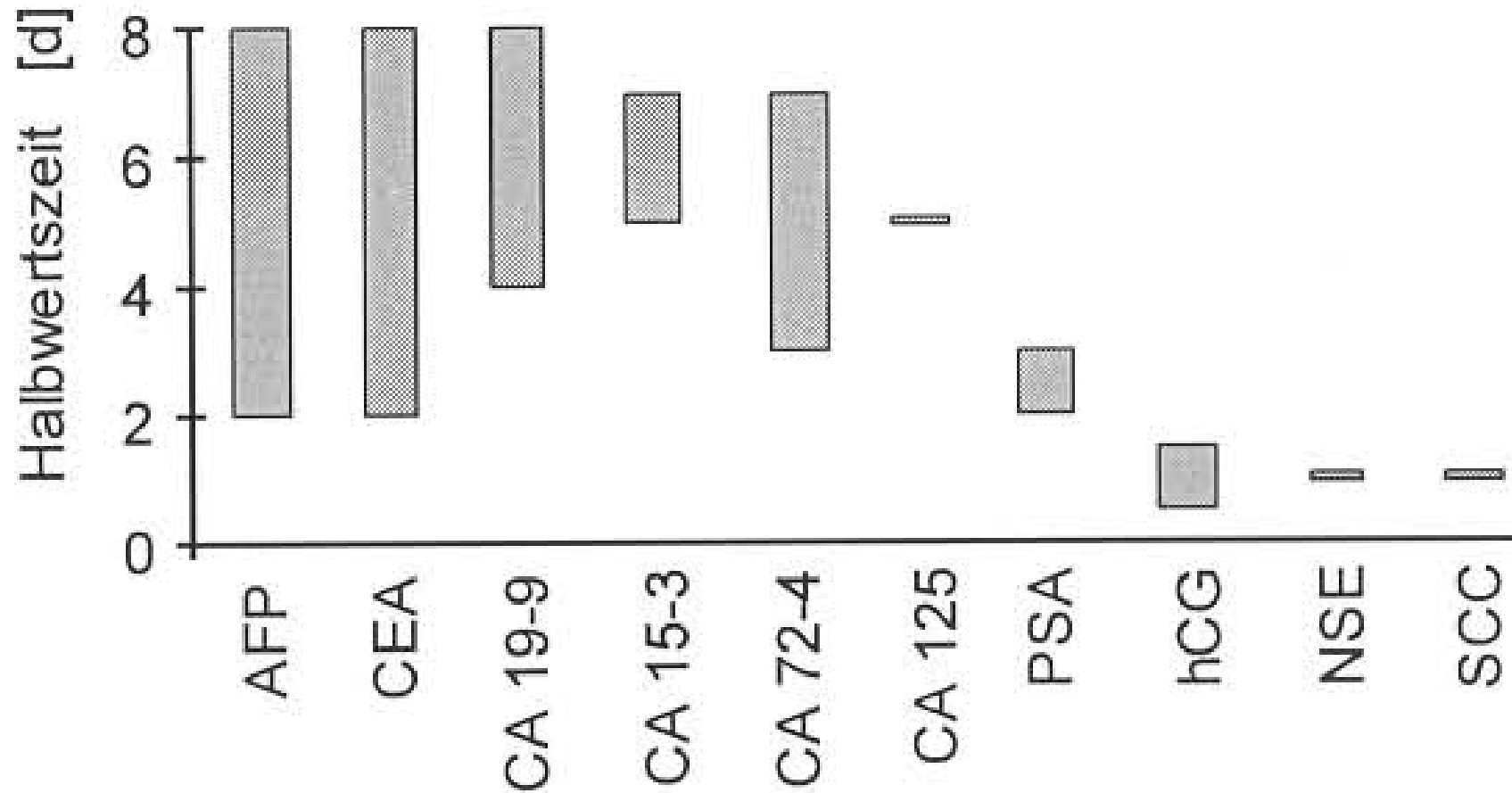
Ausnahme:

- PSA
- Thyreoglobulin
- Pro GRP (Pro Gastrin Releasing Peptide)

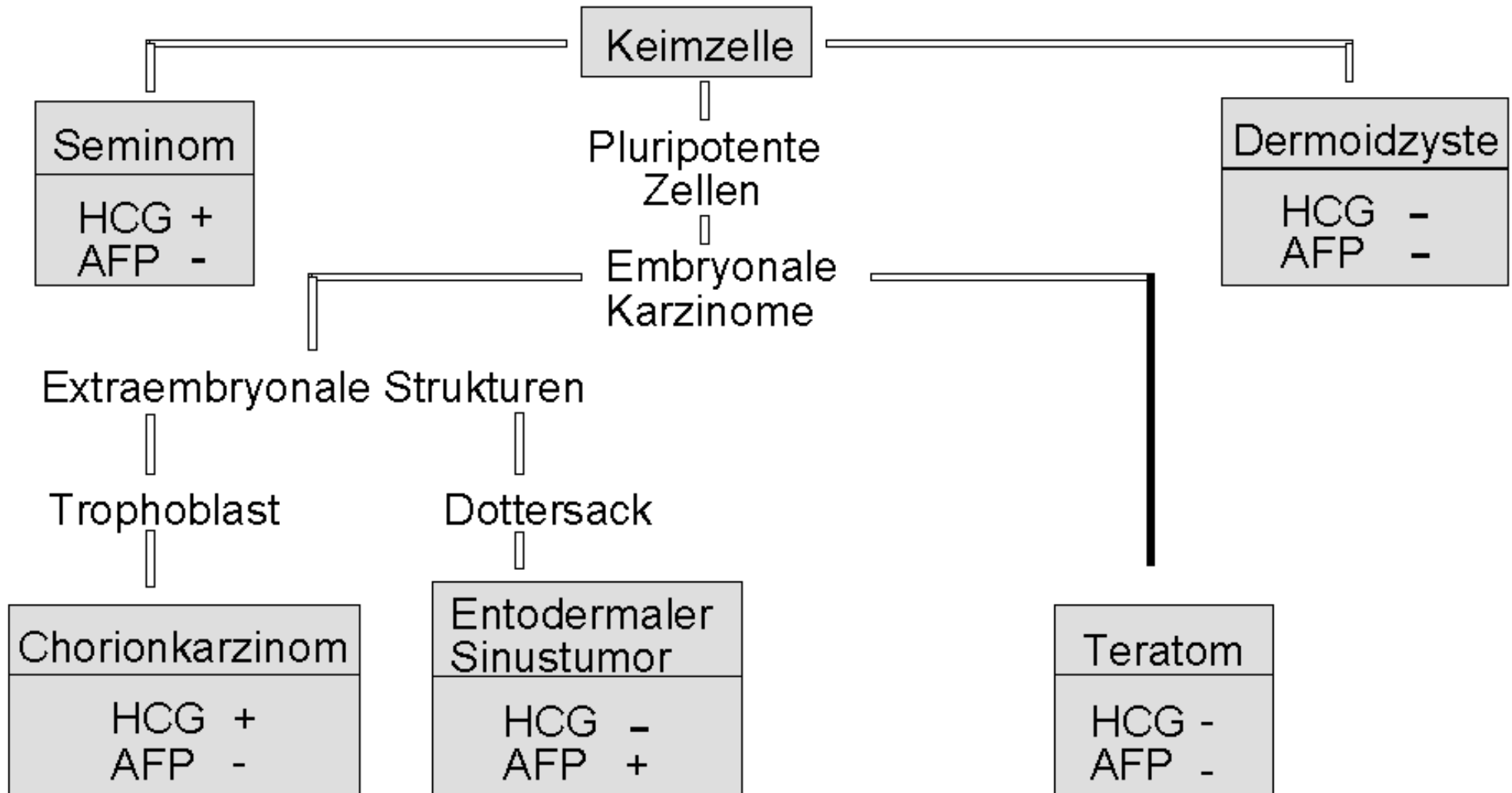
Wann?

- Vor Therapiebeginn (erhebliche Unterschiede im individuellen Ausgangswert)
- Nach Therapieende
 - Nach 3-24d (3 HWZ)
 - 3-monatlich (1+2 Jahr)
 - Halbjährlich (3-5 Jahr)
- Vor Therapiewechsel
- Bei Rezidivverdacht
- Bei Wiederanstieg nach 2-4 Wochen

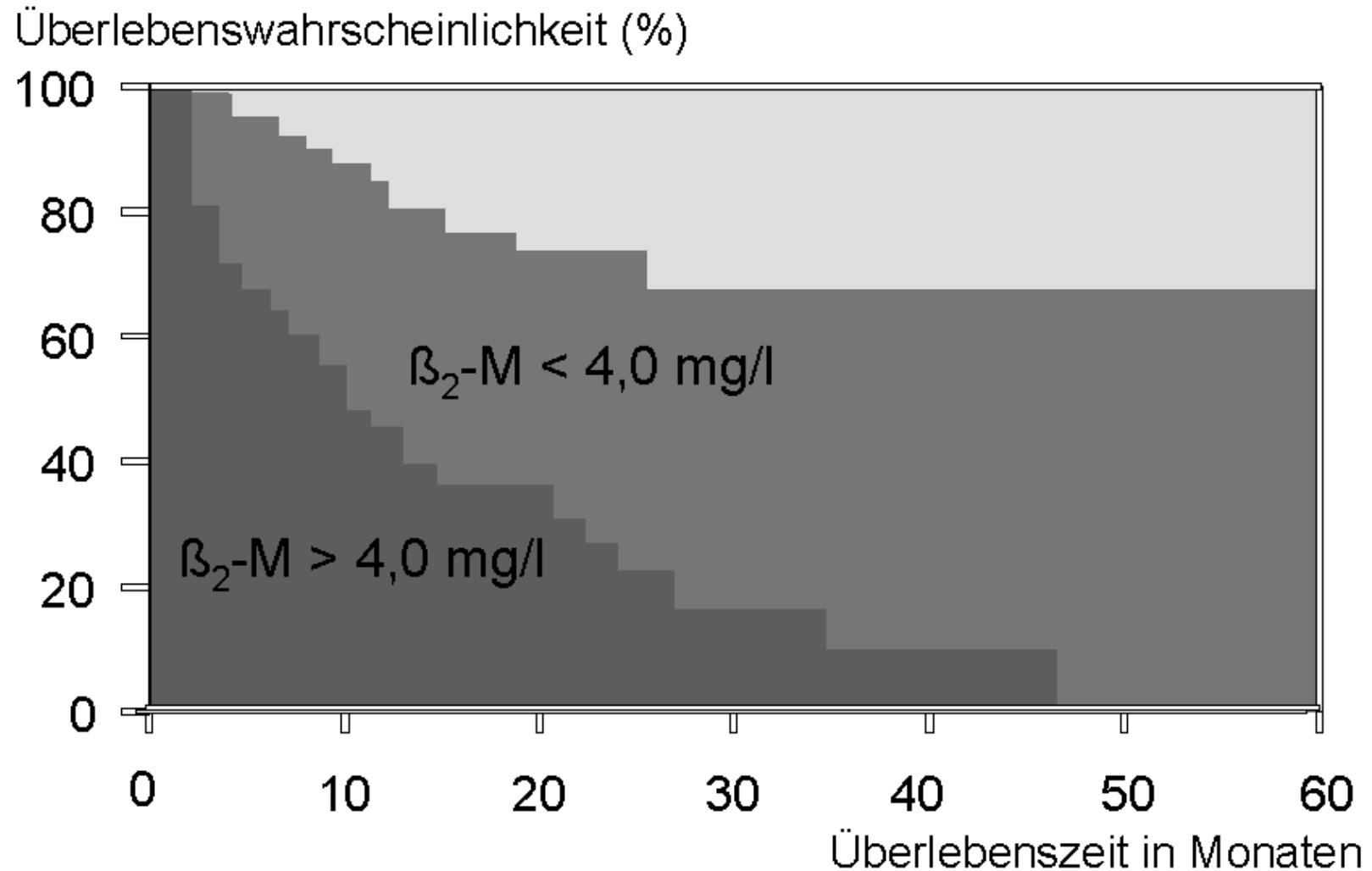
Halbwertszeiten



Differentialdiagnostik von Keimzelltumoren



Prognosemarker



β_2 -Mikroglobulin

☐ Biochemie:

- 11,8 kDa Protein
- leichte Kette der HLA Klasse I-Antigene

☐ Indikation:

- Verlaufskontrolle und Prognose bei malignen lymphoproliferativen Erkrankungen (z. B. NHL, M. Hodgkin, CLL)
- Nierendiagnostik (tubulärer Marker)
- bei AIDS

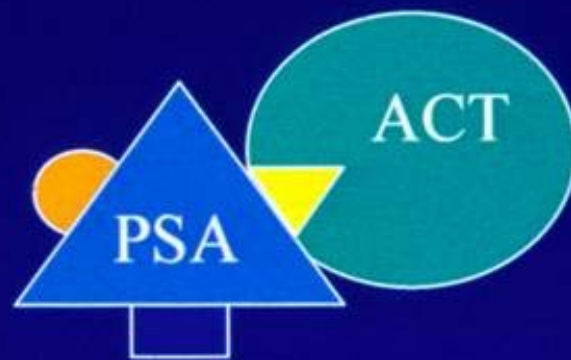
☐ Bemerkungen:

- Nierenfunktion beachten
- ZNS-Befall bei Leukämien führen zu erhöhten Liquorwerten

PSA-Fraktionen



Freies PSA



PSA-ACT

ACT $\Rightarrow$ α_1 -antichymotrypsin



PSA- α_2 M

α_2 M = α_2 -Makroglobulin

 = Bindungsstellen für Antikörper

Krebswahrscheinlichkeit

basierend auf PSA und % f-PSA

(Männer mit unverdächtigem Tastbefund, jedes Alter)

PSA	Krebswahrscheinlichkeit
0-2 ng/ml	1 %
2-4 ng/ml	15 %
4-10 ng/ml	25 %
> 10 ng/ml	> 50 %

% f-PSA	Krebswahrscheinlichkeit
0-10 %	56 %
10-15 %	28 %
15-20 %	20 %
20-25 %	16 %
> 25 %	8 %

Treffsicherheit PSA / Tastbefund / TRUS

nur PSA > 4



6

nur DRU auffällig



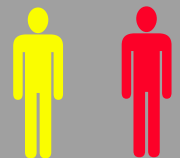
13

nur TRUS auffällig



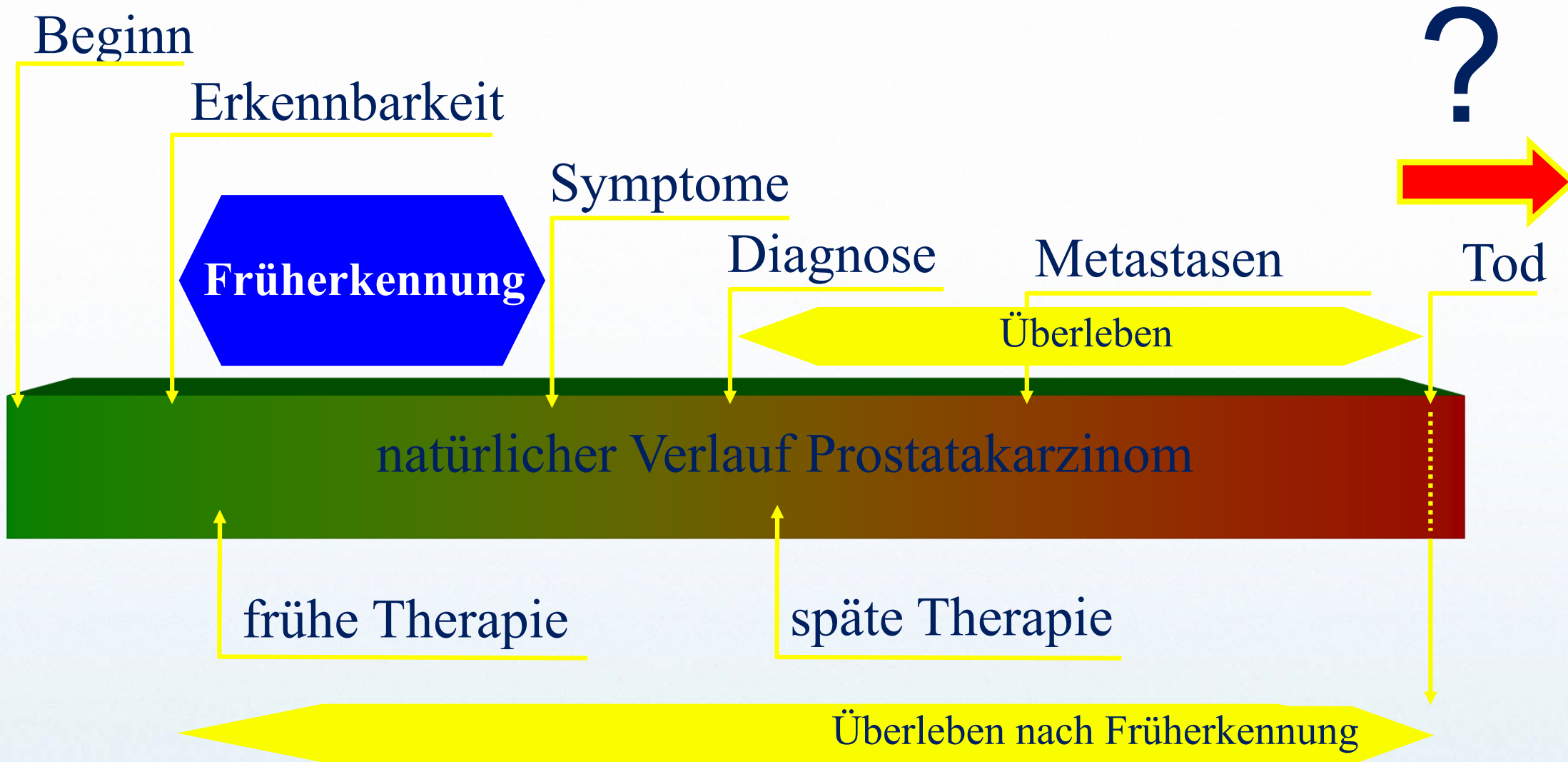
16

PSA & DRU auffällig



PSA & DRU & TRUS auffällig

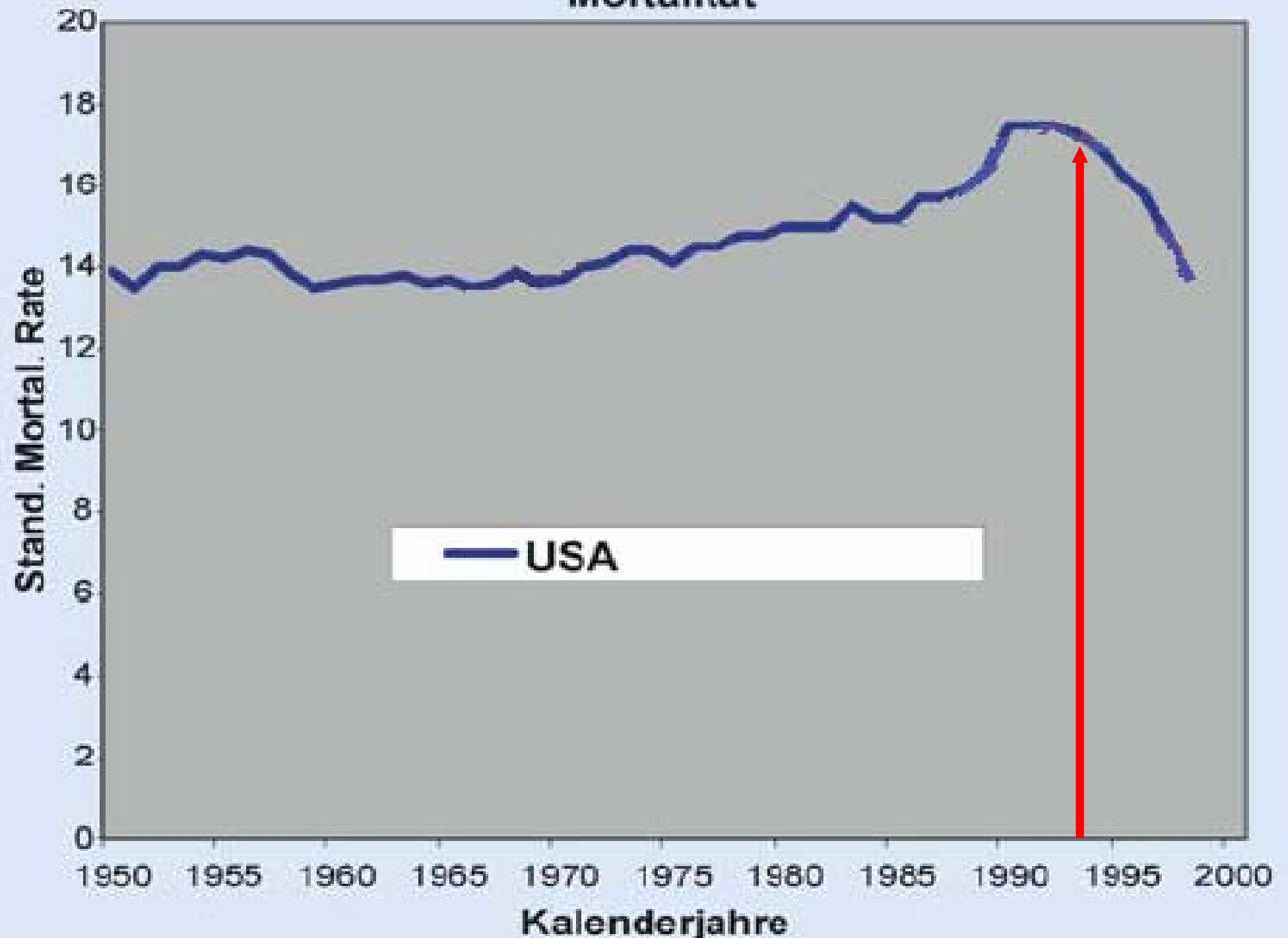




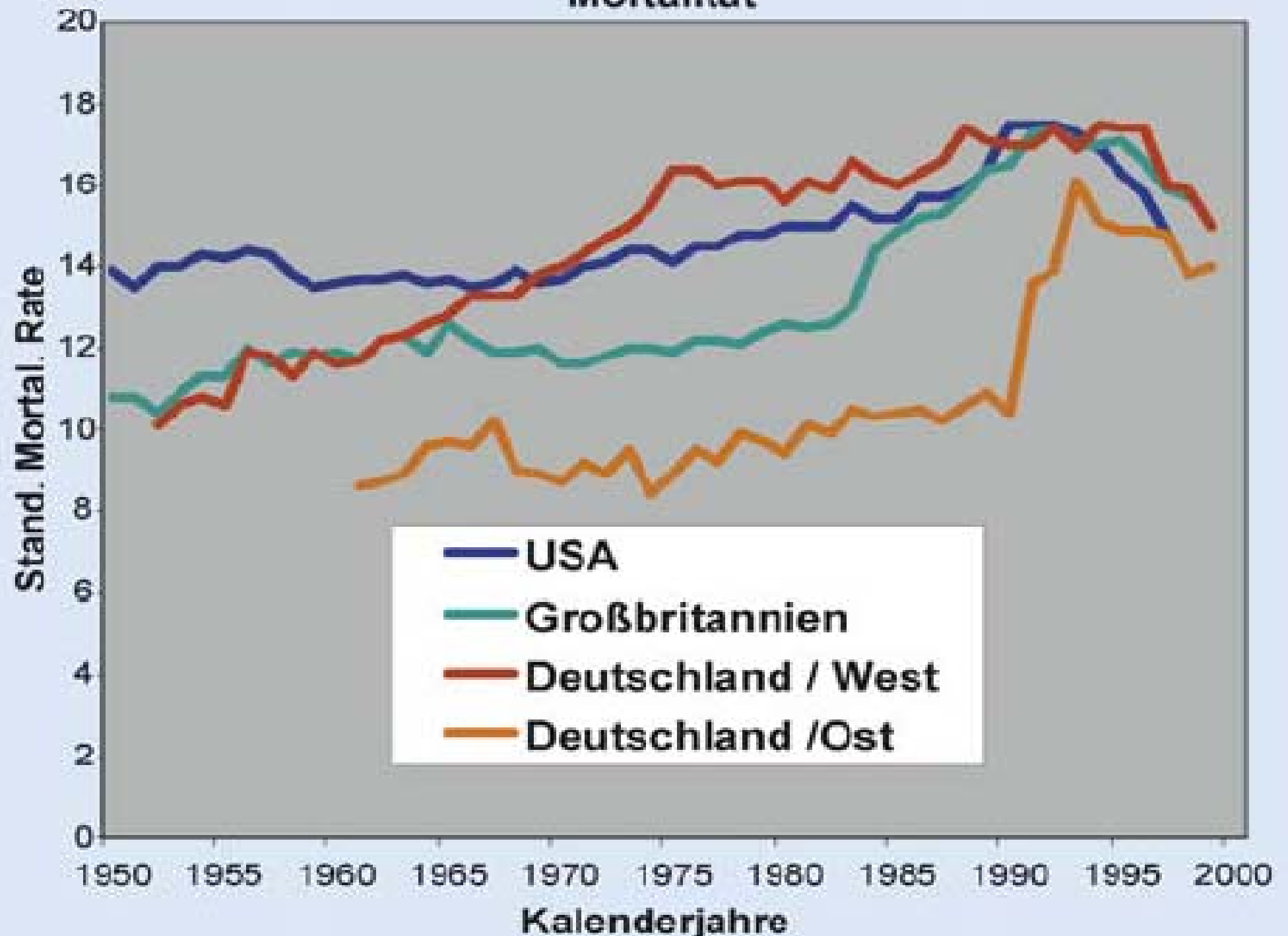
Mortalität



Mortalität



Mortalität





PSA-basierte
Früherkennung
senkt Mortalität
um 20%.

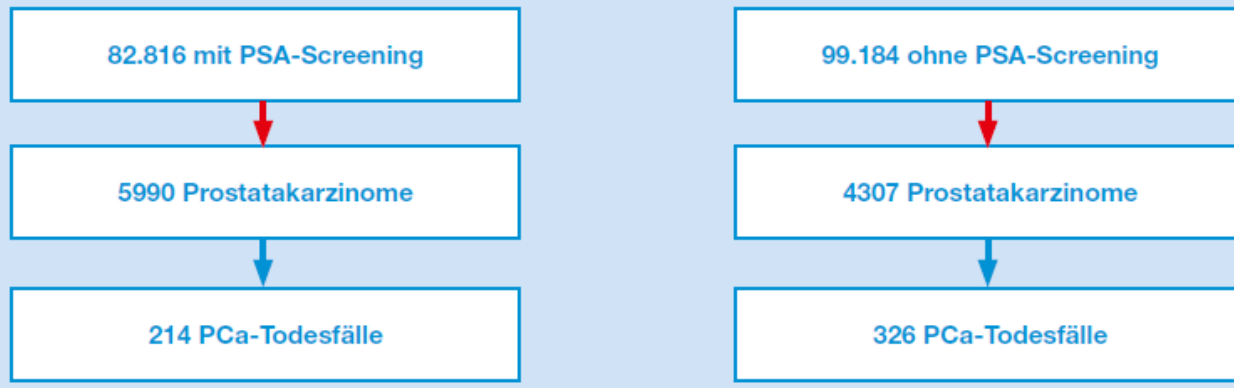


Abb. 1: Im PSA-Früherkennungsarm der ERSPC-Studie wurden 5990 Prostatakarzinome diagnostiziert und es wurden 214 Todesfälle am Prostatakarzinom registriert. Im Arm ohne gezielte Früherkennungsmaßnahmen wurden 4307 Prostatakarzinome diagnostiziert und 326 Todesfälle am Prostatakarzinom beobachtet.

Nur ca. 23% der Patienten
sterben an den Folgen des
Prostatakarzinoms

rechnerisch kommen in der ERSPC-Studie auf jeden vermiedenen Prostatakarzinom-Todesfall 48 Männer, die therapiert werden mussten. Das Resümee der Autoren der Studie lautet daher auch: „Obwohl die Ergebnisse unserer Studie auf eine Verminderung der Prostatakarzinom-Mortalität in Verbindung mit PSA-Früherkennung hinweisen, müssen bei der Einführung populationsbezogener Früherkennungsmaßnahmen [...] Überdiagnose, Übertherapie, Lebensqualität, Kosten und Kosteneffektivität in Betracht gezogen werden.“ Ähnliche Ergebnisse

Therapie-Steuerung am Beispiel des Mamakarzinoms

Faktoren der Progression von Tumoren

Normalzelle

Östradiol

Onkogen-
rezeptoren
z.B. c-erbB-2,
EGFR

Tumor-
suppressoren
z.B. p53

Karzinomzelle

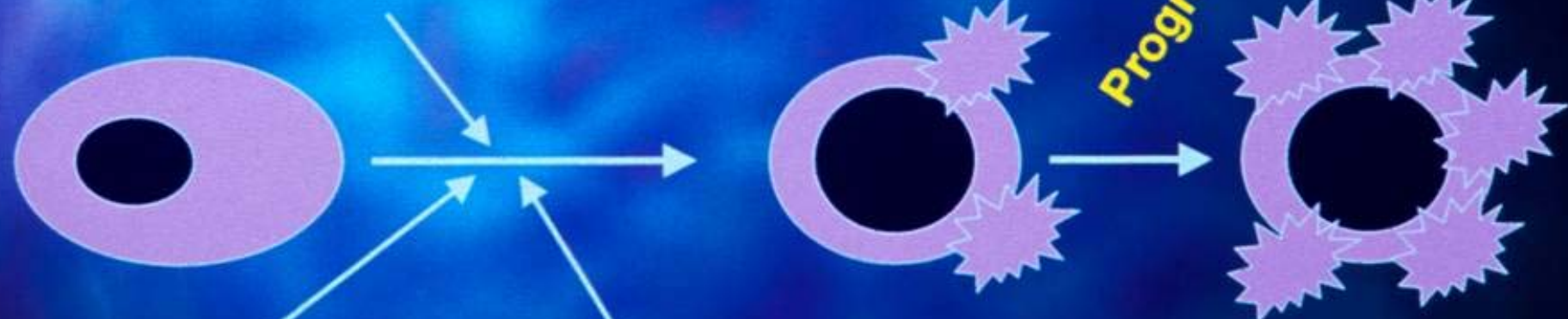
ER+

hormon-
abhängig

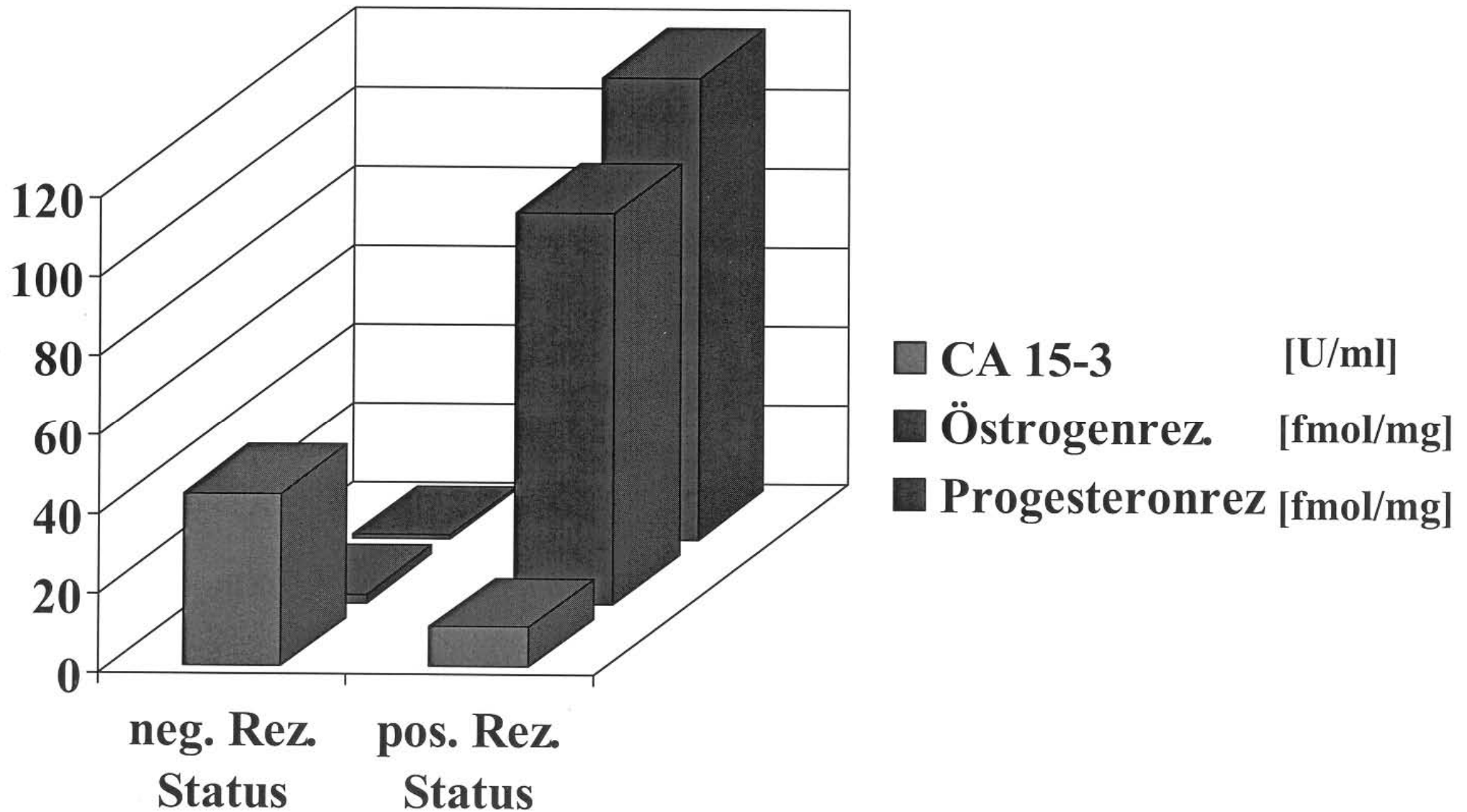
ER-

hormon-
unabhängig

Progression



Östrogen- und Progesteronrezeptor-Status



Trastuzumab (Handelsname: Herceptin)

- Monoklonaler Antikörper gegen den Wachstumsrezeptor Her2 (Humaner Epidermaler Wachstumsfaktor Rezeptor)
- Überexpression von Her2 bei etwa jeder vierten Brustkrebspatientin
- Durch Bindung kommt es zur Hemmung der Tumorzellproliferation

Genetische Analytik

Tumorsuppressor p53

- ❑ Aktivierung von p53 durch DNA-Schädigungen



Zellzyklus-Arrest

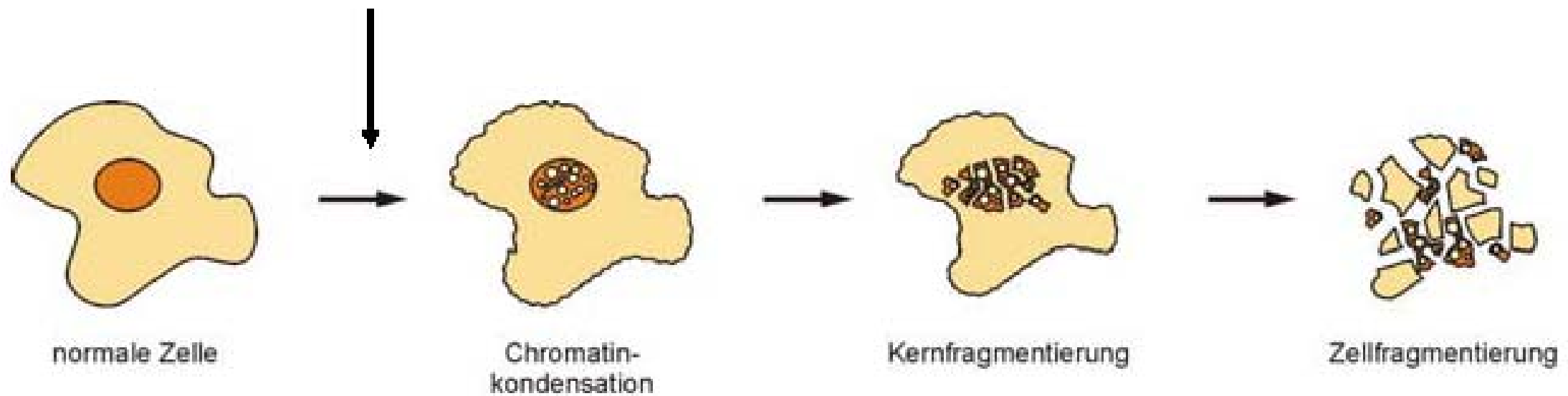
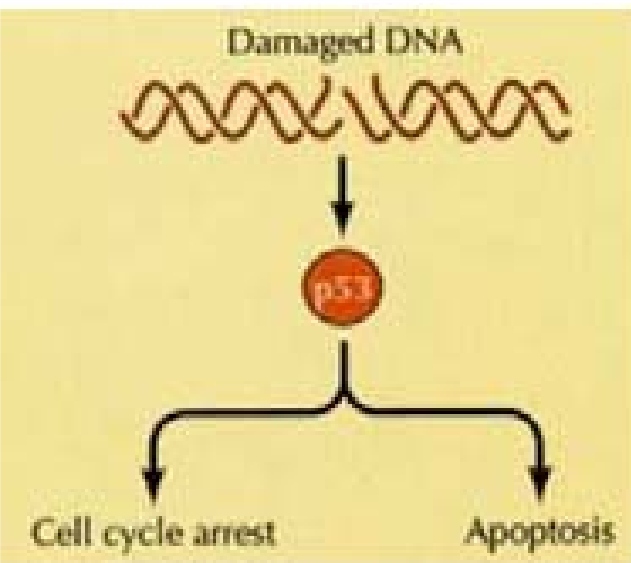
Anschalten von DNA-Repair-Mechanismen

Induktion von Apoptose

- ❑ p53 Mutationen gehören zu den häufigsten Mutationen bei humanen malignen Tumoren,
- ❑ Viele p53 Mutationen führen zu einer Stabilisierung und Akkumulation des Proteins



Autoantikörper (20% bei Mamma- und Lungenkarzinomen)



Defekte DNA-Reparatursysteme

Erkrankung	Empfindlichkeit	Tumorbildung
Ataxia telangiectatica	γ -Bestrahlung	Lymphome
Bloom-Syndrom	schwach alkylierende Substanzen	Karzinome, Leukämien, Lymphome
Cockayne-Syndrom	UV-Strahlen	
Fanconi-Anämie	vernetzende Wirkstoffe	Leukämien
★ hereditäres nichtpolypöses Colonkarzinom	UV-Strahlen, chemische Mutagene	Colon- und Ovarialkarzinom
★ Xeroderma pigmentosum	UV-Strahlen, chemische Mutagene	Hautkarzinome einschließlich Melanom



Xeroderma pigmentosum

Leitsymptome: Hautatrophie, Hyperkeratosen, Cornea-Ulzerationen, multiple Hauttumoren

Krebsgene

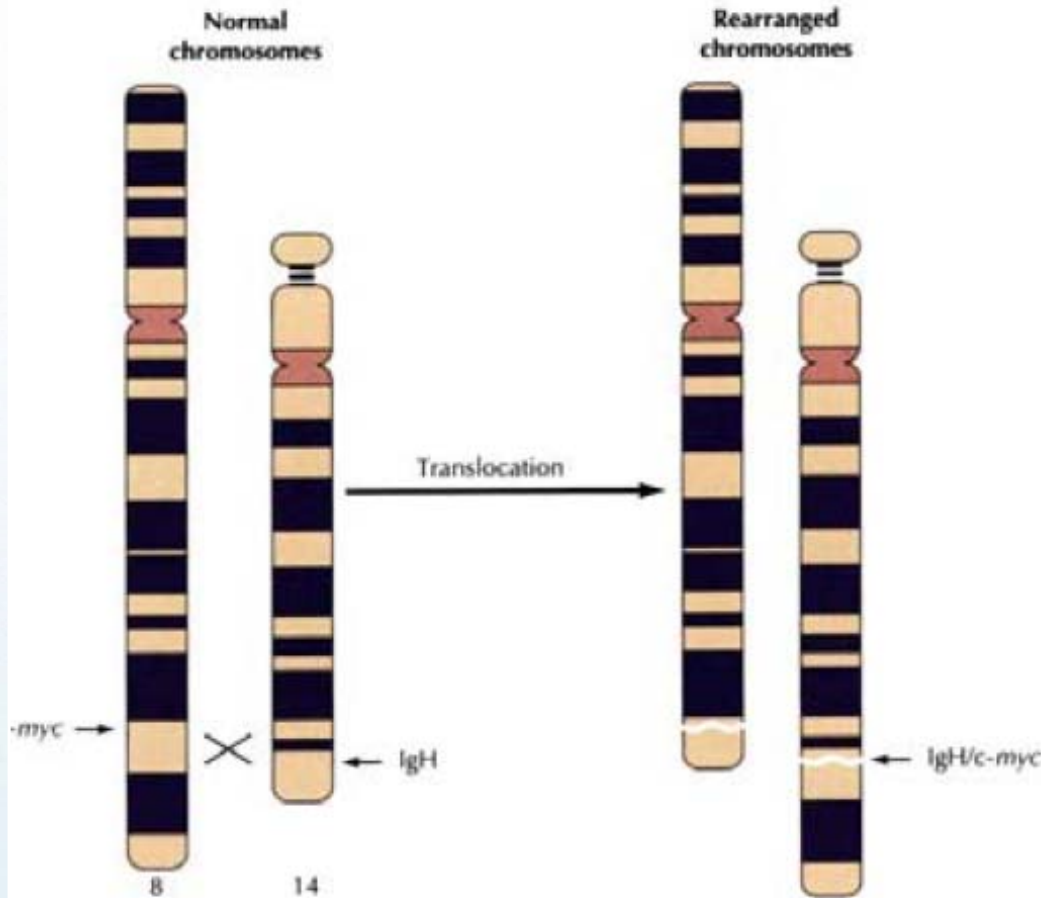
Onkogene: Komponenten zellulärer Signalkaskaden wie z.B. Wachstumsfaktoren, Rezeptoren, Signalverstärker, Transkriptionsfaktoren

Tumorsuppressorgene: Komponenten zellulärer Signalkaskaden, die über Zellzyklus, DNA-Reparatur und Apoptose wachen

Stabilitätsgene: sichern korrekte Chromosomenanordnung und -zahl („Euploidie“)

- Onkogene (Protoonkogene)
- Tumorsuppressorgene
- Stabilitätsgene

Chromosomale Translokation (Burkitt-Lymphom)



Transkriptionsfaktor Myc gerät unter die Kontrolle des IgH-Promotors:
unkontrollierte Überexpression

Medizin

Leberkrebs: Test erkennt Krebszellen im Blut

Dienstag, 24. Januar 2017

Boston – US-Forscher haben einen Test entwickelt, der im Blut zirkulierende Krebszellen anhand der in ihnen enthaltenen RNA erkennt. Ein erstes Einsatzgebiet könnte laut einer Studie in den *Proceedings of the National Academy of Sciences* (2017; doi: 10.1073/pnas.1617032114) das hepatozelluläre Karzinom sein.

Proteomics

Pankreaskarzinom: Neuer Biomarker könnte Früherkennung ermöglichen

Donnerstag, 25. Juni 2015

Houston – Der Nachweis von sogenannten Exosomen könnte der lang gesuchte **Tumormarker** zur Früherkennung des Pankreaskarzinoms sein, wie vielversprechende Ergebnisse eines internationalen Forscherteams in *Nature Genetics* (2015; doi: 10.1038/ng.3341) zeigen.

Exosomen sind kleine Membranvesikel, die von allen Zellen des Körpers freigesetzt werden und die nach einer Ultrazentrifugation des Serums im Blut nachweisbar sind. Sie enthalten Proteine und Nukleinsäuren, die Auskunft über ihre Herkunft geben. Die Zellen des duktaalen Pankreaskarzinoms und seiner Vorstufen enthalten das Protein Glypican-1 (GPC-1), das sich möglicherweise als **Tumormarker** eignet.

Zusammenfassung

- Hauptindikation ist Therapieerfolgs- & Verlaufskontrolle
- Zeigt frühzeitig ein Rezidiv an (hohe Sensitivität, schlechte Spezifität)
- Kein Screening im Normalkollektiv
- Kontrolle von Risikogruppen (u.a. Leberzirrhose, Schilddrüsenkarzinom)
- Prognostische Aussagen
- Differentialdiagnose (Keimzelltumore)
- Keine Tumorlokalisation (Ausnahmefälle)
- Entnahmezeit beachten (individuelle Werte, Primärdiagnose, Halbwertsz.)
- Methodenabhängigkeit
- große Hoffnung in neue Methoden (Molekulardiagnostik, Proteomics)