

**Aus dem Institut für Klinische Chemie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
ehem. Vorstand: Prof. Dr. med. Dr. h.c. D. Seidel
Komm. Vorstand: Priv. Doz. Dr. M. Vogeser**

**Das HER-2/neu-Shed Antigen beim
Mammakarzinom zum Zeitpunkt der
Primärdiagnose**

Dissertation

**zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

Vorgelegt von

Marie Dresse

aus Starnberg

2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. h. c. D. Seidel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Rüdiger Baumeister
Priv.Doz. Dr. Hans-Joachim Stemmler

Mitbetreuung durch die
promovierte Mitarbeiterin: Frau Dr. med. Petra Stieber

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 12.11.2009

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
1.1	Das Mammakarzinom.....	1
1.1.1	Epidemiologie	1
1.1.2	Pathologische Grundlagen.....	2
1.1.2.1	Histologie	2
1.1.2.2	Stadieneinteilung.....	3
1.1.3	Diagnostik und Therapie	5
1.1.4	Prognose	7
1.1.5	Zirkulierende Tumormarker	7
1.2	Das HER-2/neu Onkogen.....	9
1.2.1	Struktur und Funktion	9
1.2.2	Bestimmungsmethoden	10
1.2.3	Klinische Relevanz.....	11
1.2.4	Shedding.....	12
1.3	Fragestellung.....	13
2	MATERIAL UND METHODEN	14
2.1	Studienpopulation	14
2.1.1	Gesundes Kontrollkollektiv.....	14
2.1.2	Rezidivfreies Kontrollkollektiv (NED).....	14
2.1.3	Patientinnen.....	15
2.1.4	Subkollektive zur Evaluation der Prognose	19
2.1.4.1	Rezidivfreies Überleben	19
2.1.4.2	Gesamtüberleben.....	19
2.2	Pathologie: HER-2/neu-Gewebestatus	22
2.2.1	Immunhistochemie (IHC)	22
2.2.2	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH).....	23
2.3	Labormethoden	24
2.3.1	Blutproben.....	24
2.3.2	Bestimmung der Tumormarker	24
2.3.2.1	s-HER-2/neu.....	24
2.3.2.2	Cancer Antigen 15-3 (CA 15-3).....	24
2.3.2.3	Carcinoembryonales Antigen (CEA).....	25
2.4	Statistik.....	26

2.4.1	Werteverteilung.....	26
2.4.2	Signifikanzprüfung.....	26
2.4.3	Sensitivität/Spezifität	27
2.4.4	Prognose – univariate Analyse und Cut-off-Bestimmung	27
2.4.5	Prognose – multivariate Analyse: Cox'sches Regressionsmodell	28
2.4.6	Software	29
3	ERGEBNISSE	30
3.1	s-HER-2/neu-Werte bei Gesunden, rezidivfreien Frauen und Patientinnen....	30
3.1.1	Wertlagen des gesunden Kontrollkollektives.....	30
3.1.1.1	Abhängigkeit vom Geschlecht	30
3.1.1.2	Abhängigkeit vom Alter.....	31
3.1.2	Vergleich der Wertlagen von rezidivfreien Frauen und Patientinnen.....	32
3.2	Korrelation von s-HER-2/neu mit den gängigen Prognosefaktoren	34
3.2.1	Menopausenstatus	34
3.2.2	Tumorgröße (pT).....	35
3.2.3	Lymphknotenstatus (pN).....	36
3.2.4	UICC-Stadium.....	37
3.2.5	Grading.....	38
3.2.6	Hormonrezeptoren.....	39
3.3	Korrelation von s-HER-2/neu mit den Tumormarkern CA 15-3 und CEA.....	42
3.4	Korrelation von s-HER-2/neu mit dem HER-2/neu-Gewebestatus.....	43
3.4.1	Korrelation mit der Immunhistochemie	43
3.4.2	Korrelation mit Immunhistochemie und FISH.....	44
3.4.3	Sensitivität und Spezifität von s-HER-2/neu zur Vorhersage des HER-2/neu-Gewebestatus.....	46
3.5	Prognostische Relevanz des HER-2/neu-Shed Antigens.....	48
3.5.1	Rezidivfreies Überleben.....	48
3.5.1.1	Univariate Analyse	48
3.5.1.2	Multivariate Analyse	63
3.5.2	Gesamtüberleben, M0	64
3.5.2.1	Univariate Analyse.....	64
3.5.2.2	Multivariate Analyse	74
4	DISKUSSION	75
5	ZUSAMMENFASSUNG	93

Inhaltsverzeichnis

6	LITERATURVERZEICHNIS.....	95
7	ANHANG.....	110
7.1	Abbildungsverzeichnis	110
7.2	Tabellenverzeichnis	113
7.3	Wissenschaftliche Beiträge	115
7.4	Danksagung	116

1 EINLEITUNG

1.1 Das Mammakarzinom

1.1.1 Epidemiologie

Mit einer Inzidenz von über 1,1 Millionen Neuerkrankungen pro Jahr ist das Mammakarzinom die häufigste maligne Erkrankung weltweit [1]. In Deutschland werden jährlich über 55000 Frauen mit der Diagnose Brustkrebs konfrontiert, bei der derzeitigen Einwohnerzahl bedeutet dies, dass etwa jede 10. Frau in ihrem Leben daran erkrankt. Dabei sind mit einem mittleren Erkrankungsalter von etwa 62 Jahren im Vergleich zu den Krebserkrankungen insgesamt besonders viele jüngere Frauen betroffen.

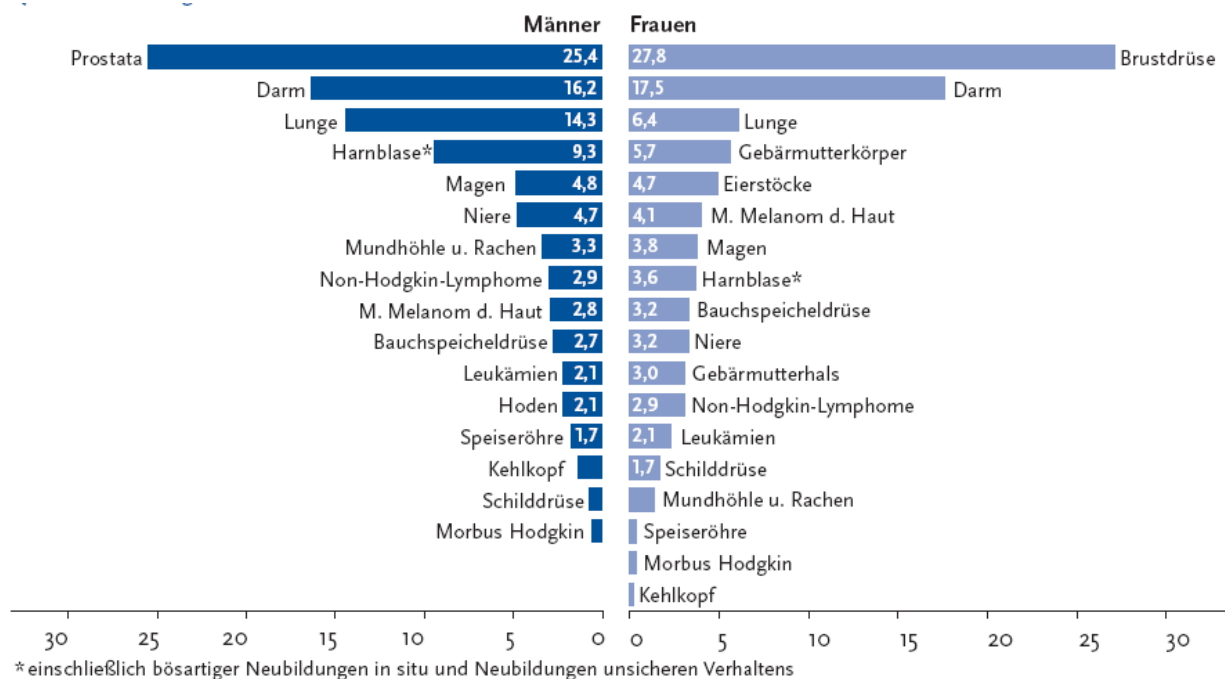


Abbildung 1: Prozentualer Anteil ausgewählter Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen ohne nicht-melanotischen Hautkrebs in Deutschland 2004. Aus: [2]

Auch bei der malignombedingten Mortalität von Frauen nimmt das Mammakarzinom den ersten Rang ein: es ist für etwa 18 % der Krebssterbefälle verantwortlich [2]. Bei Frauen im Alter zwischen 35 und 45 Jahren ist es die häufigste Todesursache überhaupt [3].

Die Ätiologie des Mammakarzinoms ist zwar nicht im Detail geklärt, es sind aber einige Faktoren bekannt, die die Entstehung eines malignen Brustdrüsentumors begünstigen (Tabelle 1). Dabei spielen neben dem Alter vor allem hormonelle Einflüsse, wie beispielsweise eine

Einleitung

frühe Menarche und eine späte Menopause, sowie genetische Voraussetzungen eine Rolle, was sich in einem erhöhten Erkrankungsrisiko bei Verwandten von Brustkrebspatientinnen widerspiegelt [4]. Eine Keimbahnmutation der mit dem Mammakarzinom assoziierten Tumorsuppressorgene BRCA1 und BRCA2, die bei den betroffenen Frauen mit bis zu 80%iger Wahrscheinlichkeit und in jungem Alter zur Erkrankung führt, ist allerdings nur bei etwa 5% der Patientinnen vorhanden [5].

Risikofaktor	Relatives Risiko
Alter (≥ 50 vs. < 50 Jahre)	6,5
familiäre Belastung	
Verwandte ersten Grades	1,4-13,6
Verwandte zweiten Grades	1,5-1,8
Alter bei Menarche (< 12 vs. ≥ 14 Jahren)	1,2-1,5
Alter bei Menopause (≥ 55 vs. < 55 Jahre)	1,5-2,0
Alter bei der ersten Lebendgeburt (> 30 vs. < 20 Jahre)	1,3-2,2
Benigne Erkrankung der Brust (Biopsie)	1,5-1,8
Hormonersatztherapie	1,0-1,5

Tabelle 1: Etablierte Risikofaktoren für das Mammakarzinom. Nach: [4]

1.1.2 Pathologische Grundlagen

1.1.2.1 Histologie

Die dem Mammakarzinom zugrunde liegende neoplastische Transformation der Epithelzellen entsteht meist im Bereich der terminalen duktulo-lobulären Einheiten des Brustdrüsenparenchyms. Histologisch lassen sich dabei die invasiven Mammakarzinome von den nicht-invasiven Formen unterscheiden, bei denen die dem Drüsenepithel anliegende Basalmembran noch intakt ist. Entsprechend ihrer zellulären Differenzierung werden sie als duktales (DCIS) bzw. lobuläres Carcinoma in situ (LCIS) bezeichnet. Sie machen etwa 10-20% der Mammakarzinome aus und gelten als Vorläuferläsion des invasiven Karzinoms. Bei den invasiven Mammakarzinomen handelt es sich in den meisten Fällen um invasiv-duktales (40-75%) und invasiv-lobuläres (5-15%) Karzinome, nur selten finden sich andere Tumortypen wie das medulläre, tubuläre, muzinöse oder papilläre Mammakarzinom.

Einleitung

Neben dieser Klassifikation nach Zelltyp wird dem Mammakarzinom je nach Ausprägung von Tubulusbildung, Kernpolymorphie und Mitoserate ein Differenzierungsgrad G zugeordnet (siehe Tabelle 2).

Grading (nach Elston und Ellis)	
G1	gut differenziert
G2	mäßig differenziert
G3	schlecht differenziert
G4	undifferenziert

Tabelle 2: Grading

Bei der feingeweblichen Untersuchung wird zudem mittels Immunhistochemie der Expressionsgrad des Östrogen- und des Progesteronrezeptors im Tumorgewebe bestimmt, welcher die Grundlage für den Einsatz einer endokrinen Therapie bildet [5, 6].

1.1.2.2 Stadieneinteilung

Zur Beschreibung des Erkrankungsausmaßes wird die vorzugsweise postoperativ anzuwendende TNM-Klassifikation (*p*TNM) genutzt. Dabei wird die Größe des exstirpierten Primärtumors (T) gemessen, der Befall der regionären Lymphknoten (N) gezählt, zu denen sowohl die ipsilateralen axillären, infra- und supraclaviculären Lymphknoten als auch die ipsilateralen Lymphknoten entlang der Arteria mammaria interna gehören, und das Vorliegen von Fernmetastasen (M) bestimmt. Die hämatogene Metastasierung erfolgt beim Mammakarzinom bevorzugt in Skelettsystem, Leber und Lunge [6, 7].

Eine Übersicht über die aktuelle TNM-Klassifikation gibt Tabelle 3.

Einleitung

pT Primärtumor	
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor ≤ 2 cm
	T1mic Mikroinvasion $\leq 0,1$ cm
	T1a Tumor $\leq 0,5$ cm
	T1b Tumor $> 0,5-1$ cm
	T1c Tumor $>1-2$ cm
T2	Tumor $>2-5$ cm
T3	Tumor >5 cm
T4	Tumor jeder Größe mit direkter Ausdehnung auf Brustwand oder Haut
	T4a Ausdehnung auf die Brustwand
	T4b mit Ödem, Ulzeration, oder Satellitenmetastasen der Haut
	T4c Kriterien T4a und T4b gemeinsam
	T4d Entzündliches Karzinom
pN Regionale Lymphknoten	
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1mi	Mikrometastasen $>0,2-2$ mm
N1	Metastasen in 1-3 regionären Lymphknoten
	N1a Metastasen in 1-3 ipsilateralen axillären Lymphknoten, davon mind. eine >2 mm
	N1b Metastasen in ipsilateralen Lymphknoten entlang der A. mammaria interna mit mikroskopischen Metastasen, die bei der Sentinellymphknoten-Dissektion entdeckt wurden, aber nicht klinisch auffällig waren
	N1c Kriterien N1a und N1b zusammen
N2	N2a oder N2b
	N2a Metastasen in 4-9 ipsilateralen axillären Lymphknoten, davon mind. eine >2 mm
	N2b Metastasen in klinisch auffälligen ipsilateralen Lymphknoten entlang der A. mammaria interna bei Fehlen axillärer Lymphknotenmetastasen
N3	N3a oder N3b oder N3c
	N3a Metastasen in ≥ 10 ipsilateralen axillären Lymphknoten, davon mind. eine >2 mm; oder in ipsilateralen infraklavikulären Lymphknoten
	N3b Metastasen in klinisch auffälligen Lymphknoten entlang der A. mammaria interna bei Vorliegen von ≥ 1 positiven axillären Lymphknoten; oder Metastasen in >3 axillären Lymphknoten und in Lymphknoten entlang der A. mammaria interna mit mikroskopischen Metastasen, die durch die Sentinellymphknoten-Dissektion entdeckt wurden, aber nicht klinisch auffällig waren
	N3c Metastasen in ipsilateralen supraklavikulären Lymphknoten
pM Fernmetastasen	
M0	keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Tabelle 3: pTNM-Klassifikation des Mammakarzinoms. (nach [8])

Einleitung

Auf der Grundlage der pTNM-Klassifikation basiert die weitere Einteilung in die UICC-Stadien (siehe Tabelle 4).

Stadium	T	N	M
0	Tis	0	0
I	1	0	0
IIA	0-1	1	0
	2	0	0
IIB	2	1	0
	3	0	0
IIIA	0-2	2	0
	3	1-2	0
IIIB	4	0-3	0
	jedes T	3	0
IV	jedes T	jedes N	1

Tabelle 4: Stadieneinteilung des Mammakarzinoms nach UICC. (Nach: [3])

1.1.3 Diagnostik und Therapie

Da das Mammakarzinom erst ab einem relativ fortgeschrittenen Ausmaß durch einen palpablen Knoten in der Brust symptomatisch wird, wird heute das Screening per Röntgenmammographie empfohlen. Bei klinisch oder mammographisch begründetem Verdacht auf das Vorliegen eines malignen Mammatumors ist zur histologischen Bestätigung eine Probebiopsie durchzuführen [9, 10] und im Falle eines positiven Befundes eine Staginguntersuchung mittels Röntgen-Thorax-Untersuchung, Leber-sonographie und Skelettszintigraphie zu veranlassen [11].

Ziel der Therapie beim nicht-metastasierten (M0) Mammakarzinom ist die komplette operative Entfernung des Primärtumors, die vorzugsweise mittels brusterhaltender Tumorektomie und postoperativer Nachbestrahlung erreicht werden sollte [12]. Bei großem Primärtumor, multizentrischen oder inflammatorischen Karzinomen, Kontraindikationen gegen die Radiotherapie oder auf Wunsch der Patientin kann eine Mastektomie mit oder ohne Wiederaufbau durchgeführt werden. Parallel zur operativen Behandlung des Primärherdes sollten bei Vorliegen eines invasiven Karzinoms zur Bestimmung des Nodalstatus (pN) und ggf. zur Reduktion der Tumormasse in jedem Fall auch regionäre Lymphknoten entfernt werden [13]. Dabei kann bei klinisch unauffälligem Nodalstatus anstelle der primären

Einleitung

axillären Lymphonodektomie auch die Technik der Sentinellymphknotenentfernung eingesetzt werden, wodurch sich die postoperative Morbidität der Patientinnen verringern lässt [14]. Bei lokal weit fortgeschrittenen und primär metastasierten Karzinomen ist eine neoadjuvante bzw. palliative systemische Therapie indiziert [11].

Der Einsatz einer adjuvanten systemischen Therapie richtet sich nach dem Vorhandensein verschiedener Risiko- und prädiktiver Faktoren; einen Überblick gibt Tabelle 5.

Zur Durchführung einer endokrinen Therapie bei hormonrezeptorpositiven Patientinnen kommen Tamoxifen und Aromataseinhibitoren sowie bei prämenopausalen Frauen die operative, radiotherapeutische oder medikamentöse Ovarablation per GnRH-Analoga zum Einsatz. Für die zur Behandlung des Mammakarzinoms eingesetzte Chemotherapie werden mehrere verschiedene Zytostatikakombinationen diskutiert und untersucht, aktuell wird dabei der Einsatz eines anthrazyklinhaltigen Therapieschemas favorisiert [15]. Um Nutzen und Risiken einzelner Medikamentenkombinationen detailliert zu klären, wird empfohlen die Patientinnen im Rahmen von klinischen Therapiestudien zu behandeln [11].

„Low risk“ =niedriges Risiko	„Intermediate Risk“ =mittleres/normales Risiko	„High risk“ =hohes Risiko
pT1c und G1 oder pT1a/b und G1-3 <u>sowie alle folgenden Kriterien:</u> Alter >35 Jahre pN0 Hormonrezeptorpositiv HER-2/neu negativ keine Gefäßinvasion	alle anderen Konstellationen	<u>Mind. eines der folgenden Kriterien:</u> ≥4 Lymphknoten befallen Nodalbefall und Gefäßinvasion Nodalbefall und HER-2/neu Überexpression Alter <35 Jahre Hormonrezeptornegativ
Allgemeine Therapieempfehlung		
endokrine Therapie (Tamoxifen) oder keine Therapie	<u>Sicher hormonsensibel:</u> endokrine Therapie oder Chemotherapie gefolgt von endokriner Therapie <u>Fraglich hormonsensibel:</u> Chemotherapie (ggf. gefolgt von endokriner Therapie)	<u>Hormonsensibel (auch fraglich):</u> Chemotherapie gefolgt von endokriner Therapie <u>Hormonunsensibel:</u> Chemotherapie

Tabelle 5: Risikogruppen und Therapieempfehlungen nach St. Gallen 2005. (Nach: [15])

1.1.4 Prognose

In den entwickelten Ländern ist die Brustkrebsmortalität erfreulicherweise seit einigen Jahren rückläufig; die relative Überlebenswahrscheinlichkeit nach 5 Jahren liegt in Deutschland heute bei etwa 80%, die nach 10 Jahren bei etwa 70%. Diese Entwicklung lässt sich vermutlich einerseits auf die Einführung des Mammographiescreenings und der daraus resultierenden höheren Rate an Patientinnen mit frühen Krankheitsstadien, als auch auf die Verbesserung der Therapiemöglichkeiten zurückführen [16].

Die Prognose jeder einzelnen Patientin hängt dabei aber von mehreren verschiedenen Einflüssen ab, die den natürlichen Krankheitsverlauf bestimmen. Um eine individualisierte Therapieentscheidung zu treffen, die den Patientinnen mit einer schlechteren Prognose eine aggressive Primärtherapie ermöglicht, während jenen Patientinnen mit einer besseren Prognose eine solche Therapie mit ihren teils erheblichen Nebenwirkungen erspart wird, ist es sinnvoll, diese Einflussgrößen zu bestimmen. Beim nicht-metastasierten Mammakarzinom haben sich als relevante Prognosefaktoren bisher das Alter der Patientin, Tumorgröße, Lymphknotenstatus, histologischer Typ, und Grading etabliert. Daneben gelten der Hormonrezeptor- und der Menopausenstatus als prädiktive Faktoren für das Ansprechen auf eine endokrine Therapie bzw. Ovarablation [17, 18].

1.1.5 Zirkulierende Tumormarker

Zirkulierende Tumormarker sind Substanzen, deren vermehrtes Vorkommen in den Körperflüssigkeiten mit bestimmten Krebserkrankungen assoziiert ist und deren Messung im Serum somit möglicherweise Aufschluss über den Fortschritt der Erkrankung geben kann [19]. Der klinische Nutzen von Tumormarkern beim Mammakarzinom ist bisher nur für zwei solcher Tumormarker belegt: für das Cancer Antigen 15-3 (CA 15-3) und das Carcinoembryonale Antigen (CEA). Beide werden zur Überwachung der Therapieeffizienz v.a. beim fortgeschrittenen Mammakarzinom empfohlen, wobei das Ansprechen bzw. Nicht-Ansprechen auf die Therapie anhand der Tumormarkerkinetik beurteilt wird [20, 21]. Die Ergebnisse mehrerer Studien deuten außerdem darauf hin, dass die regelmäßige Bestimmung der Tumormarker in der Nachsorge als diagnostisches Werkzeug zur früheren Erkennung des Fortschreitens der Erkrankung dienen kann. Ob diese Früherkennung allerdings die Lebensqualität oder –dauer der Patientinnen verbessert, kann anhand der aktuellen Daten nicht abschließend geklärt werden [20].

Einleitung

Aufgrund der geringen Sensitivität und Spezifität der Tumormarker CA 15-3 und CEA sind diese Marker nicht für die Primärdiagnose oder zum Screening geeignet; die Bestimmung der beiden Werte zum Zeitpunkt der Primärdiagnose hat sich dennoch in einigen Studien als nützlich erwiesen: Da sie mit der Prognose der Patientinnen korrelierten, boten sie eine im Gegensatz zu den klassischen Prognosefaktoren nicht-invasiv zu gewinnende prognostische Information, die u.U. die Therapieentscheidung mit beeinflussen könnte [20].

1.2 Das HER-2/neu Onkogen

1.2.1 Struktur und Funktion

Ein wesentlicher Schritt im Prozess der Kanzerogenese ist die Aktivierung sogenannter (Proto-)Onkogene. Diese sind im zellulären Genom vorhandene DNA-Sequenzen, deren Expressionsprodukte an der Regulierung von Proliferation und Differenzierung der Zelle beteiligt sind [5, 22].

Ein u.a. an der Entstehung des Mammakarzinoms häufig beteiligtes Onkogen ist das HER-2-Onkogen (Human Epidermal Receptor-2) [23]. Da es von mehreren Arbeitsgruppen unabhängig voneinander beschrieben wurde, existieren mehrere Synonyme dafür (c-erbB-2, neu, HER-2). Das auf dem langen Arm des Chromosoms 17 lokalisierte Gen kodiert für ein 185kD Glykoprotein, das zur Familie der Wachstumsfaktorrezeptoren gezählt wird. Die vier dieser Familie zugeordneten Rezeptoren (HER-1 bis HER-4, wobei HER-1=Epidermal Growth Factor Receptor: EGFR) sind sich in ihrer Struktur sehr ähnlich und bestehen aus drei Domänen: dem extrazellulären Anteil mit der Ligandenbindungsstelle, dem lipophilen Transmembransegment und dem intrazellulären katalytischen Abschnitt mit Tyrosinkinase-Aktivität. Nach dem Andocken eines passenden Wachstumsfaktors an die extrazelluläre Domäne kommt es zur Bildung von Homo- oder Heterodimeren zwischen den Rezeptoren, was zur Autophosphorylierung der intrazellulären Domäne und somit zur Auslösung intrazellulärer Signalkaskaden führt (Abbildung 2).

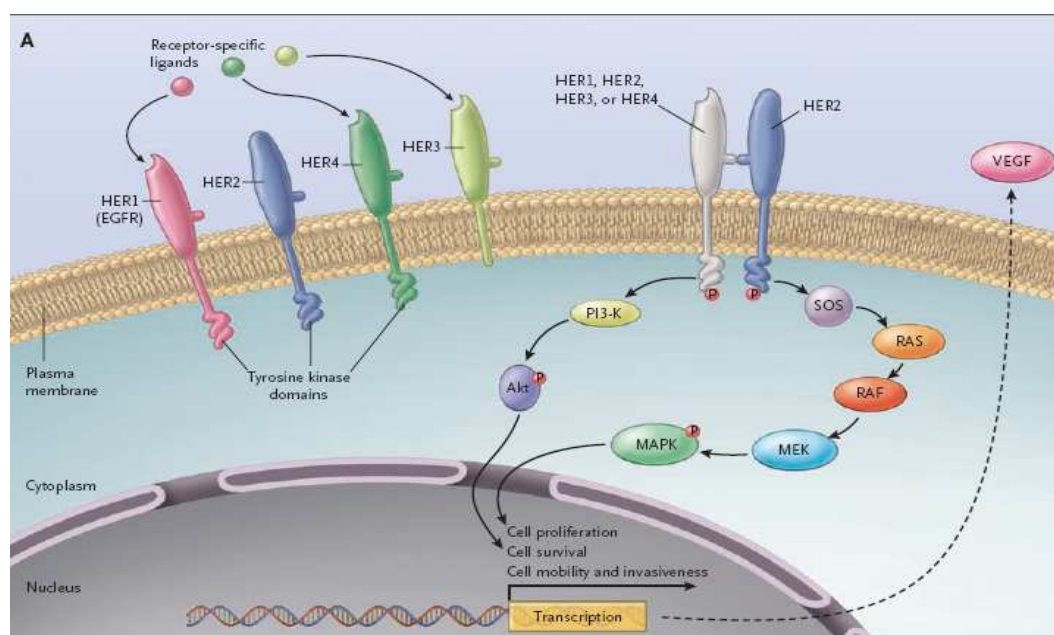


Abbildung 2: HER-2/neu und der Mechanismus der Signaltransduktion (aus: [24])

Einleitung

Bemerkenswert ist, dass bisher kein Ligand bekannt ist, der direkt an HER-2/neu bindet, dass aber HER-2 zur Bildung von Heterodimeren von den anderen Rezeptortypen bevorzugt wird und dass diese HER-2-enhaltenden Dimere die intrazelluläre Signalkaskade stärker triggern als alle anderen Dimere. So ist es verständlich, dass ein vermehrtes Vorhandensein von HER-2/neu in der Zellmembran die Zellproliferation begünstigt [25-28].

Beim Mammakarzinom ist die HER-2/neu-Überexpression meist durch Genamplifikation, d.h. durch das Vorliegen von mehr als zwei Kopien des HER-2/neu-Genes, bedingt [29, 30].

1.2.2 Bestimmungsmethoden

Zur Untersuchung des HER-2/neu-Status im Tumorgewebe haben sich im klinischen Alltag bis jetzt zwei verschiedene Methoden bewährt: die Immunhistochemie (IHC) und die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH). Bei der IHC wird mit Hilfe von Antikörpern der HER-2/neu-Rezeptor in der Zellmembran quantifiziert. Dabei werden je nach Färbungsmuster der Zellmembran vier Grade der HER-2/neu-Expression unterschieden, die in einem semiquantitativen Score von 0 bis 3+ zum Ausdruck kommen, wobei 0 und 1+ als HER-2/neu-negativ und 2+ und 3+ als HER-2/neu-positiv gewertet werden. Die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung hingegen weist mit Hilfe von markierten DNA-Sonden die Amplifikation bzw. Nicht-Amplifikation des HER-2/neu-Genes nach. Das HER-2/neu-Gen gilt als amplifiziert, wenn pro Tumorzelle das Verhältnis von der Anzahl der Kopien des HER-2/neu-Genes zur Anzahl der Kopien des Chromosoms 17 größer oder gleich 2 ist.

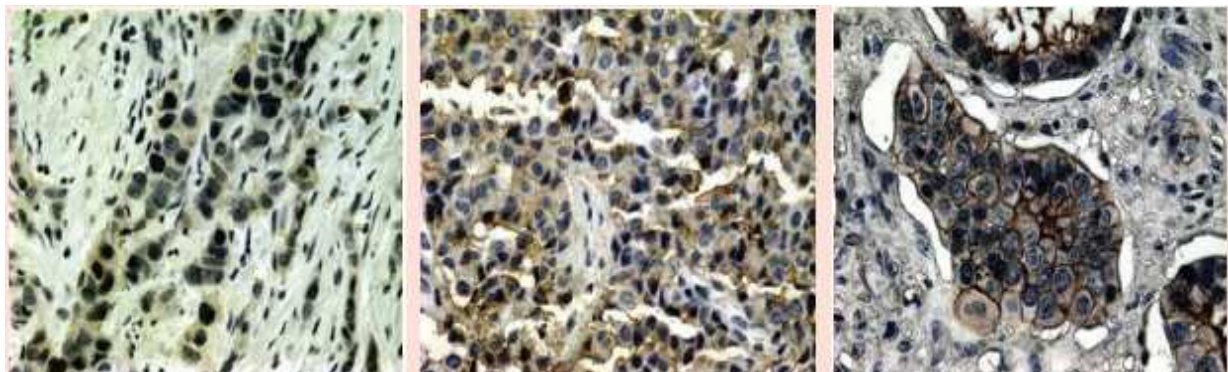


Abbildung 3: Beispiel einer HER-2/neu-Expressionstestung am Gewebe invasiver Mammakarzinome mittels Immunhistochemie. Der immunhistochemische Score beträgt 0 (links), 2+ (Mitte) bzw. 3+(rechts).

Aus: [32]

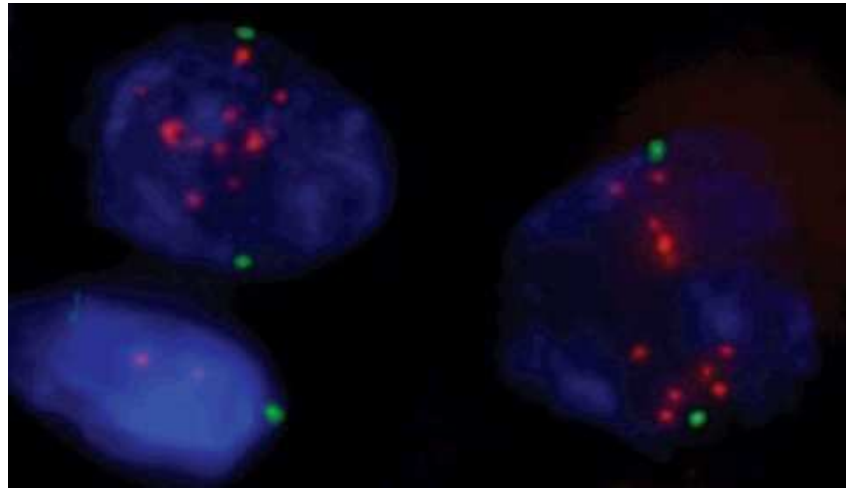


Abbildung 4: Beispiel einer Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung. Mit einem Verhältnis von rot (Kopien des HER-2/neu-Gens) zu grün (Kopien des Chromosoms 17) von >2 liegt eine Genamplifikation vor. Aus: [32]

Aufgrund der einfachen Verfügbarkeit, der technisch weniger aufwändigen Handhabung, der kürzeren Untersuchungsdauer und der geringeren Kosten wird in den meisten pathologischen Labors die Immunhistochemie als Bestimmungsmethode für den HER-2/neu-Status bevorzugt. Es hat sich jedoch in mehreren Studien gezeigt, dass sie unpräziser und weniger reproduzierbar als die FISH ist. Während bei schwach HER-2/neu-exprimierenden (IHC 0/1+) und stark überexprimierenden Gewebeproben (IHC 3+) die Konkordanzrate mit der FISH hoch ist, liegt in Tumoren, die immunhistochemisch als 2+ klassifiziert wurden, nur in etwa 50% der Fälle eine Genamplifikation vor. Es hat sich deshalb in vielen Labors durchgesetzt, den HER-2/neu-Status primär immunhistochemisch zu evaluieren und im Falle eines 2+-Befundes eine FISH-Analyse anzuschließen [31-34].

1.2.3 Klinische Relevanz

Eine Überexpression des HER-2/neu-Onkoprotein findet sich bei etwa 20-30% der primär diagnostizierten Mammakarzinome. Es stellte sich heraus, dass diese mit einem aggressiveren Tumorverhalten assoziiert sind und somit eine ungünstigere Prognose aufweisen als Mammakarzinome ohne Überexpression: eine negative Korrelation sowohl mit dem rezidivfreien als auch mit dem Gesamtüberleben konnte in mehreren Studien bestätigt werden [35, 36]. Darüberhinaus wiesen einige Untersuchungen eine prädiktive Aussagekraft der HER-2/neu-Überexpression nach, was sich in einem verminderten Ansprechen auf verschiedene adjuvante Chemo- und Hormontherapien zeigte [37, 38].

Seine wichtigste Bedeutung im klinischen Alltag erhielt die Bestimmung der HER-2/neu-Status jedoch durch die Entwicklung des gegen die extrazelluläre Domäne des HER-2/neu-Rezeptors gerichteten humanisierten Antikörpers Trastuzumab (Herceptin®). Das Binden dieses Antikörpers an den HER-2/neu-Rezeptor verhindert dessen Aktivierung und vermindert somit die intrazellulären wachstumsfördernden Signalkaskaden; der genaue Mechanismus dieser Wirkung ist allerdings unklar [39]. Der therapeutisch Nutzen konnte zunächst bei Patientinnen mit HER-2/neu-positivem Mammakarzinom (IHC 3+ oder FISH +) im Stadium der Metastasierung belegt werden [40]. Doch auch zur adjuvanten Behandlung des primären Mammakarzinoms liegen inzwischen vielversprechende Daten vor, die eine Verlängerung der rezidivfreien Zeit und eine Verbesserung des Gesamtüberlebens durch den Einsatz von Trastuzumab zeigen [41].

1.2.4 Shedding

Im menschlichen Blut kann ein 110kD-Protein nachgewiesen werden, das der extrazellulären Domäne (ECD) des HER-2/neu-Rezeptors entspricht. Man fand heraus, dass dieses sog. Shed Antigen oder s-HER-2/neu durch proteolytische Prozesse, in die u.a. bestimmte Metalloproteinasen involviert sind, vom HER-2/neu-Protein abgespalten wird und so in die Zirkulation gelangt [42, 43]. Interessanterweise ist dieser proteolytische Prozess mit einer funktionellen Alteration des HER-2/neu-Rezeptors verbunden: Die extrazelluläre Domäne scheint den Aktivierungsgrad des gesamten Rezeptorproteins herunterzuregulieren, sodass der um die ECD verkürzte Rezeptor ein höheres transformierendes Potenzial als das komplette Molekül hat. Somit lässt sich die These aufstellen, dass die ECD-Konzentration im Serum nicht nur ein Abbild der Tumormasse ist, sondern dass sie die Shedding-Rate und damit also auch die Aggressivität des Tumors widerspiegelt [44, 45].

Die HER-2/neu-ECD kann mit Hilfe eines Immunoassays im Serum nachgewiesen werden und erweist sich dabei als stabiler Analyt [46]. Diese Eigenschaft sowie seine Assoziation zum HER-2/neu-Onkogen und damit zur Tumorentstehung legen nahe, das Shed Antigen als Tumormarker zu verwenden [47].

1.3 Fragestellung

Die vorliegende Arbeit soll dazu beitragen, den Nutzen der s-HER-2/neu-Bestimmung im Serum von Mammakarzinompatientinnen zum Zeitpunkt der Primärdiagnose zu evaluieren. Dabei sollen insbesondere folgende Fragen beantwortet werden:

- Wie unterscheiden sich die Konzentrationen von s-HER-2/neu im Serum bei Mammakarzinompatientinnen von denen bei Personen ohne Mammakarzinom?
- Korrelieren die Werte von s-HER-2/neu mit den gängigen Prognosefaktoren, wie Alter der Patientin, Menopausenstatus, Tumorgröße, Lymphknotenbefall, Metastasierung, Grading, Hormonrezeptorstatus?
- Besteht ein Zusammenhang zwischen den s-HER-2/neu-Werten und den Konzentrationen der beim Mammakarzinom üblicherweise eingesetzten Tumormarker CA 15-3 und CEA?
- Korrelieren die s-HER-2/neu-Konzentrationen im Serum mit dem Expressionsgrad des HER-2/neu-Onkogens im Gewebe, und wenn ja, mit welcher Sensitivität und Spezifität lässt sich anhand der s-HER-2/neu-Konzentrationen der HER-2/neu-Gewebestatus vorhersagen? Kann die Bestimmung des Shed Antigens im Serum die Bestimmung der HER-2/neu-Expression in Gewebeproben ersetzen?
- Haben die s-HER-2/neu-Werte eine prognostische Aussagekraft für Mammakarzinompatientinnen?

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Studienpopulation

2.1.1 Gesundes Kontrollkollektiv

Als Referenzkollektiv dienen 184 gesunde Frauen und 99 gesunde Männer, die in den Jahren 2006-2007 im Institut für Klinische Chemie zu wissenschaftlichen Zwecken freiwillig Blut spendeten. Die Frauen hatten zum Zeitpunkt der Blutentnahme ein mittleres Alter von 38,6 Jahren (Median 37,0 Jahre) mit einer Spannweite von 21,2 bis 72,2 Jahren. Die Männer waren durchschnittlich 39,8 Jahre alt (Median 36,2 Jahre), der Jüngste bzw. Älteste hatte ein Alter von 20,5 bzw. 74,2 Jahren.

Einen Überblick über das Kontrollkollektiv gibt Tabelle 6.

Geschlecht	N	mittleres Alter	Median	Spannweite
weiblich	184	38,6 Jahre	37,0 Jahre	21,2-72,2 Jahre
männlich	99	39,8 Jahre	36,2 Jahre	20,5-74,2 Jahre

Tabelle 6: Altersverteilung Kontrollkollektiv

2.1.2 Rezidivfreies Kontrollkollektiv (NED)

Aufgrund der ungleichen Altersverteilung bei den gesunden Frauen und den Mammakarzinompatientinnen (siehe unten) wurde ein zweites Kontrollkollektiv gebildet, in das Frauen aus der prospektiven Mammakarzinom-Nachsorgestudie, die seit 1998 am Institut für Klinische Chemie im Klinikum Großhadern durchgeführt wird, aufgenommen wurden. In dieser Studie wird Mammakarzinompatientinnen neben der aktuell empfohlenen Nachsorge bestehend aus Anamnese, klinischer Untersuchung und Mammographie zur Tumormarkerbestimmung in 6-wöchigen Abständen Blut entnommen. Die Patientinnen treten nach Abschluss ihrer adjuvanten Radio- und/oder Chemotherapie in die Studie ein.

Für das rezidivfreie Kontrollkollektiv (No Evidence of Disease, NED) wurden all jene Patientinnen aus der Nachsorgestudie ausgewählt, deren Studieneintritt vor dem 01.08.2006 lag und die bis zum letzten Beobachtungszeitpunkt mindestens 18 Monate nach Studienbeginn keine Krankheitsprogression entwickelt hatten. Das auf diese Weise zusammengestellte Kollektiv umfasst 423 Frauen. Diese hatten zum Zeitpunkt des

Studienbeginns ein mittleres Alter von 55,1 Jahren (Median 55,8 Jahre) mit einer Spannweite von 32,6 bis 83,9 Jahren.

Zum Vergleich mit den s-HER-2/neu-Konzentrationen der Patientinnen wurden die s-HER-2/neu-Basiswerte der rezidivfreien Frauen betrachtet. Diese werden in der Nachsorgestudie für alle Tumormarker bestimmt und berechnen sich als arithmetisches Mittel der jeweiligen Tumormarkerkonzentrationen bei den ersten drei Blutentnahmen.

2.1.3 Patientinnen

In das Studienkollektiv wurden Frauen aufgenommen, die zwischen 1998 und 2007 im Klinikum Großhadern mit der Primärdiagnose eines Mammakarzinoms vorstellig wurden und von denen eine Serumprobe, welche in einem Zeitraum von maximal 30 Tagen vor Beginn der Primärtherapie abgenommen worden war, bei -80°C aufbewahrt worden war. Von den Frauen, auf die diese Kriterien zutrafen, wurden nur jene berücksichtigt, bei denen der HER-2/neu-Status im Gewebe des Primärtumors mittels Immunhistochemie bestimmt worden war. Patientinnen, bei denen eine weitere maligne Erkrankung im Zeitraum von 10 Jahren vor der Manifestation des Mammakarzinoms diagnostiziert wurde, wurden ausgeschlossen.

Das auf diese Weise zusammengestellte Kollektiv umfasst insgesamt 565 Patientinnen. Diese hatten zum Zeitpunkt der Diagnose ein mittleres Alter von 57,4 Jahren (Median 58,0 Jahre), die jüngste und die älteste Patientin waren 25 bzw. 93 Jahre alt.

Der Menopausenstatus war bei 411 Patientinnen bekannt. Die Patientinnen, die demnach als perimenopausal klassifiziert waren, wurden in der Auswertung den postmenopausalen Frauen zugerechnet. Die Patientinnen, deren Menopausenstatus nicht erhoben werden konnte, wurden als prämenopausal erachtet, wenn sie 45 Jahre alt oder jünger waren, bzw. als postmenopausal erachtet, wenn ihr Alter größer oder gleich 55 Jahre war. Somit konnten insgesamt 539 Frauen hinsichtlich ihres Menopausenstatus evaluiert werden, wovon 141 (26,2%) als prä- und 398 (73,8%) als postmenopausal eingestuft waren.

Die histologische Untersuchung des Primärtumors ergab bei den meisten Patientinnen (490, 89,3%) einen invasiv-duktalem Tumor. 41 Patientinnen (7,5%) hatten einen invasiv-lobulären Tumor und 8 Patientinnen (1,5%) hatten nicht-invasive Tumoren vom duktalem Typ. Die Tumoren von 10 Frauen (1,8%) wiesen histologische Sonderformen auf.

Die postoperative Tumorgöße gemäß TNM-Klassifikation war bei 507 Patientinnen bekannt. Von diesen wiesen die meisten Patientinnen (274, 54,0%) einen T1-Tumor oder einen T2-

Material und Methoden

Tumor (182 Patientinnen, 35,9%) auf. Einen T3- oder T4-Tumor hatten nur 27 (5,3%) bzw. 16 Frauen (3,2%). Der Anteil der Frauen mit einem Carcinoma in situ (pTis) war mit 1,6% (8 Patientinnen) am geringsten. Dies ist sicherlich dadurch bedingt, dass die HER-2/neu-Bestimmung im Gewebe, die eine Voraussetzung für die Aufnahme in die Studie war, nicht routinemäßig beim nicht-invasiven Karzinom durchgeführt wird.

Der operativ/pathologisch bestimmte regionäre Lymphknotenbefall pN war bei 497 Patientinnen bekannt. Dabei hatten die meisten Frauen keine Lymphknotenmetastasen (311, 62,6%). Ein Nodalstatus von N1, N2 und N3 lag bei jeweils 146 (29,4%), 30 (6,0%), bzw. 10 (2,0%) Patientinnen vor.

Das bei allen Patientinnen durchgeführte Staging brachte bei 6,0% der Patientinnen (34 Frauen) die Diagnose einer Fernmetastasierung. Alle anderen wiesen keine Fernmetastasierung auf.

Alle Patientinnen, bei denen die pTNM-Klassifikation ausreichend bekannt war (500 Frauen), wurden den UICC-Krankheitsstadien zugeordnet: Die Mehrzahl der Frauen hatte ein Mammakarzinom im UICC-Stadium 1 (212 Patientinnen, 42,4%) bzw. 2 (201 Patientinnen, 40,2%). Auf das Stadium 3 entfielen 53 Patientinnen (10,6%). Die 34 Patientinnen (6,8%) mit primär metastasiertem Mammakarzinom wurden dem UICC-Stadium 4 zugeteilt.

Informationen bezüglich des pathologischen Grading des Tumors nach Elston und Ellis lagen bei 553 Patientinnen vor. Dabei waren Tumoren von mäßiger (G2) und schlechter (G3 oder G4) Differenzierung mit 55,5% (307 Patientinnen) bzw. 33,7% (186 Patientinnen) am häufigsten vertreten. Gut differenzierte Karzinome fanden sich bei 60 Patientinnen (10,8%).

Der Hormonrezeptorstatus war bei allen Patientinnen histologisch bestimmt worden. Der Großteil der Patientinnen (418, 74,0% bzw. 363, 64,3%) hatte dabei einen Östrogen- bzw. Progesteronrezeptor-positiven Tumor. Ein positives Färbemuster für mindestens einen der beiden Hormonrezeptoren lag bei 448 Patientinnen (79,3%) vor.

Gemäß den Einschlusskriterien der Studie war der HER-2/neu-Status im Gewebe bei allen Patientinnen immunhistochemisch bestimmt worden. Dabei wiesen 247 (43,7%) bzw. 140 Patientinnen (24,8%) einen als negativ zu wertenden Score von 0 bzw. 1+ auf. Eine starke (3+) oder mäßige (2+) Überexpression des HER-2/neu-Onkogens lag im Tumorgewebe von 110 (19,5%) bzw. 68 Frauen (12,0%) vor. Bei 28 von den 68 Tumoren mit einem IHC-Score 2+ wurde zusätzlich eine FISH-Analyse durchgeführt, die bei 6 Gewebeproben eine Genamplifikation (FISH +) nachwies. Als HER-2/neu-positiv wurden nun Patientinnen mit immunhistochemischem Score 3+ oder mit Score 2+ und Genamplifikation erachtet. Dies

Material und Methoden

trifft auf 116 von 525 Patientinnen (22,1%) zu, während die restlichen 409 Patientinnen (77,9%) als HER-2/neu-negativ gelten.

Für die Untersuchung der Zusammenhänge zwischen s-HER-2/neu-Konzentrationen und den gängigen Prognosefaktoren wurden nur jene Patientinnen des Gesamtkollektives berücksichtigt, die keine primären Fernmetastasen (M0) aufwiesen.

Eine Gesamtübersicht über die Verteilung der wichtigsten krankheitsassoziierten Merkmale im Gesamtkollektiv und den Untergruppen M0 bzw. M1 gibt Tabelle 7.

Merkmal	Gesamtkollektiv (N=565)	Untergruppe M0 (N=531)	Untergruppe M1 (N=34)
Alter			
Mittelwert	57,4 Jahre	57,3 Jahre	59,1 Jahre
Median	58,0 Jahre	58,0 Jahre	57,5 Jahre
Spannweite	25,0-93,0 Jahre	25,0-89,0 Jahre	36,0-93,0 Jahre
Menopausenstatus	N=539 (%)	N=507 (%)	N=32 (%)
prämenopausal	141 (26,2)	134 (26,4)	7 (21,9)
postmenopausal	398 (73,8)	373 (73,6)	25 (78,1)
Histologie	N=549 (%)	N=519 (%)	N=30 (%)
nicht-invasiv duktal	8 (1,5)	8 (1,5)	0 (0)
invasiv-duktral	490 (89,3)	463 (89,2)	27 (90,0)
invasiv-lobulär	41 (7,5)	38 (7,3)	3 (10,0)
Sonderformen	10 (1,8)	10 (1,9)	0 (0)
pT	N=507 (%)	N=481 (%)	N=26 (%)
Tis	8 (1,6)	8 (1,7)	0 (0)
1	274 (54,0)	269 (55,9)	5 (19,2)
2	182 (35,9)	173 (36,0)	9 (34,6)
3	27 (5,3)	23 (4,8)	4 (15,4)
4	16 (3,2)	8 (1,7)	8 (30,8)
pN	N=497 (%)	N=473 (%)	N=24 (%)
0	311 (62,2)	309 (65,3)	2 (8,3)
1	146 (29,4)	129 (27,3)	17 (70,8)
2	30 (6,0)	26 (5,5)	4 (16,7)
3	10 (2,0)	9 (1,9)	1 (4,2)
M	N=565 (%)	N=531	N=34
0	531 (94,0)	531 (100)	0 (0)
1	34 (6,0)	0	34 (100)

Tabelle 7: Verteilung wichtiger Merkmale im Studienkollektiv und den Untergruppen M0 und M1.

Material und Methoden

Merkmal	Gesamtkollektiv (N=565)		Untergruppe M0 (N=531)		Untergruppe M1 (N=34)	
UICC-Stadium	N=500	(%)	N=466	(%)	N=34	(%)
1	212	(42,4)	212	(44,7)	0	(0)
2	201	(40,2)	201	(42,4)	0	(0)
3	53	(10,6)	53	(11,2)	0	(0)
4	34	(6,8)	0	0	34	(100)
G	N=553	(%)	N=522	(%)	N=31	(%)
1	60	(10,8)	60	(11,5)	0	(0)
2	307	(55,5)	294	(56,3)	13	(41,9)
3	184	(33,3)	168	(32,2)	16	(51,6)
4	2	(0,4)	0	0	2	(6,5)
Hormonrezeptorstatus	N=565	(%)	N=531	(%)	N=34	(%)
Östrogenrez. pos	418	(74,0)	397	(74,8)	21	(61,8)
Östrogenrez. neg	147	(26,0)	134	(25,2)	13	(38,2)
Progesteronrez. pos	363	(64,3)	347	(65,4)	16	(47,1)
Progesteronrez. neg	202	(35,8)	184	(34,7)	18	(52,9)
mind. ein Rez. pos	448	(79,3)	424	(79,9)	24	(70,6)
beide Rez. neg	117	(20,7)	107	(20,2)	10	(29,4)
HER-2/neu-Expression Immunhistochemie	N=565	(%)	N=531	(%)	N=34	(%)
0	247	(43,7)	231	(43,5)	16	(47,1)
1+	140	(24,7)	137	(25,8)	3	(8,8)
2+	68	(12,0)	64	(12,1)	4	(11,8)
3+	110	(19,5)	99	(18,6)	11	(32,4)
IHC/FISH	N=525	(%)	N=492	(%)	N=34	(%)
- (0/1+ o. 2+/FISH-)	409	(77,9)	388	(78,9)	22	(64,7)
+ (3+ o. 2+/FISH+)	116	(22,1)	104	(21,1)	12	(35,3)

Tabelle 7 (Fortsetzung): Verteilung wichtiger Merkmale im Studienkollektiv und den Untergruppen M0 und M1.

2.1.4 Subkollektive zur Evaluation der Prognose

Die Auswertung der prognostischen Aussagekraft des HER-2/neu-Shed Antigens erfolgte an Patientinnen aus dem Gesamtkollektiv ohne primäre Fernmetastasierung, deren Follow-up für die jeweilige Fragestellung ausreichend war.

Alle Patientinnen wurden operativ therapiert, wobei im Falle eines brusterhaltenden Vorgehens eine postoperative Strahlentherapie durchgeführt wurde. Eine adjuvante Hormon-, Chemo- oder Strahlentherapie erfolgte je nach Hormonrezeptorstatus bzw. Stadium der Erkrankung unter Berücksichtigung des Wunsches der Patientinnen.

Es wurden zwei Subkollektive gebildet:

2.1.4.1 Rezidivfreies Überleben

Zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen s-HER-2/neu-Konzentrationen und dem rezidivfreien Überleben wurden jene Patientinnen aufgenommen, die entweder eine Krankheitsprogression (Fernmetastasen oder Lokalrezidiv) entwickelten oder für die ein dokumentiertes rezidivfreies Intervall von mindestens einem Jahr nach Primärdiagnose vorhanden war. Patientinnen, die nach mehr als einem Jahr ein Zweitkarzinom oder ein kontralaterales Mammakarzinom entwickelten, wurden als rezidivfrei bis zum Zeitpunkt dieser Zweitdiagnose erachtet.

Das auf diese Weise zusammengestellte Kollektiv umfasst 241 Patientinnen. Der mittlere Follow-up für dieses Kollektiv beträgt 34,4 Monate (Median 34,3 Monate, Spannweite 6,0-91,4 Monate). Der Kaplan-Meier-Schätzer für das mittlere rezidivfreie Intervall beträgt 59,3 Monate. 205 der 241 Frauen (85,1%) hatten zum Zeitpunkt des letzten Follow-ups keinen Hinweis auf eine Krankheitsprogression. Von den übrigen Patientinnen entwickelten 26 (10,8%) Fernmetastasen und 10 Frauen (4,2%) ein Lokalrezidiv.

Die Verteilung krankheitsassoziierter Merkmale in diesem Kollektiv zeigt Tabelle 8.

2.1.4.2 Gesamtüberleben

Für die Evaluation des Gesamtüberlebens wurde ein Kollektiv gebildet, in das jene Frauen ohne primäre Fernmetastasen aufgenommen wurden, die entweder im Verlauf verstarben oder von denen bekannt war, dass sie nach einem Zeitraum von mindestens einem Jahr noch am Leben waren. Dies traf auf 289 Frauen zu.

Material und Methoden

Der mittlere Follow-up dieser Patientinnen betrug 40,7 Monate (Median 38,9 Monate, Spannweite 7,0-91,4 Monate). Der Kaplan-Meier-Schätzer für das mittlere Gesamtüberleben beträgt 69,5 Monate.

Eine Gesamtübersicht über die beiden Prognosekollektive gibt Tabelle 8.

Merkmal	Rezidivfreies Überleben (N=241)		Gesamtüberleben (N=289)	
Alter				
Mittelwert	56,5 Jahre		57,2 Jahre	
Median	57,0 Jahre		57,0 Jahre	
Spannweite	29,0-89,0 Jahre		25,0-89,0 Jahre	
Menopausenstatus	N=235	(%)	N=279	(%)
prämenopausal	75	(31,9)	81	(29,0)
postmenopausal	160	(68,1)	198	(71,0)
Histologie	N=241	(%)	N=289	(%)
nicht-invasiv duktal	3	(1,2)	4	(1,4)
invasiv-duktral	222	(92,1)	263	(91,0)
invasiv-lobulär	13	(5,4)	17	(5,9)
Sonderformen	3	(1,2)	5	(1,8)
pT	N=241	(%)	N=289	(%)
Tis	3	(1,2)	4	(1,4)
1	123	(51,0)	146	(50,5)
2	100	(41,5)	121	(41,9)
3	13	(5,4)	15	(5,2)
4	2	(0,8)	3	(1,0)
pN	N=236	(%)	N=283	(%)
0	145	(61,4)	174	(61,5)
1	76	(32,2)	87	(30,7)
2	12	(5,0)	17	(6,0)
3	3	(1,3)	5	(1,8)
UICC-Stadium	N=234	(%)	N=280	(%)
1	93	(39,2)	110	(38,7)
2	114	(48,1)	135	(47,5)
3	27	(11,4)	35	(12,3)
G	N=238	(%)	N=285	(%)
1	21	(8,8)	25	(8,8)
2	136	(57,1)	161	(56,5)
3	81	(34,0)	99	(34,7)

Tabelle 8: Verteilung wichtiger Merkmale in den Prognosekollektiven.

Material und Methoden

Merkmal	Rezidivfreies Überleben (N=241)		Gesamtüberleben (N=289)		
	N=241	(%)	N=289	(%)	
Hormonrezeptorstatus					
Östrogenrez. pos	168	(69,7)	206	(71,3)	
Östrogenrez. neg	73	(30,3)	83	(28,7)	
Progesteronrez. pos	150	(62,2)	183	(63,3)	
Progesteronrez. neg	91	(37,8)	106	(36,7)	
mind. ein Rez. pos	181	(75,1)	222	(76,8)	
beide Rez. neg	60	(24,9)	67	(23,2)	
HER-2/neu-Expression					
Immunhistochemie	241	(%)	N=289	(%)	
0	103	(42,7)	119	(41,2)	
1+	58	(24,1)	76	(26,3)	
2+	26	(10,8)	32	(11,1)	
3+	54	(22,4)	62	(21,5)	
IHC/FISH	241	(%)	N=289	(%)	
- (0/1+ o. 2+/FISH-)	187	(77,6)	227	(78,5)	
+ (3+ o. 2+/FISH+)	54	(22,4)	62	(21,5)	
adjuvante Therapie	N=241	(%)	N=289	(%)	
keine	26	(10,8)	50	(17,3)	
Hormontherapie (HT)	81	(33,6)	92	(31,8)	
Chemotherapie (CT)	51	(21,2)	58	(20,1)	
HT+CT	80	(33,2)	86	(29,8)	
CT+Herceptin	1	(0,4)	1	(0,3)	
HT+CT+Herceptin	2	(0,8)	2	(0,6)	
Rezidiv	N=241	(%)	N=254	(%)	
Rezidivfrei	205	(85,1)	218	(85,8)	
Fernmetastasen	26	(10,8)	26	(10,2)	
Lokalrezidiv	10	(4,2)	10	(3,9)	
Tod	12	(5,0%)	14	(4,8%)	
Follow-up (Monate)	Gesamt				
Mittelwert	34,4		40,7		
Median	34,3		38,9		
Spannweite	6,0-91,4		7,0-91,4		
	ohne/mit Ereignis	kein Rezidiv	Rezidiv	am Leben	verstorben
Mittelwert		36,2	23,9	40,9	36,3
Median		36,0	22,2	39,0	34,1
Spannweite		12,3-91,4	6,0-68,6	12,0-91,4	7,0-72,6

Tabelle 8 (Fortsetzung): Verteilung wichtiger Merkmale in den Prognosekollektiven.

2.2 Pathologie: HER-2/neu-Gewebestatus

Die Untersuchung des HER-2/neu-Gewebestatus erfolgte an prätherapeutisch entnommenen Gewebebiopsien oder an reseziertem Tumormaterial im pathologischen Institut des Klinikums Großhadern.

2.2.1 Immunhistochemie (IHC)

Zur immunhistochemischen Bestimmung der HER-2/neu-Expression im Tumorgewebe wurde der HercepTest™ der Firma Dako verwendet. Dieser ist ein zwei Schritte umfassendes immunzytochemisches Färbeverfahren, das an paraffineingebetteten Gewebeproben durchgeführt wird. Nach der Inkubation mit dem primären Kaninchenantikörper gegen das humane HER2-Protein nutzt das HercepTest™-Kit ein gebrauchsfertiges Visualisierungsreagenz. Dieses besteht aus sekundären Ziegen-Anti-Kaninchen-Immunglobulinmolekülen und Meerrettichperoxidase-Molekülen, die mit einer gemeinsamen Dextranpolymer-Hauptkette verknüpft sind. Die enzymatische Umwandlung des anschließend zugesetzten Chromogens resultiert in der Bildung eines sichtbaren Reaktionsproduktes. Die Probe wird nun gegengefärbt und eingedeckt.

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgt unter Nutzung eines Lichtmikroskops. Das Färbemuster wird mit Kontrollobjektträgern verglichen, die drei formalinfixierte, paraffineingebettete humane Mammakarzinom-Zelllinien mit Färbungsintensitäten der Grade 0, 1+ und 3+ enthalten. Die Interpretation dieses semiquantitativen Scores zeigt folgende Tabelle:

Anfärbungsmuster	Gradeinteilung	Bewertung
Keine Anfärbung beobachtbar oder eine Membranfärbung wird bei weniger als 10 % der Tumorzellen festgestellt.	0	negativ
Bei mehr als 10 % der Tumorzellen wird eine schwache/kaum sichtbare Membranfärbung festgestellt. Nur ein Teil der Zellmembran wird angefärbt	1+	negativ
Bei mehr als 10 % der Tumorzellen wird eine schwache bis mittelgradige komplette Anfärbung der Zellmembran beobachtet.	2+	schwach positiv
Bei mehr als 10 % der Tumorzellen wird eine starke komplette Anfärbung der Zellmembran beobachtet.	3+	stark positiv

Tabelle 9: Interpretation des HercepTest™

Das HercepTest™-Kit ist als ein Hilfsmittel für die Beurteilung von Patientinnen anerkannt, für die eine Behandlung mit Herceptin™ (Trastuzumab) in Erwägung gezogen wird.

2.2.2 Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH)

Tumorgewebeproben, die in der immunhistochemischen Untersuchung eine schwache HER-2/neu-Überexpression aufwiesen (Dako-Score 2+), wurden, sofern klinisch relevant, zusätzlich hinsichtlich einer HER-2/neu-Genamplifikation mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung beurteilt. Hierfür wurde das PathVysion®-Kit der Firma Abbott verwendet. Die formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitte werden dabei zunächst in eine heiße Formamid-Lösung gegeben, um die zelluläre DNA zu denaturieren. Anschließend wird das Gewebe mit den verschiedenfarbig markierten DNA-Sonden LSI® und CEP®17 inkubiert. Die LSI®-HER-2/neu-DNA-Sonde ist eine 190 kb große, mit dem Fluorochrom SpectrumOrange direktmarkierte spezifische DNA-Sonde für den Genlocus von HER-2/neu auf dem Chromosom 17 (17q11.2-q12). Die 5,4 kb große, mit dem Fluorochrom SpectrumGreen direktmarkierte CEP®17-Sonde bindet spezifisch an die alpha-Satelliten-DNA-Sequenz im Zentromerbereich von Chromosom 17 (17p11.1-q11.1). Nach der Hybridisierung mit der komplementären zellulären DNA wird überschüssiges Sondenmaterial durch Waschen des Gewebeschnittes entfernt. Nach Gegenfärben mit einem blau fluoreszierenden Farbstoff wird die Gewebeprobe unter einem Fluoreszenz-Mikroskop begutachtet und die verschiedenfarbigen Signale gezählt. Wenn das Verhältnis von der Anzahl der Kopien des HER-2/neu-Gens zur Anzahl der Kopien des Chromosoms 17 größer oder gleich 2,0 ist, wird das HER-2/neu-Gen als amplifiziert erachtet.

Das standardisierte PathVysion™ HER-2/neu-DNA-Sonden-Kit wurde von der FDA (Food and Drug Administration, USA) zur Untersuchung des HER-2/neu-Genstatus bei Mammakarzinomen freigegeben.

2.3 Labormethoden

2.3.1 Blutproben

Die Blutentnahme erfolgte mittels Venenpunktion vor Beginn der Primärtherapie. Die gewonnenen Blutproben wurden am Tag der Blutentnahme bei 10°C mit 2000×g zentrifugiert und die Tumormarker CA 15-3 und CEA im so gewonnenen Serum gemessen. Das übrige Serum wurde bis zur Messung von HER-2/neu-Shed Antigen bei -80°C aufbewahrt.

2.3.2 Bestimmung der Tumormarker

2.3.2.1 *s-HER-2/neu*

Zur Bestimmung des s-HER-2/neu wurde ein vollautomatischer Zweischnitt-Sandwich-Immunoassay nach dem direkten Chemilumineszenz-Verfahren verwendet (ADVIA Centaur® System, Firma Bayer). Das dabei verwendete Lite-Reagenz besteht aus dem mit Acridiniumester markierten monoklonalen Maus-Antikörper TA-1. Das Fluorescein-Konjugat-Reagenz besteht aus dem monoklonalen Maus-Antikörper NB-3, der mit Fluorescein markiert ist. Diese beiden monoklonalen Antikörper wirken spezifisch auf die eindeutigen Epitope auf der ECD von HER-2/neu. Die Matrix besteht aus gereinigtem monoklonalem Anti-Fluorescein-Capture-Antikörper der Maus, der kovalent an paramagnetische Partikel gebunden ist. Die Probe wird mit dem Fluorescein-Konjugat-Reagenz und Lite-Reagenz gleichzeitig inkubiert. Anschließend wird die Matrix hinzugefügt und die Mischung nochmals inkubiert. Danach wird der gebildete Immunkomplex gewaschen und dann die Chemilumineszenz-Reaktion gestartet. Zwischen der Menge an s-HER-2/neu in der Serumprobe und den vom System gemessenen relativen Lichteinheiten besteht ein direkt proportionales Verhältnis.

2.3.2.2 *Cancer Antigen 15-3 (CA 15-3)*

Die Messung des Cancer Antigen 15-3 erfolgte mittels eines Elektrochemilumineszenz-Immunoassays (ECLIA) am Immunoassay-Analytenautomaten Elecsys® 2010 der Firma Roche Diagnostics (Penzberg, Deutschland). Dieser verwendet die monoklonalen Antikörper 115D8 und DF3 in einem Sandwich-Assay. Die Serumprobe wird mit dem biotinylierten und

dem mit Ruthenium-Komplex markierten Antikörper inkubiert und es bildet sich ein Sandwichkomplex. Anschließend werden dem Gemisch mit Streptavidin beschichtete Mikropartikel beigefügt und der Sandwichkomplex wird über Biotin-Streptavidin-Wechselwirkung an die Partikel gebunden. Das Reaktionsgemisch wird nun in die Messzelle überführt, wo die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die Oberfläche der Elektrode fixiert werden. Nach Entfernen der ungebundenen Substanzen wird durch Anlegen einer Spannung die Chemilumineszenzemission induziert und mit einem Photomultiplier gemessen. Die Ergebnisse werden dann anhand einer Kalibrationskurve ermittelt.

2.3.2.3 *Carcinoembryonales Antigen (CEA)*

Die Bestimmung des Carcinoembryonalen Antigens wurde mit Hilfe eines automatisierten Mikropartikel-Enzymimmunoassays (MEIA; AXSYM® System) der Firma Abbott Diagnostics (Chicago, USA) durchgeführt. Dabei wird die Probe zusammen mit den mit anti-CEA beschichteten Mikropartikeln in eine Vertiefung eines Reaktionseinsatzes pipettiert. Während der Inkubation dieses Gemisches bildet das in der Probe enthaltene CEA mit den Mikropartikeln einen Antigen-Antikörper-Komplex. Ein Teil des Reaktionsgemisches wird dann auf die Matrixzelle überführt und die Mikropartikel werden irreversibel daran gebunden. Anschließend wird die Matrix gewaschen, um ungebundenes Material zu entfernen. Nun wird ein Konjugat aus anti-CEA und alkalischer Phosphatase auf die Matrixzelle pipettiert, das an den Antigen-Antikörper-Komplex bindet. Anschließend wird die Matrix wieder gewaschen und das Substrat (4-Methylumbelliferyl-Phosphat) wird auf die Matrixzelle gegeben. Das Fluoreszenzsignal wird mit dem optischen Messsystem für MEIA gemessen.

2.4 Statistik

2.4.1 Werteverteilung

Für die Darstellung der Tumormarkerwerteverteilung wurden der Median, die 5te und die 95ste Perzentile, sowie die Spannweite bestimmt. Die grafische Darstellung erfolgte in der Regel anhand von Boxplots. Eine beispielhafte Darstellung zeigt Abbildung 5.

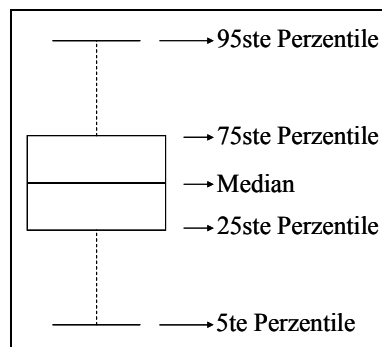


Abbildung 5: Legende Box-Plot

An Stellen, wo es sinnvoll erschien, kamen zur Illustration der Werteverteilungen außerdem Dot-Plots zur Anwendung.

2.4.2 Signifikanzprüfung

Zur Überprüfung eines Zusammenhangs zwischen Tumormarkerkonzentrationen und den verschiedenen Prognosefaktoren wurden zweierlei Tests durchgeführt: Bei Variablen, für die es zwei Ausprägungsgrade gibt, kam der Wilcoxon-Test zur Anwendung. Bei Variablen mit drei oder mehr Ausprägungsgraden wurde der Test nach Jonckheere-Terpstra verwendet, welcher eine Verallgemeinerung des Wilcoxon-Tests für mehrere geordnete Klassen darstellt. Korrelationen zwischen den verschiedenen Tumormarkern wurden mit Hilfe des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman analysiert.

Das Signifikanzniveau wurde auf $P < 0,05$ festgelegt.

2.4.3 Sensitivität/Spezifität

Um die diagnostische Kapazität von s-HER-2/neu in Bezug auf die Bestimmung des HER-2/neu-Gewebestatus (HER-2/neu-positiv oder HER-2/neu-negativ) zu bestimmen, wurde eine ROC-Kurve (Receiver Operating Characteristic) erstellt. Hierfür werden für jeden möglichen Cut-off-Wert für s-HER-2/neu die resultierenden relativen Häufigkeitsverteilungen (Anteil der Personen mit s-HER-2/neu-Werten über bzw. unter dem jeweiligen Cut-off in den beiden Gruppen der HER-2/neu-positiven bzw. HER-2/neu-negativen Patientinnen) ermittelt und daraus die jeweils zugehörige Sensitivität und Spezifität errechnet. Diese werden in einem Diagramm mit der Ordinate Sensitivität und der Abszisse 1-Spezifität gegeneinander aufgetragen. Im Falle großer diagnostischer Kapazität resultiert eine gekrümmte, parabelartige Kurve.

2.4.4 Prognose – univariate Analyse und Cut-off-Bestimmung

Ob einzelne Parameter Einfluss auf das rezidivfreie Überleben bzw. das Gesamtüberleben hatten, wurde mit dem Log-rank Test geprüft. Überlebenskurven wurden nach der Methode von Kaplan-Meier [48] berechnet und grafisch dargestellt. Die dazugehörigen Überlebensraten wurden ebenfalls nach Kaplan-Meier geschätzt. Stetige Variablen wie in dieser Arbeit die Konzentrationen von s-HER-2/neu, CA15-3 und CEA müssen für die Kaplan-Meier-Analyse mit Hilfe von Cut-Off-Werten in zwei oder mehrere Klassen eingeteilt werden. Alle gemessenen Tumormarkerwerte zwischen der 5ten und der 95ten Perzentile wurden deshalb univariat mittels Log-rank Test für alle denkbaren Cut-off-Werte auf Signifikanz überprüft. Gemäß den Empfehlungen von Altman et al. wurde dabei das Signifikanzniveau auf einen P-Wert von 0,0017 adjustiert [49]. Die Ergebnisse dieser Signifikanzprüfung werden in einer Grafik dargestellt. Ein Beispiel zeigt Abbildung 6.

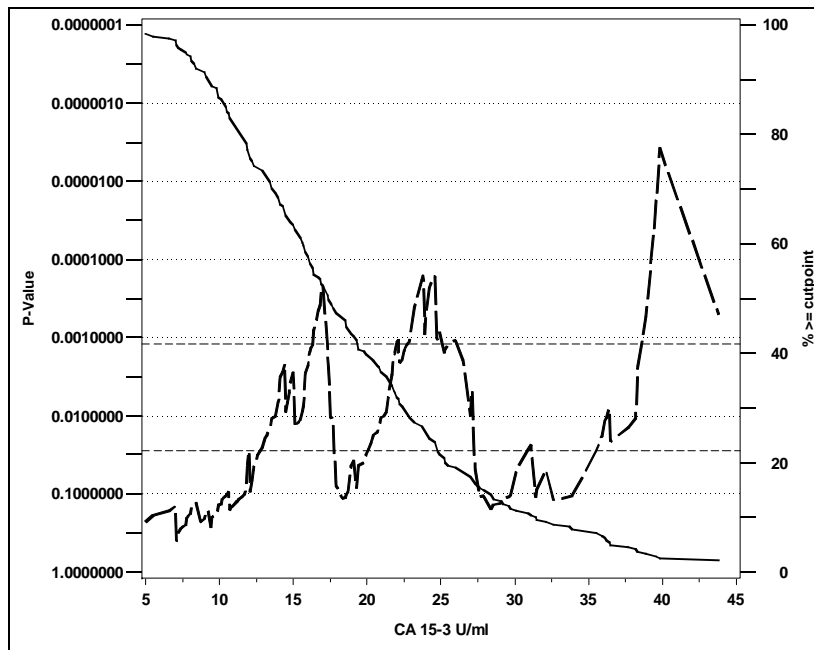


Abbildung 6: Beispiel einer P-Wert-Kurve zur Bestimmung eines Cut-off-Wertes.

Auf der Abszisse sind die Tumormarkerwerte (hier: CA15-3) zwischen 5ter und 95ster Perzentile aufgetragen. Die durchgezogene Kurve resultiert aus den P-Werten (linke senkrechte Achse) in Abhängigkeit von den verschiedenen als Cut-off gewählten Tumormarkerwerten. Die von links oben nach rechts unten abfallende gestrichelte Kurve zeigt den Prozentsatz der Personen mit Tumormarkerwerten gleich oder oberhalb des jeweiligen Cut-off-Wertes (rechte senkrechte Achse). Die beiden horizontalen gestrichelten Linien zeigen jeweils das üblicherweise gewählte Signifikanzniveau ($P < 0,05$) und das von Altmann et al. für diese optimierte Cut-off-Findung empfohlene und von uns verwendete Signifikanzniveau von $P < 0,0017$.

2.4.5 Prognose – multivariate Analyse: Cox'sches Regressionsmodell

Alle Parameter, die univariat getestet wurden, gingen auch in die multivariate Regressions-Analyse nach Cox [50] ein. Die Tumormarkerkonzentrationen wurden dabei als stetige Variablen berücksichtigt und wurden mittels Division durch den jeweiligen Median der rezidivfreien Frauen (siehe Kapitel 2.1.2) normiert.

Zur Modellbildung wurde folgende Strategie gewählt: Zunächst wurde ein optimales Modell nur mit klinischen Variablen gesucht. Dann wurden alle Tumormarker simultan in das Modell eingeschlossen und mittels Rückwärts-Selektion nacheinander jeweils derjenige Tumormarker aus dem Modell ausgeschlossen, der den höchsten P-Wert hatte. Dieser Prozess

Material und Methoden

wurde gestoppt, sobald nur noch Variablen mit $P < 0,05$ im Modell waren. Es wurde außerdem geprüft, ob sich mittels Vorwärts-Selektion das gleiche Modell ergibt.

Desweiteren wurden Wechselwirkungen zwischen allen Variablen auf Signifikanz geprüft sowie die Prognosefaktoren auf Zeitabhängigkeit getestet.

2.4.6 Software

Die statistischen Analysen wurden mit SAS-Software (SAS V9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC) und mit Hilfe des Programms R (V. 2.6.2, The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) berechnet.

3 ERGEBNISSE

3.1 s-HER-2/neu-Werte bei Gesunden, rezidivfreien Frauen und Patientinnen

3.1.1 Wertlagen des gesunden Kontrollkollektives

3.1.1.1 Abhängigkeit vom Geschlecht

Bei der Betrachtung der Wertlagen des HER-2/neu-Shed Antigens im gesunden Kontrollkollektiv fiel auf, dass die s-HER-2/neu-Konzentrationen bei den Frauen mit einem Median von 9,9ng/ml signifikant niedriger liegen als die der Männer (Median 12,9ng/ml) (Tabelle 10, Abbildung 7).

Geschlecht		s-HER-2/neu (ng/ml)				P-Wert
		Median	5te P*.	95ste P*.	Bereich	
Männer	(N=99)	12,9	9,4	17,5	7,3-19,2	<0,001
Frauen	(N=184)	9,9	6,1	14,2	4,3-21,1	

Tabelle 10: s-HER-2/neu bei Gesunden in Abhängigkeit vom Geschlecht. (*=Perzentile)

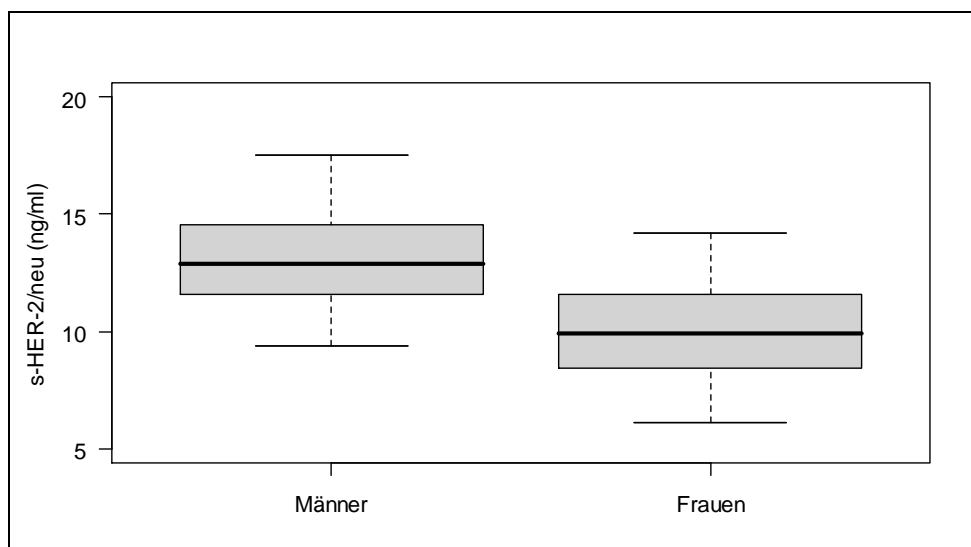


Abbildung 7: s-HER-2/neu bei Gesunden in Abhängigkeit vom Geschlecht.

Ergebnisse

3.1.1.2 Abhängigkeit vom Alter

Aufgrund der zuvor festgestellten Abhängigkeit der s-HER-2/neu-Konzentrationen vom Geschlecht der gesunden Probanden wurde die Untersuchung auf einen Zusammenhang mit dem Alter der Versuchspersonen getrennt nach Geschlecht durchgeführt. Es zeigte sich bei den Frauen eine signifikante Abhängigkeit vom Alter, wobei jüngere Frauen niedrigere Werte aufwiesen als ältere. Die Mediane der s-HER-2/neu-Werte betragen in der Gruppe der unter 35-jährigen, der 35-45-jährigen, der 45-55-jährigen und der über 55-jährigen 9,1ng/ml, 10,0ng/ml, 11,1ng/ml bzw. 11,4ng/ml ($P < 0,001$).

Für die Männer fand sich ein derartiger Zusammenhang nicht. Die medianen s-HER-2/neu-Konzentrationen betragen in der Gruppe der unter 35-jährigen, der 35-45-jährigen, der 45-55-jährigen und der über 55-jährigen 12,9ng/ml, 13,1ng/ml, 12,6ng/ml bzw. 13,1ng/ml ($P = 0,49$). Eine Übersicht gibt Tabelle 11 bzw. Abbildung 8.

Geschlecht	Alter		s-HER-2/neu (ng/ml)				
	Jahre	N	Median	5te P*.	95ste P*.	Bereich	P-Wert
Männer	<35	44	12,9	9,6	16,0	7,3-17,8	0,49
	35-45	23	13,1	8,9	18,2	8,2-19,0	
	45-55	16	12,6	9,1	19,2	9,1-19,2	
	≥55	16	13,1	9,4	16,8	9,4-16,8	
Frauen	<35	86	9,1	5,9	12,5	4,3-13,7	<0,001
	35-45	37	10,0	6,1	15,0	6,1-15,8	
	45-55	41	11,1	8,4	15,1	6,3-21,1	
	≥55	20	11,4	7,6	15,7	7,3-16,8	

Tabelle 11: s-HER-2/neu bei Gesunden in Abhängigkeit vom Alter. (*=Perzentile)

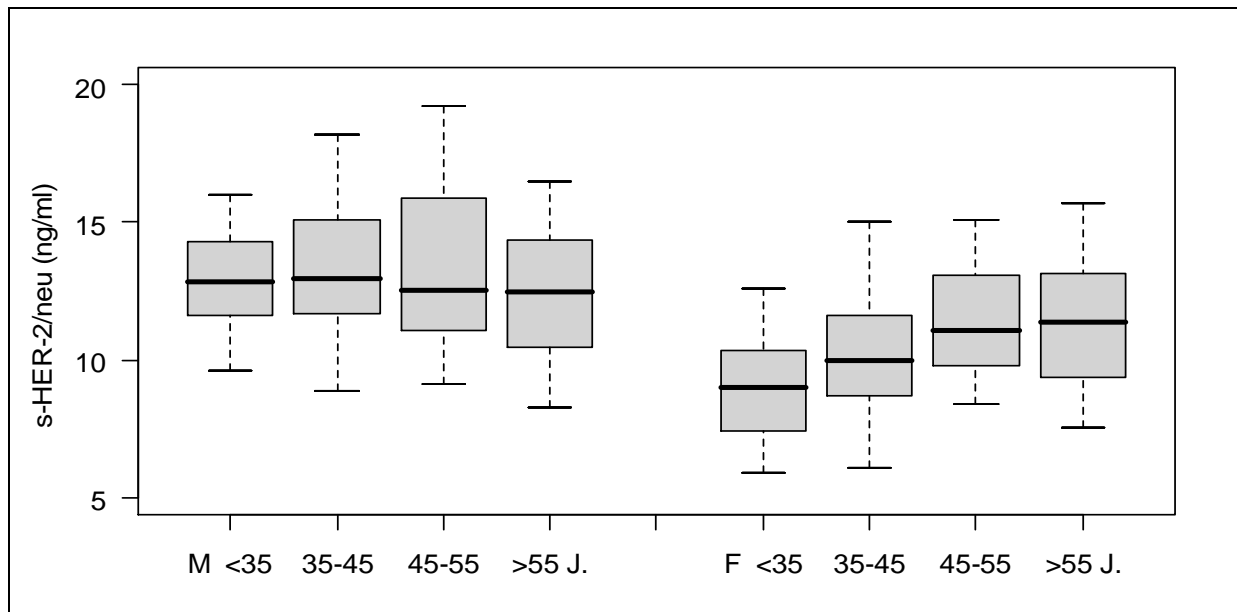


Abbildung 8: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Alter bei beiden Geschlechtern (M=Männer, F=Frauen).

3.1.2 Vergleich der Wertlagen von rezidivfreien Frauen und Patientinnen

Aufgrund der ausgeprägten Abhängigkeit der s-HER-2/neu-Werte vom Alter wurden zum Vergleich der Wertlagen zwischen Mammakarzinompatientinnen und Frauen ohne aktive Tumorerkrankung nicht die wesentlich jüngeren gesunden Frauen, sondern das Kollektiv der rezidivfreien Patientinnen (NED) genutzt.

Zwischen den s-HER-2/neu-Konzentrationen von rezidivfreien Frauen und Patientinnen fand sich kein signifikanter Unterschied: die Mediane betragen in beiden Gruppen 12,0ng/ml ($P=0,91$). Die Gruppe der Patientinnen wurde nun getrennt nach dem primären Metastasierungsstatus betrachtet. Hierbei fiel ein signifikanter Unterschied zwischen den Wertlagen der Patientinnen ohne primäre Fernmetastasen (M0) und derer mit primären Fernmetastasen (M1) auf ($P=0,01$). Die Mediane betragen jeweils 11,9 bzw. 14,2ng/ml. Eine Übersicht über die Werteverteilungen in den unterschiedlichen Gruppen geben Tabelle 12 und Abbildung 9.

Ergebnisse

Kollektiv	s-HER-2/neu (ng/ml)				
	Median	5te P*.	95ste P*.	Bereich	P-Wert
NED (N=423)	12,0	9,0	16,6	5,7-24	0,91
Patientinnen gesamt (N=565)	12,0	8,1	19,8	5,3-12916,0	
Patientinnen M0 (N=531)	11,9	7,9	19,3	5,3-156,0	0,01
Patientinnen M1 (N=34)	14,2	8,7	1753,0	7,7-12916,0	

Tabelle 12: Wertlagen von s-HER-2/neu bei rezidivfreien Frauen und Patientinnen.

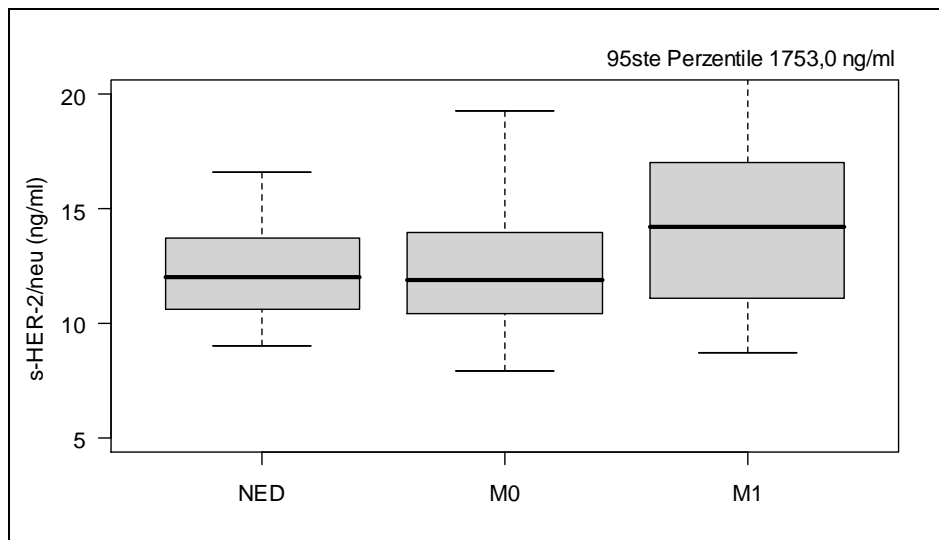


Abbildung 9: Wertlagen von s-HER-2/neu bei rezidivfreien Frauen und Patientinnen ohne (M0) und mit Fernmetastasen (M1).

3.2 Korrelation von s-HER-2/neu mit den gängigen Prognosefaktoren

Die Untersuchung der Korrelation von s-HER-2/neu mit den Prognosefaktoren erfolgte nur für die Gruppe der Patientinnen ohne primäre Fernmetastasen (M0), um eine Verzerrung der Ergebnisse durch die teils extrem hohen Tumormarkerkonzentrationen der primär-metastasierten Patientinnen zu vermeiden.

Um die Vor- bzw. Nachteile des HER-2/neu-Shed Antigens gegenüber den bisher beim Mammakarzinom etablierten Tumormarkern zu evaluieren, werden die Korrelationen mit den Prognosefaktoren auch für CA15-3 und CEA geprüft.

3.2.1 Menopausenstatus

Bei der Untersuchung auf eine Abhängigkeit der Tumormarkerkonzentrationen vom Menopausenstatus ergab sich sowohl für das HER-2/neu-Shed Antigen als auch für CEA eine signifikante Korrelation ($P < 0,001$ bzw. $P = 0,004$), wobei die Frauen in der Postmenopause höhere Werte der entsprechenden Tumormarker aufwiesen als die in der Prämenopause. Für CA 15-3 konnte kein Zusammenhang mit dem Menopausenstatus nachgewiesen werden ($P = 0,84$). Einen Überblick über die Wertlagen der Tumormarker in Abhängigkeit vom Menopausenstatus geben die Tabellen 13 und 14 und Abbildung 10.

Menopausenstatus		s-HER-2/neu (ng/ml)				
		Median	5te P*.	95ste P*.	Bereich	P-Wert
Prämenopause	(N=134)	10,9	7,4	17,5	5,3-31,7	<0,001
Postmenopause	(N=373)	12,4	8,6	19,4	5,3-156,0	

Tabelle 13: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Menopausenstatus. (*=Perzentile)

Menopausenstatus		CA 15-3 (U/ml)			CEA (ng/ml)		
		Median	95ste P*.	P-Wert	Median	95ste P*.	P-Wert
Prämenopause	(N=134)	18,6	41,4	0,84	1,0	3,6	0,004
Postmenopause	(N=373)	18,5	39,2		1,2	6,1	

Tabelle 14: CA 15-3 und CEA in Abhängigkeit vom Menopausenstatus. (*=Perzentile)

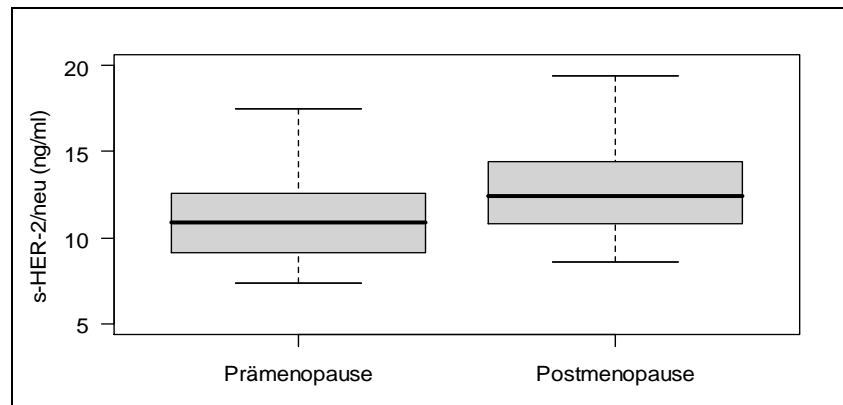


Abbildung 10: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Menopausenstatus.

3.2.2 Tumorgröße (pT)

Aufgrund der geringen Fallzahlen wurden für die Auswertung des Zusammenhangs zwischen den Tumormarkerkonzentrationen und der Tumorgröße pT die nicht-invasiven Karzinome (Tis) den T1-Tumoren zugeordnet sowie die T3- und T4-Tumore zu einer Gruppe zusammengefasst.

Es ergab sich für alle drei Tumormarker eine signifikante Abhängigkeit von der Tumorgröße mit höheren Werten bei größeren Tumoren, wobei das HER-2/neu-Shed Antigen mit einem P-Wert von 0,045 die schwächste Korrelation zeigte. Die medianen Konzentrationen im Serum betragen hier 11,7ng/ml in der Gruppe der T1-Tumoren und nicht-invasiven Karzinome, 12,2ng/ml bei den Patientinnen mit T2-Tumoren und 12,7ng/ml bei den Frauen mit T3-/T4-Tumoren (Tabellen 15 und 16, Abbildung 11).

Tumorgröße			s-HER-2/neu (ng/ml)				
			Median	5te P*.	95ste P*.	Bereich	P-Wert
pT	Is/1	(N=277)	11,7	7,9	17,0	5,3-32,1	0,045
	2	(N=173)	12,2	8,1	18,2	5,3-31,7	
	3/4	(N=31)	12,7	8,8	31,7	7,9-156,0	

Tabelle 15: s-HER-2/neu in Abhängigkeit von der Tumorgröße. (*=Perzentile)

Tumorgröße			CA 15-3 (U/ml)			CEA (ng/ml)		
			Median	95ste P*.	P-Wert	Median	95ste P*.	P-Wert
pT	Is/1	(N=277)	17,2	33,7		1,0	3,7	
	2	(N=173)	18,2	38,9	<0,001	1,2	4,9	<0,001
	3/4	(N=31)	23,2	50,8		1,8	14,3	

Tabelle 16: CA 15-3 und CEA in Abhängigkeit von der Tumorgröße. (*=Perzentile)

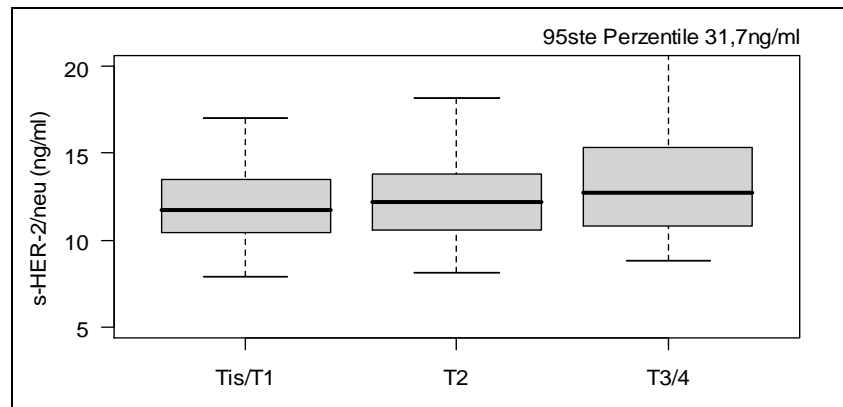


Abbildung 11: s-HER-2/neu in Abhängigkeit von der Tumorgöße pT.

3.2.3 Lymphknotenstatus (pN)

Ein Zusammenhang zwischen dem Lymphknotenstatus pN und den s-HER-2/neu-Konzentrationen konnte nicht festgestellt werden (P=0,49). Die Mediane der s-HER-2/neu-Werte betragen bei den Patientinnen mit Lymphknotenstatus N0, N1, N2 und N3 11,9ng/ml, 11,7ng/ml, 12,5ng/ml bzw. 12,7ng/ml (Tabelle 17, Abbildung 12).

Lymphknotenstatus			s-HER-2/neu (ng/ml)				P-Wert
			Median	5te P*	95ste P*	Bereich	
pN	0	(N=309)	11,9	8,5	17,1	5,3-23,5	0,49
	1	(N=129)	11,7	7,4	18,2	6,6-31,7	
	2	(N=26)	12,5	9,4	31,7	7,0-156,0	
	3	(N=9)	12,7	11,1	32,1	11,1-32,1	

Tabelle 17: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus. (*=Perzentile)

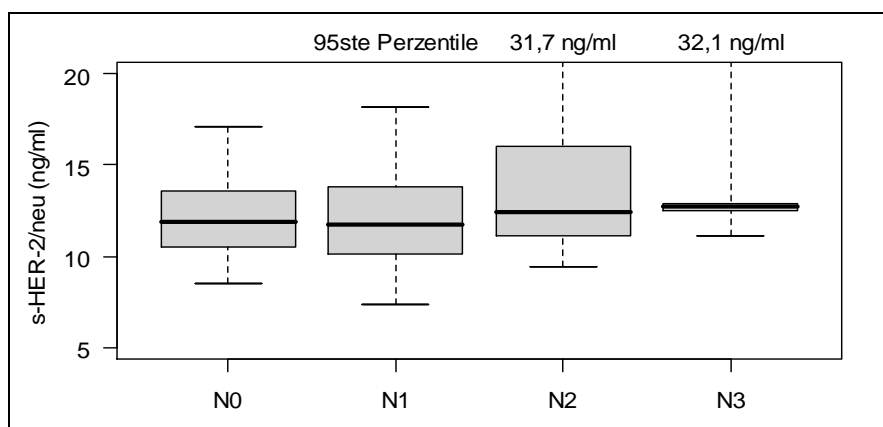


Abbildung 12: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus.

Ergebnisse

Der Tumormarker CA15-3 zeigte mit medianen Konzentrationen von 17,3U/ml, 18,7U/ml, 19,2U/ml und 21,5U/ml für Patientinnen mit einem Lymphknotenstatus von N0, N1, N2 bzw. N3 eine signifikante Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus mit höheren Werten bei Patientinnen mit mehreren befallenen Lymphknoten.

Auch für den Tumormarker CEA besteht ein Zusammenhang mit dem Lymphknotenstatus mit höheren Konzentrationen bei Patientinnen mit mehreren befallenen Lymphknoten. Das Signifikanzniveau wurde mit einem P-Wert von 0,048 aber nur knapp erreicht.

Eine Übersicht gibt Tabelle 18.

Lymphknotenstatus			CA 15-3 (U/ml)			CEA (ng/ml)		
			Median	95ste P*.	P-Wert	Median	95ste P*.	P-Wert
pN	0	(N=309)	17,3	32,3	0,02	1,0	5,4	0,048
	1	(N=129)	18,7	39,6		1,1	3,6	
	2	(N=26)	19,2	56,3		1,9	4,9	
	3	(N=9)	21,5	50,8		1,5	14,3	

Tabelle 18: CA 15-3 und CEA in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus. (*=Perzentile)

3.2.4 UICC-Stadium

Bei der Prüfung eines Zusammenhanges zwischen den Tumormarkerkonzentrationen und dem Stadium nach UICC ergab sich keine Abhängigkeit für das HER-2/neu-Shed Antigen (P=0,16) (Tabelle 19, Abbildung 13).

UICC-Stadium		s-HER-2/neu (ng/ml)				
		Median	5te P*.	95ste P*.	Bereich	P-Wert
UICC I	(N=212)	11,8	8,2	16,6	5,3-23,5	0,16
UICC II	(N=201)	11,8	8,1	18,2	5,3-31,7	
UICC III	(N=53)	12,5	8,8	31,7	7,0-156,0	

Tabelle 19: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom UICC-Stadium. (*=Perzentile)

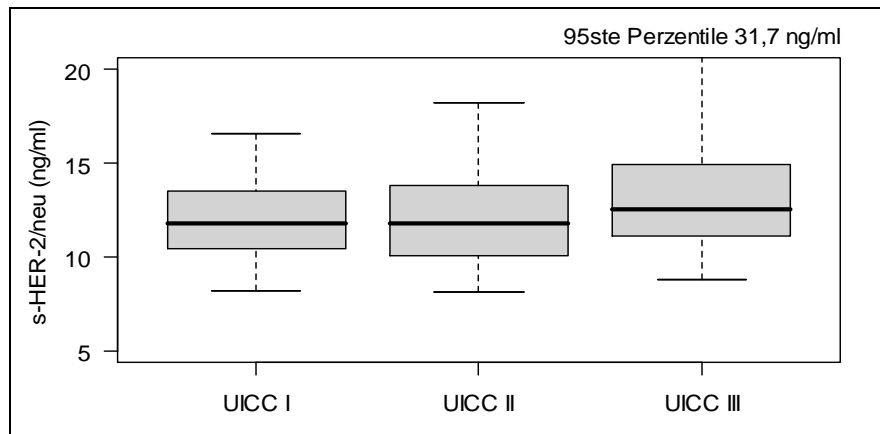


Abbildung 13: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom UICC-Stadium.

Die Tumormarker CA15-3 und CEA nahmen signifikant höhere Werte bei Patientinnen mit fortgeschrittenen Stadien an (P=0,003 bzw. <0,001).

Eine Übersicht über die Werteverteilungen der beiden Marker gibt die Tabelle 20.

UICC-Stadium		CA 15-3 (U/ml)			CEA (ng/ml)		
		Median	95ste P*.	P-Wert	Median	95ste P*.	P-Wert
UICC I	(N=212)	16,7	32,3		1,0	4,1	
UICC II	(N=201)	18,3	38,3	0,003	1,1	4,0	<0,001
UICC III	(N=53)	20,1	50,8		1,8	10,9	

Tabelle 20: CA 15-3 und CEA in Abhängigkeit vom UICC-Stadium. (*=Perzentile)

3.2.5 Grading

Bei der Untersuchung auf das Vorliegen einer Abhängigkeit der Tumormarkerkonzentrationen vom histologischen Grading des Primärtumors ergab sich weder für das HER-2/neu-Shed Antigen noch für CEA eine Korrelation. Für CA15-3 ergab sich ein Trend mit höheren Werten bei geringer differenzierten Tumoren. Das Signifikanzniveau wird mit einem P-Wert von 0,07 aber nicht erreicht.

Eine Übersicht über die Werteverteilung in Abhängigkeit vom Grading zeigen Tabellen 21 und 22 und Abbildung 14.

Ergebnisse

Grading		s-HER-2/neu (ng/ml)				
		Median	5te P*.	95ste P*.	Bereich	P-Wert
G 1	(N=60)	11,9	8,8	16,3	7,9-19,6	
G 2	(N=294)	11,8	7,5	18,7	6,4-156,0	0,90
G 3	(N=168)	12,1	8,7	20,4	5,3-76,0	

Tabelle 21: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Grading. (*=Perzentile)

Grading		CA 15-3 (U/ml)			CEA (ng/ml)		
		Median	95ste P*.	P-Wert	Median	95ste P*.	P-Wert
G 1	(N=60)	16,5	34,0		1,0	5,9	
G 2	(N=307)	18,4	39,8	0,07	1,2	4,9	0,34
G 3	(N=186)	19,3	43,9		1,1	6,5	

Tabelle 22: CA 15-3 und CEA in Abhängigkeit vom Grading. (*=Perzentile)

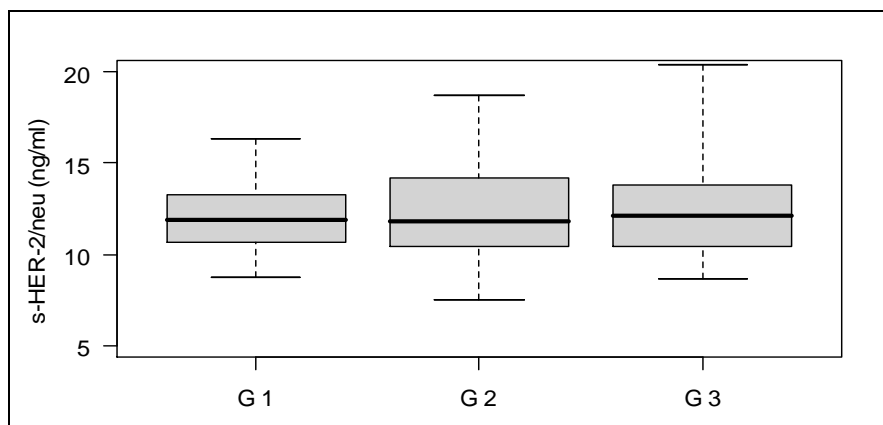


Abbildung 14: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Grading.

3.2.6 Hormonrezeptoren

Es wurde geprüft, inwiefern ein Zusammenhang zwischen s-HER-2/neu-Konzentrationen und Expressionsmuster der Östrogen- und Gestagenrezeptoren im Tumorgewebe besteht. Weder für die getrennte Betrachtung der beiden Rezeptortypen noch für die Betrachtung der Kombination beider Rezeptoren (Positivität für mindestens einen der beiden Rezeptortypen bzw. Negativität für beide Typen) ergab sich eine Korrelation (Tabelle 23, Abbildung 15).

Ergebnisse

Hormonrezeptorstatus	s-HER-2/neu (ng/ml)				P-Wert
	Median	5te P*.	95ste P*.	Bereich	
Östrogenrezeptor					
Positiv (N=397)	11,9	8,1	18,1	5,3-156,0	0,83
Negativ (N=134)	12,1	7,8	31,7	5,3-76,0	
Gestagenrezeptor					
Positiv (N=347)	11,9	7,9	17,5	5,3-156,0	0,39
Negativ (N=184)	12,1	8,1	21,4	5,3-76,0	
Mind. 1 Rez. Positiv (N=424)	11,9	7,9	17,7	5,3-156,0	0,63
Beide negativ (N=107)	12,0	8,1	31,7	5,3-76,0	

Tabelle 23: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Hormonrezeptorstatus. (*=Perzentile)

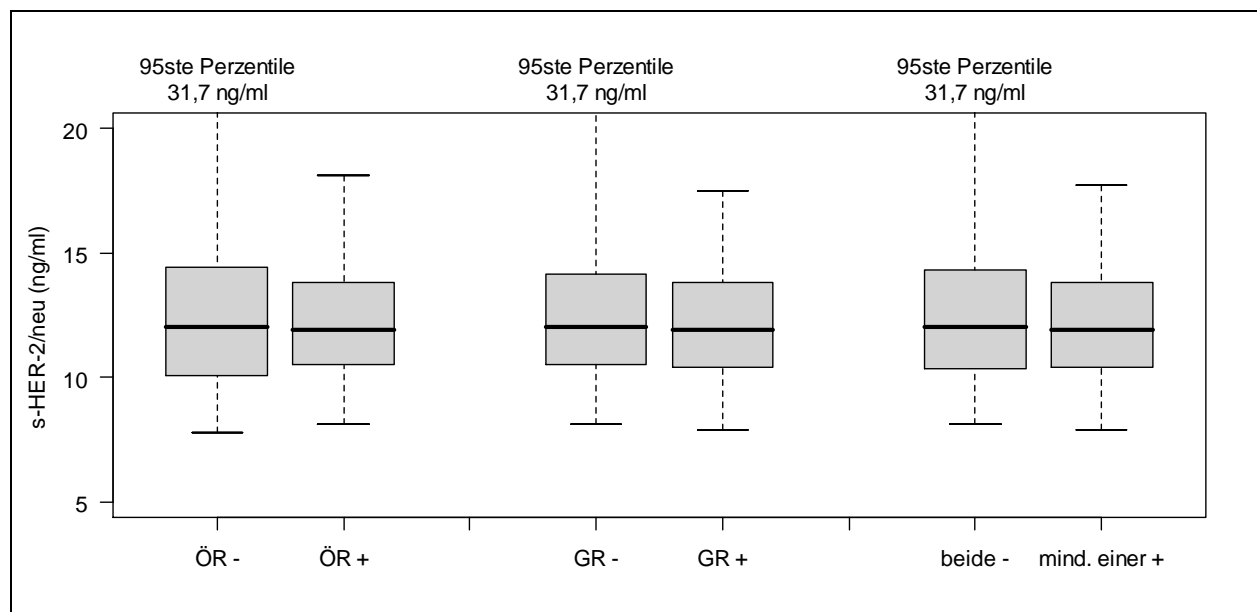


Abbildung 15: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Hormonrezeptorstatus (ÖR= Östrogenrezeptorstatus, GR= Gestagenrezeptorstatus).

Bei der Untersuchung der anderen Tumormarker fand sich lediglich eine schwache Korrelation von CEA mit dem Östrogenrezeptorstatus, mit niedrigeren Konzentrationen bei Östrogenrezeptor-negativen Patientinnen ($P=0,02$) (Tabelle 24).

Ergebnisse

Hormonrezeptorstatus	CA 15-3 (U/ml)			CEA (ng/ml)		
	Median	95ste P*.	P-Wert	Median	95ste P*.	P-Wert
Östrogenrezeptor						
Positiv (N=397)	18,5	37,7	0,35	1,2	5,4	0,02
Negativ (N=134)	18,6	45,5		1,0	5,4	
Gestagenrezeptor						
Positiv (N=347)	18,6	38,2	0,57	1,2	4,9	0,10
Negativ (N=184)	18,4	43,9		1,0	5,4	
Mind. 1 Rez. Positiv (N=424)	18,3	37,2	0,06	1,1	5,2	0,08
Beide negativ (N=107)	20,2	53,7		1,0	5,4	

Tabelle 24: CA 15-3 und CEA in Abhängigkeit vom Hormonrezeptorstatus. (*=Perzentile)

3.3 Korrelation von s-HER-2/neu mit den Tumormarkern CA 15-3 und CEA

Es wurde untersucht inwiefern ein Zusammenhang zwischen den Konzentrationen der verschiedenen Tumormarker besteht. Dabei wurden unabhängig vom Vorliegen von Fernmetastasen alle Patientinnen in die Untersuchung mit eingeschlossen.

Es zeigte sich, dass die Konzentrationen HER-2/neu-Shed Antigens sowohl mit denen von CA15-3 als auch mit denen von CEA korrelieren. Zwischen CA15-3 und CEA besteht ebenfalls ein Zusammenhang. Die jeweiligen Korrelationskoeffizienten und P-Werte zeigt Tabelle 25.

Korrelationskoeffizient r* (P-Wert)	CA15-3	CEA
s-HER-2/neu	r=0,19 (<0,001)	r=0,25 (<0,001)
CEA	r=0,15 (<0,001)	

Tabelle 25: Korrelationen der Tumormarker untereinander (*: nach Spearman).

3.4 Korrelation von s-HER-2/neu mit dem HER-2/neu-Gewebestatus

3.4.1 Korrelation mit der Immunhistochemie

Es wurde geprüft, inwiefern die Konzentration des HER-2/neu-Shed Antigens im Serum mit der Überexpression des HER-2/neu-Onkogens im Tumorgewebe zusammenhängt. Es fand sich eine positive Korrelation mit dem IHC-Score ($P \leq 0,001$). Die Mediane der s-HER-2/neu-Konzentrationen bei Patientinnen mit einem IHC-Score von 0, 1+, 2+, und 3+ betragen 11,9ng/ml, 11,6ng/ml, 11,7ng/ml bzw. 13,4ng/ml (Tabelle 26, Abbildungen 16 und 17)

Immunhistochemie	s-HER-2/neu (ng/ml)				P-Wert
	Median	5te P*.	95ste P*.	Bereich	
IHC-Score 0 (N=231)	11,9	7,7	16,7	6,8-28,4	0,003
IHC-Score 1+ (N=137)	11,6	7,9	16,8	5,3-26,1	
IHC-Score 2+ (N=64)	11,7	8,5	16,8	6,4-20,4	
IHC-Score 3+ (N=99)	13,2	8,4	38,3	6,9-156,0	

Tabelle 26: s-HER-2/neu in Abhängigkeit von der HER-2/neu-Überexpression. (*=Perzentile)

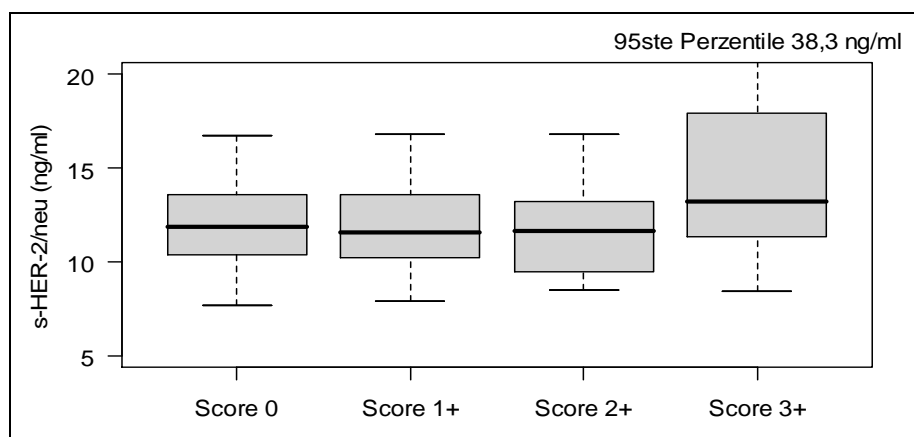


Abbildung 16: Boxplot: s-HER-2/neu in Abhängigkeit von der HER-2/neu-Überexpression.

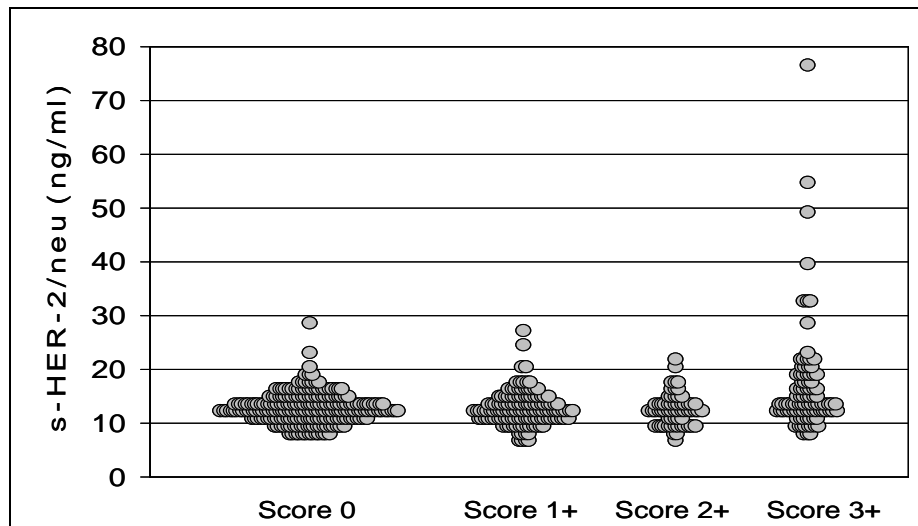


Abbildung 17: Dotplot: s-HER-2/neu in Abhängigkeit von der HER-2/neu-Überexpression.

3.4.2 Korrelation mit Immunhistochemie und FISH

Entsprechend der klinischen Fragestellung (Indikation für eine Herceptintherapie) und gemäß internationaler Empfehlungen wurde eine weitere Einteilung in HER-2/neu-positive und HER-2/neu-negative Tumoren mit Hilfe der FISH-Untersuchung vorgenommen. Die Mediane der s-HER-2/neu-Konzentration lagen bei 11,7ng/ml für die HER-2/neu-negativen Patientinnen und bei 13,3ng/ml für die HER-2/neu-positiven Patientinnen ($P < 0,001$) (Tabelle 27, Abbildung 18).

Die Untersuchung auf einen Zusammenhang zwischen s-HER-2/neu und HER-2/neu-Gewebestatus wurde zusätzlich in der Gruppe der primär-metastasierten Patientinnen durchgeführt. Auch hier ergab sich mit medianen s-HER-2/neu-Konzentrationen von 11,9ng/ml und 16,0ng/ml bei HER-2/neu-negativen bzw. -positiven Patientinnen eine signifikante Abhängigkeit der s-HER-2/neu-Konzentrationen vom Gewebestatus ($P = 0,01$) (Tabelle 27). Abbildung 19 zeigt die s-HER-2/neu-Werteverteilung in Abhängigkeit von Metastasierung und HER-2/neu-Gewebestatus. Es fällt auf, dass sowohl in der Gruppe M0 als auch in der Gruppe M1 bei den Patientinnen mit HER-2/neu-negativen Tumoren die s-HER-2/neu-Werte fast immer unterhalb von 30ng/ml liegen. Lediglich eine Patientin mit HER-2/neu-negativem Primärtumor und primären Fernmetastasen liegt mit einem Wert von 142ng/ml weit über diesem Wert (Abbildung 19, Pfeil). Diese stellte sich zum Diagnosezeitpunkt im weit fortgeschrittenen Erkrankungsstadium mit ausgedehnten Lebermetastasen vor und verstarb trotz palliativer Chemotherapie knapp zwei Wochen nach Diagnosestellung.

Ergebnisse

HER-2/neu-Status		s-HER-2/neu (ng/ml)				P-Wert
		Median	5te P*.	95ste P*.	Bereich	
M 0	HER-2/neu-negativ (N=388)	11,7	7,9	16,7	5,3-28,4	<0,001
	HER-2/neu-positiv (N=104)	13,2	8,8	32,1	6,9-156,0	
M 1	HER-2/neu-negativ (N=21)	11,9	8,7	17,0	7,7-142,0	0,01
	HER-2/neu-positiv (N=12)	16,0	8,8	12916,0	8,8-12916,0	

Tabelle 27: s-HER-2/neu in Abhängigkeit von Metastasierung und HER-2/neu-Gewebestatus.

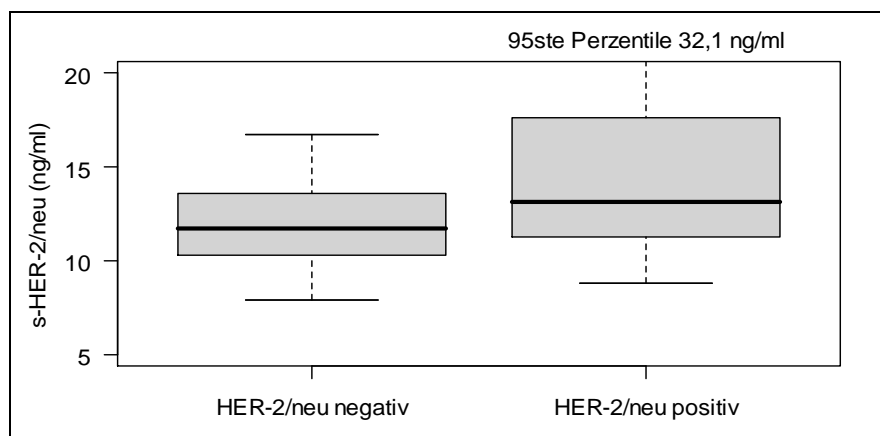


Abbildung 18: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom HER-2/neu-Gewebestatus (M0).

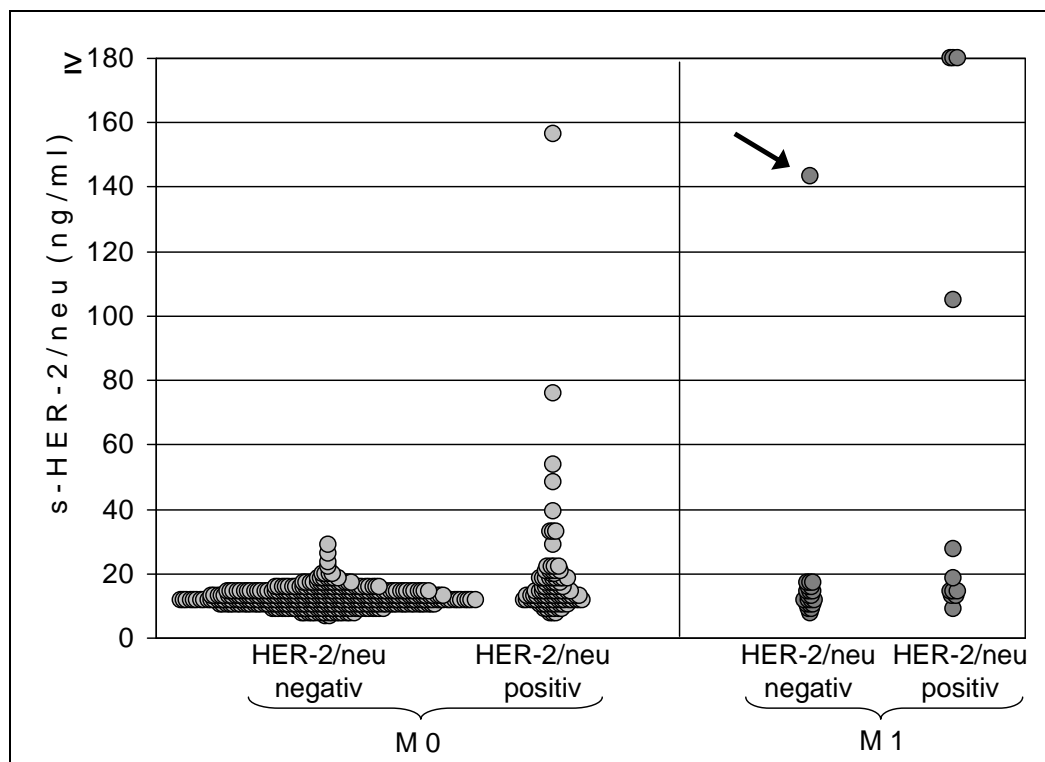


Abbildung 19: Dotplot: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom HER-2/neu-Gewebestatus in den Gruppen M0 und M1 (→: siehe Text).

3.4.3 Sensitivität und Spezifität von s-HER-2/neu zur Vorhersage des HER-2/neu-Gewebestatus

Um zu prüfen, mit welcher Sensitivität und Spezifität der HER-2/neu-Gewebestatus anhand der s-HER-2/neu-Konzentration bestimmt werden kann, wurde eine ROC-Kurve erstellt (Abbildung 20). Dieser wurden nur die Patientinnen ohne primäre Fernmetastasen zugrunde gelegt.

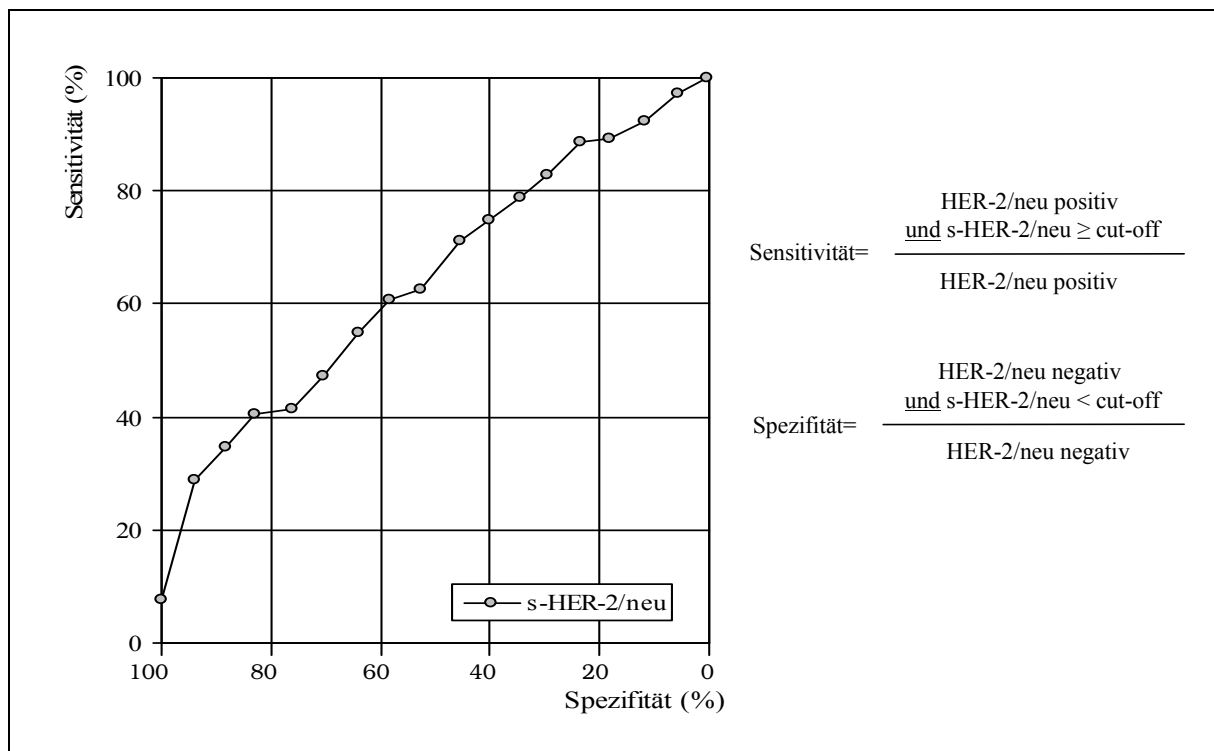


Abbildung 20: ROC-Kurve: Bestimmung des HER-2/neu-Gewebestatus mittels Shed Antigen

Eine Spezifität von 100% kann erreicht werden, wenn der Cut-off für s-HER-2/neu bei 30ng/ml gewählt wird. Die Sensitivität beträgt dann 7,7%. Bei einem Cut-off von 15ng/ml kann etwa ein Drittel der im Gewebe HER-2/neu-positiven Patientinnen mittels s-HER-2/neu korrekt als positiv identifiziert werden, allerdings werden dann fast 15% der im Serum positiven Patientinnen fälschlicherweise als Gewebe-positiv erachtet.

Eine Zusammenfassung zeigt Tabelle 28.

Ergebnisse

Cut-off s-HER-2/neu (ng/ml)	Spezifität (%)	Sensitivität (%)
30,0	100	7,7
25,0	99,5	8,7
20,0	98,8	15,4
15,0	86,2	35,6
10,0	20,8	89,4

Tabelle 28: Sensitivität/Spezifität bei verschiedenen Cut-off-Werten für s-HER-2/neu zur Bestimmung des Gewebestatus.

3.5 Prognostische Relevanz des HER-2/neu-Shed Antigens

Die Patientenmerkmale Menopausenstatus, Tumorgroße pT, Lymphknotenstatus pN, UICC-Stadium, Grading, Östrogen- und Gestagenrezeptorstatus und HER-2/neu-Gewebestatus, sowie die Konzentrationen der Tumormarker CA15-3, CEA und s-HER-2/neu wurden in beiden Subkollektiven zunächst univariat hinsichtlich ihrer prognostischen Relevanz ausgewertet. Anschließend erfolgte eine multivariate Analyse der Prognosefaktoren.

3.5.1 Rezidivfreies Überleben

Die Auswertung des rezidivfreien Überlebens erfolgte zunächst auf zweierlei Arten: einmal wurde sowohl eine Fernmetastasierung als auch das Auftreten eines Lokalrezidivs als Ereignis gewertet, und einmal wurden die Patientinnen, die ein Lokalrezidiv entwickelten, ausgeschlossen, sodass die prognostische Aussagekraft nur bezüglich der Fernmetastasierung evaluiert wurde. Da sich die prognostische Aussagekraft der untersuchten Faktoren in diesen beiden Auswertungen nicht unterschied, sind im Folgenden nur die Ergebnisse der Gesamtauswertung (Fernmetastasierung und Lokalrezidiv) dargestellt.

3.5.1.1 Univariate Analyse

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse der univariaten Analyse des rezidivfreien Überlebens gibt Tabelle 29.

Menopausenstatus

Das rezidivfreie Überleben war mit 83,2% bzw. 88,1% nach 3 Jahren bei den prä- bzw. postmenopausalen Frauen annähernd gleich ($P=0,45$) (Abbildung 24).

Tumorgroße pT

Zur Evaluierung der prognostischen Aussagekraft der Tumorgroße wurden aufgrund der geringen Fallzahlen die nicht-invasiven Karzinome den T1-Tumoren zugeordnet, sowie die T3- und T4-Tumore zusammengefasst.

Es ergab sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen Tumorgroße und rezidivfreiem Überleben: Das rezidivfreie Überleben betrug nach 3 Jahren 93,2% in der Gruppe der

Ergebnisse

Patientinnen mit T1- oder Tis-Tumoren, 77,1% bei den Patientinnen mit T2-Tumoren und 80,8% bei denen mit T3- oder T4-Tumoren ($P < 0,001$) (Abbildung 25).

Lymphknotenstatus

Für die Auswertung des Lymphknotenstatus wurden alle Patientinnen mit Lymphknotenmetastasen ungeachtet des Ausmaßes (N1-N3) zu einer Gruppe zusammengefasst und den Patientinnen ohne Lymphknotenbefall gegenüber gestellt.

Die Patientinnen ohne Lymphknotenmetastasen hatten eine signifikant höhere rezidivfreie Überlebenswahrscheinlichkeit als jene mit Lymphknotenmetastasen (93,5% bzw. 74,9% nach 3 Jahren) (Abbildung 26).

UICC-Stadium

Auch das UICC-Stadium erwies sich in der univariaten Analyse als signifikanter Prognosefaktor. Die Divergenz der Kaplan-Meier-Kurven der Patientinnen mit Stadium I und II war dabei besonders deutlich: nach 3 Jahren betrug das rezidivfreie Überleben für Patientinnen mit UICC-Stadium I 97,8% während es bei Patientinnen mit UICC-Stadium II bei 79,7% lag. Die Patientinnen im Stadium III unterscheiden sich von diesen mit einem rezidivfreien Überleben von 72,1% nur wenig ($P < 0,001$) (Abbildung 27).

Grading

Das rezidivfreie Überleben war auch vom histopathologische Grading abhängig, wobei weniger differenzierte Tumoren prognostisch ungünstig waren. Das rezidivfreie Überleben lag bei den Frauen mit G 1-Tumor nach 3 Jahren bei 100%, bei den Frauen mit G 2 oder G 3-Tumoren erreichte es 91,6% bzw. 71,8% ($P < 0,001$) (Abbildung 28).

Hormonrezeptorstatus

Ein positiver Hormonrezeptorstatus erwies sich sowohl für Östrogen- und Gestagenrezeptor getrennt als auch für die Kombination (mindestens ein Rezeptor positiv/beide negativ) als signifikant prognostisch günstig (Abbildungen 29 bis 31). Am deutlichsten zeigte sich der prognostische Einfluss des Gestagenrezeptorstatus: die Kaplan-Meier-Kurven divergieren kontinuierlich und das rezidivfreie Überleben nach 3-Jahren liegt bei 93,0% in der Gestagenrezeptor-positiven Gruppe während es für die Gestagenrezeptor-negativen Patientinnen 73,8% beträgt ($P < 0,001$).

Der Einfluss des Östrogenrezeptorstatus (ÖR) ist in den ersten 3 Jahren nach Erkrankung stark ausgeprägt: Das rezidivfreie Überleben nach 3 Jahren beträgt 93,7% bei den ÖR-positiven und 67,5% bei den ÖR-negativen. Nach diesem Zeitraum konvergieren die Kaplan-Meier-Kurven jedoch, sodass der Unterschied im rezidivfreien Überleben nach 5 Jahren mit 76,2% (ÖR-positiv) und 67,5% (ÖR-negativ) abnimmt und sich die Kurven knapp 6 Jahre nach der Erkrankung schließlich überschneiden und parallel verlaufen. Einen entsprechend ähnlichen Verlauf zeigt die Kaplan-Meier-Kurve für die kombinierte Betrachtung der beiden Hormonrezeptoren

HER-2/neu-Gewebestatus

Auch der HER-2/neu-Gewebestatus hat deutlichen Einfluss auf das rezidivfreie Überleben, wobei sich eine immunhistochemisch nachgewiesene Überexpression als prognostisch ungünstig erwies ($P < 0,001$). Bemerkenswert ist, dass die Überlebenskurven der Patientinnen mit einem Score von 0, 1+ oder 2+ annähernd gleich verlaufen, und nur die Kurve der Patientinnen mit einem Score von 3+ deutlich nach unten fällt. Das rezidivfreie Überleben nach 3 Jahren betrug zwischen 87,1% und 96,0% für die Frauen mit einem Score von 0, 1+ oder 2+ und erreichte nur 71,2% für die Frauen mit einem Score von 3+ (Abbildung 32).

Entsprechend divergieren die Kaplan-Meier-Kurven für die Betrachtung des kombinierten HER-2/neu-Status (Immunhistochemie/FISH). Das rezidivfreie Überleben nach 3 Jahren liegt bei 71,2% für die HER-2/neu-positiven und 89,4% für die HER-2/neu-negativen Patientinnen (Abbildung 33).

Tumormarker

CA15-3

Die zur Cut-off-Bestimmung erstellte P-Wert-Kurve zeigt Abbildung 21. Das geforderte Signifikanzniveau von $P < 0,0017$ [49] wird von der Kurve für mehrere Cut-off-Bereiche (16-17U/ml, 22-25 U/ml und ab 38U/ml) erreicht.

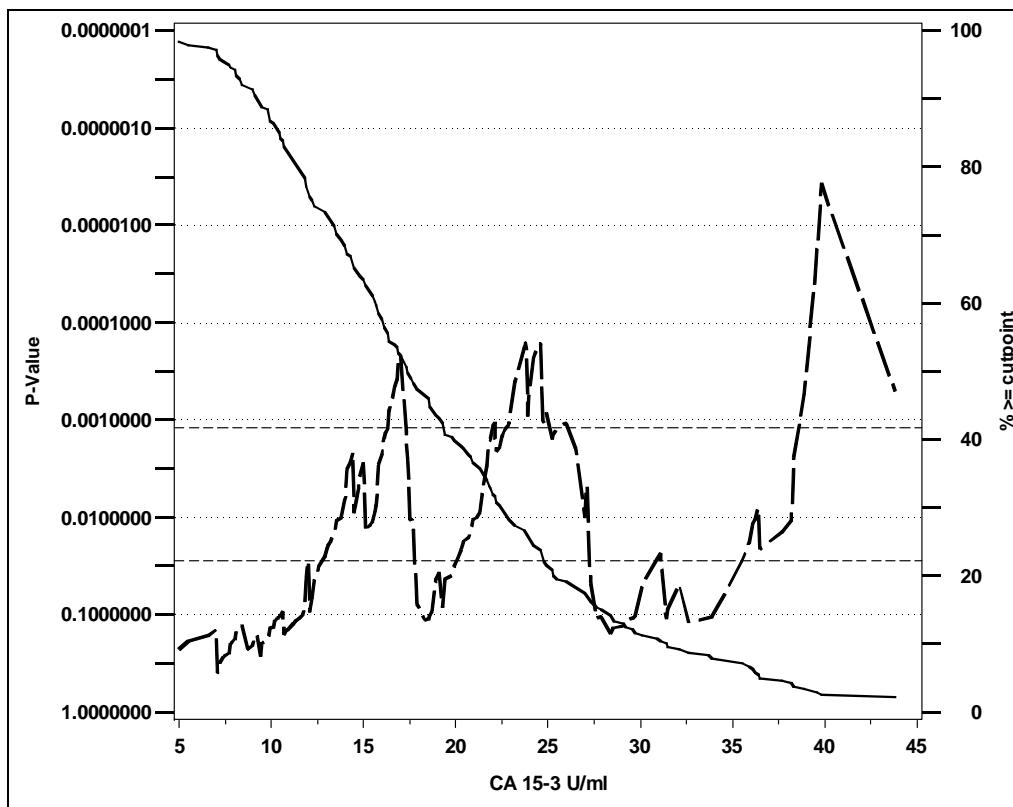


Abbildung 21: P-Wert-Kurve zur Cut-off-Bestimmung von CA15-3.

Für die Darstellung mittels Kaplan-Meier-Analyse wurde ein Cut-off von 24 U/ml gewählt, da der signifikante Cut-off-Bereich hier breiter ist und der Anteil der Patienten mit Werten oberhalb dieser Cut-off-Werte 20-30% beträgt und somit eine ausreichend große Stichprobe (N=61) bildet.

Das rezidivfreie Überleben nach 3 Jahren betrug für die Frauen mit CA15-3-Werten unter dem gewählten Cut-off Wert 90,2%, während nur 72,3% der Patientinnen mit CA15-3-Konzentrationen von 24U/ml oder höher nach 3 Jahren kein Rezidiv entwickelt hatten ($P < 0,001$) (Abbildung 34).

CEA

Abbildung 22 zeigt die P-Wert-Kurve für CEA. Das geforderte Signifikanzniveau wird für keinen denkbaren Cut-off-Wert für CEA erreicht, d.h. CEA hat als dichotomisierte Variable keinen Einfluss auf das rezidivfreie Überleben. Auf eine Darstellung mittels Kaplan-Meier-Kurve wird aus diesem Grund verzichtet.

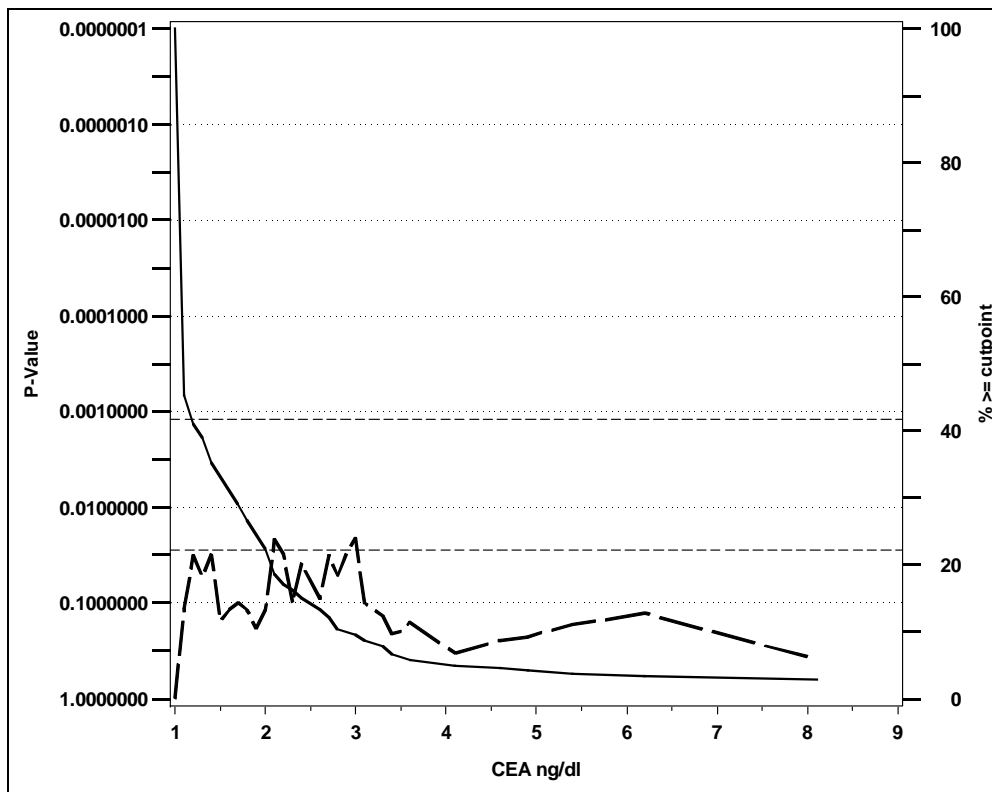


Abbildung 22: P-Wert-Kurve zur Cut-off-Bestimmung von CEA.

Ergebnisse

s-HER-2/neu

Die für das HER-2/neu-Shed Antigen erstellte P-Wert-Kurve erreicht das Signifikanzniveau bei einem Cut-off-Wert von 14,9ng/ml und bleibt für alle größeren Cut-off-Werte signifikant (Abbildung 23).

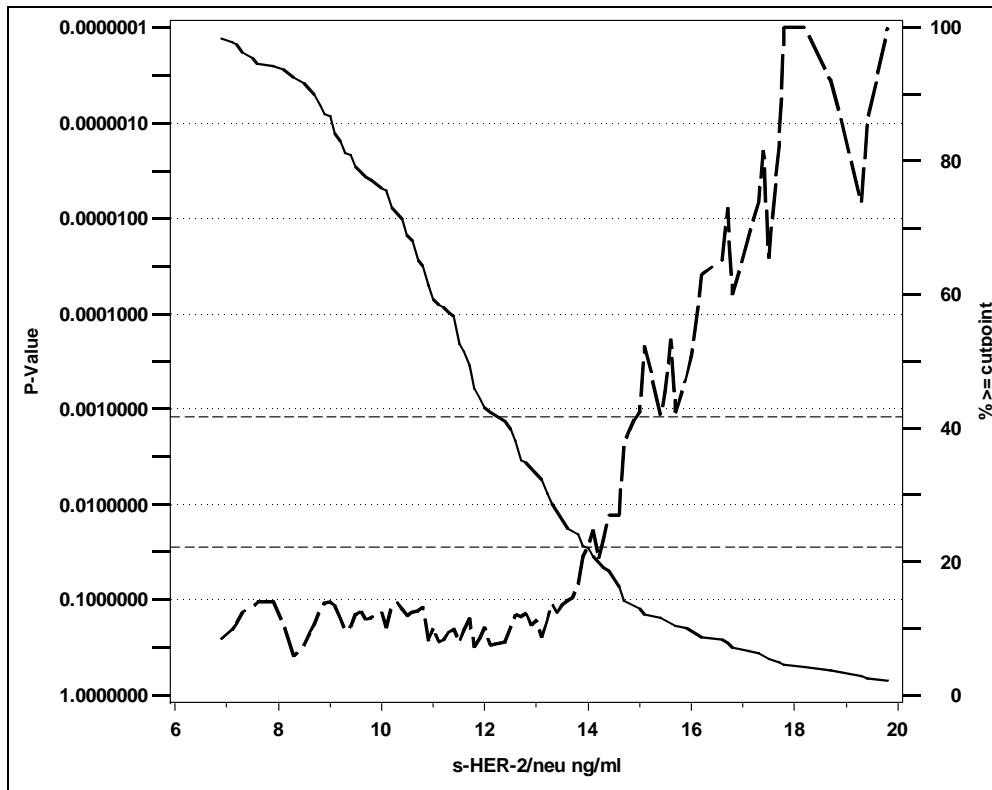


Abbildung 23: Chi²-Kurve zur Cut-off-Bestimmung von s-HER-2/neu.

Für die Kaplan-Meier-Analyse wurde der Cut-off-Wert auf 15ng/ml festgelegt, um eine möglichst große Stichprobe von Patienten mit Werten oberhalb des Cut-offs zu erhalten.

Von den 210 Patientinnen mit s-HER-2/neu-Werten unterhalb des Cut-offs waren nach 3 Jahren 88,1% rezidivfrei. In der Gruppe der Patientinnen mit Werten von 15ng/ml und darüber (N=31) betrug das rezidivfreie Überleben nach 3 Jahren nur 71,4% (P=0,001) (Abbildung 35).

Aufgrund der zuvor gezeigten Abhängigkeit der s-HER-2/neu-Konzentrationen von der HER-2/neu-Expression im Tumorgewebe erfolgte eine zusätzliche Kaplan-Meier-Analyse getrennt nach HER-2/neu-Gewebestatus (siehe Abbildung 36). Es wurden vier Gruppen gebildet: Patientinnen mit mittels Immunhistochemie und ggf. FISH als HER-2/neu-negativ

klassifizierten Tumoren und s-HER-2/neu-Werten unterhalb bzw. oberhalb des Cut-off-Wertes bilden zwei Gruppen; Patientinnen mit HER-2/neu-positiven Tumoren und s-HER-2/neu-Werten unterhalb bzw. oberhalb des Cut-off-Wertes bilden weitere zwei Gruppen.

Die beiden Überlebenskurven der im Gewebe HER-2/neu-positiven Frauen verlaufen (analog zur isolierten Untersuchung der prognostischen Aussagekraft des HER-2/neu-Gewebestatus) unterhalb der beiden Kurven der im Gewebe HER-2/neu-negativen Frauen. Es fällt jedoch auf, dass die beiden Kurven der im Gewebe HER-2/neu-positiven Frauen je nach s-HER-2/neu-Konzentrationen stark divergieren, wobei Frauen mit erhöhten s-HER-2/neu-Werten eine schlechtere Prognose haben. In den beiden Gruppen der im Gewebe HER-2/neu-negativen Patientinnen zeigte sich dieser prognostisch negative Effekt der s-HER-2/neu-Konzentrationen nicht. Während das rezidivfreie Überleben nach 3 Jahren in der Gruppe der im Gewebe-positiven, Serum-negativen mit 80,3% nur gering unter dem der Frauen mit Gewebe-negativen Tumoren liegt (89,1% bei den Serum-negativen bzw. 92,3% bei den Serum-positiven), beträgt es für die Frauen mit HER-2/neu-positiven Tumoren und s-HER-2/neu-Werten über dem Cut-off nur 46,3% ($P < 0,001$).

Ergebnisse

Merkmal	N	RFÜ nach 3 Jahren		P-Wert		
		%	(95%-KI*)			
Menopausenstatus	Prämenopause	75	83,2	74,5-92,9	0,45	
	Postmenopause	160	88,1	82,7-93,9		
Tumorgröße	Tis/T1	126	93,2	88,4-98,4	<0,001	
	T2	100	77,1	68,6-86,7		
	T3/T4	15	80,8	59,5-100		
Lymphknotenstatus	N0	145	93,5	89,1-98,0	<0,001	
	N1-3	91	74,9	65,8-85,3		
UICC-Stadium	I	93	97,8	94,8-100	<0,001	
	II	114	79,7	72,0-88,3		
	III	27	72,1	55,1-94,5		
Grading	G 1	21	100	100-100	<0,001	
	G 2	136	91,6	86,7-96,8		
	G 3	81	71,8	61,5-83,8		
Hormonrezeptorstatus	Östrogenrezeptor	pos.	168	93,7	89,5-98,2	<0,001
		neg.	73	67,5	56,8-80,2	
	Gestagenrezeptor	pos.	150	93,0	88,6-97,7	<0,001
		neg.	91	73,8	64,3-84,6	
	mind. einer pos	181	92,5	88,3-97,0	<0,001	
beide neg.	60	65,2	53,1-80,0	<0,001		
HER-2/neu-Gewebestatus	IHC Score	0	103	87,1	80,1-94,7	<0,001
		1+	58	96,0	90,6-100	
		2+	26	89,6	76,6-100	
		3+	54	71,2	59,4-85,4	
	IHC/FISH	neg.	165	89,4	84,1-95,0	<0,001
		pos.	54	71,2	59,4-85,4	
CA15-3	<24U/ml	180	90,2	84,1-94,0	<0,001	
	≥24U/ml	61	72,3	56,7-83,0		
s-HER-2/neu	<15ng/ml	210	88,1	82,1-92,1	0,001	
	≥15ng/ml	31	71,4	50,5-84,7		

Tabelle 29: Abhängigkeit des rezidivfreien Überlebens (RFÜ) von Prognosefaktoren (univariate Analyse, Log-Rank-Test). (*=Konfidenzintervall).

Ergebnisse

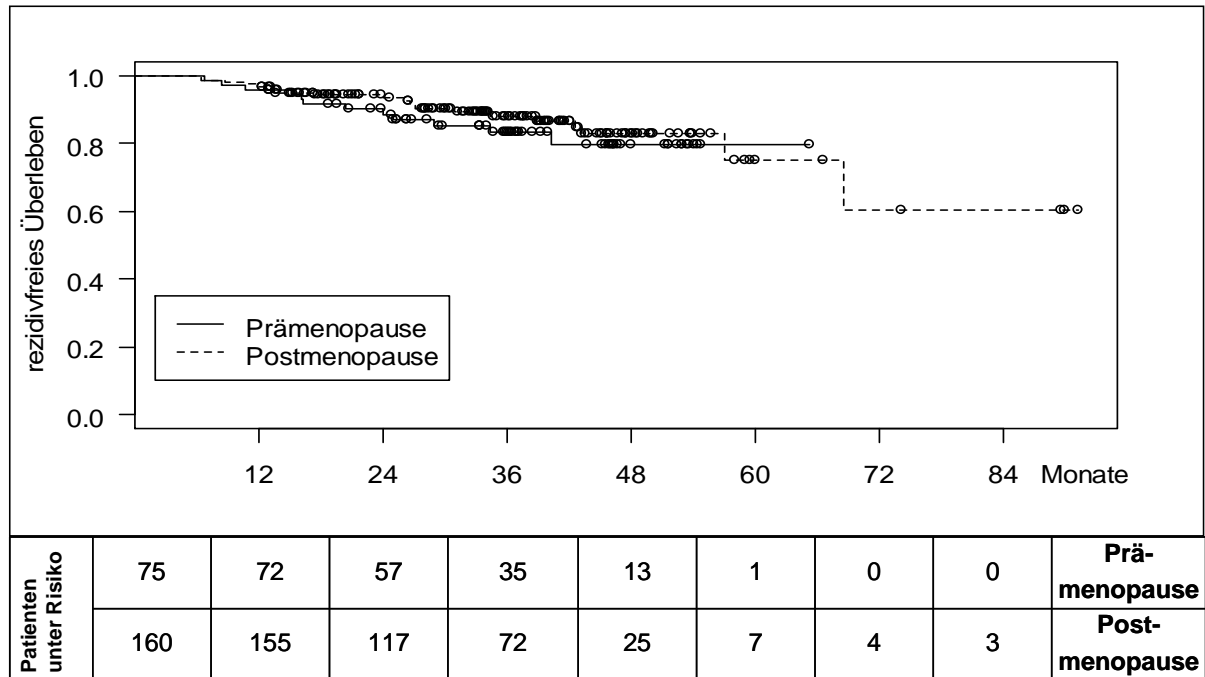


Abbildung 24: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Menopausenstatus (P=0,45).

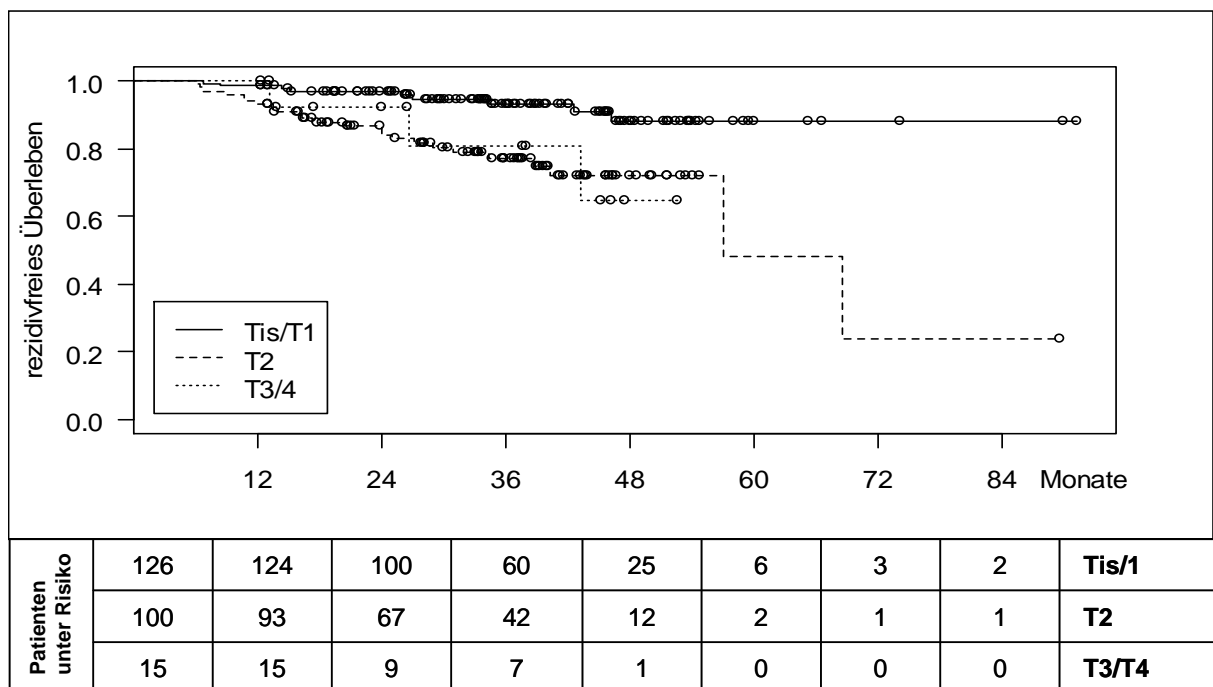


Abbildung 25: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit von der Tumorgröße (P<0,001).

Ergebnisse

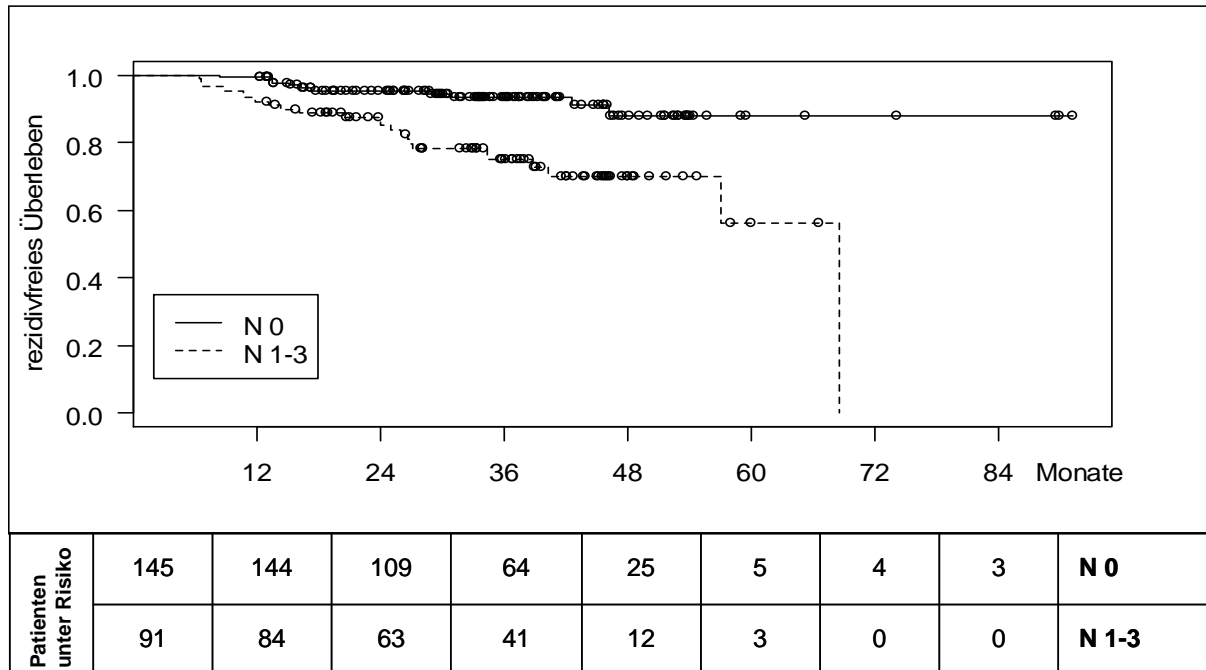


Abbildung 26: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus ($P < 0,001$).

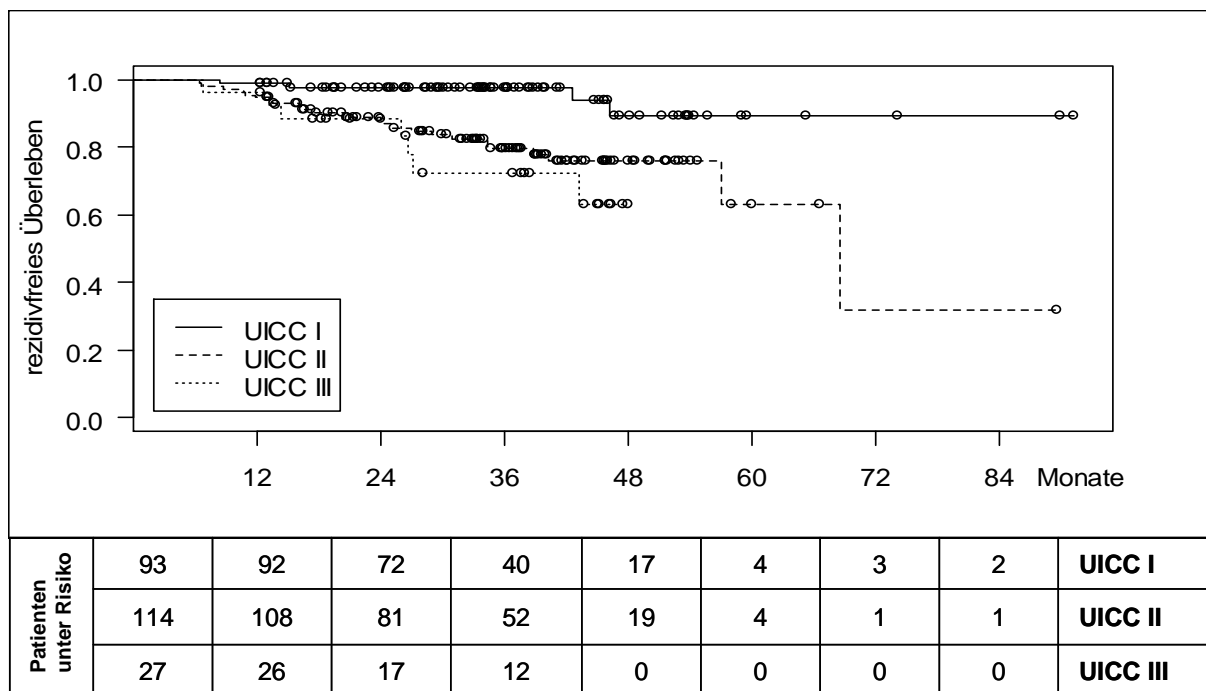


Abbildung 27: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom UICC-Stadium ($P < 0,001$).

Ergebnisse

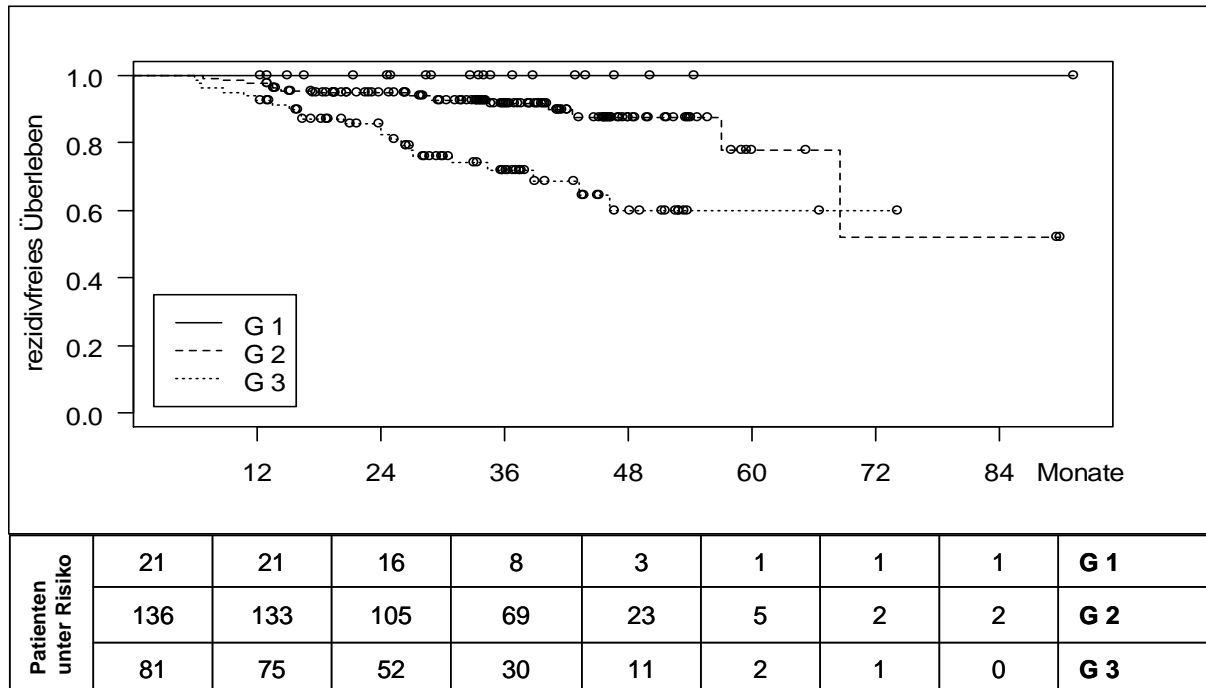


Abbildung 28: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Grading ($P < 0,001$).

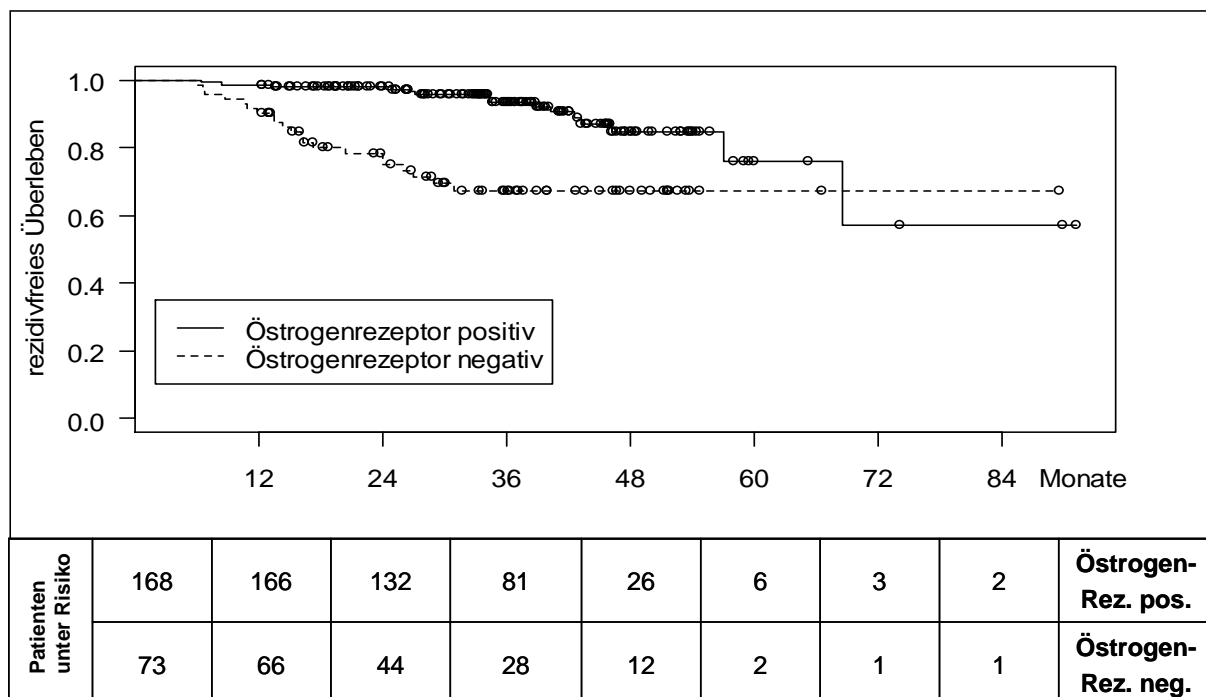


Abbildung 29: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Östrogenrezeptorstatus ($P < 0,001$).

Ergebnisse

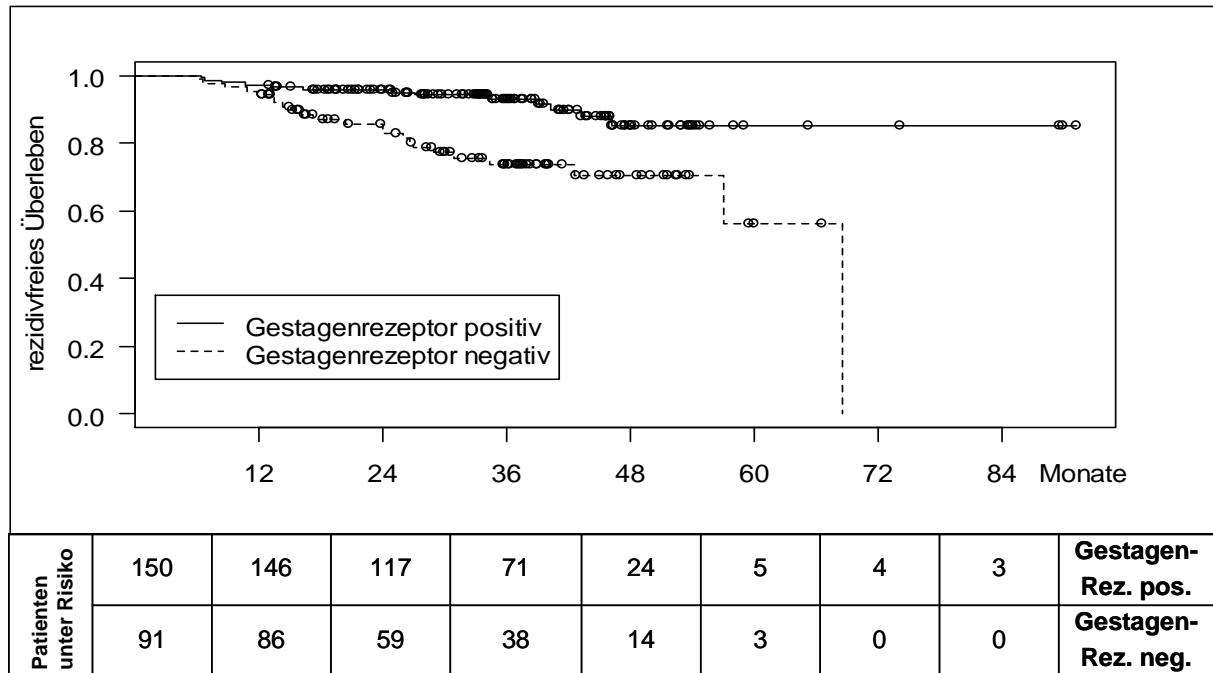


Abbildung 30: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Gestagenrezeptorstatus ($P < 0,001$)

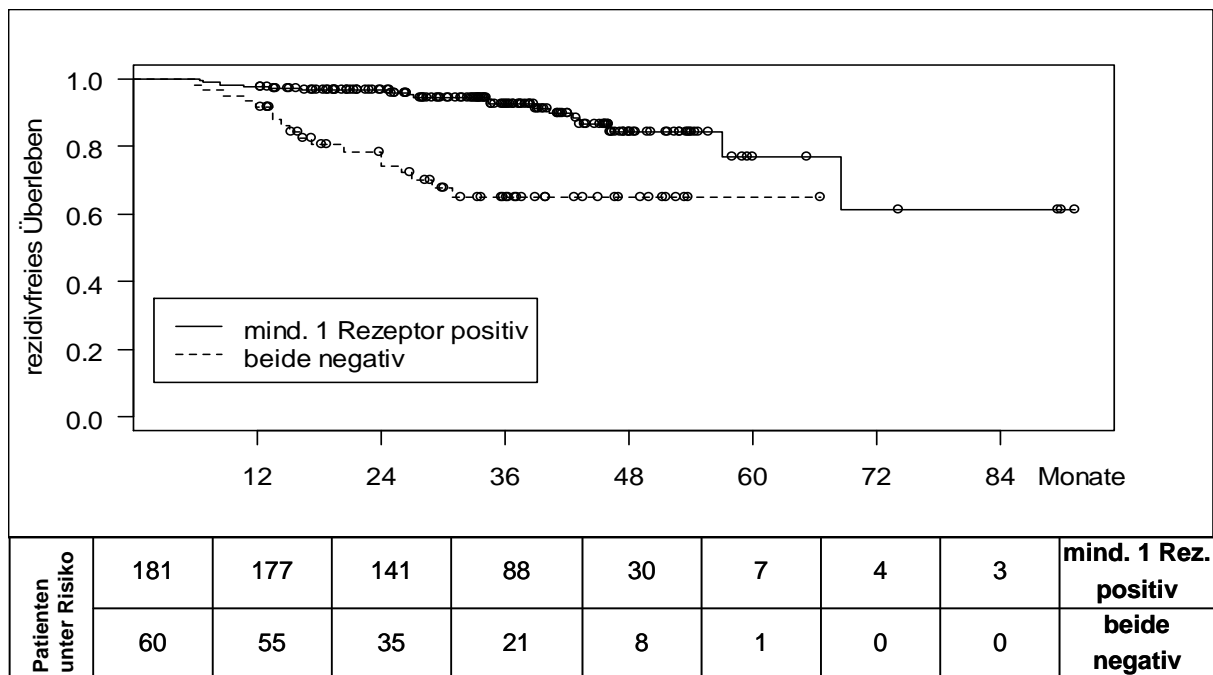


Abbildung 31: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Hormonrezeptorstatus ($P < 0,001$).

Ergebnisse

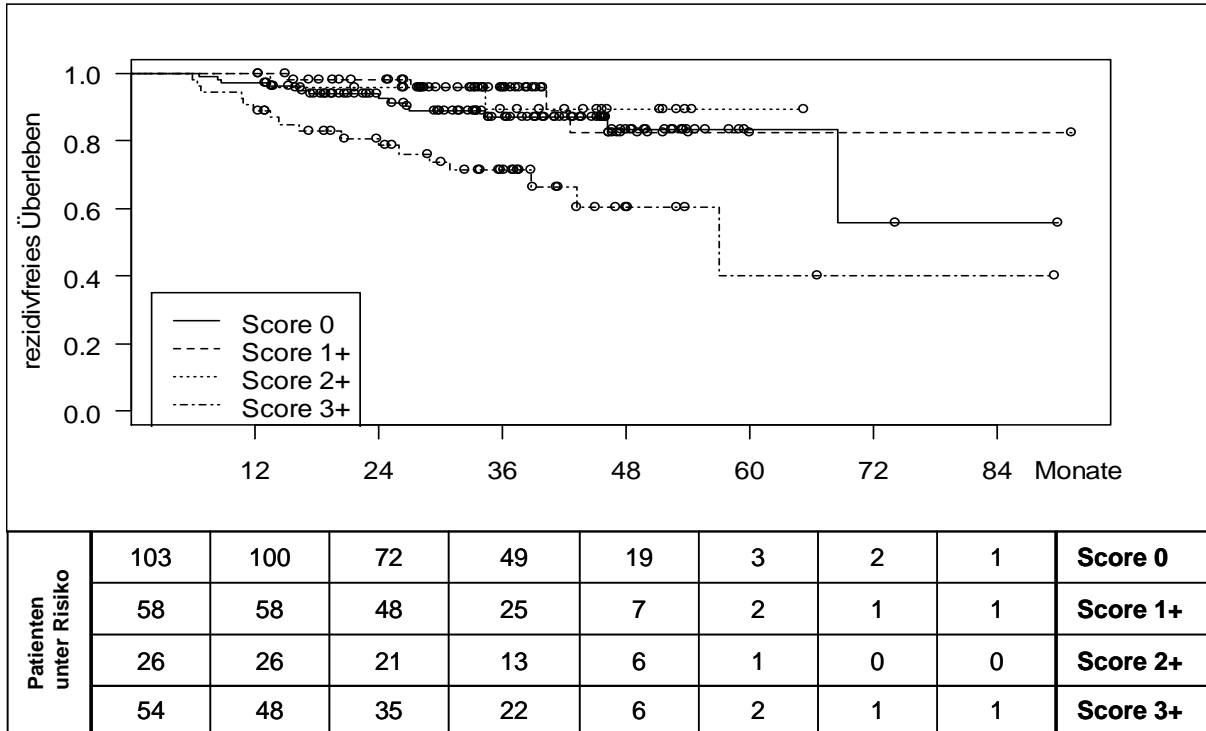


Abbildung 32: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit von der HER-2/neu-Expression (P<0,001).

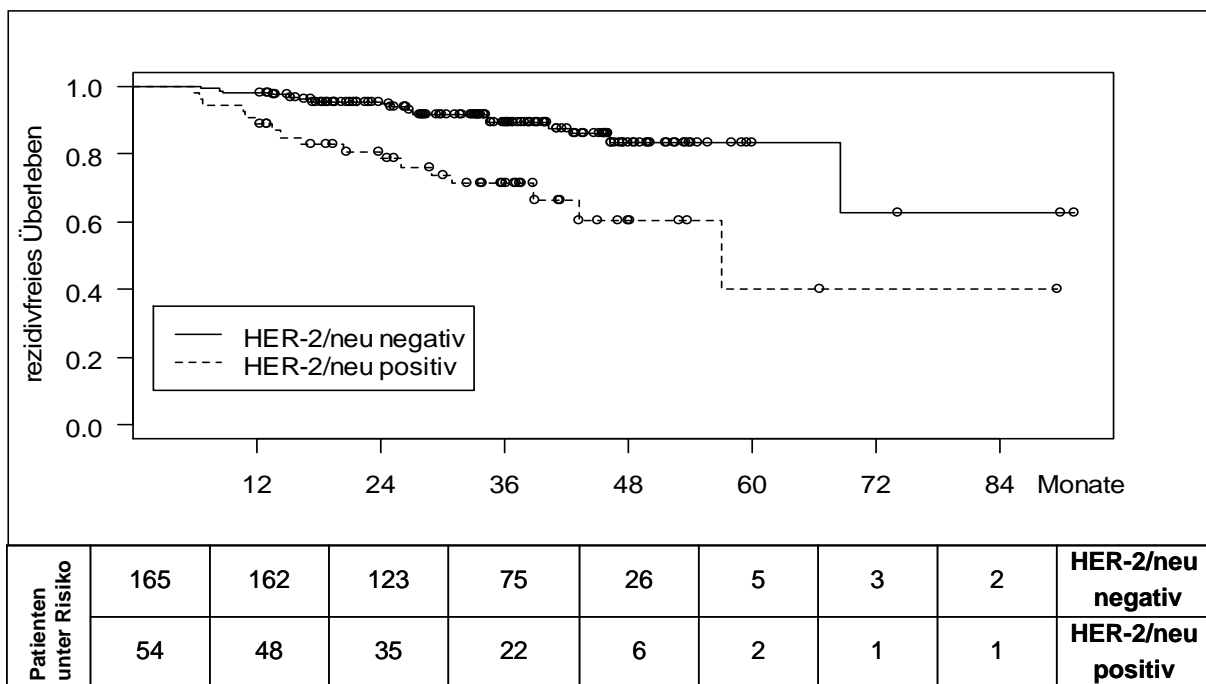


Abbildung 33: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom HER-2/neu-Gewebestatus (P<0,001).

Ergebnisse

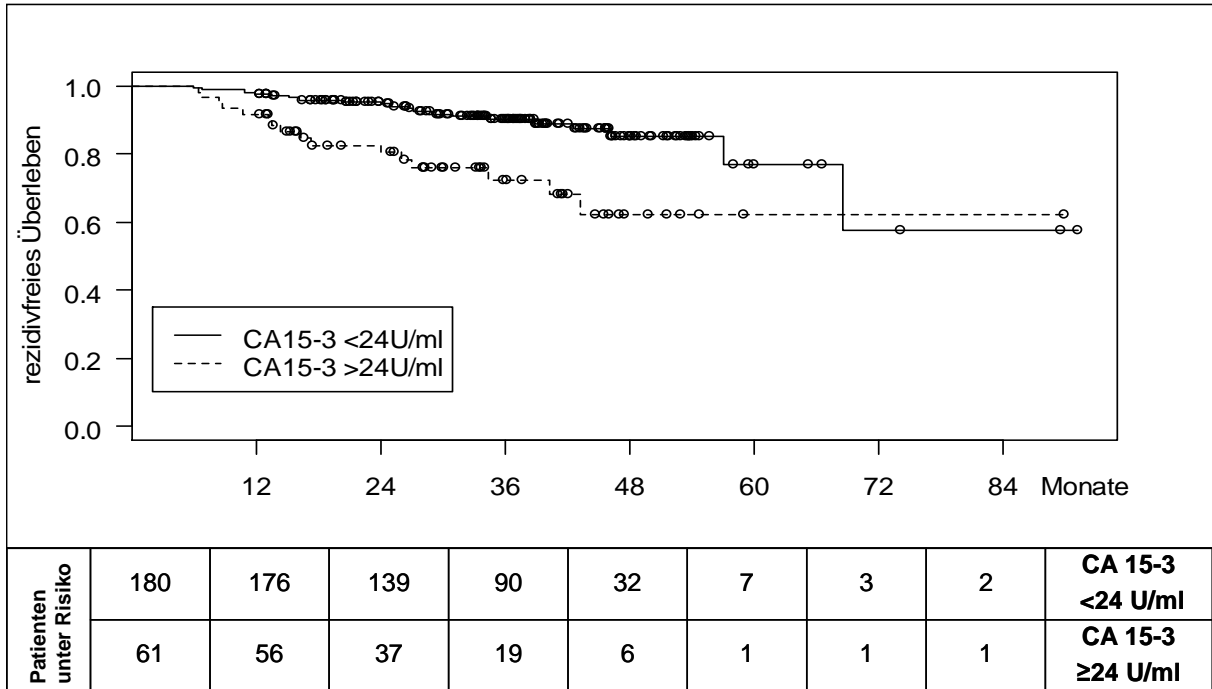


Abbildung 34: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit von der CA15-3-Konzentration (P<0,001).

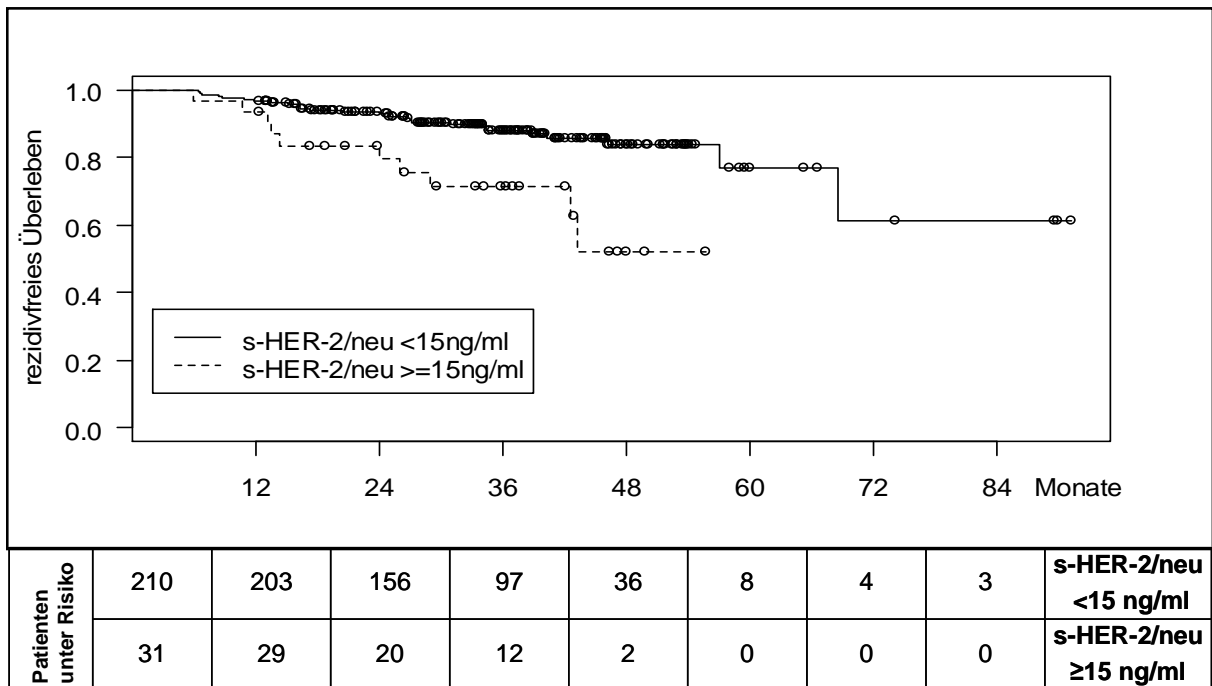


Abbildung 35: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit von der s-HER-2/neu-Konzentration (P=0,001).

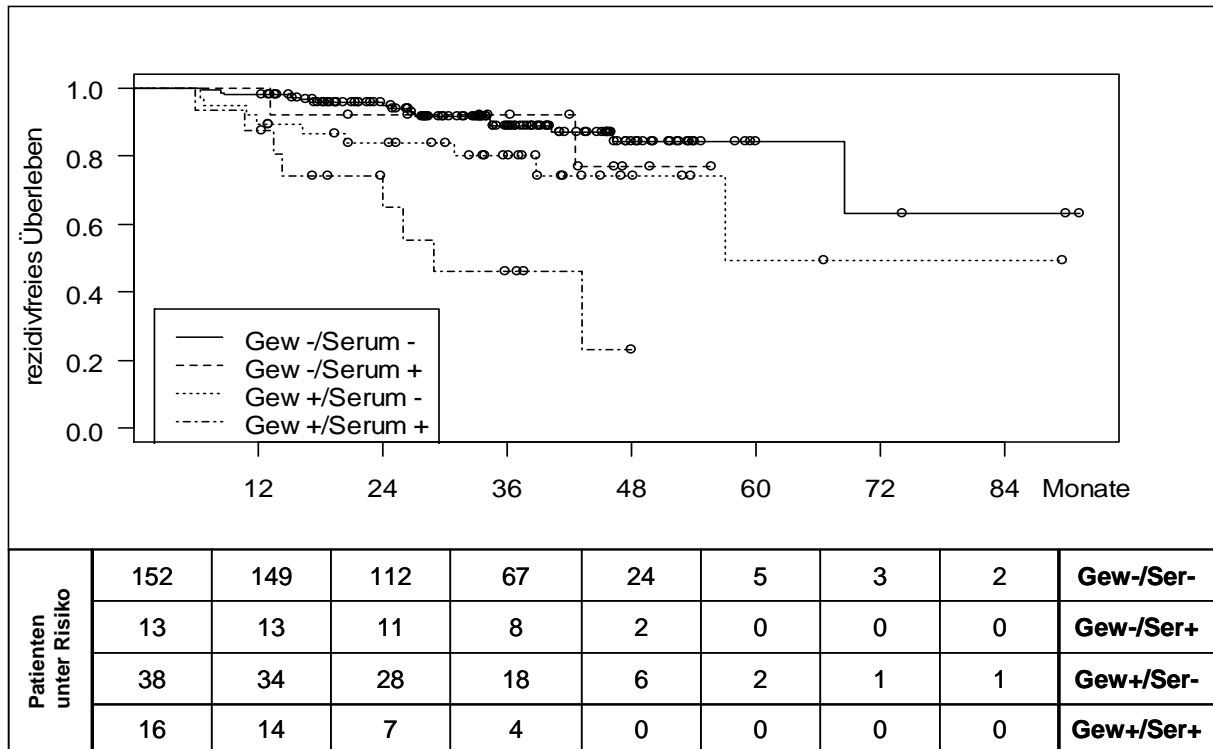


Abbildung 36: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit von s-HER-2/neu-Konzentration und HER-2/neu-Gewebestatus („Gew+/-“=HER-2/neu-Gewebestatus, „Ser+/-“=s-HER-2/neu über bzw. unter Cut-off) (P<0,001).

Ergebnisse

3.5.1.2 Multivariate Analyse

Die Ergebnisse der multivariaten Analyse sind in Tabelle 30 dargestellt. Als unabhängige Prognosefaktoren für das rezidivfreie Überleben erwiesen sich die Tumorgroße (Tis/T1 vs. T2-T4), der Lymphknotenstatus (N0 vs. N1-3), der Hormonrezeptorstatus (mindestens ein Rezeptortyp positiv vs. beide negativ) und die beiden Tumormarker CA15-3 und s-HER-2/neu. Diese gingen als stetige Variablen und in normierter Form, d.h. dividiert durch den Median der rezidivfreien Frauen (17,2U/ml für CA15-3 bzw. 12,0ng/ml für s-HER-2/neu) in die Analyse ein.

Prognosefaktor	β -Koeffizient	Standard- abweichung	Chi ²	P-Wert	Hazard Ratio	95%-KI*
Tumorgroße	1,010	0,406	6,2	0,01	2,75	1,24-6,09
Lymphknotenstatus	1,164	0,396	8,7	0,003	3,20	1,48-6,96
Hormonrezeptoren	1,337	0,371	13,0	<0,001	3,81	1,84-7,89
s-HER-2/neu	1,051	0,440	5,7	0,02	2,86	1,21-6,77
CA 15-3	0,832	0,261	10,2	0,001	2,30	1,38-3,83

Tabelle 30: Ergebnisse der multivariaten Analyse des Rezidivfreien Überlebens (*: Konfidenzintervall).

3.5.2 Gesamtüberleben, M0

3.5.2.1 Univariate Analyse

Einen Überblick über die Ergebnisse der univariaten Analyse gibt Tabelle 31.

Menopausenstatus

Auch in Bezug auf das Gesamtüberleben hatte der Menopausenstatus keine prognostische Aussagekraft. Die Überlebensrate nach 5 Jahren betrug bei den prämenopausalen Frauen 87,7% und bei den postmenopausalen Patientinnen 90,0% ($P=0,42$) (Abbildung 37).

Tumorgröße pT

Die Tumorgröße pT hatte einen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben: Patientinnen mit einem T1-Tumor oder einem nicht-invasiven Karzinom hatten nach 5 Jahren eine Überlebenswahrscheinlichkeit von 100%, während Frauen mit größeren Tumoren (T2 bzw. T3/4) mit einem 5-Jahres-Überleben von 78,5% bzw. 83,6% eine schlechtere Prognose aufwiesen ($P=0,003$) (Abbildung 38).

Lymphknotenstatus

Bei der univariaten Analyse der prognostischen Aussagekraft des Lymphknotenstatus ergab sich hinsichtlich des Gesamtüberlebens kein signifikanter Unterschied zwischen Patientinnen mit und ohne Lymphknotenbefall. Die Überlebensraten nach 5 Jahren betrugen 90,3% und 87,8% für Frauen mit Status pN0 bzw. pN1-3 ($P=0,32$) (Abbildung 39).

UICC-Stadium

Für das UICC-Stadium ergab sich keine signifikante prognostische Aussagekraft hinsichtlich des Gesamtüberlebens ($P=0,09$), allerdings lässt die Kaplan-Meier-Analyse erkennen, dass Frauen mit einem frühen Erkrankungsstadium (UICC I) eine bessere Prognose haben als Frauen im Stadium II (5-Jahres-Überlebensraten 100% bzw. 82,0%). Auffällig ist, dass die Überlebenskurve der Patientinnen im Stadium III zunächst unterhalb der Kurven der beiden anderen Gruppen verläuft, diese nach 4 (UICC II) bzw. 6 Jahren (UICC I) dann aber schneidet (Abbildung 40).

Grading

Das histopathologische Grading erwies sich als prognostisch relevant, wobei Patientinnen mit besser differenzierten Tumoren eine höhere Überlebenswahrscheinlichkeit aufwiesen als jene mit schlechter differenzierten Karzinomen. Die Überlebensraten nach 5 Jahren waren 100%, 94,5% und 76,7% für Frauen deren Tumoren ein Grading von G 1, G 2 bzw. G 3 hatten (P=0,03) (Abbildung 41).

Hormonrezeptorstatus

Der Hormonrezeptorstatus hatte sowohl bei getrennter Betrachtung von Östrogen- und Gestagenrezeptor als auch bei kombinierter Betrachtung signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben, wobei Patientinnen mit positivem Rezeptorstatus eine bessere Prognose aufwiesen (Abbildungen 42 bis 44). Die Kaplan-Meier-Kurven divergieren kontinuierlich in allen drei Auswertungen. Der größte Unterschied im Gesamtüberleben nach 5 Jahren fand sich bei der Untersuchung des Östrogenrezeptorstatus mit Überlebensraten von 94,1% bzw. 78,5% für Östrogenrezeptor-positive bzw. -negative Frauen (P=0,01).

HER-2/neu-Gewebestatus

Die immunhistochemisch bestimmte HER-2/neu-Überexpression im Tumorgewebe zeigte keinen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben. Die 5-Jahres-Überlebensraten betragen für Patientinnen mit einem immunhistochemischen Score von 0, 1+, 2+ und 3+ 90,3%, 96,0%, 100% bzw. 78,3% (P=0,12) (Abbildung 45).

Beim Vergleich von HER-2/neu-positiven Patientinnen (Score 3+ oder 2+ und FISH positiv) mit HER-2/neu-negativen Patientinnen zeigte sich tendenziell eine bessere Prognose für die HER-2/neu-negativen: Diese hatten ein 5-Jahres-Überleben von 92,9%, während es für die HER-2/neu-positiven 78,3% betrug. Das Signifikanzniveau wurde mit einem P-Wert von 0,058 allerdings knapp verfehlt (Abbildung 46).

Tumormarker

Die für die Analyse der Abhängigkeit des rezidivfreien Überlebens von den Tumormarkerkonzentrationen gewählten Cut-off-Werte wurden für die Analyse der prognostischen Aussagekraft bezüglich des Gesamtüberlebens beibehalten.

Da die Chi²-Kurve für CEA auch für das Gesamtüberleben nie das Signifikanzniveau erreichte, wurde auf die Kaplan-Meier-Analyse von CEA auch hier verzichtet.

CA15-3

Bezüglich des Gesamtüberlebens zeigte CA15-3 im Serum als dichotomisierte Variable mit einem Cut-off von 24U/ml keine prognostische Aussagekraft. Das Gesamtüberleben nach 5 Jahren betrug sowohl für Patientinnen mit Werten unterhalb (N=218) als auch für jene mit Werten oberhalb (N=71) des Cut-off-Wertes 89,3% (Abbildung 47).

s-HER-2/neu

Auch das HER-2/neu-Shed Antigen zeigte, dichotomisiert mit einem Cut-off von 15ng/ml, keinen Einfluss auf das Gesamtüberleben. Die Überlebensraten nach 5 Jahren betrugen 90,6% bzw. 82,7% für Frauen mit s-HER-2/neu-Werten unterhalb bzw. oberhalb des Cut-offs (P=0,12) (Abbildung 48).

Analog zur Untersuchung des rezidivfreien Überlebens wurde die prognostische Aussagekraft von s-HER-2/neu bezüglich des Gesamtüberlebens zusätzlich getrennt nach dem HER-2/neu-Status im Gewebe ausgewertet (Abbildung 49). Die Kaplan-Meier-Analyse zeigt keinen signifikanten Unterschied im Verlauf der vier Kurven. Die Überlebensraten nach vier Jahren betrugen für die im Gewebe HER-2/neu-negativen Patientinnen 96,4%, wenn sie s-HER-2/neu-Werte unterhalb des Cut-offs hatten und 94,1% wenn ihre s-HER-2/neu-Werte darüber lagen. Von den im Gewebe HER-2/neu-positiven Frauen lebten nach 4 Jahren noch 87,3% derer mit s-HER-2/neu-Werten unter 15ng/ml und 94,4% jener mit s-HER-2/neu-Werten größer oder gleich 15ng/ml (P=0,12).

Ergebnisse

Merkmal	N	GÜ nach 5 Jahren		P-Wert		
		%	(95%-KI*)			
Menopausenstatus	Prämenopause	81	87,7	74,1-100	0,42	
	Postmenopause	198	90,0	83,1-97,4		
Tumorgröße	Tis/T1	150	100	100-100	0,003	
	T2	121	78,5	66,0-93,4		
	T3/T4	18	83,6	64,9-100		
Lymphknotenstatus	N0	174	90,3	81,6-100	0,32	
	N1-3	109	87,8	78,1-98,7		
UICC-Stadium	I	110	100	100-100	0,09	
	II	135	82,0	70,9-94,9		
	III	35	91,2	80,2-100		
Grading	G 1	25	100	100-100	0,03	
	G 2	161	94,5	88,0-100		
	G 3	99	76,7	61,8-95,1		
Hormonrezeptorstatus	Östrogenrezeptor	pos.	206	94,1	88,1-100	0,01
		neg.	83	78,5	63,6-96,7	
	Gestagenrezeptor	pos.	183	91,7	84,0-100	0,02
		neg.	106	84,8	73,3-98,1	
	mind. einer pos	222	92,6	86,2-99,6	0,005	
	beide neg.	67	77,1	59,3-100		
HER-2/neu-Gewebestatus	IHC Score	0	119	90,3	79,7-100	0,12
		1+	76	96,0	88,6-100	
		2+	32	100	100-100	
		3+	62	78,3	63,8-96,1	
	IHC/FISH	neg.	201	92,9	85,9-100	0,06
		pos.	62	78,3	63,8-96,1	
CA15-3	<24U/ml	218	89,3	81,9-97,3	0,90	
	≥24U/ml	71	89,3	75,8-100		
s-HER-2/neu	<15ng/ml	250	90,6	84,2-97,5	0,09	
	≥15ng/ml	39	82,7	63,0-100		

Tabelle 31: Abhängigkeit des Gesamtüberlebens (GÜ) von Prognosefaktoren (univariate Analyse, Log-Rank-Test). (*=Konfidenzintervall)

Ergebnisse

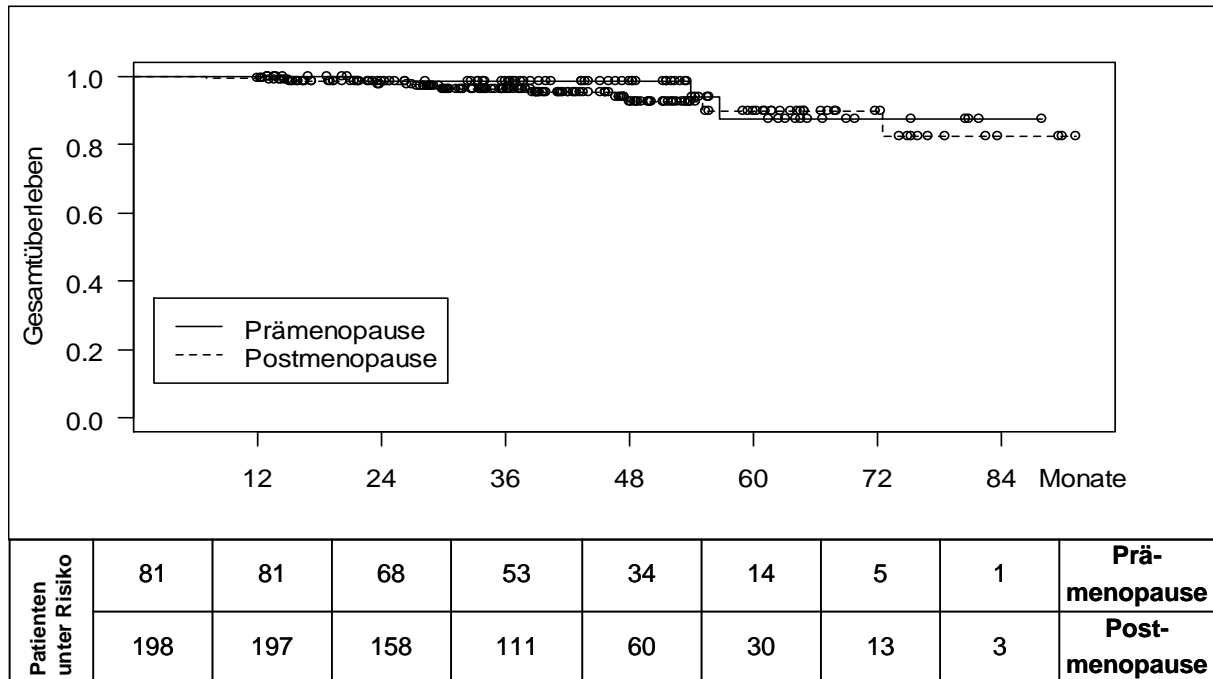


Abbildung 37: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom Menopausenstatus (P=0,42).

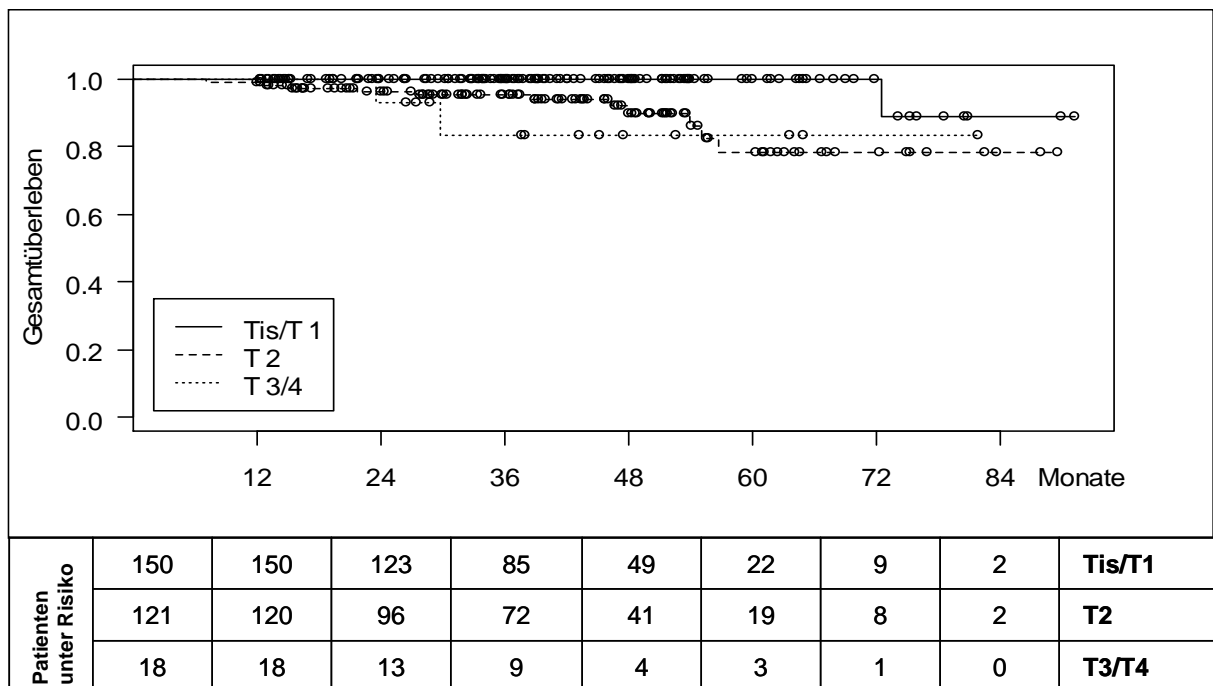


Abbildung 38: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit von der Tumorgöße pT (P=0,003)

Ergebnisse

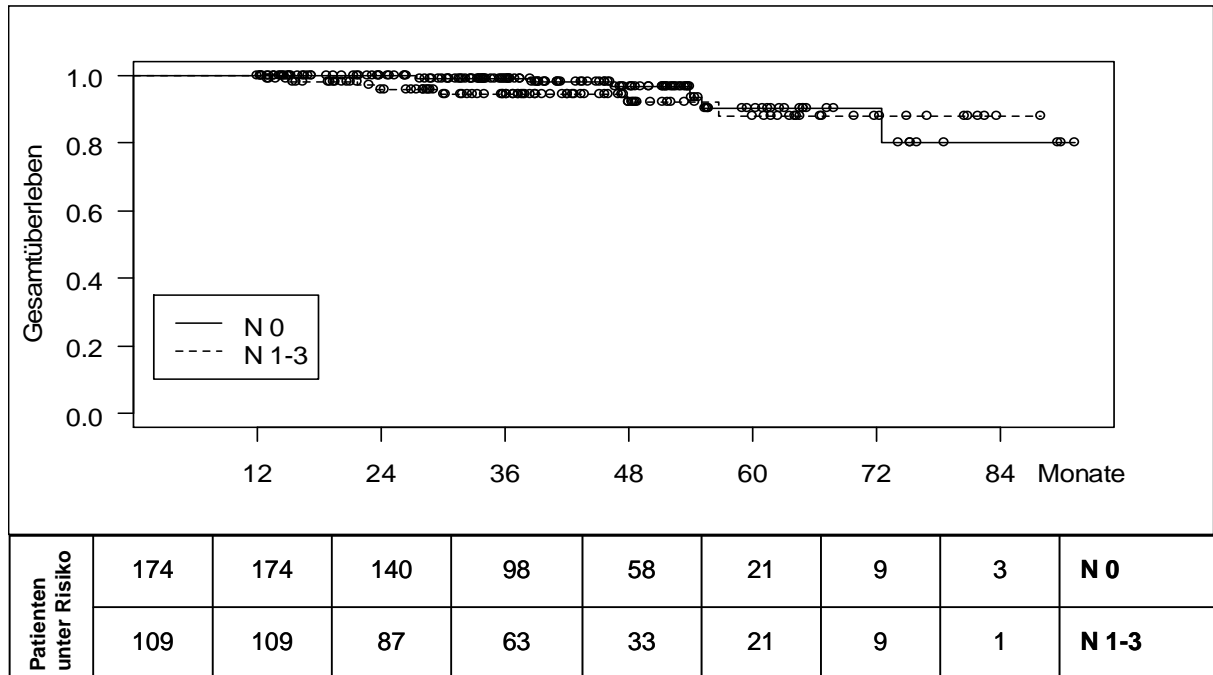


Abbildung 39: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus ($P=0,32$).

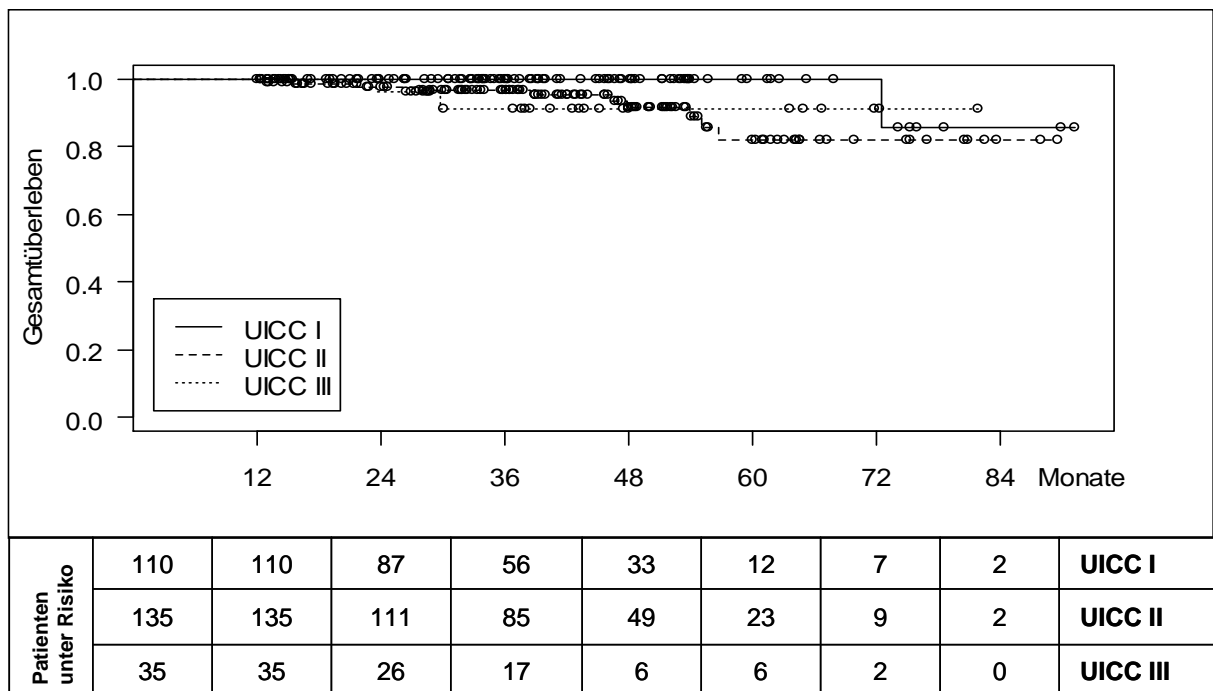


Abbildung 40: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom UICC-Stadium ($P=0,09$).

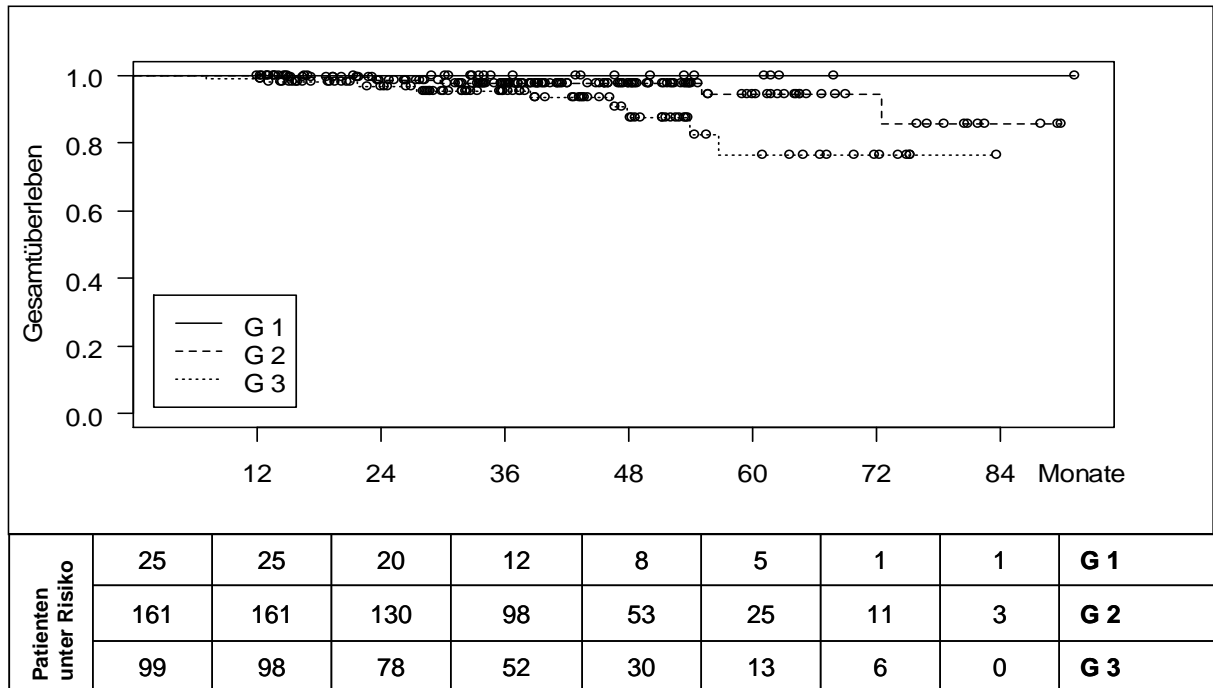


Abbildung 41: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom Grading (P=0,03).

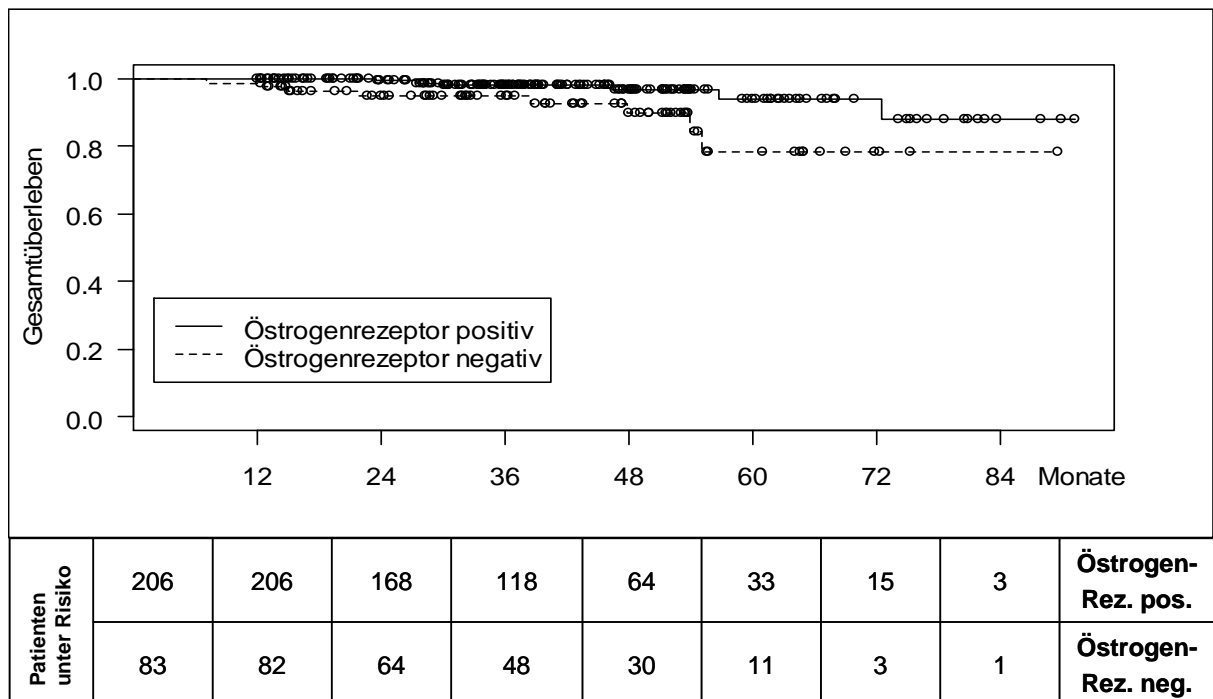


Abbildung 42: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom Östrogenrezeptorstatus (P=0,01)

Ergebnisse

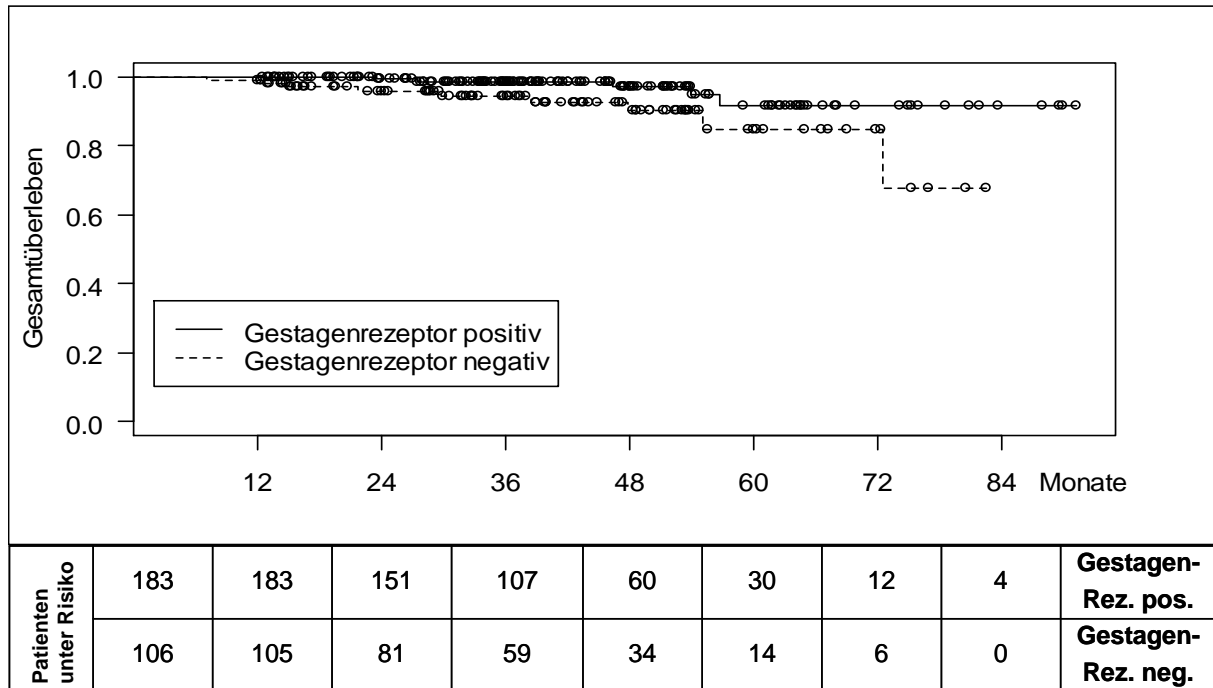


Abbildung 43: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom Gestagenrezeptorstatus (P=0,02).

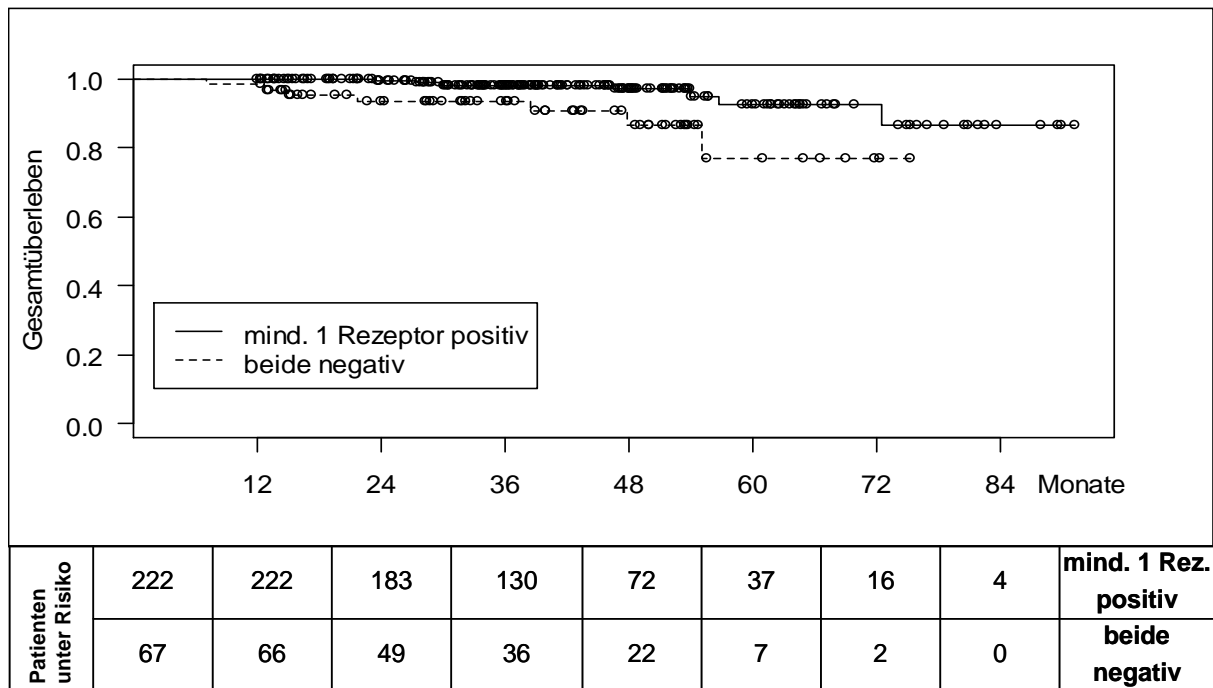


Abbildung 44: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom Hormonrezeptorstatus (P=0,005).

Ergebnisse

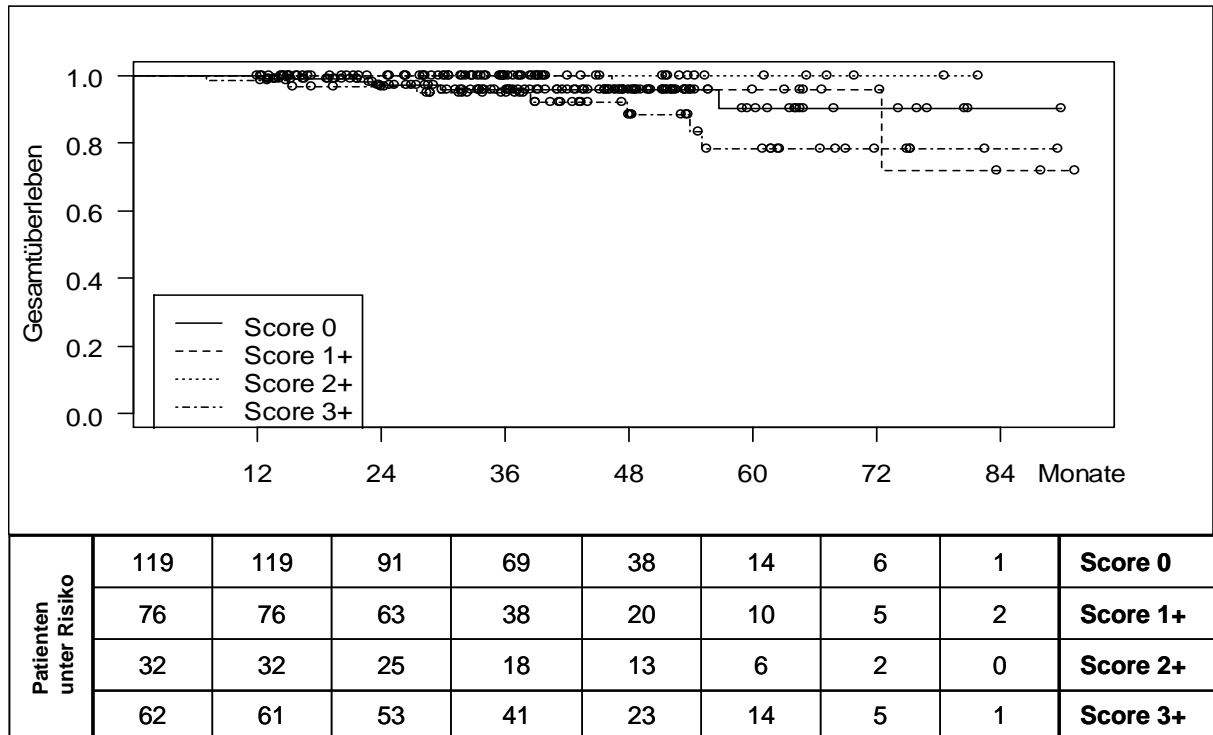


Abbildung 45: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit von der HER-2/neu-Expression (P=0,12).

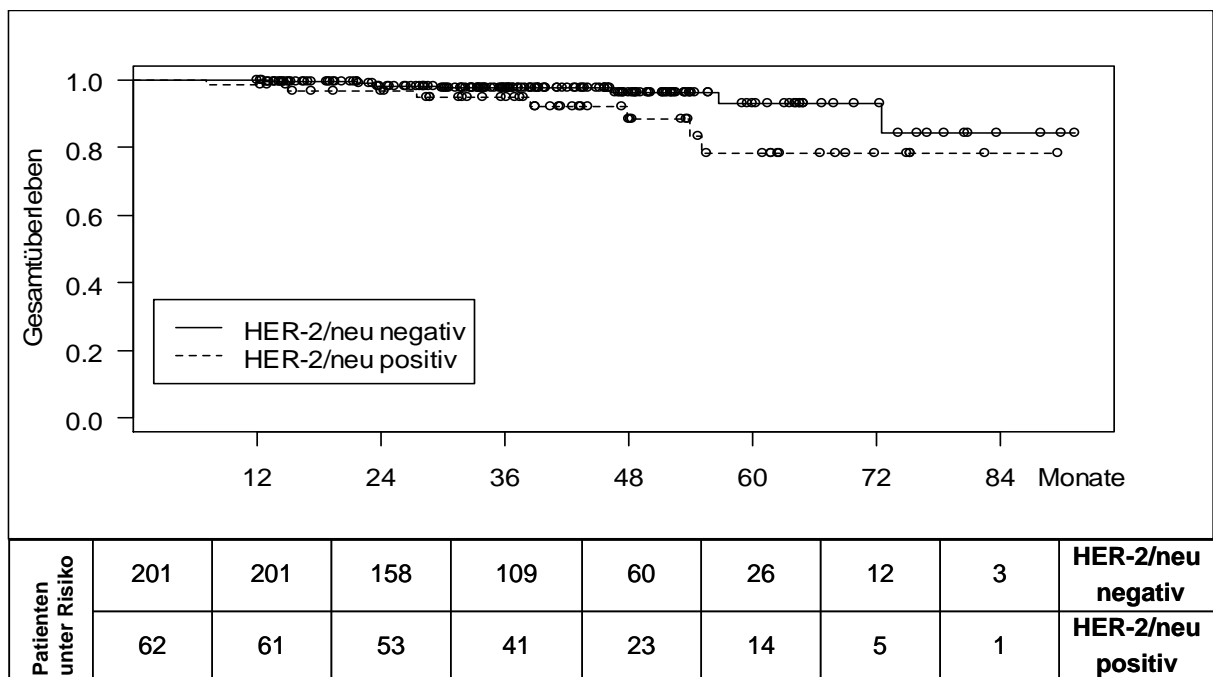


Abbildung 46: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom HER-2/neu-Gewebestatus (P=0,06).

Ergebnisse

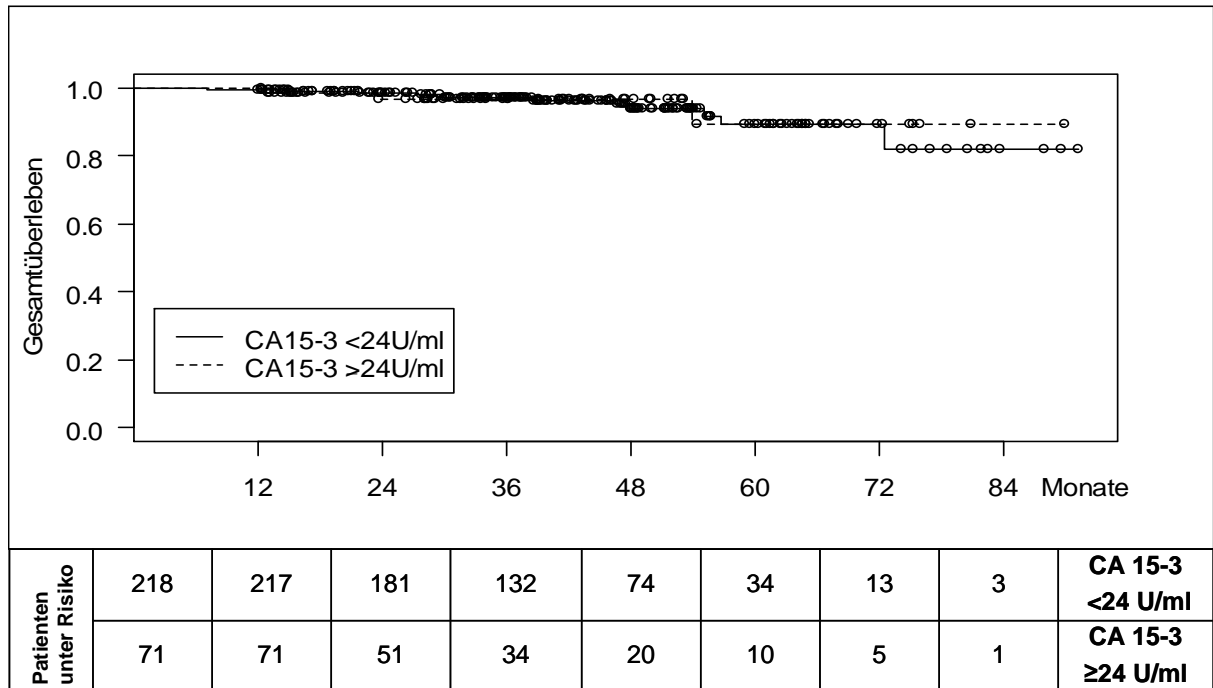


Abbildung 47: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit von der CA15-3-Konzentration (P=0,9).

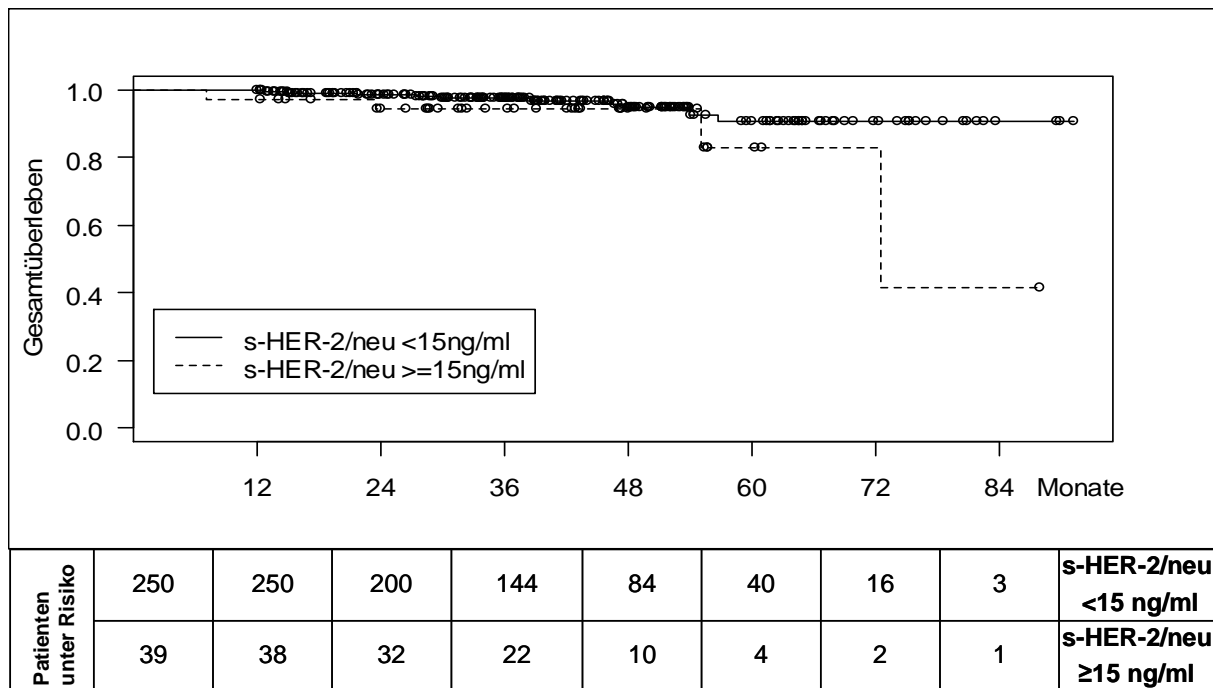


Abbildung 48: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit von der s-HER-2/neu-Konzentration (P=0,09).

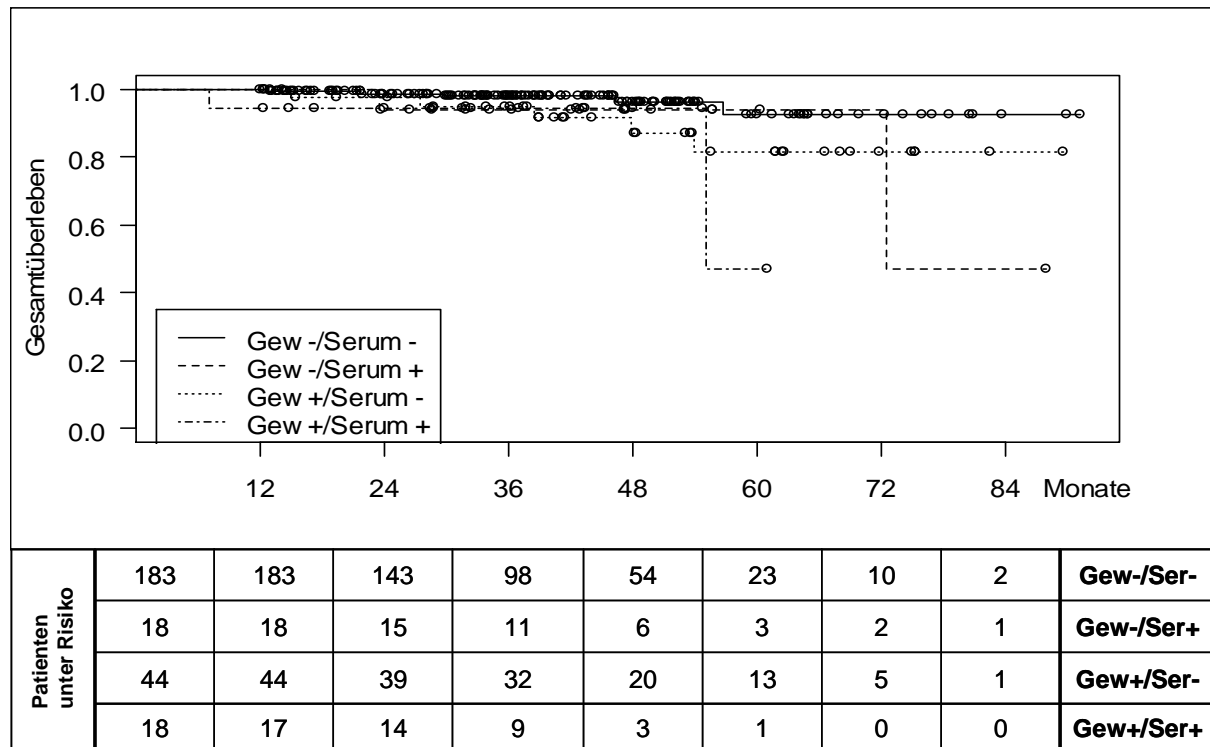


Abbildung 49: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit von s-HER-2/neu-Konzentration und HER-2/neu-Gewebestatus („Gew+/-“=HER-2/neu-Gewebestatus, „Ser+/-“=s-HER-2/neu über bzw. unter Cut-off) (P=0,12).

3.5.2.2 Multivariate Analyse

Für die multivariate Analyse des Gesamtüberlebens wurde das gleiche Vorgehen wie für das rezidivfreie Überleben genutzt. Als unabhängige Prognosefaktoren erwiesen sich die Tumorgöße und der Hormonrezeptorstatus (Tabelle 32).

Prognosefaktor	β -Koeffizient	Standard-abweichung	Chi ²	P-Wert	Hazard Ratio	95%-KI*
Tumorgöße	2,59	1,039	6,2	0,01	13,31	1,74
Hormonrezeptoren	1,36	0,562	5,9	0,02	3,90	1,30

Tabelle 32: Ergebnisse der multivariaten Analyse des Gesamtüberlebens (M0) (*: Konfidenzintervall).

4 DISKUSSION

Das Mammakarzinom ist eine heterogene Erkrankung, für die eine Vielzahl von Therapieoptionen bestehen. Um für jede Patientin – und jeden Patienten - die für sie bzw. ihn optimale Therapieform zu finden, werden zum Zeitpunkt der Diagnose eine Reihe von krankheitsassoziierten Merkmalen bestimmt, die die Prognose und das Ansprechen auf bestimmte Therapien vorhersagen können. Zu diesen Merkmalen gehören neben dem Alter und dem Menopausenstatus der Patienten die pathologisch und mittels Bildgebung zu bestimmende Ausdehnung der Erkrankung (Tumorgröße, Lymphknotenbefall und Fernmetastasierung) sowie der Differenzierungsgrad des Primärtumors. Daneben wird die histologische Bestimmung des Expressionsgrades der Hormonrezeptoren durchgeführt, die die Grundlage für die Entscheidung zur Durchführung einer antihormonellen Therapie bildet. Ein relativ neuer, aber inzwischen routinemäßig untersuchter Prognosefaktor ist der Expressionsgrad des HER-2/neu-Onkogens, der zusätzlich als prädiktiver Faktor für die Anwendung einer Therapie mit dem gegen ihn gerichteten monoklonalen Antikörper Trastuzumab (Herceptin®) dient. Die Bestimmung der zirkulierenden Tumormarker CA15-3 und CEA im Blut von Mammakarzinompatienten zum Zeitpunkt der Primärdiagnose konnte in mehreren Studien zusätzliche prognostische Informationen liefern und könnte daher in die Therapieentscheidung mit einfließen. Zirkulierende Tumormarker bieten dabei gegenüber den pathologisch zu erhebenden Faktoren die Vorteile der geringeren Invasivität und Kosten.

Das HER-2/neu-Shed Antigen könnte als neuer Tumormarker ebenfalls eine solche prognostische Aussagekraft haben und die bisher genutzten Tumormarker ergänzen. Wenn wir das HER-2/neu-Shed Antigen im Serum von Mammakarzinompatienten untersuchen, stellen wir uns aber darüber hinaus eine weitere interessante und klinisch relevante Frage: Inwiefern spiegelt die Konzentration von s-HER-2/neu den HER-2/neu-Gewebestatus des Tumors wider? Diese Frage ist besonders deshalb von Belang, weil die immunhistochemische Bestimmung des HER-2/neu-Gewebestatus von der Aufbereitung der Gewebeproben abhängig ist und so im Einzelfall unzuverlässige Ergebnisse liefern kann. Die in dieser Hinsicht weniger fehlerträchtige Analyse auf das Vorliegen einer Amplifikation des HER-2/neu-Onkogens mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung aber ist teuer und die technischen Voraussetzungen dafür sind in kleineren pathologischen Labors häufig nicht vorhanden.

Das HER-2/neu-Shed Antigen nimmt also unter den serologischen Tumormarkern eine Sonderstellung ein: Es ist nicht nur irgendein mit Tumorgewebe assoziiertes Protein, sondern

das Fragment eines gut untersuchten Onkogen-Produktes, dem HER-2/neu-Rezeptor, der nicht nur aufgrund seines Beitrages zur Karzinogenese, sondern darüber hinaus als Zielmolekül für eine Herceptin-Therapie eine wichtige Rolle für das Mammakarzinom spielt.

s-HER-2/neu bei Gesunden: Abhängigkeit von Geschlecht und Alter

Um sich einen umfassenden Eindruck vom biologischen Verhalten und klinischen Nutzen eines neuen Tumormarkers, in der vorliegenden Arbeit s-HER-2/neu, zu verschaffen, ist es zunächst vonnöten zu untersuchen, ob und in welchem Ausmaß die Freisetzung des Markers mit der Anwesenheit von Tumorgewebe im Körper zusammenhängt. Dazu wurden zunächst die s-HER-2/neu-Werte gesunder Kontrollpersonen betrachtet. Hierbei fiel auf, dass Männer signifikant höhere s-HER-2/neu-Werte als Frauen aufweisen. Dieser massive Einfluss des Geschlechts auf die s-HER-2/neu-Konzentrationen ist interessanterweise ein bisher so noch nicht beschriebenes Phänomen. Dies liegt vermutlich daran, dass sich der Großteil der Untersuchungen, die sich mit dem HER-2/neu-Shed Antigen befassen, auf das Mammakarzinom bezieht, das ja vor allem Frauen betrifft. Daher werden als Kontrollgruppen in solchen Studien auch meist nur weibliche Probanden untersucht. Die wenigen Studien, die den Nutzen des HER-2/neu-Shed Antigens bei anderen Erkrankungen und somit auch bei Männern evaluieren, haben entweder die Abhängigkeit der s-HER-2/neu-Werte vom Geschlecht nicht untersucht [51, 52] oder aber keinen Zusammenhang festgestellt [53, 54]. Die letzteren beiden Studien behandeln das HER-2/neu-Shed Antigen beim Lungenkarzinom. Entsprechend der Epidemiologie dieser Erkrankungsentität sind die Studienpatienten deutlich älter als die in der vorliegenden Arbeit betrachteten Referenzpersonen. Wie unsere Analyse aber zeigte, ist die s-HER-2/neu-Konzentration im Serum bei Frauen altersabhängig: die Wertlagen der Frauen nähern sich mit zunehmendem Alter denen der Männer an. Somit stehen die Ergebnisse dieser beiden Studien nicht im Widerspruch mit unseren.

Es mag einem zunächst unsinnig erscheinen, Männer in das Referenzkollektiv aufzunehmen, wenn die Vergleichsgruppe nur aus Frauen besteht. Dennoch liefert uns der dadurch gefundene Zusammenhang von Geschlecht und s-HER-2/neu-Werten auch in Bezug auf die Frauen noch mehr Information: Der Sachverhalt, dass die s-HER-2/neu-Werte bei den Frauen mit dem Alter steigen und schließlich die nicht-altersabhängigen Wertlagen der Männer erreichen, lässt den Rückschluss zu, dass die Sheddingrate von den Sexualhormonen beeinflusst wird, deren Konzentrationen sich bei den Frauen im Laufe des Lebens massiv verändern. Diese Behauptung lässt sich tatsächlich durch unsere Ergebnisse stützen, denn bei

genauer Betrachtung der s-HER-2/neu-Werte der gesunden Frauen in den von uns willkürlich gewählten vier Altersgruppen fällt auf, dass der Unterschied zwischen den Wertlagen der 45-55-jährigen und der über 55-jährigen deutlich geringer ist als die Unterschiede zwischen den jüngeren Gruppen. Da die meisten Frauen ihre Menopause zwischen dem 45. und dem 55. Lebensjahr erleben, ist dies ein weiterer Hinweis auf die Beeinflussung des Sheddings durch Sexualhormone. Tatsächlich konnte in einigen Studien auch eine Alteration der s-HER-2/neu-Konzentrationen während der Schwangerschaft [55] und unter der Einnahme von oralen Kontrazeptiva und Hormonersatztherapie [56] festgestellt werden. Der exakte Mechanismus der Interaktion zwischen Sexualhormonen und s-HER-2/neu konnte allerdings noch nicht geklärt werden.

Die Betrachtung der männlichen Referenzpersonen erbrachte uns also die Erkenntnis, dass die bei den Frauen beobachtete Altersabhängigkeit der s-HER-2/neu-Werte eigentlich eine Abhängigkeit vom Menopausenstatus darstellt.

Vergleich von rezidivfreien Frauen und Patientinnen

Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde auf einen Vergleich der Wertlagen von den relativ jungen gesunden Frauen und der von den wesentlich älteren Mammakarzinompatientinnen verzichtet und stattdessen die Gruppe der als krankheitsfrei anzusehenden Frauen aus der Nachsorgephase herangezogen, die eine ähnliche Altersverteilung wie die Patientinnen aufwiesen. Es zeigte sich, dass sich die s-HER-2/neu-Werte in den beiden Gruppen kaum unterscheiden. Lediglich bei Betrachtung der Spannweite der s-HER-2/neu-Werte fällt auf, dass sehr hohe Werte ausschließlich in der Gruppe der Mammakarzinompatientinnen vorkommen. Da bei anderen Tumormarkern das Vorliegen von Fernmetastasen oft mit besonders hohen Werten assoziiert ist, wurde eine getrennte Betrachtung von Patientinnen mit und ohne Fernmetastasen durchgeführt. Diese zeigt, dass eine Fernmetastasierung auch bei s-HER-2/neu mit höheren Werten vergesellschaftet ist. Dass sich die Wertlagen von Mammakarzinompatientinnen ohne Fernmetastasen nicht von denen gesunder Personen unterscheiden und dass Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom höhere Werte aufweisen, konnte auch in anderen Studien gezeigt werden [52, 57-63]. Daneben beschreiben aber Dittadi et al. und Quaranta et al., dass auch nicht-metastasierte Mammakarzinompatientinnen im Vergleich zu gesunden Frauen erhöhte s-HER-2/neu-Werte haben [64, 65]. In diesen beiden Studien sind allerdings die gesunden Referenzpersonen deutlich jünger als die Mammakarzinompatientinnen, mit denen sie verglichen werden, sodass davon auszugehen ist, dass die relativ höheren Wertlagen bei den kranken Frauen durch den

höheren Anteil der postmenopausalen Frauen in dieser Gruppe bedingt sind. Hier wird klar, wie wichtig eine gewissenhafte Kollektivzusammenstellung ist und wie sich aus kleinen Unterschieden in Vergleichsgruppen unter Umständen falsche Schlussfolgerungen ergeben können.

Dass sich die Werteverteilung von s-HER-2/neu bei Mammakarzinompatientinnen im Wesentlichen nicht von denen bei krankheitsfreien Frauen unterscheiden, zeigt, dass s-HER-2/neu wie die meisten anderen bisher verwendeten serologischen Tumormarker primär kein geeignetes Mittel zum Screening oder zur Diagnostik von Krebserkrankungen sein kann. Wenn man die jeweils höchsten s-HER-2/neu-Werte in den verschiedenen Kollektiven vergleicht, fällt aber auf, dass gewisse Werte (in unserer Studie 24ng/ml) nur von den Mammakarzinompatientinnen überschritten werden. Dies liefert einen Hinweis darauf, dass das Vorliegen von s-HER-2/neu im Serum durchaus mit dem Vorhandensein von Tumorgewebe im Körper assoziiert ist, dass aber die Existenz eines Tumors allein noch keine erhöhten s-HER-2/neu-Werte bedingt.

Korrelationen mit den gängigen Prognosefaktoren

Um die unabhängige prognostische Aussagekraft von zirkulierenden Tumormarkern zu evaluieren, ist es zunächst nötig, die Tumormarkerspiegel mit den anderen etablierten Prognosefaktoren zu korrelieren. Diese sind beim Mammakarzinom der Menopausenstatus, die postoperative TNM-Klassifikation und das sich daraus ableitende UICC-Stadium, das histologische Grading, der Hormonrezeptorstatus und der HER-2/neu-Expressionsgrad im Gewebe, auf den aber wegen der besonderen Assoziation zum hier untersuchten Tumormarker erst gesondert eingegangen werden soll.

Menopausenstatus

Die Abhängigkeit der s-HER-2/neu-Konzentration vom Menopausenstatus wurde analog zu den Beobachtungen bei den gesunden Referenzpersonen auch bei den Mammakarzinompatientinnen gefunden. Dieses Ergebnis wurde auch in anderen Studien bestätigt [46, 58, 64, 66, 67]. Vier weitere Studien, die nur postmenopausale Mammakarzinompatientinnen betrachten, konnten bei diesen keine Abhängigkeit der s-HER-2/neu-Spiegel vom Alter der Patientinnen nachweisen [68-71]. Dies unterstützt somit ebenfalls die These, dass die Altersabhängigkeit bei Frauen eigentlich die Abhängigkeit vom Sexualhormonstatus darstellt. Dennoch berichtet eine Reihe von anderen Autoren keinen Unterschied in den s-HER-2/neu-Konzentrationen bezüglich des Menopausenstatus ihrer

Patientinnen gefunden zu haben [72- 79]. Diese Studien gehen aber alle Cut-off-orientiert vor und vergleichen somit nicht die s-HER-2/neu-Wertlagen, sondern die Raten der Patientinnen mit Werten über und unter dem jeweils gewählten Cut-off-Wert. Diese Art der Betrachtung kann grundsätzlich nicht mit einem direkten Wertlagenvergleich gleichgesetzt werden und ist bei serologischen Markern, die auch unter physiologischen Umständen freigesetzt werden und deren Wertlagen von Gesunden und Kranken sich überlappen, grundsätzlich nicht sinnvoll. Außerdem muss betont werden, dass die Cut-off-orientierte Vorgehensweise beim HER-2/neu-Shed Antigen insbesondere deshalb problematisch ist, weil der Cut-off-Wert in der Regel anhand der Evaluation gesunder Vergleichspersonen determiniert wird (in der Regel als zwei Standardabweichungen über dem Mittelwert der untersuchten gesunden Personen) und diese, wie bereits geschildert, ähnliche s-HER-2/neu-Konzentrationen aufweisen wie Krebspatienten. Somit liegt meistens nur ein sehr kleiner Teil der Patientinnen mit ihren s-HER-2/neu-Werten über dem Cut-off-Wert, was die Aussagekraft einer Cut-off-orientierten Untersuchung natürlich stark vermindern kann. Darüberhinaus sind die gesunden Personen, die zur Cut-off-Bestimmung herangezogen werden, in den meisten Studien (wie auch in unserer) wesentlich jünger als die Patientinnen. Wenn eine ältere Mammakarzinompatientin nun einen s-HER-2/neu-Wert über dem Cut-off-Wert aufweist, so ist dies nicht zwingend durch ihre Erkrankung, sondern vielleicht nur durch ihr Alter bedingt. Insofern müssen Cut-off-orientierte Studien zum HER-2/neu-Shed Antigen mit großer Vorsicht interpretiert werden.

Die Überprüfung eines Zusammenhangs von s-HER-2/neu-Werten und Menopausenstatus ist nicht nur im Bezug auf die prognostische Aussagekraft des HER-2/neu-Shed Antigens und auf die Information über die physiologische Regulation des Sheddings durch Sexualhormone interessant, sondern hat auch Bedeutung für Studien zur Evaluation der Therapieeffizienz oder zur Rezidivdiagnostik: Hier wird s-HER-2/neu meist mehrmals im Krankheitsverlauf gemessen und die Kinetik der Serumkonzentrationen betrachtet. Dabei muss berücksichtigt werden, dass ein Anstieg der s-HER-2/neu-Werte therapieinduziert sein kann, da sowohl jegliche Form der Hormontherapie als auch systemische Chemotherapien die Ovarialfunktion beeinflussen und somit eine zum Zeitpunkt der Diagnose prämenopausale Patientin im Verlauf ihrer Erkrankung unter Umständen recht schnell postmenopausal werden kann.

TNM-Klassifikation

Der Zusammenhang von s-HER-2/neu-Werten und primärer Fernmetastasierung wurde oben bereits beschrieben. Die Tumorgröße pT hat in unserer Studie einen statistisch signifikanten

Einfluss auf die s-HER-2/neu-Konzentrationen im Serum, es ist allerdings zu betonen, dass der Unterschied in den Wertlagen zwischen den untersuchten Gruppen relativ gering ist: Die Mediane der Patientinnen mit Tis/T1-, T2- und T3-Tumoren unterscheiden sich lediglich um jeweils 0,5ng/ml. Es gibt einige Publikationen, die eine Abhängigkeit der s-HER-2/neu-Werte von der Tumorgröße zeigen konnten [76, 77, 80-84], andere wiederum verneinen einen Zusammenhang [51, 65, 72, 74, 79, 85-87]. Ein ähnliches Bild zeigt sich bei der Untersuchung des Lymphknotenstatus: Während in unserer Studie und in zahlreichen anderen Untersuchungen keine Beeinflussung der s-HER-2/neu-Werte durch das Vorliegen von Lymphknotenmetastasen zu beobachten war [51, 64, 65, 72, 74, 84-87], konnten mehrere Autoren einen Einfluss zeigen [76, 77, 79-81, 83]. Dementsprechend kontroverse Ergebnisse liegen für die Untersuchung des sich aus der TNM-Klassifikation abgeleiteten UICC-Stadiums vor. Insgesamt muss der Zusammenhang von s-HER-2/neu und Tumorgröße bzw. Lymphknotenstatus als nicht ausreichend geklärt bezeichnet werden. Eine Assoziation von s-HER-2/neu im Serum und Krankheitsausbreitung erscheint biologisch plausibel, wenn man davon ausgeht, dass ein konstantes Shedding des in der Zellmembran der Tumorzellen sitzenden HER-2/neu-Rezeptors stattfindet: Eine Vermehrung der Tumorzellen würde dabei in einer höheren s-HER-2/neu-Konzentration resultieren. Die Anzahl der HER-2/neu-Rezeptoren pro Tumorzelle ist aber natürlich gemäß dem HER-2/neu-Expressionsgrad variabel. Da jedoch eine vermehrte Expression von HER-2/neu im Tumorgewebe mit einem aggressiveren Tumorwachstum assoziiert ist [88], könnte man sich einen Zusammenhang von Tumorgröße bzw. Lymphknotenstatus und s-HER-2/neu-Konzentration durchaus vorstellen. Dass dies in klinischen Studien so nicht eindeutig gezeigt werden konnte, liefert einen Hinweis darauf, dass der Shedding-Mechanismus kein zufälliger physiologischer Prozess ist, der konstant die extrazelluläre Domäne eines bestimmten Anteils der im Körper vorhandenen HER-2/neu-Rezeptoren abschilfert, sondern ein durch andere Mediatoren reguliertes und kontrolliertes Phänomen.

Grading und Hormonrezeptorstatus

Auch eine Abhängigkeit der s-HER-2/neu-Werte vom histopathologischen Grading des Primärtumors erscheint biologisch plausibel, konnte in der vorliegenden Studie aber nicht gezeigt werden. Dieses Ergebnis stimmt mit den Untersuchungen zweier Autoren überein [80, 85], daneben beschreiben einige Autoren aber einen Zusammenhang zwischen Grading und s-HER-2/neu [67, 76, 77, 79, 83]. Diese Studien gehen allerdings alle Cut-off-orientiert vor. Bei näherer Betrachtung unserer Daten fällt auf, dass sich der Großteil der s-HER-2/neu-Werte

von Patientinnen mit G1-, G2- bzw. G3-Tumoren nicht wesentlich voneinander unterscheidet, dass aber die 95ten Perzentilen in den jeweiligen Patientengruppen durchaus mit niedrigerem Differenzierungsgrad steigen. Es ist also durchaus vorstellbar, dass sich eine statistisch signifikante Abhängigkeit der s-HER-2/neu-Werte vom Grading gezeigt hätte, wenn wir die Anteile der Patientinnen mit Werten oberhalb eines bestimmten Cut-off-Wertes in den drei Gruppen betrachtet hätten. Der genaue Zusammenhang von s-HER-2/neu und Grading bleibt also noch unklar, allerdings scheinen sehr hohe Werte eher bei schlechter differenzierten Tumoren aufzutreten.

Der Hormonrezeptorstatus des Primärtumors hatte bei uns ebenfalls keinen Einfluss auf die s-HER-2/neu-Konzentrationen. Hierbei stimmen wir mit den meisten Studien, die diesen Zusammenhang geprüft haben, überein [64, 67, 68; 70, 71, 73-78, 80, 83, 85-87, 89-93]. Dennoch konnten einige Autoren einen signifikanten Zusammenhang zwischen s-HER-2/neu und Hormonrezeptorstatus nachweisen, wobei höhere s-HER-2/neu-Werte bei Patientinnen mit Hormonrezeptor-negativen Tumoren gemessen wurden [65, 72, 79, 94, 95]. Auch hier wurde bei den meisten Untersuchungen Cut-off-orientiert vorgegangen; dennoch kann die Frage, ob eine Assoziation von s-HER-2/neu mit dem Hormonrezeptorstatus besteht, nicht endgültig geklärt werden.

Korrelation von s-HER-2/neu mit den Tumormarkern CA15-3 und CEA

Wenn ein neuer solubler Tumormarker evaluiert wird, ist es sinnvoll, ihn mit bereits etablierten Tumormarkern zu vergleichen. In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb die drei Marker s-HER-2/neu, CA15-3 und CEA einerseits direkt miteinander korreliert und andererseits wurden alle Korrelationen mit den klinischen und pathologischen Prognosefaktoren nicht nur für s-HER-2/neu, sondern parallel auch für CA15-3 und CEA mituntersucht.

Beim direkten Vergleich der Tumormarkerwerte ergab sich eine zwar statistisch signifikante, aber mit Korrelationskoeffizienten von $r=0,19$ bzw. $r=0,25$ äußerst schwache Korrelation sowohl zwischen s-HER-2/neu und CA15-3 als auch zwischen s-HER-2/neu und CEA. Auch CA15-3 und CEA korrelierten schwach miteinander ($r=0,15$). Eine Korrelation zwischen s-HER-2/neu und CA15-3 konnten auch andere Autoren zeigen [67-69, 89]. Diejenigen, die auch CEA mituntersuchten, konnten allerdings keinen Zusammenhang von s-HER-2/neu und CEA feststellen [80, 81, 96]. Imoto et al. [76] fand weder mit CA15-3 noch mit CEA eine Assoziation. Es ist zu betonen, dass nur Ali et al. [68] die Tumormarker wie wir als kontinuierliche Variablen betrachten, während alle anderen Autoren ein nach Cut-off-Werten

dichotomisiertes Vorgehen wählten. Allerdings ist die Vergleichbarkeit mit unserer Studie dadurch eingeschränkt, dass Ali et al. nur Patientinnen mit Fernmetastasen untersucht. Insgesamt liefert die bisher publizierte Literatur aufgrund ihrer Heterogenität, was die Studienkollektive betrifft, und aufgrund des Cut-off-orientierten Vorgehens nur unzureichenden Einblick in die tatsächlichen Zusammenhänge zwischen den drei Tumormarkern. Die in der vorliegenden Arbeit gefundene Diskrepanz zwischen sehr niedrigen Korrelationskoeffizienten und hohem Signifikanzniveau (alle P-Werte $<0,001$) lässt sich durch die große Anzahl untersuchter Patientinnen erklären.

Bezüglich der Korrelationen mit den Prognosefaktoren ergab sich folgendes Bild: Die für das HER-2/neu-Shed Antigen gezeigte Abhängigkeit vom Menopausenstatus fand sich auch bei CEA. Diese kann hier allerdings mangels Untersuchung von männlichen Probanden nicht von einer anders bedingten Altersabhängigkeit unterschieden werden. Eine Korrelation zur Tumorgröße wiesen alle drei Tumormarker auf, dabei ist die des s-HER-2/neu am schwächsten ausgeprägt. CA15-3 und CEA erwiesen sich im Gegensatz zu s-HER-2/neu außerdem als abhängig vom Lymphknotenstatus und daher auch vom UICC-Stadium. Die feingeweblichen Prognosefaktoren (Grading und Hormonrezeptorstatus) hatten außer einer schwachen positiven Korrelation von CEA mit dem Östrogenrezeptorstatus keinen Einfluss auf die drei Tumormarker. Insgesamt ist als auffälligster Unterschied zwischen den drei untersuchten Tumormarkern die im Gegensatz zu CA15-3 und CEA nicht so sehr bestehende Assoziation von s-HER-2/neu-Werten mit dem Krankheitsstadium hervorzuheben. Wie weiter oben bereits erwähnt scheint also das Freisetzen des HER-2/neu-Shed Antigens einer variablen Regulation zu unterliegen, sodass eine größere Anzahl von Tumorzellen nicht zwingend höhere Konzentrationen von s-HER-2/neu bedingt, während die tumorassoziierten Antigene CA15-3 und CEA eher in konstanter Rate ins Serum abgegeben zu werden scheinen und somit höhere Tumorlast in der Regel zu höheren Tumormarkerkonzentrationen führt.

s-HER-2/neu und HER-2/neu-Gewebestatus

Der HER-2/neu-Gewebestatus ist beim Mammakarzinom nicht nur als weiterer Prognosefaktor von Bedeutung, sondern bildet darüberhinaus die Grundlage für die Indikation einer Therapie mit dem monoklonalen Antikörper Trastuzumab. Deshalb ist die Untersuchung einer Korrelation von HER-2/neu-Gewebestatus und Shed Antigen nicht nur aus prognostischer Perspektive interessant, sondern auch in Bezug auf die Frage, ob der zirkulierende Tumormarker eventuell zur Therapieentscheidung beitragen kann.

In der vorliegenden Arbeit wurde zunächst im Kollektiv der Patientinnen ohne primäre Fernmetastasen der Zusammenhang von s-HER-2/neu mit der immunhistochemisch bestimmten Expression des HER-2/neu-Rezeptors im Gewebe untersucht. Es ergab sich eine signifikante Korrelation zwischen den s-HER-2/neu-Konzentrationen und dem immunhistochemischen Score. Dabei fällt auf, dass sich die Wertlagen der Patientinnen mit einem immunhistochemischen Score von 0, 1+ und 2+ kaum unterscheiden und nur Patientinnen mit einem Score 3+, also einer starken Überexpression des HER-2/neu-Onkogens im Tumorgewebe, deutlich höhere s-HER-2/neu-Werte aufweisen. Außerdem wurden, wie bei Betrachtung der Spannweiten in den jeweiligen Gruppen auffällt, s-HER-2/neu-Werte von über etwa 30ng/ml ausschließlich in der letzteren Gruppe gemessen. Dass sich die Frauen mit starker HER-2/neu-Überexpression von allen anderen so deutlich unterscheiden, ist besonders deshalb von Bedeutung, weil sich in großen Studien gezeigt hat, dass die Gruppe der Patientinnen mit einem immunhistochemischen Score von 3+ besser auf eine Herceptintherapie anspricht als jene mit einem Score von 2+, der ja initial ebenfalls als Auswahlkriterium für eine Herceptintherapie galt [88]. Aufgrund dieser Erkenntnis wird heute empfohlen, bei Patientinnen mit zweifach positiver HER-2/neu-Expression zusätzlich eine FISH-Analyse durchzuführen, und nur Patientinnen, in deren Tumorgewebe auch eine HER-2/neu-Genamplifikation nachgewiesen werden kann, mit Herceptin zu behandeln. Gemäß dieser Empfehlung wurde auch in der vorliegenden Arbeit eine auf Immunhistochemie und Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung basierende Einteilung in HER-2/neu-negative und HER-2/neu-positive Patientinnen vorgenommen. Wie zu erwarten war, fand sich auch hier eine signifikante Korrelation zwischen der Konzentration des HER-2/neu-Shed Antigens im Serum und dem HER-2/neu-Status im Gewebe.

Die Assoziation von s-HER-2/neu im Serum und HER-2/neu-Onkoprotein im Tumorgewebe wurde bereits von einer Vielzahl von Autoren untersucht. Während die meisten von ihnen eine positive Korrelation der beiden Parameter nachweisen konnten [76, 79, 81, 82, 86, 87, 89, 91, 94, 95, 97-108], ergab sich bei anderen Untersuchungen kein Zusammenhang [58, 61, 63-65, 78, 80, 85, 109, 110]. Es ist schwierig, diese vielen Studien miteinander zu vergleichen, da hier nicht nur die Heterogenität der Studienpopulationen und die unterschiedlichen Assays zur Bestimmung des HER-2/neu-Shed Antigens und unter Umständen die Wahl des Cut-off-Wertes das Ergebnis beeinflussen, sondern auch die Methoden zur Bestimmung des HER-2/neu-Gewebestatus' eine große Diversität aufweisen. Neben den zur Indikationsstellung für eine Herceptintherapie empfohlenen und zugelassenen Tests mittels Immunhistochemie und Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung verwenden manche

Untersucher alternative Methoden wie beispielsweise die PCR (Polymerase Chain Reaction) oder ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), wofür das Tumorgewebe homogenisiert wird. Und selbst die Studien, die den HER-2/neu-Status mittels Immunhistochemie bestimmen, benutzen unterschiedliche, teils nicht von der Food and Drug Administration anerkannte Arten der Gewebefixation, Antikörper und Klassifikations-Methoden zur Unterscheidung von HER-2/neu-positiven und HER-2/neu-negativen Patientinnen. Ob ein kausaler Zusammenhang zwischen s-HER-2/neu-Freisetzung und HER-2/neu-Überexpression besteht, kann somit nicht abschließend beantwortet werden.

Die in der Mehrzahl der Studien wie auch in der vorliegenden Arbeit gefundene Abhängigkeit der s-HER-2/neu-Konzentration vom HER-2/neu-Gewebestatus deutet darauf hin, dass die Messung des zirkulierenden s-HER-2/neu eventuell die feingewebliche Untersuchung des Primärtumors auf das Vorliegen einer HER-2/neu-Überexpression oder –Genamplifikation ersetzen oder zumindest ergänzen könnte.

Wenn der s-HER-2/neu-Wert im Serum als Entscheidungskriterium für eine Herceptintherapie geprüft werden soll, muss aber sichergestellt werden, dass erhöhte s-HER-2/neu-Werte nicht auch unter bestimmten Umständen bei HER-2/neu-negativen Patientinnen auftreten können. Wie wir weiter oben bereits gesehen haben, liegen die s-HER-2/neu-Konzentrationen bei Patientinnen mit Fernmetastasen höher als die der Patientinnen ohne Metastasierung. Somit lag die Vermutung nahe, dass ein zum Zeitpunkt der Primärdiagnose erhöhter s-HER-2/neu-Wert nicht nur unbedingt einen positiven HER-2/neu-Gewebestatus widerspiegelt, sondern auch Ausdruck einer bereits vorliegenden, unter Umständen okkulten Fernmetastasierung bei HER-2/neu-negativen Patientinnen sein kann, was den Einsatz des HER-2/neu-Shed Antigens als Mittel zur Indikationsstellung für eine Herceptintherapie natürlich obsolet machen würde. Überraschenderweise zeigte die deshalb durchgeführte Untersuchung der Korrelation von s-HER-2/neu und HER-2/neu-Gewebestatus bei den primär fernmetastasierten Patientinnen ebenfalls eine Korrelation. Besonders bemerkenswert ist, dass auch hier fast alle Patientinnen mit einem s-HER-2/neu-Wert von über 30ng/ml einen positiven HER-2/neu-Gewebestatus aufwiesen, was ja bedeutet, dass eine Mammakarzinompatientin, die zum Zeitpunkt der Primärdiagnose einen höheren Wert als 30ng/ml aufweist, ungeachtet ihres Metastasierungsstatus auch ohne feingewebliche Untersuchung als HER-2/neu-positiv identifiziert werden könnte. Nur eine einzige Patientin in der Gruppe der HER-2/neu-negativen Frauen mit primären Fernmetastasen lag mit einem s-HER-2/neu-Wert von 142ng/ml deutlich über diesem Wert und wäre somit fälschlicherweise

als HER-2/neu-positiv klassifiziert worden. Bei dieser Patientin handelt es sich allerdings um eine Frau, die zum Zeitpunkt der Diagnosestellung eine weit fortgeschrittene viszeral betonte Fernmetastasierung aufwies, die leider trotz Chemotherapie innerhalb weniger Tage zum Tode führte. Für ihren stark erhöhten s-HER-2/neu-Wert trotz HER-2/neu-negativem Primärtumor lassen sich daher mehrere Gründe vermuten: Einerseits ist es natürlich möglich, dass allein die große Tumormasse und die somit trotz geringer HER-2/neu-Expression in jeder Zelle insgesamt große Anzahl von HER-2/neu-Rezeptoren im gesamten Körper den stark erhöhten s-HER-2/neu-Wert bedingte. Andererseits kann bei Vorliegen von massiven Lebermetastasen der hepatische Metabolismus und somit die Elimination des HER-2/neu-Shed Antigens beeinträchtigt sein und die Konzentration im Serum deshalb ansteigen. Tatsächlich wurde diese Abhängigkeit des HER-2/neu-Shed Antigens von der Leberfunktion von einigen Autoren bereits beschrieben [51, 59, 70, 94, 102]. Diese beiden potenziellen Ursachen für einen „falsch-hohen“ s-HER-2/neu-Wert schränken den Einsatz von s-HER-2/neu zur Bestimmung des Gewebestatus aber insofern nicht ein, als sowohl eine massive Tumormasse als auch eine Leberdysfunktion der bildgebenden bzw. laborchemischen Diagnostik zugänglich sind. Somit könnte das HER-2/neu-Shed Antigen zumindest bei allen Patientinnen, bei denen eine exzessive Metastasierung und eine verminderte Leberfunktion ausgeschlossen werden kann, zur Therapieentscheidung angewandt werden.

Desweiteren muss spekuliert werden, ob denn die Klassifikation der oben genannten Patientin als HER-2/neu-negativ überhaupt korrekt ist: Die Bestimmung des HER-2/neu-Status erfolgte anhand einer Biopsie des Primärtumors. Hierbei könnten natürlich labortechnische Fehler oder eine Probenverwechslung ein falsches Resultat liefern, wovon hier nicht ausgegangen werden soll. Vielmehr stellt sich die Frage, ob die alleinige Untersuchung einer Biopsie des Tumors in der Brust den HER-2/neu-Status der gesamten im Körper vorhandenen Tumormasse liefern kann. Es ist aus mehreren Studien bekannt, dass die HER-2/neu-Expression einerseits innerhalb eines einzigen Tumors heterogen sein kann und andererseits, dass sich Fernmetastasen und Primärtumor bezüglich des HER-2/neu-Gewebestatus' voneinander unterscheiden können [111-115]. Dass die von uns als HER-2/neu-negativ angesehene Patientin HER-2/neu-positiv Metastasen gehabt haben könnte und somit sehr wohl von einer Herceptintherapie profitiert hätte, ist daher nicht ausgeschlossen. Was bei unserer Patientin tatsächlich der Grund für den erhöhten s-HER-2/neu-Wert war, lässt sich natürlich im Nachhinein nicht klären. Hier sind weitere Studien vonnöten, die bei metastasierten Mammakarzinompatientinnen den HER-2/neu-Status sowohl im Primärtumor als auch in den Metastasen sowie die Konzentrationen des HER-2/neu-Shed Antigens

untersuchen. Sollte sich bestätigen, dass s-HER-2/neu-Werte über einem bestimmten Grenzwert nur von HER-2/neu-positiven Patientinnen erreicht werden, so könnte das HER-2/neu-Shed Antigen eventuell zur Indikationsstellung für eine Herceptintherapie genutzt werden. Vor allem bei Patientinnen mit Fernmetastasen wäre dies sehr hilfreich, da die Metastasen in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation oft nur schwer der histopathologischen Untersuchung zugänglich sind.

Um zu evaluieren, mit welcher Spezifität und Sensitivität das HER-2/neu-Shed Antigen den HER-2/neu-Gewebestatus im Primärtumor vorhersagen kann, wurde eine ROC-Analyse durchgeführt. Wie schon weiter oben aus den Daten abzuschätzen war, kann in unserem Kollektiv der HER-2/neu-Gewebestatus mit 100%iger Spezifität vorhergesagt werden, wenn der Cut-off-Wert für s-HER-2/neu bei 30ng/ml gewählt wird. Dabei können allerdings nur etwa 8% der HER-2/neu-positiven Patientinnen als solche detektiert werden. Dieser Anteil lässt sich auf das über Vierfache (35,6%) steigern, wenn der Cut-off auf 15ng/ml gesetzt wird; allerdings werden dann fast 15% der HER-2/neu-negativen Patientinnen fälschlicherweise als HER-2/neu-positiv klassifiziert. Für eine Untersuchung, die die Grundlage für die Entscheidung über den Einsatz einer relativ toxischen und zudem teuren Therapie mit Trastuzumab bilden soll, sollte allerdings der Cut-off-Wert so gewählt werden, dass eine 100%ige Spezifität erreicht wird. Nur wenige Studien haben bisher eine ROC-Analyse zur Bestimmung der diagnostischen Kapazität des HER-2/neu-Shed Antigens im Bezug auf den HER-2/neu-Gewebestatus durchgeführt. Pallud et al. [82] errechneten an einem Kollektiv von Mammakarzinompatientinnen ohne Fernmetastasen eine Spezifität von fast 94% bei einem Cut-off-Wert von 14,45ng/ml, wobei die Sensitivität 48,1% betrug. Wendet man einen vergleichbaren Cut-off-Wert auf unser Kollektiv an (14,3ng/ml), ergibt sich mit 83% bzw. 40,4% eine geringere Spezifität und Sensitivität. Leider ist aus der Studie von Pallud et. al nicht ersichtlich, bei welchem Cut-off-Wert eine 100%ige Spezifität erreicht wird. Da jedoch die Spezifität und Sensitivität bei geringerem Cut-off-Wert bereits bessere Werte erzielen als in unserer Studie, ist anzunehmen, dass unter Verwendung eines Cut-off-Wertes von 30ng/ml eine Spezifität von 100% erreicht werden kann. Die von Pallud et al. errechnete im Vergleich zu unserer Studie sehr hohe Sensitivität lässt sich dadurch erklären, dass das der Untersuchung zugrunde liegende Kollektiv ausschließlich aus Mammakarzinompatientinnen zusammengesetzt wurde, deren s-HER-2/neu-Werte über 10ng/ml lagen.

Tse et al. und Kong et al. [94, 107] führten eine ROC-Analyse zur Bestimmung des HER-2/neu-Gewebestatus mittels s-HER-2/neu an Mammakarzinompatientinnen mit

Fernmetastasen durch. Während Tse et. al bei einem Cut-off-Wert von 16ng/ml eine Spezifität von 83% bei einer Sensitivität von 90% errechneten, lagen bei Kong et al. die Spezifität und Sensitivität unter Verwendung von 15ng/ml als Cut-off-Wert bei nur 62% bzw. 88%. Hierbei muss beachtet werden, dass der HER-2/neu-Gewebestatus jeweils an Gewebeproben des Primärtumors bestimmt wurde und sich somit auch hier die Frage stellt, inwiefern dieser eine zuverlässige Aussage über den HER-2/neu-Status der sekundär aufgetretenen Fernmetastasen liefern kann. Aus der Arbeit von Kong et al. ist außerdem ersichtlich, dass das Vorliegen von Lebermetastasen die Spezifität des Testes vermindert: Während bei Betrachtung aller Patientinnen bei einem Cut-off-Wert von 30ng/ml die Spezifität bei 90% lag, konnte diese unter Ausschluss der Patientinnen mit Lebermetastasen auf 95% gesteigert werden.

Insgesamt lässt sich aus den bisher vorliegenden Arbeiten keine endgültige Empfehlung hinsichtlich der Wahl eines Cut-off-Wertes zur optimalen Nutzung des HER-2/neu-Shed Antigens zur Bestimmung des HER-2/neu-Gewebestatus ableiten. Es wird aber ersichtlich, dass die Messung des HER-2/neu-Shed Antigens aufgrund der geringen Sensitivität des Testes sicherlich nicht die histopathologische Bestimmung des HER-2/neu-Gewebestatus ersetzen kann. Das HER-2/neu-Shed Antigen könnte aber als ergänzendes Hilfsmittel dienen, beispielsweise um den HER-2/neu-Status zum Zeitpunkt der Fernmetastasierung zu re-evaluieren, vor allem wenn eine Biopsie der Metastasen nicht möglich ist. Und auch zum Zeitpunkt der Primärdiagnose könnte eine über dem entsprechenden Cut-off-Wert liegende s-HER-2/neu-Konzentration bei HER-2/neu-negativem Primärtumor einen Hinweis darauf liefern, dass entweder das Ergebnis der immunhistochemischen Untersuchung falsch-negativ ist, was insbesondere bei verlängertem Intervall zwischen Gewebeentnahme und -fixation bzw. -auswertung auftreten kann [32], oder der Tumor eine heterogene HER-2/neu-Expression aufweist.

Die prognostische Aussagekraft von s-HER-2/neu

Die Bestimmung von Faktoren, die die Prognose von Krebserkrankungen beeinflussen, dient der Einschätzung des Krankheitsverlaufes jedes einzelnen Patienten und ermöglicht somit eine individuell daran angepasste Therapie. Der Einsatz von zirkulierenden Tumormarkern als Prognosefaktoren bietet dabei den Vorteil der wenig invasiven, kostengünstigen und reproduzierbaren Messungsmethode. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb untersucht,

inwiefern das Vorliegen des HER-2/neu-Shed Antigens Auskunft über die Prognose von Mammakarzinompatientinnen geben kann.

Während sich in der univariaten Analyse des rezidivfreien Überlebens außer dem Menopausenstatus alle hier untersuchten Parameter inklusive s-HER-2/neu als prognostisch relevant erwiesen, konnten in der multivariaten Analyse nur noch s-HER-2/neu (hier als kontinuierliche Variable), Tumorgröße, Lymphknotenbefall, Hormonrezeptorstatus und der Tumormarker CA15-3 als Prognosefaktoren identifiziert werden. Hierbei ist besonders interessant, dass sich die s-HER-2/neu-Konzentration im Serum trotz der vorher gezeigten Korrelation mit dem HER-2/neu-Gewebestatus als unabhängiger Prognosefaktor erwies, während der HER-2/neu-Gewebestatus keine unabhängige prognostische Aussagekraft hatte. Tatsächlich zeigte sich in der zusätzlich durchgeführten univariaten Analyse in den vier nach HER-2/neu-Gewebestatus und s-HER-2/neu-Konzentration gebildeten Untergruppen, dass der HER-2/neu-Gewebestatus allein gar keinen so deutlichen Einfluss auf das rezidivfreie Überleben ausübt, sondern dass zumindest in der Gruppe der Frauen mit HER-2/neu-positivem Tumor eine erhöhte Shedding-Rate das im Vergleich zu den HER-2/neu-negativen Patientinnen nur wenig schlechtere rezidivfreie Überleben drastisch senkt. Dieser Effekt war in der Gruppe der HER-2/neu-negativen Frauen nicht zu beobachten, was aber aufgrund der geringen Anzahl von Patientinnen mit erhöhten s-HER-2/neu-Werten bei HER-2/neu-negativem Tumor nicht zuverlässig beurteilt werden kann.

Dass Mammakarzinompatientinnen mit erhöhten s-HER-2/neu-Werten ein kürzeres rezidivfreies Überleben aufweisen, konnte bereits in den meisten Studien, die diesen Zusammenhang untersuchten, gezeigt werden [63, 67, 72, 74, 77, 79, 87, 95]. Dabei wurde nur in einer dieser Untersuchungen gleichzeitig der HER-2/neu-Gewebestatus evaluiert: Ludovini et al. [79] konnten dabei wie wir ebenfalls keinen unabhängigen Einfluss auf das rezidivfreie Überleben zeigen. Neben diesen Studien an Frauen mit primärem Mammakarzinom konnten mehrere Autoren auch bei Mammakarzinompatientinnen im Stadium der Metastasierung das HER-2/neu-Shed Antigen als negativen Prognosefaktor identifizieren [59, 68-71, 78, 89, 91, 102, 103, 116-119]. Offenbar scheint also eine vermehrte Freisetzung der extrazellulären Domäne des HER-2/neu-Rezeptors einen aggressiveren Krankheitsverlauf zu bedingen. In der Tat ist aus in-vitro Untersuchungen bekannt, dass die extrazelluläre Domäne den Aktivierungsgrad des HER-2/neu-Rezeptors herunterreguliert und dass somit der durch den Shedding-Prozess verkürzte Rezeptor aktiviert ist und somit ein höheres transformierendes Potenzial aufweist als das komplette Rezeptorprotein [44, 120].

Damit spiegelt die Konzentration des HER-2/neu-Shed Antigens im Serum gewissermaßen die Aktivität und Malignität der Tumorerkrankung wider.

Überraschenderweise konnte in der vorliegenden Arbeit bei der Untersuchung des Gesamtüberlebens weder in der uni- noch in der multivariaten Analyse eine Abhängigkeit vom HER-2/neu-Shed Antigen gezeigt werden, wobei eingeräumt werden muss, dass eine zuverlässige Aussage bezüglich des Gesamtüberlebens aufgrund der limitierten Beobachtungszeit und der damit auch recht niedrigen Anzahl von Todesfällen nur beschränkt möglich ist. Während die meisten Autoren, die eine prognostische Aussagekraft des HER-2/neu-Shed Antigens nachweisen konnten, einen Einfluss sowohl auf das rezidivfreie als auch das Gesamtüberleben gezeigt haben, wurde der von uns gefundene fehlende Einfluss von s-HER-2/neu auf das Gesamtüberleben bei gleichzeitig signifikantem Einfluss auf das rezidivfreie Überleben bisher nur in der prospektiven Studie von Ludovini et al. [79] gezeigt. Dieses auf den ersten Blick paradoxe Ergebnis liefert aber vermutlich weniger einen Hinweis darauf, dass die prognostische Aussagekraft von s-HER-2/neu unzuverlässig ist, als vielmehr ein Abbild der Tatsache, dass die für die Patientinnen im Stadium der Metastasierung heutzutage individuell ausgewählte Therapie ihre Wirkung erzielt und ein im Verlauf früher auftretender Krankheitsrückfall somit nicht unbedingt einen früheren Tod bedingt. Leider ist aus den verschiedenen Studien nicht ersichtlich, welche Therapien den Frauen zuteil wurden, nachdem sie im Verlauf ein Rezidiv entwickelten. Auch in der vorliegenden Arbeit wurden diese Daten nicht erhoben. Es ist aber zu beachten, dass die Studie von Ludovini et al. die zum jetzigen Zeitpunkt aktuellste veröffentlichte Arbeit auf diesem Gebiet ist: Das ihr zugrundeliegende Patientenkollektiv besteht aus Frauen, deren Mammakarzinom ähnlich wie in unserer Studie in den Jahren 2000-2005 diagnostiziert und behandelt wurde, während die Rekrutierung von Patientinnen für die älteren Studien einige Jahre früher stattfand. Da der monoklonale Antikörper Trastuzumab in der Europäischen Union erst im Jahr 2000 zur Behandlung des metastasierten Mammakarzinoms zugelassen wurde [121], ist somit davon auszugehen, dass die meisten Frauen in unserer Studie und in der Studie von Ludovini et al. zum Zeitpunkt der Metastasierung bei positivem HER-2/neu-Gewebestatus eine Therapie mit Herceptin erhalten haben, während diese Therapieoption in älteren Studien noch nicht zur Verfügung stand. Somit lässt sich die These formulieren, dass mit der Einführung von Herceptin in der metastasierten Situation das Gesamtüberleben von Patientinnen mit Rezidiv dem der Patientinnen ohne Rezidiv angeglichen wurde. Dass dadurch gerade das HER-2/neu-Shed Antigen seine prognostische Aussagekraft im Bezug auf das Gesamtüberleben verliert, ist dabei nicht erstaunlich, da es ja aufgrund der Korrelation mit dem HER-2/neu-

Gewebestatus wahrscheinlich besonders Rezidive bei HER-2/neu-positiven Patientinnen vorhersagt.

Schlussfolgerungen

Welche Erkenntnisse hat uns diese Arbeit geliefert? Zunächst konnten wir einen Einblick in den physiologischen Hintergrund des HER-2/neu-Shed Antigens gewinnen: Die identischen Wertlagen von rezidivfreien Frauen und Mammakarzinompatientinnen, die Abhängigkeit der s-HER-2/neu-Werte vom Menopausenstatus sowie der nur schwache bzw. fehlende Zusammenhang mit der Tumorgröße und dem Lymphknotenstatus liefern uns Hinweise darauf, dass der Shedding-Prozess kein konstant stattfindender proteolytischer Abbau des HER-2/neu-Rezeptors ist, sondern einem durch Hormone und andere Mediatoren beeinflussten und gezielt geregelten Mechanismus unterliegt. Dass Patientinnen mit höheren s-HER-2/neu-Werten eine ungünstigere Prognose bezüglich Rezidivierung aufweisen als Frauen mit niedrigen Werten, zeigt uns, dass das Shedding außerdem funktionelle Bedeutung hat und vermutlich über die Aktivierung des HER-2/neu-Rezeptors das maligne Verhalten des Tumors beeinflusst.

Eine Studie mit dem Titel „Das HER-2/neu-Shed Antigen beim Mammakarzinom zum Zeitpunkt der Primärdiagnose“ sollte darüberhinaus auch zu der Frage Stellung nehmen, inwiefern die prätherapeutische Bestimmung dieses neuen Tumormarkers bei Mammakarzinompatientinnen im klinischen Gebrauch sinnvoll ist. Dabei sind verschiedene klinische Einsatzgebiete zu unterscheiden: Aus dem Wertlagenvergleich von gesunden bzw. rezidivfreien Frauen und Mammakarzinompatientinnen wird klar, dass das HER-2/neu-Shed Antigen wie fast alle solublen Tumormarker sicherlich nicht zum Screening des Mammakarzinoms geeignet ist.

Dahingegen hat sich die prätherapeutische Konzentration des HER-2/neu-Shed Antigens als unabhängiger Prognosefaktor für das rezidivfreie Überleben von Mammakarzinompatientinnen erwiesen. Um als solcher im klinischen Alltag genutzt zu werden, müssen aber erst noch anhand großer prospektiver Studien Grenzwerte etabliert werden, die eine Einteilung in Gruppen unterschiedlicher Prognosen erlauben. Desweiteren muss geprüft werden, in welcher Form auf die für Patientinnen auf diese Weise festgestellte schlechtere Prognose reagiert werden soll: Reicht es, diesen Patientinnen eine besonders engmaschigen Nachsorge anzubieten, um gegebenenfalls frühzeitig therapeutisch eingreifen zu können, oder kann die initial schlechtere Prognose durch eine aggressivere oder individuell angepasste primäre und adjuvante Therapie verbessert werden? Hier lässt sich bereits

spekulieren, ob Patientinnen mit einer erhöhte Shedding-Rate des HER-2/neu-Rezeptors und damit also einer erhöhten Rezeptor-Aktivität vielleicht unabhängig vom HER-2/neu-Gewebestatus besonders von einem Einsatz von Trastuzumab in der Primärtherapie profitieren könnten. Wenn s-HER-2/neu somit als prädiktiver Faktor für ein Ansprechen auf Herceptin fungieren würde und Patientinnen mit erhöhten Werten eine Herceptintherapie erhielten, wäre vorstellbar, dass es dann seine prognostische Aussagekraft verliert.

Sollte sich in weiteren, repräsentativen Studien bestätigen, dass das HER-2/neu-Shed Antigen heute zwar einen Einfluss auf das rezidivfreie Überleben hat, nicht jedoch auf das Gesamtüberleben, stellt sich ohnehin die Frage, ob es überhaupt als Prognosefaktor und damit als Therapiekriterium genutzt werden sollte. Dabei muss geklärt werden, mit welcher Intention eine Therapieoptimierung vorgenommen wird: Natürlich ist es wünschenswert, für eine Patientin mit einer schlechteren Prognose das Risiko einer Rezidivierung zu vermindern, denn selbst wenn diese nicht zu einer verminderten Lebensdauer führt, bringt sie doch die Strapazen einer weiteren, unter Umständen nebenwirkungsreichen Therapie und nicht zuletzt eine große psychologische Belastung mit sich. Andererseits kann eine aggressivere adjuvante Therapie, mit der versucht wird, der potentiellen Rezidivierung entgegenzuwirken, ebenfalls belastend sein und die Lebensqualität der Patientin nachhaltig vermindern, wobei einige Patientinnen behandelt würden, die ohnehin nie ein Rezidiv entwickelt hätten. Hier sind unabhängig von einem objektiven Prognoseindex die individuellen Ängste und Wünsche der Patientinnen zu berücksichtigen.

Unsere Ergebnisse bezüglich der Diagnostik des HER-2/neu-Gewebestatus bei Mammakarzinompatientinnen weisen darauf hin, dass die Messung von s-HER-2/neu zum Zeitpunkt der Primärdiagnose zumindest zusätzlich zur histopathologischen Bestimmung des HER-2/neu-Status durchaus nützlich sein könnte. Der von uns gefundene Cut-off-Wert von 30ng/ml als Unterscheidungskriterium von HER-2/neu-positiven und HER-2/neu-negativen Patientinnen kann dabei natürlich nicht als endgültige Empfehlung gelten; hier sind große prospektive Untersuchungen vonnöten, um eine im klinischen Alltag anwendbare Richtlinie zu definieren. Es lässt sich sicherlich argumentieren, dass ein Test, der in unserem Falle eine Sensitivität von nur knapp 8% besitzt, keinen großen diagnostischen Wert hat und somit auch ökonomisch nicht vertretbar ist. Es muss aber betont werden, dass ein erhöhter s-HER-2/neu-Wert unter Umständen eine falsch-negative histopathologische HER-2/neu-Bestimmung aufdecken kann und somit einer Patientin die Möglichkeit einer Herceptintherapie bietet, die ihre Prognose deutlich verbessern kann [122, 123]. Vor dem Hintergrund, dass schätzungsweise bis zu zwanzig Prozent der HER-2/neu-Bestimmungen im Gewebe mittels

Immunhistochemie oder Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung inakkurat sind [124], ist dieser Nutzen nicht zu vernachlässigen. Darüberhinaus stellt sich erneut die Frage, ob nicht das HER-2/neu-Shed Antigen allein als Indikator für eine adjuvante Herceptintherapie gelten kann: Neben dem in mehreren Studien gefundenen vom HER-2/neu-Gewebestatus unabhängigen negativen prognostischen Einfluss des HER-2/neu-Shed Antigens hat sich gezeigt, dass von den Patientinnen, die eine Herceptintherapie erhalten, jene mit erhöhten s-HER-2/neu-Werten mehr von der Therapie profitieren als die mit niedrigeren Werten [125]. Außerdem konnte erwiesen werden, dass die Bindung des Antikörpers Trastuzumab an den HER-2/neu-Rezeptor das Shedding und somit zumindest eine Art der Rezeptoraktivierung verhindert [126, 127]. Diese Frage kann natürlich nur anhand prospektiver, randomisierter Therapiestudien beantwortet werden.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Das Mammakarzinom ist die häufigste Krebserkrankung weltweit. Da die Prognose des Mammakarzinoms und das Ansprechen auf verschiedenen Therapieformen individuell unterschiedlich ist und von verschiedenen klinisch-pathologischen Faktoren abhängt, sollte die Therapieentscheidung mit Hilfe von prognostischen und prädiktiven Faktoren getroffen werden. Als prognostischer und prädiktiver Faktor hat sich in einigen Studien der Status der HER-2/neu-Expression im Tumorgewebe erwiesen. Die vorliegende Arbeit sollte zeigen, ob die Messung des HER-2/neu-Shed Antigens zum Zeitpunkt der Primärdiagnose die Bestimmung des HER-2/neu-Gewebestatus unterstützen kann und inwiefern eine Bestimmung des HER-2/neu Shed Antigens im Serum von Mammakarzinompatientinnen einen Beitrag zur Prognoseeinschätzung liefern kann.

Dabei wurden zunächst die s-HER-2/neu-Wertlagen bei Gesunden, rezidivfreien Frauen und Mammakarzinompatientinnen verglichen. Es zeigte sich, dass die s-HER-2/neu-Werte bei Männern höher liegen als bei Frauen, und dass sie bei den Frauen mit zunehmendem Alter steigen. Die Betrachtung der Wertlagen von rezidivfreien Frauen und Patientinnen ergab, dass sich Patientinnen ohne primäre Fernmetastasen in ihren s-HER-2/neu-Konzentrationen nicht von den gleichalten rezidivfreien Frauen unterscheiden. Dahingegen wiesen Patientinnen, die zum Zeitpunkt der Primärdiagnose bereits Fernmetastasen hatten, signifikant höhere Werte auf. Anschließend wurde am Kollektiv der Patientinnen ohne Fernmetastasen untersucht, inwiefern das HER-2/neu-Shed Antigen mit den gängigen Prognosefaktoren korreliert. Im Einklang mit den Ergebnissen der Untersuchungen an den gesunden Kontrollpersonen ergab sich eine Korrelation mit dem Menopausenstatus, wobei postmenopausale Frauen höhere Werte aufwiesen als prämenopausale. Außerdem zeigte sich eine schwache Korrelation zur Tumorgroße pT. Eine Assoziation zum Lymphknotenstatus pN, zum UICC-Stadium, zum histopathologischen Grading und zum Hormonrezeptorstatus konnte nicht festgestellt werden. Zu den beiden beim Mammakarzinom etablierten Tumormarkern CA15-3 und CEA ergab sich eine zwar statistisch signifikante, aber nur schwache Korrelation.

Desweiteren wurde untersucht, ob die Bestimmung des Shed Antigens im Serum eine Aussage über den HER-2/neu-Expressionsgrad im Gewebe erlaubt. Es fand sich eine signifikante Korrelation von s-HER-2/neu mit dem immunhistochemischen Score. Dabei fiel auf, dass die Wertlagen von Patientinnen mit einem Score von 3+ deutlich höher waren als die von jenen mit einem Score von 0-2+. Auch nach weiterer Klassifizierung in HER-2/neu-

positive und HER-2/neu-negative Patientinnen mit Hilfe der FISH-Analyse zeigten sich signifikant höhere s-HER-2/neu-Werte bei HER-2/neu-positiven Patientinnen. Dieser Zusammenhang konnte auch für die Gruppe der Patientinnen mit primären Fernmetastasen gezeigt werden. s-HER-2/neu-Konzentrationen über 30ng/ml wurden mit Ausnahme einer Patientin, die zum Zeitpunkt der Diagnose bereits eine massive Fernmetastasierung zeigte, nur bei HER-2/neu-positiven Frauen gemessen. Die anschließend durchgeführte ROC-Analyse der diagnostischen Kapazität zur Vorhersage des HER-2/neu-Gewebestatus mittels HER-2/neu-Shed Antigen zeigte, dass bei Wahl des Cut-off-Wertes bei 28,4ng/ml eine 7,7%ige Sensitivität bei 100%iger Spezifität erreicht werden kann. Somit könnte die Bestimmung des HER-2/neu-Shed Antigens zum Zeitpunkt der Primärdiagnose als zusätzliches diagnostisches Mittel zur Bestimmung des HER-2/neu-Gewebestatus dienen, wobei weitere Studien nötig sind, um zuverlässige Richtlinien zum sicheren Gebrauch des HER-2/neu-Shed Antigens zu etablieren.

Bei der Untersuchung der prognostischen Aussagekraft zeigte sich sowohl in der univariaten als auch in der multivariaten Analyse, dass höhere s-HER-2/neu-Werte unabhängig vom HER-2/neu-Gewebestatus mit einem schlechteren rezidivfreien Überleben vergesellschaftet waren. Bezüglich des Gesamtüberlebens fand sich dieser Zusammenhang nicht.

Aufgrund der Assoziation zum HER-2/neu-Gewebestatus bei gleichzeitiger unabhängiger prognostischer Aussagekraft, lässt sich die Hypothese formulieren, dass das HER-2/neu-Shed Antigen allein als Indikator für eine Herceptintherapie dienen könnte.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Parkin D, Bray F, Ferlay J, Pisani P: Global Cancer Statistics 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108

- [2] Krebs in Deutschland 2003 – 2004. Häufigkeiten und Trends. 6. überarbeitete Auflage. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg). Berlin, 2008

- [3] Possinger K, Große Y: Mammakarzinom. In: Wilmanns W, Huhn D, Wilms K (Hrsg.): Internistische Onkologie. Georg Thieme Verlag Stuttgart, 2. Auflage 2000, S. 452-478

- [4] Armstrong K, Eisen A, Weber B: Assessing the Risk of Breast Cancer. *N Engl J Med* 2000; 342(8): 564-571

- [5] Böcker W, Denk H, Heitz Ph U : Pathologie. Urban&Fischer München, 3. Auflage 2004

- [6] Nährig J, Högel B, Marlow S, Mayr D, Permanetter W: Pathologie des Mammakarzinoms. In: Janni W. (Hrsg.): Manual Mammakarzinome, Zuckschwerdt Verlag München, 11. überarbeitete Auflage 2007, S. 49-76

- [7] Possinger K: Mammakarzinom. In: Alexander K, Daniel WG, Diener HC, Freund M, Köhler H, Matern S, Maurer HH, Michel BA, Nowak D, Risler T, Schaffner A, Scherbaum WA, Sybrecht GW, Wolfram G, Zeitz M, Flasnoecker M: Thieme's Innere Medizin – TIM. Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1999

- [8] Singletary ES, Allred C, Ashley P, Bassett L, Berry D, Bland KI, Borgen P, Clark G, Edge S, Hayes D, Hughes L, Hutter R, Morrow M, Page D, Recht A, Theriault R, Thor A, Weaver D, Wieand H, Greene F: Revision of the American Joint Committee on Cancer Staging System for Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20(17): 3628-3636

- [9] Schulz KD, Albert US (Hrsg.): Stufe-3-Leitlinie Brustkrebs-Früherkennung in Deutschland. Zuckschwerdt Verlag München, 2003

- [10] Schulz-Wendtland R, Becker N, Bock K, Anders K, Bautz W: Mammographiescreening. *Radiologe* 2007; 47: 359-370
- [11] Deutsche Krebsgesellschaft e.V. (DKG) und Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) (Hrsg.): Interdisziplinäre S3-Leitlinie für die Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms, 1. Aktualisierung. Zuckschwerdt Verlag München, 2008
- [12] Punglia R, Morrow M, Winer E, Harris J: Local Therapy and Survival in Breast Cancer. *N Engl J Med* 2007; 356: 2399-2405
- [13] Funke I, Anthuber C, Bauerfeind I, de Waal JC, Eiermann W, Engel J, Fügler T, Gabka C, Hamann U, Heitland A, Höß C, Kolben M, Löhns B, Raab G, Weiß E, Wolf C: Operative Therapie des primären Mammakarzinoms und Rekonstruktionsverfahren. In: Janni W (Hrsg.): *Manual Mammakarzinome*, Zuckschwerdt Verlag München, 11. überarbeitete Auflage 2007, S. 104-113
- [14] Sato K: Clinical Trials for Sentinel Node Biopsy in Patients with Breast Cancer. *Breast Cancer* 2007; 14(1): 31-36
- [15] Harbeck N, Anthuber C, Ataseven A, Bauerfeind I, Beinert T, Eiermann W, Kahlert S, Lutz L, Michl G, Oberlechner E, Petrides PE, Pihusch R, Rack B, Salat C, Sattler D, Sommer H, Walther J, Wolf C: Adjuvante Systemtherapie. In: Janni W (Hrsg.): *Manual Mammakarzinome*, Zuckschwerdt Verlag München, 11. überarbeitete Auflage 2007, S. 138-163
- [16] Giersiepen K, Heitmann C, Janhsen K, Lange C, Robert Koch-Institut (Hrsg.): *Gesundheitsberichterstattung des Bundes Heft 25*, Mai 2005: Brustkrebs
- [17] Harbeck N, Aigner M, Kuschel B, Kiechle M: Mammakarzinom – prognostische und prädiktive Faktoren. *Onkologie* 2002; 8: 808-816
- [18] Hayes DF: Prognostic and predictive factors revisited. *Breast* 2005; 14: 493-499

- [19] Lamerz R, Stieber P: Tumormarker. In: Wilmanns W, Huhn D, Wilms K (Hrsg.): Internistische Onkologie. Georg Thieme Verlag Stuttgart, 2. Auflage 2000, S. 112-119
- [20] Duffy M: Serum Tumor Markers in Breast Cancer: Are They of Clinical Value? Clin Chem 2006; 52(3): 345-351
- [21] Harris L, Fritsche L, Mennel R, Norton L, Ravdin P, Taube S, Somerfield M, Hayes D, Bast R: American Society of Clinical Oncology 2007 Update of Recommendations for the Use of Tumor Markers in Breast Cancer. J Clin Oncol 2007; 25(33): 1-26
- [22] Land H, Parada LF, Weinberg RA: Cellular Oncogenes and Multistep Carcinogenesis. Science 1983; 222(4625): 771-778
- [23] King CR, Kraus MH, Aaronson SA: Amplification of a Novel v-erbB-related Gene in a Human Mammary Carcinoma. Science 1985; 229(4717): 974-976
- [24] Hudis CA: Trastuzumab – Mechanism of Action and Use in Clinical Practice. N Engl J Med 2007; 357: 39-51
- [25] Bargmann CI, Hung M, Weinberg R: The neu oncogene encodes an epidermal growth factor receptor-related protein. Nature 1986; 319: 226-230
- [26] Fukushige S, Matsubara K, Yoshida M, Sasaki M, Suzuki T, Semba K, Toyoshima K, Yamamoto T. Localization of a Novel v-erbB-related Gene, c-erbB-2, on Human Chromosome 17 and Its Amplification in a Gastric Cancer Cell Line. Mol Cell Biol 1986; 6(3): 955-958
- [27] Schechter AL, Hung MC, Vaidyanathan L, Weinberg RA, Yang-Feng TL, Francke U, Ullrich A, Coussens L: The neu gene: an erbB-homologous gene distinct from and unlinked to the gene encoding the EGF receptor. Science 1985; 229(4717): 976-978
- [28] Yamamoto T, Shuntaro I, Akiyama T, Semba K, Nomura N, Miyajima N, Saito T, Toyoshima K: Similarity of protein encoded by the human c-erbB-2 gene to epidermal growth factor receptor. Nature 1986; 319: 230-234

- [29] Olayioye MA, Neve RM, Lane HA, Hynes NE: The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO* 2000; 19(13): 3159-3167
- [30] Rubin I, Yarden Y: The basic biology of HER2. *Ann Oncol* 2001; 12 (Suppl 1): 3-8
- [31] Bartlett J, Mallon E, Cooke T: The clinical evaluation of HER-2 status: which test to use? *J Pathol* 2003; 199: 411-417
- [32] Laudadio J, Quigley DI, Tubbs R, Wolff DJ: HER-2 testing: a review of detection methodologies and their clinical performance. *Expert Rev Mol Diagn* 2007; 7(1): 53-64
- [33] Press MF, Sauter G, Bernstein L, Villalobos IE, Mirlacher M, Zhou J, Wardeh R, Li Y, Guzman R, M Y, Sullivan-Halley J, Santiago A, Park JM, Riva A, Slamon D: Diagnostic Evaluation of HER-2 as a Molecular Target: an Assessment of Accuracy and Reproducibility of Laboratory Testing in Large, Prospective, Randomized Clinical Trials. *Clin Cancer Res* 2005; 11(18): 6598-6607
- [34] Tsuda H: HER-2 (c-erbB-2) Test Update: Present Status and Problems. *Breast Cancer* 2006; 13(3): 236-248
- [35] Harari D, Yarden Y: Molecular mechanisms underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer. *Oncogene* 2000; 19: 6102-6114
- [36] Ross JS, Fletcher JA, Linette GP, Stec J, Clark E, Ayers M, Symmans WF, Pusztai L, Bloom KJ: The HER-2/neu Gene and Protein in Breast Cancer 2003: Biomarker and Target of Therapy. *The Oncologist* 2003; 8: 307-325
- [37] Rampaul RS, Pinder SE, Gullick WJ, Robertson JFR, Ellis IO: HER-2 in Breast Cancer – methods of detection, clinical significance and future prospects for treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002; 43: 231-244
- [38] Yamauchi H, Stearns V, Hayes DF: The Role of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer. *Breast Cancer* 2001; 8(3): 171-183

- [39] Badache A, Gonçalves A: The ErbB2 Signaling Network as a Target for Breast Cancer Therapy. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2006; 11: 13-25
- [40] Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L: Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpress HER2. *N Engl J Med* 2001; 344(11): 783-792
- [41] Baselga, J, Perez EA, Pienkowski T, Bell R: Adjuvant Trastuzumab: A Milestone in the Treatment of HER-2-Positive Early Breast Cancer. *Oncologist* 2006; 11: 4-12
- [42] Lin YJ, Clinton GM: A soluble protein related to the HER-2 proto-oncogene product is released from human breast carcinoma cells. *Oncogene* 1991; 6: 639-643
- [43] Pupa SM, Ménard S, Morelli D, Pozzi B, De Palo G, Colnaghi MI: The extracellular domain of the c-erbB-2 oncoprotein is released from tumor cells by proteolytic cleavage. *Oncogene* 1993; 8: 2917-2923
- [44] Bargmann CI, Weinberg RA: Oncogenic activation of the neu-encoded receptor protein by point mutation and deletion. *EMBO J* 1988; 7(7): 2043-2052
- [45] Baselga J: Is circulating HER-2 more than just a tumor marker? *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2605-2607
- [46] Mielke S, Meden H, Raab T, Wuttge W, Kuhn W: Effects of Interfering and Influencing Factors on the Analyses of p105 (c-erbB-2/HER-2) Oncoprotein Fragment in Serum. *Anticancer Res* 1997; 17: 3125-3128
- [47] Mori S, Mori Y, Mukaiyama T, Yamada Y, Sonobe Y, Matsushita H, sakamoto G, Akiyama T, Ogawa M, Shiraishi M: In vitro and in vivo release of soluble erbB-2 protein from human carcinoma cells. *Jpn J Cancer Res* 1990; 81(5): 489-494
- [48] Kaplan EL, Meier P: Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457-481

- [49] Altman, DG, Lausen B, Sauerbrei W, Schumacher M: Dangers of using "optimal" cutpoints in the evaluation of prognostic factors. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86(11): 829
- [50] Cox DR: Regression Models and Life-Tables. *J R Stat Soc* 1972; 34: 187-200
- [51] Molina R, Jo J, Filella X, Bruix J, Casells A, Hague M, Ballesta AM: Serum Levels of C-erbB-2 (HER-2/neu) in Patients with Malignant and Non-Malignant Diseases. *Tumor Biol* 1997; 18: 188-196
- [52] P. Stieber, H. J. Roth, J. Stemmler, H. Schmidt, M. Untch, B. Liedl, R. Hatz, D. Nagel, V. Heinemann: The pattern of HER-2/neu release in benign and malignant diseases. *ASCO Meeting Abstracts Jun 1 2005*: 618
- [53] Ardizzoni A, Cafferata MA, Paganuzzi M, Filiberti R, Marroni P, Neri M, Fontana V, Nicolo G, Perdelli L, Stampino CG, Rosso R, Puntoni R: Study of Pretreatment Serum Levels of Her-2/neu Oncoprotein as a Prognostic and Predictive Factor in Patients with Advanced Nonsmall Cell Lung Carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 1896-1904
- [54] Osaki T, Mitsudomi T, Oyama T, Nakanishi R, Yasumoto K: Serum Level and Tissue Expression of c-erbB-2 Protein in Lung Adenocarcinoma. *Chest* 1995; 108: 157-162
- [55] Meden H, Mielke S, Schauer A, Kuhn W: Serum Levels of the c-erbB-2 (HER2/neu) Encoded Oncoprotein Fragment p105 in Normal Pregnancies. *In Vivo* 1997; 11(1):51-54
- [56] Meden H, Mielke S, Marx D Wuttke W, Kuhn W: Hormonal Treatment with Sex Steroids in Women is Associated with Lower p105 Serum Concentrations. *Anticancer Res* 1997; 17: 3075-3080
- [57] Baskic D, Ristic P, Pavlovic S, Arsenijevic N: Serum HER2 and CA 15-3 in breast cancer patients. *J BUON* 2004; 9(3): 289-294

- [58] Breuer B, Smith S, Thor A, Edgerton S, Osborne MP, Minick R, Cody HS III, Nowak E, Cortese A, Simmons RM, Carney WP, Brandt-Rauf PW: *ErbB-2* protein in sera and tumors of breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 49: 261-270
- [59] Jensen BV, Johansen JS, Price PA: High Levels of Serum HER-2/neu and YKL-40 Independently Reflect Aggressiveness of Metastatic Breast Cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4423-4434
- [60] Kath R, Höffken K, Otte C, Metz K, Scheulen ME, Hülkamp F, Seeber S: The *neu*-oncogene product in serum and tissue of patients with breast carcinoma. *Ann Oncol* 1993; 4: 585-590
- [61] Narita T, Funahashi H, Satoh Y, Takagi H: C-erbB-2 Protein in the Sera of Breast Cancer Patients. *Breast Cancer Res Treat* 1992; 24: 97-102
- [62] Schulze G: HER-2/neu Gene Product in Serum – An Oncoprotein in the Diagnosis and Therapy of Breast Carcinoma. *Anticancer Res* 2003; 23: 1007-1010
- [63] Willsher PC, Beaver J, Pinder S, Bell JA, Ellis IO, Blamey RW, Robertson JFR: Prognostic significance of serum c-erbB-2 protein in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1996; 40: 251-255
- [64] Dittadi R, Zancan M, Perasole A, Gion M: Evaluation of HER-2/neu in serum and tissue of primary and metastatic breast cancer patients using an automated enzyme immunoassay. *Int J Biol Markers* 2001; 16(4): 255-261
- [65] Quaranta M, Daniele A, Coviello M, Savonarola A, Abbate I, Venneri MT, Paradiso A, Stea B, Zito A, Labriola A, Schittulli F: c-erbB-2 protein level in tissue and sera of breast cancer patients: a possibly useful clinical correlation. *Tumori* 2006; 92: 311-317
- [66] Bagli L, Dittadi R, Zancan M, Panzini I, Monti F, Ravaioli A: HER-2/neu Serum Levels and Menopausal Status. *Int J Biol Markers* 2001; 16(1): 69-70

- [67] Saghatchian M, Guepratte S, Hacene K, Neumann R, Floiras JL, Pichon MF: Serum HER-2 extracellular domain: Relationship with clinicobiological presentation and prognostic value before and after primary treatment in 701 breast cancer patients. *Int J Biol Markers* 2004; 19(1): 14-22
- [68] Ali SM, Leitzel K, Chinchilli VM, Engle L, Demers L, Harvey HA, Carney W, Allard, JW, Lipton A: Relationship of Serum HER-2/neu and Serum CA 15-3 in Patients with Metastatic Breast Cancer. *Clin Chem* 2002; 48(8): 1314-1320
- [69] Colomer R, Llombart-Cussac A, Lloveras B, Ramos M, Mayordomo JI, Fernández R, Tusquets I, Gil M, Barnadas A, Constenla M, Gilabert M, Alba E: High Circulating HER2 Extracellular Domain Levels Correlate With Reduced Efficacy of an Aromatase Inhibitor in Hormone Receptor-positive Metastatic Breast Cancer: A Confirmatory Prospective Study. *Cancer* 2007; 100: 2178-2185
- [70] Lipton A, Ali SM, Leitzel K, Demers L, Chinchilli V, Engle L, Harvey HA, Brady C, Nalin CM, Dugan M, Carney W, Allard J: Elevated Serum HER-2/neu Level Predicts Decreased Response to Hormone Therapy in Metastatic Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20(6): 1467-1472
- [71] Yamauchi H, O'Neill A, Gelman R, Carney W, Tenney DY, Hösch S, Hayes DF: Prediction of Response to Antiestrogen Therapy in Advanced Breast Cancer Patients by Pretreatment Circulating Levels of Extracellular Domain of the HER-2/c-neu Protein. *J Clin Oncol* 1997; 15(7): 2518-2525
- [72] Fehm T, Maimonis P, Weitz S, Teramoto Y, Katalinic A, Jäger W: Influence of circulating c-erbB-2 serum protein on response to adjuvant chemotherapy in node-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 43: 87-95
- [73] Fehm T, Maimonis P, Katalinic A, Jäger WH: The Prognostic Significance of c-erbB-2 Serum Protein in Metastatic Breast Cancer. *Oncology* 1998; 55: 33-38
- [74] Fehm T, Gebauer G, Jäger W: Clinical Utility of Serial Serum c-erbB-2 Determinations in the Follow-up of Breast Cancer Patients. *Breast Cancer Res Treat* 2002; 75: 97-106

- [75] Fehm T, Jäger W, Kraemer S, Sohn C, Solomayer-Meyberg G, Solomayer EF, Kurek R, Wallwiener D, Gebauer G: Changes of Serum HER2 Status during Clinical Course of Metastatic Breast Cancer Patients. *Anticancer Res* 2004; 24: 4205-4210
- [76] Imoto S, Kitoh T, Hasebe T: Serum c-erbB-2 Levels in Monitoring of Operable Breast Cancer Patients. *Jpn J Clin Oncol* 1999; 29(7); 336-339
- [77] Imoto S, Wada N, Hasebe T, Ochiai A, Kitoh T: Serum c-*erbB*-2 protein is a useful marker for monitoring tumor recurrence of the breast. *Int J Cancer* 2006; 120: 357-361
- [78] Kandl H, Seymour L, Bezwoda WR: Soluble c-erbB-2 fragment in serum correlates with disease stage and predicts for shortened survival in patients with early-stage and advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1994; 70: 739-742
- [79] Ludovini V, Gori S, Colozza M, Pistola L, Rulli E, Floriani I, Pacifico E, Tofanetti FR, Sidoni A, Basurto C, Rulli A, Crinò L: Evaluation of Serum HER2 Extracellular Domain in Early Breast Cancer Patients: Correlation with Clinicopathological Parameters and Survival. *Ann Oncol* 2008; 19(5); 883-890
- [80] Fontana X, Ferrari P, Namer M, Peysson R, Salanon C, Bussiere F: C-erb-B2 Gene Amplification and Serum Level of C-erb-B2 Oncoprotein at Primary Breast Cancer Diagnosis. *Anticancer Res* 1994; 14: 2099-2104
- [81] Krainer M, Brodowicz T, Zeillinger R, Wiltschke C, Scholten C, Seifert M, Kubista E, Zielinski CC: Tissue Expression and Serum Levels of HER-2/neu in Patients with Breast Cancer. *Oncology* 1997; 54: 475-481
- [82] Pallud C, Guinebretiere JM, Guepratte S, Hacene K, Neumann R, Carney W, Pichon MF: Tissue Expression and Serum Levels of the Oncoprotein HER-2/neu in 157 Primary Breast Tumours. *Anticancer Res* 2005; 25: 1433-1440
- [83] Thriveni K, Deshmane V, Bapsy PP, Krishnamoorthy L, Ramaswamy G: Clinical utility of serum human epidermal receptor-2/*neu* detection in breast cancer patients. *Indian J Med Res* 2007; 125: 137-142

- [84] Yuan P, Xu BH, Chu DT: Correlation between serum HER-2 oncoprotein and patients with breast cancer. *Chin Med Sci J* 2004; 19(3): 212-215
- [85] Kong SY, Kang JH, Kwon Y, Kang HS, Chung KW, Kang SH, Lee DH, Ro J, Lee ES: Serum HER-2 Concentration in Patients with Primary Breast Cancer. *J Clin Pathol* 2006; 59: 373-376
- [86] Kushlinskii NE, Shirokii VP, Gershtein ES, Yermilova VD, Chemeris GY, Letyagin VP: Soluble Fragment of Her2/neu Receptor in the Serum of Patients with Breast Cancer with Different Levels of this Protein Expression in the Tumor. *Bull Exp Biol Med* 2007; 143(4): 449-451
- [87] Molina R, Jo J, Filella X, Zanon G, Pahisa J, Muñoz M, Farrus B, Latre ML, Escriche C, Estape J, Ballesta AM: c-erbB-2 oncoprotein, CEA, and CA 15.3 in patients with breast cancer: prognostic value. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 51: 109-119
- [88] Hicks DG, Kulkarni S: HER2+ Breast Cancer: Review of Biologic Relevance and Optimal Use of Diagnostic Tools. *Am J Clin Pathol* 2008; 129: 263-273
- [89] Colomer R, Montero S, Lluch A, Ojeda B, Barnadas A, Casado A, Massutí B, Cortés-Funes H, Lloveras B: Circulating HER2 Extracellular Domain and Resistance to Chemotherapy in Advanced Breast Cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2356-2362
- [90] Hayes DF, Yamauchi H, Broadwater G, Cirrincione CT, Rodrigue SP, Berry DA, Younger J, Panasci LL, Millard F, Duggan DB, Norton L, Henderson IC: Circulating HER-2/erbB-2/c-*neu* (HER-2) Extracellular Domain as a Prognostic Factor in Patients with Metastatic Breast Cancer: Cancer and Leukemia Group B Study 8662. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2703-2711
- [91] Müller V, Witzel I, Lück HJ, Köhler G, von Minckwitz G, Möbus V Sattler D, Wilczak W, Löning T, Jänicke F, Pantel K, Thomssen C: Prognostic and predictive impact of the HER-2/*neu* extracellular domain (ECD) in the serum of patients treated with chemotherapy for metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 86: 9-18

- [92] Schwartz MK, Smith C, Schwartz DC, Dnistrian A, Neiman I: Monitoring Therapy by Serum HER-2/neu. *Int J Biol Markers* 2000; 15(4): 324-329
- [93] Souder C, Leitzel K, Ali SM, Demers L, Evans DB, Chaudri-Ross HA, Hackl W, Hamer P, Carney W, Lipton A: Serum Epidermal Growth Factor Receptor/HER-2 Predicts Poor Survival in Patients With Metastatic Breast Cancer. *Cancer* 2006; 107: 2337-2345
- [94] Kong SY, Nam BH, Lee KS, Kwon Y, Lee ES, Seong MW, Lee Do H, Ro J: Predicting Tissue HER2 Levels in Patients with Metastatic Breast Cancer. *Clin Chem* 2006; 52(8): 1510-1515
- [95] Molina R, Jo J, Filella X, Zanon G, Pahisa J, Muñoz M, Farrus B, Latre ML, Gimenez N, Hage M, Estape J, Ballesta AM: C-erbB-2 Oncoprotein in the Sera and Tissue of Patients with Breast Cancer. Utility in Prognosis. *Anticancer Res* 1996; 16: 2295-2300
- [96] Watanabe N, Miyamoto M, tokuda Y, Kubota M, Ando Y, Tajma T, Mitomi T: Serum c-erb-B-2 in Breast Cancer Patients. *Acta Oncol* 1994; 33(8): 901-904
- [97] Andersen TI, Paus E, Nesland JM, McKenzie SJ, Børresen AL: Detection of C-erbB-2 related protein in sera from breast cancer patients: Relationship to ERBB-2 gene amplification and c-erbB-2 protein overexpression in tumour. *Acta Oncol* 1995; 34(4): 499-504
- [98] Chearskul S, Sinlarat P, Bhothisuwan K, Churintrapun M, Orrhebroi S, Klinsala N, Sungkabunchoo S: Serum c-erbB-2 protein in breast cancer patients. *J Med Assoc Thai* 2000; 83(8): 886-893
- [99] Fornier MN, Seidman AD, Schwartz MK, Ghani F, Thiel R, Norton L, Hudis C: Serum HER2 Extracellular Domain in Metastatic Breast Cancer Patients Treated With Weekly Trastuzumab and Paclitaxel: Association With HER2 Status by Immunohistochemistry and Fluoreszenz In Situ Hybridization and With Response Rate. *Ann Oncol* 2005; 16: 234-239

- [100] Hudelist G, Köstler WJ, Schwantler-Kaulich D, Czerwenka K, Jubista E, Müller R, Helmy S, Manavi M, Zielinski CC, Singer CF: Serum EGFR levels and efficacy of trastuzumab-based therapy in patients with metastatic breast cancer. *Eur J Cancer* 2006; 42: 186-192
- [101] Isola JJ, Holli K, Oksa H, Teramoto Y, Kallioniemi OP: Elevated erbB-2 Oncoprotein Levels in Preoperative and Follow-up Serum Samples Define an Aggressive Disease Course in Patients with Breast Cancer. *Cancer* 1994; 73(3): 652-658
- [102] Köstler WJ, Schwab B, Singer CF, Neumann R, Rücklinger E, Brodowicz t, Tomek S, Niedermayr M, Hejna M, Steger GG, Krainer M, Wiltschke C, Zielinski CC: Monitoring of Serum Her-2/neu Predicts Response and Progression-Free Survival to Trastuzumab-Based Treatment in Patients with Metastatic Breast Cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1618-1624
- [103] Mansour OA, Zekri AR, Harvey J, Teramoto Y, El-Ahmady O: Tissue and Serum c-erbB-2 and Tissue EGFR in Breast Carcinoma: Three Years Follow-up. *Anticancer Res* 1997; 17: 3101-3106
- [104] Molina R, Filella X, Zanon G, Pahisa J, Alicarte J, Munoz M, Farrus B, Ballesta AM: Prospective Evaluation of Tumor Markers (c-erbB-2 Oncoprotein, CEA and CA 15.3) in Patients with Locoregional Breast Cancer. *Anticancer Res* 2003; 23: 1043-1050
- [105] Přibyllová O, Springer D, Vítková I, Zima T Petruželka L: HER-2 Tissue Expression Correlated with Serum Levels in Breast Cancer Patients. *Folia Biol (Praha)* 2007; 53: 129-133
- [106] Sugano K, Ushiyama M, Fukutomi T, Tsuda H, Kitoh T, Ohkura H: Combined Measurement of the c-erbB2 Protein in Breast Carcinoma Tissues and Sera is Useful as a Sensitive Tumor Marker for Monitoring Tumor Relapse. *Int J Cancer* 2000; 89: 329-336

- [107] Tse C, Brault D, Gligorov J, Antoine M, Neumann R, Lotz JP, Capeau J: Evaluation of the Quantitative Analytical Methods Real-Time PCR for *HER-2* Gene Quantification and ELISA of Serum *HER-2* Protein and Comparison with Fluorescence in Situ Hybridization and Immunohistochemistry for Determining *HER-2* Status in Breast Cancer Patients. *Clin Chem* 2005; 51(7): 1093-1101
- [108] Witzel I, Thomssen C, Krenkel S, Wilczak W, Bubenheim M, Pantel K, Neumann R, Jänicke F, Müller V: Clinical utility of determination of *HER-2/neu* and *EGFR* fragments in serum of patients with metastatic breast cancer. *Int J Biol Markers* 2006; 21(3): 131-140
- [109] Esteva FJ, Cheli CD, Fritsche H, Fornier M, Slamon D, Thiel RP, Luftner D, Ghani F: Clinical utility of serum *HER2/neu* in monitoring and prediction of progression-free survival in metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab-based therapies. *Breast Cancer Res* 2005; 7: 436-443
- [110] Mazouni C, Hall A, Broglio K, Fritsche H, Andre F, Esteva FJ, Hortobagyi GN, Buzdar AU, Pusztai L, Cristofanilli M: Kinetics of Serum *HER-2/neu* Changes in Patients With *HER-2*-Positive Primary Breast Cancer After Initiation of Primary Chemotherapy. *Cancer* 2007; 109: 496-501
- [111] Cottu PH, Asselah J, Lae M, Pierga JY, Diéras V, Mignot L, Sigal-Zafrani B, Vincent-Salomon A: Intratumoral heterogeneity of *HER2/neu* expression and its consequences for the management of advanced breast cancer. *Ann Oncol* 2008; 19: 596-597
- [112] Gancberg D, Di Leo A, Cardoso F, Rouas G, Pedrocchi M, Paesmans M, Verhest A, Bernard-Marty C, Piccart MJ, Larsimont D: Comparison of *HER-2* status between primary breast cancer and corresponding distant metastatic sites. *Ann Oncol* 2002; 13: 1036-1043
- [113] Gong Y, Booser DJ, Sneige N: Comparison of *HER-2* status determined by fluorescence in situ hybridization in primary and metastatic breast carcinoma. *Cancer* 2005; 103(9): 1763-1769

- [114] Hanna W, Nofech-Mozes S, Kahn HJ: Intratumoral heterogeneity of HER2/neu in breast cancer – a rare event. *Breast J* 2007; 13: 122-129
- [115] Stemmler HJ, Stieber P, Lässig D, Heinemann V: Re-Evaluation of HER2 Status in Metastatic Breast Cancer and Tumor-Marker Guided Therapy with Vinorelbine and Trastuzumab. *Onkologie* 2005; 28(2): 95-97
- [116] Harris LN, Liotcheva V, Broadwater G, Ramirez MJ, Maimonis P, Anderson S, Everett T, Harpole d, Moore MB, Berry DA, Rizzeri D, Vredenburgh JJ, Bentley RC: Comparison of Methods of Measuring HER-2 in Metastatic Breast Cancer Patients Treated With High-Dose Chemotherapy. *J Clin Oncol* 2001; 19(6): 1698-1706
- [117] Leitzel K, Teramoto Y, Konrad K, Chinchilli VM, Volas G, Grossberg H, Harvey H, Demers L, Lipton A: Elevated Serum c-erbB-2 Antigen Levels and Decreased Response to Hormone Therapy of Breast Cancer. *J Clin Oncol* 1995; 13(5): 1129-1135
- [118] Lipton A, Ali SM, Leitzel K, Demers L, Harvey HA, Chaudri-Ross HA, Brady C, Wyld P, Carney W: Serum HER-2/neu and Response to the Aromatase Inhibitor Letrozole Versus Tamoxifen. *J Clin Oncol* 2003; 21(10): 1967-1972
- [119] Lipton A, Leitzel K, Ali SM, Demers L, Harvey HA, Chaudri-Ross HA, Evans D, Lang R, Hackl W, Hamer P, Carney W: Serum HER-2/*neu* Conversion to Positive at the Time of Disease Progression in Patients with Breast Carcinoma on Hormone Therapy. *Cancer* 2005; 104: 257-263
- [120] Cabrera N, Diaz-Rodriguez E, Becker E, Martin-Zanca D, Pandiella A: TrkA Receptor Ectodomain Cleavage Generates a Tyrosine-phosphorylated Cell-associated Fragment. *J Cell Biol* 1996; 132: 427-436
- [121] Hatake K, Tokudome N, Ito Y: 5. Trastuzumab treatment for breast cancer. *Intern Med* 2007; 46(3): 149-150
- [122] Iwata H: Perspective of Trastuzumab Treatment. *Breast Cancer* 2007; 14(2): 150-155

- [123] Viani GA, Afonso SL, Stefano EJ, De Fendi LI Soares FV: Adjuvant trastuzumab in the treatment of her-2-positive early breast cancer: a meta-analysis of published randomized trials. *BMC Cancer* 2007; 7: 153
- [124] Wolff AC, Hammond MEH, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25(1): 118-145
- [125] Carney WP, Neumann R, Lipton A, Leitzel K, Ali S, Price CP: Potential Clinical Utility of Serum HER-2/*neu* Oncoprotein Concentrations in Patients with Breast Cancer. *Clin Chem* 2003; 49: 1579-1598
- [126] Baselga J, Albanell J, Molina MA, Arribas J: Mechanisms of action of trastuzumab and scientific update. *Semin Oncol* 2001; 28(5 Suppl 16): 4-11
- [127] Molina MA, Codony-Servat J, Albanell J, Rojo F, Arribas J, Baselga J: Trastuzumab (Herceptin), a Humanized Anti-HER2 Receptor Monoclonal Antibody, Inhibits Basal and Activated HER2 Ectodomain Cleavage in Breast Cancer Cells. *Cancer Res* 2001; 61: 4744-4749

7 ANHANG

7.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prozentualer Anteil ausgewählter Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen ohne nicht-melanotischen Hautkrebs in Deutschland 2004	1
Abbildung 2: HER-2/neu und der Mechanismus der Signaltransduktion	9
Abbildung 3: Beispiel einer HER-2/neu-Expressionstestung am Gewebe invasiver Mammakarzinome mittels Immunhistochemie	10
Abbildung 4: Beispiel einer Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung	11
Abbildung 5: Legende Box-Plot	26
Abbildung 6: Beispiel einer χ^2 -Kurve zur Bestimmung eines Cut-off-Wertes	27
Abbildung 7: s-HER-2/neu bei Gesunden in Abhängigkeit vom Geschlecht	29
Abbildung 8: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Alter bei beiden Geschlechtern	31
Abbildung 9: Wertlagen von s-HER-2/neu bei rezidivfreien Frauen und Patientinnen ohne (M0) und mit Fernmetastasen (M1)	32
Abbildung 10: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Menopausenstatus	33
Abbildung 11: s-HER-2/neu in Abhängigkeit von der Tumorgroße pT	34
Abbildung 12: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus	35
Abbildung 13: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom UICC-Stadium	36
Abbildung 14: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Grading	38
Abbildung 15: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Hormonrezeptorstatus	39
Abbildung 16: Boxplot: s-HER-2/neu in Abhängigkeit von der HER-2/neu-Überexpression	41
Abbildung 17: Dotplot: s-HER-2/neu in Abhängigkeit von der HER-2/neu-Überexpression	41
Abbildung 18: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom HER-2/neu-Gewebestatus (M0)	42
Abbildung 19: Dotplot: s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom HER-2/neu-Gewebestatus in den Gruppen M0 und M1	43
Abbildung 20: ROC-Kurve: Bestimmung des HER-2/neu-Gewebestatus mittels Shed Antigen	44
Abbildung 21: P-Wert-Kurve zur Cut-off-Bestimmung von CA15-3	48

Abbildung 22: P-Wert-Kurve zur Cut-off-Bestimmung von CEA	49
Abbildung 23: P-Wert-Kurve zur Cut-off-Bestimmung von s-HER-2/neu	50
Abbildung 24: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Menopausenstatus	53
Abbildung 25: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit von der Tumorgroße	53
Abbildung 26: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus	54
Abbildung 27: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom UICC-Stadium	54
Abbildung 28: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Grading	55
Abbildung 29: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Östrogenrezeptorstatus	55
Abbildung 30: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Gestagenrezeptorstatus	56
Abbildung 31: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Hormonrezeptorstatus	56
Abbildung 32: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit von der HER-2/neu- Expression	57
Abbildung 33: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom HER-2/neu- Gewebestatus	57
Abbildung 34: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit von der CA15-3- Konzentration	58
Abbildung 35: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit von der s-HER-2/neu- Konzentration	58
Abbildung 36: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit von s-HER-2/neu- Konzentration und HER-2/neu-Gewebestatus	59
Abbildung 37: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom Menopausenstatus	65
Abbildung 38: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit von der Tumorgroße pT	65
Abbildung 39: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus	66
Abbildung 40: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom UICC-Stadium	66
Abbildung 41: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom Grading	67
Abbildung 42: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom Östrogenrezeptorstatus	67
Abbildung 43: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom Gestagenrezeptorstatus	68
Abbildung 44: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom Hormonrezeptorstatus	68
Abbildung 45: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit von der HER-2/neu- Expression	69
Abbildung 46: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit vom HER-2/neu- Gewebestatus	69
Abbildung 47: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit von der CA15-3- Konzentration	70

Abbildung 48: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit von der s-HER-2/neu-Konzentration	70
Abbildung 49: Gesamtüberleben (M0) in Abhängigkeit von s-HER-2/neu-Konzentration und HER-2/neu-Gewebestatus	71

7.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Etablierte Risikofaktoren für das Mammakarzinom	2
Tabelle 2:	Grading	3
Tabelle 3:	pTNM-Klassifikation des Mammakarzinoms	4
Tabelle 4:	Stadieneinteilung des Mammakarzinoms nach UICC	5
Tabelle 5:	Risikogruppen und Therapieempfehlungen nach St. Gallen 2005	6
Tabelle 6:	Altersverteilung Kontrollkollektiv	14
Tabelle 7:	Verteilung wichtiger Merkmale im Studienkollektiv und den Untergruppen M0 und M1	17
Tabelle 8:	Verteilung wichtiger Merkmale in den Prognosekollektiven	20
Tabelle 9:	Interpretation des HercepTest™	22
Tabelle 10:	s-HER-2/neu bei Gesunden in Abhängigkeit vom Geschlecht	29
Tabelle 11:	s-HER-2/neu bei Gesunden in Abhängigkeit vom Alter	30
Tabelle 12:	Wertlagen von s-HER-2/neu bei rezidivfreien Frauen und Patientinnen	32
Tabelle 13:	s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Menopausenstatus	33
Tabelle 14:	CA 15-3 und CEA in Abhängigkeit vom Menopausenstatus	33
Tabelle 15:	s-HER-2/neu in Abhängigkeit von der Tumorgröße	34
Tabelle 16:	CA 15-3 und CEA in Abhängigkeit von der Tumorgröße	34
Tabelle 17:	s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus	35
Tabelle 18:	CA 15-3 und CEA in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus	36
Tabelle 19:	s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom UICC-Stadium	36
Tabelle 20:	CA 15-3 und CEA in Abhängigkeit vom UICC-Stadium	37
Tabelle 21:	s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Grading	37
Tabelle 22:	CA 15-3 und CEA in Abhängigkeit vom Grading	37
Tabelle 23:	s-HER-2/neu in Abhängigkeit vom Hormonrezeptorstatus	38
Tabelle 24:	CA 15-3 und CEA in Abhängigkeit vom Hormonrezeptorstatus	39
Tabelle 25:	Korrelationen der Tumormarker untereinander	40
Tabelle 26:	s-HER-2/neu in Abhängigkeit von der HER-2/neu-Überexpression	40
Tabelle 27:	s-HER-2/neu in Abhängigkeit von Metastasierung und HER-2/neu-Gewebestatus	42
Tabelle 28:	Sensitivität/Spezifität bei verschiedenen Cut-off-Werten für s-HER-2/neu zur Bestimmung des Gewebestatus	44

Tabelle 29:	Abhängigkeit des rezidivfreien Überlebens (RFÜ) von Prognosefaktoren (univariate Analyse, Log-Rank-Test)	52
Tabelle 30:	Ergebnisse der multivariaten Analyse des rezidivfreien Überlebens	60
Tabelle 31:	Abhängigkeit des Gesamtüberlebens (GÜ) von Prognosefaktoren (univariate Analyse, Log-Rank-Test)	64
Tabelle 32:	Ergebnisse der multivariaten Analyse des Gesamtüberlebens (M0)	71

7.3 Wissenschaftliche Beiträge

BEITRÄGE AUF INTERNATIONALEN KONGRESSSEN:

09/2007 XXXVth Meeting of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, ISOBM, Prag, Tschechien (Poster)

Dresse M, Nagel D, Davis G, Dowell B, Doss R, Stieber P: Short and Long-term Stability of TIMP-1 in Plasma Samples. *Tumor Biol* 2007; 28(suppl 1): 93

10/2008 28. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Senologie, Stuttgart (Poster)

Dresse M, Mayr D, Heinemann V, Kahlert S, Bauerfeind I, Nagel D, Seidel D, Stieber P: HER-2/neu im Gewebe und Blut zum Zeitpunkt der Primärdiagnose des Mammakarzinoms. *Senologie* 2008; 5: 182

12/2008 14th International Hamburg Symposium on Tumor Markers, Hamburg (Vortrag)

Dresse M, Mayr D, Heinemann V, Kahlert S, Bauerfeind I, Nagel D, Seidel D, Stieber P: HER-2/neu in Tissue and Serum at Time of Primary Diagnosis of Breast Cancer. *Anticancer Res* 2008; 28(6B): 4027

PUBLIKATIONEN:

Dresse M, Nagel D, Ganser EM, Davis G, Dowell B, Doss R, Stieber P: Dependence of TIMP-1 Plasma Levels on Preanalytical Specimen Handling. *Tumor Biol* 2008; 29: 35-40

7.4 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Klinische Chemie, Universitätsklinikum München – Großhadern – der Ludwig-Maximilians-Universität (Direktor: Prof. Dr. med. Dr.h.c. D. Seidel) durchgeführt.

Mein Dank gilt:

- Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. D. Seidel für die Überlassung des Themas und die Gewährung der Arbeitsmöglichkeiten am Institut für Klinische Chemie.
- Frau Dr. med. Petra Stieber für die herzliche und intensive Betreuung während der Arbeit, die ausgiebigen lehrreichen Diskussionen sowie die Förderung von Kongressteilnahmen und wissenschaftlichen Publikationen.
- Frau Dr. rer. nat. Dorothea Nagel für die hilfreiche Beratung und kenntnisreiche Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.
- Herrn Dr. med. Steffen Kahlert und Herrn Dr. med. Ingo Bauerfeind der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe am Klinikum Großhadern für die Bereitstellung von Patientendaten.
- Herrn PD Dr. med. Joachim Diebold und Frau Dr. med. Doris Mayr vom Pathologischen Institut am Klinikum Großhadern für die Unterstützung bei der Datenerhebung.
- Herrn Prof Dr. med. Volker Heinemann der Medizinischen Klinik und Poliklinik III am Klinikum Großhadern für die Bereitstellung der Patientenakten und hilfreiche Ratschläge zur Datenauswertung..
- Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Arbeitsgruppe „Onkologische Labordiagnostik“ sowie meinen Mit-Doktoranden für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung.