

Aus der Klinik für Chirurgie und Chirurgische Onkologie
der Robert-Rössle-Klinik, der Medizinischen Fakultät der
Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Bedeutung Zytokeratin-positiver
Zellen im Knochenmark bei
Magenkarzinom-Patienten als
prognostischer Parameter im
Hinblick auf Überleben,
Metastasierung und Rezidivbildung**

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr.med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von
Christian G. Schick
aus Rostock

Gutachter: 1. Prof. Dr. Dr. h. c. P. M. Schlag

2. Prof. Dr. med. C.-D. Heidecke

3. Prof. Dr. med. M. Heiss

Datum der Promotion: 22.06.2007

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	9
1.1	Einführung	9
1.2	Adenokarzinom des Magens	10
1.2.1	Epidemiologie	10
1.2.1.1	Verbreitung und Sterblichkeit weltweit	10
1.2.1.2	Inzidenz und Sterblichkeit im EU-Vergleich	11
1.2.1.3	Inzidenz und Mortalität in Deutschland	11
1.2.1.4	Ätiologie / Pathogenese	13
1.2.1.5	Risikofaktoren	14
1.2.1.6	Prävention	16
1.2.1.7	Trends	16
1.2.2	Genetik	18
1.2.2.1	Somatische Mutationen	18
1.2.2.2	Keimzellmutationen	25
1.2.3	Pathologie	27
1.2.3.1	Lokalisation	27
1.2.3.2	Stadieneinteilung (Staging)	28
1.2.3.3	Grading	29
1.2.4	Klassifikation	30
1.2.4.1	Invasionstiefe	30
1.2.4.2	Makroskopisches Wachstumsmuster	31
1.2.4.3	Histologische Subtypen	32
1.3	Wachstum, Invasion und Metastasierung	34
1.3.1	Lokales Wachstum	34
1.3.2	Infiltration benachbarter Strukturen	34
1.3.3	Ausbreitungswege und Fernmetastasierung	35
1.4	Minimale Resterkrankung (Minimal Residual Disease)	38
1.4.1	Abgrenzung Disseminierter Tumorzellen von Mikrometastasen	38
1.4.2	Charakteristika disseminierter Tumorzellen	41
1.4.3	Nachweismethoden für Disseminierte Tumorzellen	42
1.4.3.1	Immunhistochemie	42
1.4.3.2	Molekulare Methoden	44

1.4.3.3	Durchflußzytometrie	44
1.4.4	Disseminierte Tumorzellen beim Magenkarzinom	45
1.4.4.1	Disseminierte Tumorzellen in der Peritonealhöhle	45
1.4.4.2	Disseminierte Tumorzellen in Lymphknoten	46
1.4.4.3	Disseminierte Tumorzellen im Blut	46
1.4.4.4	Disseminierte Tumorzellen im Knochenmark	47
2	Fragestellung	51
3	Patienten und Methoden	51
3.1	Patientengut	51
3.1.1	Patientenkollektiv	51
3.1.2	Erfasste Daten	52
3.1.3	Klinische Langzeitbeobachtung	53
3.2	Statistische Auswertung	54
3.3	Histopathologische Untersuchung des Knochenmarks	55
3.3.1	Gewinnung der Gewebeproben	56
3.3.2	Aufarbeitung und Histologische Auswertung der Knochenmarksbefunde	56
4	Ergebnisse	59
5	Diskussion	71

Für meine Familie

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung Erklärung

Abb.	Abbildung
AIB	Amplifiziert beim Mamma-Karzinom
APAAP	Alkaline Phosphatase-Anti-Alkalin-Phosphatase
APC	Adenomatöse Polyposis Coli
bspw.	beispielsweise
bzw.	beziehungsweise
CA	Carbohydrate Antigen
ca.	zirka
cDNA	komplementäre DNS / complementary DNS
CEA	Carcinoembryonisches Antigen
CK	Zytokeratin / Cytokeratin
cm	Zentimeter
c-met Gen	Gen für Protein-Tyrosin Kinase Rezeptor für HGF / SF
COX	Cyclooxygenase
CT	Computertomographie
d.h.	das heißt
DCC-Gen	gelöscht beim Colon-Karzinom / deleted in colorectal cancer
DFS	Tumorfrees Überleben / disease free survival
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DSS	Tumorbezogenes Überleben / Disease Specific Survival
EGF	Epidermaler Wachstumsfaktor / epidermal growth factor
EGFR	EGF-Rezeptor
EUCAN	Datenbank des Netzwerks der EU-Krebsregister zu Inzidenz, Mortalität und Prävalenz von Malignomen
EUS	Endoskopische Sonographie / Endoscopic Ultra Sound

FAP	Familiäre Adenomatöse Polyposis
FGF	Fibroblastenwachstumsfaktor
FGFR	FGF-Rezeptor
FHIT-Gen	Brüchige Histidine Triade - fragile histidine triad
FZ	Durchflusszytometrie / Flow cytometry)
HDGC	Familiäres Diffuses Magen-Karzinom / Hereditary Diffuse Gastric Cancer
HE-Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HGF	Hepatozytenwachstumsfaktor / Hepatozyte Growth Factor (entspricht SF)
HGFR	HGF-Rezeptor
HNPCC	Familiäres Nicht-Polypöses Kolon-Karzinom / Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer
IGF	Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor / Insulin-like Growth-Faktor
IHC	Immunhistochemie
iHv.	in Höhe von
IL	Interleukin
k.A.	keine Angaben
KM	Knochenmark
LOH	Verlust der Heterozygotie / Loss of Heterozygosity
MCC	mutiert beim Colon-Karzinom
MGG-Färbung	May-Grünwald-Giemsa-Färbung
mm	Millimeter
MRD	Minimale Residuelle Erkrankung / Minimal Residual Disease
mRNA	Boten-RNS / messenger RNA
MRT	Magnetresonanztomographie
MSI	Mikrosatelliten-Instabilität / Microsatellite instability

MV	multivariat
n.i.	keine Information / no information
n.s.	nicht signifikant / not significant
n.u.	nicht untersucht
OS	Gesamtüberleben / overall survival
PDGF	Plättchenassoziierter Wachstumsfaktor / platelet derived growth factor
RKI	Robert-Koch-Institut - zentrale Einrichtung der Bundesregierung auf dem Gebiet der Krankheitskontrolle und -prävention und damit auch die zentrale Referenzeinrichtung des Bundes auf dem Gebiet der anwendungs- und maßnahmenorientierten Forschung und für den Öffentlichen Gesundheitsdienst
RNS	Ribonukleinsäure / Ribonucleic acid
RT-PCR	Reverse Transkriptase Polymerase Kettenreaktion / Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
SF	Scatter Factor (entspricht HGF)
St.n.	Status nach
Tab.	Tabelle
TGF	Transformatierender Wachstumsfaktor / transforming growth factor
TGFR	TGF-Rezeptor
TNF	Tumor Nekrose Faktor
UICC	International Union Against Cancer
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
UV	univariat
VEGF	Gefäßendothel-Wachstumsfaktor / Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR	VEGF-Rezeptor
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel

Zusammenfassung

Der wichtigste prognostische Faktor hinsichtlich Rezidivgefahr und Überlebenszeit von Karzinompatienten ist die lokale und insbesondere die systemische Ausbreitung des Tumors. Über 30 Prozent der Patienten mit einem Adenokarzinom des Magens, die primär kurativ behandelt werden und keine Anzeichen einer systemischen Tumorstreuung zeigten, entwickeln trotzdem ein frühes Rezidiv. Es wird angenommen, dass eine der Ursachen für ein solches Tumorrezidiv im Vorliegen einer sogenannten Minimalen Resterkrankung oder auch „Minimal Residual Disease“ (MRD) besteht. Die MRD entspricht den disseminierten Tumorzellen, die sich definitionsgemäß von Mikrometastasen abgrenzen lassen. Diese okkulte systemische Tumorzell dissemination konnte bereits für diverse Tumorentitäten wie auch beim Adenokarzinom des Magens in verschiedenen Kompartimenten wie Lymphsystem, Aszites, Blut und Knochenmark nachgewiesen werden.

Epithelzellen im Knochenmark von Patienten mit Magenkarzinom werden als Zeichen einer Tumorzell dissemination angesehen. Allerdings wird der Einfluss auf die Prognose kontrovers diskutiert. Daher haben wir in einer prospektiven Untersuchung die Korrelation von Knochenmarksbeteiligung, Rezidivrate und tumorabhängiger Überlebensdauer in der Langzeitbetrachtung evaluiert.

Bei 209 Patienten mit Magenkarzinom wurden Knochenmarksaspirate von beiden Beckenkämmen gewonnen und unter Verwendung von monoklonalen Zytokeratin-18 Antikörpern (Mab CK2) immunhistochemisch untersucht. Bei 39/209 (19%) Patienten wurden immunhistochemisch gefärbte Zellen im Knochenmark gefunden. Die Befunde wurden mit den pathohistologischen Befunden korreliert. 15 von 109 (14%) R0-resezierten Patienten mit CK-positiven Zellen im Knochenmark zeigten eine signifikant erhöhte Häufigkeit hinsichtlich der Entwicklung eines Lokalrezidivs sowie eine signifikant verkürzte Zeit bis zum Auftreten eines lokalen oder systemischen Rezidivs.

In der Nachbeobachtungszeit (Median 56 Monate) war das tumorabhängige Überleben der Patientengruppe mit CK-positiven Zellen im Knochenmark gegenüber der Vergleichsgruppe ohne CK-positive Zellen im Knochenmark verkürzt (57 vs. 86 Monate), jedoch nicht signifikant, $p=0.0824$.

Allerdings zeigte sich ein signifikant verkürztes Überleben der Patienten mit mehr als 2 CK-positiven Zellen von 2×10^6 Knochenmarkszellen im Vergleich zu Patienten mit 0 oder 1 bis 2 CK-positiven Zellen (35 vs. 70 vs. 86 Monate, $p=0.0178$). Die multivariate Analyse bestätigte, dass (erst) der Nachweis von mehr als 2 CK-positiven Zellen von 2×10^6 untersuchten Knochenmarkszellen bei Magenkarzinom-Patienten als unabhängiger prognostischer Faktor für tumorbezogenes Überleben gilt.

Danksagung

An erster Stelle danke ich meinem Doktorvater Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. Peter M. Schlag, Direktor der Klinik für Chirurgie und Chirurgische Onkologie der Robert-Rössle-Klinik, Medizinische Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin für die Überlassung des Themas und das Vertrauen, das er damit in mich gesetzt hat.

Insbesondere Herrn Dr. med. S. Gretschel (Chirurgie und Chirurgische Onkologie der Robert-Rössle-Klinik) danke ich für die äußerst engagierte Betreuung der Arbeit. Er stand mir während der gesamten Periode der Fertigstellung dieser Dissertation als Ratgeber zur Seite.

Als nächstes möchte ich mich bei Frau Dr. med. U. Schneider und Frau I. Wendler (Abteilung für Pathologie der Robert-Rössle-Klinik) für die kritische Unterstützung bei den histopathologischen Aspekten der vorliegenden Arbeit bedanken.

Nicht zuletzt gilt mein Dank auch den Mitarbeitern der Studienzentrale sowie des Archivs der Robert-Rössle-Klinik für die tatkräftige Unterstützung bei der Datenerhebung.

Berlin, den 28. November 2006

(Christian G. Schick)

**Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen
Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.**

Erklärung

„Ich, Christian G. Schick, erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte
Dissertationsschrift mit dem Thema:

**"Bedeutung Zytokeratin-positiver Zellen im Knochenmark bei
Magenkarzinom-Patienten als prognostischer Parameter im
Hinblick auf Überleben, Metastasierung und Rezidivbildung"**

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel
benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine
Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 28. November 2006

(Christian G. Schick)