

1 Einleitung

1.1 Einführung

Der Entwicklungsprozeß maligner Tumoren verläuft in mehreren Stufen. Der Zeitraum vor der klinischen Manifestation dauert je nach Tumorart einige Monate (z.B. Burkitt-Lymphom) bis hin zu vielen Jahren (z.B. Karzinome des Magens, des Kolon, der Lungen oder der Harnblase). Bei weiterem Tumorwachstum können sich einzelne Tumorzellen aus dem Gewebsverband lösen und invadieren benachbarte Gewebe (Invasion). Brechen Tumoren in das Gefäßsystem ein, so gelangen sie über Blut und Lymphe in fernliegende Gewebe und Organe (Metastasierung).

Der Tumor wird vielfach erst in diesem Entwicklungsstadium klinisch diagnostiziert und einer Therapie zugänglich ¹.

Das Tumorausmaß bestimmt letztendlich die Prognose und die Art der differenzierten Therapie. Dazu müssen insbesondere Patienten mit einem hohen Rezidivrisiko identifiziert werden, um diese einer individuell angepaßten und gegebenenfalls multimodalen Therapie zuführen zu können.

Neben dem makroskopisch visualisierbaren Tumor gibt es Mikrometastasen (Tumorzellansammlungen von 0,2 mm bis 2 mm Durchmesser) und die sogenannte Minimale Residuelle Erkrankung (MRD). Letztere wird charakterisiert durch einzelne Tumorzellen oder Tumorzellverbände mit einer Größe von weniger als 0,2 mm, welche in verschiedenen Organsystemen nachgewiesen werden können. Dazu zählen Lymphknoten, Blut, Aszites, Pleuraerguß und Knochenmark.

Die vorliegende Arbeit geht der Frage nach, welche Bedeutung dem Nachweis Zytokeratin-positiver (CK-positiver) Zellen im Knochenmark als prognostischer Parameter im Hinblick auf Überleben, Metastasierung und Rezidivbildung bei Patienten mit einem Magenkarzinom zukommt.

1.2 Adenokarzinom des Magens

1.2.1 Epidemiologie

1.2.1.1 Verbreitung und Sterblichkeit weltweit

Bis 1988 galt das Adenokarzinom des Magens als die häufigste Krebstodesursache weltweit ^{2,3}. Danach sank die Inzidenz in vielen Ländern deutlich. Heute ist es global betrachtet nach dem Bronchialkarzinom noch immer das zweithäufigste Karzinom ^{3,4}. Dies liegt vor allem an seiner ausgesprochen hohen Inzidenz in Asien und Teilen Lateinamerikas. Entsprechend ist in diesen Regionen auch die Mortalität, welche durch das Magenkarzinom bedingt ist, vielfach höher (siehe Abbildung 1). Die geringste Inzidenz und Mortalität des Magenkarzinoms finden sich in Nordamerika, Afrika und Ozeanien, wobei jedoch für einige Länder, insbesondere in Afrika, keine zuverlässigen Daten vorliegen.

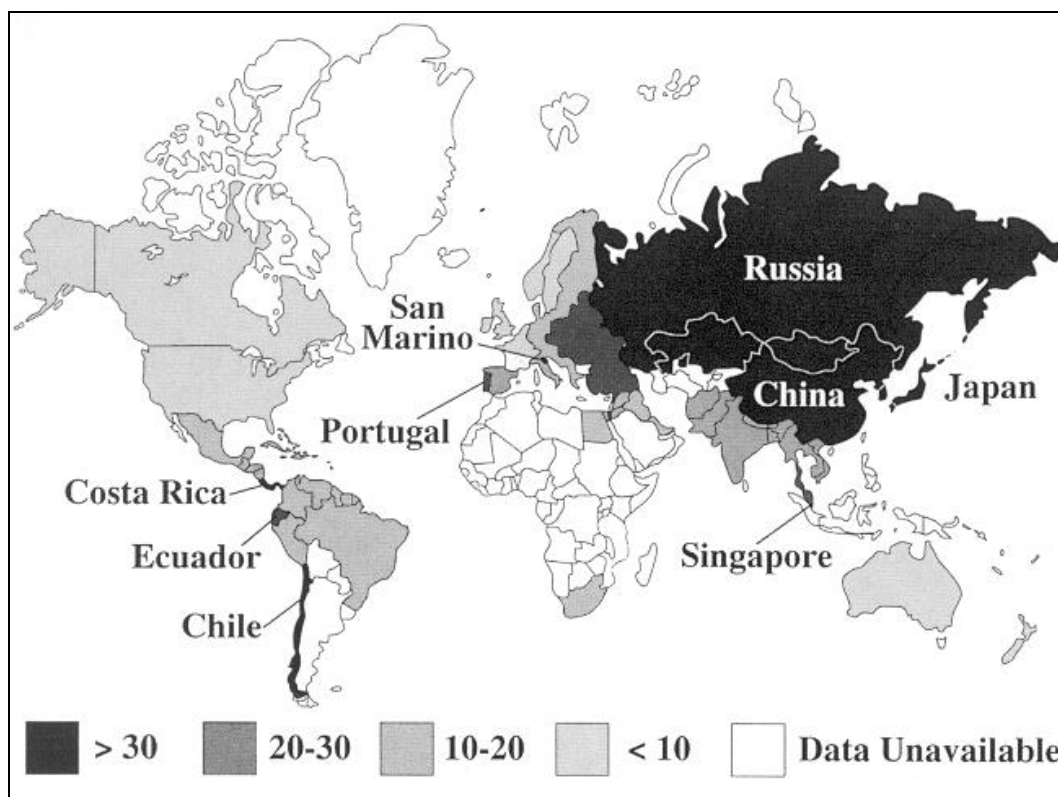


Abbildung 1: Altersangepaßte Mortalitätsraten beim Magenkarzinom (auf 100.000 Einwohner) im weltweiten Vergleich der Länder ⁵

1.2.1.2 Inzidenz und Sterblichkeit im EU-Vergleich

Vergleicht man die Inzidenz des Magenkarzinoms innerhalb der Europäischen Union, so stellt man fest, dass bei Männern und Frauen zusammen die Länder des Baltikums und der anderen östlichen Beitrittsstaaten wie auch die Mittelmeerländer und Deutschland die höchsten Inzidenzraten aufweisen. Die niedrigsten Erkrankungsraten werden unabhängig vom Geschlecht in Skandinavien, Belgien und Frankreich festgestellt (siehe Abbildung 2) ⁶.

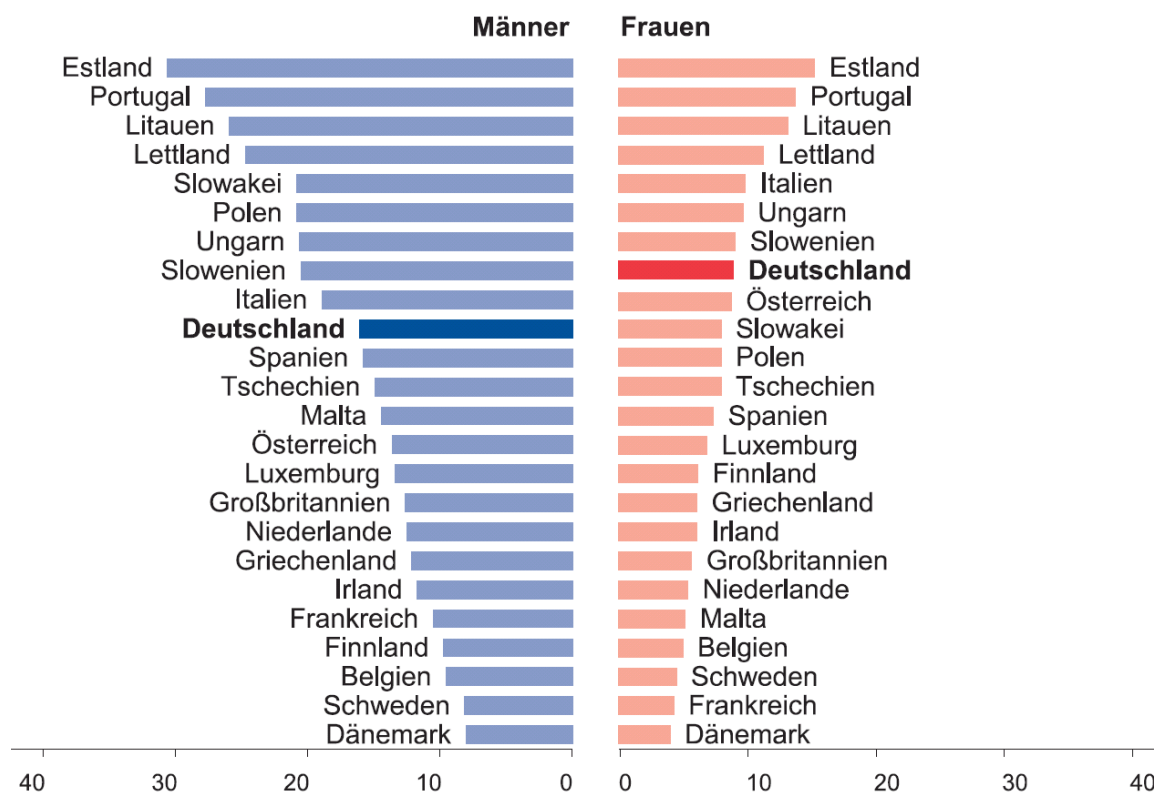


Abbildung 2: Altersstandardisierte Inzidenz (Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner) des Magenkarzinoms in der Europäischen Union 2002 ⁶

1.2.1.3 Inzidenz und Mortalität in Deutschland

Nach Angaben der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. von 2006 liegt die jährliche Inzidenz des Magenkarzinoms in Deutschland bei insgesamt ca. 19.400 mit einer Geschlechterverteilung von etwa 8.200 Frauen zu 11.200 Männern. Damit ist das Magenkarzinom bei den

Frauen die sechsthäufigste und bei den Männern die fünfthäufigste Krebserkrankung (siehe Abb. 3) ⁶.

Die Karzinome des ösophago-gastralen Überganges stellen in Bezug auf die insgesamt ausgewogene Geschlechterverteilung des Magenkarzinoms eine Ausnahme dar. Je nach Studie überwiegt der Männeranteil bei Patienten mit einem Karzinom des ösophago-gastralen Überganges mit einer Quote von bis zu 9:1 ¹.

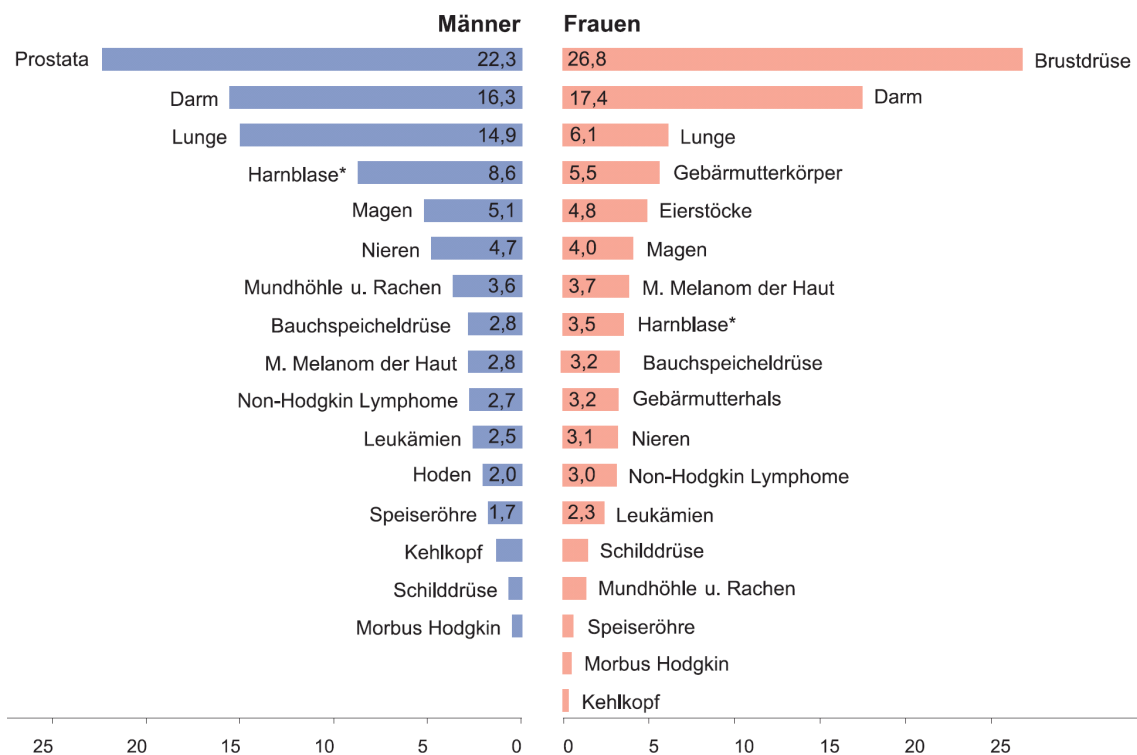


Abbildung 3: Prozentualer Anteil der einzelnen Malignome an der geschätzten Anzahl der Malignomneuerkrankungen (Inzidenz pro 100.000 Einwohner) in Deutschland im Jahre 2002 (Frauen n=206.000, Männer n=218.250) ⁶

In absoluten Zahlen ausgedrückt versterben am Magenkarzinom jährlich in Deutschland ca. 5.776 Frauen und 6.612 Männer⁶.

In Deutschland liegt das mittlere Erkrankungsalter für Frauen bei etwas mehr als 75 Jahren und für Männer bei etwa 70 (siehe Abbildung 4).

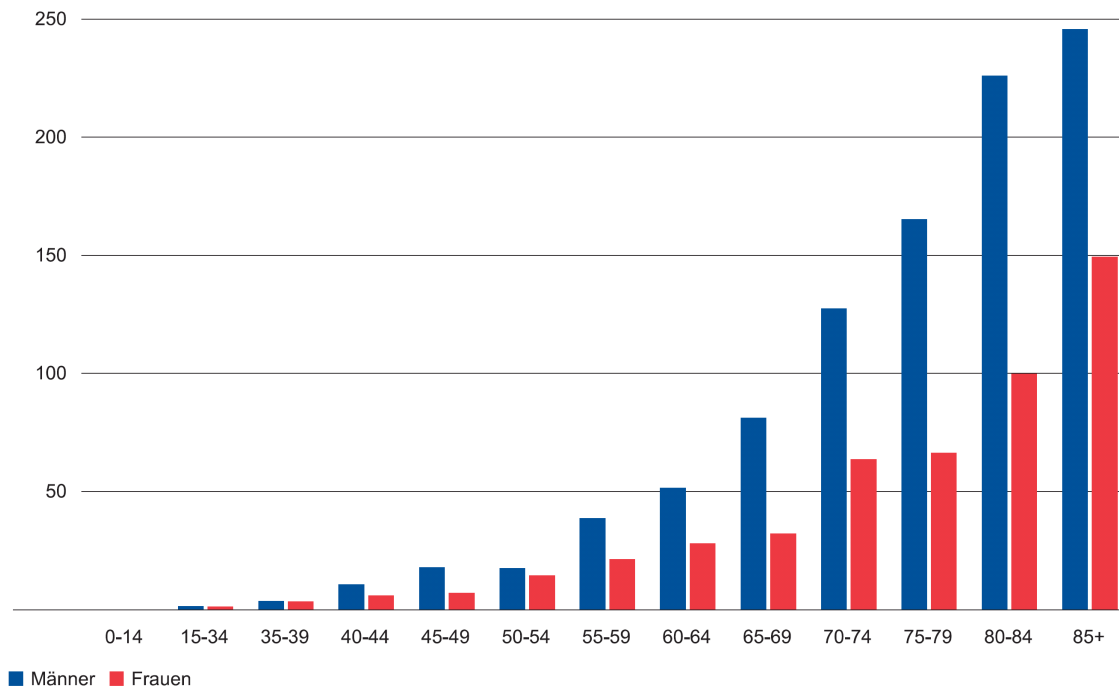


Abbildung 4: Altersspezifische Inzidenz des Magenkarzinoms in Deutschland im Jahre 2002 (Erkrankungen pro 100.000 Einwohner) nach Altersgruppen⁶.

1.2.1.4 Ätiologie / Pathogenese

Das Verständnis der Pathogenese des Magenkarzinoms hat in den letzten Jahren besonders für den intestinalen Subtyp nach Laurén zugenommen: Das Modell von Correa und Kollegen postuliert einen prolongierten präkanzerösen Mechanismus, bei dem die Magenschleimhaut sequentiell zunächst vom gesunden Ausgangszustand langsam in eine chronische Gastritis übergeht, dann über eine multifokale Atrophie in eine intestinale Metaplasie mündet, die zur Dysplasie führt und sich schließlich zu einem invasiven Karzinom entwickelt^{7,8}. Bei diesem langjährigen Prozeß spielen chronische externe wie interne Noxen – beispielsweise *Helicobacter pylori* – als Risikofaktoren eine

entscheidende Rolle. Man geht davon aus, dass alle Stadien dieses Prozesses bis zur Entwicklung einer Dysplasie potentiell reversibel sind.

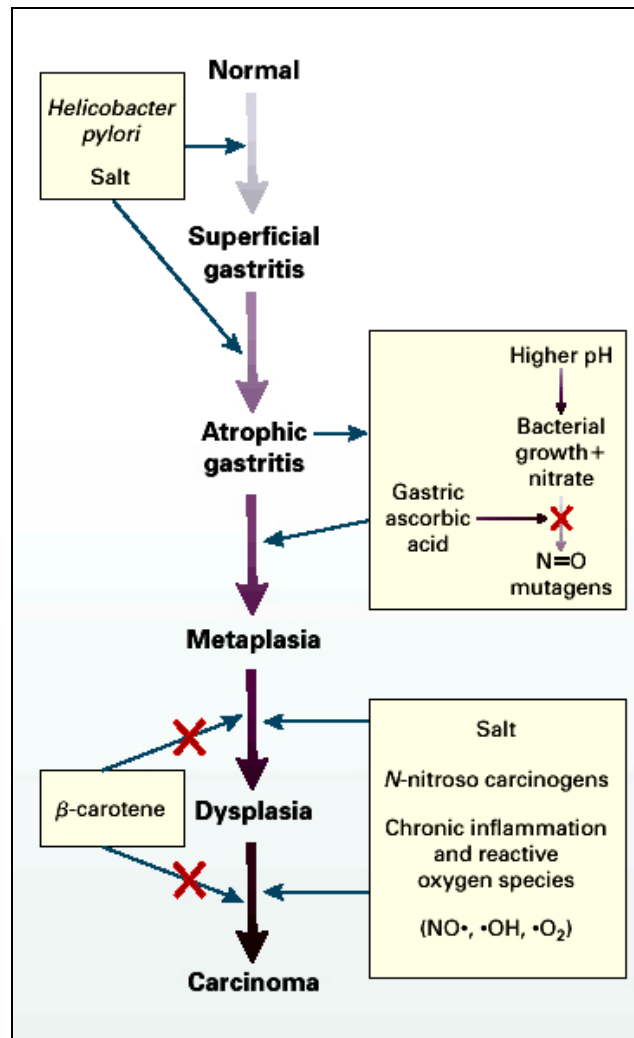


Abbildung 5: Kaskade pathologischer Ereignisse zur Entwicklung eines Magenkarzinoms. Ein **X** steht für hemmende Wirkung⁹.

1.2.1.5 Risikofaktoren

Die im Folgenden genannten Risikofaktoren gelten insbesondere für das Magenkarzinom vom intestinalen Typ nach Laurén. Für den diffusen Subtyp hingegen konnten die prädisponierenden Faktoren bislang nur ungenügend definiert werden¹⁰, wobei hier eine genetische Prädisposition vermutlich im Vordergrund steht¹¹.

Die bekannten Risikofaktoren werden zunächst in die bedeutenderen externen Umwelteinflüsse und die internen patientenabhängigen Faktoren eingeteilt ¹²:

Tabelle 1: Überblick über etablierte Risikofaktoren für das Magenkarzinom

Äußere Noxen / Umweltfaktoren:

Ernährung ⁷

Nitrite abgeleitet von Nitraten aus Trinkwasser und konservierten Lebensmitteln (gesalzen, geräuchert, getrocknet)

Mangel an frischem Obst und Gemüse

Nikotinabusus ¹³

Wirtsfaktoren:

Chronische Gastritis ¹⁴

Intestinale Metaplasie ist eine Präkanzerose ¹⁵

Hypochlorhydrie fördert die Besiedlung durch *Helicobacter pylori* ¹⁶

Infektion durch H. pylori ¹⁷

Positiver Nachweis bei den meisten Magenkarzinompatienten mit intestinalem Subtyp

Barrett-Ösophagus ¹⁸

Erhöhtes Risiko von Tumoren des gastroösophagealen Übergangs und des Ösophagus

Partielle Magenresektion nach Ulcus ¹⁹⁻²³

Assoziiert mit Gallenreflux, im Vergleich zur Normalpopulation steigt das Risiko für ein Magenkarzinom nach 15 Jahren

Adenome der Magenschleimhaut ²⁴

Genetik

Leicht erhöhte Inzidenz bei Patienten der Blutgruppe A, niedrigste Inzidenz bei Blutgruppe 0 ^{25,26}

Positive Familienanamnese bezüglich des Magenkarzinoms ²⁷

Familiäres nicht-polypöses Kolon-Karzinom-Syndrom – HNPCC ²⁸

Familiäre Adenomatöse Polyposis ²⁹

1.2.1.6 Prävention

Eine Minderung des Risikos, an einem Magenkarzinom zu erkranken, wird Antioxidantien wie Ascorbinsäure (Vitamin C), Alpha-Tocopherol (Vitamin E) und Karotiden zugesprochen³⁰. In einer großen chinesischen Studie zur Chemoprävention des Magenkarzinoms³¹ wurde von einer statistisch signifikanten Reduktion der Mortalität des Magenkarzinoms nach Gabe von Beta-Karotin, Vitamin E und Selenium berichtet. Es gilt als erwiesen, dass eine Helicobacter pylori Eradikationstherapie tatsächlich das Auftreten von Präkanzerosen und dem Magenkarzinom verhindert³². Inwiefern diese Erkenntnisse im Rahmen einer Primärprävention umsetzbar sind, bleibt abzuwarten. Immerhin ist die chronische Infektion der gastralen Mukosa mit dem Bakterium Helicobacter pylori die häufigste Infektion weltweit: Etwa die Hälfte der Weltbevölkerung ist mit Helicobacter pylori verseucht und nur ein geringer Teil entwickelt tatsächlich ein Magenkarzinom¹⁰. Eine generelle Antibiotikatherapie scheint daher kaum praktikabel. Derzeit wird an der Entwicklung eines Impfstoffes gearbeitet.

In Hochrisikoländern wird aktiv über die Einführung von Sekundärprogrammen im Sinne eines Screenings nachgedacht³³⁻³⁶. In Japan konnte dadurch die Früherkennung des Magenkarzinoms wesentlich verbessert werden. Das Magenfrühkarzinom hat hier einen Anteil von über 40% unter den neu diagnostizierten Magenkarzinomen. In Europa und den USA bleibt diese Zahl konstant bei 10 bis 15% über mehrere Jahrzehnte¹⁰. Offenbar ist hierin auch eine Erklärung zu suchen, weshalb in Japan die Mortalität bei etwa konstanter Inzidenz gefallen ist³⁷.

1.2.1.7 Trends

In den meisten **westlichen Industrienationen** sind Inzidenz und Mortalität des Magenkarzinoms in den letzten sechs Jahrzehnten deutlich gesunken und liegen heute etwa bei einem Viertel der Werte von 1950¹.

In den USA war noch 1930 das Magenkarzinom die häufigste Krebstodesursache. Seither ist die Mortalität von 27 auf 4 pro 100.000 Frauen

bzw. von 38 auf 7 pro 100.000 Männer bzw. gesunken^{38,39}.

Ausnahmen von diesem positiven Trend sind Karzinome des ösophago-gastralen Überganges mit steigender⁴⁰⁻⁴³ und Siegelringkarzinome mit etwa gleichbleibender Inzidenz¹.

Auch in Deutschland ist seit über 30 Jahren wie auch in den anderen Industrienationen ein stetiger Rückgang der Neuerkrankungen an einem Magenkarzinom zu beobachten. Die Inzidenz Ende der 90er Jahre halbierte sich sowohl bei Männern als auch bei Frauen verglichen mit Daten vom Anfang der 70er Jahre. Auch die Mortalität von Patienten mit einem Magenkarzinom nimmt weiter ab. Dies ist aber insgesamt offensichtlich weniger ein Erfolg der Medizin als der Verbesserung der hygienischen Bedingungen und der konsequenten Kühlung von Lebensmitteln. So nehmen insbesondere die distalen Karzinome stark ab, während die proximalen Karzinome des gastro-ösophagealen Überganges zunehmen.

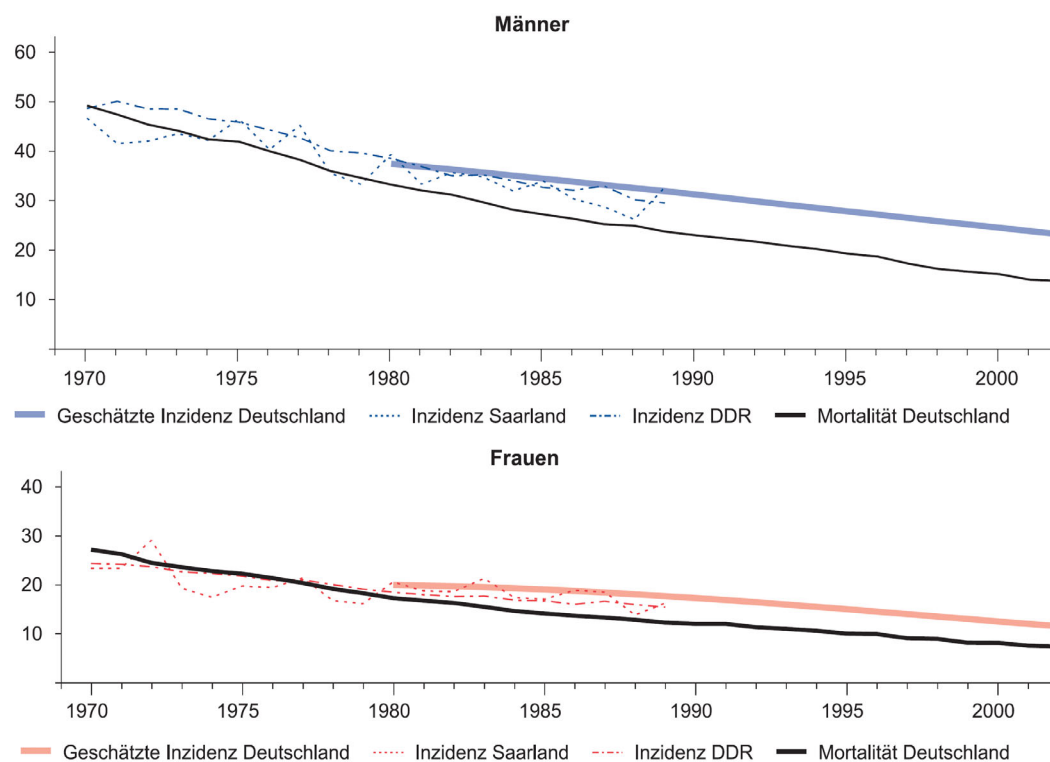


Abbildung 6: Altersstandardisierte Inzidenz und Mortalität des Magenkarzinoms in Deutschland 1970 bis 2002 geteilt nach Geschlechtern⁶.

1.2.2 Genetik

In den letzten Jahren hat das Wissen um die genetischen Veränderungen, die mit der Entwicklung des Magenkarzinoms einhergehen, vor allem in Bezug auf den Intestinaltyp nach Laurén erheblich zugenommen. Man unterscheidet einerseits sporadische Mutationen somatischer Art, die v.a. beim intestinalen Subtyp mit einem Anteil von etwa 60 bis 70 Prozent¹¹ auftreten und andererseits hereditäre Mutationen auf Keimzellebene, die insgesamt selten beobachtet werden⁴⁴, jedoch überwiegend für den diffusen Subtyp verantwortlich sind und somit dem sogenannten Familiären Diffusen Magenkarzinom oder Hereditary Diffuse Gastric Cancer (HDGC) zugeordnet werden¹¹.

1.2.2.1 Somatische Mutationen

Die Transformation von normalem Magenepithel zum Karzinom ist ein mehrstufiger Prozeß, assoziiert mit progressiver Akkumulation von Veränderungen in DNA-Reparaturgenen, Tumor-Suppressor-Genen, Onkogenen, zellulären Wachstumsfaktoren, zellulären Oberflächenrezeptoren und Adhäsionsmolekülen. Eine Schlüsselstellung eines einzelnen Gens – vergleichbar dem APC-Gen beim Kolon-Karzinom – scheint es beim Magenkarzinom nicht zu geben.

Vergleicht man den diffusen Subtyp mit dem intestinalen Subtyp ergeben sich verschiedene Muster der Inaktivierung von Tumorsuppressor-Genen und Expression von Onkogenen. Selbst wenn die gleichen genetischen Loci betroffen sind, unterscheiden sich häufig die Mutationen zwischen den beiden histologischen Typen.

Betrachtet man den zeitlichen Ablauf der Karzinogenese des Magenkarzinoms, so sind die frühen Phasen von genetischer Instabilität und Inaktivierung von Tumorsuppressor-Genen gekennzeichnet, während in den späteren Phasen der Tumorprogression und –invasion die Aktivierung von Onkogenen sowie die Expression von Wachstumsfaktoren, Zytokinen und angiogenetischen Wachstumsfaktoren dominieren.

Chromosomenveränderungen

In der Literatur wurde eine Vielzahl von numerischen und strukturellen Chromosomenveränderungen beim Magenkarzinom beschrieben⁴⁵⁻⁴⁸. Jedoch zeigte sich eine große Heterogenität der Befunde im Vergleich verschiedener Fälle und sogar innerhalb des gleichen Patienten^{49,50}. Bis heute konnte keine chromosomale Translokation oder Deletion als konstantes Charakteristikum des Magenkarzinoms nachgewiesen werden⁴⁹.

Mikrosatelliten Instabilität

Als Mikrosatelliten werden kurze, hoch repetitive DNS-Sequenzen bezeichnet, die überwiegend nicht-kodierende DNS-Sequenzen darstellen und für eine Vielzahl von genetischen Polymorphismen verantwortlich sind. Es wird angenommen, dass diese DNS-Bereiche eine besonders hohe Anfälligkeit für DNS-Replikationsfehler aufweisen und es somit zur Mikrosatelliten-Instabilität kommt. Bei 80 Prozent aller Patientin mit Hereditärem Nicht-Polypösem Kolonkarzinom (HNPCC) und immerhin 15 Prozent aller Patienten mit sporadischem Kolonkarzinom konnten Keimzellmutationen bestimmter Mikrosatelliten nachgewiesen werden⁵¹. Für das sporadische Adenokarzinom des Magens wurden ebenfalls Mikrosatelliten-Instabilitäten nachgewiesen – je nach Autor mit einer Häufigkeit von 17 bis 64 Prozent^{52,53}. Inwiefern hierbei eine Unterscheidung zwischen den histologischen Subtypen angebracht ist, bleibt Gegenstand der Diskussion, wobei die Nachweisraten offenbar mit der Tumorprogression korrelieren⁵¹.

Die Tumor-Suppressor-Gene p53, APC und CDH-1

Inaktivierung durch Mutation oder Deletion von Tumor-Suppressor-Genen stellt eine der häufigsten genetischen Veränderungen beim Magenkarzinom dar. Die im folgenden beschriebenen Tumor-Suppressor-Gene und deren genetische Veränderungen werden in 40 bis 60 Prozent der Adenomkarzinome des Magens gefunden⁵⁴.

- a) Mutationen des Tumor-Suppressor-Gens **p53** gehören zu den am häufigsten beobachteten genetischen Veränderungen in Karzinomen allgemein ⁵⁵. In der Entwicklung des Magenkarzinoms findet sich eine Zunahme von p53-Mutationen von der intestinalen Metaplasie (10 bis 38 Prozent), zu Magenadenomen (27 bis 30 Prozent), zu schwerer Dysplasie (64 Prozent) bis zum Karzinom (60 bis 76 Prozent) ⁵⁶⁻⁶⁰. Diese Erkenntnisse legen nahe, dass Veränderungen des p53-Gens ein frühes Ereignis in der Pathogenese des Magen-Karzinoms sind ^{57,61,62}. Weitere Hinweise hierfür ergeben sich aus Studien an Mäusen, die hemizygot für das Gen p53 sind und im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen auf eine Infektion durch *Helicobacter pylori* mit einer gesteigerten proliferativen Reaktion der Magenmukosa reagieren ⁶³. Diese gesteigerte Proliferation korreliert mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung eines Magenkarzinoms ⁶⁴, so dass gefolgert wurde, dass p53-Inaktivierung eine wichtige Bedeutung bei der Karzinogenese des Magenkarzinom hat ⁶⁵⁻⁶⁸.
- b) Eine Mutation des **APC-Gens** ist bekanntlich assoziiert mit der familiären adenomatösen Polyposis (FAP) – in Anlehnung an den englischen Sprachgebrauch auch als Adenomatöse Polyposis Coli (APC) bezeichnet. Sie gilt als frühes Ereignis in der Pathogenese des Kolon-Karzinoms bzw. der Bildung von adenomatösen Polypen ⁶⁹. Die Tatsache, dass FAP-Patienten ein nahezu 10fach höheres Risiko haben, ein Magenkarzinom zu entwickeln ²⁹, könnte darauf hinweisen, dass das APC-Gen auch an der Entwicklung des Magenkarzinoms beteiligt sein könnte. Mutation bzw. Loss of Heterozygoty (LOH) des APC-Gens wurden bei über zwei Dritteln der Patienten mit Magenkarzinom entdeckt ⁷⁰, nicht jedoch bei Patienten mit Mukosa-Dysplasie des Magens ⁷¹. Setzt man voraus, dass eine Suppression des APC-Gens an der Karzinogenese des Magenkarzinoms beteiligt ist, so muß es sich folglich um ein relativ spätes Ereignis im Übergang von Dysplasie zum Karzinom handeln ⁵.

Karzinome vom Intestinaltyp nach Laurén zeigen unabhängig vom Stadium häufiger (60 Prozent) ein LOH für das APC-Gen als der diffuse Subtyp (20 Prozent) ^{70,72,73}.

- c) **CDH-1**, ein weiteres Tumor-Suppressor-Gen, codiert das Zell-Adhäsionsprotein **E-cadherin**. Es handelt sich um ein Transmembran-Protein, das via α - und β -catenin an die Actin-Filamente des Zytoskeletts bindet und an der Zell-Zell-Interaktion im Gewebe beteiligt ist ^{74,75}. Es wird folglich angenommen, dass eine Verminderung der Expression von E-Cadherin zur Dissoziation von malignen Zellen aus dem Gewebsverband führt und somit die Migration und Invasion von Magenkarzinom-Zellen fördert ^{11,76,77}. Eine verminderte E-Cadherin-Expression ist mit erhöhtem Risiko für Lymphknotenmetastasierung und verringerter Überlebenszeit assoziiert ⁷⁸⁻⁸¹. Bei 51 Prozent aller Magenkarzinom-Patienten wurde eine Suppression des E-Cadherin Gens beobachtet ^{82,83}, wobei dieser Anteil beim diffusen Subtyp mit 63 Prozent noch höher lag ^{84,85}. Somit erscheint E-Cadherin als Tumor-Suppressor-Gen mit besonderer Bedeutung für den diffusen Subtyp des Magenkarzinoms zu wirken ⁵. Dabei wurde auch eine Verbindung zwischen einer Überexpression des Hepatozyten-Wachstumsfaktors (Hepatozyte Growth Factor = HGF), in einigen Quellen auch als Scatter Factor bezeichnet, und E-Cadherin-Suppression aufgezeigt ⁸⁴.

Protoonkogene und Onkogene

Protoonkogene als Vorstufen von Onkogenen werden nach den kodierten Proteinen in mehrere Gruppen eingeteilt wie beispielsweise Wachstumsfaktoren, Wachstumsfaktor-Rezeptoren, Nichtrezeptor-Proteinkinasen, G-Proteine etc.

- a) Der **Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)** ist bekannt als Gefäßwachstumsfaktor, der Neovaskularisation von Tumoren und Lymphangiogenese fördert und somit generell das Risiko von Invasion und Metastasierung steigert ⁸⁶. VEGF wird beim Magenkarzinom in bis zu 54% der Fälle exzessiv exprimiert und korreliert mit einem erhöhten Risiko für eine Metastasierung in Lymphknoten und Leber ^{86,87} sowie für ein Rezidiv ⁶⁷. Erhöhte Serumspiegel von VEGF konnten signifikant mit einer schlechten Prognose assoziiert werden ⁸⁸. Folglich könnte VEGF zu einem Fortschreiten des Magenkarzinoms - wie auch schon für andere Tumorentitäten postuliert - beitragen. Insbesondere für den Subtyp VEGF-D und den korrespondierenden Rezeptor VEGFR-3 konnte in einer aktuellen Arbeit von Jüttner et al. der Status als unabhängiger prognostischer Marker dargestellt werden ⁸⁹.
- b) Der **Hepatozyten-Growth-Factor (HGF) bzw. Scatter Faktor (SF)** stimuliert Mitose und Zellmotilität (Metastasierung) von Epithelzellen und wird in 67% der untersuchten Magenkarzinome erhöht exprimiert ⁹⁰.
- c) Das **c-met Gen** ist ein Proto-Onkogen, welches den Protein-Tyrosin-Kinase-Rezeptor für HGF / SF codiert. Mutationen dieses Proto-Onkogens werden mit Neoplasien assoziiert. In 10,2 Prozent der Magenkarzinom-Patienten erfährt das c-met Gen eine Amplifikation und in 46,1 Prozent eine exzessive Expressierung. Diese Veränderungen korrelieren mit gesteigerter Tumortiefeninvasion, Lymphknotenbefall und verringerter Überlebensrate ⁹¹.
- d) Weitere Protoonkogene und Onkogene, für die eine Bedeutung bei der Karzinogenese des Adenokarzinoms des Magens dargestellt werden konnte, sind die **ras-Onkogene** ⁹², die Wachstumsfaktoren Fibroblast Growth Factor **FGF** ⁹³, Transforming Growth Factor **TGF** ⁹⁴,

Epidermal Growth Factor **EGF**⁹⁵ und das mit dem EGF-Rezeptor assoziierte **c-erbB2-Onkogen**⁹⁶, die korrespondierenden Rezeptoren sowie das **BCI-2-Protoonkogen**⁹⁷. Hinsichtlich der Metastasierung spielt offensichtlich die Expressierung von Plasminogen Aktivator Inhibitor (PAI-1) und Urokinase-ähnlichem Plasminogen Aktivator (**uPA**)⁹⁸, **Mucinen**⁹⁹, Matrix-Metallo-Proteasen **MMP**¹⁰⁰ und **Zelloberflächenmolekülen wie CD44**¹⁰¹ eine besondere Rolle.

Entzündungsmediator Cyclooxygenase 2

Bei Magenkarzinom-Patienten wurden erhöhte Serumspiegel der Cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA gefunden¹⁰². Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen COX-2 Expression und Lymphknotenbeteiligung¹⁰³. Im Tierversuch konnte durch Hemmung der COX-2 das Wachstum von Magenkarzinomtransplantaten in Labormäusen unterdrückt werden¹⁰⁴. Dies scheint durch eine weitere Studie bestätigt zu werden, nach der eine Aspirin-Einnahme durch unselektive COX-1- und COX-2-Hemmung das Risiko für Magenkarzinome senkt¹⁰⁵. Folglich liegt der Schluß nahe, dass eine exzessive Expressierung von COX-2 die Karzinogenese des Magenkarzinoms fördert¹⁰⁶.

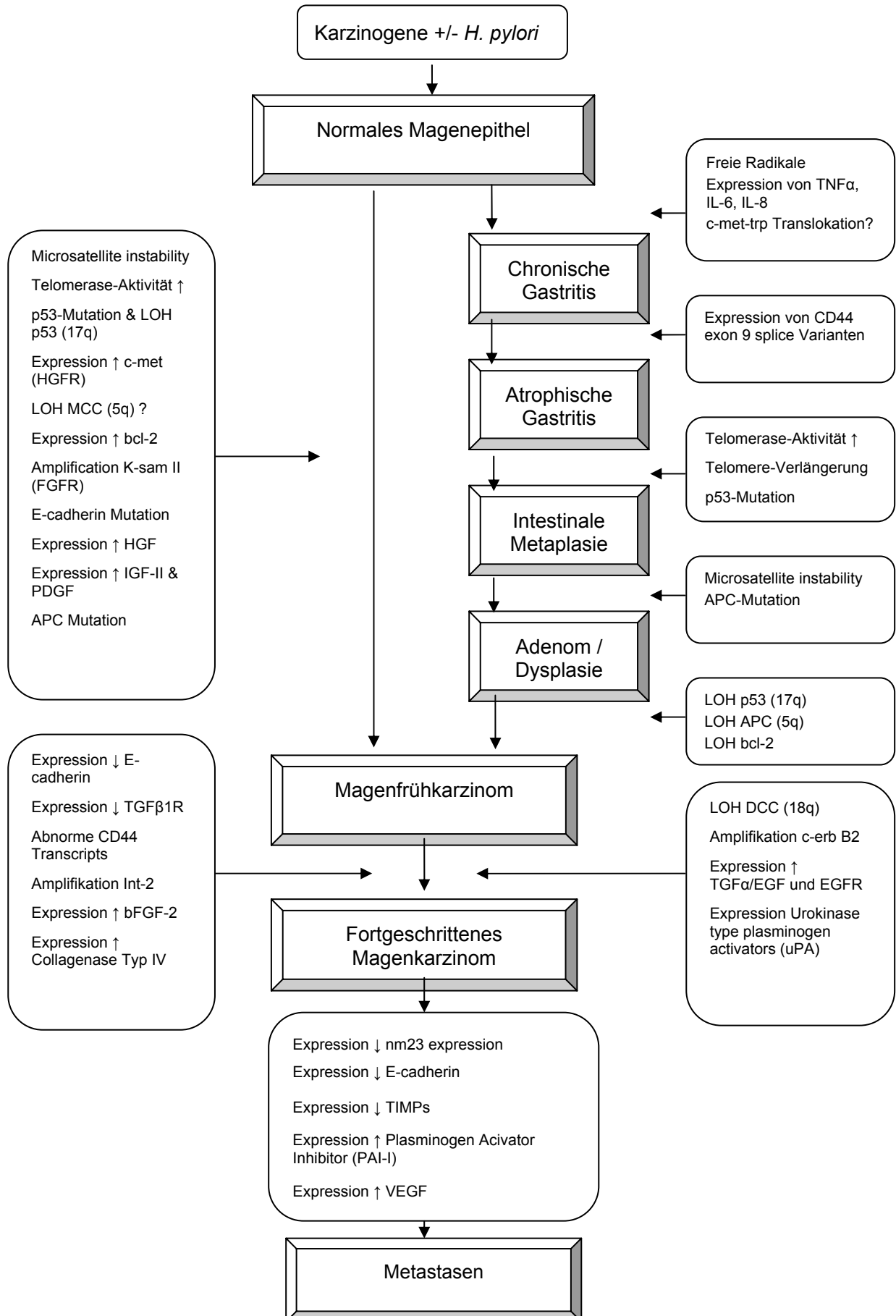


Abbildung 7: Flußdiagramm der genetischen und zellulären Veränderungen bei der Karzinogenese des Adenokarzinoms des Magens. Eine zeitliche Festlegung dieser Veränderungen ist nicht möglich, da diese Prozesse fortwährend im Verlauf der neoplastischen Transformation der Magenmukosa stattfinden ¹⁰⁷.

1.2.2.2 Keimzellmutationen

Die wissenschaftliche Erstbeschreibung von familiärer Häufung beim Magenkarzinom datiert von 1938 und bezieht sich auf Napoleon Bonaparte, der laut Autopsiebericht an einem Magenkarzinom litt, wie auch schon sein Vater, Großvater, Bruder und drei Schwestern ¹⁰⁸. Seither wurden weitere sogenannte Cluster-Familien auf allen Kontinenten beschrieben ¹⁰⁹. In Fall-Kontroll-Studien konnte gezeigt werden, dass Verwandte von Magenkarzinom-Patienten ein etwa dreifach erhöhtes Risiko gegenüber der Durchschnittsbevölkerung tragen, selbst an einem Magenkarzinom zu erkranken ¹¹⁰⁻¹¹². Eine positive Familienanamnese gilt als ein anerkannter Risikofaktor beim Adenokarzinom des Magens ¹¹³. Bei familiär vorbelasteten Magenkarzinom-Patienten kommt es überdurchschnittlich früh zur Tumormanifestation. Bei unter 40jährigen Patienten konnte von Mecklin und Kollegen eine hoch signifikante ($p < 0.001$) Korrelation zum Auftreten von Magenkarzinom in der Elterngeneration nachgewiesen werden ²⁷.

Das familiäre diffuse Magenkarzinom (HDGC)

Bei der Untersuchung von drei neuseeländischen Maori-Familien mit einer Häufung des Magenkarzinoms vom diffusen Subtyp nach Lauren fand sich eine Keimzellmutation von CDH1 auf Chromosom 16q22.1, welche autosomal dominant mit inkompletter Penetranz vererbt wurde ⁷⁴. Später wurde bei über 40 weiteren Familien diese Mutation nachgewiesen ^{11,113-126}. Somit wurden zunächst Keimzellmutationen des CDH-1/E-Cadherin Gens als Grundlage für das familiäre diffuse Magenkarzinom angesehen ¹²⁷⁻¹²⁹. Dabei ist zu erwähnen, dass immerhin zwei Dritteln der weltweit bekannten HDGC-Familien keine CDH1-Keimzellmutation aufweisen ^{11,130}. Von den 35 deutschen HDGC-

Patienten hatten lediglich 2 CDH1-Keimzellmutationen ¹²⁶. CDH1 codiert das Zell-Adhäsionsprotein E-cadherin. Die Down-Regulation von E-cadherin in sporadischen Magenkarzinomen wird mit schlechter Prognose assoziiert ^{11,76,77}. Das TP53-Tumorsuppressorgen – als molekulare Grundlage für das erbliche tumorpädisponierende LiFraumeni-Syndrom - könnte neben dem CDH1-Gen ebenfalls eine Rolle beim HDGC spielen ^{126,131-135}.

Das diffuse Adenokarzinom des Magens und Blutgruppe A

Eine bislang nicht verstandene Auffälligkeit beim Adenokarzinom des Magens, insbesondere auf den diffusen Subtyp bezogen, besteht darin, dass die Patienten überproportional häufig Träger der Blutgruppe A sind ²⁵.

1.2.3 Pathologie

Histologisch überwiegen im Magen Adenokarzinome mit einem Anteil von über 90 Prozent. Selten finden sich andere Formen wie Leiomyosarkome, Plattenepithelkarzinome, Gastrointestinale Stromatumore (GIST) und undifferenzierte Karzinome ¹³⁶. Die von der Magenmukosa ausgehenden MALT-Lymphome werden nicht zu den Magentumoren, sondern zu den Non-Hodgkin-Lymphomen gerechnet. Grundsätzlich werden die auf Mukosa und Submukosa begrenzten Magenfrühkarzinome von den fortgeschrittenen Adenokarzinomen des Magens unterschieden, die im Folgenden näher charakterisiert werden.

1.2.3.1 Lokalisation

Betrachtet man die Verteilung des Magenkarzinoms innerhalb des Magens, so ist die Lokalisation am häufigsten im proximalen (39%) und distalen (32%) Drittel. In 17% der Fälle wächst das Karzinom im mittleren Drittel und bei 12% der Patienten hat das Karzinom bei Diagnosestellung bereits den gesamten Magen befallen ¹³⁷.

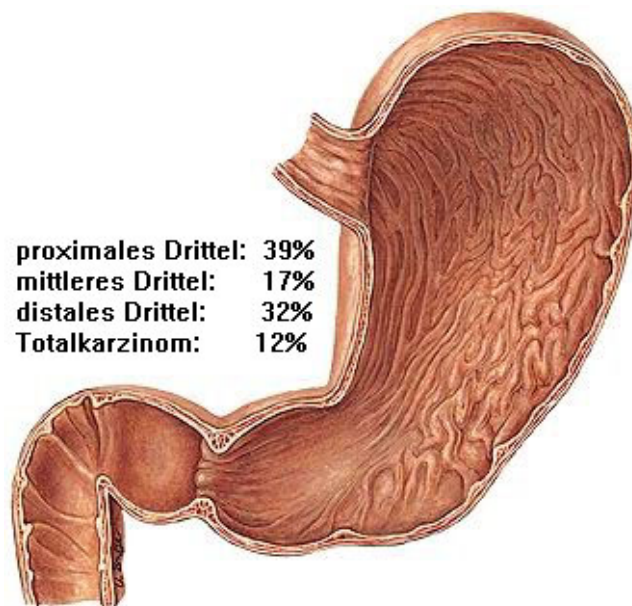


Abbildung 8: Lokale Verteilung des Magenkarzinoms nach Wanebo ¹³⁷ und Feldman ^{5,138}

Bei den in der Deutschen Magenkarzinom-Studie 1992 untersuchten Patienten fanden sich die Karzinome in 30% der Fälle im oberen, in 40% im mittleren und in 26% im unteren Magendrittel. Bei 5% handelte es sich um ein Totalkarzinom¹³⁹.

1.2.3.2 Stadieneinteilung (Staging)

Das Staging von Karzinomen im Allgemeinen basiert auf der Größe der Primärläsion, ihrer Tiefenausdehnung, dem Ausmaß des lokalen Lymphknotenbefalls sowie von Fernmetastasen. Gegenwärtig sind zwei Staging Systeme gebräuchlich: das TNM-System, welches von der Union Internationale Contre le Cancer (UICC) geprägt und das ähnliche System vom American Joint Committee (AJC) on Cancer Staging¹⁰. In der vorliegenden Arbeit soll nur die UICC-Klassifikation Verwendung finden. So erfolgt die Stadieneinteilung der Magenkarzinome auf Grundlage der TNM-Klassifikation maligner Tumoren der UICC von 1992, 1997 und 2002 (siehe Tabellen 2,3).

Tabelle 2: TNM-Klassifikation des Magenkarzinoms¹⁴⁰⁻¹⁴³

T1a	Der Tumor ist auf die Mukosa begrenzt, hat aber die Lamina propria invadiert.
T1b	Der Tumor reicht bis in die Submukosa.
T2a	Tumorausdehnung bis in die Muscularis propria.
T2b	Tumorausdehnung bis in die Subserosa.
T3	Der Tumor hat die Serosa durchbrochen.
T4	Der Tumor infiltriert Nachbarorgane.
N0	Kein Lymphknoten befallen.
N1	0 bis 6 Lymphknoten befallen.
N2	7 bis 15 Lymphknoten befallen.
N3	> 15 Lymphknoten befallen.
M0	Es liegt keine Fernmetastasierung vor.
M1	Es liegt eine Fernmetastasierung vor.

Tabelle 3: Stadieneinteilung des Magenkarzinoms ¹⁴⁰⁻¹⁴³

Stadium (UICC)	T	N	M
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium IA	T1	N0	M0
Stadium IB	T1	N1	M0
Stadium II	T2	N0	M0
	T1	N2	M0
	T2	N1	M0
Stadium IIIA	T3	N0	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
Stadium IIIB	T4	N0	M0
	T3	N2	M0
Stadium IV	T4	N1-3	M0
	T1-3	N3	M0
	Jedes T	Jedes N	M1

1.2.3.3 Grading

Das Grading eines Karzinoms wird histologisch anhand der Differenzierung der Tumorzellen festgelegt. Für jeden histologischen Typ eines Karzinoms existieren separate Grading-Systeme. In Abhängigkeit vom Tumor werden folgende Kriterien Kernpleomorphismus, Nekrose, zelluläre Invasion und Mitosezahl berücksichtigt ¹⁴⁴. Die Anzahl der Mitosen vermittelt einen Eindruck von der Aggressivität des Tumorwachstums. Generell werden Karzinome in die Klassen I bis IV eingeteilt, wobei die Dysplasie mit steigender Klasse zunimmt. Im Vergleich zum Staging hat das Grading bei Karzinomen einen vergleichsweise geringeren prognostischen Wert ¹⁰

1.2.4 Klassifikation

Das Magenkarzinom wird unter verschiedenen morphologischen Aspekten klassifiziert:

- Invasionstiefe
- Makroskopisches Wachstumsmuster
- Histologischer Subtyp

1.2.4.1 Invasionstiefe

Zweifelsfrei hat die Invasionstiefe letztendlich mit den größten Einfluß auf die klinische Entwicklung. Das Magenfrühkarzinom ist definiert als eine Läsion, die auf die Mukosa (T1a) und Submukosa (T1b) begrenzt ist, unabhängig von einer regionalen Lymphknotenmetastasierung. Es wurden Magenfrühkarzinome mit 10 cm Durchmesser beschrieben, die keinerlei Invasion der Muskelschicht zeigten. Das Magenfrühkarzinom ist kein Carcinoma in situ, da letzteres per Definition auf die Epithelschicht der Mukosa begrenzt ist. Das fortgeschrittene Adenokarzinom des Magens ist eine Neoplasie, die bereits die Muskelschicht infiltriert oder durchbrochen hat. Es ist davon auszugehen, dass jedes Adenokarzinom des Magens als Magenfrühkarzinom beginnt.

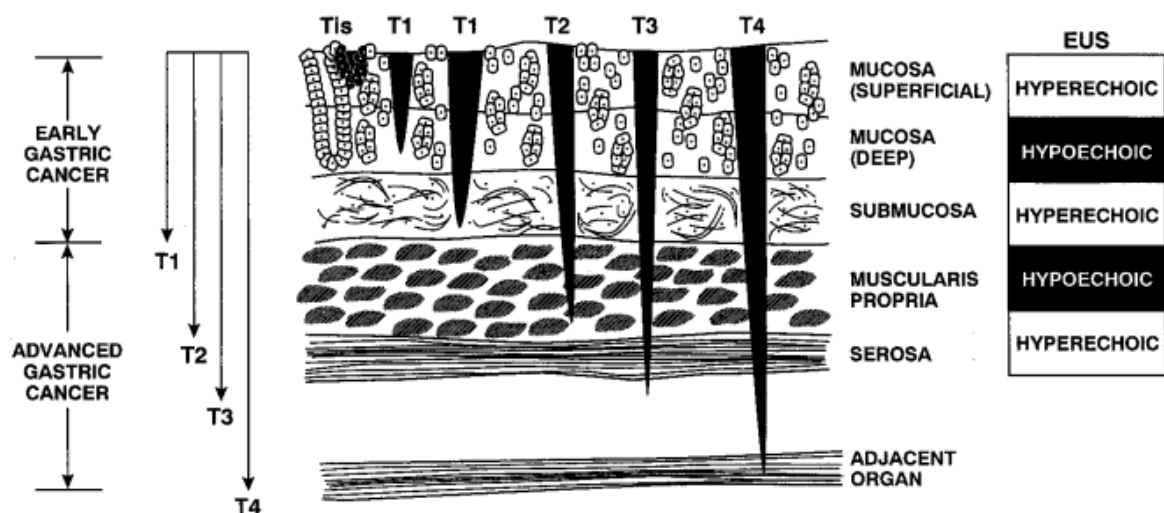


Abbildung 9: Graphische Darstellung der TNM-Klassifikation im Vergleich mit Endoskopischem Ultraschall (EUS) ⁵

1.2.4.2 Makroskopisches Wachstumsmuster

Beim Wachstumsmuster wird zwischen dem Magenfrühkarzinom und dem fortgeschrittenen Magenkarzinom unterschieden. Die dabei gebräuchlichsten Einteilungen sind für ersteres die Japanische Klassifikation ¹⁴⁵ und für letzteres die Borrmann-Klassifikation.

Tabelle 4: Japanische Klassifikation des Magenfrühkarzinoms


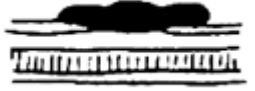
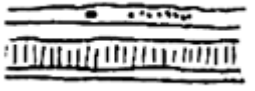






Typ	Beschreibung	
I		Exophytische Läsion
IIa		Erhabene Läsion
IIb		Flache Läsion
IIc		Eingesunkene Läsion
III		Ulzerierter Tumor

Tabelle 5: Borrmann-Klassifikation des Magenkarzinoms

Typ	Beschreibung	
Typ I		Zirkumskriptes, solitäres Karzinom ohne Ulzerationen
Typ II		Ulzeriertes Karzinom mit wallartigem Rand und scharfen Grenzen
Typ III		Ulzeriertes Karzinom ohne scharfe Abgrenzung zur Umgebung
Typ IV		Diffus infiltrierendes Karzinom

1.2.4.3 Histologische Subtypen

Für die histologischen Subtypen des Magenkarzinoms wurden aufgrund der hohen Variabilität von Epidemiologie, Morphologie, biologischem Verhalten und Genetik diverse Klassifikationen publiziert, wobei die Einteilung nach Laurén in zwei Subtypen: intestinaler Typ und diffuser Typ die häufigste Verwendung findet ¹⁴⁶. Aus epidemiologischer Sicht stellt sie zudem die sinnvollste Klassifikation dar.

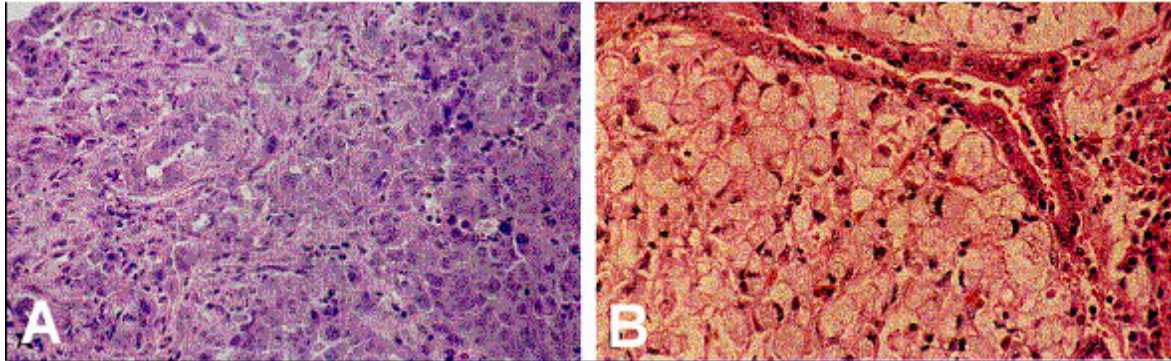


Abbildung 10: histologische Subtypen des Magenkarzinoms nach Laurén; A – Gering differenziertes Adenokarzinom vom intestinalen Typ; B – Diffuses Siegelringkarzinom mit einer benignen Drüse der Magenmukosa ¹⁰

Beim **intestinalen Subtyp** nach Lauren dominieren neoplastische intestinale Drüsen ähnlich derer beim Adenokarzinom des Kolons. Sie durchdringen die Magenwand, tendieren dabei jedoch zu kontinuierlichem kohäsivem Wachstum ¹⁴⁷. Die neoplastischen Zellen beinhalten oftmals apikale Mucin-Vakuolen. Auch intraluminal findet sich häufig Mucin.

Der intestinale Typ zeigt ein durchschnittliches Manifestationsalter von 55 Jahren und betrifft Männer doppelt so häufig wie Frauen. Der oben beschriebene Rückgang der Inzidenz in den letzten Dekaden gilt nur für den intestinalen Typ. Gegenwärtig ist die Inzidenz der intestinalen und diffusen Subtypen annähernd gleich. ¹⁰

Der **diffuse Subtyp** nach Lauren ist charakterisiert durch niedrig differenzierte, diskohäsive Zellen der Magenschleimhaut, die keine Drüsen bilden, sondern isoliert oder in kleinen Zell-Clustern verstreut in die gesamte Magenwand infiltrieren. Für die Entwicklung dieser Variante scheint eine intestinale Metaplasie keine Voraussetzung zu sein. Aufgrund der oft gesteigerten Mucinbildung, wird der Zellkern an den Rand gedrängt, so dass sich das typische Bild des Siegelringzellkarzinoms ergibt. In schwach differenzierten Tumorzellen des diffusen Subtyps kann das Mucin jedoch auch gänzlich fehlen.

Aufgrund des oft submukösen Wachstums und der schlechteren Abgrenzbarkeit ist ein größerer Sicherheitsabstand (> 8cm) bei der Resektion nötig.

Beim diffusen Typ beträgt das durchschnittliche Manifestationsalter 48 Jahre bei ausgeglichenem Geschlechterverhältnis. Die Inzidenzen dieses histologischen Subtyps des Magenkarzinoms sind weltweit etwa konstant¹⁴⁸. Die Prognose ist verglichen mit dem intestinalen Typ schlechter⁵.

1.3 Wachstum, Invasion und Metastasierung

1.3.1 Lokales Wachstum

In der Magenschleimhaut sind nur die in den Hälsen der Magendrüsen lokalisierten Stammzellen teilungsfähig. Die eine Hälfte der Tochterzellen entwickelt sich zu Stammzellen, die übrigen differenzieren sich entweder zu mukösen Zellen oder zu Beleg- und Hauptzellen mit entsprechender Migration lumenwärts bzw. in die Tiefe der Mukosa.

Im Rahmen chronisch entzündlicher Prozesse können sich proliferative Aktivität und Anzahl der Stammzellen steigern. Dabei werden terminal differenzierte Zellen zwar schneller produziert, aber auch schneller wieder abgestoßen: das physiologische Gleichgewicht zwischen Zellproduktion und Zelltod bleibt konstant.

Malignes Wachstum hingegen ist durch eine Störung dieser Balance gekennzeichnet, d.h. entweder entwickelt sich *mehr* als die Hälfte der Tochterzellen der Stammzellen wieder zu Stammzellen oder die Differenzierung ist beeinträchtigt. Diese Veränderungen, die die normale Reifung von Zellen zu terminal differenzierten, nicht teilungsfähigen Zellen verhindern oder die die Apoptose der differenzierten Zellen ausschalten, bilden die Grundlage für die maligne Entartung und Entstehung eines Magenkarzinoms¹⁰.

1.3.2 Infiltration benachbarter Strukturen

Magenkarzinome zeichnen sich durch ein aggressives Wachstumsverhalten aus. Bei lokal fortgeschrittenem Wachstum werden alle Wandschichten des

Magens durchsetzt, schließlich die Serosa durchbrochen und benachbarte Strukturen wie Querkolon, Mesokolon, Pankreas, Leber oder Dünndarm infiltriert. Die intramurale Ausbreitung erfolgt meist submukös. Hierbei kann es zur Infiltration des unteren Ösophagus oder des Duodenum kommen.

1.3.3 Ausbreitungswege und Fernmetastasierung

Bei malignen Tumorerkrankungen ist die Todesursache selten eine Folge lokalen Tumorwachstums, sondern besteht vielmehr in der Fernmetastasierung und resultierenden *functio laesa* lebenswichtiger Organe wie Leber, Lunge oder Gehirn. Bei einem Serosadurchbruch kommt es häufig zur peritonealen Aussaat von Tumorzellen. Grundlage für die systemische Ausbreitung von Tumorzellen ist die Invasion von Lymph- und Blutgefäßen sowie Nerven. Sie dienen als Invasionsrouten und stellen die Verbindung zum systemischen Kreislauf her. Voraussetzung der Metastasierung ist die Potenz der Tumorzellen zur Invasion intakter Gewebe. Im frühen Stadium ist ein Karzinom auf die Mukosa begrenzt. Wird die Basalmembran durchbrochen, breitet es sich zunächst lokal in die Lymph- und Blutgefäße führenden Gewebsschichten aus. Metastatische Zellen dringen in die Endothelschicht von Venolen ein und streuen in den Blutkreislauf. Der weitaus größte Teil dieser Zellen wird durch das Immunsystem und die in der Zirkulation herrschenden Scherkräfte eliminiert. Die restlichen Zellen können eventuell im Zielorgan in das Organparenchym einwandern, indem sie erneut Endothel und die subendotheliale Basalmembran invadieren. Durch Zellteilung bilden sich Mikro- und konsekutiv Makrometastasen ¹⁴⁹⁻¹⁵³.

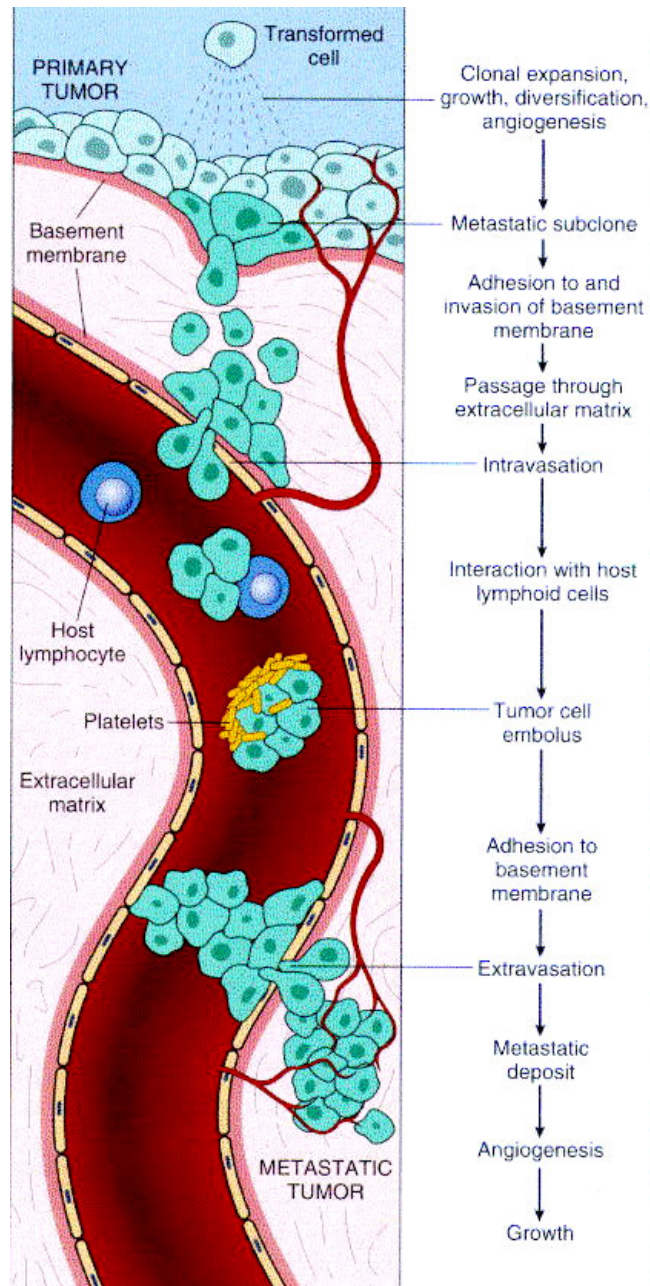


Abbildung 11: Schematische Darstellung des metastatischen Prozesses am Beispiel der hämatogenen Tumorausbreitung¹⁰

Beim fortgeschrittenen Magenkarzinom kommt es in bis zu 73% der Fälle zur Veneninvasion¹⁵⁴. Nach analogem Prinzip kommt es in über 80% der Magenkarzinome zu einer Lymphgefäßinvasion¹⁵⁵⁻¹⁵⁷. Eine perineurale Invasion tritt in 49%¹⁵⁷ auf. Nach der Deutschen Magenkarzinom-Studie 1993 zeigten schon bei Diagnosestellung 68% der Patienten regionäre

Lymphknotenmetastasen ¹³⁹. Ein Spätsymptom der klinischen Manifestation eines Magenkarzinoms stellt ein metastatischer Befall der “Virchow-Drüse” – eines linksseitigen supraclaviculären Lymphknotens – dar. Die histologischen Subtypen des Magenkarzinoms nach Laurén weisen die gleiche Häufigkeit des Lymphknotenbefalls auf ¹⁵⁸⁻¹⁶⁰. Hingegen metastasieren Karzinome vom intestinalen Typ nach Laurén vorwiegend hämatogen - v.a. in die Leber, während Karzinome vom diffusen Typ nach Laurén meist in das Peritoneum streuen.

Tabelle 6: Häufigkeit von Lebermetastasierung und peritonealer Aussaat in Abhängigkeit von Wachstumsmuster bzw. drüsiger Differenzierung (Autopsiematerial).

Lebermetastasierung		Peritonealkarzinose		Quelle
Diffuser Typ	Intestinaler Typ	Diffuser Typ	Intestinaler Typ	
30%	60%	47%	23%	158
20%	78%	81%	38%	159
27%	70%	80%	33%	160

1.4 Minimale Resterkrankung (Minimal Residual Disease)

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 wurden und keine Anzeichen einer systemischen Tumorstreuung zeigten, entwickelt trotzdem ein frühes Rezidiv ^{161,162}.

Es wird angenommen, dass eine der Ursachen für ein solches Tumorrezidiv im Vorliegen einer sogenannten Minimalen Resterkrankung oder auch „Minimal Residual Disease“ (MRD) besteht. Disseminierte Tumorzellen stellen die eigentliche MRD dar und sind definitionsgemäß von Mikrometastasen abzugrenzen ¹⁶³.

1.4.1 Abgrenzung Disseminierter Tumorzellen von Mikrometastasen

Schon im 19. Jahrhundert wurden im Blut zirkulierende Tumorzellen beschrieben ^{164,165}. Deren prognostische Relevanz wurde bereits zu Anfang des 20. Jahrhunderts diskutiert ¹⁶⁶. Seit den 40er Jahren des 20. Jahrhunderts erschienen zunehmend mehr Veröffentlichungen zu diesem Thema, wobei insbesondere die Arbeit von Christopherson et al. von 1965 ¹⁶⁷ hervorzuheben ist. Der Begriff „Micrometastasis“ wurde von vielen Autoren als Synonym für disseminierte Tumorzellen gebraucht. Da jedoch der Prozeß der Metastasierung wesentlich komplexer ist ^{168,169} und nur 0,05% der im Blut zirkulierenden Tumorzellen überleben und einen Metastasenherd bilden ¹⁷⁰, ist laut Hermanek ¹⁷¹ eine bewußte Abgrenzung der Termini „Isolated / Disseminated / Circulating Tumor Cells“ versus „Micrometastasis / Occult Metastasis“ angebracht, wie die folgende Tabelle darstellt.

Tabelle 7: Charakteristika von isolierten Tumorzellen vs. Mikrometastasen nach Hermanek ¹⁷¹

Charakteristika	Isolierte Tumorzellen	Mikrometastasen
Größe	Einzelne Tumorzellen oder kleine Cluster	≤ 2 mm im größten Durchmesser
Kontakt mit Gefäßen oder Lymphknoten	Nein	Ja
Extravasation (Invasion und Penetration von Gefäßen und Lymphknoten)	Nein	Ja
Stromareaktion extravaskulär / außerhalb des Lymphknotensinus	Nein	Gewöhnlich Ja
Tumorzellproliferation extravaskulär / außerhalb des Lymphknotensinus	Nein	Ja

Entsprechend kann eine Mikrometastasierung nur histologisch diagnostiziert werden, indem eine Implantation von Tumorzellen im Zielorgan anhand von Extravasation, Proliferation und zumeist einer Stromareaktion nachgewiesen wird.

Die folgende Tabelle zitiert einen Entwurf von Hermanek für die Integration dieser Erkenntnisse beim Tumorstaging im Sinne der TNM-Klassifikation der malignen Tumoren der UICC.

Tabelle 8: Vorschläge zur Klassifikation und Kodierung von isolierten Tumorzellen ¹⁷¹

Isolierte (disseminierte oder zirkulierende) Tumorzellen				
	Positive Befunde		Negative Befunde	
Regionäre Lymphknoten				
Morphologisch untersucht	pN0 (i+)	R0 (i+)	pN0 (i-)	R0 (i-)
Nicht-Morphologisch untersucht	pN0 (mol+)	R0 (mol+)	pN0 (mol-)	R0 (mol-)
Knochenmark				
Morphologisch untersucht	M0 (i+)	R0 (i+)	M0 (i-)	R0 (i-)
Nicht-Morphologisch untersucht	M0 (mol+)	R0 (mol+)	M0 (mol-)	R0 (mol-)
Blut und weitere periphere Lokalisationen	Analog Knochenmark unter Nennung der Lokalisation (z.B. M0 (i+, Leber) oder M0 (mol-, Blut)			

Offensichtlich können anhand der etablierten bildgebenden Routine-Untersuchungsmethoden zwar Makrometastasen, nicht aber die bereits präoperativ erfolgte okkulte systemische Tumordissemination erkannt werden. Deshalb wurde in jüngster Zeit intensiv nach Methoden gesucht, mit denen eine okkulte Metastasierung bei Karzinom-Patienten schon frühzeitig und zuverlässig diagnostiziert werden kann. Wie mehrere Studien zeigen konnten, beeinflusst der Nachweis von MRD in Form von epithelialen Tumorzellen die Prognose von Patienten mit einem Neuroblastom ¹⁷², Bronchialkarzinom ¹⁷³, Mammakarzinom ^{174 175}, Kolorektalen Karzinom ¹⁷⁶, Ösophaguskarzinom ¹⁷⁷, Pankreaskarzinom ¹⁷⁸, Prostatakarzinom ¹⁷⁹ wie auch mit einem Magenkarzinom ¹⁸⁰. Grundlage ist die Beobachtung, dass diese Epithelzellen in atypischen Lokalisationen nachgewiesen wurden wie beispielsweise in Lymphgefäßen und Lymphknoten ¹⁸¹⁻¹⁸⁵, Aszites ¹⁸⁶⁻¹⁸⁹, Blut ¹⁹⁰⁻²⁰⁰ wie auch in Knochenmark. Es wird angenommen, dass Epithelzellen im Knochenmark von

Patienten mit gastrointestinalen Tumoren eine Tumorzell dissemination anzeigen und das Knochenmark einen integralen Bestandteil des Kompartments der hämatogenen Tumordisseminierung ausmacht^{201,202}. Die tumorigene Eigenschaft solcher Zellen ist bereits in Tierexperimenten bewiesen worden^{203,204}.

Ob eine okkulte Dissemination von Tumorzellen bei Patienten mit einem Karzinom als Vorstadium einer klinisch manifesten Metastasenbildung betrachtet werden kann ist unklar. Auch inwiefern der Nachweis disseminierter Tumorzellen beim konventionellen Tumor Staging und der entsprechenden Therapie zu berücksichtigen wäre, ist derzeit noch nicht ausreichend erforscht.

1.4.2 Charakteristika disseminierter Tumorzellen

Die Hauptlokalisationen von disseminierten Tumorzellen sind Knochenmark, Blut, Lymphknoten und die Bauchhöhle. Nach gegenwärtiger Auffassung vertreten disseminierte Tumorzellen eine Population ruhender Krebszellen, die durch einen beachtlichen Grad der Heterogenität charakterisiert sind²⁰⁵. Histogenetisch gemeinsam ist den soliden Tumoren jedoch der epitheliale Ursprung. Folglich beruhen die meisten Detektionsmethoden auf der Identifizierung von epithelialen Zellen gegenüber nicht-epithelialen Zellen. Insofern werden beispielsweise bei der Untersuchung von Knochenmark und Lymphknoten auf Existenz disseminierter Zellen solider Tumoren derzeit überwiegend nicht tumorspezifische Zellen oder deren Genprodukte nachgewiesen, sondern stellvertretend epitheliale Zellen bzw. deren Genprodukte, die physiologisch weder in Lymphknoten noch im Knochenmark vorkommen und somit als eingewandert gelten²⁰⁶.

Durch die molekularbiologische Technik der Reverse Transkriptase Polymerase Kettenreaktion (RT-PCR) und insbesondere die single cell-PCR ist heute eine genaue Charakterisierung von disseminierten Tumorzellen möglich²⁰⁷. Es zeigt sich, dass sie weniger Proliferationsmarker wie CK 67 oder p120 als die Primariuszellen aufweisen und sich oft in der G0-Phase (dormancy) befinden²⁰⁸. Somit können sie sich einer systemischen Chemotherapie entziehen. Da

der HLA class I Rezeptor ebenfalls downreguliert ist, sind sie einer natürlichen immunologischen Zerstörung z.B. durch T-Lymphozyten deutlich weniger ausgesetzt. Charakteristisch ist eine geringere Expression von bestimmten Adhäsionsmolekülen wie z.B. das Pakoglobulin, was Ihre Emigrationsfähigkeit vom Primärtumor unterstreicht ^{205,207,209-212}. Ein Teil der disseminierten Tumorzellen exprimiert uPA, ICAM-1 und erbB2, was einerseits prognosebeeinflussend ist und andererseits Ansatzmöglichkeiten einer Therapie mit spezifischen Antikörpern (Herzeptin®, Edrecolomab®) eröffnet ²¹³⁻²¹⁸.

1.4.3 Nachweismethoden für Disseminierte Tumorzellen

Man differenziert morphologische von nicht-morphologischen Verfahren. Sie unterscheiden sich grundsätzlich durch beachtliche Unterschiede im positiven prädiktiven Wert - der Wahrscheinlichkeit, dass eine auf disseminierte Tumorzellen untersuchte Probe bei einem positiven Testergebnis tatsächlich positiv ist. Die morphologischen Verfahren, insbesondere die immunhistochemische Untersuchung (IHC), liefern wesentlich seltener falsch-positive Resultate verglichen mit nicht-morphologischen Verfahren wie der Durchfluß-Zytometrie bzw. Flow-Zytometrie (FC) oder der molekulargenetischen Technik der RT-PCR ²¹⁹⁻²²¹.

1.4.3.1 Immunhistochemie

Nachdem 1983 erstmals am Ludwig Institute und Royal Marsden Hospital von London ²²² erste Studienergebnisse zur immunhistochemischen Erkennung von okkulten Tumorzellen beim Mammakarzinom präsentiert wurden, folgten bald weitere Untersuchungen. So liegen heute bereits auch Veröffentlichungen zu vielen gastrointestinalen Tumorentitäten vor (siehe Tabelle 9).

Die Erkennung disseminierter okkultter Tumorzellen anhand immunhistochemischer Verfahren basiert auf der Fähigkeit von polyklonalen bzw. monoklonalen Antikörpern gegen epithel-spezifische Antigene, Zellen epithelialen Ursprungs von hämatopoetischen Zellen bzw. Stromazellen im Knochenmark oder in Lymphknoten mit hoher Spezifität und Sensitivität zu

unterscheiden. Die Sensitivität wird in der Literatur mit der Quote erkannte epitheliale Zellen zu hämatopoetischen Zellen je nach Autor zwischen 1 : 10⁵ und 2-5 : 10⁶ angegeben^{223,224}. Dabei ist keiner der bislang verwendeten Antikörper tumorspezifisch.

Tabelle 9: Nachweis von MRD bei gastrointestinalen Tumoren mittels immunhistochemischer und molekularer Marker-Methoden in verschiedenen Kompartimenten

Tumorentität	Kompartiment	Marker	Technik	Anzahl Patienten	Erkennungsrate (%)	Prognostischer Wert	Quelle
Kolorektalkarzinom	KM	CK18	IHC	88	32	multivariat DFS	176
	pvB	CK20	RT-PCR	65	65	-	225
	LK	CEA	RT-PCR	26	54	OS	226
	LK	CK20/CEA	RT-PCR	13	100	-	227
	LK	CK20	RT-PCR	16	88	-	194
	KM	CK20	RT-PCR	16	19	-	194
	pvB	CK20	RT-PCR	16	13	-	194
	LK	CK20/CEA	RT-PCR	51	61	-	228
	pvB	CK20/CEA	RT-PCR	52	31	OS	229
	pvB	CK20/CEA/vC-44	RT-PCR	41	46	OS	230
Magenkarzinom	KM	CK18	IHC	97	35	DFS	180
	KM	CK18	IHC	78	60	DFS	218
	LK	CK	IHC	34	24	OS	182
	KM	CK18	IHC	180	53	multivariat DFS	231
	LK	CK	IHC	75	15	OS	232
Ösophaguskarzinom	KM	CK	IHC	90	41	DFS, OS	233
	KM	CK	IHC	225	39	OS	234
	LK	BerEp4	IHC	68	62	OS	235
	LK	CK	IHC	41	32	OS	236
	LK	CEA	RT-PCR	30	41	-	237
	LK	BerEp4	IHC	126	71	OS	203
Pankreaskarzinom	LK	BerEp4	IHC	18	72	OS	238
	LK	K-ras	RT-PCR	25	68	-	239
	KM	CK	IHC	31	48	OS	240
	P	Cocktail	IHC	80	39	OS	241
	KM	Cocktail	IHC	80	38	-	241
DFS	Disease-Free Survival		P	Peritoneum			
OS	Overall Survival		KM	Knochenmark			
CK	Zytokeratin		LK	Lymphknoten			
			pvB	peripher-venöses Blut			
			IHC	Immunhistochemie			

1.4.3.2 Molekulare Methoden

Die am häufigsten zur Anwendung gelangende molekulare Methode zur Identifizierung okkult metastatischer Zellen ist die RT-PCR. Das Prinzip basiert auf der Unterscheidung von epithelialen und lymphoiden Zellen anhand von Markermolekülen, die zwar epithel-spezifisch, nicht jedoch tumorspezifisch sind. So wird in der Regel zunächst epithel-spezifische Boten-RNS (mRNA) isoliert, die per RT-PCR zu komplementärer DNS (cDNA) umgewandelt und anschließend amplifiziert wird. Entsprechend können selbst kleinste Mengen epithel-spezifischer mRNA nachgewiesen werden, was theoretisch eine sehr hohe Sensitivität der Methode gewährleistet, so dass eine einzelne epitheliale Zelle unter 10^6 bis 10^8 ²⁴²⁻²⁴⁷ normalen Zellen identifiziert werden kann. Gleichzeitig kann aber eine eventuelle geringfügige epitheliale Genexpression durch lymphoide Zellen oder durch eine Kontamination zu falsch-positiven Ergebnissen führen und somit die Spezifität verringern, welche mit mindestens 83% angegeben wurde ²⁴⁸. Die meisten Veröffentlichungen verweisen jedoch auf eine sehr hohe Spezifität bei konstant negativen Kontroll-Gruppen.

Letztlich fehlt bei molekularen Methoden das morphologische Substrat, um die Anwesenheit von Zellen epithelialen Ursprungs tatsächlich zu bestätigen. Der unbestrittene Vorteil besteht jedoch in dem hohen Automatisierungspotential dieser Methode.

1.4.3.3 Durchflußzytometrie

Ein drittes Verfahren zur Erkennung disseminierter Tumorzellen in Blut und Knochenmark basiert auf der Durchfluß- oder Flowzytometrie. Dies geschieht, indem in einer dünnen Kapillare Zellen einzeln hintereinander durch ein Laserlicht strömen, welches durch die jeweilige Zelle gestreut wird. Anhand dieser Lichtstreuung werden Granularität und Volumen der Zellen als morphologische Charakteristika gemessen. Nach definierbaren Kriterien können entsprechend bestimmte Zellen elektronisch aus einem Zellgemisch heraussortiert und identifiziert werden. Nach vorheriger Fluoreszenz-Markierung von bestimmten Oberflächenmolekülen der zu analysierenden Zellsuspension

mittels spezifischer Antikörper, senden die spezifisch gefärbten Zellen vom Laserlicht angeregt Lichtsignale aus. Somit können anhand der Durchflußzytometrie gleichzeitig morphologische und molekulare Parameter auf Einzelzellniveau gemessen werden.

Im Modellversuch von Groß et al. wird die Sensitivität als sehr hoch beschrieben mit der Quote von 1 positiven Zelle : 10^6 Blutzellen¹⁹⁰. Leslie et al.²⁴⁹ hingegen dokumentierten eine geringere Sensitivität von 1 positiven Zelle : 10^5 Blutzellen. Ähnlich wie bei den molekularen Methoden besteht eine Schwäche dieser Methode darin, dass die positiven Zellen keiner morphologischen Begutachtung zugänglich sind und somit ein falsch positives Ergebnis resultieren kann. Dieses Problem könnte jedoch durch eine Weiterentwicklung von zellsortierenden Technologien relativiert werden. Eine andere Problematik besteht darin, dass Gewebeproben nur als Zellsuspensionen zur Begutachtung verwendet werden können.

1.4.4 Disseminierte Tumorzellen beim Magenkarzinom

Disseminierte Tumorzellen beim Magenkarzinom erlangen via Blut- und Lymphgefäße eine systemische Ausbreitung und können v.a. in Peritonealhöhle, Lymphknoten, Blut und Knochenmark nachgewiesen werden. Die bisherige Studienlage zur prognostischen Wertigkeit dieser Befunde ist kontrovers.

1.4.4.1 Disseminierte Tumorzellen in der Peritonealhöhle

Bei einem Tumordurchbruch durch die Serosa können Tumorzellen in die Bauchhöhle gelangen. Die Häufigkeit freier Tumorzellen in der Peritonealhöhle wird von Bonenkamp et al.²⁵⁰ mit 12% angegeben. Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen Tumorinfiltrationstiefe, freien Tumorzellen in der Bauchhöhle und dem Auftreten einer Peritonealkarzinose¹⁸⁸. Der Nachweis freier Tumorzellen in der Abdominallavage hat entscheidenden Einfluß auf die Prognose²⁵¹.

1.4.4.2 Disseminierte Tumorzellen in Lymphknoten

Offensichtlich nimmt mit fortschreitender Tiefeninfiltration (T) auch die Häufigkeit der lymphnodalen (N) und Fernmetastasierung (M) zu, wobei der Lymphknotenmetastasierung innerhalb der TNM-Klassifikation größte prognostische Wertigkeit zukommt ²⁵². Bei der Betrachtung des Lymphknotenstatus ist das Verhältnis von befallenen zu resezierten Lymphknoten von Bedeutung. Ist diese Lymphknoten-Ratio größer 0,2 – d.h. mehr als 20% der entnommenen Lymphknoten sind befallen - beträgt das mediane Überleben weniger als 15 Monate ²⁵³. Im Falle von Tumorbefall der regionären Lymphknoten ist auch deren Distanz zum Primärtumor prognostisch relevant ²⁵⁴.

Werden immunhistochemische Methoden (Zytokeratin-Antikörper) bei primär mit H&E-Färbung als negativ klassifizierten Lymphknoten eingesetzt, so zeigt sich in bis zu 30% ein Microinvolvement der Lymphknoten, was sich in diesen Untersuchungen auch als deutlicher prognostisch relevanter Parameter erwies ^{181,255,256 182,257}. Aber auch beim Magenfrühkarzinom mit einem geringen Befall der Lymphknoten zeigt eine Immunhistologische Untersuchung oft drei mal soviel Patienten mit einem microinvolvement ^{258,259}. So wäre auch erklärbar, warum Patienten mit vermeintlich kleinem oder keinem Befall der Lymphknoten einen Vorteil durch eine D2-Lymphadenektomie erfahren ²⁶⁰.

Einige Studien ^{256,257,261-263} legen eine Bedeutung als unabhängiger prognostischer Parameter nahe, während in einer Arbeit von Gunven et al. ²⁶⁴ keine Beeinflussung der Überlebensraten nach 5 und 8 Jahren bei Patienten mit ausschließlich Lymphknotenmikrometastasen bestätigt werden konnte. Richtungsweisend könnte in dieser Kontroverse die Differenzierung von Mikrometastasen und Microinvolvement ^{236,257} sein.

1.4.4.3 Disseminierte Tumorzellen im Blut

Ein Tumorzellnachweis mittels CK20-RT-PCR gelang in 17%-60% der untersuchten Magenkarzinom-Patienten ^{192,196,265-267}. Es konnte keine Stadienabhängigkeit gezeigt werden. Verschiedene Arbeitsgruppen wiesen

disseminierte Tumorzellen über einen CEA Antikörper nach ²⁶⁸⁻²⁷⁰. Miyazono et al. untersuchten mit der gleichen Methode die Tumorzell dissemination vor und nach Magenoperationen und konnte signifikant mehr CEA-mRNA-positive Patienten nach der chirurgischen Manipulation zeigen ²⁷¹. Auch hatten diese Patienten signifikant mehr Rezidive und insbesondere mehr Lebermetastasen. Relativiert werden die Ergebnisse durch die Tatsache, dass CEA kein spezifischer Marker ist und auch bei Gesunden vorkommen kann ²⁷².

1.4.4.4 Disseminierte Tumorzellen im Knochenmark

Die Erkennungsraten für diese Zellen im Knochenmark von Magenkarzinompatienten unter Verwendung der Immunhistochemie (IHC) zum Zeitpunkt der primär kurativen Operation liegen je nach Studie zwischen 15% und 88% (siehe folgende Tabelle).

Tabelle 10: Erkennungsraten, klinische und prognostische Relevanz disseminierter Tumorzellen im Knochenmark von Magenkarzinom-Patienten. Literaturübersicht von Studien unter Verwendung von immunzytochemischen Verfahren.

Autor / Jahr	Antikörper	Erkennungsrate (%)	Korrelation	Prognose	Patienten (n)	Nachbeobachtungszeit (Monate)	Kontroll-Gruppe (n)
Schlimok et al. 1991 ¹⁸⁰	CK-18	35%	pN, Lauren	DFS (UV)	97	25	75
Juhl et al. 1994 ¹⁷⁸	CEA, CA19.9 KL-1, 17-1A, C1P83, C54-0, Ra96	25%	UICC	n. s.	36	k.A.	43
O'Sullivan 1995 ²⁷³	CK18	27%	Keine	n.d.	37	k.A.	Keine
Maehara et al. 1996 ²⁷⁴	CK-18, p53, RB, MIB-1	33%	Grading, pT	n. u.	46	k.A.	Keine
Jauch et al. 1996 ²³¹	CK-18	53%	Borrmann, pT	DFS (pT1/2, MV) OS	180	31	46
Broll et al. 1996 ²⁷⁵	CK-18, CEA, KL-1, 17-1A	47%-76%	pM, UICC	n. u.	20	12.5	Keine
Funke et al. 1996 ²⁷⁶	CK-18, E-Cadherin	44%	Keine	n. u.	102	k.A.	Keine
Heiss et al. 1997 ²⁷⁷	CK-18, u-PAR	53%	pT, u-PAR	DFS (MV) (PAI-1+), (T1/2, NO),	180	44	Keine
Allgayer et al. 1997 ²⁷⁸	CK-18, u-PAR	60%	pT	DFS	78	k.A.	Keine
Maehara et al. 1998 ²⁷⁹	CK18, CD31	20%	Microvessel density	n. u.	45	k.A.	Keine
Schott et al. 1998 ¹⁸⁶	KL-1, CEA, Ra96, C1P83, CA19.9, 17-1A	48%	Keine	n. s.	62	48	58
O'Sullivan et al. 1999 ²⁸⁰	CK 18	15%/88 %	Keine	n. s.	50 (31)	k.A.	23
Kakeji et al. 1999 ²⁸¹	CK18, CAM 5.2, VEGF	21%	pT, pM (perit/liver) VEGF	n. s.	106	k.A.	Keine
Bonavina et al. 2001 ²⁸²	AE1, AE3	8%/79 %	Keine	n. s.	29	8	5
Heiss et al. 2002 ²⁸³	CK18, u-PAR	62%	pT, u-PAR, PAI-1	OS (u-PAR+) DFS (u-PAR+) (MV)	156	34	Keine
De Manzoni et al. 2002 ²⁸⁴	CAM5.2	29%	Keine	n. s.	114	30	31
Macadam et al. 2003 ²⁸⁵	Ber-EP4	36.5%	Keine	DFS, (MV)	74	14	14
Matsunami et al. 2003 ²⁸⁶	Ber-EP4, erbB-2, VEGF	30%	pT, pN	n. u.	53	17.5	Keine
Jonas et al. 2004 ²⁸⁷	KL-1, CEA	31%	Keine	DFS	26	k.A.	20

DFS: Tumorfreies Überleben / disease free survival
 OS: Gesamtüberleben / overall survival
 UV: univariat
 MV: multivariat

k. A.: keine Angaben
 n. u.: nicht untersucht
 n. s.: nicht signifikant

Allerdings bleibt der Einfluß des Knochenmarksbefundes auf die Prognose weiterhin Gegenstand kontroverser Diskussion.

Eine Arbeit von Heiss et al.²⁷⁷ korrelierte das Auftreten CK-positiver Zellen im Knochenmark mit einer erhöhten Rezidivwahrscheinlichkeit und schlechteren Prognose und erhärtete somit frühere Aussagen von Jauch et al.²³¹ mit Bezug auf T1- und T2-Karzinome sowie für Karzinome vom intestinalen Wachstumstyp nach Laurén.

Neben dem Vorhandensein (Quantität) von disseminierten Tumorzellen im Knochenmark könnte auch deren Qualität eine wichtige Rolle spielen^{231,277}.

Eine Metaanalyse von Funke et al.²⁸⁸ hingegen konnte keine unabhängige prognostische Relevanz von CK-positiven Zellen im Knochenmark bestätigen.

1998 veröffentlichten Maehara et al.²⁷⁹ eine Arbeit zum Magenfrühkarzinom, nach der ein Zusammenhang zwischen disseminierten Tumorzellen im Knochenmark und einer erhöhten intratumoralen Kapillardichte besteht als Hinweis auf das metastastische Streupotential des Primärtumors. Für solide Tumoren im allgemeinen^{289,290} wie auch für das Magenkarzinom im Besonderen²⁹¹ konnte die Tumolvaskularisation mit Metastasierung und Prognose korreliert werden.

In einer 2002 veröffentlichten Studie von De Manzoni et al.²⁸⁴ wurde die prognostische Bedeutung CK-positiver Zellen im Knochenmark beim Magenkarzinom negiert. Grundlage war die Knochenmarksuntersuchung von 114 Patienten mittels immunzytochemischen Markern für Zytokeratin 8 und 19. Positive Knochenmarksbefunde fanden sich bei 33 (29%) der Patienten. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Anwesenheit CK-positiver Zellen im Knochenmark und Tumorlokalisation, regionaler Tumorausdehnung, Lymphknotenmetastasierung und Fernmetastasierung konnte nicht etabliert werden. Patienten mit positivem Knochenmarksbefund hatten häufiger ein Magenkarzinom vom diffusen Subtyp nach Lauren (P=0.06). Die mittlere Überlebensdauer nach kurativer R0-Resektion (n=88) betrug bei Patienten mit

positivem KM-Befund 36 Monate und bei negativem KM-Befund 40 Monate ($P=0.9$). Ein Tumorrezidiv erlitten 44,3% der Fälle - 11 von 24 (45.8%) unter der Patientengruppe mit positivem KM-Befund und 28 von 64 (43.7%) in der Patientengruppe mit negativem KM-Befund. Es wurde gefolgert, dass disseminierte Tumorzellen im Knochenmark nicht die Prognose nach kurativer Resektion eines Magenkarzinoms als unabhängiger Faktor beeinflussen.

2003 verwiesen Macadam et al. wiederum auf das verkürzte tumorfreie Überleben von Magenkarzinompatienten mit positivem Knochenmarksbefund verglichen mit Patienten ohne disseminierte Tumorzellen im Knochenmark²⁸⁵. Jonas et al. veröffentlichten 2004 eine Studie, nach der bei Magenkarzinompatienten in den Stadien T1 und T2 bei Nachweis disseminierter Tumorzellen im Knochenmark trotz potentiell kurativer Resektion des Primärtumors das Gesamtüberleben signifikant verkürzt war²⁸⁷. Die widersprüchlichen Aussagen in der Literatur könnten auf unzureichend lange Nachbeobachtungszeiträume, unterschiedliche Nachweismethoden sowie unterschiedliche und zu kleine Patientengruppen zurückzuführen sein.

In den gezeigten Studien waren die Patientenzahlen teilweise deutlich unter 100, die Nachbeobachtungszeiten nicht angegeben oder teilweise zu kurz, um valide prognostische Aussagen zu machen. Auch waren die Patienten oft unterschiedlich behandelt worden, was den Einfluß von CK-positiven Zellen im Knochenmark verfälschen könnte. Unser Anliegen war es deshalb, bei einer ausreichend hohen Patientenzahl eine Knochenmarksuntersuchung vorzunehmen und bei R0-resezierten Patienten mit einer ausreichend langen Nachbeobachtungsdauer valide Aussagen zur prognostischen Bedeutung CK-positiver Zellen im Knochenmark zu treffen.