

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie
am Biederstein
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. J. Ring)

**Vergleich der Tumormarker S-100B und MIA bei Patienten mit
Malignem Melanom in der Tumornachsorge
in Abhängigkeit von der Tumorlast**

Annick Stefanie Kathleen Höhn

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. R. Hein

2. Univ.-Prof. Dr. M. W. Ollert

Die Dissertation wurde am 08.07.2010 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin
am 22.09.2010 angenommen.

Gliederung

Verzeichnis der Abkürzungen	S.5
1. Einleitung	S.7
1.1. Epidemiologie	S.7
1.2. Risikofaktoren	S.7
1.2.1. Familiäres Melanom: ursächliche Gene	S.8
1.2.2. Weitere Risikofaktoren	S.9
1.3. Pathophysiologie des Melanoms	S.9
1.4. Klinische und genetische Heterogenität der Melanomenstehung	S.10
1.5. Diagnose und Staging	S.11
1.5.1. ABCDE-Formel	S.11
1.5.2. TNM-Klassifikation	S.13
1.5.3. Stadieneinteilung nach AJCC	S.14
1.6. Therapie	S.15
1.6.1. Operative Therapie	S.15
1.6.2. Sentinel-Lymphknoten-Biopsie	S.15
1.6.3. Adjuvante Therapie	S.16
1.6.4. Strahlentherapie	S.16
1.6.5. Palliative Therapie	S.16
1.7. Tumornachsorge	S.17
1.8. Tumormarker	S.17
1.9. S-100 Protein-Familie	S.18
1.10. Melanoma inhibitory activity (MIA)	S.18
1.11. Fragestellung	S.19
2. Material und Methoden	S.20
2.1. Bestimmung von S-100B bis 2004	S.20
2.2. Bestimmung von S-100B ab 2004	S.20
2.3. Bestimmung von MIA	S.22
2.4. Grenzwerte (Cut off)	S.23
2.5. Datenerhebung	S.23

2.6. Auswahl des Patientenkollektivs	S.26
2.7. Dokumentation	S.26
2.7.1. Excel-Tabellen	S.26
2.7.2. Dokumentation der Daten aus den Krankenakten	S.27
2.7.3. Definition der „falsch positiven“ Werte anhand der Vierfeldertafel	S.27
3. Ergebnisteil	S.28
3.1. Auswertung aller Daten	S.28
3.2. Verhalten der Tumormarker	S.30
3.3. Korrelation von S-100B und MIA	S.31
3.4. Patientenkollektiv mit divergierenden Werten	S.32
3.5. Sensitivitäts- und Spezifitätsberechnungen	S.35
3.6. Patienten ohne Tumorlast	S.36
3.7. Patienten mit Tumorlast	S.38
3.8. Auswahl von Tumormarker-Verläufen einzelner Patienten	S.40
4. Diskussion	S.44
4.1. Ursachen für Variabilität der Tumormarker	S.44
4.1.1. Fehlbestimmung/Fehldokumentation	S.44
4.1.2. Robustheit der Testmethoden	S.45
4.1.3. Grenzwerte	S.45
4.1.4. Expression durch Nicht-Melanomzellen	S.46
4.1.4.1. S-100B	S.46
4.1.4.2. MIA	S.46
4.1.5. Weitere Ursachen für Variabilität der Tumormarker	S.47
4.2. Sind S-100B und MIA geeignet als Tumormarker des MM?	S.48
4.2.1. S-100B	S.48
4.2.2. MIA	S.50
4.3. Vergleiche zu weiteren Markern/Testmethoden in der Melanomnachsorge	S.51
4.4. Aussagen über Sensitivität und Spezifität	S.53
5. Zusammenfassung	S.54

Abbildungen und Tabellen	S.56
Literaturverzeichnis	S.57
Anhang	S.65
Poster-Präsentation 3. Deutscher Hautkrebskongress und 17. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Onkologie (ADO)	S.66
Danksagung	S.67

Verzeichnis der Abkürzungen

• Abb.	Abbildung
• AJCC	American Joint Committee on Cancer
• ALM	Akrolentiginöses Melanom
• AMM	Amelanotisches Melanom
• AP	Alkalische Phosphatase
• BRAF	B-Raf proto-oncogene serine/threonine-protein kinase
• BRCA1	Breast Cancer 1
• bzw.	beziehungsweise
• °C	Grad Celsius
• CDK4	Cyclin-dependent kinase 4
• CDKN2A	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A
• CEA	Carcino Embryonales Antigen
• CI	Konfidenzintervall
• CL	Clark Level
• CT	Computertomographie
• CCND1	Cyclin D1
• DNA	Desoxyribonukleinsäure
• ECLIA	ElectroChemoLuminescence Immunoassay
• ED	Erstdiagnose
• ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
• et. al.	et alii
• FDG-PET	Fluordesoxyglucose Positronenemissionstomographie
• ggf.	gegebenenfalls
• GGT	Gamma-Glutamyltransferase
• GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
• GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
• i.d.R.	in der Regel
• IFN	Interferon
• JDDG	Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft
• kD	kilo Dalton
• LDH	Laktatdehydrogenase
• LK	Lymphknoten
• LMM	Lentigo Maligna Melanom
• m	männlich
• ME	Metastase
• MIA	Melanoma Inhibitory Activity
• ml	Milliliter
• MM	Malignes Melanom
• MRT	Magnetresonanztomographie
• MW	Mittelwert
• n	number (Anzahl)
• NE	Nachexzision
• ng	nanogramm
• NMM	Noduläres Malignes Melanom
• Nr.	Nummer
• NRAS	neuroblastoma RAS viral oncogen homology
• OPN	Osteopontin
• Pat.	Patienten bzw. Patient

• PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
• PE	Probeexzision
• PET	Positronen-Emissions-Tomographie
• pg	Pikogramm
• PSA	Prostata spezifisches Antigen
• RLU	Relative Light Units
• RNA	Ribonukleinsäure
• RT-PCR	Reverse Transkriptase Polymerasekettenreaktion
• s.	siehe
• S-100B	S-100 Beta
• SA	Standardabweichung
• SLND	Sentinel Lymph Node Dissektion
• SSM	Superficial Spreading Melanoma (Oberflächlich spreitendes Melanom)
• SSW	Schwangerschaftswoche
• Tab.	Tabelle
• TD	Tumordicke
• TNM	Tumor, Nodus (Lymphknoten), Metastase
• TU	Tumor
• TU München	Technische Universität München
• u.a.	unter anderen bzw. unter anderem
• UV-Strahlung	Ultraviolette Strahlung
• w	weiblich
• z.B.	zum Beispiel
• ZNS	Zentrales Nervensystem
• z.T.	zum Teil

1. Einleitung

1.1. Epidemiologie

Die Inzidenz des Malignen Melanoms nimmt weltweit zu, betroffen sind insbesondere die weisse Bevölkerung der westlichen Industriestaaten und Australiens. In den USA wurde eine Zunahme der Inzidenz von 3,1% pro Jahr beschrieben (Linos et al, 2009). Unter den häufigsten Tumoren nahm das Melanom nach Daten aus dem Jahr 2005 bei Männern die 5. und bei Frauen die 7. Stelle ein (Rager et al, 2005). In den USA wurden nach Angaben des Nationalen Krebsinstitutes für das Jahr 2008 62.480 Neuerkrankungen und 8.420 Todesfälle am malignen Melanom erwartet.

In Mitteleuropa beläuft sich die Erkrankungsrate auf 14-16 pro 100.000 Einwohner, in den USA auf 10-25 pro 100.000 Einwohner mit höheren Raten bei den Männern (Robert-Koch-Institut 2010, Garbe et al 2008). Die höchste Erkrankungsrate findet sich in Australien, insbesondere in Regionen mit hoher Sonneneinstrahlung, mit über 50 Erkrankten pro 100.000 Einwohner. Bei Asiaten und Schwarzen, Menschen mit höherer Pigmentierung der Haut, ist die Erkrankungsrate deutlich niedriger und beschränkt sich zumeist auf akrolentiginöse Melanome und Schleimhautmelanome (Garbe et al 2008).

Obwohl das maligne Melanom bei Kindern und Jugendlichen unter 20 Jahren mit 1.3% ein seltener Tumor ist (Pappo, 2003), tritt das Melanom dennoch etwas früher auf als die typischen „Alters“-Tumoren des Menschen. Das Durchschnittsalter bei der Erstdiagnose liegt bei 57 Jahren, die durchschnittliche Lebenserwartung von Melanompatienten bei 67 Jahren (Rager et al, 2005).

1.2. Risikofaktoren

Unter den Risikofaktoren, welche die Entstehung eines malignen Melanoms begünstigen, sind zwei Faktoren von besonderer Bedeutung: die Exposition gegenüber UV-Strahlung, sowie die genetische Disposition. Hinsichtlich der UV-Strahlung zählen intermittierende Expositionen und Sonnenbrände insbesondere in Kindheit und Jugend zu den Risikofaktoren, während eine konstant hohe

Sonnenlichtexposition (z. B. von Landwirten und Seeleuten) eher protektiv wirkt (Gandini et al, 2005a). Die Haut vergisst offenbar sonnenlichtinduzierte Schädigung nicht, denn die Melanom-Mortalität nimmt als Funktion des Lebensalters zu (Gass und Bopp, 2005). In Populationsstudien weisen 5-13% der Betroffenen zumindest ein weiteres betroffenes Familienmitglied auf (Ford et al, 1995; Begg et al, 2004). Die Mehrzahl der familiären Melanomfälle zeigt kein mit einem monogenen Erbgang kompatibles Vererbungsmuster, so dass ein überwiegend polygener bzw. multifaktorieller Erbmodus angenommen wird (Aitken et al, 1994; 1998).

1.2.1. Familiäres Melanom: ursächliche Gene

Es gibt jedoch eine Reihe von Melanom-Familien, in denen das Vererbungsmuster einen autosomal dominanten Erbgang mit variabler Penetranz suggeriert. In der Tat wurden in einigen dieser Familien Keimbahnmutationen in Genen gefunden, deren Funktionsbeeinträchtigung in ursächlichen Zusammenhang mit der Melanom-Entstehung gebracht werden konnte (de Snoo et Hayward, 2005).

Zu diesen Genen zählen CDKN2A (Genort: Chromosom 9p21), der Zyklin-abhängige Kinase-Inhibitor 2A. CDKN2A kodiert für zwei verschiedene Proteine, das Protein p16INK4A und das Protein p14ARF. Beide sind Tumorsuppressor-Proteine die eine wichtige Rolle in der Regulation des Zellzyklus spielen (de Snoo et Hayward, 2005). Ein zweites Gen, bei dem Keimbahnmutationen in Melanom-Familien gefunden wurden, ist das CDK4-Gen auf Chromosom 12q14, dessen Genprodukt eng mit dem p16INK4a Genprodukt in der Regulation des Zellzyklus zusammenarbeitet.

Im Vergleich zu anderen Tumor-Dispositionsgenen wie z.B. BRCA1, dessen Mutationsträger ein 80%iges Lebenszeitrisiko für Brust- und Eierstockkrebs haben, gehen Mutationen in den Melanom-Genen CDKN2A und CDK4 mit relativ niedrigen Lebenszeitrisiken einher. So verdoppelt sich für Mutationsträger das Erkrankungsrisiko von lediglich 14% im Alter von 50 Jahren auf 28% im Alter von 80 Jahren (Begg et al, 2005).

Genom-Scan Analysen in Melanomfamilien haben Hinweise auf weitere Genorte ergeben, an denen ursächliche Gene zu vermuten sind, bisher jedoch nicht identifiziert werden konnten (z.B. Chromosom 1p22, Walker et al, 2004; Chromosom 9q21.32, Jönsson et al, 2005). Eine genetisch bedingte Melanom-Disposition sollte

überdies in Betracht gezogen werden, wenn in der Familie eines Betroffenen Verwandte mit Pankreaskarzinom, Uvea-Melanom oder Tumoren des ZNS aufgetreten sind (de Snoo et Hayward, 2005).

1.2.2. Weitere Risikofaktoren

Neben den unzweifelhaften Risikofaktoren UV-Strahlung und Genetik gibt es eine Vielzahl weiterer Risikofaktoren, deren Bedeutung in einer Reihe von Metaanalysen untersucht wurde (Gandini et al, 2005a, b, c). So wurde z.B. eine hohe Zahl von angeborenen Naevi, und insbesondere atypischen Naevi, mit einem erhöhten Melanom-Risiko korreliert (Gandini et al, 2005a). Darüberhinaus wurden Studien über den Zusammenhang zwischen Melanom und phänotypischen Merkmalen wie Hautpigmentierung, Hauttyp, Haarfarbe, Augenfarbe, das Vorhandensein von Lentigines, Hautreaktionen auf Sonnenlicht, Photoschädigungsrate der Haut, Aktinische Keratosen, etc. einer Metaanalyse unterzogen (Gandini et al, 2005c). Aus diesen Studien geht unzweifelhaft hervor, dass gering pigmentierte Haut vom Hauttyp I zusammen mit Rothaarigkeit und photogeschädigter Haut das Melanom-Risiko deutlich erhöhen. Diese Hoch-Risiko Phänotypen werden u.a. durch genetische Variation im Melanokortin-1 Rezeptor Gen bestimmt (Gibbs et al, 2002).

1.3. Pathophysiologie des Melanoms

Die von der Neuralleiste stammenden Melanozyten finden sich postnatal unterhalb der epidermalen Basalmembran, wo sie mit Hilfe ihrer dendritischen Ausläufer multiple Kontakte zu den Keratinozyten etablieren, die ihr Wachstum kontrollieren. Die meisten Melanome der Haut entstehen innerhalb der Epidermis und brechen im weiteren Verlauf durch die Basalmembran in die Subkutis ein. Bisher sind 5 hauptsächliche Mechanismen bekannt, mit deren Hilfe sich die Melanozyten der Kontrolle durch die Keratinozyten entziehen und damit zu Melanomzellen werden (Haass and Herlyn, 2005): (1) Herunterregulierung von Rezeptoren für die Kommunikation mit den Keratinozyten wie z.B. E-Kadherin, P-Kadherin und Desmoglein, (2) Hochregulierung von Rezeptoren wie N-Kadherin, Mel-CAM, und Zonula occludens Proteinen, (3) Deregulierung von Morphogenen wie Notch-

Rezeptoren und entsprechenden Liganden, (4) Verlust der Verankerung in der Basalmembran aufgrund veränderter Expression von Zell und Matrix Adhäsionsmolekülen, (5) Erhöhte Expression von Metalloproteinasen zur Invasion und Beweglichkeit innerhalb der extrazellulären Matrix.

Gupta et al (2005) konnten mit Hilfe von Transfektionsexperimenten nachweisen, dass die Fähigkeit zur Metastasierung eine Melanozyten-spezifische Eigenschaft ist, über die andere Hautzellen wie z.B. Fibroblasten oder Keratinozyten offenbar nicht verfügen.

Der klinische Verlauf der häufigsten Melanomart, dem Melanom der Haut, wird u.a. durch folgende Faktoren bestimmt: Metastasierung, Tumordicke, Ulzeration, Geschlecht, Alter, Lokalisation und histologischer Subtyp (Leiter et al, 2004). Zudem sind Proliferationsverhalten, Neovaskularisation, Lymphangiogenese, Invasion, Embolisierung und Vaskularität des Tumors bedeutende Faktoren, welche die klinische Evolution des Melanoms bestimmen.

1.4. Klinische und genetische Heterogenität der Melanom-entstehung

Melanome können in praktisch allen Körperregionen entstehen, in die es embryonal zur Einwanderung von Zellen der Neuralleiste kommt. Obwohl in der Minderzahl gegenüber Melanomen der Haut haben Melanome der Uvea, der oralen, analen und genitalen Schleimhäute, sowie des Magen-Darmtraktes eine große klinische Bedeutung. Dass jedoch Melanom nicht gleich Melanom ist, gehört zu dem Standardwissen des klinisch tätigen Arztes. Diese klinische Erkenntnis wurde durch zytogenetische und molekulargenetische Untersuchungen bestätigt.

Die Arbeitsgruppe von Curtin et al (2005) untersuchte vier hinsichtlich ihrer Sonnenlichtexposition unterscheidbare Kategorien von Melanomen: Solche mit chronischer Sonnenlichtexposition bei vorgeschädigter Haut (Gesicht), solche mit intermittierender Lichtexposition ohne vorgeschädigte Haut (Rumpf, Arme, Beine), solche mit minimaler Sonnenlichtexposition (Palma und Planta), und solche, die keinem direkten Sonnenlicht ausgesetzt sind (Schleimhäute). Sowohl hinsichtlich der jeweiligen Chromosomenveränderungen, als auch hinsichtlich der Veränderungen in den Genen BRAF und NRAS zeigte jede dieser vier Gruppen ein unterschiedliches

Muster. Überdies kam es in Melanomen, in denen die BRAF- und NRAS Gene nicht verändert waren, zu einer Vermehrung der Gene CDK4 und CCND1. So fanden sich z.B. somatische Mutationen im BRAF-Gen hauptsächlich in Tumoren mit intermittierender Sonnenlichtexposition, bei denen es praktisch nicht zur Amplifikation der Gene CDK4 und CCND1 kommt, die wiederum für Tumoren mit minimaler oder fehlender Lichtexposition charakteristisch waren. Diese unterschiedlichen genetischen „Signaturen“ suggerieren, dass es für die Melanome je nach Lage und Exposition des Tumors offenbar ganz unterschiedliche genetische „Pathways“ der Tumorentstehung gibt.

Durch die Arbeiten von Boris C. Bastian wurde gezeigt, dass der bisherige Gold-Standard zur Melanom-Diagnostik, die Histopathologie, in einigen Bereichen nicht ausreichend ist. Somit könnten auch die Unterschiede in chromosomalen Aberrationen von Melanomen und Naevi bei der eindeutigen Diagnostik von malignen Melanomen als zusätzliche Methode eine Rolle spielen (Bastian BC, 2004). Kabbarah und Chin weisen darauf hin, dass diese Erkenntnisse auch therapeutische Konsequenzen für die unterschiedlichen Arten der Melanome impliziert (Kabbarah et Chin, 2005). Beispielsweise bezieht die sogenannte „targeted therapy“ neuere Erkenntnisse der Melanomentstehung auf molekularer Ebene mit ein (Tawbi et Nimmagadda 2009).

1.5. Diagnose und Staging

1.5.1. ABCDE-Formel

1985 wurde das Akronym ABCD (Asymmetry, Border irregularity, Color variegation, Diameter >6mm) als diagnostische Leitlinie bei der Beurteilung von Melanomverdächtigen pigmentierten Hautveränderungen eingeführt. Nach Vorschlag von Abbasi et al (2004) soll die ABCD Formel durch den Buchstaben E (für Evolving) ergänzt werden. Damit sollen insbesondere Veränderungen in Grösse, Gestalt, Symptomen (Juckreiz), Blutungsneigung, und farbliche Veränderungen in die Beurteilung einbezogen werden.



Abb. 1: Malignes Melanom. Quelle: Wikipedia

1.5.2. TNM-Klassifikation

Tab.1: TNM-Klassifikation nach AJCC 2002 (sechste Ausgabe)

T-Klassifikation	Tumordicke	weitere prognostische Parameter
Tis Tx	nicht definiert	Melanoma in situ, keine Tumorerinfiltration Tumordicke nicht bestimmbar oder nicht bekannt, unbekannter Primärtumor
T1	≤ 1,0mm	a) ohne Ulzeration und Clark Level II/III b) Ulzeration oder Clark Level IV/V
T2	1,01mm - 2,0mm	a) ohne Ulzeration b) mit Ulzeration
T3	2,01mm - 4,0mm	a) ohne Ulzeration b) mit Ulzeration
T4	> 4,0mm	a) ohne Ulzeration b) mit Ulzeration
N-Klassifikation	Anzahl metastasierte LK	Ausmaß der LK-Metastasen
N1	1 Lymphknoten (LK)	a) Mikrometastase b) Makrometastase
N2	2-3 Lymphknoten	a) Mikrometastase b) Makrometastase c) Satelliten- oder in-transit-Metastasen
N3	> 4 LK, Satelliten oder in-transit-Metastasen + LK-Metastasen	
M-Klassifikation	Art der Fernmetastasen	LDH (Laktatdehydrogenase) i. Serum
M1a	Haut-ME, Subkutane ME LK-ME	Normal
M1b	Lungen-ME	Normal
M1c	alle übrigen viszerale ME alle Fernmetastasen	Normal Erhöht

modifiziert nach „Short German guidelines: Malignant melanoma, JDDG, Supplement 1, 2008 (Volume 6)

Im Jahr 2009 wurde das siebte AJCC-Manual zur Tumorklassifikation veröffentlicht. Bezogen auf das Melanom ergibt sich in der TNM-Klassifikation als wesentliche

Änderung für T1b-Melanome: der Clark-Level (Eindringtiefe des Tumors) wird durch die Mitoserate ersetzt mit dem Grenzwert von $\geq 1\text{mm}^2$.

1.5.3. Stadieneinteilung nach AJCC (sechste Ausgabe)

Tab. 2: Stadieneinteilung des Malignen Melanoms

Stadium	Primärtumor (pT)	Regionale LK-Metastasen (N)	Fernmetastasen (M)
0	In situ Tumor	keine	keine
IA	$\leq 1,0\text{mm}$ ohne Ulzeration	keine	keine
IB	< 1,0mm mit Ulzeration oder Clark-Level IV oder V 1,01-2,0mm ohne Ulzeration	keine	keine
IIA	1,01-2,0mm mit Ulzeration 2,01-4,0mm ohne Ulzeration	keine	keine
IIB	2,01-4,0mm mit Ulzeration > 4,0mm ohne Ulzeration	keine	keine
IIC	> 4,0mm mit Ulzeration	keine	keine
IIIA	jedes T ohne Ulzeration	Mikrometastasen	keine
IIIB	jedes T mit Ulzeration jedes T ohne Ulzeration jedes T mit/ohne Ulzeration	Mikrometastasen bis zu 3 Makrometastasen Satelliten und/oder in-transit-ME	keine
IIIC	jedes T mit Ulzeration jedes T mit/ohne Ulzeration	bis zu 3 Makrometastasen 4 oder mehr Makrometastasen oder LK-Metastasen über die Kapsel hinweg oder Satelliten und/oder in-transit-ME mit LK-Metastasen	
IV	jedes T	jedes N	Fernmetastasen

modifiziert nach „Short German guidelines: Malignant melanoma, JDDG, Supplement 1, 2008 (Volume 6)

Im Jahre 2003 wurden die bisherigen Staging-Richtlinien für das maligne Melanom überarbeitet und im Sinne der Evidenz-basierten Medizin neu formuliert (Balch et al, 2004). Die neue Fassung beruhte auf Erkenntnissen, die aus einer Vielzahl von prospektiven Untersuchungen von insgesamt 17,600 Melanompatienten gewonnen wurden. Lokalisierte Tumoren (Stadium I und II) werden mit gutem Erfolg durch Exzision behandelt. Die 10-Jahres-Überlebensrate beträgt 85% (Balch et al, 2004).

Die Stadien III (regionaler Lymphknotenbefall) und IV (Fernmetastasierung) gehen mit einer sehr viel schlechteren Prognose einher. So beträgt die 10-Jahres-Überlebensrate von Stadium III Patienten nur 35%. Von Stadium IV Patienten leben nach 10 Jahren weniger als 10%. Die schlechte Prognose für Patienten mit fortgeschrittenen Stadien beruht einmal auf der Tatsache, dass bisher verfügbare Immuno- und Chemotherapien inadäquat und z.T. mit schweren Nebenwirkungen behaftet sind. Zum anderen hat eine verbreitete Metastasierung bereits stattgefunden, bevor die Diagnose gestellt wird. Die Therapie des fortgeschrittenen Melanoms bleibt daher trotz aller Fortschritte der letzten Jahre unbefriedigend. Die Früherkennung von Melanomen bzw. von Rezidiven und/oder Metastasierungen in der Tumornachsorge spielt daher in der Klinik eine bedeutende Rolle.

1.6. Therapie

1.6.1. Operative Therapie

Der primäre Therapieansatz beim Melanom ist eine kurative Operation. Der Sicherheitsabstand um den Primärtumor wird in Abhängigkeit von der Tumordicke (TD nach Breslow) bestimmt, welche nach einer Primärexzision oder Biopsie diagnostiziert wird. Gegebenenfalls muss eine Nachexzision erfolgen. Der Sicherheitsabstand beträgt 0,5cm für In-Situ-Melanome, 1cm für Melanome mit $TD \leq 2\text{mm}$ und 2cm für eine $TD > 2\text{mm}$ (Garbe et al, 2008).

1.6.2. Sentinel-Lymphknoten-Biopsie

Die Sentinel-Lymphknoten-Biopsie wird empfohlen für alle Melanome mit einer Tumordicke über 1mm sowie für dünnere Tumore der Clark-Level IV und V bzw. ulzerierte Melanome. Bei negativem Befund des Sentinel-Lymphknotens ist keine weitere Lymphknotenexzision indiziert. Bei Befall des Sentinel-Lymphknotens erfolgt eine radikale Lymphknotendissektion. Der Befall des Sentinel-Lymphknotens ist darüberhinaus ein Parameter für die Indikationsstellung zu einer adjuvanten Systemtherapie.

1.6.3. Adjuvante Therapie

Bei Tumoren ab dem Tumorstadium IIA (TD \geq 2mm) wird eine adjuvante Interferon- α -Therapie empfohlen. In einigen Studien hat sich bereits für Melanompatienten mit einer Tumordicke \geq 1,5mm eine Verlängerung des Rezidiv-freien Intervalls gezeigt. In Studien erprobt und angewendet werden low- und high-Dose Interferon- α sowie pegyliertes Interferon- α -2b (Garbe et al 2008).

1.6.4. Strahlentherapie

Eine Indikation zur Strahlentherapie besteht bei inoperablen Tumoren und Metastasen. Auch bei Fernmetastasierung ossär oder zerebral können die Patienten von einer palliativen Radatio profitieren. Bei in-Situ-Melanomen im Gesichtsbereich kann statt der Exzision eine Bestrahlung als Primärtherapie erwogen werden (Garbe et al 2008).

1.6.5. Palliative Therapie

Neben der primär palliativen operativen Therapie bei fortgeschrittenen Melanomen mit In-transit- oder Satelliten-Metastasen (ggf. mit hyperthermer zytostatischer Extremitätenperfusion) und der palliativen Radiatio ist die systemische Chemo- bzw. Immunochemotherapie ein weiterer palliativer Ansatz. Insbesondere bei weit fortgeschrittenen Melanomen (Stadium IV) oder inoperablen Rezidiven ist, unter Berücksichtigung der Lebensqualität, eine solche Therapie zu diskutieren.

Es existieren unterschiedliche Therapieprotokolle für Mono- bzw. Polychemotherapie und Polyimmunochemotherapie. (Garbe et al, 2008).

1.7. Tumornachsorge

In der Tumornachsorge nach Primärtherapie sind die ersten 5 Jahre am Bedeutendsten, da 90% aller Metastasierungen in diesem Zeitraum auftreten. Aufgrund der selteneren Spätmetastasierungen sollte die regelmäßige Tumornachsorge über 10 Jahre erfolgen (Garbe et al 2008).

Tab.3: Intervalle der Untersuchungen in der Tumornachsorge

Stadium und Tumordicke	Körperliche Untersuchung Jahr 1-5	Körperliche Untersuchung Jahr 6-10	Lymphknoten-sonographie Jahr 1-5	Serum-S-100 Jahr 1-5	Bildgebung Jahr 1-5
I, <1mm	6 Monate	12 Monate	Keine	Keine	Keine
I+II, >1mm	3 Monate	6-12 Monate	6 Monate	3-6 Monate	nur bei adjuvanter Therapie
IIC+III	3 Monate	6 Monate	3-6 Monate	3-6 Monate	6 Monate
IV	Individuell	Individuell	Individuell	Individuell	Individuell

Nach Garbe et al 2008 und Garbe et al 2003

1.8. Tumormarker

Tumormarker auf DNA-, RNA- oder Proteinebene dienen als Indikatoren des Tumorwachstums, der Tumorprogression, der Rekurrenz des Tumors, des Therapieerfolges, und der Prognose. Serologische Tumormarker werden seit vielen Jahren in der Onkologie eingesetzt. Dazu gehören Tumor-assoziierte Antigene, Zytokine, Metalloproteinasen, Angiogenese-Faktoren, Adhäsions-Moleküle, Wachstumsfaktoren, immunregulatorische Moleküle und Metaboliten. Bekannteste Beispiele sind das PSA (Prostata spezifisches Antigen) und das CEA (Carcino-Embryonales Antigen). In den letzten Jahren werden jedoch auch zunehmend Marker auf DNA- und RNA- Ebene entwickelt, deren Sensitivität aufgrund von PCR-Verfahren z.T. erheblich über der der serologischen Marker liegt. Bei diesen molekularen Markern handelt es sich z.B. um Tumorsuppressorgene, Onkogene, Transkriptionsfaktoren oder Apoptose-Faktoren (Martinez et Hoon, 2005). Zu den beim Melanom häufig bestimmten serologischen Tumormarkern gehören die Proteine S-100B, MIA, sowie die Laktatdehydrogenase (Ugurel, 2005).

1.9. S-100 Protein-Familie

S-100-Proteine sind thermolabile saure kalziumbindende Proteine mit einem Molekulargewicht von 21kD, welche ursprünglich aus Rinderhirnen isoliert wurden. Es stellte sich heraus, dass S-100 Proteine nicht nur von Zellen des zentralen Nervensystems wie Glia- und Schwannzellen exprimiert werden, sondern auch von Chondrozyten, Adipozyten und Melanozyten (von Schoultz et al, 1996; Henze et al 1997; Ugurel 2005). Das im Melanom-Kontext bedeutsame Mitglied der S-100-Proteinfamilie, das Protein S-100B, zeigt die stärkste Expression in Gliazellen des zentralen und peripheren Nervengewebes, ist aber auch relativ stark in Melanozyten, Chondrozyten und Adipozyten exprimiert (Ugurel, 2005). Es wird von einem Gen auf dem menschlichen Chromosom Nr. 21. kodiert.

Eine Reihe von Studien, u.a. Vergleichsstudien mit anderen Serummarkern, haben den Einsatz von S-100B als geeigneten Tumormarker für das maligne Melanom bestätigt (s. Diskussion).

1.10. Melanoma inhibitory activity (MIA)

MIA wurde erstmals von Bogdahn et al im Jahre 1989 als eine autokrine, für Melanomzellen wachstumshemmende Serumaktivität beschrieben. Die Zugabe von MIA zu Zellkulturen führt zu morphologischen Veränderungen, Verlust der Zelladhärenz und Inhibierung der Zellproliferation. Es kommt zur Akkumulation der behandelten Zellen in der G2-Phase des Zellzyklus (Weilbach et al, 1990).

MIA ist ein kleines (11kD), evolutionär hoch konserviertes Protein von 107 Aminosäuren mit einem N-terminalen Signalpeptidbereich. Wie viele intrazelluläre Signalmoleküle besitzt auch das extrazelluläre MIA eine SH3-ähnliche Domäne (src-homology 3 domain), welche Protein-Protein-Interaktionen ermöglicht. Die wichtigsten Interaktionspartner sind Proteine der extrazellulären Matrix, vor allem Fibronectin. Es wird angenommen, dass MIA durch seine Affinität zu Fibronectin die Bindung von Integrinen an extrazelluläre Matrixproteine in kompetitiver Weise blockiert (Bossert, 2005). Dadurch wird die Verbindung zwischen Zelloberfläche und extrazellulärer Matrix gelockert, so dass sich die Zelle ablösen und migrieren kann. Dies könnte eine Erklärung für die häufige Metastasierung maligner

Melanomzellen sein. Dem Mechanismus der MIA-vermittelten Reduktion von Zell-Matrix Kontakten und damit Erhöhung der zellulären Mobilität kommt bei der Entstehung und Progression des Melanoms wahrscheinlich eine zentrale Bedeutung zu (Bosserhoff et al, 2001).

Mit Hilfe von RT-PCR Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass MIA spezifisch in primären und metastasierenden malignen Melanomen, jedoch nicht in normaler Haut oder in normalen Melanozyten exprimiert wird (Perez et al, 2000).

1.11. Fragestellung

Im Rahmen der Melanomnachsorge (s. 1.7.) werden an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein der Technischen Universität München regelmäßig die beiden Tumormarker S-100B und MIA aus dem Serum der Patienten bestimmt.

Im Sinne der Definition als Tumormarker (s. 1.8.), werden sie als Kontrollparameter mit prognostischer Relevanz bewertet (s. 4.2.).

Im Rahmen dieser Untersuchungen war der Eindruck entstanden, dass die S-100B-Werte größeren Schwankungen unterlagen als die MIA-Werte, insbesondere bei Patienten ohne Nachweis einer Tumorlast im Sinne einer Metastasierung oder eines Tumorrezidivs zum Zeitpunkt der Serumbestimmung („falsch positiv“).

Hinsichtlich der klinischen Wertigkeit der beiden Tumormarker S-100B und MIA liegen in der Literatur z. T. widersprüchliche Daten vor. Es war daher Zielsetzung dieser Arbeit, die kasuistischen Beobachtungen einer größeren Schwankungsbreite der S-100B Bestimmungen im Vergleich zu MIA an einem definierten Patientenkollektiv zu objektivieren.

2. Material und Methoden

2.1. Bestimmung von S-100B bis 2004

In den Jahren vor 2004 erfolgte die Bestimmung der Serumkonzentration für S-100B immunoradiometrisch mittels S-100-IRMA (ImmunoRadioMetricAssay) der Firma BYK-Sangtec Diagnostica Dietzenbach. Nach dem Sandwich-Prinzip werden hierbei zwei unterschiedliche monoklonale Antikörper gegen Untereinheiten der S-100B-Einheit verwendet. Im ersten Inkubationsschritt, wird das S-100B aus dem Patientenserum durch den einen Antikörper gebunden, dann wird ungebundenes Material ausgewaschen und zuletzt wird ein radioaktiv markierter ¹²⁵I-Antikörper hinzugefügt. Schließlich wird die Radioaktivität mittels Gamma-Zähler gemessen und über standardisierte Kurven die Konzentration von S-100B ermittelt.

2.2. Bestimmung von S-100B ab 2004

Die Bestimmung der Werte für S-100B aus dem Serum der Patienten erfolgte ab dem ersten Januar 2004 mittels des Elycsys[®] S100 Tests, einem elektrochemischen photometrischen Immunadsorptionstest (ElectroChemoLuminescence Immunoassay = ECLIA) für die Elecsys[®] Systeme 1010, 2010 und E170 von Roche Diagnostics.

Die Dauer des Tests beträgt 18 Minuten bei einer Temperatur von 37°C.

Nach dem Sandwich-Prinzip bilden die Antigene aus dem Patientenserum im ersten Inkubationsschritt einen Komplex mit einem biotinylierten und einem Ruthenium-gebundenen Antikörper (beides monoklonale Maus-Antikörper gegen die β-Kette von S-100). Im zweiten Schritt werden Mikropartikel hinzugefügt, die mit Streptavidin überzogen sind, wodurch mittels Interaktion mit dem Ruthenium des Antikörperkomplexes eine Bindung an die solide Phase erfolgt.

(Abb. 2. Quelle der Abbildungen: Product Information Elecsys[®] S100, Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany)

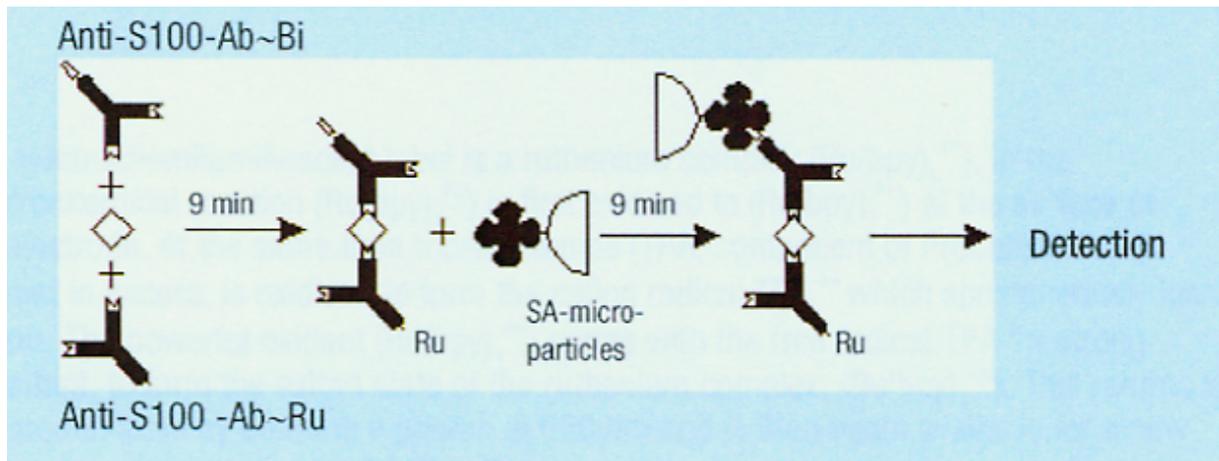


Abb. 2: Antikörperbindung an S-100

Anschließend erfolgt die Messung der antikörpergebundenen Immunkomplexe in der Elycsys® Elektrochemilumineszenzmesszelle.

Ungebundene Komponenten werden entfernt, eine definierte Spannung wird angelegt und die aus einer elektrochemischen Reaktion des Ruthenium-Komplexes resultierende Photoemission gemessen.

Die Messung erfolgt mittels Photomultiplier, der die Intensität des Signals in RLU (**Relative Light Units**) misst (s. Abb.3).

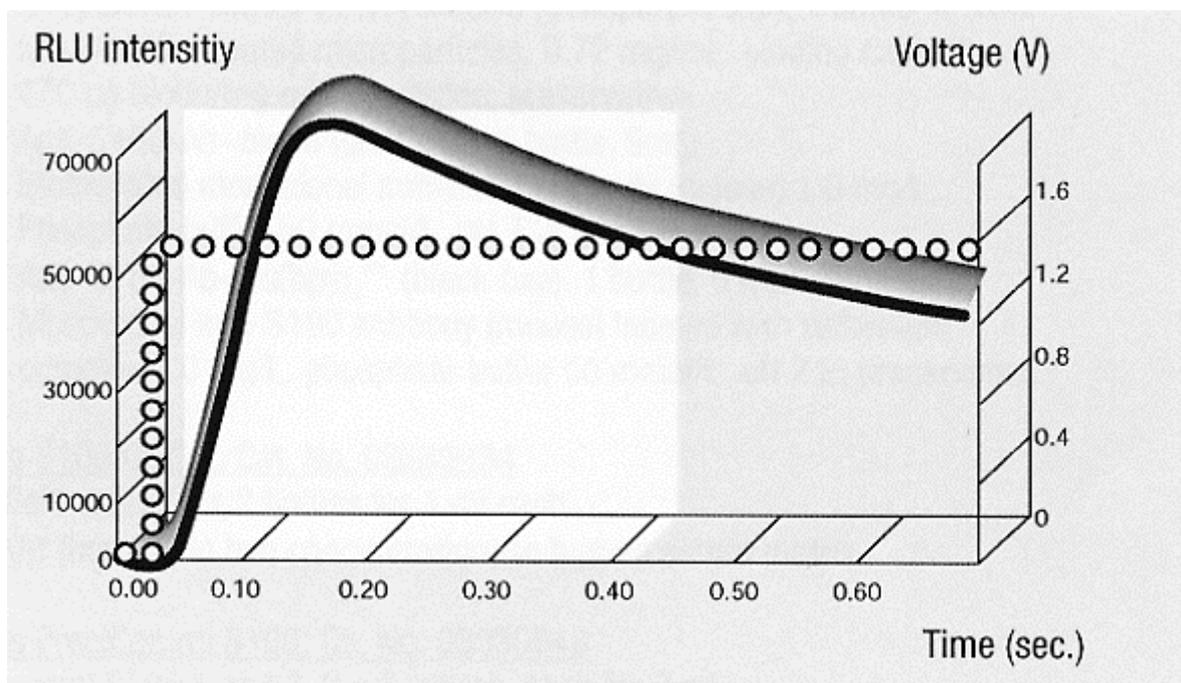


Abb. 3: Ermittlung der Photoemission in RLU

Die Ermittlung der S-100B-Werte erfolgt dann anhand einer Kalibrierungskurve (s. Abb.4)

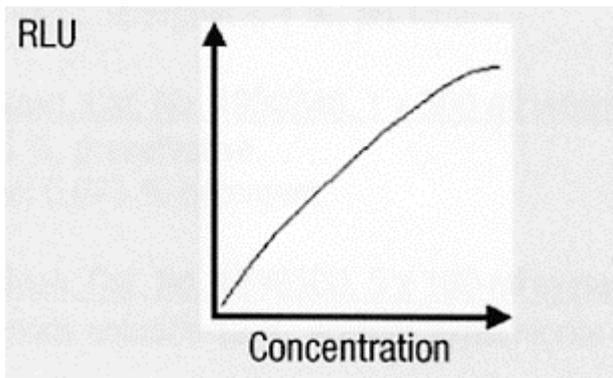


Abb. 4: Kalibrierungskurve

2.3. Bestimmung von MIA

Die Bestimmung der Serumwerte für MIA erfolgte mittels MIA ELISA von Roche® Diagnostics (Penzberg/Deutschland), einem photometrischen, enzymgebundenen Immunadsorptionstest (**E**nzyme-**L**inked **I**mmunosorbent **A**ssay = ELISA).

Die Testdauer beträgt zwei Stunden.

Das Testprinzip ist ein One-Step-ELISA. Die MIA-Proteine aus dem Patientenserum gehen hierbei eine gleichzeitige Bindung mit zwei monoklonalen Antikörpern ein. Der eine Antikörper ist biotinyliert und bewirkt (durch eine Reaktion von Biotin mit Streptavidin) eine Bindung an die Streptavidin-überzogene Mikrotiterplatte (MTP). Der andere Antikörper ist mit Peroxidase gekoppelt und bewirkt (durch eine Reaktion mit zugesetztem ABTS® = Azinodiethylbenzthiazolinsulfonat) einen Farbumschlag. Dieser wird photometrisch gemessen und anhand der direkten Proportionalität der Farbdichte zur MIA-Konzentration der Serumwert für MIA ermittelt.

2.4. Grenzwerte (Cut off)

Zur Beurteilung, ob ein ermittelter Serumwert im Normbereich liegt oder erhöht ist, müssen Grenzwerte (Cut off) festgelegt werden. Hierzu werden Serumwerte für den jeweiligen Marker in einem Kollektiv von gesunden Probanden gemessen. Als Cut off wird der Wert bezeichnet unter dem 95% der gemessenen Werte liegen.

Je nach verwendetem Test, bzw. untersuchtem Kollektiv kann es somit auch zu einer Veränderung des Cut off kommen, weswegen sich je nach Studie unterschiedliche Grenzwerte für S-100B und MIA finden (s. 4.1.3.).

Für diese Arbeit wurden folgende Grenzwerte festgelegt:

- S-100B für die Jahre 2002 und 2003: 150 pg/ml
- S-100B ab 1.1.2004: 120 pg/ml
- MIA: 12 ng/ml

Die Änderung des Cut off für S-100B ab dem Jahr 2004 wurde in allen Fällen berücksichtigt.

2.5. Datenerhebung

An der Klinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein der Technischen Universität München werden regelmäßig Serumwerte für S-100B und MIA im Rahmen der Patientenversorgung ermittelt und dokumentiert. Die Blutentnahmen erfolgen im Rahmen stationärer oder ambulanter Aufenthalte zur operativen Entfernung malignomverdächtiger Hautveränderungen, zur Nachexzision histologisch gesicherter maligner Melanome bzw. deren Immuno- und/oder Chemotherapie, und im Rahmen des Tumornachsorgeprogramms.

Der MIA-ELISA wurde an der Klinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein durchgeführt, die S-100B-Werte wurden am Institut für klinische Chemie der Technischen Universität München ermittelt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden retrospektiv 3170 Blutproben von 794 Patienten aus den Jahren 2002-2004 ausgewertet (s. Abb. 6).

Aufgrund der Definition der beiden Serummarker als Tumormarker, die sowohl für S-100B als auch für MIA mehrfach beschrieben ist (s. 4.2.), wäre eine gleichsinnige

Veränderung beider Marker im Sinne einer gleichzeitigen Erhöhung bzw. Erniedrigung der Werte in Abhängigkeit von dem Verlauf der Erkrankung zu erwarten. Dieses Verhalten wurde in der Korrelation der beiden Werte zum jeweiligen Bestimmungszeitpunkt untersucht.

Im Sinne der Fragestellung (s. 1.11.) wurden dann diejenigen Fälle ausgewählt, in denen sich die beiden Marker divergent verhielten, d.h. bei der gleichzeitigen Erhöhung des einen Markers lag der andere Marker jeweils im Normbereich.

Dieses Kollektiv umfasste 113 Patienten mit malignem Melanom, deren Krankheitsverläufe an der Klinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein dokumentiert waren.

Anhand der Patienten-Akten wurde eine Unterteilung in eine Gruppe von Patienten mit und eine Gruppe ohne Tumorlast vorgenommen. Patienten mit Tumorlast wurden definiert als die Gruppe, bei denen der Zeitpunkt der Blutentnahme vor Entfernung des Tumors lag bzw. klinisch eine Metastasierung oder ein Tumor-Rezidiv nachgewiesen war. Bei der Gruppe der Patienten ohne Tumorlast war kein aktiver Tumor zum Untersuchungszeitpunkt nachweisbar.

Zur Beurteilung der „falsch positiven“ Werte der Serummarker wurden zuletzt die Fälle betrachtet, bei denen innerhalb eines bestimmten Zeitraumes keine Tumorprogression nachweisbar war.

Somit fand sich ein Kollektiv von 64 Patienten mit „falsch positiven“ Werten für S-100B bzw. für MIA.

49 dieser Patienten erfüllten folgende Kriterien:

- Vorliegen von mindestens vier Verlaufswerten (Werte für S-100B und MIA zum gleichen Abnahmedatum) bei dokumentierter Tumorfreiheit
- Mindestzeitraum ab Zeitpunkt des divergierenden Wertes in dem keine Progression erfolgte: 1 Jahr (1 Fall: $\frac{3}{4}$ Jahr)
- Zustand nach primärer Therapie des Tumors (i. d. R. Exzision)

Die Werte der Tumormarker dieser Patienten sowie die klinischen Befunde wurden im Verlauf über den verfügbaren Zeitraum ausgewertet und dokumentiert.

Analog dazu fanden sich 30 Patienten mit dokumentierter Tumorlast zum Blutentnahmezeitpunkt für die ebenfalls die Kriterien der vorhandenen Verlaufswerte und Zustand nach Primärtherapie galten.

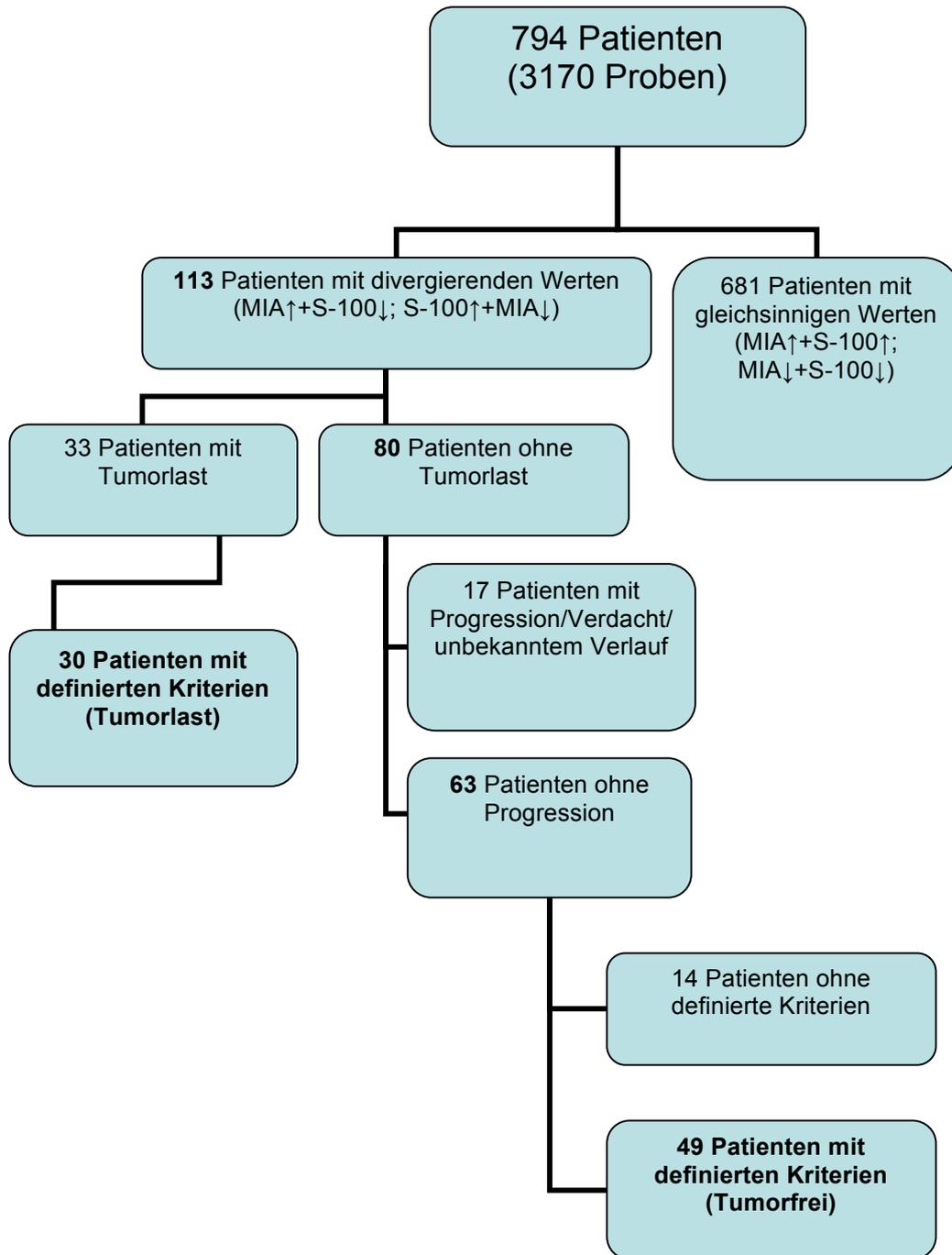


Abb. 5: Schematische Darstellung der Patientenauswahl

2.6. Auswahl des Patientenkollektivs

Die Datenerhebung erfolgte anhand aller in den Jahren 2002-2004 in der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein der Technischen Universität München im Rahmen der Melanom-Nachsorge betreuten Patienten. Demnach lag bei allen Patienten ein histologisch gesichertes malignes Melanom vor, welches primär operativ therapiert wurde. In 35 Fällen erfolgte eine adjuvante Therapie mit Interferon. Die Tumornachsorge findet gemäß der Leitlinien (s. 1.7.) in Abhängigkeit vom Tumorstadium statt. Im Sinne der Fragestellung (s. 1.11.) wurden für diese Arbeit nur die Patienten ausgewählt, bei denen in der Tumornachsorge unabhängig von Tumorstadium und erfolgter Therapie divergierende Tumormarker-Werte gefunden wurden.

Alle übrigen Patienten wurden nicht berücksichtigt, so dass keine umfassenden Aussagen über Tumormarkerverläufe in der Melanomnachsorge getroffen werden konnten. Alle Aussagen beziehen sich somit nur auf das definierte Patientenkollektiv.

2.7. Dokumentation

2.7.1. Microsoft®-Excel-Tabellen

Die Korrelation der Werte für S-100B und MIA erfolgte anhand von Microsoft®-Excel-Tabellen. Die Daten der Melanompatienten aus dem Institut für Klinische Chemie der Technischen Universität München (Bestimmung der S-100B-Werte) und aus der Klinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein (Bestimmung der MIA-Werte) wurden korreliert und in eine gemeinsame Tabelle eingetragen.

In diesem Programm wurden Mittelwerte bzw. Median und Standardabweichungen berechnet. Die Graphiken der Verläufe wurden ebenfalls in Excel erstellt.

Mit Unterstützung des Instituts für Medizinische Statistik und Epidemiologie der Technischen Universität München wurden Berechnungen zu Sensitivität und Spezifität durchgeführt.

2.7.2. Dokumentation der Daten aus den Krankenakten

Bei den 113 Patienten mit divergierenden Werten für S-100B und MIA wurden aus den Krankenakten folgende Punkte dokumentiert:

- Alter
- Geschlecht
- Datum der Erstdiagnose
- Befund (Wachstumstyp)
- Lokalisation
- Tumordicke nach Breslow, Clark-Level
- TNM-Stadium (s. 1.5.2.)
- Tumorstadium nach AJCC 2002 (s. 1.5.3.)
- Daten der Blutentnahme
- Werte für S-100B zu den Blutentnahmezeitpunkten
- Werte für MIA zu den Blutentnahmezeitpunkten
- Klinische Befunde zu den Blutentnahmezeitpunkten
- Therapie
- ggf. Metastasierung
- ggf. Nebenbefunde

2.7.3. Definition der „falsch positiven“ Werte anhand der Vierfeldertafel

Tab. 4: Vierfeldertafel bzgl. der Tumormarker

	Tumor nachweisbar¹	kein Tumor nachweisbar²
Tumormarker erhöht	richtig positiv	falsch positiv
Normbereich	falsch negativ	richtig negativ

¹ positive Befunde von Histologie, PET, MRT, CT

² alle Befunde negativ, auch im Verlauf

3. Ergebnisteil

3.1. Auswertung aller Daten

In einer retrospektiven Studie wurden 3170 Blutproben von 794 Patienten mit malignem Melanom in den Jahren 2002 bis 2004 ausgewertet.

Hierbei fanden sich MIA-Werte von 1,63ng/ml bis 700ng/ml (Median: 6,75ng/ml) bzw. S-100B-Werte von 12pg/ml bis 328280pg/ml (Median: 69pg/ml). Die deutliche Mehrheit der Serummarker (81%) lag hierbei im Normbereich (Cut off für MIA 12ng/ml, Cut off für S-100B 150pg/ml bzw. 120pg/ml ab 2004). Im Vergleich zeigte sich eine Erhöhung des S-100B-Wertes in 11% und eine Erhöhung des MIA-Wertes in 8% (s. Abb. 6) der 3170 Proben.

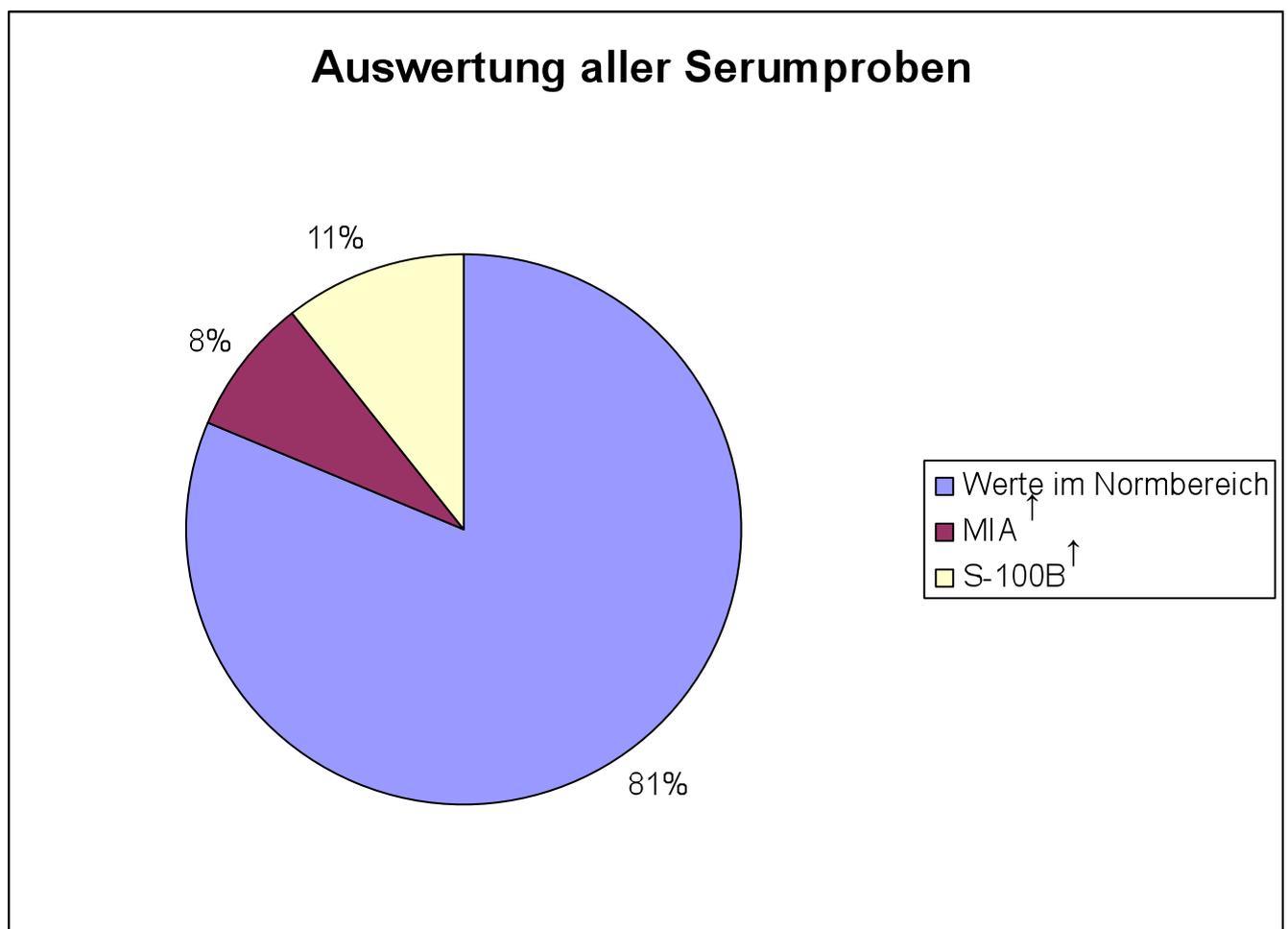


Abbildung 6: Auswertung von 3170 Serumproben (Abnahmedaten: 2002-2004)

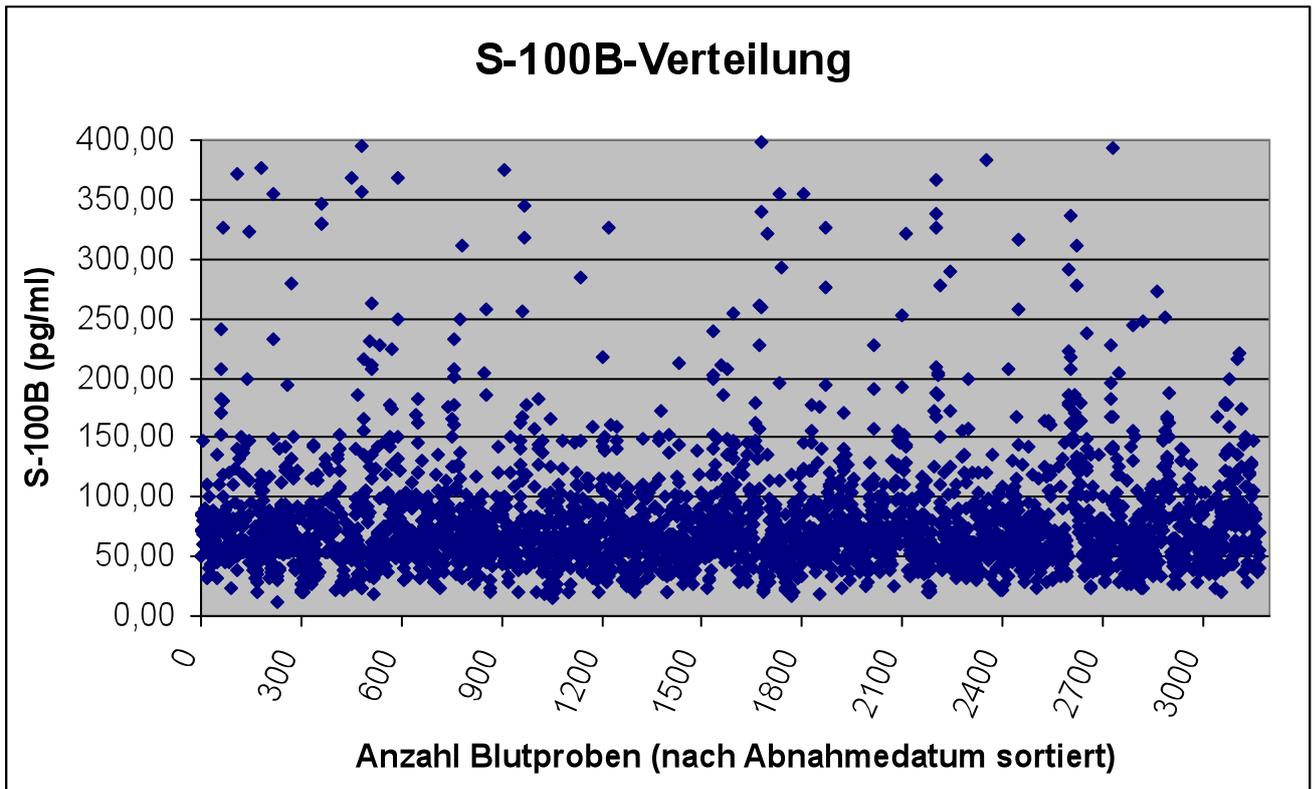


Abbildung 7: Verteilung der S-100B-Werte

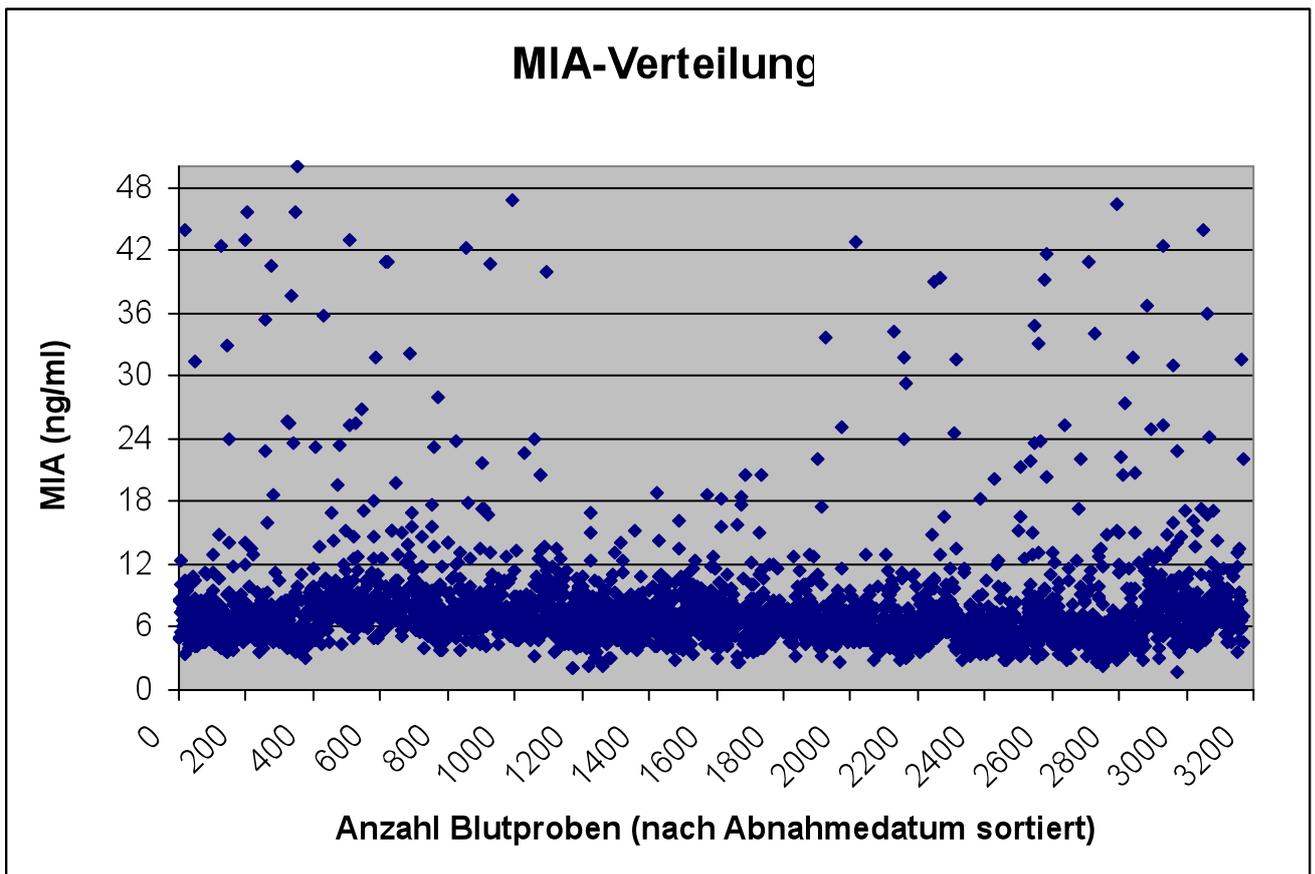


Abbildung 8: Verteilung der MIA-Werte

3.2. Verhalten der Tumormarker

In 91% der Fälle wurde ein gleichsinniges Verhalten (beide Marker erhöht bzw. beide Marker nicht erhöht) gefunden. In 9% unterschieden sich die Werte der Tumormarker dahingehend, dass bei gleichzeitiger Erhöhung des einen Markers der andere nicht erhöht war (s. Abb. 9).

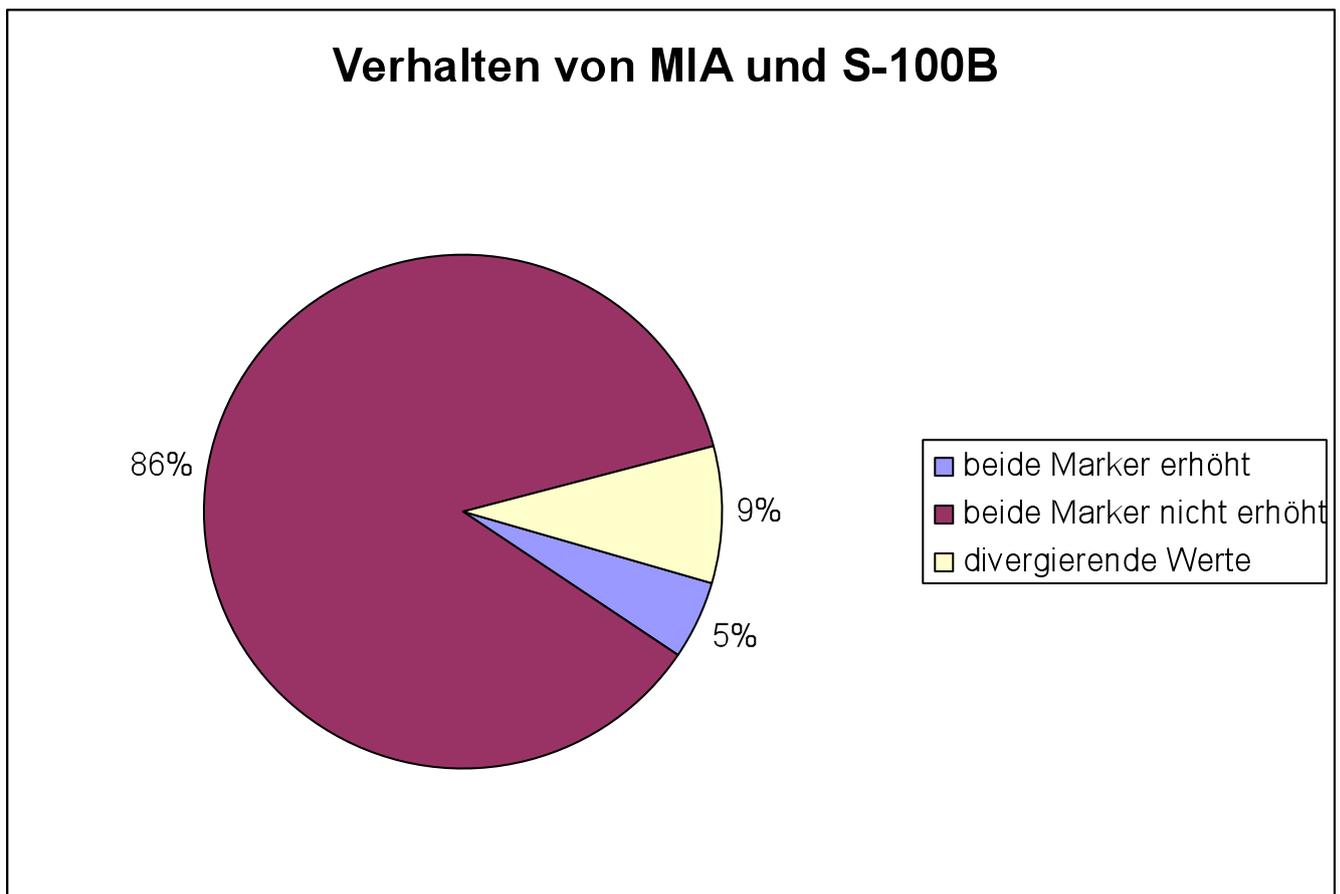


Abbildung 9: Verhalten von S-100B und MIA

Der Vergleich der erhöhten Marker zeigte in 56,2% der erhöhten MIA-Werte auch S-100B erhöht. Bei den erhöhten S-100B-Werten fand sich in 43,5% eine gleichzeitige Erhöhung von MIA.

3.3. Korrelation von S-100B und MIA

Tabelle 5: Auswertung und Korrelation der Serumwerte für S-100B und MIA nach Jahren

Jahr	Anzahl Proben	MIA ↑	S-100B↑	MIA ↑ + S-100B↑	MIA↓ + S-100B↓	MIA↑+ S-100B↓ und MIA↓ + S-100B↑
2002	1066	113	131	76	896	38 + 56 = 94
2003	1001	44	65	17	907	28 + 49 = 77
2004	1103	102	138	68	929	35 + 71 = 106
2002-2004	3170	259	334	158	2732	101 + 176 = 277

Grenzwerte: MIA↑: MIA > 12ng/ml S-100B↑: S-100B > 150pg/ml (für 2002 und 2003) bzw. > 120pg/ml (für 2004)
MIA↓: MIA < 12ng/ml S-100B↓: S-100B < 150pg/ml (für 2002 und 2003) bzw. < 120pg/ml (für 2004)

In der Betrachtung der divergierenden Werte findet sich (wie aus der Datentabelle ersichtlich) die Konstellation **MIA↑+ S-100B↓** in **36,4%** und die Konstellation **MIA↓ + S-100B↑** in **63,4%**.

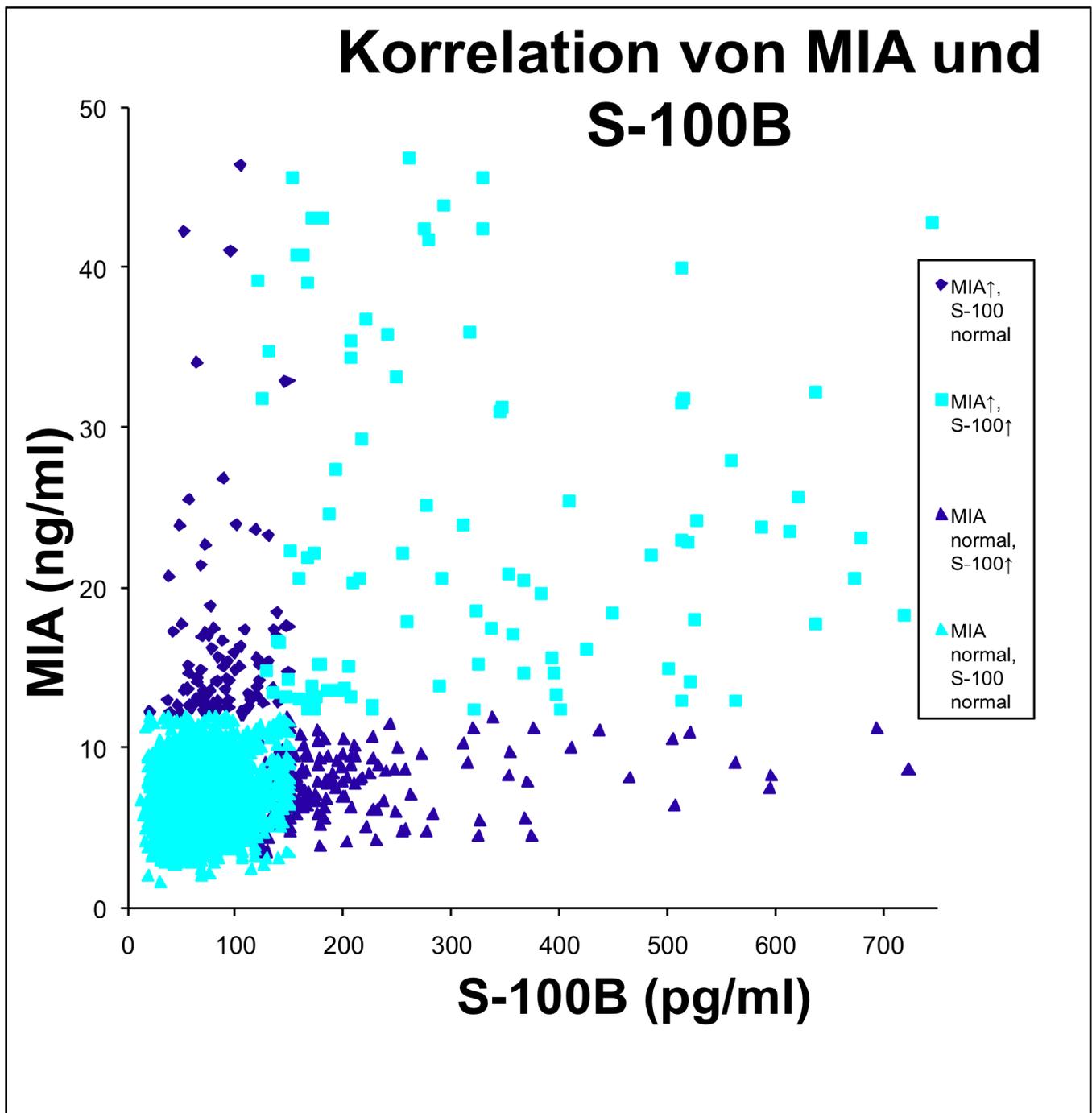


Abbildung 10: Korrelation der beiden Tumormarker

3.4. Patientenkollektiv mit divergierenden Werten

Es fand sich ein Kollektiv von 113 Patienten (s. Tabelle 6) bei denen bei gleichzeitiger Erhöhung des einen Serummarkers über die Cut-Off-Grenze der Andere Marker unterhalb des Cut-Off lag.

Tabelle 6: Patientenkollektiv mit divergierenden Werten der TU-Marker

	Stadium 0/I	Stadium II	Stadium III	Stadium IV
n	43	17	21	32
Geschlecht (w/m)	26/18	10/7	9/12	16/16
Alter (MW ± SA)	54 ± 17	55 ± 18	61 ± 12	63 ± 15
SSM	30	4	6	5
NMM	8	9	5	8
LMM	2	0	1	0
ALM	1	1	4	3
andere	1 (MM in situ)	1 (nävoides MM)	1 (amelanot. MM)	6 (2 Aderhaut-MM, 1 MM in situ, 1 Zervix-MM, 1 Vulva-MM, 1 spindelzell. MM)
nicht definiert	1	1	3	7
unbek. Primarius	0	0	1	3
TD (MW ± SA) in mm	0,97 ± 0,51	2,84 ± 1,27	3,08 ± 2,46	3,31 ± 4,58
TU-Last zum Blutentnahmezeitpunkt (+/Ø)	1/42	0/17	5/16	26/6
TU-Progression (+/Ø)				
innerhalb 1 Jahr	0/31	4/13	6/12	28/2
innerhalb 6 Mo	0/5	0	0	0/1
unbekannt	7	0	3	1
S-100B↑+MIA↓	28	12	16	20
MIA↑+S-100B↓	15	5	5	12
MIA (MW ± SA)	9,41 ± 3,590	8,00 ± 3,391	8,48 ± 3,959	11,73 ± 7,40
S-100B (MW ± SA)	149,43 ± 75,552	130,71 ± 57,37	198,43±135,361	208,2 ± 188,885

Aus dem Kollektiv der 113 Patienten musste die Tumorlast bzw. Tumorfreiheit zum jeweiligen Zeitpunkt der Blutentnahme dokumentiert sein. Patienten bei denen

- a)** < 4 Verlaufswerte vorlagen
 - b)** nicht zu allen Untersuchungszeitpunkten beide Tumormarkerwerte vorlagen
 - c)** keine Dokumentation über Tumorfreiheit oder Tumorlast vorlag (Nachsorgeuntersuchung)
 - d)** eine Erhöhung in der tumorfreien Gruppe vor Therapie vorlag
- wurden nicht in die Auswertung mit einbezogen.

Hieraus ergaben sich zwei Gruppen mit divergierenden Werten der Tumormarker, eine mit „tumorfremen“ Patienten (n=49) eine mit „Tumorlast“ (n=30). In Korrelation zur Tumorlast wurden so die „falsch positiven“ bzw. die „falsch negativen“ Werte für S-100B und MIA ermittelt.

In der Gruppe der Patienten mit Tumorlast waren zwischen 4 und 26 Verlaufswerte dokumentiert, im Durchschnitt pro Patient 10,8 Werte.

In der Gruppe der Patienten ohne Tumorlast waren zwischen 4 und 21 Verlaufswerte dokumentiert, im Durchschnitt pro Patient 10,6 Werte.

3.5. Sensitivitäts- und Spezifitätsberechnungen

Für dieses Kollektiv der 79 Patienten wurden Sensitivitäts- und Spezifitätsberechnungen für MIA und S-100B durchgeführt. (Berechnung in Microsoft®-Excel-Tabelle mit freundlicher Unterstützung des Instituts für Medizinische Statistik und Epidemiologie der Technischen Universität München).

Tab. 7: Sensitivität und Spezifität für MIA

	Krankheit +	Krankheit -	
Test +	11	13	24
Test -	19	36	55
	30	49	79

	95% CI		
Sensitivität (%)	36,666667	19,422297	53,911037
Spezifität (%)	73,469388	61,107498	85,831278
Akkuranz (%)	59,493671		

Tab. 8: Sensitivität und Spezifität für S-100B

	Krankheit +	Krankheit -	
Test +	19	36	55
Test -	11	13	24
	30	49	79

	95% CI		
Sensitivität (%)	63,333333	46,088963	80,577703
Spezifität (%)	26,530612	14,168722	38,892502
Akkuranz (%)	40,506329		

3.6. Patienten ohne Tumorlast

Zur Beurteilung der „falsch positiven“ Werte der Serummarker wurden die Fälle betrachtet bei denen innerhalb eines bestimmten Zeitraumes keine Tumorprogression nachweisbar war. Ein Kollektiv von 49 Patienten erfüllte die vorgegebenen Kriterien (s. Material und Methoden)

Beschreibung der 49 Patienten:

- m/w = 19/30
- Alter: zwischen 12 und 85 Jahren (im Durchschnitt 56 Jahre)
- TU-Stadien bei Blutentnahme:
 - 23 in Stadium I
 - 13 in Stadium II
 - 11 in Stadium III
 - 2 in Stadium IV
- Dauer seit der Erstdiagnose bis zum Zeitpunkt der Nachsorgeuntersuchung mit divergierenden Tumormarkerbefunden: zwischen 1 Monat und 7 Jahren und 7 Monaten (im Durchschnitt 2 Jahre und 3 Monate)
- Therapien: Bei allen Patienten erfolgte eine primäre operative Resektion wobei bei einem Patienten zuvor eine PE-Entnahme erfolgt war und bei einem Patienten eine elektrokaustische Abtragung erfolgt war.
- Nebenbefunde (Neoplasien, Hauterkrankungen, Schwangerschaft):
 - 2 Patienten mit Zweitmelanomen
 - 1 Patient mit Nierenzellkarzinom
 - 1 Patient mit B-Zell-Leukämie
 - 1 Pat. mit Mammakarzinom
 - 2 Pat. mit Vitiligo, 1 Pat. mit Psoriasis
 - 2 Pat. in der Schwangerschaft

- **MIA (ng/ml):**

Mittelwert + Standardabweichung (SA) bei alle Patienten: 8,30 ± 3,27

erhöhte Werte: 12,04 - 16,59; Mittelwert + SA: 13,22 ± 1,21

- **S-100B (pg/ml):**

Mittelwert + SA bei allen Patienten: 156,03 ± 86,55

erhöhte Werte 2002-2003: 150,10 - 508,00; Mittelwert + SA: 182,19 ± 68,60

erhöhte Werte 2004: 121,0 - 375,0; Mittelwert + SA: 200,45 ± 85,56

Abbildung 11: S-100B-Verläufe von 49 Patienten ohne Tumorlast

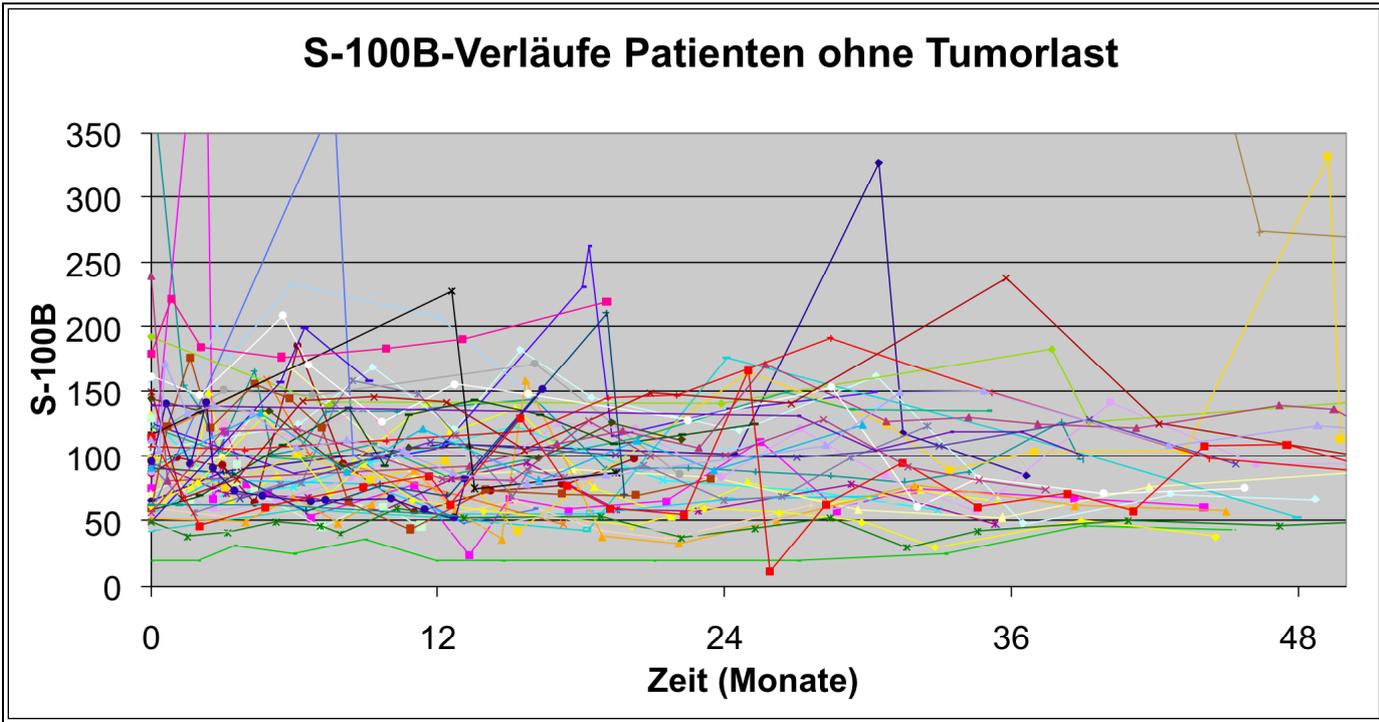
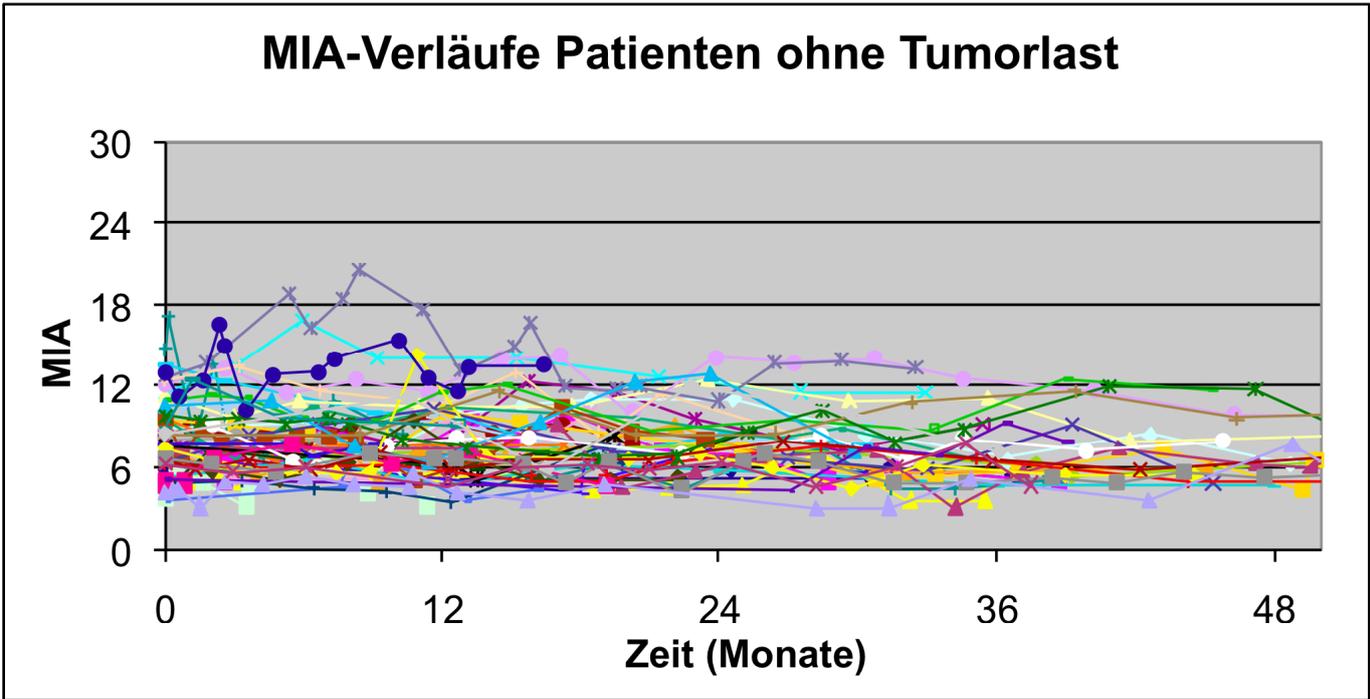


Abbildung 12: MIA-Verläufe von 49 Patienten ohne Tumorlast



3.7. Patienten mit Tumorlast

30 Patienten erfüllten die Kriterien für eine Vergleichsgruppe mit dokumentierter Tumorlast, definiert als Metastasierung bzw. Tumorrezidiv zum Zeitpunkt der Blutentnahme oder im weiteren Verlauf der Tumornachsorge.

Beschreibung der 30 Patienten:

- m/w = 16/14
- Alter: zwischen 35 und 89 Jahren (im Durchschnitt 63 Jahre)
- TU-Stadien bei Blutentnahme:
 - 0 in Stadium I
 - 2 in Stadium II
 - 3 in Stadium III
 - 23 in Stadium IV
- Dauer seit der Erstdiagnose bis zum Zeitpunkt der Nachsorgeuntersuchung mit divergierenden Tumormarkerbefunden: zwischen 1 Monat und 13 Jahren und 8 Monaten (im Durchschnitt 4 Jahre und 2 Monate)
- Therapien: Bei allen Patienten erfolgte eine primäre operative Resektion.
- Nebenbefundliche Hauterkrankungen/Neoplasien:
 - 1 Pat. mit progredienter Vitiligo
 - 1 Pat. mit Prostata-Ca
 - 1 Pat. mit Mamma-Ca
 - 1 Pat. mit Colon-Ca, 1 Pat. mit Rektumadenom mit Neoplasie

- **MIA:**

Mittelwert + Standardabweichung (SA) bei allen Patienten: 11,45 ± 7,59

erhöhte Werte: 12,45 - 42,18; Mittelwert + SA: 18,69 ± 9,27

- **S-100B:**

Mittelwert + SA bei allen Patienten: 172,55 ± 143,64

erhöhte Werte 2002-2003: 150 - 695; Mittelwert + SA: 277,29 ± 174,47

erhöhte Werte 2004: 123 - 316; Mittelwert + SA: 165,13 ± 58,33

Abb. 13: S-100B-Verläufe von 30 Patienten mit Tumorlast

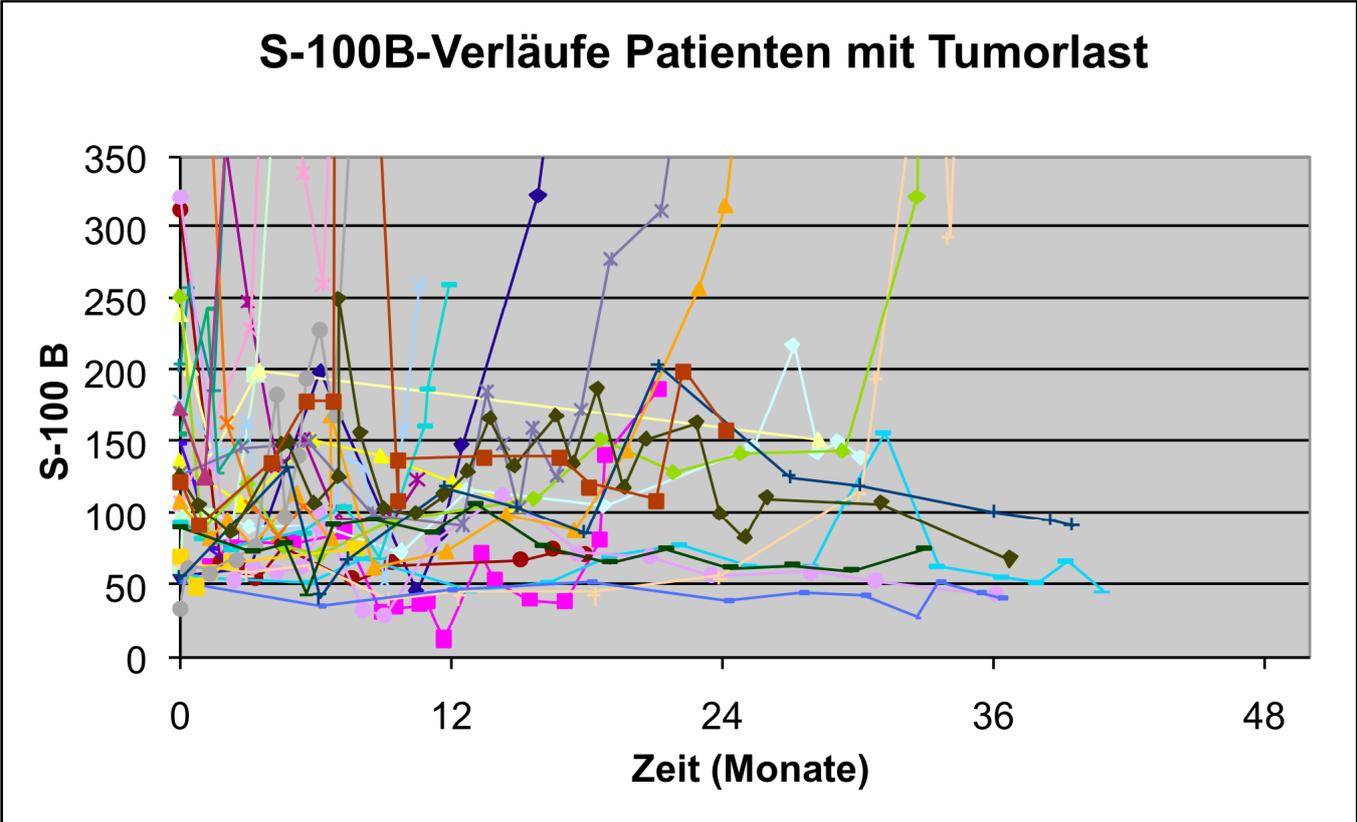
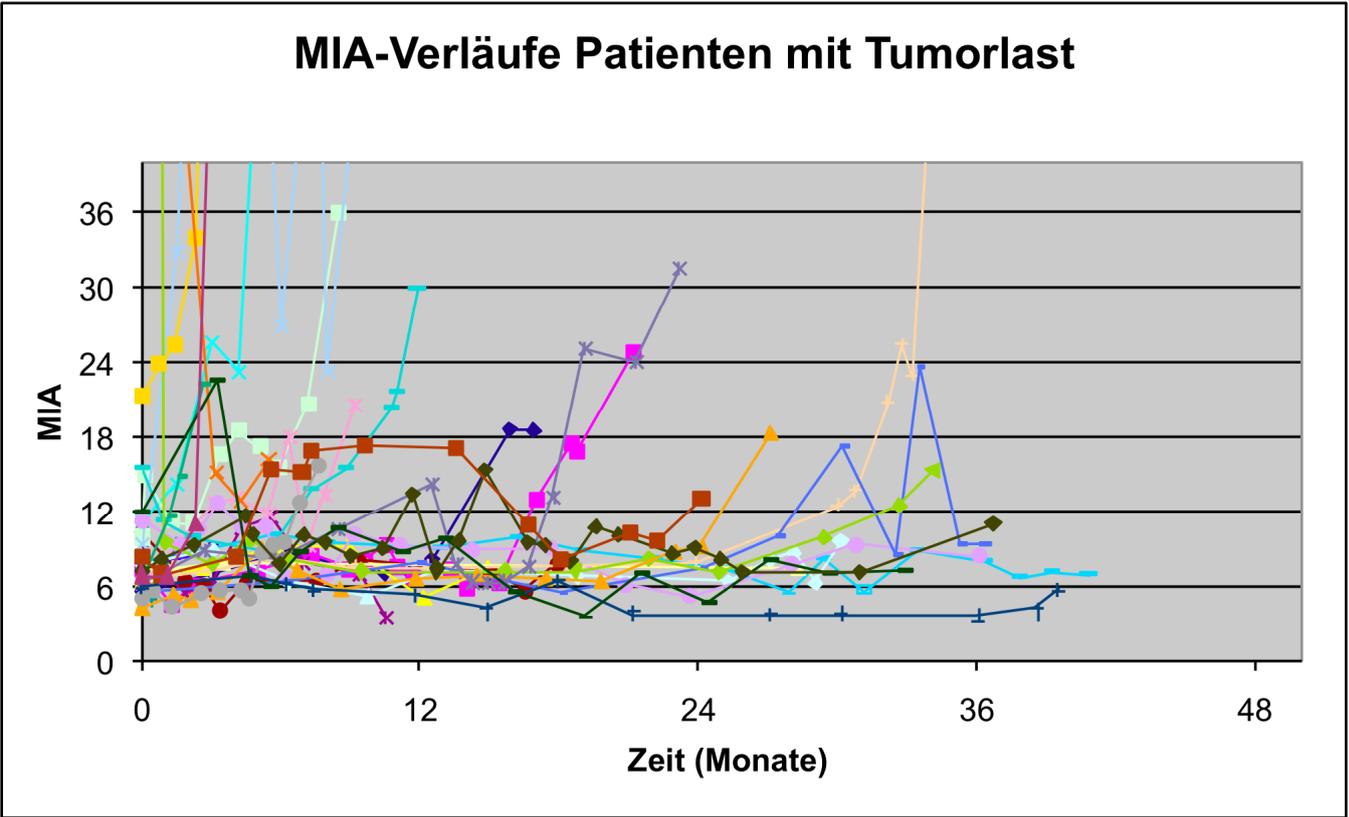
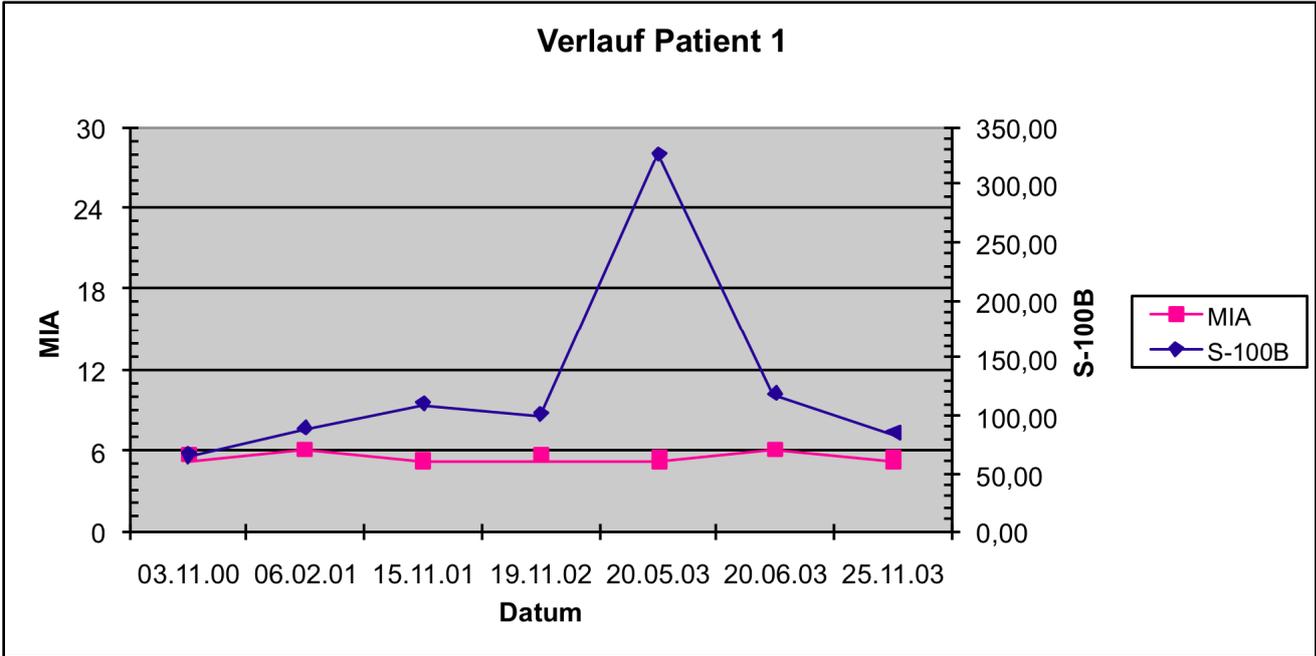


Abb. 14: MIA-Verläufe von 30 Patienten mit Tumorlast



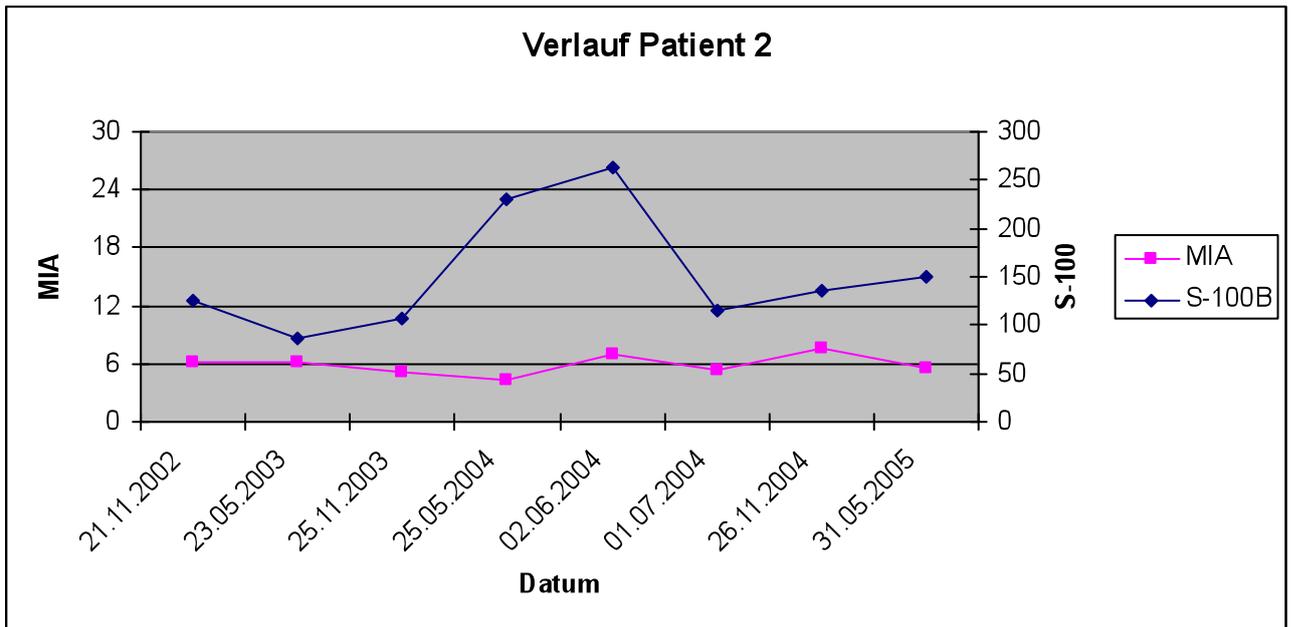
3.8. Auswahl von Tumormarker-Verläufen einzelner Patienten

Abb. 15: Patient 1 mit S-100B peak (Stadium I)



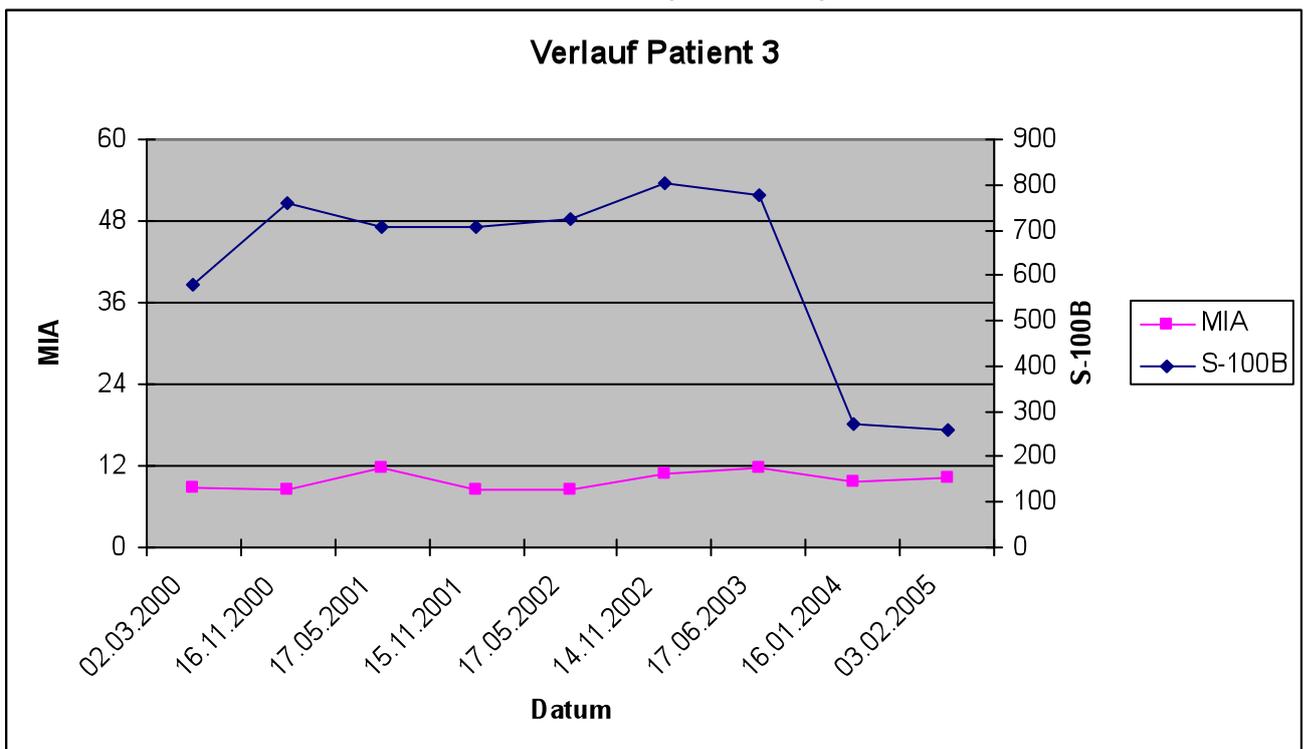
weitere Angaben zu Patient 1: NMM, ED 07/99, TD 1,5mm, CL 3, pT2N0M0, Therapie: PE, NE, SLND

Abb. 16: Patient 2 mit im Verlauf erhöhten S-100B Werten (Stadium I)



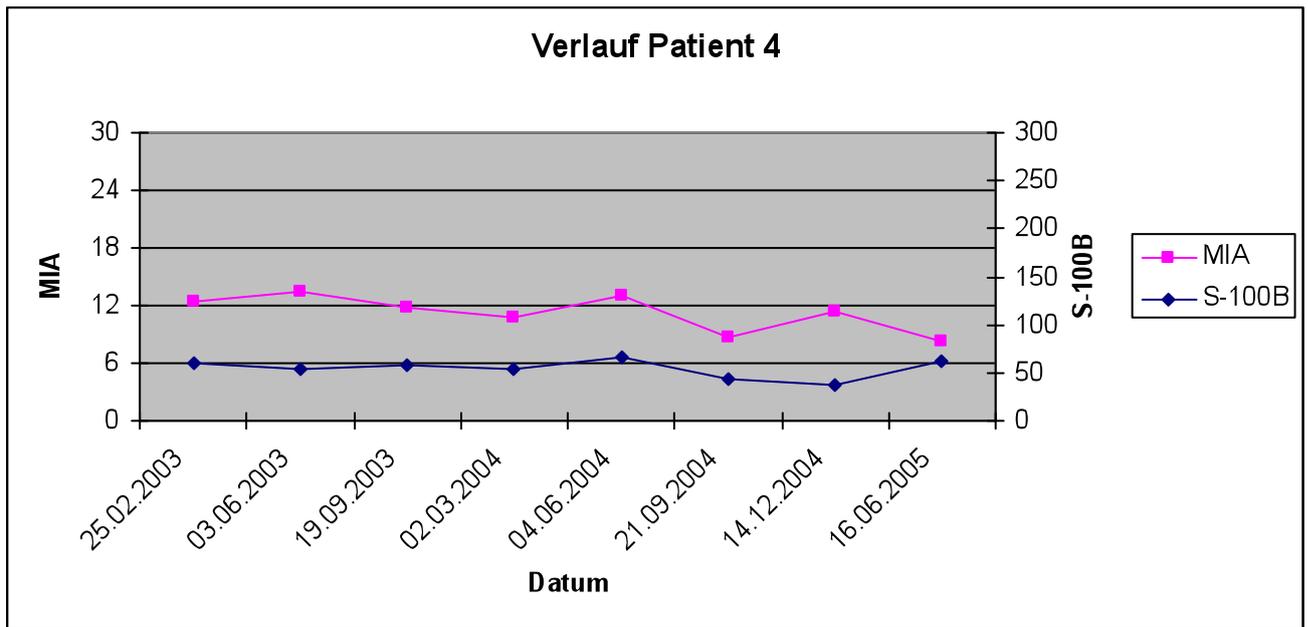
Weitere Angaben zu Pat. 2: 2 SSM, ED 03/04 2000, TD 0,7/0,9mm, CL 3/3, pT1N0M0/pT2N0M0, Therapie jeweils Primärexzision und Nachexzision

Abb. 17: Patient 3 mit Abfall der erhöhten S-100B-Werte nach Änderung der Meßmethode 2004 (Stadium I)



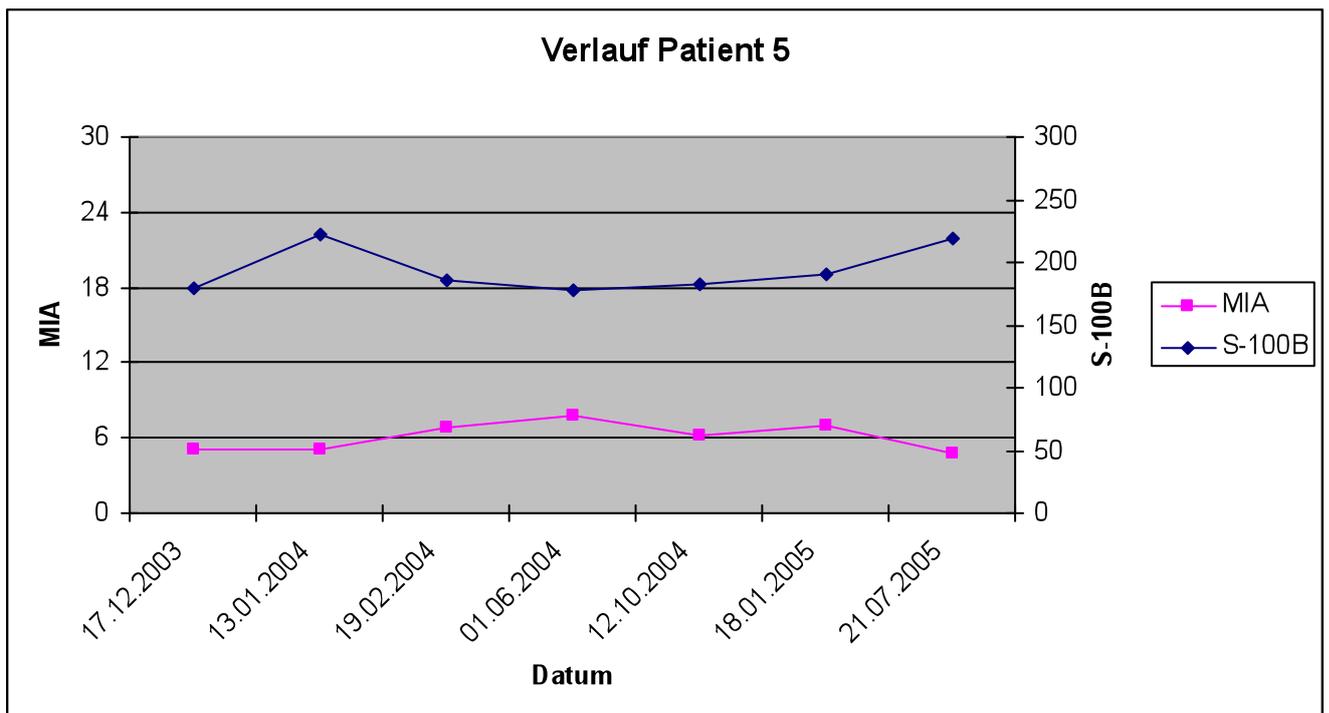
Weitere Angaben zu Pat. 3: SSM, ED 01/97, TD 0,8mm, CL3, pT2N0M0, Therapie: PE, NE

Abb. 18: Patient 4 mit erhöhten MIA-Werten (Stadium I)



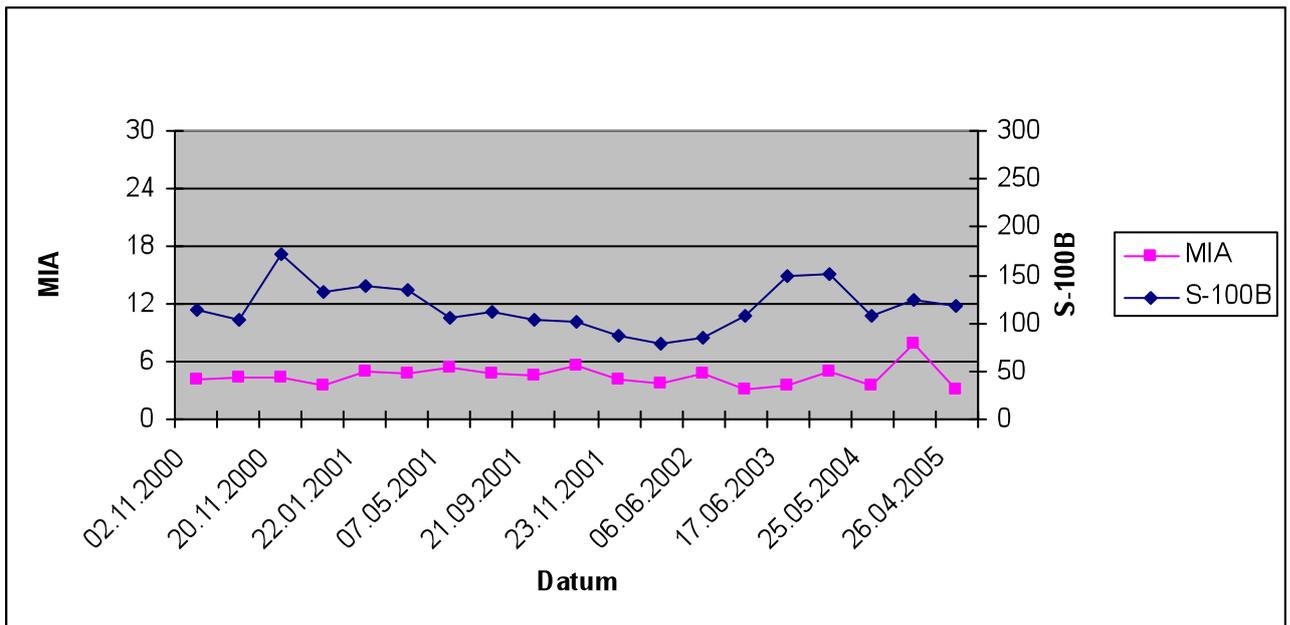
Weitere Angaben zu Pat. 4: NMM ED 11/02, TD 1,3mm, CL 3, pT2N0M0, Therapie: PE, NE, SLND (-)

Abb. 19: Patient 5 mit konstant erhöhten S-100B-Werten (Stadium III)



Weitere Angaben zu Pat.5: SSM, ED 12/03, TD 0,4mm, CL2, pT1N0M0, Therapie: PE,NE; 8.SSW bei letzter Blutentnahme

Abb. 20: Patient 6 mit mehrfachen S-100B-Erhöhungen (Stadium I)



Weitere Angaben zu Pat.6: SSM, ED 08/00, TD 1,8mm, CL IV, pT3N0M0, Therapie: Probeexzision, Primärexzision, Nachexzision, SLND, IFN

4. Diskussion

Ziel der Bestimmung von Tumormarkern ist die Optimierung der Tumornachsorge zusammen mit weiteren diagnostischen Methoden (Sonographie, CT, PET, MRT). Aufgrund der ungünstigen Prognose bei fortgeschrittenem malignem Melanom ist eine frühzeitige Detektierung einer Tumorprogression für die Patienten relevant. Andererseits muß eine Indikations-Abwägung aufwändiger diagnostischer Methoden aufgrund eines einzelnen erhöhten Serumwertes erfolgen.

Im Folgenden wird zunächst die klinische Wertigkeit von S-100B und MIA als Tumormarker in der Melanomnachsorge diskutiert. Darüberhinaus werden Ursachen für eine mögliche „Falsch-Positivität“ erörtert. Abschließend erfolgt eine Zusammenfassung der Ergebnisse dieser Arbeit.

4.1. Ursachen für Variabilität der Tumormarker

Eine zum Zeitpunkt der Kontrolluntersuchung nicht erkannte Progression und somit eine „richtig positive Erhöhung“ der Tumormarker ist als Ursache nicht vollständig auszuschließen, sollte jedoch aufgrund der Verlaufsbeobachtung minimiert werden. Neben der Tumorprogredienz kommen weitere Ursachen für eine Tumormarkererhöhung in Betracht.

4.1.1. Fehlbestimmung/Fehldokumentation

Eine Fehlbestimmung oder Fehldokumentation in den in dieser Arbeit verwendeten Computer-Tabellen lässt sich in der Retrospektive nicht mehr nachvollziehen.

Auffallend war eine Gruppe von 6 Fällen, in denen es zu einem Abfall der S-100B-Werte nach der Änderung der Bestimmungsmethode (ab dem Jahr 2004) in den Normbereich (s. Material und Methoden 2.1./2.2.) kam. Dies spräche für eine Verbesserung der Spezifität der neueren Nachweismethode.

4.1.2. Robustheit der Testmethoden

Auch die Robustheit der Tests für MIA und S-100B ist zu berücksichtigen, in dem Sinne ob eine Beeinflussung durch äußere Faktoren wie Lagerung, Temperatur und Alter der Proben eine Rolle spielen.

Die Stabilität von S-100B und MIA in Vollblut und Serumproben nach Entnahme und bei der Lagerung wurde in einer Studie untersucht. Es zeigte sich ein statistisch signifikanter Anstieg der S-100B-Werte nach Lagerung bei Raumtemperatur über 3 Stunden, daher wurde eine Abtrennung des Serums und sofortiges Einfrieren der Blutproben nach der Blutentnahme für die S-100B-Proben postuliert. MIA erwies sich als stabiler, daher könne die MIA-Proben mindestens 3 Stunden bei Raumtemperatur gelagert werden (Djukanovic et al, 2001).

Eine Multizentrische Studie über das Nachweisverfahren von S-100B mittels Elecsys S100, einem elektrochemischen photometrischen Immunadsorptionstest bestätigte den Test als geeignetes Verfahren in der Tumornachsorge und der Therapiekontrolle von Melanompatienten (Alber et al, 2005).

4.1.3. Grenzwerte

In dieser Arbeit wurden für MIA 12ng/ml und für S-100B 150pg/ml (2002-2003) bzw. 120pg/ml (2004) als Grenzwerte festgelegt. Diese begründeten sich aus den Testmethoden (s. Material und Methoden) und der klinischen Erfahrung in der Melanomnachsorge an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein der Technischen Universität München.

In der Literatur finden sich - wie in der Tabelle dargestellt - unterschiedliche Cut-Off-Werte. In der Studie von Schmitz et al, welche die Spezifität der Tumormarker bestätigte, wurde eine Erhöhung der Cut-Off-Grenzen von bisher 6,5ng/ml für MIA bzw. 120pg/ml für S-100B gefordert (Schmitz et al, 2000).

Die Arbeit über Tumormarker beim Uvea-Melanom von Haritoglou et al aus dem Jahr 2009 legt zwar keine definierten Cut-Off-Werte für MIA fest, gibt jedoch einen Anhalt für Grenzwerte durch die Ermittlung medianer Plasmakonzentrationen von 5,64ng/ml bei Patienten ohne Metastasen und 13,11ng/ml bei nachgewiesener Metastasierung.

Tab.9: Zusammenstellung von Cut-Off-Werten in der Literatur

Quelle/Jahr	Cut-Off S-100B (pg/ml)	Cut-Off MIA (ng/ml)	Kollektiv
Bosserhoff et al 1998		6,5	Gesunde Probanden
Djukanovic et al 2000	120	6,5	Melanom alle Stadien
Schmitz et al 2000	120	6,5	Melanom Stadien I-IV
Juergensen et al 2001	120	4,5	Melanom Stadien I-IV
Tas et al 2004	90	17,4	Melanom alle Stadien
Ugurel 2005	120	8,8	Melanom alle Stadien
Auge et al 2005	200	14	Melanom alle Stadien
Missoten et al 2006	160	14	Uveamelanom
Faries et al 2007	250	8,5	Stadium III

4.1.4. Expression durch Nicht-Melanomzellen

Neben Melanomzellen werden die verwendeten Marker auch von anderen Körperzellen exprimiert.

4.1.4.1. S-100B

S-100B wird - im Gegensatz zu S-100A - nur von Nervenzellen, Knorpelzellen, Fettzellen und melanozytären Zellen exprimiert. Daher kam S-100B als Indikator eines akuten Hirnschadens zum Einsatz, bevor eine Beschreibung als Melanommarker erfolgte (Ugurel, 2005). Weitere Ursachen für eine S-100B-Erhöhung neben der Melanomprogression können ZNS-Schädigungen, Gliome oder Histiozytome, Schädigung der Leber- und Nierenfunktion sein (Ugurel 2005). Auch bei Patienten mit gastrointestinalen Karzinomen, insbesondere in fortgeschrittenen Stadien, konnten erhöhte Serumwerte für S-100B - wie auch für MIA - gemessen werden (Wagner et al, 2000).

4.1.4.2. MIA

Für MIA ist eine Expression durch Knorpelzellen beschrieben. Basierend auf dieser Expression durch Chondrozyten wurde MIA auch als möglicher Serummarker für rheumatoide Erkrankungen mit Gelenkentzündungen und/oder Gelenkdestruktionen

untersucht (Muller-Ladner et al 1999). Eine signifikante Erhöhung war nur bei Patienten mit rheumatoider Arthritis, in Assoziation zum Rheumafaktor, nachweisbar. Als Marker für die Gelenkdestruktion bei Patienten mit rheumatoider Arthritis hat sich MIA jedoch im klinischen Alltag nicht etabliert.

Neben dem Nachweis im Serum konnte MIA auch in situ in fortgeschrittenen Mammakarzinom-Präparaten nachgewiesen werden, im Gegensatz zu Präparaten von Basaliomen oder Schleimhautkarzinomen (Bosserhoff et al 1999).

Darüberhinaus erfolgte ein Nachweis in Tumorgewebe von Chondrosarkomen, und seltener von Adenokarzinomen, u. a. Mammakarzinomen und Kolonkarzinomen (Bosserhoff und Buettner, 2002).

Eine Studie von Hau et al (2002) zeigte die Expression von MIA durch unterschiedliche Malignome von neuroektodermalem Ursprung.

4.1.5. Weitere Ursachen für Variabilität der Tumormarker

Patienten mit habitueller Erhöhung von S-100B bzw. einem fehlenden Anstieg der S-100B-Werte auch bei nachweislicher Metastasierung wurden beschrieben. Bei Kleinkindern wurden deutlich erhöhte Serumkonzentrationen gefunden woraus sich ein erhöhter Normbereich und Schwellenwert für diese Altersgruppe ergibt (Ugurel 2005).

Auch eine Abhängigkeit der S-100B-Serumwerte von der ethnischen Zugehörigkeit wurde beschrieben, wobei Asiaten und Afroamerikaner gegenüber Kauasiern erhöhte Serum-Mittelwerte von S-100B aufwiesen (Abdesselam et al, 2003).

Weiterhin wurde in einer Studie gezeigt, dass S-100B nicht als verlässlicher Serummarker in Betracht gezogen werden kann wenn die Immunhistochemie des Primärtumorpräparates nicht stark positiv war (Banfalvi et al, 2003).

Bei Kindern bis 17 Jahren und Schwangeren ab der 38.SSW waren signifikante Erhöhungen von MIA im Serum nachweisbar a. e. aufgrund der Chondrozyten-expression (Bosserhoff, Küster, Hein 2004), so dass die Bestimmung von MIA in der Spätschwangerschaft, sowie bei Kindern und Jugendlichen bis zu 17 Jahren hinsichtlich einer eventuellen Melanomdiagnostik nicht hilfreich ist.

Für Pankreastumorzellen ist eine erhöhte MIA-Expression beschrieben welche möglicherweise die Invasivität der Tumorzellen reflektiert (El Fitori et al 2005).

In einer Studie aus dem Jahr 2000 wurden MIA und S-100B im Serum von Patienten mit gastrointestinalen Tumoren (kolorektales Karzinom, Magenkarzinom, hepatozelluläres Karzinom, cholangiozelluläres Karzinom und Gallenblasenkarzinom) untersucht. Hier zeigten sich variabel positive Werte bei Patienten in fortgeschrittenen Tumorstadien (Wagner et al, 2000).

4.2. Sind S-100B und MIA geeignet als Tumormarker des Malignen Melanoms?

In mehreren grundlegenden Untersuchungen erwiesen sich MIA und S-100B als verlässliche Tumormarker in der Therapieüberwachung und Detektierung einer Progression bei Melanompatienten. In einer beispielhaften Studie lagen die Raten für „falsch positive“ und „falsch negative“ Markerbefunde für S-100B jeweils bei 20%, MIA war in 8% „falsch positiv“ und in 32% „falsch negativ“ (Djukanovic et al, 2000).

4.2.1. S-100B

In einer Studie aus dem Jahr 1996 an Melanom Patienten der Stadien I-III konnte die prognostische Relevanz von S-100B, gemessen im Serum der Patienten nachgewiesen werden. Die Datenlage legte einen Einsatz in der Überwachung des Therapieansprechens und der Identifikation von Hochrisiko-Fällen nahe (v. Schoultz et al, 1996).

Die Serumwerte von S-100B zeigten eine deutliche Korrelation mit dem Tumorstadium. So fanden sich bei Patienten im Stadium I und II nur in 15% erhöhte Werte, während 60-85% der Stadium IV Patienten erhöhte S-100B Werte aufwiesen. Im Stadium III (regionaler Lymphknotenbefall) variierten die beobachteten Werte stark. Zwischen 10 und 50% der Stadium III Patienten zeigten erhöhte Werte. (Schmitz et al, 2000).

Eine extensive Folgestudie mit über 1,000 malignen Hautmelanom-Patienten bestätigte die Korrelation zwischen Tumorstadium und Erhöhung der S-100B-Werte,

insbesondere die starke Erhöhung bei Patienten im Stadium III und IV (Mårtenson et al, 2001).

Unterstützt wurde der Einsatz von S-100B im Serum als Marker für die Tumorprogression fortgeschrittener Melanome und die Therapieüberwachung durch weitere Studien (Henze et al 1997, Hauschild et al, 04/1999, Hauschild et al 06/1999). In einer dieser Untersuchungen war das krankheitsfreie Intervall bei niedrigen S-100B Werten 26,2 Monate länger im Vergleich zu Patienten mit erhöhten S-100B Werten. Patienten mit niedrigen S-100B Werten überlebten nahezu 30 Monate länger (Hauschild et al, 1999).

Patienten mit initial hohen S-100B-Werten hatten einen ungünstigeren Verlauf der Melanomerkrankung und weniger Remissionen als Patienten mit initial niedrigen S-100B-Werten (Jury et al, 2000).

Im Vergleich mit 5-S-Cysteinyl-dopa und LDH bei Melanompatienten der Stadien III und IV zeigte S-100B eine höhere Spezifität und Sensitivität gegenüber LDH sowie eine vergleichbare Sensitivität und höhere Spezifität gegenüber 5-S-Cysteinyl-dopa (Banfalvi et al, 2002).

Bei Patienten in Stadium IV unter Therapie (Temozolomid, kombinierte Zytokin-Immunotherapie) ließ sich die prognostische Relevanz der S-100B-Werte bezüglich der Überlebensdauer (längere Überlebensdauer bei normalen S-100B-Serumwerten) ebenfalls belegen. Patienten mit normalen S-100B-Serumwerten konnte ein verlängertes Überleben vorhergesagt werden (Smit et al, 2005).

S-100B als Serummarker wurde u.a. auch in Zusammenhang mit der Sentinellymphknoten-Biopsie untersucht (Smit et al, 2005). Es fand sich keine Aussagefähigkeit über den Befall des Sentinel-LK anhand der S-100B-Werte vor der Biopsie. Ein Anstieg der S-100B-Werte war jedoch spezifisch für ein Melanomrezidiv. S-100B konnte als guter Indikator der Tumorlast zur Rezidivfrüherkennung tumorfreier Patienten sowie dem Therapiemonitoring und der Verlaufsbeurteilung bei metastasierten Melanomen bestätigt werden (Ugurel 2005).

Zusammenfassend besteht aufgrund der Ergebnisse zahlreicher Studien kein Zweifel an der klinischen Relevanz von S-100B als Tumormarker, wobei allerdings Einschränkungen hinsichtlich der Spezifität und Sensitivität zu berücksichtigen sind.

4.2.2. MIA

Als neuer Melanom-Tumormarker im Serum wurde MIA 1997 beschrieben (Bossert et al). Mittels ELISA erfolgte die Bestimmung aus dem Serum von Melanompatienten, wobei MIA bei 100% der Stadium-IV-Patienten nachweisbar war. Auch in der Verlaufsbeobachtung konnte bei 15 von 32 Patienten mit erhöhten MIA-Werten in der Tumornachsorge eine Metastasierung nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu fand sich in der Verlaufsbeobachtung über 6-12 Monate kein Hinweis auf eine Metastasierung in der Gruppe der Patienten mit normalen MIA-Serumwerten. Im Vergleich zu S-100B und dem löslichen interzellulären Adhäsionsmolekül 1 erwies sich MIA als sensitiver. Somit war MIA als Tumormarker einsetzbar im Staging, der Nachsorge und dem Therapie-Monitoring des Malignen Melanoms.

Weitere Studien (Stahlecker et al, 2000, Bossert et al 2001) bestätigten MIA als einen geeigneten Tumormarker für die Detektierung von Metastasen, die Verlaufsbeobachtung und Therapieüberwachung des Malignen Melanoms, insbesondere auch des Uvea-Melanoms (Reiniger et al 2005, Haritoglou et al 2009). Nicht alle Melanomformen scheinen indes in gleichem Maße zur Erhöhung der MIA-Werte im Serum beizutragen: signifikant unterschiedliche Werte fanden sich z.B. bei klassisch-nodulären Hautmelanomen im Vergleich zu akral-lentiginösen Melanomen (Auge et al, 2005).

Durch die bisherigen Studien hatten sich 2005 beide Marker zusammen mit LDH in der klinischen Kontrolle des Krankheitsverlaufs und des Therapieerfolgs sowie der prognostischen Beurteilung fernmetastasierter Tumorstadien etabliert. In der Primärdiagnostik des Malignen Melanoms oder dem Melanom-Screening konnten sie nicht eingesetzt werden (Ugurel, 2005).

Eine Studie aus dem Jahr 2008 untersuchte die MIA-Serumwerte bei Melanompatienten mit und ohne positiven Befall des Sentinellymphknotens im Vergleich zu zwei Kontrollgruppen mit dysplastischen Nävi bzw. Basalzellkarzinomen. Es zeigte sich eine signifikante Erhöhung von MIA in der Gruppe der Patienten mit positivem Sentinellymphknoten und im Vergleich zu den Klassifikationen nach Clark und Breslow eine überlegene prognostische Methode zur Beurteilung des Sentinellymphknotenbefalls (Vucetic et al 2008).

4.3. Vergleiche zu weiteren Markern/Testmethoden in der Melanomnachsorge

In einem Vergleich von Tumormarkern bei Patienten mit Malignem Melanom im Stadium IV von 1999 erwiesen sich MIA, S-100B und die Laktatdehydrogenase (LDH) als Serummarker der Tumorprogression, wobei die LDH der einzige statistisch signifikante Marker der Tumorprogression war (Deichmann et al 1999).

Im direkten Vergleich zwischen einem Multimarker RT-PCR Ansatz für Tyrosinase, Melan-A, MAGE-3, gp100 und p97 und der Bestimmung von S-100B bei Stadium III und IV Patienten war die Bestimmung von S-100B die sensitivere Methode zur Entdeckung von metastasierenden Tumoren (Berking et al, 1999).

Als weitere Tumormarker für das Melanom wurde die L-Dopa/L-Tyrosin-Ratio untersucht (Stoitchkov et al, 2002). Wie für S-100B konnte eine Korrelation der L-Dopa/L-Tyrosin-Ratio mit der Tumorprogression nachgewiesen werden.

Eine im Jahr 2001 veröffentlichte Studie zum Vergleich von Tumormarkern des Malignen Melanoms zeigte eine Überlegenheit von S-100B gegenüber MIA, LDH und Albumin bei Patienten mit neu-aufgetretenen Metastasen (Krähn et al, 2001).

Bezüglich der Detektion des Ansprechens auf eine Therapie konnte in einer Studie von Deichmann et al keine Überlegenheit von S-100B und MIA gegenüber LDH und CRP gezeigt werden. Das C-reaktive Protein erwies sich in dieser Studie als der relevanteste Tumormarker (Deichmann et al, 2001).

Eine im Jahr 2003 veröffentlichte Studie in der Nachsorge von Melanompatienten im Stadium II und III verglich die diagnostische Wertigkeit und prognostische Signifikanz von MIA, S-100B, LDH, Albumin und Tyrosinase/MART-1 Reverse-Transkriptase PCR (RT-PCR). Es zeigte sich eine höhere Sensitivität, Spezifität und diagnostische Genauigkeit von MIA und S-100B gegenüber LDH, Albumin und RT-PCR (Garbe et al 2003).

Der Vergleich von S-100B-Serumwerten mit 18F-FDG-PET-Untersuchungen und klinischen Daten bestätigte S-100B als nützvollen Marker zur Detektion von Fernmetastasen, wobei die PET-Untersuchung bezüglich des Lymphknotenstaging überlegen war (Reinhardt et al, 2002).

In einer Studie bezüglich der prognostischen Relevanz bei Metastasierung bei Patienten mit Uvea-Melanom von MIA und S-100B mit Leberfunktionsmarkern wie

LDH, AP, GOT, GPT, GGT konnte keine prognostische Relevanz für MIA und S-100B nachgewiesen werden (Missotten et al, 2007). Eine andere ophthalmologische Studie, welche die Marker Osteopontin (OPN) und MIA untersuchte, zeigte eine signifikante Erhöhung beider Marker in metastasierten Tumorstadien und somit Verwendung als Tumormarker beim Uvea-Melanom (Haritoglou et al, 2009).

Eine weitere Vergleichsstudie der Marker S-100B, MIA LDH und L-DOPA/Tyrosin-Ratio in der Verlaufsbeurteilung von Melanompatienten (Stadium I-IV) erbrachte Hinweise auf eine nützliche Kombination von L-DOPA/Tyrosin-Ratio mit S-100B in der Melanomnachsorge. Alle Marker zeigten eine prognostische Relevanz bei weit fortgeschrittenen Tumorstadien. MIA und S-100B erwiesen sich als beste prognostische Faktoren der Überlebenszeit (Garnier et al 2007).

In einem Vergleich der Serummarker MIA, S-100, LDH und Tyrosinase durch Lugovic et al (2007) fanden sich in aller Tumorstadien keine statistisch signifikanten Unterschiede, woraus gefolgert wurde, Serummarker hätten keine prognostische Relevanz bezüglich einer Progression des Malignen Melanoms.

Ebenfalls im Jahr 2007 wurden die Tumormarker S-100B und MIA sowie dem TA90-Immunkomplex (TA90-IC) bei Patienten mit Malignem Melanom im Stadium III verglichen. Es fand sich eine komplementäre Erhöhung von MIA und TA90-IC bei Patienten vor einer Tumorprogression (Faries et al, 2007).

Eine Langzeit-Studie aus dem Jahr 2008 verglich die prognostische Aussagekraft der Serummarker S-100B und LDH bei Patienten mit malignem Melanom im Stadium IV. S-100B erwies sich als aussagekräftiger Faktor bei der Prognose des Gesamt- und Langzeitüberlebens und zeigte eine Überlegenheit gegenüber der LDH (Egberts et al, 2008). In einer prospektiven Studie mit Hochrisiko-Melanompatienten konnte für S-100B eine hohe Spezifität mit geringerer Sensitivität für die Detektion früher Fernmetastasierung gezeigt werden. Eine lokoregionäre Metastasierung mit geringer Tumormasse konnte weder durch S-100B noch durch LDH detektiert werden (Egberts et al, 2009).

4.4. Aussagen über Sensitivität und Spezifität

Eine höhere Sensitivität von MIA und somit Einsetzbarkeit als prognostischer Marker im Vergleich zu S-100B wurde von Tas et al (2004) beschrieben. Hierzu hatten die Autoren Serumuntersuchungen bei Patienten mit Malignem Melanom in den Stadien I-IV durchgeführt.

Die Anwendung beider Tumormarker (S-100B und MIA) gleichzeitig wurde 2005 in einer Studie von Auge et al untersucht. Es fand sich eine erhöhte Sensitivität (69,8%) bei gleichbleibender Spezifität (96,8%) durch die Kombination der beiden Marker. Für MIA zeigte sich eine Korrelation zum Wachstumstyp mit höheren Werten bei Patienten mit nodulärem MM als bei Patienten mit akrolentiginösem MM. S-100B dagegen zeigte statistisch signifikant höhere Werte und eine höhere Sensitivität in Korrelation zum Metastasierungsmuster mit höchsten Werten bei Hirnmetastasen und niedrigsten bei Lungenmetastasen (Auge et al 2005).

Sensitivitäts- und Spezifitätsuntersuchungen von S-100B und MIA im Rahmen einer prospektiven Studie bei primär nicht-metastasierten Melanompatienten mit einer Tumordicke nach Breslow $>0,75\text{mm}$ ergaben eine höhere Sensitivität und Spezifität von S-100B gegenüber MIA bezüglich der Metastasen-Detektion in dieser Gruppe (Loppin et al, 2007).

Für fortgeschrittene Tumorstadien III und IV wurde die Eignung als Tumormarker von Juergensen et al bestätigt, wobei MIA gegenüber S-100B eine gering höhere Spezifität und Sensitivität zeigte (Juergensen et al, 2000).

5. Zusammenfassung

Im Rahmen der Fragestellung wurden in dieser Arbeit zunächst mögliche „falsch-positive“ Werte von S-100B und MIA aus dem Patientenkollektiv der Melanomnachsorge ermittelt. Es fanden sich deutlich mehr Fälle mit „falsch positiver“ Erhöhung von S-100B (36 von 49 Patienten) als von MIA (13 von 49 Patienten).

In der Gruppe der Patienten ohne Tumorlast waren der MIA-Mittelwert niedriger und die Standardabweichung geringer im Vergleich zur Gruppe mit Tumorlast (s. 3.6.). Im untersuchten Kollektiv lag die Spezifität für MIA bei 73%, für S-100B bei 26%. Die Sensitivität für MIA bei 36% und für S-100B bei 63%.

In der Tumornachsorge erscheint ein einzelner Tumormarker-Wert aufgrund der möglichen Ursachen einer Erhöhung im „falsch-positiven“ Sinne erst in der Verlaufsbeobachtung aussagekräftig. Daher wurden die einzelnen punktuellen Werte in den Zusammenhang mit den weiteren erhobenen Verlaufswerten gebracht um eine Aussage über den Verlauf - und somit die Bedeutung des einzelnen Wertes - treffen zu können. Es fanden sich Verläufe, bei denen sich ein einzelner Peak für S-100B ergab mit gleichzeitiger Konstanz der MIA-Werte (s. 3.8. Pat.1). Andere Verläufe zeigten mehrfache peaks bzw. temporär erhöhte Werte von S-100B, die im Verlauf wieder in den Normbereich abfielen (s. 3.8., Pat. 2, Pat.6). Ursächlich können - bei fehlendem Hinweis auf Tumorprogression - die oben angeführten Gründe für Variabilität der Tumormarker sein.

Darüberhinaus fanden sich die unter 4.1.1. beschriebenen Verläufe mit Abfall der erhöhten S-100B-Werte nach Änderung der Nachweismethode 2004 (s. 3.8., Pat. 3.). Andere Patientenverlaufskurven wiederum zeigten eine konstante Erhöhung eines der beiden Tumormarker über den jeweiligen Beobachtungszeitraum (s. 3.8., Pat. 4, Pat. 5.). Auch bei diesen Patienten bestand eine klinische Tumorfreiheit, so dass möglicherweise eine konstitutionell-bedingte bzw. nicht-Melanom-assoziierte Erhöhung anzunehmen ist.

Diese exemplarischen Beobachtungen sprechen dafür, dass zum einen erst in der Verlaufsbeobachtung zum anderen in der Betrachtung des jeweils anderen Tumormarkers zum selben Zeitpunkt der Bestimmung eine prognostisch relevante Aussage getroffen werden kann. Dabei finden sich für beide Marker sowohl „falsch-positive“ (in dieser Arbeit häufiger für S-100B), als auch „falsch-negative“ Werte.

Zusammenfassend lassen sich die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten dahingehend interpretieren, dass die kombinierte Bestimmung der beiden Tumormarker S-100B und MIA bei jeder Serumkontrolle in der Tumornachsorge des Malignen Melanoms den besten prognostischen Nutzen für den Patienten beinhaltet.

Abbildungen und Tabellen

Abbildung 1:	Malignes Melanom	S. 12
Abbildung 2:	Antikörperbindung an S-100	S. 21
Abbildung 3:	Ermittlung der Photoemission in RLU	S. 21
Abbildung 4:	Kalibrierungskurve (RLU/S-100B-Konzentration)	S. 22
Abbildung 5:	Schematische Darstellung der Patientenauswahl	S. 25
Abbildung 6:	Auswertung von 3170 Serumproben	S. 28
Abbildung 7:	Verteilung der S-100B-Werte	S. 29
Abbildung 8:	Verteilung der MIA-Werte	S. 29
Abbildung 9:	Verhalten von S-100B und MIA	S. 30
Abbildung 10:	Korrelation der beiden Tumormarker	S. 32
Abbildung 11:	S-100B-Verläufe von Patienten ohne Tumorlast	S. 37
Abbildung 12:	MIA- Verläufe von Patienten ohne Tumorlast	S. 37
Abbildung 13:	S-100B-Verläufe von Patienten mit Tumorlast	S. 39
Abbildung 14:	MIA- Verläufe von Patienten mit Tumorlast	S. 39
Abbildung 15:	Patient 1 mit S-100B-peak	S. 40
Abbildung 16:	Patient 2 mit im Verlauf erhöhten S-100B-Werten	S. 41
Abbildung 17:	Patient 3 mit Abfall der erhöhten S-100B-Werte nach Änderung der Meßmethode im Jahr 2004	S. 41
Abbildung 18:	Patient 4 mit erhöhten MIA-Werten	S. 42
Abbildung 19:	Patient 5 mit konstant erhöhten S-100B-Werten	S. 42
Abbildung 20:	Patient 6 mit mehrfacher S-100B-Erhöhung	S. 43
Tabelle 1:	TNM-Klassifikation nach AJCC 2002	S. 13
Tabelle 2:	Stadieneinteilung des Malignen Melanoms	S. 14
Tabelle 3:	Intervalle der Untersuchungen in der Tumornachsorge	S. 17
Tabelle 4:	Vierfeldertafel bzgl. der Tumormarker	S. 27
Tabelle 5:	Auswertung und Korrelation der Serumwerte für S-100B und MIA nach Jahren	S. 31
Tabelle 6:	Patientenkollektiv mit diverg. Werten der TU-Marker	S. 33
Tabelle 7:	Sensitivität und Spezifität für MIA	S. 35
Tabelle 8:	Sensitivität und Spezifität für S-100B	S. 35
Tabelle 9:	Zusammenstellung der Cut-off-Werte in der Literatur	S. 46

Literaturverzeichnis

- **Abbasi NR**, Shaw HM, Rigel DS, Friedman RJ, McCarthy WH, Osman I, Kopf AW, Polsky D. Early diagnosis of cutaneous melanoma: revisiting the ABCD criteria. *JAMA*. 2004 Dec 8;292(22):2771-6.
- **Aitken JF**, Duffy DL, Green A, Youl P, MacLennan R, Martin NG. Heterogeneity of melanoma risk in families of melanoma patients. *Am J Epidemiol*. 1994 Dec 1;140(11):961-73.
- **Aitken JF**, Bailey-Wilson J, Green AC, MacLennan R, Martin NG. Segregation analysis of cutaneous melanoma in Queensland. *Genet Epidemiol*. 1998;15(4):391-401.
- **AJCC**. Summary of changes. Understanding the Changes from the sixth to the seventh Edition of the AJCC Cancer Staging Manual. www.cancerstaging.org/staging/index p16. Stand 27.03.2010
- **Alber B**, Hein R, Garbe C, Caroli U, Lippa PB. Multicenter evaluation of the analytical and clinical performance of the Elecsys S100 immunoassay in patients with malignant melanoma. *Clin Chem Lab Med*. 2005;43(5):557-63.
- **Auge JM**, Molina R, Filella X, Bosch E, Gonzalez Cao M, Puig S, Malvehy J, Castel T, Ballesta AM. S-100beta and MIA in advanced melanoma in relation to prognostic factors. *Anticancer Res*. 2005 May-Jun;25(3A).
- **Balch CM**, Soong SJ, Atkins MB, Buzaid AC, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A Jr, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA, Thompson JF. An evidence-based staging system for cutaneous melanoma. *CA Cancer J Clin*. 2004 May-Jun;54(3):131-49.
- **Bánfalvi T**, Boldizsár M, Gergye M, Gilde K, Kremmer T, Ottó S. Comparison of prognostic significance of serum 5-S-Cysteinyldopa, LDH and S-100B protein in Stage III-IV malignant melanoma. *Pathol Oncol Res*. 2002;8(3):183-7.
- **Bánfalvi T**, Udvarhelyi N, Orosz Z, Gergye M, Gilde K, Tímár J. Heterogenous S-100B protein expression patterns in malignant melanoma and association with serum protein levels. *Oncology*. 2003;64(4):374-9.
- **Bastian BC**. Molecular genetics of melanocytic neoplasia: practical applications for diagnosis. *Pathology*. 2004 Oct;36(5):458-61.

- **Begg CB**, Hummer A, Mujumdar U, Armstrong BK, Krickler A, Marrett LD, Millikan RC, Gruber SB, Anton-Culver H, Klotz JB, Zanetti R, Gallagher RP, Dwyer T, Rebbeck TR, Berwick M; GEM Study Group. Familial aggregation of melanoma risks in a large population-based sample of melanoma cases. *Cancer Causes Control*. 2004 Nov;15(9):957-65.
- **Begg CB**, Orlow I, Hummer AJ, Armstrong BK, Krickler A, Marrett LD, Millikan RC, Gruber SB, Anton-Culver H, Zanetti R, Gallagher RP, Dwyer T, Rebbeck TR, Mitra N, Busam K, From L, Berwick M; Genes Environment and Melanoma Study Group. Lifetime risk of melanoma in CDKN2A mutation carriers in a population-based sample. *J Natl Cancer Inst*. 2005 Oct 19;97(20):1507-15.
- **Ben Abdesselam O**, Vally J, Adem C, Foglietti MJ, Beaudeau JL. Reference values for serum S-100B protein depend on the race of individuals. *Clin Chem*. 2003 May;49(5):836-7.
- **Berking C**, Schlüpen EM, Schrader A, Atzpodien J, Volkenandt M. Tumor markers in peripheral blood of patients with malignant melanoma: multimarker RT-PCR versus a luminoimmunometric assay for S-100. *Arch Dermatol Res*. 1999 Sep;291(9):479-84.
- **Bosserhoff AK**, Kaufmann M, Kaluza B, Bartke I, Zirngibl H, Hein R, Stolz W, Buettner R. Melanoma-inhibiting activity, a novel serum marker for progression of malignant melanoma. *Cancer Res*. 1997 Aug 1;57(15):3149-53.
- **Bosserhoff AK**, Moser M, Hein R, Landthaler M, Buettner R. In situ expression patterns of melanoma-inhibiting activity (MIA) in melanomas and breast cancers. *J Pathol*. 1999 Mar;187(4):446-54.
- **Bosserhoff AK**, Echtenacher B, Hein R, Buettner R. Functional role of melanoma inhibitory activity in regulating invasion and metastasis of malignant melanoma cells in vivo. *Melanoma Res*. 2001 Aug;11(4):417-21.
- **Bosserhoff AK**, Dreau D, Hein R, Landthaler M, Holder WD, Buettner R. Melanoma inhibitory activity (MIA), a serological marker of malignant melanoma. *Recent Results Cancer Res*. 2001;158:158-68.
- **Bosserhoff AK**, Buettner R. Expression, function and clinical relevance of MIA (melanoma inhibitory activity). *Histol Histopathol*. 2002 Jan;17(1):289-300.
- **Bosserhoff AK**, Küster H, Hein R. Elevated MIA levels in the serum of pregnant women and of children. *Clin Exp Dermatol*. 2004 Nov;29(6):628-9.

- **Bosserhoff AK.** Melanoma inhibitory activity (MIA): an important molecule in melanoma development and progression. *Pigment Cell Res.* 2005 Dec;18(6).
- **Curtin JA,** Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, Cho KH, Aiba S, Bröcker EB, LeBoit PE, Pinkel D, Bastian BC. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med.* 2005 Nov 17;353(20):2135-47.
- **Deichmann M,** Benner A, Bock M, Jäckel A, Uhl K, Waldmann V, Näher H. S100-Beta, melanoma-inhibiting activity, and lactate dehydrogenase discriminate progressive from nonprogressive American Joint Committee on Cancer stage IV melanoma. *J Clin Oncol.* 1999 Jun;17(6):1891-6.
- **Deichmann M,** Benner A, Kuner N, Wacker J, Waldmann V, Näher H. Are responses to therapy of metastasized malignant melanoma reflected by decreasing serum values of S100beta or melanoma inhibitory activity (MIA)? *Melanoma Res.* 2001 Jun;11(3):291-6.
- **de Snoo FA,** Hayward NK. Cutaneous melanoma susceptibility and progression genes. *Cancer Lett.* 2005 Dec 18;230(2):153-86.
- **Djukanovic D,** Hofmann U, Sucker A, Rittgen W, Schadendorf D. Comparison of S100 protein and MIA protein as serum marker for malignant melanoma. *Anticancer Res.* 2000 May-Jun;20(3B):2203-7.
- **Djukanovic D,** Hofmann U, Sucker A, Schadendorf D. Melanoma tumour markers S100B and MIA: evaluation of stability in serum and blood upon storage and processing. *Br J Dermatol.* 2001 Dec;145(6):1030-1.
- **Egberts F,** Pollex A, Egberts JH, Kaehler KC, Weichenthal M, Hauschild A. Long-term survival analysis in metastatic melanoma: serum S100B is an independent prognostic marker and superior to LDH. *Onkologie.* 2008 Jul;31(7):380-4.
- **Egberts F,** Hitschler WN, Weichenthal M, Hauschild A. Prospective monitoring of adjuvant treatment in high-risk melanoma patients: lactate dehydrogenase and protein S-100B as indicators of relapse. *Melanoma Res.* 2009 Feb;19(1):31-5.
- **El Fitori J,** Kleeff J, Giese NA, Guweidhi A, Bosserhoff AK, Büchler MW, Friess H. Melanoma Inhibitory Activity (MIA) increases the invasiveness of pancreatic cancer cells. *Cancer Cell Int.* 2005 Feb 14;5(1):3.

- **Faries MB**, Gupta RK, Ye X, Lee C, Yee R, Leopoldo Z, Essner R, Foshag LJ, Elashoff D, Morton DL. A Comparison of 3 tumor markers (MIA, TA90IC, S100B) in stage III melanoma patients. *Cancer Invest.* 2007 Aug;25(5):285-93.
- **Ford D**, Bliss JM, Swerdlow AJ, Armstrong BK, Franceschi S, Green A, Holly EA, Mack T, MacKie RM, Osterlind A, et al. Risk of cutaneous melanoma associated with a family history of the disease. The International Melanoma Analysis Group (IMAGE). *Int J Cancer.* 1995 Aug 9;62(4):377-81.
- **Gandini S**, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Abeni D, Boyle P, Melchi CF. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer.* 2005 Jan;41(1):28-44.
- **Gandini S**, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Picconi O, Boyle P, Melchi CF. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer.* 2005 Jan;41(1):45-60.
- **Gandini S**, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Zanetti R, Masini C, Boyle P, Melchi CF. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors. *Eur J Cancer.* 2005 Sep;41(14):2040-59.
- **Garbe C**, Leiter U, Ellwanger U, Blaheta HJ, Meier F, Rassner G, Schitteck B. Diagnostic value and prognostic significance of protein S-100beta, melanoma-inhibitory activity, and tyrosinase/MART-1 reverse transcription-polymerase chain reaction in the follow-up of high-risk melanoma patients. *Cancer.* 2003 Apr 1;97(7):1737-45.
- **Garbe C**, Schadendorf D, Stolz W, Volkenandt M, Reinhold U, Kortmann RD, Kettelhack C, Frerich B, Keilholz U, Dummer R, Sebastian G, Tilgen W, Schuler G, Mackensen A, Kaufmann R, Hauschild A. Short German guidelines: malignant melanoma. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2008 May;6 Suppl 1:S9-S14.
- **Garnier JP**, Letellier S, Cassinat B, Lebbé C, Kerob D, Baccard M, Morel P, Basset-Seguín N, Dubertret L, Bousquet B, Stoitchkov K, Le Bricon T. Clinical value of combined determination of plasma L-DOPA/tyrosine ratio, S100B, MIA and LDH in melanoma. *Eur J Cancer.* 2007 Mar;43(4):816-21.
- **Gass R**, Bopp M. [Mortality from malignant melanoma: epidemiological trends in Switzerland], [Article in German]. *Praxis (Bern 1994).* 2005 Aug 24;94(34):1295-300.

- **Gibbs P**, Brady BM, Robinson WA. The genes and genetics of malignant melanoma. *J Cutan Med Surg*. 2002 May-Jun;6(3):229-35.
- **Gupta PB**, Kuperwasser C, Brunet JP, Ramaswamy S, Kuo WL, Gray JW, Naber SP, Weinberg RA. The melanocyte differentiation program predisposes to metastasis after neoplastic transformation. *Nat Genet*. 2005 Oct;37(10):1047-54.
- **Haass NK**, Herlyn M. Normal human melanocyte homeostasis as a paradigm for understanding melanoma. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2005 Nov;10(2):153-63.
- **Haritoglou I**, Wolf a, Maier T, Haritoglou C, Hein R, Schaller UC. Osteopontin and `Melanoma inhibitory activity`: Comparison of Two serological Tumor Markers in Metastatic Uveal Melanoma Patients. *Ophthalmologica*. 2009;223(4):239-43.
- **Harpio R**, Einarsson R. S100 proteins as cancer biomarkers with focus on S100B in malignant melanoma. *Clin Biochem*. 2004 Jul;37(7):512-8.
- **Hau P**, Apfel R, Wiese P, Tschertner I, Blesch A, Bogdahn U. Melanoma-inhibiting activity (MIA/CD-RAP) is expressed in a variety of malignant tumors of mainly neuroectodermal origin. *Anticancer Res*. 2002 Mar-Apr;22(2A):577-83.
- **Hauschild A**, Michaelsen J, Brenner W, Rudolph P, Gläser R, Henze E, Christophers E. Prognostic significance of serum S100B detection compared with routine blood parameters in advanced metastatic melanoma patients. *Melanoma Res*. 1999 Apr;9(2):155-61.
- **Hauschild A**, Engel G, Brenner W, Gläser R, Mönig H, Henze E, Christophers E. Predictive value of serum S100B for monitoring patients with metastatic melanoma during chemotherapy and/or immunotherapy. *Br J Dermatol*. 1999 Jun;140(6):1065-71.
- **Hauschild A**, Engel G, Brenner W, Gläser R, Mönig H, Henze E, Christophers E. S100B protein detection in serum is a significant prognostic factor in metastatic melanoma. *Oncology*. 1999;56(4):338-44.
- **Henze G**, Dummer R, Joller-Jemelka HI, Böni R, Burg G. Serum S100--a marker for disease monitoring in metastatic melanoma. *Dermatology*. 1997;194(3):208-12.
- **Jönsson G**, Bendahl PO, Sandberg T, Kurbasic A, Staaf J, Sunde L, Crüger DG, Ingvar C, Olsson H, Borg A. Mapping of a novel ocular and cutaneous

malignant melanoma susceptibility locus to chromosome 9q21.32. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Sep 21;97(18):1377-82.

- **Juergensen A**, Holzapfel U, Hein R, Stolz W, Buettner R, Bosserhoff A. Comparison of two prognostic markers for malignant melanoma: MIA and S100 beta. *Tumour Biol.* 2001 Jan-Feb;22(1):54-8.
- **Kabbarah O**, Chin L. Revealing the genomic heterogeneity of melanoma. *Cancer Cell.* 2005 Dec;8(6):439-41.
- **Krähn G**, Kaskel P, Sander S, Waizenhöfer PJ, Wortmann S, Leiter U, Peter RU. S100 beta is a more reliable tumor marker in peripheral blood for patients with newly occurred melanoma metastases compared with MIA, albumin and lactate-dehydrogenase. *Anticancer Res.* 2001 Mar-Apr;21(2B):1311-6.
- **Leiter U**, Meier F, Schittek B, Garbe C. The natural course of cutaneous melanoma. *J Surg Oncol.* 2004 Jul 1;86(4):172-8.
- **Linos E**, Swetter SM, Cockburn MG, Colditz GA, Clarke CA. Increasing burden of melanoma in the United States. *J Invest Dermatol.* 2009 Jul;129(7):1666-74. Epub 2009 Jan 8.
- **Loppin M**, Quillien V, Adamski H, Ollivier I, Garlantézec R, Chevrant-Breton J. [Protein S100 beta and Melanoma Inhibitory Activity (MIA): a prospective study of their clinical value for the early detection of metastasis in malignant melanoma] [Article in French]. *Ann Dermatol Venereol.* 2007 Jun-Jul;134(6-7):535-40.
- **Lugović L**, Situm M, Buljan M, Poduje S, Sebetić K. Results of the determination of serum markers in patients with malignant melanoma. *Coll Antropol.* 2007 Jan;31 Suppl 1:7-11.
- **MANUAL** Tumorzentrum München (Hrsg). Bandherausgeber Prof. Dr, med. M. Volkenandt, Prof. Dr. med. G. Plewig. *Maligne Melanome*, 5. überarbeitete Auflage 2000.
- **Martinez SR**, Hoon DS. Molecular markers in malignant cutaneous melanoma: gift horse or one-trick pony? *J Cell Biochem.* 2005 Oct 15;96(3):473-83.
- **Missotten GS**, Korse CM, van Dehn C, Linders TC, Keunen JE, Jager MJ, Bonfrer JM. S-100B protein and melanoma inhibitory activity protein in uveal melanoma screening. A comparison with liver function tests. *Tumour Biol.* 2007;28(2):63-9.

- **Müller-Ladner U**, Bosserhoff AK, Dreher K, Hein R, Neidhart M, Gay S, Schölmerich J, Buettner R, Lang B. MIA (melanoma inhibitory activity): a potential serum marker for rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 1999 Feb;38(2):148-54.
- **Pappo AS**. Melanoma in children and adolescents. *Eur J Cancer*. 2003 Dec;39(18):2651-61.
- **Perez RP**, Zhang P, Bosserhoff AK, Buettner R, Abu-Hadid M. Expression of melanoma inhibitory activity in melanoma and nonmelanoma tissue specimens. *Hum Pathol*. 2000 Nov;31(11):1381-8.
- **Rager EL**, Bridgeford EP, Ollila DW. Cutaneous melanoma: update on prevention, screening, diagnosis, and treatment. *Am Fam Physician*. 2005 Jul 15;72(2):269-76.
- **Reinhardt MJ**, Kensy J, Frohmann JP, Willkomm P, Reinhold U, Grünwald F, Biersack HJ, Bender H. Value of tumour marker S-100B in melanoma patients: a comparison to 18F-FDG PET and clinical data. *Nuklearmedizin*. 2002 Jun;41(3):143-7.
- **Reiniger IW**, Schaller UC, Haritoglou C, Hein R, Bosserhoff AK, Kampik A, Mueller AJ. "Melanoma inhibitory activity" (MIA): a promising serological tumour marker in metastatic uveal melanoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005 Nov;243(11):1161-6.
- **Robert-Koch-Institut (Hrsg.) und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg.)**. Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeiten und Trends. 7. Ausgabe. Berlin, 2010, S.52.
- **Smit LH**, Korse CM, Bonfrer JM. Comparison of four different assays for determination of serum S-100B. *Int J Biol Markers*. 2005 Jan-Mar;20(1):34-42.
- **Stahlecker J**, Gauger A, Bosserhoff A, Büttner R, Ring J, Hein R. MIA as a reliable tumor marker in the serum of patients with malignant melanoma. *Anticancer Res*. 2000 Nov-Dec;20(6D):5041-4.
- **Stoitchkov K**, Letellier S, Garnier JP, Bousquet B, Tsankov N, Morel P, Ghanem G, Le Bricon T. Melanoma progression and serum L-dopa/L-tyrosine ratio: a comparison with S100B. *Melanoma Res*. 2002 Jun;12(3):255-62.
- **Tas F**, Yasasever V, Duranyildiz D, Camlica H, Ustuner Z, Aydiner A, Topuz E. Clinical value of protein S100 and melanoma-inhibitory activity (MIA) in malignant melanoma. *Am J Clin Oncol*. 2004 Jun;27(3):225-8.

- **Tawbi H**, Nimmagadda N. Targeted therapy in melanoma. *Biologics*. 2009;3:475-84.
- **Ugurel S**. Serummarker des malignen Melanoms. *Der Hautarzt*, 2005 Feb;56(2):173-84; 185-6.
- **von Schoultz E**, Hansson LO, Djureen E, Hansson J, Kärnell R, Nilsson B, Stigbrand T, Ringborg U. Prognostic value of serum analyses of S-100 beta protein in malignant melanoma. *Melanoma Res*. 1996 Apr;6(2):133-7.
- **Vucetić B**, Rogan SA, Hrabac P, Hudorović N, Cupić H, Lukinac L, Ledinsky M, Matejčić A, Lovricević I, Zekan M. Biological value of melanoma inhibitory activity serum concentration in patients with primary skin melanoma. *Melanoma Res*. 2008 Jun;18(3):201-7.
- **Wagner V**, Rudi J, Näher H, Stremmel W. Seropositivity for MIA and S100 in patients with gastrointestinal carcinomas. *Med Oncol*. 2000 Feb;17(1).
- **Walker GJ**, Indsto JO, Sood R, Faruque MU, Hu P, Pollock PM, Duray P, Holland EA, Brown K, Kefford RF, Trent JM, Mann GJ, Hayward NK. Deletion mapping suggests that the 1p22 melanoma susceptibility gene is a tumor suppressor localized to a 9-Mb interval. *Genes Chromosomes Cancer*. 2004 Sep;41(1):56-64.
- **Weilbach FX**, Bogdahn U, Poot M, Apfel R, Behl C, Drenkard D, Martin R, Hoehn H. Melanoma-inhibiting activity inhibits cell proliferation by prolongation of the S-phase and arrest of cells in the G2 compartment. *Cancer Res*. 1990 Nov 1;50(21):6981-6.

Anhang

Poster-Präsentation 3. Deutscher Hautkrebskongress und 17. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Onkologie (ADO)



VERGLEICH DES VERHALTENS DER TUMORMARKER S-100B UND MIA BEI PATIENTEN MIT MALIGNEM MELANOM IN ABHÄNGIGKEIT VON DER TUMORLAST

Höhn A, *Bosserhoff A, Ring J, Hein R

Klinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein der TU München, * Institut für Pathologie der Universität Regensburg

Einleitung: Die Serummarker S-100B und MIA gelten als prognostisch signifikante Melanom-Marker. Hinsichtlich der Definition als Tumormarker ist gleichsinniges Verhalten zu erwarten, d.h. Anstieg bei einer Tumor-Progression („richtig positiv“) bzw. im Falle ausbleibender Tumorprogression fehlender Anstieg des Markers („richtig negativ“). Da in der klinischen Verlaufsbeobachtung im Rahmen der Tumornachsorge der Eindruck entstanden war, die S-100B-Werte zeigten häufiger ein „falsch-positives“ Verhalten als die MIA-Werte, erfolgte eine Datenauswertung aller Patienten in der Melanom-Nachsorge an der Klinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein der TU München in den Jahren 2002-2004.

Material und Methoden: Es wurden 3170 Blutproben von 794 Patienten mit malignem Melanom von 2002-2004 ausgewertet. Als Grenzwerte (Cut-off) wurden für MIA 12 ng/ml, für S-100B 150 pg/ml (für 2002 und 2003) bzw. 120 pg/ml (für 2004) festgelegt. Es sollten mindestens 4 Verlaufswerte innerhalb eines Jahres dokumentiert sein. Hieraus ergaben sich zwei Gruppen mit divergierenden Werten der Tumormarker, eine mit „tumorfreen“ Patienten (n=49) eine mit „Tumorlast“ (n=30). In Korrelation zur Tumorlast wurden so die „falsch positiven“ bzw. die „falsch negativen“ Werte für S-100B und MIA ermittelt.

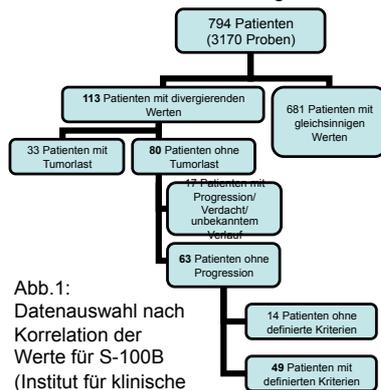


Abb.1: Datenauswahl nach Korrelation der Werte für S-100B (Institut für klinische Chemie, Klinikum R.d.I., und MIA (Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein der TU München).

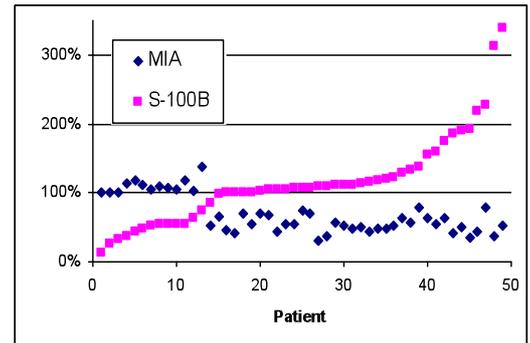


Abb. 2 Darstellung der Tumormarkerwerte in Relation zum jeweiligen Cut-off-Wert in der Gruppe der Patienten ohne Tumorlast

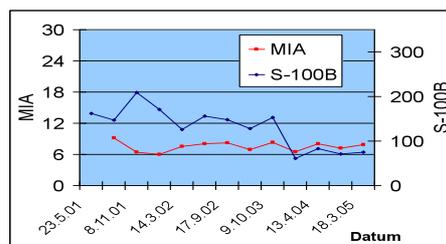
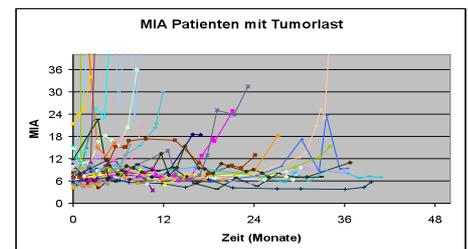
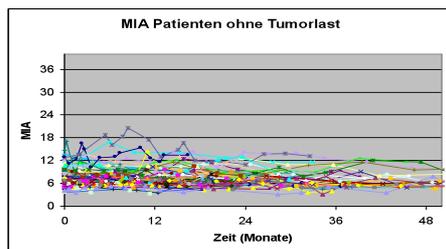
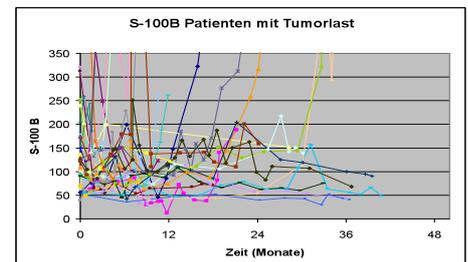
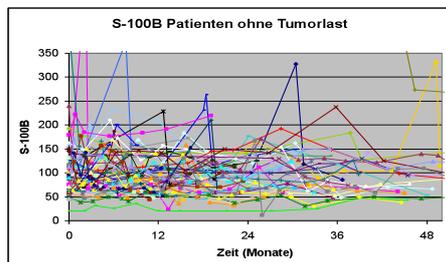
Ergebnisse: Insgesamt zeigte sich für beide Gruppen häufiger die Konstellation eines erhöhten S-100B-Wertes bei gleichzeitig fehlender MIA-Erhöhung (69,6%). Bei den tumorfreien Pat. („falsch positiv“) war in 73,5% S-100B erhöht

Für S-100B ergab sich eine Spezifität von 26,5% bei einer Sensitivität von 63,3%.

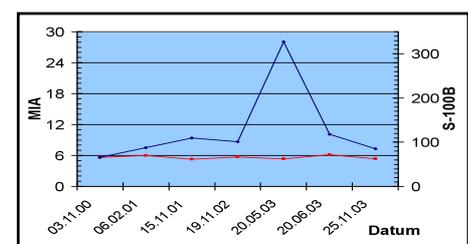
Für MIA zeigte sich eine Spezifität von 73,5% bei einer Sensitivität von 36,7%.

In den zeitlichen Verläufen der Tumormarker fand sich in der Gruppe der tumorfreien Patienten (MW = 8,30 ± 3,30 ng/ml) eine geringere Schwankungsbreite der MIA-Werte als in der Gruppe der Patienten mit Tumorlast (MW = 11,45 ± 7,59 ng/ml). Auch im Vergleich zu den S-100B-Werte zeigte sich im zeitlichen Verlauf eine geringere Schwankungsbreite der MIA-Werte (s. Graphiken)

Bei der Betrachtung der Tumormarkerverläufe fanden sich bei einzelnen Patienten unterschiedliche Konstellationen, beispielsweise zeigten einige einen Peak, andere eine konstante oder intermittierende Erhöhung von S-100B, in 5 Fällen zeigte sich ein Abfall der S-100B-Werte nach Änderung der Nachweismethode ab dem Jahr 2004.



Beispiel 1: Pat. mit Abfall von S-100B nach 2004



Beispiel 2: Patient mit S-100B-peak im Verlauf

Schlußfolgernd ist die Bestimmung beider Serummarker in der Tumornachsorge für den Patienten wohl effektiver als die Bestimmung nur eines Markers., da somit die Rate der „falsch negativen „ Werte möglichst gering gehalten werden kann. Somit kann für den Patienten die bestmögliche prognostische Relevanz erzielt werden und die Indikationsstellung für Staging-Untersuchungen (z.B. PET) optimiert werden.

Danksagung

Zunächst gilt mein großer Dank Herrn Univ.-Professor Dr. med. R. Hein von der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein der Technischen Universität München für die interessante Aufgabenstellung und äußerst geduldige Betreuung der Arbeit.

Frau Prof. Dr. rer. nat. A.-K. Bosserhoff vom Pathologischen Institut der Universität Regensburg danke ich für ein unterstützendes Gespräch und hilfreiche Ideengebung im Verlauf der Arbeit.

Dem Institut für Klinische Chemie am Klinikum rechts der Isar der TU München und seinen Mitarbeitern gilt der Dank für die Sortierung und Übermittlung der Daten für die S-100B-Werte der untersuchten Patienten.

Dem Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie der TU München danke ich für die Hilfestellung bei der Sensitivitäts- und Spezifitätsberechnung.

Last but not least: Vielen Dank an meine Eltern Kristin und Holger Höhn für die Ermöglichung meiner Ausbildung und gelegentliche ermutigende Nachfragen nach dem Stand der Doktorarbeit.