

Aus der Medizinischen Fakultät der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Klinik für Allgemeinchirurgie
Direktor: Prof. Dr. H. Dralle



**p53-Autoantikörper im Serum bei Patienten mit Magen-, Pankreas- und
Ösophaguskarzinom**

D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des akademischen Grades
Dr. med.

vorgelegt
der medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Dipl.-Med. F. Weigmann
geboren am 12.10.1959 in Aue

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. H. Dralle
2. Prof. Dr. med. H. D. Saeger
3. Prof. Dr. med. W. E. Fleig

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Das Tumorsuppressorgen p53	2
1.2. p53-Autoantikörper	6
1.3. Tumormarker	8
1.3.1. CEA	9
1.3.2. CA 19-9	9
2. Material und Methoden	10
2.1. Patienten	10
2.1.1. Magenkarzinom	11
2.1.2. Pankreaskarzinom	12
2.1.3. Ösophaguskarzinom	13
2.2. Bestimmung der p53-Autoantikörper	14
2.3. Immunhistochemischer Nachweis von p53	15
2.4. Statistik	18
3. Ergebnisse	19
3.1 Magenkarzinom	19
3.1.1. Immunhistochemischer Nachweis von p53	22
3.1.2. p53-Autoantikörper im Serum	23
3.1.3. Serum p53-Autoantikörper und immunhistochemischer Nachweis von p53	27
3.1.4. Beziehung zwischen p53-Autoantikörpern, p53, CEA und CA 19-9	27
3.2. Pankreaskarzinom	28
3.2.1. Immunhistochemischer Nachweis von p53	30
3.2.2. p53-Autoantikörper im Serum	32
3.2.3. Serum p53-Autoantikörper und immunhistochemischer Nachweis von p53	35
3.2.4. Beziehung zwischen p53-Autoantikörpern, CEA und CA 19-9	35
3.3. Ösophaguskarzinom	36
3.3.1. Immunhistochemischer Nachweis von p53	38
3.3.2. p53-Autoantikörper im Serum	39

3.3.3. Serum p53-Autoantikörper und immunhistochemischer Nachweis von p53	41
3.3.4. Beziehung zwischen p53-Autoantikörpern, CEA und CA 19-9	41
4. Diskussion	43
4.1 Magenkarzinom und p53-Autoantikörper	43
4.2. Pankreaskarzinom und p53-Autoantikörper	47
4.3. Ösophaguskarzinom und p53-Autoantikörper	50
5. Zusammenfassung	53
6. Literaturverzeichnis	55
7. Anhang	68
8. Thesen	72

Abkürzungen

AFP	α - Fetoprotein
CA 19-9	Carbohydratantigen 19-9
cdk	zyklinabhängige Kinase
CEA	Carcinoembryonales Antigen
erw.	erweiterte
Gastr.	Gastrektomie
GE	Gastroenterostomie
G ₁ - Phase	Gap-1-Phase des Zellzyklus
HCC	hepatozelluläres Karzinom
IHC	Immunhistochemie
kum.	kumulativ
n.d.	nicht determiniert
p53-AAK	p53-Autoantikörper
pall.	palliativ
PE	Probeexzision
SCC	squamous cell carcinoma Antigen
S- Phase	Synthesephase des Zellzyklus

1. EINLEITUNG

Multiple genetische Veränderungen sind bei der Entstehung von zahlreichen Malignomen von entscheidender Bedeutung. Neben den Keimbahnmutationen, der Ursache zahlreicher hereditärer Erkrankungen, führen Mutationen in somatischen Zellen im Laufe des Lebens zu einer Störung der Homöostase der Zelle, deren Folge die unkontrollierte Zellproliferation sein kann. Die normale Zellproliferation unterliegt einer direkten und indirekten Kontrolle durch zahlreiche zelluläre Faktoren. Tumorzellen weisen multiple genetische Veränderungen auf, von denen viele in die Regulation des Zellzyklus eingreifen.

Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre zeigten, daß das Tumorsuppressorgen, welches für das p53- Protein codiert, in der Regulation des Zellzyklus, der Zelldifferenzierung und der Apoptose eine zentrale Bedeutung hat. Der Verlust dieser Aktivität gibt der einzelnen Zelle einen Wachstumsvorteil und ist ein Schritt in Richtung Krebsentstehung. Neben chromosomalen Deletionen oder Stopcodonmutationen, die zum Verlust der p53 Expression führen, werden p53 Gene gefunden, die für verkürzte Proteine oder den Austausch von Aminosäuren codieren. Missens-Mutationen sind die häufigsten Veränderungen im p53-Gen. Ein zentrales Ziel der p53 Forschung besteht in der Aufklärung der Rolle des p53 in der Karzinogenese sowie die Nutzung dieses Wissens in der Behandlung von Malignomen (43).

Neben dem Nachweis von mutiertem p53-Protein fanden Crawford et al. 1982 (25) als erste zufällig bei der Untersuchung von Mammakarzinompatienten Autoantikörper gegen das Protein im Serum. Die biochemische Grundlage für eine p53-induzierte Immunantwort ist nicht sicher geklärt. Zahlreiche Ergebnisse deuten jedoch darauf hin, daß die Antwort eher von einem Selbstimmunisierungsprozeß abhängt, der auf einer Akkumulation von Protein beruht, als von Genalterationen, welche ein neues Epitop hervorrufen. Zunächst bestand vor allem auf Grund des damals noch geringen Verständnisses der p53 Funktion und der Rolle von Autoantikörpern kein weiteres wissenschaftliches Interesse. Erst in den letzten Jahren beschäftigten sich verschiedene Arbeitsgruppen wieder mit dieser Problematik. Untersuchungen konnten p53-Autoantikörper im Serum bei verschiedenen Malignomen nachweisen (15, 26, 129, 148). Bei Patienten mit Mammakarzinomen korreliert eine Autoantikörper-Antwort mit einer schlechten Prognose (129).

Ziel der Promotionsarbeit war, zu klären, inwieweit bei Patienten mit Ösophagus-, Pankreas- und Magenkarzinomen p53-Autoantikörper im Serum nachweisbar sind, ob eine Korrelation zu anderen prognostischen Kriterien, wie Tumorstadium, Tumorgrading, histologischem Tumortyp und Tumorlokalisierung sowie zu den herkömmlichen Tumormarkern CEA und CA 19-9 besteht. Weiterhin wurde untersucht, ob eine Korrelation zwischen dem immunhistochemischen Nachweis von p53 und den p53-Autoantikörpern im Serum, und ob eine Beziehung zur postoperativen Prognose besteht.

1.1. Das Tumorsuppressorgen p53

Das p53-Protein wurde erstmals 1979 auf Grund der Eigenschaft beschrieben, daß es mit dem transformierenden Protein des kleinen DNA-Tumorvirus SV 40, dem SV 40-Tumorantigen, Komplexe bildet (19, 81, 90). Das humane p53-Gen ist auf dem kurzen Arm des Chromosoms 17 lokalisiert und codiert für ein phosphoryliertes Protein mit einem Molekulargewicht von 53000 Dalton. Es besteht aus 393 Aminosäuren (88, 98).

Mutationen im p53-Gen werden in etwa 50% aller menschlichen Tumoren beobachtet (4, 61, 66, 68, 95, 124, 132). Je nach Tumorentität treten Mutationen als ein frühes oder spätes Ereignis in der Karzinogenese auf. So werden zum Beispiel p53-Mutationen bei Mamma-, Magen-, Ösophagus-, Bronchial- und Zervixkarzinomen in frühen Tumorstadien, dagegen bei malignen Gliomen, Schilddrüsen-, colorektalen Karzinomen und Kopf-Halstumoren in späten Stadien der Tumorgenese gefunden. Bei Auftreten von p53-Mutationen in fortgeschrittenen Tumorstadien stellen die Mutationen eher ein prognostisch ungünstiges Ereignis dar (46, 53, 59).

Zellbiologische Effekte von p53 sind bereits relativ gut charakterisiert und bestehen in der Aufrechterhaltung der Gewebshomöostase durch kontrollierte Zellproliferation, terminale Differenzierung und programmierten Zelltod (88, 153). Die biochemischen und molekularen Wirkungsmechanismen von normalem und mutiertem p53 sind hingegen erst ansatzweise verstanden.

Die Struktur des p53-Proteins ist in Abb.1 dargestellt. Die Serin-Reste im N-terminalen Ende werden durch Kaseinkinase I, im C-terminalen Abschnitt durch eine cyclinabhängige Kinase

bzw. Kaseinkinase II phosphoryliert. Es lassen sich mindestens drei funktionelle Domänen unterscheiden. Am N-terminalen Ende befindet sich eine durch eine große Dichte von sauren Aminosäuren gekennzeichnete transaktivierende Domäne, welche mit Proteinen des Transkriptionsapparates interagiert. Eine spezifische DNA-Bindungsdomäne ist im mittleren Teil des Proteins lokalisiert. P53 erfüllt somit die funktionellen und strukturellen Kriterien eines Transkriptionsfaktors. C-terminal finden sich überwiegend basische Aminosäuren, welche durch die Bildung einer amphipathischen helikalen Struktur die Tetramerisation von p53-Monomeren ermöglichen. Die Oligomerisierung des Proteins zu Tetrameren und ein Vielfaches von Tetrameren ist Voraussetzung für die DNA-Bindung und die Funktion des p53- Proteins. (33, 85, 113, 164).

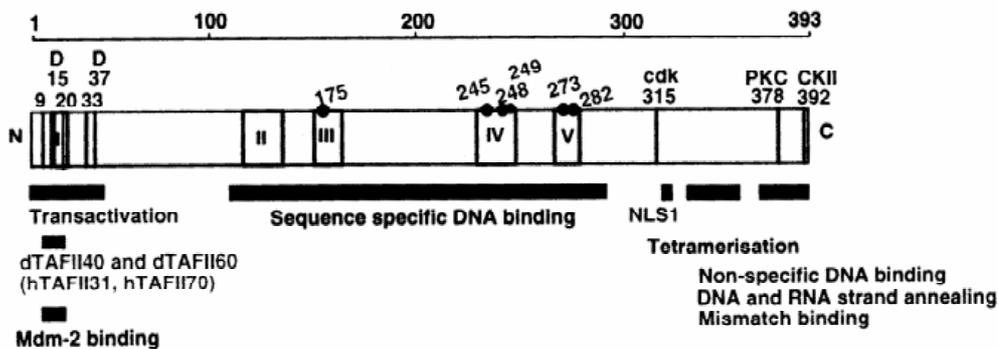


Abb.1 p53-Protein (Gottlieb et Oren 1996)

PKC= Proteinkinase II, CK II = Caseinkinase, D = DNA abhängige Proteinkinase, cdk = Cyclin abhängige Kinase, • = häufig auftretende Mutationen (Hotspots)
 □ = evolutionär hochkonservierte Aminosäureregionen I-IV

In der Aminosäuresequenz des p53 lassen sich 5 hochkonservierte Regionen, welche im Verlauf der Vertebraten-Evolution entstanden sind, unterscheiden. Die hochkonservierten Abschnitte II bis V sind innerhalb der spezifischen DNA-Bindungsdomäne lokalisiert und betreffen den zentralen Teil des Proteins mit den Aminosäuren 102 bis 292. Die Struktur der inneren Domäne bildet ein β -Sandwich, welches als Gerüst für die Schleifenform der Peptidabschnitte III und IV und zum Faltblatt-Schleifen-Helix-Motiv der konservierten Domänen II und V gehört und damit die DNA-bindende Oberfläche des p53-Proteins bildet. Bemerkenswert ist, daß Mutationen, die in menschlichen Tumoren gefunden werden, überwiegend die DNA-Bindungsdomäne betreffen (50, 60, 109, 113).

Wildtyp-p53 besitzt mit maximal 20 min eine verhältnismäßig geringe Halbwertszeit. Konzentrationsunterschiede lassen sich im Laufe des Zellzyklus nachweisen, die geringste Konzentration findet sich nach der Mitose. Sie steigt im Verlauf der G₁-Phase des Zellzyklus an. Während der S-Phase wird p53 phosphoryliert, so daß die Funktion des Proteins über Konzentration und Phosphorylierung reguliert wird (88, 165).

Eine wichtige Aufgabe des p53 besteht in der Arretierung des Zellzyklus vor dem Übergang in die S-Phase, um Korrekturen von DNA-Schäden zu ermöglichen. Das p53-Protein wird daher auch als " Wächter des Genoms " bezeichnet (80). So führt zum Beispiel eine Überexpression von wt-p53 nach ionisierender Strahlung zu einer Aktivierung der Transkription des p21-Genes. Die damit verbundene Expression von p21-Protein, einem universellen Inhibitor von Cyclin- CDK- Komplexen, führt so zur Blockade des Zellzyklus in der G₁ - Phase. Ein anderes Gen, das durch wt-p53 aktiviert wird, ist das GADD45-Gen, welches mit Komponenten des DNA-Nucleotid-Exzisions-Reparatursystems assoziiert ist (5, 30, 52, 64, 72, 103, 160).

Ist eine Reparatur von DNA- Schäden nicht möglich, führt alternativ die Apoptose, der programmierte Zelltod, zur Elimination einer geschädigten Zelle. Ein Weg der Apoptose wird durch p53 vermittelt. Yonish Rouach et al. (161) konnten 1991 mit Hilfe einer temperaturempfindlichen p53 Mutante an einer p53 negativen murinen myeloischen Leukämie-Zelllinie zeigen, daß nach Transfektion der p53 Mutante bei restriktiver Temperatur (mutante Konformation) die Zellen proliferieren, ohne morphologische Veränderungen aufzuweisen, während bei permissiver Temperatur (Wildtyp-Konformation) ein Programm gestartet wird, welches zum massiven Zelluntergang infolge Apoptose führt. Weitere Experimente belegten, daß es auch p53 unabhängige Wege des programmierten Zelltodes gibt (23, 91, 123). Von Bedeutung für den p53 abhängigen programmierten Zelltod scheint eine sequenzspezifische Transkriptionsaktivierung durch p53 zu sein. Diese Vermutung wird durch die Identifizierung des bax-Genes, welches positiv durch p53 beeinflusst wird, unterstützt. Bax hemmt durch die Komplexbildung mit bcl-2 Monomeren den blockierenden Effekt des bcl-2 Onkoproteines auf die Apoptose (22, 99, 107, 152).

Neben einer Inaktivierung des p53- Genes durch Mutationen stellen Interaktionen mit zellulären und viralen Proteinen eine weitere Möglichkeit der Modulation der p53 Funktion dar. So führt die Komplexbildung mit den viralen Proteinen E1b des Typ 5 des Adenovirus, E6 der humanen Papillomaviren HPV-16 und HPV-18 und dem T-Antigen des DNA Virus

SV40 zu einer Inaktivierung der transformierenden Funktion des wt-p53 durch eine Verhinderung der Transaktivierung oder Hemmung der DNA-Bindung bzw. zu einem schnellen Abbau des wt-p53 über den Ubiquitin abhängigen Weg (125, 154, 167).

Weiterhin gut untersucht ist das zelluläre Protein Mdm-2, welches durch das Protoonkogen *mdm2* transkribiert wird. Über eine Bindung des Mdm-2 Proteines an den N-terminalen Bereich des p53 kommt es zu einer Überlappung mit der Transaktivierungsdomäne und damit zu einer Inhibition der transaktivierenden Aktivität des p53. Außerdem bindet *mdm2* mit dem Transkriptionsfaktor E2F1 und ist mit seinem Dimerisierungspartner DP1 assoziiert. Beide bilden zusammen den Transkriptionsfaktor E2F. Dieser kann an das Tumorsuppressorprotein pRB binden. Damit hemmt *mdm-2* einerseits die transaktivierende Aktivität von p53 und stimuliert andererseits die Transaktivierung durch E2F. Da p53 über einen Feedback-Mechanismus durch Bindung an das *mdm-2* Gen die Synthese von Mdm-2 stimulieren kann, wird über diesen autoregulatorischen Mechanismus ein Gleichgewicht zwischen p53 und Mdm-2 in normalen Zellen aufrechterhalten. Unterstützung findet dieses Feedback-Modell durch die Assoziation von Mdm-2 Überexpression und gleichzeitiger Reduktion der Fähigkeit der Zellen, nach Radiatio im G1-Arrest zu verharren (20, 30).

Wt-p53 ist in der Lage, eine durch kooperierende Onkogene verursachte Transformation von Zellen, wie Finlay et al. (33) und Eliyahu et al. (31) 1989 an Rattenfibroblasten zeigen konnten, zu hemmen. Mutiertes p53 hingegen kann umgekehrt zur Transformation und zu immortalisiertem Wachstum führen (33).

1.2. p53-Autoantikörper

Nach erstmaliger Beschreibung von zirkulierenden Autoantikörpern gegen das p53-Protein 1982 konnten in zahlreichen weiteren Untersuchungen in Seren von Karzinompatienten unterschiedlicher Entität Autoantikörper nachgewiesen werden (25, Tab.1).

Tab.1 p53-Autoantikörper in Abhängigkeit von der Tumorentität

Tumor	Autor	Jahr	Häufigkeit
Mammakarzinom	Crawford et al.	1984	11.5 %
Mammakarzinom	Green et al.	1994	25.6 %
Mammakarzinom	Mudenda et al.	1994	26 %
Mammakarzinom	Davidoff et al.	1992	23 %
Mammakarzinom	Wilsher et al.	1996	48 %
Bronchialkarzinom	Winter et al.	1992	10 %
Bronchialkarzinom	Guinee et al.	1995	8.4 %
Bronchialkarzinom	Wild et al.	1995	15.2 %
HCC	Ryder et al.	1996	37 %
HCC	Volkman et al.	1993	25 %
HCC	Trivers et al.	1995	33 %
Pankreaskarzinom	Marxen et al.	1994	6.4 %
Pankreaskarzinom	Laurent-Puig et al.	1995	28 %
colorectales Karzinom	Crawford et al.	1984	12.5 %
colorectales Karzinom	Hammel et al.	1997	26 %
Ösophaguskarzinom	Breveren et al.	1996	25%
Ovarialkarzinom	Green et al.	1995	29 %

Der Zeitpunkt und die Anzahl des Auftretens von Autoantikörpern im Serum scheint von der jeweiligen Tumorentität abhängig zu sein. So werden zum Beispiel bei Mammakarzinom- und Bronchialkarzinompatienten in sehr frühen Tumorstadien p53-Autoantikörper gefunden, hingegen bei Pankreaskarzinomen erst in späten Stadien (92, 96, 146). Gleichzeitig scheint das Auftreten von p53-Autoantikörpern mit einer schlechten Prognose bei Mamma- und Bronchialkarzinomen einherzugehen (111, 159). Für die Bildung von Autoantikörpern ist eine spezifische humorale Immunreaktion notwendig. Voraussetzung einer Immunreaktion und damit der Bildung von Autoantikörpern gegen p53-Protein ist der Verlust der Immuntoleranz gegen p53-Protein und eine entsprechende Präsentation des Antigens. Unklar ist, ob eine Tumorzellnekrose zu einem Freisetzen des Proteins führt oder ein spezieller Mechanismus

für die Antigenpräsentation des Proteins an der Tumorzelloberfläche notwendig ist. Der absolute p53-Spiegel in den Zellen scheint bei der Bildung von p53-AAK im Serum nicht die entscheidende Rolle zu spielen, da sowohl bei Patienten mit einer p53-Überexpression als auch bei Patienten ohne p53-Überexpression Autoantikörper gegen p53 im Serum auftreten können (37).

Davidoff et al. (26) beobachteten 1992 bei Mammakarzinompatienten mit p53-Autoantikörpern im Serum hauptsächlich Mutationen im Exon 5 und 6 sowie eine Komplexbildung mit HSP70, einem Hitzeschockprotein. Patienten mit immunhistochemisch p53 positiven Tumoren, aber Autoantikörpernegativität zeigten keine Komplexe mit HSP70. Die Autoren schlossen daraus, daß HSP70 für die Antigenpräsentation an der Oberfläche der Tumorzelle notwendig ist. Im Gegensatz dazu fanden Volkmann et al. 1993 (148) und Ryder et al. 1996 (122) hohe Titer von p53-Autoantikörper in Seren von Patienten mit hepatozellulären Karzinomen, welche Mutationen im Codon 257 (Exon 7) und 273 (Exon 8) zeigten und damit eine mögliche Komplexbildung mit HSP70 unwahrscheinlich machten. Auch Dong et al. (29) postulierten 1994 einen alternativen Mechanismus der Antigenpräsentation. Sie fanden im Tierexperiment an Mäusen eine erhöhte Immunogenität von p53-Protein durch eine Komplexbildung mit dem SV40 large T-Antigen.

Für die Bildung der Autoantikörper scheint kein spezifisches Epitop zu existieren, da eine humorale Reaktion sowohl bei Patienten mit Tumoren, bei denen p53 in der Wildform und mutierten Form vorliegt, als auch bei beiden Formen im denaturierten und nicht denaturierten Zustand vorkommt (78). Schlichtholz et al. (129) konnte in einer Arbeit von 1992 zeigen, daß die Immunreaktion hauptsächlich direkt gegen den aminoterminalen (aa 1-112) und den carboxyterminalen Teil (aa 306-393) des Proteins gerichtet ist und diese Proteinabschnitte nur selten Mutationen aufweisen. Die DNA- Bindungsdomäne des Proteins, also der zentrale Anteil scheint dagegen nur gering immunogen zu sein.

Neben der hohen Spezifität der Autoantikörper für Malignität scheint p53 eine Lücke der konventionellen Tumormarker bei einigen Tumoren zu schließen (92, 116, 122, 148). So fanden zum Beispiel Volkmann et al. 1993 (148) und Ryder et al. 1996 (122) bei Patienten mit hepatozellulären Karzinomen bei fehlendem oder grenzwertig erhöhtem AFP p53-Autoantikörper im Serum. Von diagnostischem Wert könnte weiterhin das frühe Auftreten von p53-Autoantikörpern bei einigen Tumorentitäten sein. Bei Bronchial- und

Mammakarzinomen sowie Angiosarkomen der Leber waren bei einigen Patienten noch vor bildgebender Sicherung der Diagnose p53-AAK im Serum nachweisbar (44, 92, 145).

Die klinische Bedeutung des Auftretens von p53-AAK bei Patienten mit Malignomen des Verdauungstraktes ist bisher unzureichend untersucht. Bei Ösophagus- und Pankreaskarzinomen wurden zwischen 6.4 und 28% p53-AAK im Serum nachgewiesen, bei Magenkarzinomen liegen zur Zeit keine publizierten Daten vor. Verlaufsuntersuchungen der p53-AAK- Konzentration im Serum bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen konnten eine Beziehung zwischen einem erneuten Anstieg der p53-AAK und einem Tumorrezidiv bzw. eine Progression des Tumorleidens zeigen. Auch bei einem Patienten mit einem Barrett-Ösophagus, einer Praeakanzerose waren p53-AAK nachweisbar. Insgesamt finden sich jedoch wenig Daten zu klinischen und histopathologischen Parametern, so daß derzeit unklar ist, ob die Bestimmung der p53-AAK in der klinischen Praxis eine sinnvolle Ergänzung sein kann (13, 18, 50, 82, 96, 115).

1.3. Tumormarker

Bei einer Vielzahl von malignen Tumoren werden heute Tumormarker in der klinisch-chemischen Diagnostik eingesetzt. Leider ist die diagnostische Spezifität bei der Bestimmung der Tumormarker im Serum häufig stark limitiert, da die meisten auch von Normalgewebe produziert werden und selten tumorspezifisch sind. Der Absolutwert der Tumormarker spielt daher eher eine untergeordnete Rolle. Die Bedeutung besteht somit in der Verlaufsbewertung nach operativen onkologischen Eingriffen, nach Chemo-und Strahlentherapie, um frühzeitig ein Rezidiv oder eine Tumorprogression zu erkennen. In einzelnen Fällen kann die Bestimmung der Tumormarker bei differential-diagnostischen Entscheidungen helfen und zur Überwachung von Risikopatienten beitragen.

1.3.1. CEA

Das Carcinoembryonale Antigen wurde erstmals von Gold und Freedmann 1965 identifiziert. Es gehört zur Gruppe der onkofetalen Antigene und ist immunhistochemisch im Gastrointestinaltrakt aber auch in verschiedenen extraintestinalen Organen gesunder Erwachsener nachweisbar (36, 42, 79, 110). Eine erhöhte Antigenexpression verschiedener Tumoren führt zu einem Anstieg der Serumwerte. Die Sensitivität schwankt in Abhängigkeit von der Tumorentität und dem Tumorstadium. Die Positivitätsraten liegen zwischen 50 und 95% beim kolorektalen Karzinom (118, 140), 20 und 70% beim Mammakarzinom (7, 150), 25 und 65% beim Magenkarzinom (112, 131, 142), 30 und 80% beim Pankreaskarzinom (112, 163) und betragen ca. 40% beim Ösophaguskarzinom (102). Die differentialdiagnostische Aussagekraft und der Einsatz des Tumormarkers ist durch seine geringe Spezifität und das Auftreten bei zahlreichen benignen entzündlichen Erkrankungen und gesunden Rauchern eingeschränkt. In Abhängigkeit vom verwendeten Testkit liegt der cut off zwischen 2,5 und 5,0 ng/ml bei Nichtrauchern. Werte von über 20 ng/ml sind hoch spezifisch für Malignität. Der sinnvolle Einsatz von CEA ist daher in erster Linie in der Nachsorge bzw. Verlaufskontrolle von Tumorpatienten nach Operationen mit R0- Resektionen und weniger als Screeningparameter zu sehen.

1.3.2. CA 19-9

Das Carbohydratantigen CA 19-9 wurde 1979 von Koprowski et al. (76) durch die Austestung monoklonaler Antikörper gegen humane Kolonkarzinomzellen entdeckt. Es ist ein mazingebundenes Pentasaccharid, das einem sialysierten Hapten des menschlichen Blutgruppenantigens Lewis a entspricht. Da etwa 4-5% der Bevölkerung Lewis a Antigen negativ sind, ist es im Serum in geringen Konzentrationen als hochglykolysiertes Protein bei etwa 95% aller Gesunden nachweisbar (51, 56, 94, 133).

Bei einem empirisch festgelegten cut off von 37 U/ml finden sich auch Serumwerte bei benignen Erkrankungen im pathologischen, meist aber im unteren Bereich. Wie fast alle Tumormarker ist CA 19-9 nicht organspezifisch und bei einer Vielzahl von Karzinomen

nachweisbar. Mit einer besonders hohen Sensitivität von 70-95% ist CA 19-9 beim Pankreaskarzinom Marker der ersten Wahl. Erhöhte Werte werden beispielsweise weiterhin in ca. 79% beim Gallenblasenkarzinom, in 10-40% beim Magenkarzinom, zu 14-40% beim kolorektalen Karzinom und in ca. 13% beim Ösophaguskarzinom gefunden (21, 27, 48, 55, 57, 75, 102, 114, 133, 138, 140). CA 19-9 findet aufgrund seiner hohen Sensitivität vorrangig in der Diagnostik und Tumornachsorge von hepatobiliären und Pankreaskarzinomen Anwendung.

2. Material und Methoden

2.1. Patienten

Für die vorgelegte Analyse wurden vom Januar 1995 bis März 1996 134 Patienten mit Magen-, Pankreas- und Ösophaguskarzinomen prospektiv erfaßt. Bei allen Patienten erfolgte praeoperativ im Serum die Bestimmung der Tumormarker CEA und CA 19-9 und der p53-AAK. Bei Patienten, welche kurativ operabel waren, wurde postoperativ eine erneute Bestimmung von CEA, CA 19-9 und p53 AAK zwischen dem 3.-5. und 12.-14. Tag durchgeführt. Ein follow up lag auf Grund eigener Nachuntersuchungen oder Befragung der Hausärzte bis zu 24 Monaten nach Behandlung vor.

Als Kontrollgruppe dienten 20 Patienten im Alter von durchschnittlich 63.5 (35-82) Jahren mit benignen Erkrankungen (9 Pankreatitiden, 6 Gastritiden, 1 Cholezystolithiasis, 1 Boorhaeve-Syndrom , 3 gutartige Tumoren). Kein Patient der Kontrollgruppe hatte anamnestisch eine maligne Erkrankung.

2.1.1. Magenkarzinom

Untersucht wurden 74 Patienten mit einem durchschnittlichen Alter von 62.5 (26 bis 85) Jahren. 40 (54.1%) der Patienten waren männlich und 34 (45.9%) weiblich. Klassifiziert wurden die Tumoren nach der Stadieneinteilung der UICC von 1992 und dem Grad der Tumordifferenzierung entsprechend der klinischen und histopathologischen Befunde. Weiterhin wurde eine Einteilung der Tumoren nach der Lokalisation, der Differenzierung nach Lauren in den intestinalen und diffusen Typ vorgenommen (83). Die histologische Aufarbeitung der Tumoren ergab 48 Adenokarzinome unterschiedlicher Differenzierung, 8 Siegelringzellkarzinome sowie 18 undifferenzierte Karzinome (Tab.2).

Tab.2 Klinische und histopathologische Daten der Magenkarzinompatienten

Stadium		la	lb	II	IIIa	IIIb	IV	gesamt
Alter	Jahre	58.3 (52-66)	54.2 (37-69)	67.8 (62-80)	71.3 (64-85)	63.4 (26-75)	65.6 (37-85)	65.2 (26-85)
Geschlecht(%)	männlich	3(50.0)	3(60.0)	2(60.0)	2(20.0)	10(58.8)	20(64.5)	40(54.1)
	weiblich	3(50.0)	2(40.0)	3(40.0)	8(80.0)	7(41.2)	11(35.5)	34(45.9)
Grading(%)	1	0	0	0	0	2(11.8)	1(3.2)	3(4.1)
	2	4(66.7)	2(40.0)	1(20.0)	5(50.0)	5(29.4)	2(4.6)	16(21.6)
	3	2(33.3)	3(60.0)	4(80.0)	5(50.0)	10(58.8)	28(90.4)	55(74.3)
Lokalisation(%)	Kardia	1(16.7)	0(0.0)	4(80.0)	6(60.0)	9(52.9)	10(32.2)	30(40.5)
	Korpus	1(16.7)	1(20.0)	0(0.0)	1(10.0)	6(35.3)	13(41.9)	22(29.7)
	Antrum	4(66.7)	4(80.0)	0(0.0)	2(20.0)	1(5.9)	3(9.7)	14(18.9)
	Stumpf	0(0.0)	0(0.0)	1(20.0)	1(10.0)	1(5.9)	5(16.1)	8(10.8)
Lauren(%)	diffus	3(50.0)	3(60.0)	2(40.0)	4(40.0)	8(47.1)	16(51.6)	36(48.6)
	intestinal	3(50.0)	2(40.0)	3(60.0)	6(60.0)	9(52.9)	15(48.4)	38(51.4)
Therapie(%)	GE/PE	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(5.9)	14(45.2)	15(20.3)
	pall.Gastr.	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(11.8)	7(22.6)	9(12.2)
	Gastrektomie	4(60.0)	5(100.0)	3(60.0)	10(100)	10(58.8)	3(9.7)	35(47.3)
	erw.Gastr.	0(0.0)	0(0.0)	2(40.0)	0(0.0)	4(23.5)	7(22.6)	13(17.6)
	4/5 Resektion	2(40.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(2.7)

2.1.2. Pankreaskarzinom

Untersucht wurden 35 Patienten mit Pankreaskarzinom im durchschnittlichen Alter von 62.2 (52-74) Jahren. 19 (54.3%) der Patienten waren männlich und 16 (45.7%) weiblich. Die Klassifizierung der Tumoren erfolgte nach der Stadieneinteilung der UICC von 1992 und nach der Tumordifferenzierung entsprechend den klinischen und histologischen Befunden. Weiterhin fand eine Einteilung nach der Lokalisation der Tumoren statt. Unter den Pankreastumoren waren histologisch 27 Adenokarzinome unterschiedlicher Differenzierung, 6 anaplastische Karzinome und 2 neuroendokrin differenzierte Karzinome (Tab.3).

Tab.3 Klinische und histopathologische Daten der Pankreaskarzinompatienten

Stadium		I	III	IV	gesamt
Tumor(%)	n	8(22.9)	10(28.6)	17(48.6)	35(100.0)
Alter	Jahre(median)	53-70(61.6)	52-69(62,6)	52-74(62.5)	52-74(62.2)
Geschlecht(%)	weiblich	5(62.5)	7(70.0)	7(41.2)	19(54.3)
	männlich	3(37.5)	3(30.0)	10(58.8)	16(45.7)
Grading(%)	1	2(25.0)	0	1(5.9)	3(8.6)
	2	5(62.5)	4(40.0)	3(17.6)	12(34.3)
	3	1(12.5)	6(60.0)	11(64.7)	18(51.4)
	Kein Grading			2(11.8)	2(5.7)
Lokalisation(%)	Caput	7(87.5)	8(80.0)	10(58.8)	25(71.4)
	Corpus	1(12.5)	2(20.0)	6(35.3)	9(25.7)
	Cauda	0	0	1(5.9)	1(2.9)
Therapie(%)	palliativ/PE	0	0	13(76.5)	13(37.1)
	Whipple	7(87.5)	8(80.0)	1(5.9)	16(45.7)
	Linksresektion	1(12.5)	2(20.0)	3(8.6)	6(17.1)

2.1.3. Ösophaguskarzinom

Im Zeitraum vom Januar bis Dezember 1995 konnten 25 Patienten mit Ösophaguskarzinom im durchschnittlichen Alter von 62.8 (45 -91) Jahren untersucht werden. 21 (84%) Patienten waren männlich und nur 4 (16%) der Patienten weiblich. Eine Einteilung der Tumoren wurde nach der Stadieneinteilung der UICC von 1992, nach dem Grading und der Lokalisation vorgenommen. 11 (44%) der Patienten konnten nur palliativ behandelt werden, bei 14 (56%) der Patienten wurde unter kurativer Zielsetzung eine Ösophagektomie durchgeführt. Histologisch waren 19 (76%) der Tumoren Plattenepithelkarzinome, 5 (20%) Adenokarzinome, und 1 Karzinom zeigte eine neuroendokrine Differenzierung (Tab.4).

Tab.4 Klinische und histopathologische Daten der Ösophaguskarzinompatienten

Stadium		IIa	IIb	III	IV	gesamt
Tumor(%)	n	5(20.0)	2(8.0)	11(44.0)	7(28.0)	25(100.0)
Alter	Jahre(median)	52-80(62.6)	43/ 55	47-91(65)	45-71(63.6)	45-91(62.8)
Geschlecht(%)	weiblich	1(20.0)	0	0	3(42.9)	4(16.0)
	männlich	4(80.0)	2(100.0)	11(100.0)	4(57.1)	21(84.0)
Grading(%)	1	0	0	0	0	0
	2	3(60.0)	0	8(72.7)	4(57.1)	15(60.0)
	3	2(40.0)	2(100.0)	3(27.3)	2(28.6)	9(36.0)
	n.d.				1(14.3)	1(4.0)
Lokalisation(%)	proximal	0	0	0	1(14.3)	1(4.0)
	medial	0	0	4(36.4)	2(28.6)	6(24.0)
	distal	5(100.0)	2(100.0)	7(63.6)	4(57.1)	18(72.0)
Histologie(%)	Adenokarzinom	1(20.0)	1(50.0)	3(27.3)	0	5(20.0)
	Plattenepithelkarz.	4(80.0)	1(50.0)	8(72.7)	6(85.7)	19(76.0)
	Neuroend.diff.Karz.				1(14.3)	1(4.0)
Therapie(%)	Ösophagektomie	4(80.0)	2(100.0)	7(63.3)	1(14.3)	14(56.0)
	palliativ/PE	1(20.0)	0	4(36.4)	6(85.7)	11(44.0)

2.2. Bestimmung der p53-Autoantikörper

Für die semiquantitative Bestimmung der p53-Autoantikörper im Serum der Patienten verwendeten wir einen kommerziell erhältlichen ELISA-Kit der dianova GmbH Hamburg. Der Sandwich-ELISA mit Festphase-gekoppeltem p53-Protein bindet die p53-Autoantikörper aus dem Serum, der Nachweis erfolgt über ein Peroxidase-konjugiertes Ziege anti-Human IgG als Detektor und die Messung einer Peroxidase-bedingten Farbstoffumsetzung. Die photometrische Messung wurde bei 450 nm und zum Abgleich eventuell optischer Unterschiede der Mikrotiterplatte bei 620 nm durchgeführt. Es erfolgte eine Doppelbestimmung und bei positivem Ergebnis eine semiquantitative Unterteilung in low, medium und high entsprechend der vom Hersteller gelieferten Positiv-Kontrollen. Jeder Testansatz enthielt eine Negativ-Kontrolle. Zur Auswertung berechneten wir den p53-Antikörperindex nach folgender Formel:

$$\text{p53-Antikörperindex} = \frac{E(\text{Probe}) - E(\text{low-Kontrolle})}{E(\text{High-Kontrolle}) - E(\text{low-Kontrolle})}$$

Als p53-Autoantikörper negativ bewerteten wir alle Proben mit einem Absorptionswert kleiner als der low-Kontrollwert. Seren mit einem größeren Absorptionswert als dem low-Kontrollwert stufen wir als positiv ein. Bei einem p53-Antikörperindex größer oder gleich Null gingen wir von einem positiven Ergebnis aus. Als kritischer Bereich wurde vom Hersteller aufgrund von Intra-Assay Varianzen der Mikrotiterplatten und durch Handling-Effekte ein low-Kontrollwert mit einer Abweichung von 10% definiert. Proben, welche in diesem Bereich lagen, unterzogen wir einer erneuten Bestimmung.

Im Einzelnen führten wir folgende Schritte durch: Vor Gebrauch brachten wir alle Reagenzien und die zu untersuchenden Proben auf Raumtemperatur. Die Serumproben verdünnten wir mit dem Proben-Verdünnungspuffer 1:100. Die Mikrotiterplatte wurde vor dem Auftragen der Proben dreimal mit PBS in einem Automaten gewaschen und unmittelbar nach dem Trocknen der Mikrotiterplatte wurden jeweils 100 µl/well der Kontrollen und der verdünnten Proben einpipettiert. Wir führten jeweils eine Doppelbestimmung durch. Nach Inkubation für 60 min bei 37°C und anschließendem maschinellern Waschvorgang mit PBS pipettierten wir jeweils 100 µl/well Detektor-Antikörperlösung ein und inkubierten für 30 min bei 37°C. Die kurz zuvor hergestellte Substratlösung aus dem Substrat-Puffer und der TMB-Stocklösung zu je 100µl/well wurde zupipettiert und nach Inkubation im Dunkeln bei Raumtemperatur für

30 min die Enzymreaktion durch Zugabe von 50µl Stopplösung (2 N HCl) unterbrochen. Der dadurch bewirkte Farbumschlag der Lösung von Blau nach Gelb wurde photometrisch bei 450 nm gemessen. Eine zusätzliche Messung der Absorption bei 620 nm wurde zum Abgleich eventueller optischer Unterschiede des Materials der Mikrotiterplatte durchgeführt. Nach Bestimmung des Mittelwertes der Absorptionen bei 450 und 620 nm und Subtraktion der Absorptionen bestimmten wir nach der o.a. Formel den p53-Antikörperindex.

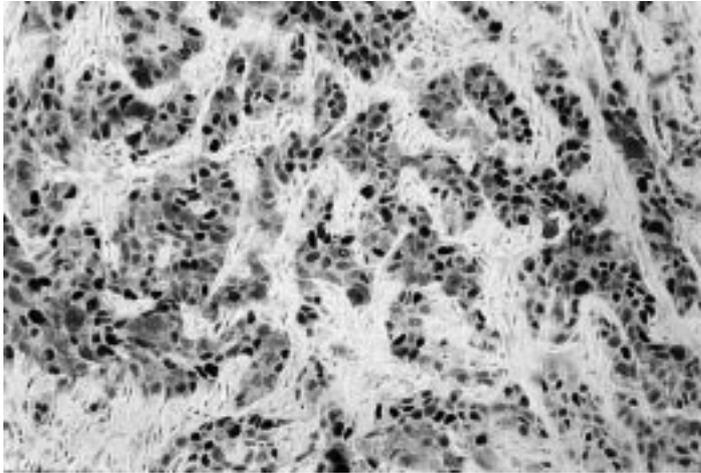
2.3. Immunhistochemischer Nachweis von p53

Den immunhistochemischen Nachweis des p53-Proteins führten wir nach der Avidin-Biotin-Methode durch. Als Primärantikörper verwendeten wir die monoklonalen p53 Antikörper DO-1 und Pab 1801. DO-1 bindet an ein Epitop zwischen den Aminosäuren 20-25 (137) und Pab 1801 zwischen den Aminosäuren 40-65 (86). Der Sekundärantikörper, welcher an den Primärantikörper bindet, ist mit Biotin konjugiert. Als drittes Reagenz diente ein Peroxidase-konjugierter Avidin-Biotin-Komplex, wobei die freien Stellen des Avidinmoleküls die Bindung an die freien Stellen des Biotins am Sekundärantikörper ermöglichen. Das Enzym Peroxidase und damit das gesuchte Antigen wurde abschließend mit einem geeigneten Chromogen sichtbar gemacht (12). Als Positivkontrolle verwendeten wir ein Mammakarzinom, welches zuvor auf das Vorhandensein eines mutierten p53-Protein getestet wurde. Den selben Tumor nutzten wir durch fehlendes Auftragen des Primärantikörpers als Negativkontrolle. Die günstigste Konzentration der beiden Primärantikörper DO-1 und Pab 1801 bestimmten wir durch eine Verdünnungsreihe. Für den p53 Antikörper DO-1 wurde als günstige Konzentration 2.5 µg/ml und für den p53-Antikörper Pab 1801 1 µg/ml ermittelt.

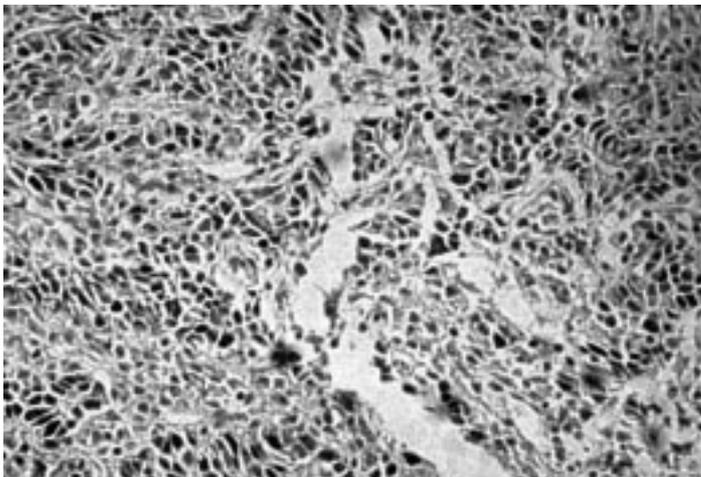
Zur immunhistochemischen Bestimmung des p53-Proteins führten wir folgende Schritte aus: Die in Paraffin eingebetteten Tumoren sichtigten wir anhand der dazugehörigen HE-Schnitte auf das Vorhandensein von Tumorgewebe. Bei eindeutigem Nachweis von Tumorgewebe fertigten wir 4µm dicke Schnitte mit einem Mikrotom an und bestückten die mit Poly-L-Lysin beschichteten Objektträger mit je zwei Paraffinschnitten. Anschließend trockneten wir die Schnitte bei 38°C über Nacht. Die Deparaffinierung der Schnitte führten wir mit Xylol 2 mal 20 min und die folgende Rehydrierung mit einer Alkoholreihe in absteigender Konzentration durch. Nach Waschen mit PBS (0.067 M Phosphat gepufferte Lösung mit einem pH von 7.4), wurde die endogene Peroxidase durch Inkubation in 0.3% Wasserstoffperoxid in absolutem

Methanol für 20 min blockiert. Vor Zugabe des Primärantikörpers trugen wir zur Vermeidung einer unspezifischen Hintergrundfärbung ein Blockserum 1:5 verdünnt (Schweineserum mit einer Konzentration von 15 mM, in PBS- Pufferlösung mit 1% BSA Rinderserumalbumin) auf und inkubierten danach über 24 Stunden bei 4°C in einer Feuchtkammer. Zur Detektion des Primärantikörpers verwendeten wir einen LSAB-Kit (DAKO CORPORATION, USA). Nach Inkubation für 15 min mit dem Biotin konjugierten Sekundärantikörper und mit der Streptavidin-Peroxidase wurde das Antigen durch Inkubation für 5 min mit einer Substratlösung (DAB Chromogen: 3,3'- Diaminobezidin in Chromogenlösung) braun gefärbt. Zur besseren Beurteilung wurde vor dem Eindecken der Präparate mit Aquatex eine Hämalaun-Gegenfärbung durchgeführt. Ein positives Ergebnis lag vor, wenn mehr als 10% der Tumorzellen eine Kernmarkierung mit einem der beiden verwendeten Primärantikörper zeigten (Abb.2).

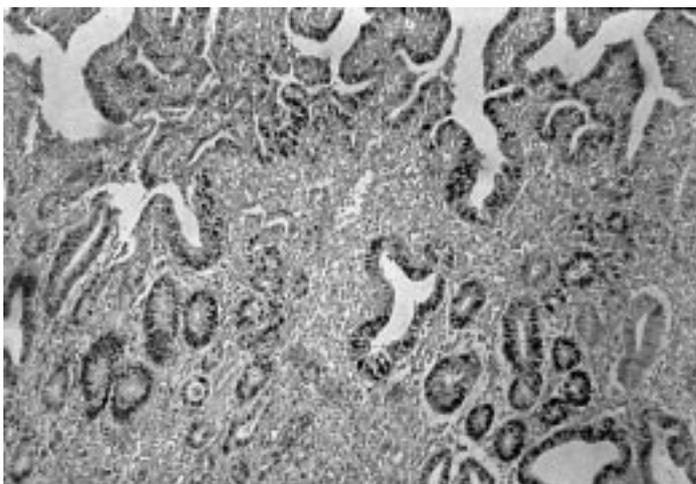
Abb. 2 Immunhistochemischer Nachweis von p53



gering differenziertes
Adenokarzinom des Öso-
phagus, Markierung durch
p53-Antikörper DO-1,
Vergrößerung 1:20



schlecht differenziertes
Plattenepithelkarzinom des
Ösophagus, Markierung
durch p53- Antikörper Pab
1801, Vergrößerung 1:20



mäßig differenziertes Adeno-
karzinom des Magens,
Markierung durch p53-
Antikörper DO-1,
Vergrößerung 1:10

2.4. Statistik

Die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS durchgeführt. Für die erhobenen Variablen erfolgte zunächst eine deskriptive statistische Analyse mit der Ermittlung von prozentualen Verteilungen und bei metrischen Daten mit der Berechnung von Mittelwerten und Standardabweichungen. Zum statistischen Vergleich verwendeten wir den Pearson χ^2 -Test. Die kumulative Überlebenszeit wurde nach Kaplan-Meier geschätzt. Patienten mit verkürzter Nachbeobachtungszeit wurden als zensiert in den Überlebenskurven nach Kaplan-Meier besonders gekennzeichnet. Als signifikant wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0.05$ definiert.

3. Ergebnisse

3.1. Magenkarzinom

Insgesamt wurden 74 Patienten mit Magenkarzinom in der Zeit von Januar 1995 bis März 1996 erfaßt. Die meisten der Patienten hatten ein fortgeschrittenes Tumorstadium (78.4% im Stadium III und IV), nur 16 (21.7%) Patienten konnten dem Stadium I oder II zugeordnet werden. Nach dem Grad der Tumordifferenzierung hatten 55 (74.3%) Patienten einen Grad III Tumor, 44 (59.5%) der Patienten ein fortgeschrittenes Tumorstadium kombiniert mit einem Tumorgrad III (Abb.3).

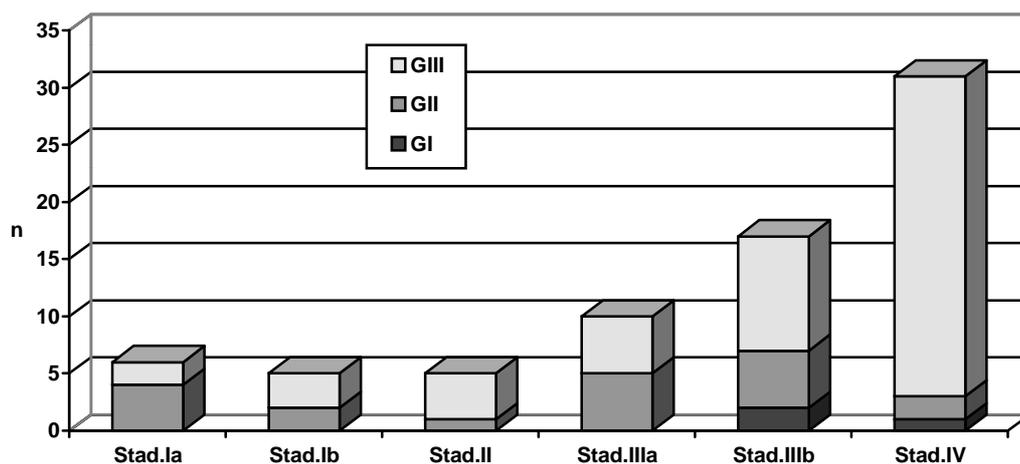


Abb. 3 Beziehung zwischen Tumorstadium und Tumordifferenzierung bei Magenkarzinomen

Besonders häufig fanden sich Kardiakarzinome (n=30, 40.5%), gefolgt von Korpuskarzinomen (n=22, 29.7%), Antrumkarzinomen (n=14, 18.9%) und Magenstumpfkarcinomen (n=8, 10.8%). Nach der Lauren-Klassifikation wurden 36 (48.6%) Tumoren dem diffusen Typ und 38 (51.4%) dem intestinalen Typ zugeordnet (Abb.4).

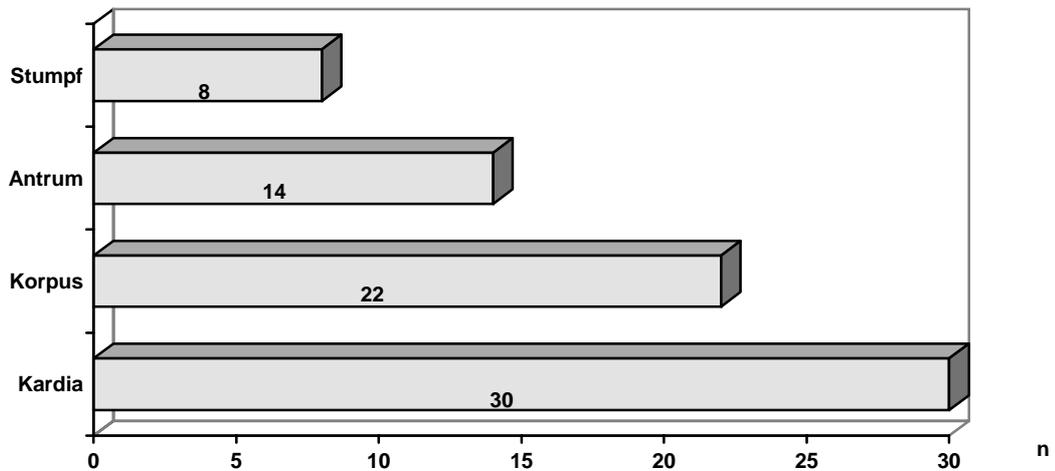


Abb. 4 Lokalisation der Magenkarzinome

Im Nachbeobachtungszeitraum von 20 Monaten überlebten insgesamt 19 (25.7%) Patienten, 11 (14.9%) im Stadium I (72.7%) und II (60%) und 8 (10.8%) im Stadium III (29.6%). Alle der 31 (41.9%) Patienten im Stadium IV (100%) verstarben innerhalb der ersten 14 Monate (Abb.5).

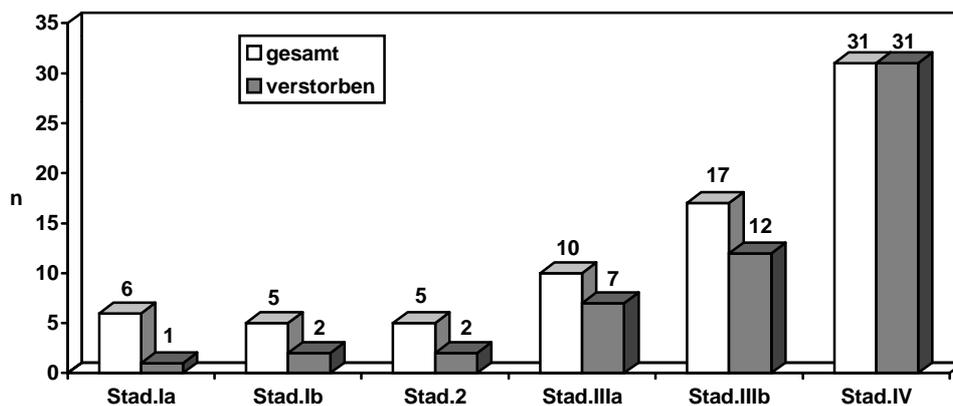


Abb. 5 Letalität in Abhängigkeit vom Tumorstadium bei Magenkarzinomen

Eine R0-Resektion konnte bei 43 (58.9%) der Patienten durch Gastrektomie, erweiterte Gastrektomie (Pankreaslinks-, Querkolon- oder atypischer Leberresektion) oder 4/5-Resektion des Magens erreicht werden. 30 (40.5%) der Patienten waren bei

fortgeschrittenem Tumorstadium nur noch palliativ durch Gastrektomie, Gastroenterostomie oder Katheterjejunostomie therapierbar bzw. der operative Eingriff mußte als explorative Laparotomie mit Probeexzision beendet werden (Abb.6).

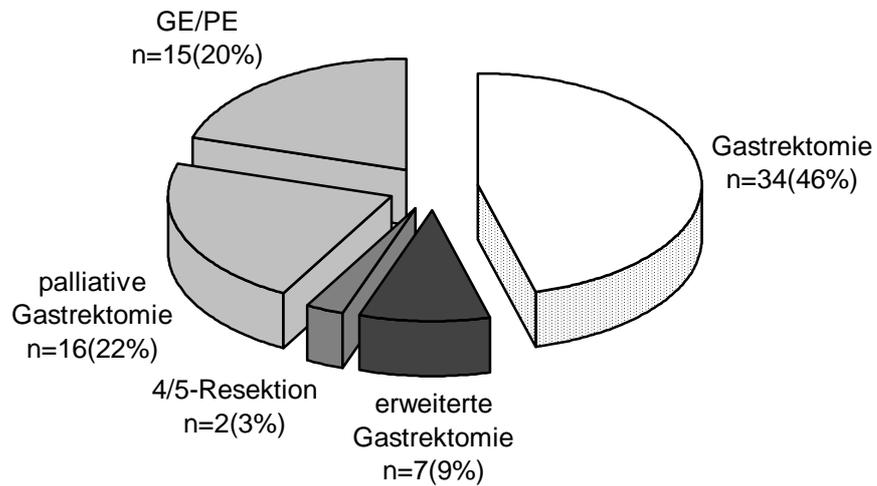


Abb. 6 Therapie der Magenkarzinome

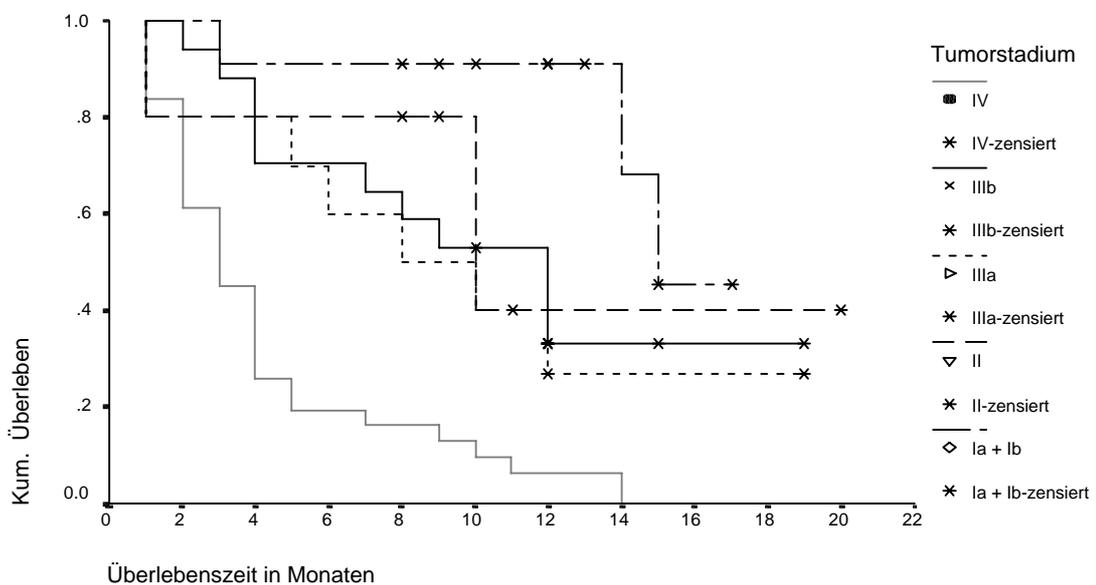


Abb. 7 Kumulative Überlebenszeit der Magenkarzinompatienten nach Kaplan-Meier in Abhängigkeit vom Tumorstadium (p = 0.0001)

Die Prognose zeigte unifaktoriell eine Abhängigkeit vom Tumorstadium ($p=0.0001$). Eine signifikante Korrelation zwischen Tumorstadium und Alter, Geschlecht, Grading, Tumorlokalisation und Lauren-Klassifikation bestand nicht (Abb.7).

3.1.1. Immunhistochemischer Nachweis von p53

Immunhistochemisch wurde bei 32 (43.2%) Magenkarzinomen eine p53-Überexpression nachgewiesen. Von den 32 Patienten verstarben 22 (68.7%) innerhalb der ersten 20 Monate nach der operativen Behandlung. Von den 42 (56.8%) p53 negativen Patienten verstarben 33 (78.6%). Die mediane Überlebenszeit der R0-resezierten Magenkarzinome zeigte keine Abhängigkeit zum immunhistochemischen p53-Status ($p=0.4667$). Ebenfalls fand sich keine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem immunhistochemischen Nachweis von p53 und Alter, Geschlecht, Tumorstadium, Grading, Tumorlokalisation, Lauren-Klassifikation und Resektionsausmaß (Tab.13; Abb.8,9).

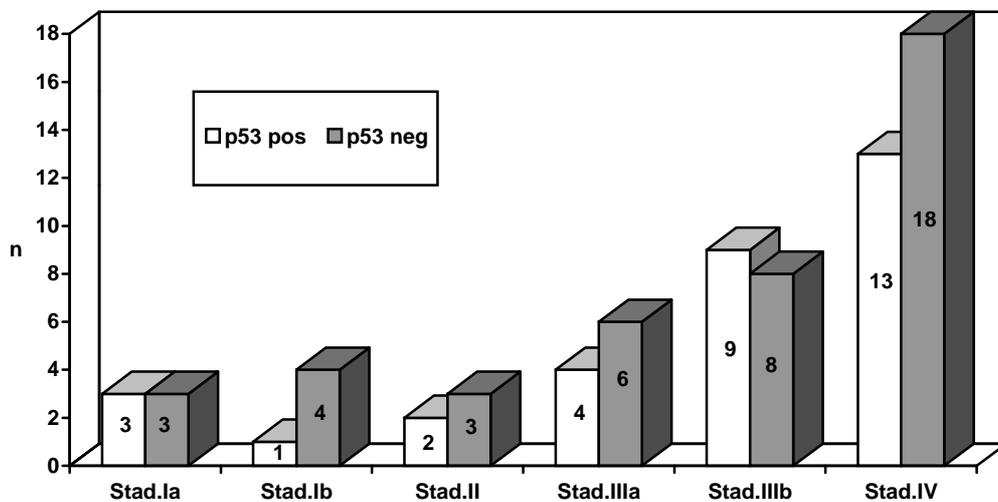


Abb. 8 Immunhistochemischer Nachweis von p53 in Abhängigkeit vom Tumorstadium bei Magenkarzinomen

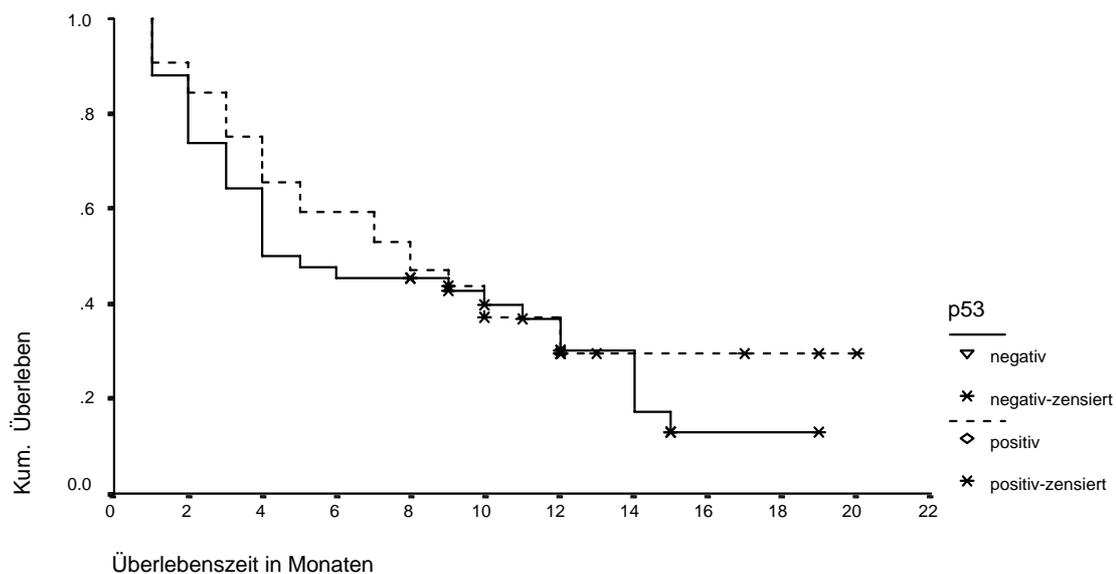


Abb. 9 Kumulative Überlebenszeit der R0-resezierten Magenkarzinome in Abhängigkeit zum immunhistochemischen Nachweis von p53 nach Kaplan-Meier (p=0.4677)

3.1.2. p53-Autoantikörper im Serum

P53-Autoantikörper wurden praeoperativ bei 15 (20.3%) Patienten gefunden. Das Durchschnittsalter lag bei 64 (37-80) Jahren, 7 der Patienten waren weiblich, 8 männlich. Bis auf einen Patienten mit dem Stadium Ib gehörten alle Patienten mindestens dem Stadium IIIa oder höher an. Nach dem Grad der Tumordifferenzierung waren 13 (87%) der 15 Magenkarzinome schlecht bzw. undifferenziert (Tab.5,14) .

Histologisch wurden 10 Tumoren mit positiven p53-AAK Nachweis als Adenokarzinome, 4 als undifferenzierte und 1 als Siegelringzellkarzinom klassifiziert. 14 (93%) der 15 Patienten, die praeoperativ p53-AAK positiv waren, hatten Lymphknotenmetastasen und nach 420 Tagen waren 14 (93.3%) der Patienten verstorben. Ein praeoperativ positiver Patient wurde postoperativ p53-Autoantikörper negativ und lebte nach 17 Monaten. Ein weiterer Patient, welcher perioperativ negativ war , wurde 6 Monate post operationem p53-AAK positiv und verstarb nach 12 Monaten.

Tab. 5 Magenkarzinompatienten mit positiven p53-Autoantikörpernachweis im Serum

Patient	Überlebenszeit (Monate)	am Tumor verstorben	Lokalisation	Histologie	Lauren	Stadium	Grading	R-Klassifikation	p53 praeop	p53 5.postop	p53 14.postop	p53 1/2 a	DO-1	PAb 1801
1	12	+	Korpus	a	intest.	3a	2	0	++++	++++	+++	n.d.	pos	pos
2	2	+	Kardia	s	diffus	4	3	2	+	+	n.d.	n.d.	pos	pos
3	12	+	Korpus	u	intest.	3b	3	0	neg	neg	neg	++	neg	neg
4	6	+	Kardia	a	intest.	3a	3	0	++	+	+	n.d.	pos	pos
5	8	+	Magenstumpf	u	diffus	3a	3	0	++++	+++	++	n.d.	pos	pos
6	2	+	Kardia	a	intest.	3b	1	0	++	++	++	n.d.	pos	pos
7	9	+	Kardia	u	diffus	4	3	0	+	+	+	n.d.	pos	pos
8	5	+	Kardia	a	diffus	4	3	2	++	++	++	+++	pos	pos
9	10	-	Antrum	a	diffus	1b	3	0	+	neg	neg	n.d.	neg	neg
10	4	+	Kardia	a	intest.	3b	3	0	+++	+++	+++	++++	pos	pos
11	14	+	Antrum	a	diffus	4	3	0	+	+	+	n.d.	pos	pos
12	3	+	Korpus	a	intest.	4	3	2	++++	+++	+++	n.d.	pos	pos
13	10	+	Kardia	u	diffus	4	3	2	+++	+++	+++	n.d.	pos	pos
14	10	+	Antrum	u	diffus	3a	3	0	+	++	++	n.d.	pos	pos
15	12	+	Kardia	a	intest.	3b	3	0	++	++	++	neg	pos	pos
16	3	+	Kardia	a	intest.	4	3	2	++	+	+	n.d.	pos	pos

a Adenokarzinom u undifferenziertes Karzinom
s Siegelringzellkarzinom intest. intestinal
+ low ++ medium +++ high ++++ high-Wert überschritten

Eine signifikante Korrelation konnte zwischen dem p53-AAK-Status und dem Tumorstadium ($p=0.0291$) gefunden werden (Abb.10). Der Nachweis von p53-AAK war mit einer verkürzten Überlebenszeit verbunden ($p=0.0114$). Tumorlokalisierung im Bereich der Kardia gegenüber dem Antrum ($p=0.0789$) und ein positiver Lymphknotenstatus ($p=0.055$) waren wesentlich häufiger mit dem Nachweis von p53-AAK im Serum verbunden (Abb. 11).

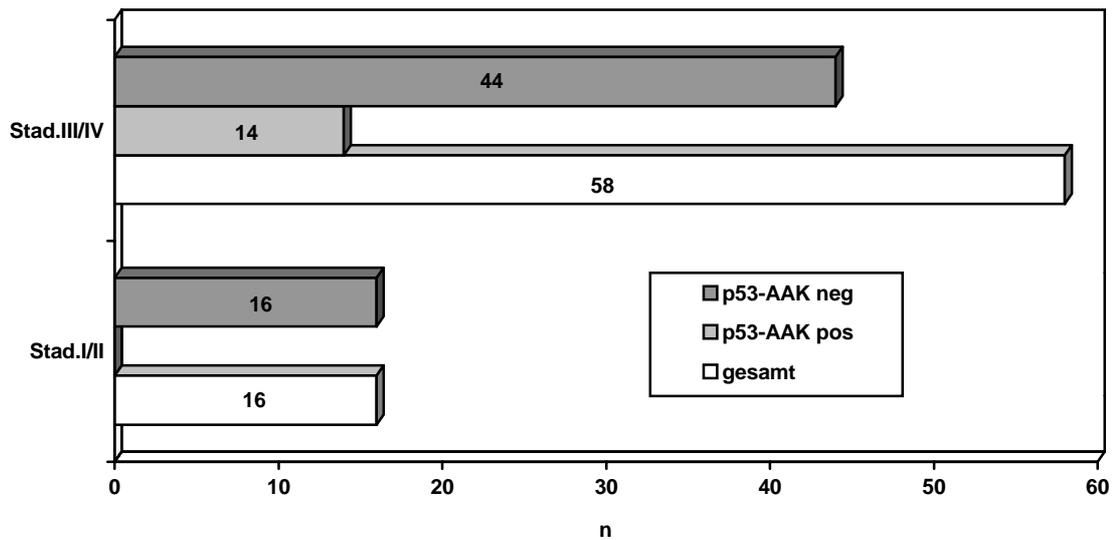


Abb. 10 Beziehung zwischen Tumorstadium und postoperativen p53-AAK im Serum bei Magenkarzinomen ($p=0.0291$)

Die mediane Überlebenszeit der R0-resezierten Magenkarzinome war signifikant zugunsten der p53-AAK negativen Patienten mit 15 zu 9 Monaten verlängert ($p=0.0314$). Von den 15 praeoperativ p53-AAK positiven Patienten verstarben 14/15 (93.3%) und von den p53-AAK negativen Patienten 41/59 (69.5%) während der Nachbeobachtungszeit von 20 Monaten. Alle p53-AAK positiven Patienten verstarben postoperativ, ein Patient wurde postoperativ negativ und war 17 Monate post operationem rezidivfrei (Abb.12). Keine Korrelation wurde zu Alter, Geschlecht und der Lauren-Klassifikation gefunden.

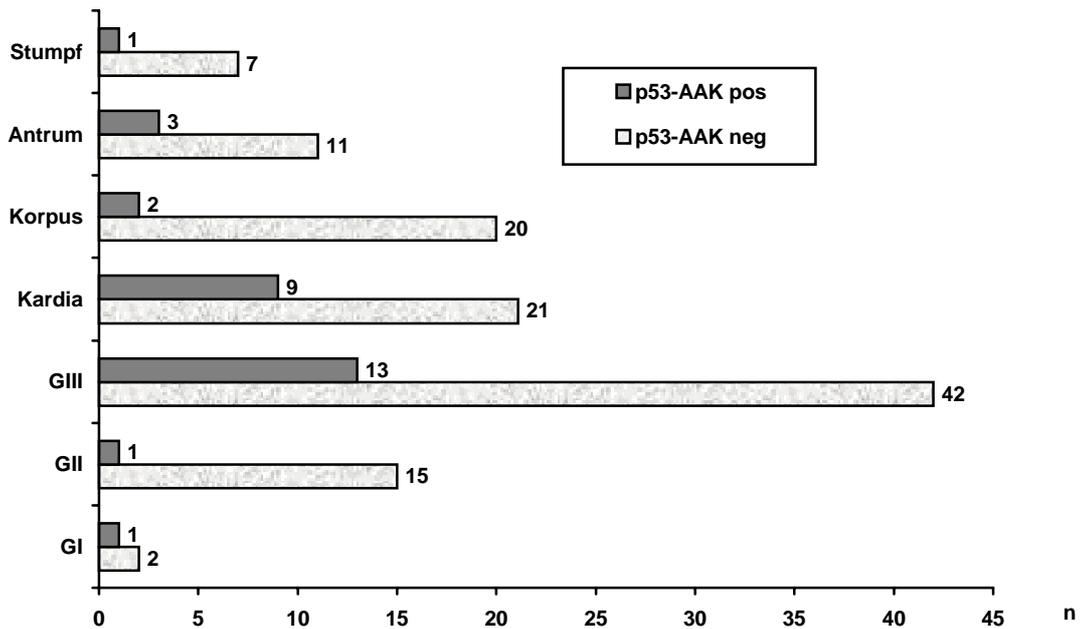


Abb. 11 Beziehung zwischen Tumorlokalisation, Tumorgrading, und p53-AAK im Serum bei Magenkarzinomen

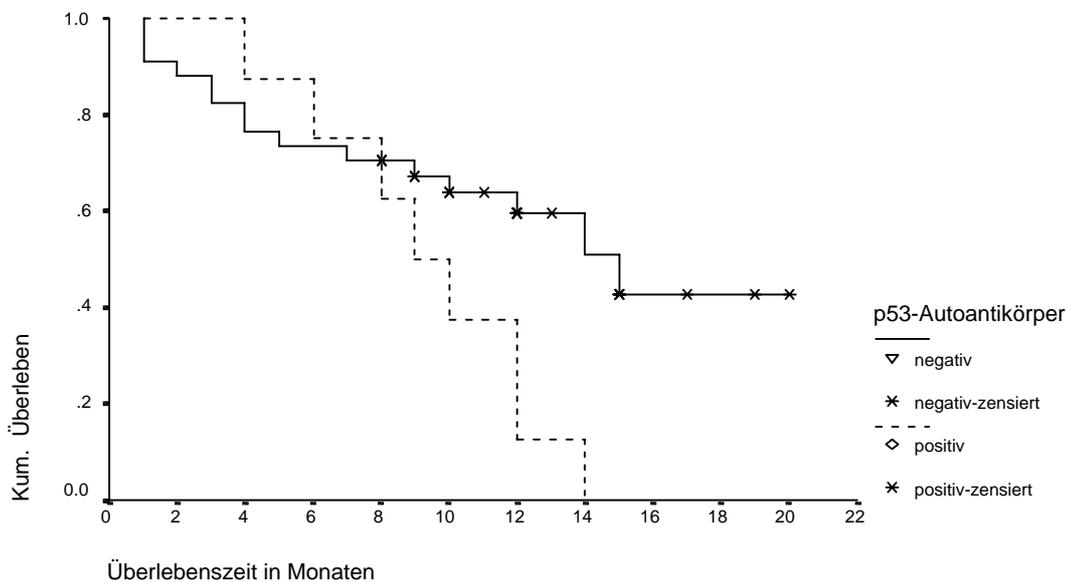


Abb. 12 Kumulative Überlebenszeit der R0-resezierten Magenkarzinome in Abhängigkeit vom p53-AAK Status nach Kaplan-Meier ($p=0.0314$)

3.1.3. Serum p53-Autoantikörper und immunhistochemischer Nachweis von p53

14 Patienten, bei denen praeoperativ im Serum p53-AAK nachweisbar waren, zeigten auch immunhistochemisch mit den beiden p53 Antikörpern DO-1 und Pab 1801 eine positive Reaktion. Ein Patient, welcher postoperativ p53-AAK negativ wurde und ein weiterer Patient, der perioperativ p53-AAK negativ war und 6 Monate post operationem p53-AAK positiv wurde, zeigten immunhistochemisch keine p53-Markierung mit den beiden Antikörpern DO-1 und Pab 1801.

3.1.4. Beziehung zwischen dem Nachweis von p53-AAK, p53, CEA und CA 19-9

Der Tumormarker CEA war bei 42 (56.8%) und CA 19-9 bei 24 (32.4) Patienten im pathologischen Bereich. 32 (76.2%) der CEA positiven und 21 (87.5%) der CA 19-9 positiven Patienten verstarben im Untersuchungszeitraum. Bei 4 Patienten, die CEA und bei 9 Patienten, die CA 19-9 negativ waren, konnten im Serum p53-AAK nachgewiesen werden. Insgesamt waren 3 Patienten sowohl CEA als auch CA 19-9 negativ, aber p53-AAK positiv (Tab.6, Abb.13).

Tab. 6 Nachweis von p53-AAK, p53 IHC , CEA und CA 19-9 bei Patienten mit Magenkarzinomen

	CEA pos(%)	CEA neg(%)	CA 19-9 pos(%)	CA 19-9 neg(%)	CEA und CA19-9 neg(%)	CEA und CA19-9 pos(%)
total	42(56.8)	32(43.2)	24(32.4)	50(67.6)	28(37.8)	20(27.0)
p53-AAK pos	11(14.9)	4(5.4)	6(8.1)	9(12.2)	3(4.1)	5(6.8)
p53-AAK neg	31(41.9)	28(37.8)	18(24.3)	41(55.4)	25(33.8)	15(20.3)
p53 IHC pos	18(24.3)	14(18.9)	7(9.5)	25(33.8)	14(18.9)	7(9.5)
p53 IHC neg	24(32.4)	18(24.3)	17(23.0)	25(33.8)	14(18.9)	13(17.6)

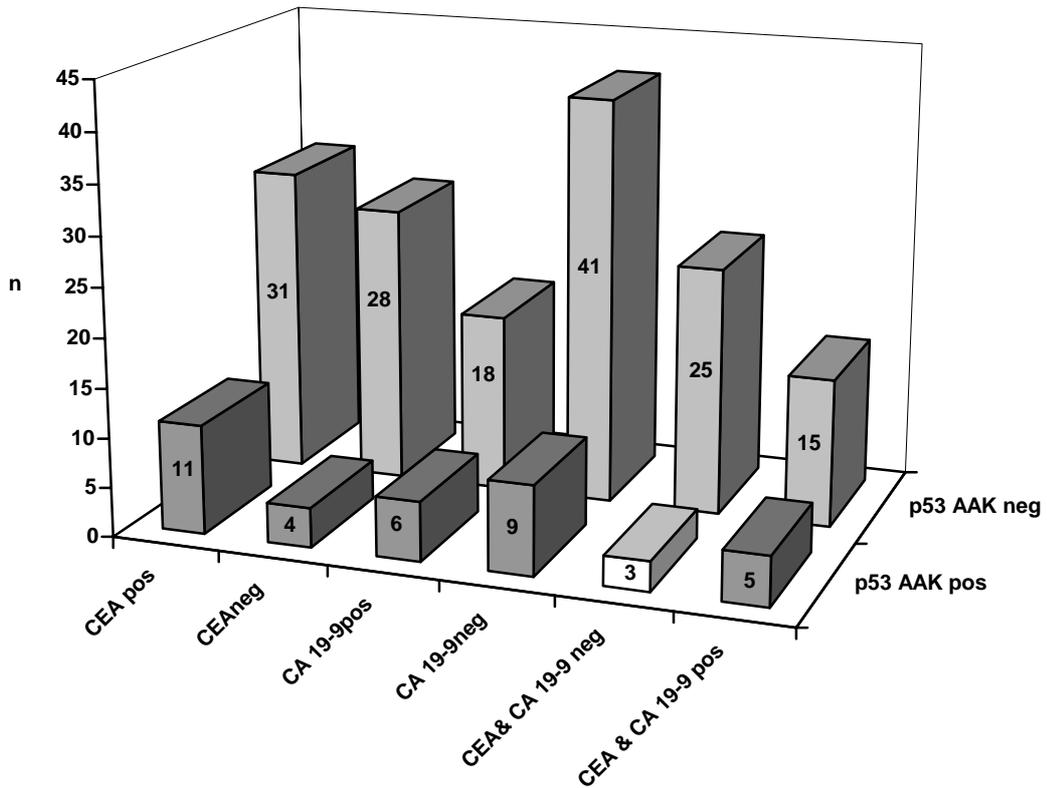


Abb. 13 Beziehung zwischen p53-AAK, CEA und CA 19-9 bei Magenkarzinomen

3.2. Pankreaskarzinom

Insgesamt wurden 35 Patienten im Alter zwischen 53 und 70 (median 62.2) Jahren mit einem Pankreaskarzinom erfaßt. Die geschlechtliche Verteilung zeigte mit 16 (45.7%) weiblichen und 19 (54.3%) männlichen Patienten ein leichtes Überwiegen der Männer. 27 (77.2%) der Patienten hatten ein fortgeschrittenes Tumorstadium, nur 8 (22.9%) konnten dem Tumorstadium I der UICC zugeordnet werden. Auffällig war, daß kein Patient dem Stadium II angehörte. Pankreaskarzinome mit einer schlechten oder fehlenden Tumordifferenzierung (Grading) gehörten mit einer Ausnahme dem Tumorstadium III oder IV an, hingegen 7 (20%) der Patienten mit einem Grading I oder II dem Tumorstadium I. Nach der Tumorlokalisation waren 25 (71.4%) im Pankreaskopf, 9 (25.7%) im Korpus und nur 1 Tumor im Schwanzbereich gelegen (Abb.14).

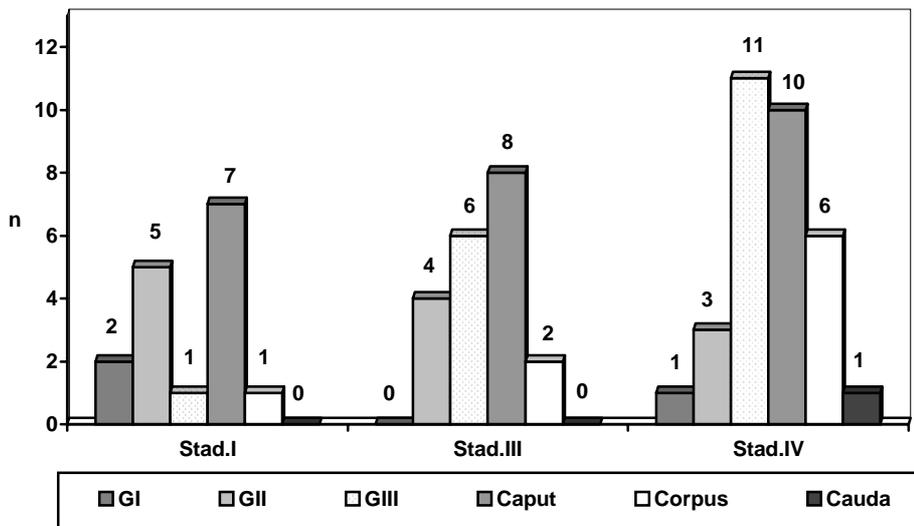


Abb. 14 Beziehung zwischen Tumorstadium, Grading und Tumorlokalisation bei Pankreaskarzinomen

Es verstarben 25 (71.4%) Patienten innerhalb der ersten 15 Monate. Von den 18 (51.4%) kurativ operierten Patienten (R0-Resektion) verstarben 10 in den ersten 15 Monaten, nur 6 (33.3%) der Patienten waren in den ersten 19 Monaten post operationem rezidivfrei. 4 dieser 6 Patienten hatten ein Tumorstadium I. Insgesamt betrug im Untersuchungszeitraum die mediane Überlebenszeit nur 8.3 Monate. Unterteilt in die Tumorstadien der UICC betrug die mediane Überlebenszeit im Stadium I 13 Monate, im Stadium III 12 Monate und im Stadium IV 3 Monate (Abb.15,16).

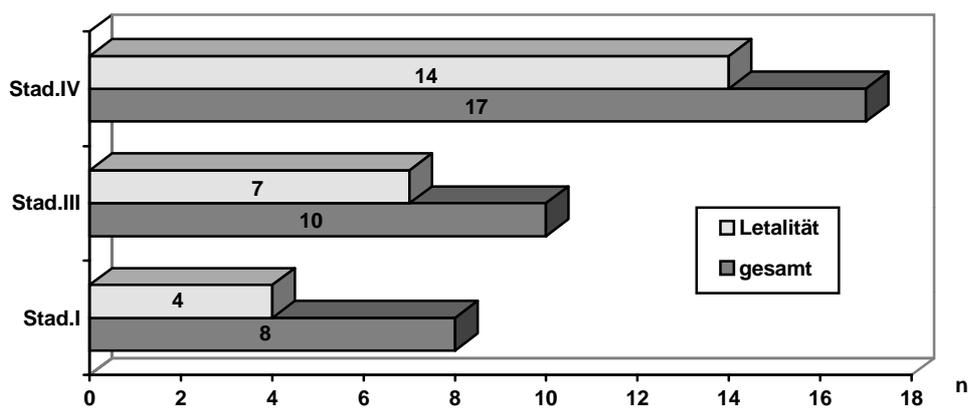


Abb. 14 Letalität in Abhängigkeit vom Tumorstadium bei Pankreaskarzinomen

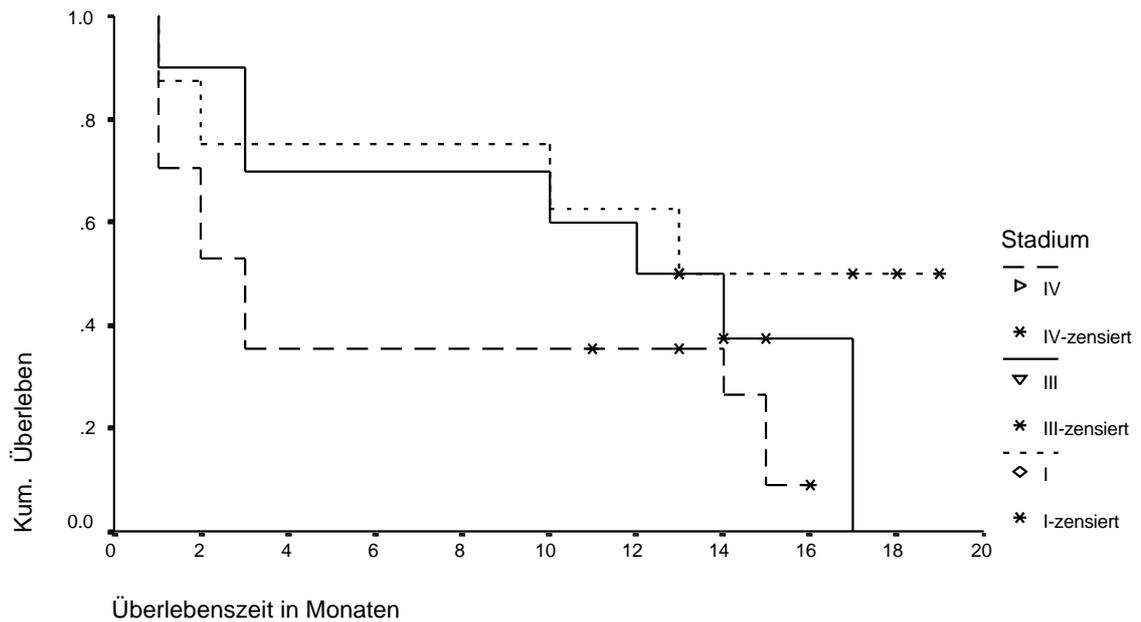


Abb. 16 Kumulative Überlebenszeit der Patienten mit Pankreaskarzinom nach Kaplan-Meier in Abhängigkeit vom Tumorstadium ($p= 0.125$)

3.2.1. Immunhistochemischer Nachweis von p53

15 (42.9%) der 35 Pankreaskarzinome waren p53 positiv. Das Durchschnittsalter betrug 63.7 Jahre, die Geschlechtsverteilung war etwa ausgeglichen. Gegenüber den p53 negativen Tumoren konnten keine signifikanten Unterschiede zu Alter, Geschlecht, Tumorstadium, Grading, Lokalisation, Resektionsausmaß und der medianen Überlebenszeit festgestellt werden (Tab.7; Abb.17,18).

Tab. 7 Immunhistochemischer Nachweis von p53 bei Pankreaskarzinomen in Beziehung zu klinischen und histopathologischen Daten

		p53 IHC pos	p53 IHC neg	gesamt
Alter	Jahre(median)	57-74(63.7)	52-71(61.3)	52-74(62.2)
Geschlecht(%)	weiblich	7(20)	6(17.1)	13(37.1)
	männlich	8(22.9)	14(40.0)	22(62.9)
Stadium(%)	I	4(11.4)	4(11.4)	8(22.9)
	III	5(14.3)	5(14.3)	10(28.6)
	IV	6(17.1)	11(31.4)	17(48.6)
Grading(%)	I	2(5.7)	1(2.9)	3(8.6)
	II	4(11.4)	9(25.7)	13(37.1)
	III	8(22.9)	9(25.7)	17(48.6)
	n.d.	1(2.9)	1(2.9)	2(5.7)
Lokalisation(%)	Caput	11(31.4)	15(28.6)	26(74.3)
	Corpus	3(8.6)	3(8.6)	6(17.1)
	Cauda	1(2.9)	2(5.9)	3(8.6)
Therapie(%)	pall./PE	5(14.3)	8(22.9)	13(37.1)
	Whipple	8(22.9)	8(22.9)	16(45.7)
	Linksresektion	2(22.9)	4(11.4)	6(17.1)

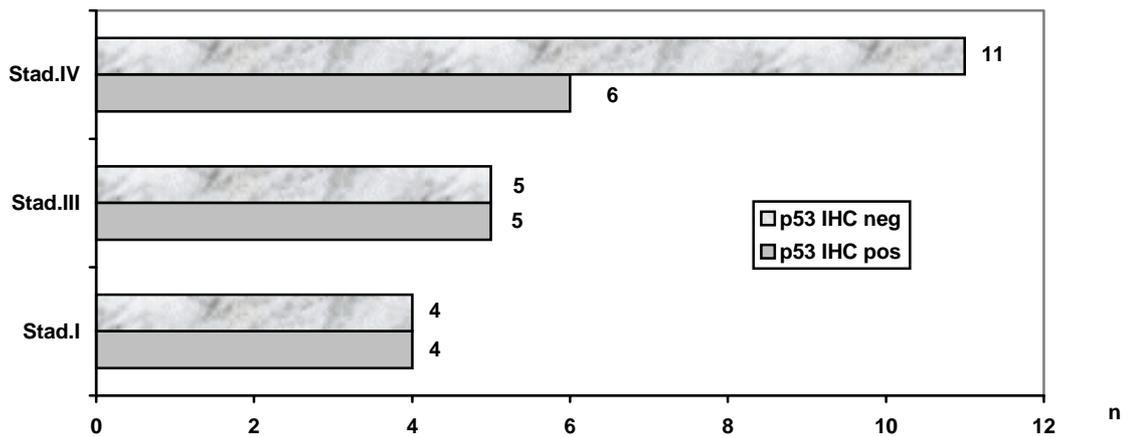


Abb. 17 Beziehung zwischen dem immunhistochemischen Nachweis von p53 und dem Tumorstadium bei Pankreaskarzinomen

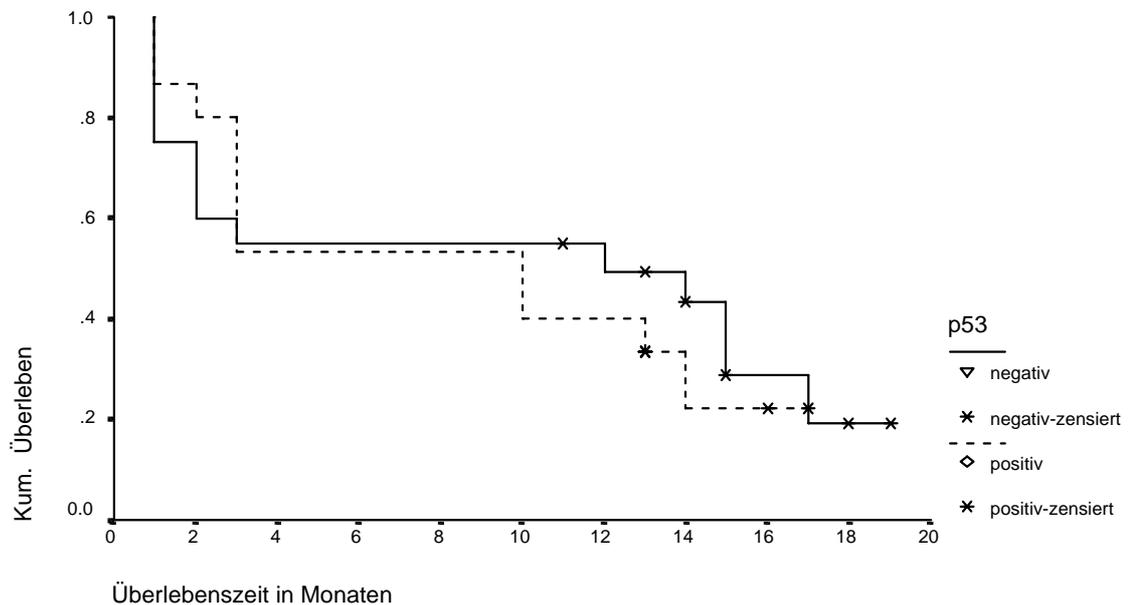


Abb. 18 Kumulative Überlebenszeit der Patienten mit Pankreaskarzinom in Beziehung zum immunhistochemischen Nachweis von p53 ($p = 0.7471$)

3.2.2. p53-Autoantikörper im Serum

Bei 7 (20%) der 35 Patienten waren p53-AKK im Serum praeoperativ nachweisbar. Das Durchschnittsalter der p53-AKK positiven Patienten lag bei 62.6 Jahren, 6 Patienten waren männlich und ein Patient weiblich. Autoantikörper gegen p53 fanden sich in allen Tumorstadien, im Stadium I 1 (2.9%), im Stadium III 2 (5.7%) und im Stadium IV 4 (11.4%). Nach der Tumordifferenzierung waren 4 (11.4%) Tumoren dem Grading III, 2 (5.7%) dem Grading II und 1 (2.9%) dem Grading I zuzuordnen (Tab.8,15; Abb.19).

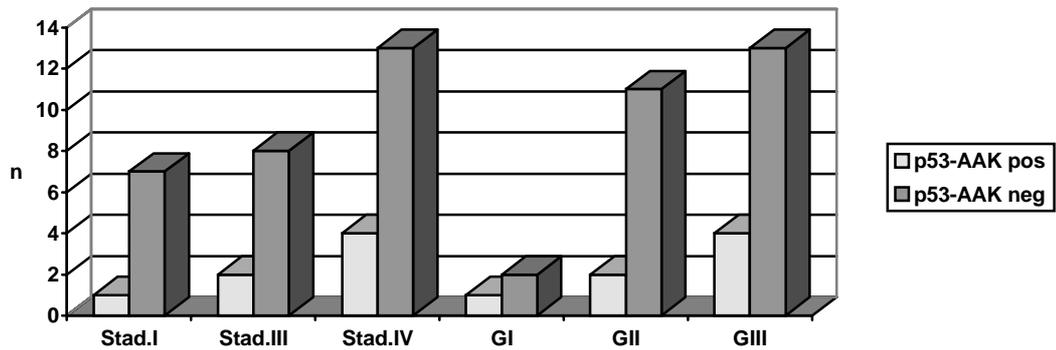


Abb. 19 Beziehung zwischen p53-AAK, Tumorstadium und Grading bei Pankreaskarzinomen

Eine R0-Resektion durch Whipple'sche Operation war nur in 3 Fällen der p53-AAK positiven Patienten möglich. Dagegen konnten 20/29 (69%) der p53-AAK negativen Patienten kurativ behandelt werden. Auffällig war, daß alle Patienten, welche p53-AAK positiv waren, innerhalb der ersten 14 Monate post operationem verstarben. Die mediane Überlebenszeit lag bei 2 Monaten im Vergleich zu 13 Monaten bei der Gruppe der p53-AAK negativen Patienten ($p=0.0098$). Zu berücksichtigen ist allerdings, daß 4 der p53-AAK positiven Patienten bereits ein inoperables Tumorstadium hatten (Abb.20).

Tab. 8 Pankreaskarzinompatienten mit positiven p53- Autoantikörpern im Serum

Patient	Überleben (Monate)	Organ	Histologie	Stadium	Grading	R-Klassifikation	p53 praeop	p53 5.postop	p53 14.postop	p53 1/2 a postop.	DO1	PAb 1801
1	1	Caput	anapl.Karz.	3	3	0	+	+	n.d.	n.d.	pos	pos
2	1	Caput	Adenokarz.	4	3	2	++	+	+	n.d.	neg	neg
3	10	Caput	Adenokarz.	1	1	0	+	+	neg	n.d.	pos	pos
4	3	Corpus	Adenokarz.	4	2	2	+	+	+	n.d.	neg	neg
5	14	Caput	Adenokarz.	3	2	0	+	+	+	neg	pos	pos
6	1	Cauda	Adenokarz.	4	3	2	+++	++	++	n.d.	pos	pos
7	2	Caput	Adenokarz.	4	3	2	+	+	+	n.d.	pos	pos

+ low ++ medium +++ high

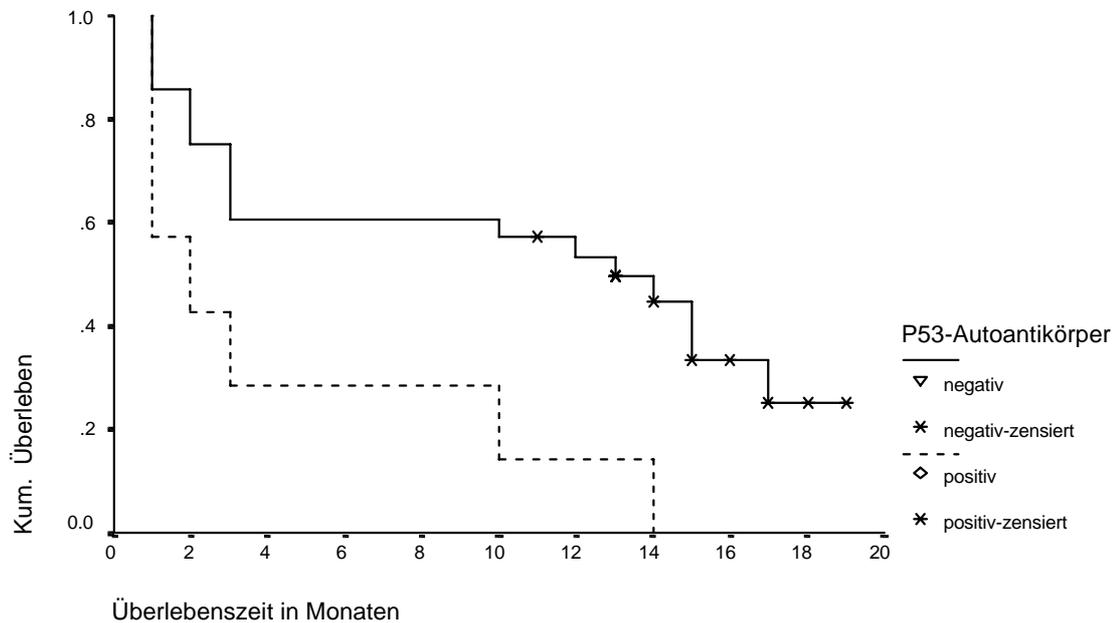


Abb. 20 Kumulative Überlebenszeit der Patienten mit Pankreaskarzinom in Abhängigkeit zum p53-AAK-Status nach Kaplan- Meier (p = 0.0098)

3.2.3. Serum p53-Autoantikörper und immunhistochemischer Nachweis von p53

2 der 7 Patienten, die p53-AAK positiv waren, zeigten immunhistochemisch mit den Antikörpern DO-1 und Pab 1801 keine Markierung des p53-Proteins. Der Nachweis von p53-AAK und p53-Protein war unabhängig von den untersuchten klinischen und histopathologischen Parametern. Ein immunhistochemischer Nachweis von p53 hatte keinen Einfluß auf die Letalität und die mediane Überlebenszeit.

3.2.4. Beziehung zwischen p53-AAK , CEA und CA 19-9

20 (57.1%) der Patienten hatten praeoperativ ein pathologisch erhöhtes CEA und 22 (62.9%) ein erhöhtes CA 19-9. Interessant war, daß 2 Patienten ein unauffälliges CEA und CA 19-9 hatten, aber p53-AAK positiv waren. Die postoperative Letalität war unabhängig vom Nachweis beider konventioneller Tumormarker, hingegen ging der praeoperative Nachweis von p53-AAK mit einer Letalität von 100% innerhalb von 14 Monaten einher (Tab.9; Abb.21).

Tab. 9 p53-AAK, CEA und CA 19-9 bei Patienten mit Pankreaskarzinomen

	CEA pos n (%)	CEA neg n (%)	CA 19-9 pos n (%)	CA 19-9 neg n (%)	CEA und CA19-9 pos n (%)	CEA und CA19-9 neg n (%)
total	20(57.1)	15(42.9)	22(62.9)	13(37.1)	17(48.6)	10(28.6)
p53-AAK +	5(14.3)	2(5.7)	4(11.4)	3(8.6)	4(11.4)	2(5.7)
p53-AAK -	15(42.9)	13(37.1)	18(51.4)	10(28.6)	13(37.1)	8(22.9)

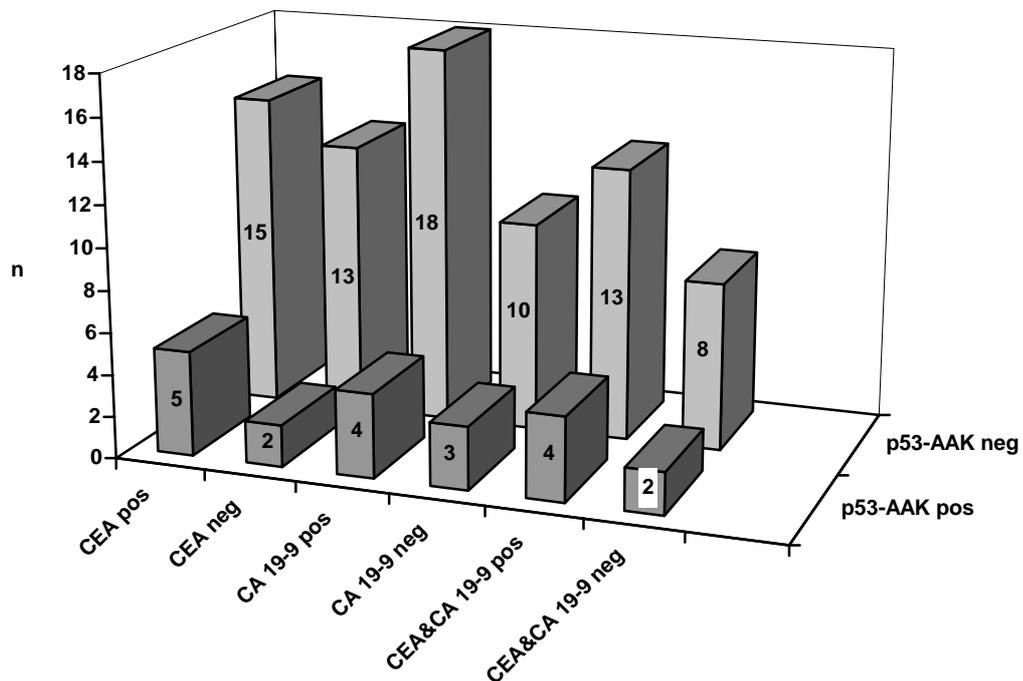


Abb. 21 Beziehung zwischen dem praeoperativen Nachweis von p53-AAK, CEA und CA 19-9 bei Pankreaskarzinomen

3.3. Ösophaguskarzinom

Im Untersuchungszeitraum wurden 25 Patienten mit Ösophaguskarzinom im Alter zwischen 45 und 91 (median 62.8) Jahren erfaßt. 21(84%) der Patienten gehörten dem männlichen und nur 4 (16%) dem weiblichen Geschlecht an. 18 (72%) der Patienten hatten ein fortgeschrittenes Tumorstadium, 7 (28%) ein Stadium IIa oder IIb, kein Patient konnte dem Stadium I zugeordnet werden. Eine R0-Resektion konnte bei 14 (56%) Patienten erzielt werden. Von diesen gehörten 5 (20%) dem Stadium IIa, 2 (8%) dem Stadium IIb und 7 (28%) dem Stadium III an. Nach dem Grad der Tumordifferenzierung waren 14 (56%) dem Grading II und 9 (36%) dem Grading III zuzurechnen (Abb.22).

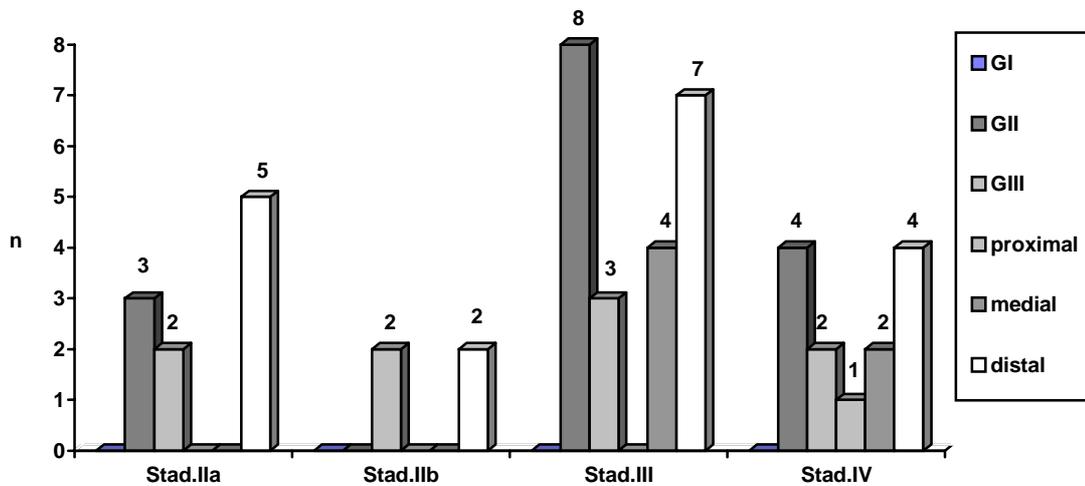


Abb. 22 Lokalisation und Grading in Abhängigkeit zum Tumorstadium bei Ösophaguskarzinomen

Histologisch handelte es sich um 18 (72%) Plattenepithelkarzinome, 5 (20%) Adenokarzinome und ein Karzinom mit neuroendokriner Differenzierung. Die meisten Patienten hatten ein Karzinom des distalen Drittels des Ösophagus (72%), 6 (24%) lagen im medialen Drittel und nur ein Tumor befand sich im proximalen Drittel des Ösophagus. Auffällig war, daß alle 5 Patienten im Stadium IIa zwischen dem 3. und 16. Monat post operationem verstorben waren und die mediane Überlebenszeit im Stadium IV nur 2 Monate betrug. Innerhalb des Nachbeobachtungszeitraumes von 24 Monaten lag die mediane Überlebenszeit der operativ behandelten Patienten mit einer R0-Resektion bei 18.5 Monaten, allerdings verstarben von den 14 Patienten 10 (84%) innerhalb des Untersuchungszeitraumes (Abb.23).

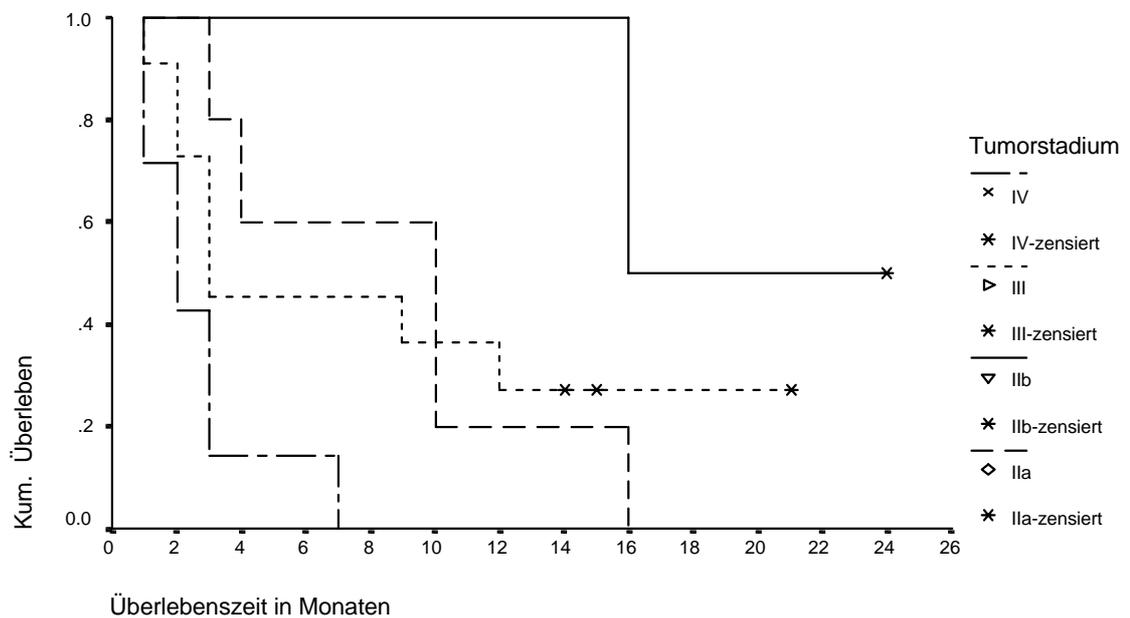


Abb. 23 Kumulative Überlebenszeit der Ösophaguskarzinome in Abhängigkeit vom Tumorstadium nach Kaplan-Meier ($p = 0.0138$)

3.3.1. Immunhistochemischer Nachweis von p53

Immunhistochemisch waren 12 (48%) der untersuchten Ösophaguskarzinome p53 positiv. 3 (12%) konnten aufgrund unzureichenden Gewebes nicht immunhistochemisch untersucht werden. Das Durchschnittsalter der p53 positiven Patienten lag bei 60.7 Jahren, das der p53 negativen Patienten bei 63.1 Jahren. Signifikante Unterschiede zeigten beide Gruppen in den untersuchten Parametern nicht (Tab.10).

Tab.10 Klinische und histopathologische Daten der Ösophaguskarzinompatienten in Beziehung zum immunhistochemischen Nachweis von p53 (n=22)

		p53 IHC pos	p53 IHC neg	gesamt
Alter	Jahre(median)	43-71(60.7)	57-80(63.1)	43-91(62.8)
Geschlecht(%)	weiblich	2(8.0)	2(8.0)	4(16.0)
	männlich	10(40.0)	8(32.0)	18(72.0)
Stadium(%)	IIa	3(12.0)	2(8.0)	5(20.0)
	IIb	2(8.0)	0	2(8.0)
	III	5(20.0)	3(12.0)	8(32.0)
	IV	2(8.0)	5(20.0)	7(28.0)
Grading(%)	I	0	0	0
	II	6(24.0)	7(28.0)	13(52.0)
	III	5(20.0)	2(8.0)	7(28.0)
	n.d.	1(4.0)	1(4.0)	2(8.0)
Lokalisation(%)	proximal	0	1(4.0)	1(4.0)
	medial	2(8.0)	1(4.0)	3(12.0)
	distal	10(40.0)	8(32.0)	18(72.0)
Histologie(%)	Plattenepithel-Karz.	9(36.0)	7(36.0)	16(64.0)
	Adenokarzinom	3(12.0)	2(8.0)	5(20.0)
	neuroend. diff. Karz.	0	1(4.0)	1(4.0)
Therapie(%)	Ösophagektomie	8(32.0)	6(24.0)	14(56.0)
	pall./PE	4(16.0)	4(16.0)	8(32.0)

3.3.2. p53-Autoantikörper im Serum

Praeoperativ fanden sich bei 7 (28%) der Patienten p53-AAK im Serum. Das Durchschnittsalter der p53-AAK positiven Patienten betrug 61.9 Jahre und unterschied sich kaum von der negativen Gruppe mit 63.2 Jahren. Die Geschlechtsverteilung war etwa ausgeglichen. Die mediane Überlebenszeit der p53-AAK positiven Patienten unterschied sich mit 10 Monaten gegenüber 3 Monaten der negativen Gruppe. Ursache der höheren Letalität in der negativen Gruppe waren eine schlechtere Tumordifferenzierung und vor allem ein höherer Anteil an Patienten mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium. Folglich konnten nur

9/18 (50%) Patienten der p53-AAK negativen Gruppe aber 6/7 (85.7%) der p53-AAK positiven Gruppe einer R0-Resektion unterzogen werden. Die mediane Überlebenszeit der R0-resezierten Patienten zeigte hingegen mit jeweils 10 Monaten in beiden Gruppen keinen Unterschied. Zwei der Patienten die praeoperativ p53-AAK positiv waren, wurden postoperativ negativ. Einer der Patienten mit dem Tumorstadium pT2pN1M0G3 blieb auch 15 Monate später p53-AAK negativ und war bis zum Abschluß des Untersuchungszeitraumes rezidivfrei (Tab.11,16; Abb.24,25).

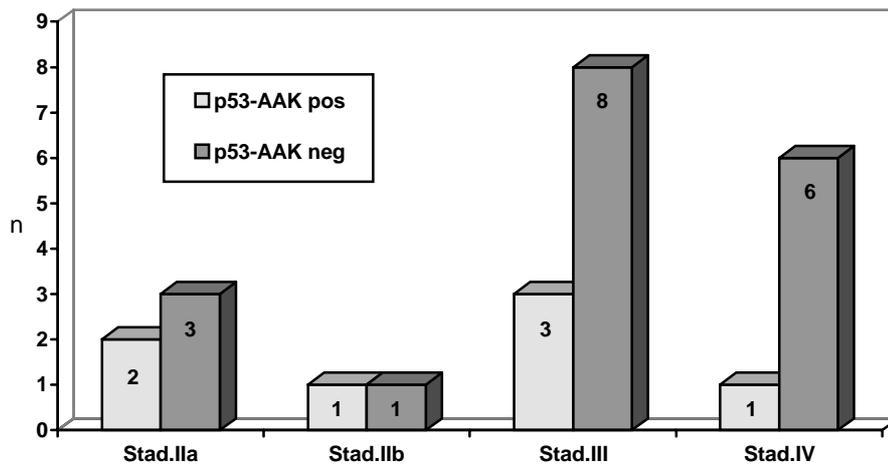


Abb. 24 p53-AAK im Serum in Abhängigkeit zum Tumorstadium

Tab. 11 Ösophaguskarzinompatienten mit positiven p53-AAK im Serum

Patient	Überleben (Monate)	am Tumor verstorben	Lokalisation	Histologie	Stadium	G	R	p53 praeop.	p53 5.d.postop.	p53 14.d.postop.	p53 1/2 a postop.	DO-1	PAb 1801
1	24		distal	a	2b	3	0	+	+	neg	neg	pos	pos
2	3	*	distal	a	3	2	0	++	+	+	n.d.	pos	pos
3	2	*	distal	p	4	2	2	+++	n.d.	n.d.	n.d.	pos	pos
4	10	*	distal	p	2a	2	0	+	+	+	n.d.	pos	pos
5	9	*	medial	a	3	2	0	+	neg	neg	n.d.	pos	pos
6	15		distal	p	3	2	0	+	+	+	n.d.	neg	neg
7	14	*	distal	p	2a	2	0	+	+	+	n.d.	neg	neg

a Adenokarzinom p Plattenepithelkarzinom
+ low ++ medium +++ high

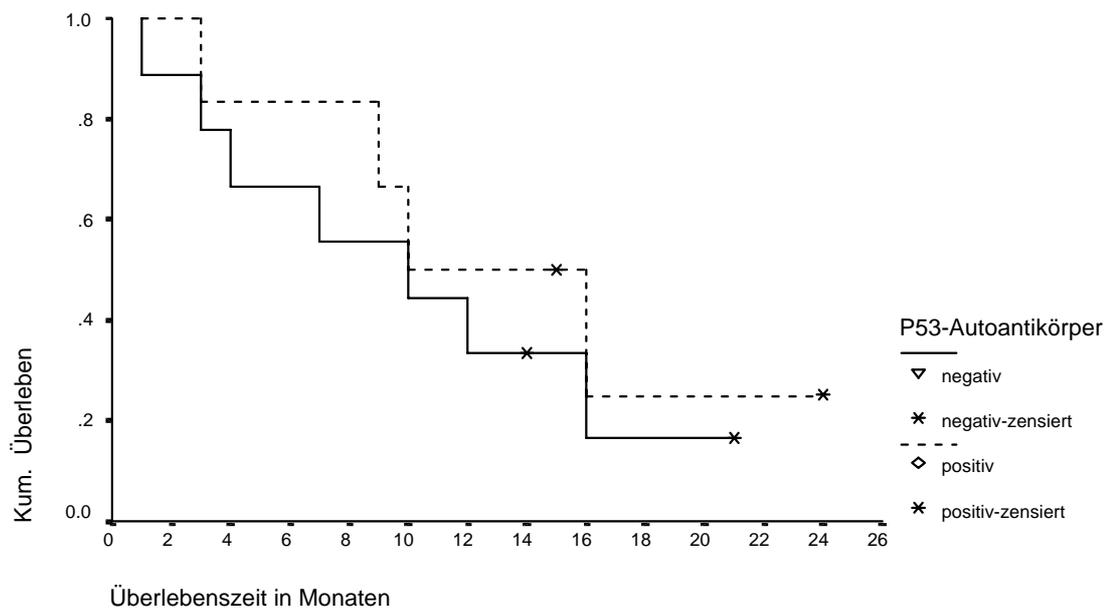


Abb. 25 Kumulative Überlebenszeit der R0-resezierten Ösophaguskarzinompatienten in Abhängigkeit vom p53-AAK Status nach Kaplan- Meier ($p=0.545$)

3.3.3. Serum p53-Autoantikörper und immunhistochemischer Nachweis von p53

Nur 5 der 7 p53-AAK positiven Patienten zeigten auch immunhistochemisch eine positive p53 Markierung. Die beiden immunhistochemisch negativen Patienten waren histologisch Plattenepithelkarzinome im Tumorstadium III und IIa, einer der Patienten verstarb nach 16 Monaten, der andere lebte bis zum Abschluß der Untersuchung rezidivfrei. Die drei Patienten, bei denen p53-Protein nicht bestimmt werden konnte, waren p53-AAK negativ und inoperabel.

3.3.4. Beziehung zwischen p53-AAK, CEA und CA 19-9

14 (56%) der Patienten hatten praeoperativ ein pathologisch erhöhtes CEA und nur 2 (8.0%) ein erhöhtes CA 19-9. 3 (12.0%) der p53-AAK positiven Patienten waren sowohl CEA als auch CA 19-9 negativ. Eine Korrelation zwischen den konventionellen Tumor-markern und dem Überleben bestand nicht (Tab.12).

Tab. 12 p53-AAK, CEA und CA 19-9 bei Patienten mit Ösophaguskarzinom

	CEA pos n (%)	CEA neg n (%)	CA 19-9 pos n (%)	CA 19-9 neg n (%)	CEA & CA 19-9 pos n (%)	CEA & CA 19-9 neg n (%)
total(%)	14(56.0)	11(44.0)	2(8.0)	23(92.0)	2(8.0)	11(44.0)
p53-AAK+	4(16.0)	3(12.0)	2(8.0)	5(20.0)	2(8.0)	3(12.0)
p53-AAK -	10(40.0)	8(32.0)	0	18(72.0)	0	8(32.0)

4. Diskussion

4.1. Magenkarzinom und p53- Autoantikörper

Die Inaktivierung oder der Verlust von Tumorsuppressorgenen spielt in der Onkogenese des Magenkarzinomes wahrscheinlich eine entscheidende Rolle. Der Verlust der Heterozygotie des Chromosomenabschnittes 17p, dem p53- Genlocus und Mutationen des p53-Genes können in einem hohen Prozentsatz der Magenkarzinome nachgewiesen werden (63, 67, 74, 89, 124, 143). Immunhistochemisch lassen sich solche Mutationen nachweisen, die zu einer Stabilisierung oder Überexpression von p53- Protein führen. Jedoch entgehen Deletionen, Insertionen und im allgemeinen solche Mutationen, die keine Verlängerung der physiologisch kurzen Halbwertszeit des p53- Proteines induzieren. Eine Akkumulation von p53- Protein wird in bis zu 57% der Magenkarzinome gesehen (73, 89, 95).

Tab.17 Immunhistochemischer Nachweis von p53 im Tumorgewebe von Magenkarzinomen

	n	IHC pos. (%)	Alter	Sex	T	N	M	G	Tumor-stadium	Lauren	Lokali-sation	Über-leben
Martin 1992	125	72 (57%)	n.d.	n.d.	n.s.	n.d.	n.d.	n.s.	n.d.	n.s.	n.d.	p=0.02
Sasano 1992	32	11 (33%)	n.d.	n.d.	n.s.	n.s.	n.d.	n.s.	n.s.	n.d.	n.d.	n.s.
Starzynska 1992	55	26 (47%)	n.s.	n.s.	n.d.	p=0.001	n.d.	n.d.	p=0.001	n.s.	n.s.	p=0.001
Uchino 1992	149	44 (29.5%)	n.d.	n.d.	n.s.	n.s.	n.d.	n.d.	n.s.	n.d.	n.d.	n.d.
Jang 1993	84	29 (35%)	n.d.	n.d.	n.s.	n.s.	n.s.	n.d.	n.s.	n.d.	n.d.	n.s.
Kakeji 1993	96	52 (54%)	n.s.	n.s.	n.s.	p=0.05	n.s.	n.s.	n.d.	n.d.	n.s.	n.d.
Flejou 1994	66	28 (42%)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.d.	n.d.	n.s.	p=0.002	p=0.001	n.d.
Hurlimann 1994	72	28 (39%)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.d.	n.s.	p=0.0001	n.d.	n.s.
Starzynska 1994	200	85 (42.5%)	n.s.	n.s.	p=0.001	p=0.001	p=0.001	n.d.	n.d.	n.s.	p=0.027	p=0.001
Joypaul 1994	206	94 (46%)	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	n.d.	n.s.	p=0.05	n.d.	n.d.	p=0.006

In der vorliegenden Arbeit konnte bei 32 der 74 (43.2%) Magenkarzinome immunhistochemisch p53 nachgewiesen werden. Eine signifikante Korrelation konnte zu den untersuchten klinischen und histopathologischen Parametern (Tab.13, Abb.8,9) nicht gefunden werden. Die publizierten Daten zur immunhistochemischen Untersuchung von Magenkarzinomen sind recht different. So fanden sich in zahlreichen Studien in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen keine Assoziationen zu den untersuchten klinischen und histopathologischen Parametern (Tab.17).

Hingegen korrelierte in einzelnen Studien die p53-Überexpression mit der Tiefe der Tumorinvasion (135), der lymphogenen Metastasierung (73, 134, 135), der Fernmetastasierung (134), dem Tumorstadium (34, 70), der Tumorlokalisation (34, 135) und der Lauren-Klassifikation (34, 65). Weiterhin konnte eine verkürzte Überlebenszeit mit einer p53-Überexpression in Verbindung gebracht werden (70, 95, 134). Das Auftreten von p53- Mutationen scheint in der Onkogenese der Magenkarzinome unabhängig vom histologischen Typ zu sein. Bei Frühkarzinomen konnten Uchino et al. 1993 (147) eine deutliche Assoziation zwischen dem Nachweis von p53- Mutationen und dem intestinalen Typ nach der Lauren-Klassifizierung beobachten. Hingegen fanden Craanen et al. 1995 (24) bei der Untersuchung von 45 Frühkarzinomen keine Korrelation zwischen dem Auftreten einer p53-Akkumulation und dem intestinalen und diffusen Typ nach Lauren. Weiterhin wurde eine fehlende p53-Akkumulation in der normalen Magenschleimhaut, bei der chronischen atrophischen Gastritis und der intestinalen Metaplasie beobachtet. Ein immunhistochemischer Nachweis von p53 gelang erst beim histologischen Vorliegen einer schweren Dysplasie (24, 84, 121). Es scheint somit, daß die Akkumulation von p53, welche im allgemeinen beim Magenkarzinom durch eine p53- Mutation verursacht wird, ein später Schritt in der Onkogenese der Magenkarzinome ist. Wir fanden eine homogene Verteilung der p53-Akkumulation in den Tumorgeweben unabhängig vom Tumorstadium, allerdings hatten nur 16 der 74 (21.6%) Patienten mit Magenkarzinom ein prognostisch günstiges Tumorstadium I bzw. II der UICC. Unsere immunhistochemischen Ergebnisse inaugrieren einen fehlenden prognostischen Einfluß des p53 bei fortgeschrittenen Magenkarzinomen in Übereinstimmung mit anderen Arbeiten (65,126). Die unterschiedlichen Ergebnisse in den einzelnen Studien finden ihren Ausdruck in einer allgemein zu geringen Anzahl an untersuchten Tumoren, in methodischen Unterschieden sowie in der Verwendung von verschiedenen p53-Antikörpern. Auch ein negativer immunhistochemischer Nachweis von p53 schließt eine Alteration des p53-Genes oder eine Deletion mit den Folgen eines Verlustes der Wildtyp-Funktion nicht aus. Eine homozygote Deletion des p53-Genes konnte

bei schlecht differenzierten Magenkarzinomen zu 76% und bei gut differenzierten zu 60% nachgewiesen werden (141). Die Bedeutung des immunhistochemischen Nachweises von p53 bei Magenkarzinomen bleibt somit umstritten, da der positive Nachweis keine sichere Aussage zu histologischen und klinisch-prognostischen Kriterien zulässt.

Bei 15/74 (20.3%) der Patienten konnten im Serum praeoperativ p53-AAK nachgewiesen werden. Ähnlich hohe p53-AAK im Serum wurden bei hepatozellulären Karzinomen (148), Ösophaguskarzinomen (13), Plattenepithelkarzinomen im Pharynx und Larynx (11, 93) und kolorektalen Karzinomen (3, 50) gefunden. Im Unterschied zu dem immun-histochemischen Nachweis traten p53-AAK fast ausschließlich im fortgeschrittenen Tumorstadium auf, nur ein Patient im Tumorstadium Ib der UICC zeigte praeoperativ zirkulierende Antikörper. Ein Nachweis von zirkulierenden p53-AAK war immer mit einer Überexpression von p53 verbunden. Vergleichbare Angaben anderer Autoren liegen für Magenkarzinome zur Zeit nicht vor. Allerdings wurde bei einer Reihe anderer Tumoren eine Konkordanz von 48.7 bis 100% gefunden. So konnten bei anderen Tumorentitäten Patienten ermittelt werden, die p53-AAK positiv waren, in deren Tumor jedoch weder ein immunhistochemischer Nachweis von p53 noch der Nachweis einer Mutation auf dem p53 Gen gelang (13, 50, 122, 146, 156, 157, 158).

Wir fanden eine signifikante Korrelation zwischen dem Nachweis zirkulierender p53-AAK und einem fortgeschrittenen Tumorstadium ($p=0.0291$). Im Nachuntersuchungszeitraum von maximal 20 Monaten überlebte nur ein Patient der praeoperativ p53-AAK positiven Patienten. Dieser hatte ein Tumorstadium pT2pNoMo und wurde nach einer R0- Resektion postoperativ p53-AAK negativ. Eine Präsenz von p53-AAK der R0- resezierten Magenkarzinome ging mit einer schlechten Prognose einher ($p=0.0314$). Ähnliche Ergebnisse wurden bei Mamma- und Bronchialkarzinomen beobachtet (111, 159). Der Nachweis von p53-AAK war bei Mammakarzinomen mit schlechten prognostischen Kriterien, wie negativem Hormonrezeptorstatus und hohem Grading assoziiert (101, 129). Peyrat et al. (111) fanden 1995 bei einer repräsentativen Gruppe von 353 Patientinnen mit primärem Mammakarzinom bei 42 (12%) zirkulierende p53-AAK im Serum. Keine der Patientinnen mit p53-AAK hatte einen positiven Progesteron- oder Östrogenrezeptor-status. Die Überlebenszeiten der Patientinnen waren unabhängig vom Tumorstadium während eines durchschnittlichen Untersuchungszeitraumes von 5.3 Jahren bei den p53-AAK positiven signifikant niedriger, als bei den p53-AAK negativen Patientinnen. Eine positive

Korrelation zum p53-AAK-Status und schlechter Tumordifferenzierung wurde auch bei Ovarialkarzinomen beschrieben (45).

Wir beobachteten nur in einem Fall in dem frühen Tumorstadium Ib p53-AAK im Serum. Die 14 anderen p53-AAK positiven Patienten hatten mindestens ein Tumorstadium IIIa der UICC. Das Auftreten von p53-AAK scheint somit ein recht spätes Ereignis in der Tumorprogression der Magenkarzinome zu sein. Im Gegensatz dazu wurde das Auftreten von p53-AAK als ein frühes Ereignis in der Onkogenese der Bronchialkarzinome, malignen Lymphome und hepatozellulären Karzinome beschrieben (87, 92, 101, 115, 145, 146). Lubin et al. (92) beobachteten zum Beispiel 1995 bei high-risk Patienten bereits mehrere Monate vor der klinischen Diagnose eines Bronchialkarzinoms das Auftreten von p53-AAK im Serum.

Die Tumormarker CEA und CA 19-9 sind beim Magenkarzinom mit einer geringen Sensitivität behaftet und werden routinemäßig in der postoperativen Verlaufskontrolle zur frühzeitigen Erkennung eines Rezidives eingesetzt. Angaben zur Sensitivität schwanken beim Magenkarzinom zwischen 25 und mehr als 60% für CEA und 35 bis über 50% für CA 19-9 (55, 57). Bei 12.5% (4/32) der CEA negativen Patienten und bei 18% (9/50) der CA 19-9 negativen Patienten konnten wir p53-AAK im Serum nachweisen. 10.7% (3/28) der CEA und CA 19-9 negativen Patienten zeigten positive zirkulierende Autoantikörper gegen p53-Protein. Die p53-AAK könnten damit auch bei Magenkarzinomen als unabhängige Tumormarker dienen und eine Lücke der konventionellen Tumormarker schließen. Hammeln et al. (50) fanden 1997 in einer prospektiven Studie bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen nur bei 20% der Patienten eine gleichzeitige Erhöhung von CEA, CA 19-9 und p53-AAK. Bei 30% der Patienten konnten zirkulierende p53-AAK im Serum bei normalem CEA und CA 19-9 nachgewiesen werden. Die kombinierte Bestimmung der Tumormarker mit den p53-AAK würde somit zu einer Verbesserung der Sensitivität führen. Eine Steigerung der Sensitivität der konventionellen Tumormarker wurde insbesondere beim hepatozellulären Karzinom und beim Angiosarkom der Leber gesehen. Hier führte die gleichzeitige Bestimmung von AFP und p53-AAK zu einer deutlichen Steigerung der Sensitivität, insbesondere bei der Differentialdiagnose zur Leberszirrhose (115, 148).

Zusammenfassend können wir feststellen, daß p53-AAK im Serum von Magenkarzinompatienten bei etwa 1/5 der Betroffenen nachweisbar sind, unabhängig vom Nachweis der Tumormarker CEA und CA 19-9 auftreten und ein spätes Ereignis in der

Tumorgenese darstellen. Eine signifikante Korrelation wurde zwischen dem Auftreten von p53-AAK, einem fortgeschrittenen Tumorstadium und einer verkürzten Überlebenszeit beobachtet. Gehäuft fanden sich p53-AAK bei einer Tumorlokalisation im proximalen Magen und beim Nachweis von lymphogenen Metastasen.

4.2. Pankreaskarzinom und p53- Autoantikörper

Das Karzinom des exokrinen Pankreas gehört auch heute noch zu den ausgesprochen therapieresistenten malignen Erkrankungen mit sehr schlechter Prognose. Die 5-Jahres-Überlebensrate wurde in den letzten Jahren zwischen 3.5 und 24% angegeben. Obwohl nur 3% der malignen Tumoren Pankreaskarzinome sind, stellt es die fünfthäufigste Todesursache weltweit dar. Von entscheidender prognostischer Bedeutung ist das Stadium der Erkrankung bei Diagnosestellung und der histologische Typ. Insbesondere haben Zystadenokarzinome des Pankreas eine wesentlich bessere Prognose (1, 2, 38, 47, 106). Zu den bekannten Risikofaktoren der Entstehung eines Pankreaskarzinomes gehören das Rauchen und wahrscheinlich die chronische Pankreatitis. Auch eine familiäre Disposition wurde durch den Nachweis von Keimbahnmutationen in den Tumorsuppressorgenen p16 und BRCA2 gesehen. Insgesamt ist anzunehmen, daß durch eine genetische Prädisposition bzw. durch exogene Noxen genetische Veränderungen herbeigeführt werden, die das Konzept einer multifaktoriellen Genese der Entstehung der Pankreaskarzinome unterstützen. So konnten bei Pankreaskarzinomen in bis zu 100% Mutationen der K-ras-Onkogene und in bis zu 76% der p53-, 96% der p16- und 50% der DPC4- Tumorsuppressorgene gefunden werden (6, 14, 40, 41, 49, 71, 117, 119, 155).

Eine p53-Überexpression fanden wir in 42.9% der 35 untersuchten Pankreaskarzinome. Es bestand eine 100%ige Konkordanz zwischen den beiden verwendeten p53 Antikörpern DO-1 und Pab 1801. Eine Assoziation zwischen dem immunhistochemischen Nachweis von p53 und den untersuchten klinischen und histopathologischen Parametern beobachteten wir nicht (Tab.7, Abb.17,18). In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen zeigten die bisherigen Untersuchungen keinen sicheren Zusammenhang zwischen der p53- Immunoreaktivität, dem Tumorstadium und dem histologischen Grading (71, 161, 166). Im Gegensatz zu unseren Befunden konnte in einigen Studien eine signifikante Korrelation zwischen einer p53-Akkumulation und einer verkürzten Überlebenszeit beobachtet werden (104, 161). Es finden sich aber auch Studien, in denen ein Zusammenhang fehlt (166). Interessant war die

Beobachtung von verschiedenen Autoren, die bereits eine Akkumulation von p53 in den dukталen Läsionen des Pankreaskarzinomes nachweisen konnten (10, 166). Diese Befunde ließen sich durch direktes Sequenzieren bestätigen und sind ein handfestes Indiz des frühen Auftretens von p53-Mutationen in der Onkogenese des Pankreaskarzinomes (10, 28, 166). So kann die immunhistochemische Aufarbeitung von Gewebeproben die Diagnose eines Pankreaskarzinomes bei der Differentialdiagnose zur chronischen Pankreatitis unterstützen, da bei der chronischen Pankreatitis der immunhistochemische Nachweis von p53 im proliferierten Gangepithel fehlt (16).

Im Serum von Patienten mit Pankreaskarzinomen wurde das Auftreten von p53-AAK in bis zu 28% beobachtet (82, 96, 116). Vergleichbar fanden wir bei 7/35 (20%) Patienten p53-AAK im Serum. Auffällig war die Tendenz, daß mit fortschreitendem Tumorstadium und schlechterem Grading vermehrt p53-AAK nachgewiesen werden konnten. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Marxen et al. 1994 (96) und Laurent-Puig et al. 1995 (82), die p53-AAK nur in fortgeschrittenen Tumorstadien mit bereits bestehender Lebermetastasierung oder Infiltration der benachbarten Organe fanden. Erwartungsgemäß war die mediane Überlebenszeit der p53-AAK positiven Patienten in unserer Studie mit 3 Monaten signifikant reduziert (Tab.11; Abb.19,20). Das Auftreten der p53-AAK in fortgeschrittenen Tumorstadien spricht eher für die Theorie eines Freiwerdens von p53-Protein durch Tumorzellnekrose als für spezielle intrazelluläre Mechanismen, die eine Antikörperreaktion auslösen. Bei einigen wenigen Patienten wurden p53-AAK im Serum bei benignen Pankreaserkrankungen gefunden, so daß bei kurzer Nachbeobachtungszeit die Möglichkeit eines okkulten Karzinomes diskutiert wurde (82, 96). Allerdings spricht die Beobachtung von Raedle et al. 1996 (116) gegen diese Hypothese, da 5 der untersuchten Patienten mit akuter bzw. chronischer Pankreatitis während eines Nachbeobachtungszeitraumes von 281-647 Tagen kein Malignom entwickelten. 2 der p53-AAK positiven Patienten zeigten mit den beiden verwendeten p53-Antikörpern DO-1 und Pab 1801 immunhistochemisch keine Kernfärbung. Ein Nachweis von p53-AAK bei fehlendem immunhistochemischen Nachweis konnte auch bei einer Reihe von anderen malignen Erkrankungen gesehen werden. Neben der Möglichkeit eines falsch negativen Ergebnisses wurden eine heterogene Verteilung der Akkumulation des p53-Proteins im Tumorgewebe, Mutationen im p53-Gen, welche zu verkürzten Proteinen führen und Interaktionen mit viralen und zellulären Proteinen diskutiert (101, 122, 148, 156).

Die Effizienz der routinemäßigen Bestimmung der Tumormarker CA 19-9 und CEA bei Pankreaskarzinomen werden in der Literatur kontrovers diskutiert. CEA ist zu unspezifisch zur Diagnostik und zum Screening des Pankreaskarzinomes. CA 19-9 hat zwar eine deutlich bessere Sensitivität, wird aber nur in der Hälfte der Patienten mit einem Pankreaskarzinom unter 2 cm gefunden. Die Bedeutung liegt vor allem in der Differentialdiagnose des Pankreaskarzinomes zur chronischen Pankreatitis und zur postoperativen Verlaufskontrolle. Einschränkend muß sicherlich erwähnt werden, daß ein erneuter postoperativer Anstieg häufig frühzeitig ein Rezidiv anzeigt, aber nur in den wenigsten Fällen eine sinnvolle Therapie sowohl in kurativer als auch in palliativer Intention möglich ist. Hierdurch wird der Wert der prognostischen Information deutlich reduziert.

Ein positives CA 19-9 und CEA fanden wir bei einem cut off von 37 U/l und 2.5 ng/ml im Serum bei 22 (62.9%) und 20 (57.1%) der Patienten. In der Literatur wird eine Sensitivität bis zu 90% und eine Spezifität gegenüber benignen gastrointestinalen Erkrankungen von 60-70% für CA 19-9 angegeben (56, 75). CEA spielt bei Pankreaskarzinomen als Zweitmarker bei negativem CA 19-9 nur eine untergeordnete Rolle. P53-AAK scheinen auch unabhängig von anderen Tumormarkern bei Pankreaskarzinomen aufzutreten. So konnten wir bei drei Patienten mit negativen CA 19-9 und bei zwei Patienten mit negativen CEA p53-AAK im Serum der Patienten finden. Bei bestehender hoher Spezifität der p53-AAK für Malignität könnte die kombinierte Bestimmung von CEA, CA 19-9 und p53-AAK im Serum bei der Differenzierung zwischen benignen und malignen Pankreaserkrankungen in ausgesuchten schwierigen diagnostischen Fällen helfen. Laurent-Puig et al. (82) fanden in einer Studie von 1995 eine Spezifität von 72% für CEA, 52% für CA 19-9 und 96% für p53-AAK. Eine kombinierte Bestimmung von CA 19-9 und p53-AAK steigerte die Spezifität gering auf 97% und die Sensitivität auf 98%.

Insgesamt scheint der Nachweis von p53-AAK bei Pankreaskarzinomen, vergleichbar mit Mamma- und Kolonkarzinomen, für eine besonders schlechte Prognose zu stehen (62, 101, 111, 129). Interessant ist, daß das Auftreten von p53-AAK anscheinend nicht durch eine Cholestase beeinflusst wird (82). Aufgrund der geringen Sensitivität der p53-AAK und dem häufigen Auftreten erst im fortgeschrittenen Tumorstadium scheint eine routinemäßige Bestimmung der p53-AAK nicht sinnvoll zu sein. Denkbar wäre ein gezielter Einsatz zur Differenzierung zwischen benignen und malignen Pankreaserkrankungen und die Bildung einer Subgruppe von Patienten, welche bei extrem schlechter Prognose einem besonderen Therapieschema unterzogen werden sollten.

4.3. Ösophaguskarzinom und p53- Autoantikörper

Die Inzidenz des Ösophaguskarzinomes zeigt starke geographische Unterschiede mit besonders hohem Risiko in Südostasien, Frankreich, Finnland, Chile und Brasilien. Die Häufigkeit in Deutschland ist mit etwa 2000 Neuerkrankungen jährlich konstant, die Prognose mit einer 5-Jahres- Überlebensrate von etwa 8% besonders schlecht (8, 32, 120, 136). Eine Verbesserung der Prognose wäre durch eine frühzeitige Diagnostik denkbar. Eine regelmäßige endoskopische Diagnostik großer Patientenkollektive dürfte den Aufwand und die Effektivität solcher Screeninguntersuchungen nicht rechtfertigen, so daß die Suche nach geeigneten und kostengünstigen Methoden fortbesteht.

In bis zu 85% der Adeno- und Plattenepithelkarzinome des Ösophagus wurden Aberrationen im p53-Gen bzw. eine Überexpression von p53-Protein beschrieben (9, 34, 58, 67, 126, 127, 151). Die häufigsten Mutationen sind missense-Mutationen und betreffen die Exone 5-8 mit einer Prädominanz für Exon 5 und 6 (9, 59, 67). Wir fanden übereinstimmend zu den Angaben in der Literatur bei 12/25 (48%) der Patienten immunhistochemisch eine positive nukleäre Markierung des p53-Proteins mit den monoclonalen Antikörpern DO-1 und PAb 1801 (9, 34, 127, 149, 151). Eine Assoziation zum Alter, Geschlecht, Tumorstadium, Tumorgrading und histologischen Klassifizierung wurde nicht beobachtet. Auch die mediane Überlebenszeit zeigte keine wesentlichen Unterschiede (Tab.10). Die prognostische Bedeutung des immunhistochemischen Nachweises von p53 wird kontrovers diskutiert. Es konnte sowohl eine positive als auch eine fehlende Korrelation gezeigt werden (17, 108, 128). Allerdings scheint die Wildtyp-Funktion des p53 für die Apoptoseinduktion in Ösophaguskarzinomzellen nach Chemo- und Strahlentherapie notwendig zu sein (100). Weiterhin wurde mit Zunahme der Dysplasie des Epithels beim Barrett' Ösophagus bis zum Barrett' Karzinom eine Steigerung des prozentualen Anteils an p53- Mutationen beobachtet, so daß anzunehmen ist, daß der Verlust der Wildtypfunktion des p53 die maligne Transformation von Zellen unterstützt (69, 108, 130, 139). Wenn auch diese Ergebnisse eher für eine prognostische Bedeutung der Akkumulation von p53 sprechen, bleibt abzuwarten, ob vergleichbare Studien mit größeren Patientenzahlen und längeren Nachbeobachtungszeiten diese Hypothese bestätigen können.

Interessant ist, daß sowohl in präkanzerösen Läsionen des Ösophagus als auch in einer geringen Anzahl von normalen Plattenepithelzellen eine Überexpression von p53 gefunden werden konnte. Diese Ergebnisse sprechen für ein frühzeitiges Auftreten von p53-Mutationen

während der Onkogenese des Ösophaguskarzinomes und könnten erklären, weshalb keine Unterschiede in der Überexpression von p53 in den verschiedenen Tumorstadien gefunden wurden (17, 69, 105, 130, 139, 151).

Neben dem immunhistochemischen Nachweis von p53 beobachteten wir bei 7 (28%) der 25 Patienten p53-AAK im Serum unabhängig vom histologischen Typ. Ein Nachweis von p53-AAK war nicht gleichbedeutend mit einer Akkumulation von p53 in den Tumorzellen. Zwei Ösophagustumoren zeigten bei positiven p53-AAK keine immunhistochemische Anfärbung mit den beiden monoclonalen Antikörpern DO-1 und PAb 1801. Über ähnliche Resultate ist bei einer ganzen Anzahl von malignen Tumoren berichtet worden (101, 122, 148, 156). Vergleichbar mit unseren Ergebnissen konnte von Breveren et al. (13) in einer Studie von 1996 im Serum von 65 Patienten mit einem Ösophaguskarzinom bei 16 (25%) Patienten zirkulierende p53-AAK finden. 12 der Patienten, welche zirkulierende p53-AAK im Serum hatten, zeigten sowohl immunhistochemisch eine Akkumulation von p53 als auch in der Sequenzierung Mutationen im Exon 5-8. Es dominierten Mutationen im Exon 7 und 8. Überwiegend handelte es sich um missense-Mutationen. Ein fehlender immunhistochemischer Nachweis des p53-Proteins muß daher nicht mit einem Proteinverlust einhergehen. Zu dem können zelluläre und virale Proteine zu einer Maskierung der Bindungsstellen des p53-Proteins führen, so daß ein negativer immunhistochemischer Nachweis resultiert, die antigene Wirkung und damit die Bildung von p53-AAK jedoch fortbestehen kann. Auch bei der Sequenzierung von seronegativen Tumoren konnten bei positivem immunhistochemischen Nachweis missense-Mutationen, welche das gleiche Codon betrafen, gefunden werden. Da sowohl immunhistochemisch negative Patienten als auch gleiche Mutationen bei seronegativen und seropositiven Patienten beschrieben wurden, bleibt der Mechanismus der Immunantwort unklar. Wahrscheinlich ist, daß auch eine strukturelle Veränderung des Proteins in Verbindung mit einem besonderen Mechanismus der Antigenpräsentation zu einer B-Zellreaktion führen kann (13).

In Übereinstimmung zu von Breveren et al. 1996 (13) beobachteten wir bei 7 (28%) der 25 Patienten p53-AAK. Die prozentuale Verteilung der p53-AAK in Beziehung zum Tumorstadium, Alter, Geschlecht, Tumorlokalisierung und histologischen Typ zeigte keine Unterschiede. Häufiger wurden p53-AAK im Tumorgrad II gesehen, die mediane Überlebenszeit der Patienten während eines Nachbeobachtungszeitraumes von 24 Monaten unterschied sich bei den R0-resezierten Ösophaguskarzinomen in Abhängigkeit vom p53-AAK-Status nicht (Tab.11,16; Abb.24,25). Vergleichbare Untersuchungen bei

Ösophaguskarzinomen finden sich in der Literatur nicht, so daß abzuwarten bleibt, ob den p53-AAK eine prognostische Bedeutung bei den Ösophaguskarzinomen zukommt. Bei gleichmäßiger Verteilung von p53-AAK in den untersuchten Tumorstadien ist sicherlich ein Auftreten von zirkulierenden p53-AAK in präkanzerösen Läsionen denkbar. So könnte die Bestimmung von p53-AAK bei Risikopatienten, wie dies bei Patienten mit der Entwicklung eines Bronchial- oder hepatozellulären Karzinomes gezeigt werden konnte, von diagnostischer Bedeutung sein (92, 144, 145).

Um eine kurative Therapie des Ösophaguskarzinomes zu ermöglichen, ist die Diagnosesicherung im allgemeinen in einem noch asymptomatischen Tumorstadium notwendig. Endoskopische Verfahren sind für die Screeninguntersuchung bei geringer Prävalenz der Ösophaguskarzinome nicht geeignet. Der Einsatz geeigneter Tumormarker könnte daher bei der Früherkennung Bedeutung erlangen. Bisherige Untersuchungen erbrachten keine erfolversprechenden Ergebnisse. Die Tumormarker CEA, CA 19-9, CA 125 und SCC haben nur eine geringe Spezifität und Sensitivität, auch eine kombinierte Bestimmung zeigte keinen wesentlichen Vorteil (39, 77, 97). In unserer Untersuchung waren unabhängig vom histologischen Tumortyp und -stadium 56% CEA und nur 8% CA 19-9 positiv. Bei begrenzter Anzahl der Patienten sind unsere Ergebnisse mit anderen Arbeiten vergleichbar (39, 77). Kraus et al. (77) fanden 1990 eine Sensitivität für CEA von 30% und für CA 19-9 von 23% bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen. Mealy et al. (97) konnten 1996 bei einer kombinierten Bestimmung von CEA, CA 19-9, CA 125 und SCC eine Sensitivität von nur 64% zeigen und kamen zu dem Schluß, daß auch eine kombinierte Bestimmung von Tumormarkern beim Ösophaguskarzinom keinen diagnostischen und therapeutischen Gewinn bringt und als Screeningparameter ebenfalls nicht geeignet sind. Wenn unsere Ergebnisse auch zeigen konnten, daß 3 Patienten weder CEA noch CA 19-9 positiv waren, aber positive p53-AAK im Serum hatten, scheint eine wesentliche Verbesserung der Sensitivität bei kombinierter Bestimmung nicht möglich zu sein. Denkbar wäre der Einsatz von p53-AAK zum Screening von Risikopatienten mit suspekten endoskopischen Befunden und unklarer Histologie, um eine frühzeitige Sicherung der Diagnose bei hoher Spezifität der p53-AAK für Malignität zu gewährleisten.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden vom 1. Januar 1995 bis zum 31. März 1996 prospektiv 74 Patienten mit Magenkarzinom, 35 Patienten mit Pankreaskarzinom und 25 Patienten mit Ösophaguskarzinom, die in der Klinik für Allgemeinchirurgie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg behandelt wurden, untersucht.

Ziel war es, festzustellen, inwieweit p53-AAK im Serum der Patienten nachweisbar sind und ob eine Korrelation zu klinischen und histopathologischen Parametern besteht. Weiterhin wurden die p53-AAK mit dem immunhistochemischen Nachweis von p53-Protein im Tumorgewebe und mit den Tumormarkern CEA und CA 19-9 verglichen.

Die Bestimmung der p53-AAK erfolgte mit einem Sandwich-ELISA und der immunhistochemische Nachweis von p53 durch die beiden p53-Antikörpern DO-1 und PAb 1801.

Bei 15 (20.3%) der 74 Patienten mit Magenkarzinom konnten p53-AAK im Serum nachgewiesen werden. Eine signifikante Korrelation wurde zwischen dem Auftreten von p53-AAK und dem Tumorstadium ($p=0.0291$), einer verkürzten Überlebenszeit ($p=0.0114$) sowie einer verringerten medianen Überlebenszeit der R0-resezierten Magenkarzinome ($p=0.0314$) gefunden. Ebenfalls fanden sich häufiger p53-AAK bei positivem Lymphknotenstatus und einer Tumorlokalisation im Bereich des proximalen Magens. Bei 3 (4.1%) der Patienten ohne pathologisch erhöhte Tumormarker CEA und CA 19-9 konnten p53-AAK im Serum beobachtet werden.

Bei 7 (20%) der 35 Pankreaskarzinompatienten waren p53-AAK im Serum nachweisbar. Auffällig war, daß alle p53-AAK positiven Patienten im Untersuchungszeitraum verstarben und die mediane Überlebenszeit signifikant reduziert war ($p=0.0098$). Das Auftreten der p53-AAK war unabhängig vom Alter, Geschlecht, Tumorstadium und Tumordifferenzierung. Immunhistochemisch konnte bei 15 (42.9%) Pankreastumoren p53 nachgewiesen werden, 2 der 7 p53-AAK positiven Patienten zeigten immunhistochemisch keine p53-Markierung. Eine Korrelation zu klinischen und histopathologischen Parametern bestand nicht. P53-AAK konnten bei 2 Patienten mit in Norm befindlichen Tumormarkern CEA und CA 19-9 gefunden werden.

Ein Nachweis von p53-AAK im Serum gelang bei 7/25 (28%) der Ösophaguskarzinompatienten. 6 der 7 p53-AAK positiven Patienten und nur 9 der 18 p53-AAK negativen Patienten konnten unter kurativer Zielsetzung operiert werden. Auch unter den Ösophaguskarzinompatienten befanden sich 2 Patienten mit positivem Nachweis von p53-AAK aber fehlender immunhistochemischer Markierung der Tumorgewebe. Bei 3 (12%) der Patienten konnten p53-AAK bei fehlendem positiven Nachweis der Tumormarker CEA und CA 19-9 beobachtet werden.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß sich p53-AAK im Serum von Magen,- Pankreas- und Ösophaguskarzinompatienten nachweisen lassen. Bei Magenkarzinomen und Pankreaskarzinomen scheint das Auftreten der p53-AAK eher ein spätes Ereignis in der Tumorgenese zu sein. Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß das Auftreten von p53-AAK mit einer ungünstigen Prognose verbunden ist. Ein Nachweis von p53-AAK im Serum muß nicht mit einem immunhistochemischen Nachweis von p53 im Tumorgewebe verbunden sein und tritt unabhängig von den beiden Tumormarkern CEA und CA 19-9 auf.

Die Bestimmung der p53-AAK könnte bei Magen- und Pankreaskarzinomen zur Bildung einer Subgruppe mit besonders schlechter Prognose beitragen und aufgrund seiner hohen Spezifität für Malignität stellt der Nachweis von p53-AAK wahrscheinlich eine Möglichkeit dar, zwischen benignen und malignen Pankreaserkrankungen zu differenzieren. Auch die Sensitivität der konventionellen Tumormarker könnte durch die zusätzliche Bestimmung der p53-AAK erhöht werden. Bei etwa gleichmäßiger Verteilung der p53-AAK in den unterschiedlichen Tumorstadien der Ösophaguskarzinompatienten ist eine routinemäßige Bestimmung sicherlich nicht sinnvoll. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob bei Risikopatienten die Bestimmung der p53-AAK im Sinne eines Screening zur frühzeitigen Diagnosesicherung beitragen kann.

6. Literaturverzeichnis

1. Ahlgren JD: Epidemiology and risk factors in pancreatic cancer. *Semin Oncol* 23 (1996) 241-250
2. Allema JH, Reinders ME, van Gulik TM, Koelemay MJ, van-Leeuwen DJ, de Wit CT, Gauma DJ, Obertop H: Prognostic factors for survival after pancreaticoduodenectomy for patients with carcinoma of the pancreatic head region. *Cancer* 75 (1995) 2069-2076
3. Angelopoulou K, Diamandis EP, Sutherland DJA, Kellen JA, Bunting PS: Prevalence of serum antibodies against the p53 tumor suppressor gene protein in various cancer. *Int J Cancer* 58 (1994) 480-487
4. Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger RC, Jessup JM, van Tuinen P, Ledbetter DH, Barker DF, Nakumura Y: Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 244 (1989) 217-221
5. Barak Y, Juven T, Haffner R, Oren M.: mdm2 expression is induced by wild-typ p53 activity. *EMBO J* 12 (1993) 461-468
6. Barton CM, Staddon SL, Hughes CM, Hall PA, Sullivan CO, Klöppel G, Theis B, Russel RCG, Neoptolemus J, Williamson RCN, Lane DP, Lemoine NR: Abnormalities of the p53 tumor suppressor gene in human pancreatic cancer. *Br J Cancer* 64 (1991) 1076-1082
7. Beard DB, Haskell CM: Carcinoembryonic antigen in breast cancer. Clinical review. *Am J Med* 80 (1986) 241-245
8. Berghoff W, Doermer A, Grünwald St, Fabian W: Chirurgische Behandlung des Kardial- und Ösophaguskarzinoms. *Fortschr Med* 9 (1980) 21-23
9. Bennett WP, Hollstein MC, He A, Zhu SM, Resau JH, Trump BF, Metcalf RA, Welsh JA, Midgley C, Lane DP: Archival analysis of p53 genetic and protein alterations in Chinese esophageal cancer. *Oncogene* 6 (1991) 1179-1184
10. Boschmann C, Stryker S, Reddy JK, et al: Expression of p53 protein in precursor lesions and adenocarcinoma of human pancreas. *Am J Surg Pathol* 145 (1994) 1291-1295
11. Bourhis J, Lubin R, Roche B, Koscielny S, Bosq J, Dubois I, Talbot M, Marandas P, Schwaab G, Wibault P, Luboinski B, E schwege F, Soussi T: A nalysis of p53 serum antibodies in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 85 (1996) 1228-1233
12. Bourne J A: Handbuch I der Immunperoxidase-Färbemethoden.DAKO Diagnostika GmbH, Hamburg,1983

13. Breveren von MC, Hollstein MC, Cawley HM, De Benedetti VMG, Bennett WP, Liang L, He A, Zhu SM, Tursz Th, Janin N, Trivers GE: Circulating anti-p53 antibodies in esophageal cancer patients are found predominantly in individuals with p53 core domain mutations in their tumors. *Cancer Res* 56 (1996) 4917-4921
14. Caldas C, Hahn SA, da Costa LT, Redston MS, Schulte M, Seymour AB et al: Frequent somatic mutations and homozygous deletions of the p16 (MST1) gene in pancreatic adenocarcinoma. *Nat Genet* 8 (1994) 27-33
15. Caron de Fromentel C, May-Levin F, Mouriessse H, Lemerle J, Chandraskaran K, May P: Presence of circulating antibodies against cellular protein p53 in a notable proportion of children with B-cell lymphoma. *Int J Cancer* 39 (1987) 185-189
16. Casey G, Yamanaka Y, Friess H, Kobrin MS, Lopez ME, Büchler M, Beger HG, Korc M: P53 mutations are common in pancreatic cancer and are absent in chronic pancreatitis. *Cancer Lett* 69 (1993) 151-160
17. Casson AG, Manolopoulos B, Troster M, Kerkvliet N, O'Malley F, Inculet R, Finley R, Roth JA: Clinical implications of p53 gene mutation in the progression of Barrett's epithelium to invasive esophageal cancer. *Am J Surg* 167 (1994) 52-57
18. Cawley HL, De Benedetti VM, Trivers GE, Tarman L, Bennett WP, Prives C, Faber EM, Meltzer S, Harris CC: Detection of anti-p53 antibodies in patients with Barrett's esophagus and esophageal carcinoma (Meeting abstract). *Proc Annu Meet Am Assoc Cancer Res* 36: A1637 (1995)
19. Chang C, Simmons DT, Martin MA, Mora PT: Identification and partial characterization of new antigens from simian virus 40-transformed mouse cells. *J Virol* 31 (1979) 463-467
20. Chen PL, Chen YM, Bookstein R, Lee WH: Genetic mechanisms of tumor suppression by the human p53 gene. *Science* 250 (1990) 1576-1580
21. Chung YS, Ho JJ, Kim YS, Tanaka H, Nakata B, Hiura A, Motoyoshi H, Satake K, Umeyama K: The detection of human pancreatic cancer-associated antigen in the serum of cancer patients. *Cancer* 60 (1987) 1636-1643
22. Chiou SK, Rao L, White E: Bcl-2 blocks p53-dependent apoptosis. *Mol Cell Biol* 14 (1994) 2556-2563
23. Clarke AR, Purdie CA, Harrison DJ, Morris GR, Bird CC, Hooper ML, Wyllie AH: Thymocyte apoptosis induced by p53-dependent and independent pathways. *Nature* 362 (1993) 849-852
24. Craanen ME, Blok P, Dekker W, Offerhausen GJA, Tytgat GNJ: Chronology of p53 protein accumulation in gastric carcinogenesis. *Gut* 36 (1995) 848-852
25. Crawford LV, Pim DC, Bulbrook RD: Detection of antibodies against the cellular protein p53 in sera from patients with breast cancer. *Int J Cancer* 30 (1982) 403-408

26. Davidoff AM, Iglehart JD, Marks JR: Immune response to p53 is dependent upon p53/HSP70 complexes in breast cancer. *Proc Natn Acad Sci U S A* 89 (1992) 3439-3442
27. Del Favero G, Fabris C, Plebani M, Panucci A, Piccoli A, Perobelli L, Pedrazzoli S, Baccaglini U, Burlina A, Naccarato R: CA 19-9 and carcinoembryonic antigen in pancreatic cancer diagnostic. *Cancer* 57 (1986) 1576-1579
28. DiGiuseppe JA, Hruban RH, Goodmann SN, Polak M, van-den-Berg FM, Allison DC, Cameron JL, Offerhaus GJ: Overexpression of p53 protein in adenocarcinoma of the pancreas. *Am J Clin Pathol* 101 (1994) 684-688
29. Dong X, Hamilton KJ, Satoh M, Wang J, Reeves WH: Initiation of autoimmunity to the p53 tumor suppressor protein by complexes of p53 and SV 40 large T antigen. *J Exp Med* 179:4 (1994) 1243-1252
30. El-Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE, Lery DB, Parsons R, Trent JM, Lin D, Mercer WE, Kinzler KW, Vogelstein B: WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* 75 (1993) 817-825
31. Eliyahu D, Michalovitz D, Eliyahu S, Pinhasi Kimhi O, Oren M: Wild-type p53 can inhibit oncogene-mediated focus formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 86 (1989) 8763-8771
32. Earlam R, Cunha-Menlo JR: Oesophageal squamous cell carcinoma: I.A critical review of surgery. *Br J Surg* 67 (1980) 381-390
33. Fields S and Jang SK: Presence of a potent transcription activating sequence in the p53-protein. *Science* 249 (1990) 1046-1048
34. Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ: The p53 Protooncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell* 57 (1989) 1083-1093
35. Flejou J-F, Muzeau F, Potet F, Lepelletier F, Fekete F, Henin D: Overexpression of the p53 tumor suppressor gene product in esophageal and gastric carcinomas. *Path Res Pract* 190 (1994) 1141-1148
36. Fletcher RH.: Diagnostic desition: Carcinoembryonic antigen. *Ann Int Med* 104 (1986) 66-73
37. Galle PR, Volkmann M: P53 autoantibodies in malignant disease: Significance and clinical relevance. *Klin Lab* 40 (1994) 1193-1197
38. Geer RJ, Brennan MF: Prognostic indicators for survival after resection of pancreatic adenocarcinoma. *Am J Surg* 165 (1993) 68-73
39. Gion M, Tremolada C, Mione R, della-Palma P, Dittadi R, Zari C, Nosadini A, Castoro C, Rual A, Peracchio A: Tumor markers in serum of patients with primary squamous cell carcinoma of the esophagus. *Tumori* 75 (1989) 488-493
40. Goggins M, Schutte M, Lu J , Maskaluk CA, Weinskin CL, Petersen GM, Yeo CL, mJackson CE, Lynch HT, Hruban RH, Kern SE: Germline BRCA2 gene mutations in patients with apparently sporadic pancreatic carcinomas. *Cancer Res* 56 (1996) 5360-5364

41. Gold EB: Epidemiology of and risk factors for pancreatic cancer. *Surg Clin North Am* 75 (1995) 819-843
42. Gold P, Freedmann SO: Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* 122 (1965) 439 -443
43. Gottlieb TM and Oren M: p53 in growth control and neoplasia. *Biochimica et Biophysica Acta* 1287 (1996) 77-102
44. Green JA, Mudenda B, Jenkins J, Leinster SJ, Tarunina M, Green B et al.. Serum p53 autoantibodies: incidence in familial breast cancer. *Eur J Cancer* 30A (1994) 580-584
45. Green JA, Robertson LJ, Campbell IR, Jenkins J: Expression of the p53 gene and presence of serum autoantibodies in ovarian cancer: Correlation with differentiation. *Cancer Detect and Prevent* 19 (1995) 151-155
46. Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC: Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clus to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res* 54 (1994) 4855-4878
47. Gudjonsson B: Cancer of the pancreas. 50 years of surgery. *Cancer* 60 (1987) 2284-2303
48. Haglund C, Roberts PJ, Kuusela P, Scheinin TM, Mäkälä O, Jalanko H: Evaluation of CA 19-9 as a serum tumour marker in pancreatic cancer. *Br J Cancer* 53 (1986) 197-202
49. Hahn SA, Schutte M, Hoque AT, Moskuluk CA, du Costa LT, Rozenblum E, Weinstein CL, Fischer A, Yeo CL, Hruban RH, Kern SE: DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. *Science* 271 (1996) 350-353
50. Hainaut P and Milner J: A structural role for metal ions in the "wild-type" conformation of the tumor suppressor protein p53. *Cancer Res* 53 (1993) 4469-4473
51. Hammel P, Boissier B, Chaumette M-T, Piedboies P, Rotman N, Kouyoumdjian J-C, Lubin R, Delchier J-C, Soussi T: Detection and monitoring of serum p53 antibodies in patients with colorectal cancer. *Gut* 40 (1997) 356-361
52. Hanisch FG, Uhlenbruck G, Dienst C: Structure of tumor-associated carbohydrate antigen CA 19-9 on human seminal-plasma glycoproteins from healthy donors. *J Biochem* 144 (1984) 467-474
53. Harper JW, Adami GR, Wie N, Keyomarsi K, Elledge SJ: The p21 cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. *Cell* 75 (1993) 805-816
54. Harris CC, Hollstein M: Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. *N Engl J Med* 329 (1993) 1318-1327

55. Heptner G, Domschke S, Krapf F, Schneider MU, Iro H, Domschke W: Vergleich der Tumormarker in der kolorektalen Diagnostik. *Dtsch Med Wochenschr* 109 (1984) 1309-1312
56. Heptner G, Domschke S, Schneider MU, Siegfried W, Domschke, W: Vergleich der Tumormarker CA 50 und CA 19-9 bei benignen und malignen Erkrankungen des oberen Gastrointestinaltraktes. *Dtsch Med Wochenschr* 111 (1986) 374-378
57. Heptner G, Domschke S, Schneider MU, Domschke W: Der neue Tumormarker CA 72-4 im Vergleich zu CA 19-9 und CEA bei gastrointestinalen Erkrankungen. *Nuc Compact* 19 (1988) 132-137
58. Hollstein MC, Metcalf RA, Welsh JA: Frequent mutation of the p53 gene in human esophageal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87 (1990) 9958-9961
59. Hollstein MC, Peri L, Mandard AM, Welsh JA, Montesano R, Metcalf RA, Bok M, Harris CC: Genetic analysis of human oesophageal tumors from two high incidence geographic areas: Frequent p53 base substitutions and absence of ras mutations. *Cancer Res* 51 (1991) 4102-4106
60. Hollstein M, Rice K, Greenblatt MS, Soussi T, Fuchs R, Sorlie T, Hovig E, Smith-Sorensen B, Montesano R, Harris CC: Database of p53 gene somatic mutations in human tumors and cell lines. *Nucleic Acids Res* 22 (1994) 3551-3555
61. Hollstein M, Shomer B, Greenblatt M, Soussi T, Hovig E, Montesano R, Harris CC: Somatic point mutations in the p53 gene of human tumors and cell lines: updated compilation: *Nucleic Acids Res* 24 (1996) 141-146
62. Houbiers JGA, van der Burg SH, van de Watering LMG, Tollenaar RAEM, Brand A, van de Velde CJH, Melief CJM: Antibodies against p53 are associated with poor prognosis of colorectal cancer. *Br J Cancer* 72 (1995) 637-641
63. Hsieh LL, Hsieh JT, Wang LY, Fang CY, Chang SH, Chen TC: P53 mutation in gastric cancer from Taiwan. *Cancer Lett* 100 (1996) 107-113
64. Hupp TR, Meek DW, Midgley CA, Lane DP: Regulation of the specific DNA binding function of p53. *Cell* 71 (1992) 875-886
65. Hurlimann J, Saraga EP: Expression of p53 protein in gastric carcinomas. *Am J Surg Pathol* 18 (1994) 1247-1253
66. Iggo R, Gatter K, Bartek J, Lane D, Harris AL: Increased expression mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 335 (1990) 675-679
67. Imazeki F, Omata M, Nose H, Ohto M, Isono K: P53 gene mutations in gastric and esophageal cancer. *Gastroenterology* 103 (1992) 892-896
68. Jankowski J, Coghill G, Hopwood D, Wormsley KG: Oncogenes and onco-suppressor gene in adenocarcinoma of the oesophagus. *Gut* 33 (1992) 1033-1038

69. Jones DR, Davidson AG, Summers CL, Murray GF, Quinlan DC: Potential application of p53 as an intermediate biomarker in Barrett's esophagus. *Ann Thorac Surg* 57 (1994) 598-603
70. Joypaul BV, Hopwood D, Newmann EL, Quereshi S, Grant A, Ogston SA, Lane DP, Cuschieri A: The prognostic significance of the accumulation of p53 tumour-suppressor gene protein in gastric adenocarcinoma. *Br J Cancer* 69 943-946 (1994)
71. Kalthoff H, Schmiegel W, Roeder C, Kasche D, Schmidt A, Lauer G, Thiele HG, Honold G, Pantel K, Riethmüller G, Scherer E, Maurer J, Maacke H, Deppert W: p53 and K-ras alterations in pancreatic epithelial lesions. *Oncogene* 8 (1993) 289-298
72. Kastan MB, Zhan Q, El-Deiry WS, Carrier F, Jacks T, Walsh WV, Plunkett BS, Vogelstein B, Fornace AJ Jr.: A mammalian cell cycle checkpoint pathway utilizing p53 and GADD45 is defective in Ataxia-Telangiectasia. *Cell* 71 (1992) 587-597
73. Kakeji Y, Korenaga S, Tsujitani S, Baba H, Anai H, Maehara Y, Sugimachi K: Gastric cancer with p53 overexpression has high potential for metastasising to lymph nodes. *Br J Cancer* 67 (1993) 589-593
74. Kim JH, Takahashi T, Chiba I, Park JG, Birrer MJ, Roth JK, Lee HD, Kim JP, Minna JD, Gazdar AF: Occurrence of p53 gene abnormalities in gastric carcinoma tumors and cell lines. *J Nat Cancer Inst* 83 938-943 (1991)
75. Klapdor R, Greten H: Das tumor-assoziierte Antigen CA 19-9 in der Differentialdiagnostik und Verlaufskontrolle von Malignomen des Pankreas und Magen-Darm-Traktes. *Dtsch Med Wochenschr* 109 (1984) 1935-1939
76. Koprowski H, Steplewski Z, Mitchell K, Herlyn D, Fuhrer JP: Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. *Somatic Cell Genet* 5 (1979) 957-962
77. Kraus TW, Ebert W, Ghods M, Lehner B, Friedl P, Schlag P: Role of tumor markers, SCC Antigen, CEA and CA 19-9 in pre-treatment screening, differential diagnosis, and therapy monitoring of esophageal carcinoma. In: Klapdor R(ed.) *Recent Advances in Tumor Diagnosis and Therapy*, Munich: W. Zuckschwerdt Verlag, 1990
78. Labreque S, Naor N, Thomson D, Matlashewski G: Analysis of the anti-p53 antibody response in cancer patients. *Cancer Res* 53 (1993) 3468-3471
79. Lamerz R, Fateh-Moghadam A: Carcinofetale Antigene. II. Carcinoembryonales Antigen (CEA). *Klin Wschr* 53 (1975) 193-198
80. Lane DP: Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature* 358 (1992) 15-16
81. Lane DP and Crawford LV: T antigen is bound to a host protein in SV 40-transformed cells. *Nature* 278 (1979) 261-263
82. Laurent-Puig P, Lubin R, Semhoun-Ducloux S, Pelletier G, Fourre C, Ducreux M, Briantais MJ, Buffet C, Soussi T. Antibodies against p53 protein in serum of patients with benign or malignant pancreatic and biliary diseases. *Gut* 36 (1995) 455-458

83. Lauren P: The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-types carcinomas: an attempt at a histoclinical classification. *Acta Pathol. Microbiol Scand* 64 (1965) 31-49
84. Lauwers GY, Wahl SJ, Melamed J, Rojas-Corona RR: p53 expression in precancerous gastric lesions: An immunohistochemical study of Pab 1801 monoclonal antibody on adenomatous and hyperplastic gastric polyps. *Am J Gastroenterology* 88 (1993) 1916-1919
85. Lee S, Elenbaas B, Levine A, Griffith J: p53 and its 14 kDa C-terminal domain recognize primary DNA-Damage in the form of insertion/ deletion mismatches. *Cell* 81 (1995) 1013-1020
86. Legros Y, Lacabanne V, d' Agay MF, Larsen CJ, Pla M, Soussi T: Production of human p53 specific monoclonal antibodies and their use in immunohistochemical studies of tumor cells. *Bull Cancer* 80 (1993) 102-110
87. Lethinen T, Luostarinen T, Dillner J: Serum p53 accumulation and altered antibody response to Epstein- Barr virus proteins precede diagnosis of haemopoietic malignancies of lymphoid origin. *Br J Haematol* 93 (1996) 104-110
88. Levine AJ, Momand J, Finlay CA: The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 351 (1991) 453-456
89. Lim BH, Soong R, Grieu F, Robbins PD, House AK, Iacopetta BJ: P53 accumulation and mutation in human gastric carcinoma. *Int J Cancer* 69 (1996) 200-204
90. Linzer DI and Levine AJ: Characterization of a 54 K dalton cellular SV 40 tumor antigen present in SV 40- transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells. *Cell* 17 (1997) 43-72
91. Lowe SW, Ruley HE, Jacks T, Housman DE: p53-dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. *Cell* 74 (1993) 957-968
92. Lubin R, Zalcman G, Bouchet L, Tredaniel J, Legros Y, Cazals D, Hirsch A, Soussi T: Serum p53 antibodies as early markers of lung cancer. *Nat Med* 1 (1995) 701-702
93. Maass JD, Gottschlich S, Lippert BM, Niemann AM, Görögh T, Werner JA: Antikörperbildung gegen das zelluläre Protein p53 bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen der oberen Luft- und Speisewege. *Laryngo Rhino Otol* 75 (1996) 1-4
94. Magnini JL, Brockhaus M, Smith D, Ginsburg V, Blaszczyk M, Mitchell KF, Steplewski Z, Koprowski H: A monoganglioside is a monoclonal antibody defined antigen of colon carcinoma. *Science* 212 (1981) 55-56
95. Martin HM, Filipe MI, Morris RW, Lane DP, Silvestre F: p53 expression and prognosis in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 50 (1992) 859-862
96. Marxen J, Schmiegel W, Röder C, Harder R, Juhl H, Henne-Bruns D, Kremer B, Kalthoff H: Detection of the anti-p53 antibody response in malignant and benign pancreatic disease. *Br J Cancer* 70 (1994) 1031-1034

97. Mealy K, Feely J, Reid I, McSweeney T, Walsh T and Hennessy TPJ: Tumor marker detection in oesophageal carcinoma. *J Surg Oncol* 22 (1996) 505-507
98. Miller C, Mohandas T, Wolf D, Prokocimer M, Rotter V, Koeffler HP: Human p53 gene localized to short arm of chromosome 17. *Nature* 319 (1986) 783-784
99. Miyashita T and Reed JC: Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene. *Cell* 80 (1995) 293-299
100. Moreira LF, Naomoto Y, Hamada M, Kawikawa Y, Orita K: Assessment in apoptosis in oesophageal carcinoma preoperatively treated by chemotherapy and radiotherapy. *Anticancer Res* 15 (1995) 639-644
101. Mudenda B, Green JA, Green B, Jenkins JR, Robertson L, Tarunina M, Leistner: The relationship between serum p53 autoantibodies and characteristics of human breast cancer. *Br J Cancer* 6 (1994) 1115-1119
102. Munck-Wikland E, Kuylenstierna R, Wahren B, Lindholm J, Haglund S.: Tumor markers carcinoembryonic antigen, CA 50 and CA 19-9 and squamous cell carcinoma of the esophagus. Pretreatment screening. *Cancer* 62 (1988) 2281-2286
103. Namba H, Tara H, Tukazaki T.: Radiation-induced G1 arrest in selectively mediated by the p53- Waf1/Cip1 pathway in thyroid cells. *Cancer Res* 55 (1995) 2404-2409
104. Nakamori S, Yashima K, Murakami O, Ishikawa O, Ohigashi H, Imaoka S, Yaegashi S, Konishi Y, Sekiya T: Association of p53 gene mutations with short survival in pancreatic adenocarcinoma. *Jpn J Cancer Res* 86 (1995) 174-181
105. Neshat K, Sanchez CA, Galipeau PC, Blount PL, Levine DS, Joslyn G, Reid B: P53 mutations in Barrett's adenocarcinoma and high-grade dysplasia. *Gastroenterology* 106 (1994) 1589-1595
106. Nitecki SS, Sarr MG, Colby TV, van Heerden JA: Long-term survival after resection for ductal adenocarcinoma of the pancreas. Is it really improving? *Ann Surg* 221 (1995) 59-66
107. Oltvai Z, Milliman C, Korsmeyer SJ: Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, the accelerates programmed cell death. *Cell* 74 609-619 (1993)
108. Ounes M, Lebovitz RM, Lechago LV, Lechago J: p53 protein accumulation in Barrett's metaplasia, dysplasia and carcinoma: A follow-up study. *Gastroenterol* 105 (1993) 1637-1642
109. Pavletich NP, Chambers KA and Papo CO: The DNA-binding domain of p53 contains the four conserved regions and the major mutation hot spots. *Genes Dev* 7 (1993) 2556-2564
110. Pape S, Neumeier D, Kristin H, Fateh-Moghadam A: Carcinoembryonales Antigen (CEA). *Lab Med* 7 (1983) 3-8

111. Peyrat JP, Bonneterre J, Lubin R, Vanlemmens L, Fournier J, Soussi T: Prognostic significance of circulating p53 antibodies in patients undergoing surgery for locoregional breast cancer. *Lancet* 345 (1995) 621-622
112. Pointner R, Conrad F, Schwab G: Tumormarker im oberen Intestinaltrakt- Magen und Pankreas. *Wien Klin Wschr* 14 (1989) 482-484
113. Prives C: How loops, beta sheets, and alpha helices help us to understand p53. *Cell* 78 (1994) 543-546
114. Quentmeier A, Schlag P, Herfarth C: CA 19-9 und CEA; Fortschritt bei der Diagnose und Verlaufsbeobachtung des Magenkarzinoms durch kombinierte Bestimmung zweier Tumormarker. *Arch Chir* 264 (1986) 540-544
115. Raedle J, Roth WK, Oremek G, Caspary WF, Zeuzem S: Alphafetoprotein and p53 autoantibodies in patients with chronic hepatitis c. *Dig Dis and Science* 40 (1995) 2587-2594
116. Raedle J, Oremek G, Welker M, Roth WK, Caspary WF, Zeuzem S: p53 autoantibodies in patients with pancreatitis and pancreatic carcinoma. *Pancreas* 13:3 (1996) 241-246
117. Redston MS, Caldas C, Seymour AB, Hruban RH, da Costa L, Yeo CH, Kern SE: P53 mutations in pancreatic carcinoma and evidence of common involvement in homopolymer tracts in DNA microdeletions. *Cancer Res* 54 (1994) 3025-3033
118. Roberts PJ: Tumour markers in colorectal cancer. *Scand.J Gastroenterol Suppl* 149 (1988) 50-58
119. Rozenblum E, Schutte M, Goggins M, Hahn SA, Panzer S, Zaharak M, Goodman SN, Sohn TA, Hruban RH, Yeo CJ, Kern SE: Tumor-suppressive pathways in pancreatic carcinoma. *Cancer Res* 57 (1997) 1731-1734
120. Röher HD, Buhr H: Operative Behandlung des Ösophaguskarzinoms. *Deutsch med Wschr* 103 (1978) 732-735
121. Ruge M, Shiao JH, Correa P, Baffa R, DiMario F: Immunohistochemical evidence of p53 overexpression in gastric epithelial dysplasia. *Cancer Epid Bio Prev* 1 (1992) 551-554
122. Ryder SD, Rizzi PM, Volkmann M, Metivier E, Pereira LM, Galle PR, Naoum NV, Zentgraf H, Williams R: Use of specific ELISA for the detection of antibodies directed against p53 protein in patients with hepatocellular carcinoma. *J Clin Pathol* 49 (1996) 295-299
123. Sabbatini P, Lin J, Levine AJ, White E: Essential role for p53-mediated transcription in E1A-induced apoptosis. *Genes Dev* 9 (1995) 2184-2192
124. Sano T, Tsujino T, Yoshida K, Nakayama H, Haruma K, Ito H, Nakamura Y, Kujiyama G, Tahara E: Frequent loss of heterozygosity on chromosomes 1q, 5q, and 17p in human gastric carcinomas. *Cancer Res* 51 (1991) 2926-2931

125. Sarnow P, Ho YS., Williams J, Levine AJ: Adenovirus E1b-58kd tumor antigen and SV40 large tumor antigen are physically associated with the same 54 kDa cellular protein in transformed cells. *Cell* 28 (1982) 387-394
126. Sasano H, Miyazaki S, Gooukon Y, Nishihira T, Sawai T, Nagura H: Expression of p53 protein in human esophageal cancer: An immunohistochemical study with correlation to proliferating cell nuclear antigen expression. *Hum Pathol* 23 (1992) 1238-1243
127. Sarbia M, Porschen R, Borchard F, Horstmann O, Willers R, Gabbert HE: P53 protein expression and prognosis in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer* 74 (1994) 2219-2223
128. Sauter ER, Keller SM, Erner SM: p53 correlates with improved survival in patients with esophageal adenocarcinoma. *J Surg Oncol* 58 (1995) 269-273
129. Schlichtholz B, Legros Y, Gillet D, Gaillard C, Marry M, Lane D, Calvo F, Soussi T: The immune response of p53 in breast cancer patients is directed against immunodominant epitopes unrelated to the mutational hot spot. *Cancer Res* 52 (1992) 6380-6384
130. Shi ST, Feng B, Yang GY, Wang LD, Yang CS: Immunohistoselective sequencing (IHSS) of p53 tumor suppressor gene in human oesophageal precancerous lesions. *Carcinogenesis* 17 (1996) 2131-2136
131. Shimizu N, Wakatsuki T, Murakami A, Yoshida H, Hamazoe R, Kanayama H, Maeta M, Koga S: Carcinoembryonic antigen in gastric cancer patients. *Oncology* 44 (1987) 240-244
132. Soussi T, Legros Y, Lubin R, Ory K, Schlichtholz B: Multifactorial analysis of p53 alteration in human cancer: a review. *Int J Cancer* 57 (1994) 1-9
133. Staab HJ, Hornung A, Anderer FA, Kieninger G: Klinische Bedeutung des zirkulierenden tumor-assoziierten Antigens CA 19-9 bei Karzinomen des Verdauungstraktes. *Dtsch Med Wschr* 109 (1984) 1141-1147
134. Starzynska T, Bromley M, Ghosh A, Stern PL: Prognostic significance of p53 overexpression in gastric and colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 66 (1992) 558-562
135. Starzynska T, Markiewski M, Domagala W, Marlicz K, Mietkiewski J, Roberts SA, Stern PL: The clinical significance of p53 accumulation in gastric carcinoma. *Cancer* 77 (1996) 2005-2012
136. Stegmüller KW, Märklin HM: Resektion und Magenersatz beim thorakalem Ösophaguskarzinom. *Langenbecks Arch klin Chir* 356 (1982) 43-49
137. Stephan CW, Helminen P, Lane DP: Characterisation of epitopes on human p53 using phage displayed peptide libraries: Insight into antibody-peptide interactions. *J Mol Biol* 248 (1995) 58-78
138. Strom BJ., Maislin G, West SL, Atkinson B, Herlyn M, Saul S, Rodriguez-Martinez HA, Rios-Dalenz J, Iliopoulos D, Soloway RD: Serum CEA and CA 19-9: potential future diagnostic or screening tests for gallbladder cancer? *Int J Cancer* 45 (1990) 821-824

139. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ, Filipe MI: P53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *J Pathol* 173 (1994) 221-226
140. Tabuchi Y, Deguchi H, Saitch Y: Carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 levels of peripheral and draining venous blood in colorectal cancer patients. Correlation with histopathologic and immunohistochemical variables. *Cancer* 62 (1988) 1605-1613
141. Tahara E: Molecular mechanism of stomach carcinogenesis. *J Cancer Res Clin Oncol* 119 (1993) 265-267
142. Tamada R, Hiramoto Y, Tsujitani S, Nozuka T, Okamura T, Masuda H, Sugimachi K, Inokuchi K: Serum CEA levels facilitate detection of recurrence of cancer in patients after gastrectomy. *Jpn J Surg* 15 (1985) 23-29
143. Tamura G, Kihana T, Nomura K, Terada M, Sugimura T, Hirohashi S: Detection of frequent p53 gene mutations in primary gastric cancer by cell sorting and polymerase chain reaction single-stranded conformation polymorphism analysis. *Cancer Res* 51 (1991) 3056-3058
144. Trede M, Schwall G, Saeger H: Survival after pancreaticoduodenectomy: 118 consecutive resections without an operative mortality. *Ann Surg* 221 (1990) 447-458
145. Trivers GE, Cawley HL, De Benedetti VMG, Hollstein M, Marion MJ, Bennett NP, Hoover MC, Prives CC, Tamburro CC, Harris CC: Anti-p53 antibodies in sera of workers occupationally exposed to vinyl chloride. *J Nat Cancer Inst* 87 (1995) 1400-1407
146. Trivers GE, De Benedetti VMG, Cawley HL, Caron G, Harrington AM, Bennett WP, Jett JR, Colby TV, Tazelaar H, Pairlero P, Miller RD, Harris CC: Anti-p53 antibodies in sera from patients with chronic obstructive pulmonary disease can predate a diagnosis of cancer. *Clin Cancer Res* 2 (1996) 1767-1775
147. Uchino S, Noguchi M, Hirota T, Itabashi M, Saito T, Kobayashi M, Hirohashi S: High incidence of nuclear accumulation of p53 protein in gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 22 (1992) 225-231
148. Volkmann M, Müller M, Hofmann WJ, Meyer M, Hagelstein J, Rath U, Kommerell B, Zentgraf H, Galle P: The humoral immune response to p53 in patients with hepatocellular carcinoma is specific for malignancy and independent of alpha-fetoprotein status. *Hepatology* 18 (1993) 359-365
149. Wagata T, Shibagaki, Imamura M, Shimada Y, Toguchida J, Yandell DW, Ikenaga M, Tobe T, Ishizaki K: Loss of 17p, mutation of the p53 gene, and overexpression of the p53 protein in esophageal squamous carcinomas. *Cancer Res* 53 (1993) 846-850
150. Wang DJ, Knyba RE, Bulbrook RD, Millis RR, Hayward JL: Serum carcinoembryonic antigen in the diagnosis and prognosis in woman with breast cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol* 20 (1984) 25-31

151. Wang LD, Hong JY, Qiu SL, Gao H, Yang CS: Accumulation of p53 protein in human esophageal precancerous lesions: A possible early biomarker of carcinogenesis. *Cancer Res* 53 (1993) 1783-1787
152. Wang Y, Szekely L, Okan I, Klein G, Wiman KG: Wild-type p53 triggered apoptosis is inhibited by bcl-2 in a v-myc induced T-cell lymphoma line. *Oncogene* 8 (1993) 3427-3431
153. Weinberg RA: Tumor suppressor genes. *Science* 254 (1991) 1138-1146
154. Werness BA, Levine AJ, Howley PM: Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 248 (1990) 76-79
155. Whelan AJ, Bartsch D, Goodfellow PJ: A familial syndrom of pancreatic carcinoma and melanoma with a mutation in the CDKN2 tumor suppressor gene. *N Engl J Med* 333 (1995) 975-977
156. Wild CP, Ridanpää M, Anttila S, Lubin R, Soussi T, Husgafvel-Pursiainen K, Vainio H: P53 antibodies in the sera of lung cancer patients: Comparison with p53 mutation in the tumor tissue. *Int J Cancer* 64 176-181 (1995)
157. Willhser P, Pinder SE, Robertson L, Nicholson RI, Ellis IO, Bell JA, Blamey RW, Green JA, Robertson JFR: The significance of p53 autoantibodies in the serum of patients with breast cancer. *Anticancer Res* 16 (1996) 927-930
158. Winter SF, Minna JD, Johnson BF, Takahashi T, Gazdar AF, Carbon DP: Development of antibodies against p53 in lung cancer patients appears to be dependent upon the type of p53 mutation. *Cancer Res* 53 (1992) 4168-4174
159. Winter SF, Sekido Y, Minna JD, McIntire D, Johnson BE, Gazdar AF, Carbone DP: Antibodies against autologous tumor cell proteins in patients with small-cell lung cancer: association with improved survival. *J Natl Cancer Inst* 85 (1993) 2012-2018
160. Wu X, Bayle JH, Olson D, Levine AJ: The p53-mdm2-autoregulatory feedbackloop. *Genes Dev* 7 (1993) 1126-1132
161. Yokoyama M, Yamanaka Y, Friess H, Büchler M, Korc M: p53 expression in human pancreatic cancer correlates with enhanced biological aggressiveness. *Anticancer Res* 14 (1994) 2477-2483
162. Yonish-Rouach E, Resnitzky D, Lotem J, Sachs L, Kimchi A, Oren M: Wild-type p53 induces apoptosis of myeloid leukaemic cells that is inhibited by interleukin-6. *Nature* 352 (1991) 345-347
163. Yoshikawa T, Nishida K, Tanigawa M, Fukumoto K, Kondo M: Carbohydrate antigenic (CA 19-9) and other tumor markers in gastrointestinal malignancies. *Digestion* 31 (1985) 67-76
164. Zambetti GP, Bargonetti J, Walker K, Prives C, Levine AJ: Wild-type p53 mediates positive regulation of gene expression through a specific DNA sequence element. *Genes Dev* 6 (1992) 1143-1152

165. Zambetti GP and Levine AJ: A comparison of the biological activities of wild-type and mutant p53. *The FASEB Journal* 7 (1993) 855-865
166. Zhang SY, Ruggeri B, Agarwal P, Sorling F, Obara T, Ura H, Namiki M, Klein-Szanto AJP: Immunohistochemical analysis of p53 expression in human pancreatic carcinomas. *Arch Pathol Lab Med* 118 (1994) 150-154
167. Zantema A, Schrier PI, Davis-Olivier A, von Laar T, Vaessen R.T. van der Eb AJ: Adenovirus serotype determines association and localization of the large E1b tumor antigen with cellular tumor antigen p53 transformed cells. *Mol Cell Biol* 5 (1985) 3084-3091

7. Anhang

Tab.3 Immunhistochemischer Nachweis von p53 in Abhängigkeit von klinischen und histopathologischen Daten der Magenkarzinompatienten

		p53 pos	p53 neg	gesamt
Alter	Jahre(median)	26-82(62.2)	37-85(66.2)	65.2(26-85)
Geschlecht(%)	weiblich	15(20.3)	19(25.7)	34(45.9)
	männlich	17(23.0)	23(31.1)	40(54.1)
Tumorstadium(%)	Ia	3(4.1)	3(4.1)	6(8.1)
	Ib	1(1.4)	4(5.4)	5(6.8)
	II	2(2.7)	3(4.1)	5(6.8)
	IIIa	4(5.4)	6(8.1)	10(13.5)
	IIIb	9(12.2)	8(10.8)	17(23.0)
	IV	13(17.6)	18(24.3)	31(41.9)
Grading(%)	I	1(1.4)	2(2.7)	3(4.1)
	II	6(8.1)	10(13.5)	16(21.6)
	III	25(33.8)	30(40.5)	55(74.3)
Lokalisation(%)	Cardia	12(16.2)	18(24.3)	30(40.5)
	Corpus	11(14.9)	11(14.9)	22(29.7)
	Antrum	4(5.4)	10(13.5)	14(18.9)
	Stumpf	5(6.8)	3(4.1)	8(10.8)
Lauren(%)	intestinal	16(21.6)	22(29.7)	38(51.4)
	diffus	16(21.6)	20(27.0)	36(48.6)
Therapie(%)	GE/ PE	8(10.8)	7(9.5)	15(20.3)
	pall.Gastrektomie	2(2.7)	7(9.5)	9(12.2)
	Gastrektomie	14(18.9)	21(28.4)	35(47.3)
	erw. Gastrektomie	6(8.1)	7(9.5)	13(17.6)
	4/5 Resektion	2(2.7)	0	2(2.7)

Tab.4 p53-Autoantikörper in Abhängigkeit zu klinischen und histopathologischen Daten der Magenkarzinompatienten

		p53-AAK pos	p53-AAK neg	gesamt
Alter	Jahre(median)	37-80(63.9)	26-85 (64.7)	65.2(26-85)
Geschlecht	weiblich (%)	7(9.5)	27(36.5)	34(45.9)
	männlich (%)	8(10.8)	32(43.2)	40(54.1)
Tumorstadium	Ia (%)	0	6(8.1)	6(8.1)
	Ib (%)	1(1.4)	4(5.4)	5(6.8)
	II (%)	0	5(6.8)	5(6.8)
	IIIa (%)	4(5.4)	6(8.1)	10(13.5)
	IIIb (%)	3(4.1)	14(18.9)	17(23.0)
	IV (%)	7(9.5)	24(32.4)	31(41.9)
Lymphknoten	positiv (%)	14(18.9)	47(63.5)	61(82.4)
	negativ (%)	1(1.4)	12(16.2)	13(17.6)
Grading	I (%)	1(1.4)	2(2.7)	3(4.1)
	II (%)	1(1.4)	15(20.3)	16(21.6)
	III (%)	13(17.6)	42(56.8)	55(74.3)
Lokalisation	Cardia (%)	9(12.2)	21(28.4)	30(40.5)
	Corpus (%)	2(2.7)	20(27.0)	22(29.7)
	Antrum (%)	3(4.1)	11(14.9)	14(18.9)
	Stumpf (%)	1(1.4)	7(9.5)	8(10.8)
Lauren	intest. (%)	7(9.5)	31(41.9)	38(51.4)
	diffus (%)	8(10.8)	28(37.8)	36(48.6)
Therapie	GE/ PE (%)	4(5.4)	11(14.9)	15(20.3)
	pall.Gastr.(%)	1(1.4)	8(10.8)	9(12.2)
	Gastrekt.(%)	7(9.5)	28(37.8)	35(47.3)
	erw. Gastr.(%)	3(4.1)	10(13.5)	13(17.6)
	4/5 Resekt.(%)	0	2(2.7)	2(2.7)

Tab.6 p53-Autoantikörper in Abhängigkeit zu klinischen und histopathologischen Daten der Pankreaskarzinompatienten

		p53-AKK pos	p53-AKK neg	gesamt
Alter	Jahre	54-72	52-74	52-74
	(median)	(62.6)	(62.2)	(62.2)
Geschlecht	weiblich(%)	1(2.9)	12(34.3)	13(37.1)
	männlich(%)	6(17.1)	16(45.7)	22(62.9)
Stadium	I(%)	1(2.9)	7(20.0)	8(22.9)
	III(%)	2(5.7)	8(22.9)	10(28.6)
	IV(%)	4(11.4)	13(37.1)	17(48.6)
Lymphknoten	positiv (%)	7(20.0)	21(60.0)	28(80.0)
	negativ (%)	0	7(20.0)	7(20.0)
Grading	I(%)	1(2.9)	2(5.7)	3(8.6)
	II(%)	2(5.7)	11(31.4)	13(37.1)
	III(%)	4(11.4)	13(37.1)	17(48.6)
	n.d.(%)	0	2(5.7)	2(5.7)
Lokalisation	Caput(%)	5(11.4)	21(60.0)	26(74.3)
	Corpus(%)	1(2.9)	5(14.3)	6(17.1)
	Cauda(%)	1(2.9)	2(5.7)	3(8.6)
Therapie	pall./PE(%)	4(11.4)	9(25.7)	13(37.1)
	Whipple(%)	3(8.6)	13(37.1)	16(45.7)
	Linksres.(%)	0	6(17.1)	6(17.1)

Tab.8 Klinische und histopathologische Daten in Beziehung zum p53-Autoantikörperstatus der Ösophaguskarzinompatienten

		p53-AAK pos	p53-AAK neg	gesamt
Alter	Jahre(median)	43-73(61.9)	45-91(63.2)	43-91(62.8)
Geschlecht	weiblich(%)	1(4.0)	3(12.0)	4(16.0)
	männlich(%)	6(24.0)	15(60.0)	21(84.0)
Stadium	IIa(%)	2(8.0)	3(12.0)	5(20.0)
	IIb(%)	1(4.0)	1(4.0)	2(8.0)
	III(%)	3(12.0)	8(32.0)	11(44.0)
	IV(%)	1(4.0)	6(24.0)	7(28.0)
Lymphknoten	positiv (%)	5(20.0)	15(60.0)	20(80.0)
	negativ (%)	2(8.0)	3(12.0)	5(20.0)
Grading	I(%)	0	0	0
	II(%)	6(24.0)	8(32.0)	14(56.0)
	III(%)	1(4.0)	8(32.0)	9(36.0)
	n.d.(%)	0	1(4.0)	1(4.0)
Lokalisation	proximal(%)	0	1(4.0)	1(4.0)
	medial(%)	1(4.9)	5(20.0)	6(24.0)
	distal(%)	6(24.0)	12(48.0)	18(72.0)
Histologie	Plattenepithel-Ca(%)	4(16.0)	15(60.0)	19(76.0)
	Adeno-Ca. (%)	3(12.0)	2(8.0)	5(20.0)
	neuroendokr.diff.	0	1(4.0)	1(4.0)
Therapie	Ösophagektomie(%)	6(24.0)	8(32.0)	14(56.0)
	pall./PE(%)	1(4.0)	10(40.0)	11(44.0)

8. Thesen

1. p53-Autoantikörper konnten bei 20.3% (15/74) der Patienten mit Magenkarzinom, bei 20% (7/35) mit Pankreaskarzinom und bei 28% (7/25) mit Ösophaguskarzinom nachgewiesen werden.
2. Der Nachweis von p53-Autoantikörpern ist hochspezifisch für Malignität, bei allen untersuchten Patienten mit benignen Erkrankungen konnten keine zirkulierenden p53-Autoantikörper gefunden werden
3. Das Auftreten von p53-Autoantikörpern geht bei Magenkarzinompatienten mit einer schlechten Prognose einher, es bestand eine signifikante Korrelation zu einem fortgeschrittenen Tumorstadium und einer verkürzten Überlebenszeit. Alle postoperativ p53-Autoantikörper positiven Patienten verstarben innerhalb der ersten 14 Monate.
4. Mit einer schlechten Prognose war der Nachweis von p53-Autoantikörpern bei Patienten mit Pankreaskarzinom verbunden. Die mediane Überlebenszeit der p53-Autoantikörper positiven Patienten war mit 2 Monaten gegenüber 13 Monaten der p53-Autoantikörper negativen Patienten verkürzt.
5. Bei Magen- und Pankreaskarzinompatienten scheint das Auftreten von p53-Autoantikörpern ein spätes Ereignis in der Onkogenese zu sein.
6. Das Auftreten von p53-Autoantikörpern war fast immer mit einem immunhistochemischen Nachweis von p53 bei allen drei Tumorentitäten verbunden. Nur bei vier Patienten konnte mit den beiden p53-Antikörpern DO-1 und Pab 1801 kein p53-Protein in den Tumorgewebe nachgewiesen werden.
7. Bei den Ösophaguskarzinompatienten konnten zwischen dem Auftreten von p53-Autoantikörpern und den untersuchten klinischen und histopathologischen Parametern keine Beziehungen gefunden werden.

8. Der immunhistochemische Nachweis von p53 zeigte in unserer Untersuchung keinen Zusammenhang zu klinischen- und histopathologischen Parameter bei den Magen-, Pankreas- und Ösophaguskarzinomen.
9. Eine pathologische Erhöhung der Tumormarker CEA und CA 19-9 zeigte keine Abhängigkeit zum Auftreten der p53-Autoantikörper im Serum. Bei Magen-, Pankreas- und Ösophaguskarzinompatienten fanden sich p53-AAK bei in Norm befindlichen Tumormarkern, so daß sie eine Lücke der herkömmlichen Tumormarker schließen könnten.
10. Eine zusätzliche Bestimmung der p53-AAK könnte zur Bildung einer Subgruppe von Patienten mit besonders schlechter Prognose und zum Screening von Risikopatienten herangezogen werden.

Selbstständigkeitserklärung:

Hiermit erkläre ich, daß ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Ich versichere, daß ich für die inhaltliche Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten in Anspruch genommen habe. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwertige Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorliegenden Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Es ist mir bekannt, daß ich den Dokortitel nicht führen kann, bevor mir die Promotionsurkunde bzw. eine vorläufige Bescheinigung gemäß § 16 der Promotions-ordnung ausgehändigt wurde.

Dipl.- Med. F. Weigmann

Publikationen von Ergebnissen dieser Arbeit

F. Weigmann, P. Würfl, H. Taubert, M. Fittkau, H. Dralle: Autoreaktive humane anti-p53-Antikörper im Serum bei Magenkarzinomen.

Postervortrag, Molekularbiologie - eine Herausforderung für die Chirurgie in Diagnostik und Therapie, Heidelberg 1996

F. Weigmann, P. Würfl, H. Taubert, A. Meye, M. Fittkau, H. Dralle: Nachweis von autoreaktiven humanen anti-p53-Antikörpern im Serum bei Magenkarzinomen.

Postervortrag, Bad Gasteiner Ärzteswoche, 1997

F. Weigmann, P. Würfl, H. Taubert, M. Fittkau, H. Dralle: Anti-p53-Antikörper im Serum und Prognose bei Magenkarzinomen.

Vortrag, 7. Kongreß der Chirurgenvereinigung Sachsen- Anhalt, 1997

P. Würfl, F. Weigmann, A. Meye, M. Fittkau, U. Rose, D. Berger, F.-W. Rath, H. Dralle, H. Taubert: Detection of p53 autoantibodies in sera of gastric cancer patients and their prognostic relevance. Scand J Gastroenterol 1997; 32: 1147-1151

F. Weigmann, P. Würfl, H. Taubert, M. Fittkau, H. Dralle: p53-Autoantikörper im Serum von Patienten mit Pankreas-und Ösophaguskarzinom. 115. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie, Berlin 1998

Lebenslauf

Name: Frank Weigmann
Geburtsdatum: 12.10.1959
Geburtsort: Aue
Familienstand: verheiratet, 1 Kind
Eltern: Klaus Weigmann, Musiker, verstorben 1976
Christine Weigmann, Krankenschwester, Rentner seit 1996

01.09.1966-
30.06.1976
Grundschule Aue und Brandenburg

01.09.1976-
30.07.1979
Schul- und Berufsausbildung bis zum Abitur mit gleichzeitiger Berufsausbildung in der Betriebsberufsschule des Stahl- und Walzwerkes Brandenburg

01.11.1979-
30.04.1980
Operationspfleger im Bezirkskrankenhaus Brandenburg

02.05.1980-
29.04.1983
Unteroffizier im Medizinischen Dienst

15.05.1983-
30.08.1983
Pfleger in der Unfallaufnahme des Stadtkrankenhauses Halle

01.09.1983-
31.08.1988
Medizinstudium, Martin-Luther-Universität Halle/ Wittenberg

01.09.1988-
31.08.1989
Pflichtassistenz im Carl von Basedow-Krankenhaus Merseburg

01.09.1989-
Assistenzarzt in der Chirurgischen

11.10.1989	Klinik des Carl von Basedow- Krankenhauses Merseburg (Chefarzt Dr. Knipping)
12.10.1989- 28.02.1990	Übersiedlung in die Bundesrepublik Deutschland, berufliche Neuorientierung
01.03.1990- 14.06.1991	Assistenzarzt in der Klinik für Unfall-, Wiederherstellungs- und Handchirurgie des AK St.Georg in Hamburg (PD Dr.Ch. Eggers)
15.06.1991- 30.06.1993	Assistenzarzt in der Chirurgischen Klinik des Kreiskrankenhauses Eutin (PD Dr. Graudins)
seit 10.08.1993	Assistenzarzt in der Klinik für Allgemeinchirurgie der Martin- Luther-Universität Halle- Wittenberg (Prof. A. Gläser, seit 1.11.1994 Prof. H. Dralle)
21.07.1998	Facharzt für Chirurgie

Danksagung

Sehr herzlich danken möchte ich vor allem meinem Chef Herrn Professor H. Dralle für die fördernde und freundliche Betreuung dieser Arbeit. Ohne Ihn wäre diese Arbeit so sicher nicht zustande gekommen.

Mein besonderer Dank gilt den Mitarbeitern der Chirurgischen Klinik und des Institutes für Pathologie, die mich in vielfältiger Weise bei der Erstellung der Arbeit unterstützt haben.

Weiterhin danke ich Frau Dr. M. Fittkau, Frau Dipl.-Biol. I. Schwarz und Herrn Dr. C. Hoang-Vu für die Unterstützung beim experimentellen Teil der Arbeit.