

# Zelluläre Immundiagnostik: zirkulierende Tumorzellen – CTCs Anreicherung und Quantifizierung

Eine der vielversprechendsten Entwicklungen in der Krebsmedizin ist das Erfassen von zirkulierenden Tumorzellen (CTC) als minimalinvasiver multifunktionaler Biomarker. CTCs im peripheren Blut stammen von soliden Tumoren und sind für die Metastasierung verantwortlich. Die Quantifizierung der CTCs kann dabei unterstützen, den Krankheitsverlauf bei Patienten abzuschätzen und vorherzusagen. Sie ist somit als **«liquid biopsy»** und Echtzeit-Marker für Tumorprogression und Überlebensprognose zu sehen.

CTCs müssen in Konzentrationen nachgewiesen werden können, die millionenfach unter denen von Leukozyten liegen. Ein Nachweis von 30–100 Zellen pro 7.5 ml EDTA-Blut gilt nach bisheriger Studienlage bereits als prognostisch ungünstig. Diese Zahl variiert jedoch je nach Art des Tumors. Dies zeigt die grosse Notwendigkeit eines sehr sensitiven Testverfahrens sowie einer vorausgegangenen Anreicherung zur Detektion von CTCs auf.

## Anreicherung von CTCs durch immunomagnetische Zellseparation

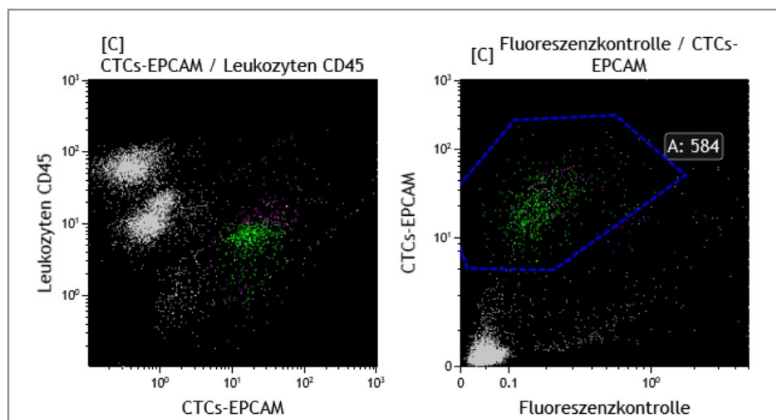
Fast alle Tumorzellen exprimieren auf ihrer Oberfläche **EPCAM** (epithelial cell-adhesion molecule = **HEA** human epithelial antigen). Mit Hilfe dieses Antigens werden die Zellen ferromagnetisch markiert und mit einem Magnetfeld auf einem Eisenträger adhäriert, ge-

waschen und nach Entfernen des Magnetfeldes eluiert. Anreicherungsfaktoren von 1'000 bis 2'000fach können so erzielt werden.

## Analytische Quantifizierung der CTCs

Durch weitere Markierung von Antigenen durch Fluoreszenzfarbstoff-konjugierte Antikörper können die CTCs analytisch erfasst und quantifiziert werden. Es gibt hierzu verschiedene fluoreszenzmikroskopische, semiautomatisierte Methoden.

Wir nutzen dazu die **Durchflusszytometrie**: Das Zelleluat wird mit EPCAM-Antikörper, dem Leukozytenantigenmarker CD45 und einem Vitalfarbstoff markiert. Die gesuchten CTCs sind positiv für EPCAM, negativ für CD45 (Abb. grün) und färben mit dem Vitalfarbstoff an, wenn sie nicht mehr leben (Abb. rot).



### **Sind alle nachgewiesenen CTCs auch Tumorzellen?**

Die aktuelle Methodik lässt keine definitive Bestätigung zu, dass es sich um Tumorzellen handelt, da zirkulierende Tumorzellen kein tumorspezifisches Antigen auf ihrer Oberfläche tragen. Sie können nur über ihre Eigenschaft als Epithelzellen (EPCAM+) und ihre Negativität für das Leukozytenantigen CD45 quantifiziert werden. Im Normalfall

zirkulieren praktisch keine Epithelzellen bei gesunden Probanden im Blut. Ausnahmen sind aber möglich, z.B. bei Verletzungen, postoperativ oder bestimmten benignen Erkrankungen (beispielsweise Divertikulosen, Polypen, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa oder Endometrioseherde im Colon). Wir sprechen daher im Ergebnis nicht von Tumorzellen, sondern von **tumorverdächtigen Zellen**.

#### **Anforderung**

- EPCAM, Profil 7893
- Blutentnahme vorzugsweise Montag bis Donnerstag.
- Angabe von klinischen Hinweisen, Tumorart, Behandlung usw.
- Material: 2x 7.5 ml EDTA Blut.

#### **Ergebnis und Interpretation**

Anzahl der in 7.5 ml EDTA-Blut nachweisbaren EPCAM-positiven tumorverdächtigen Zellen. Verläufe werden grafisch dargestellt und unterstützen die Beurteilung von Krankheits- und Therapieverlauf.

#### **Bei Erstmessung empfehlen wir folgende Interpretation:**

- 0 – ca. 30 Zellen / 7.5 ml EDTA-Blut: keine Wiederholungsmessung angezeigt.
- ca. 30–100 Zellen / 7.5 ml EDTA-Blut: Wiederholungsmessung angezeigt nach ca. 3 Monaten.
- Ab ca. 100 Zellen / 7.5 ml EDTA-Blut: weitere Tumorabklärung indiziert.

#### **Preis**

350 TP (nicht kassenpflichtig).

#### **Ergänzende Diagnostik**

- NK-Zelltest, Grundprofil 2830.
- Blutentnahme vorzugsweise Montag bis Donnerstag.
- Material: Heparinblut, frisch.

Um zusätzlich die Fähigkeit der Killerzellen als primäre, nicht MHC-abhängige Immunabwehr gegen Tumorzellen abzubilden, kann der NK-Zelltest empfohlen werden. Hier werden die Zahl, die Degranulierungsfähigkeit als Mass für die Zytotoxizität und die Stimulierbarkeit durch Interleukin 2 im Grundprofil getestet. Weitere Testungen auf Modulatoren können angefordert werden.

Detaillierte Informationen sind der Arztinfo unter Menüpunkt Service-Download-center auf der Homepage zu entnehmen.



**Literatur:**

1. Lopresti et al.: Sensitive and easy screening for circulating tumor cells by flow cytometry; JCI Insight. 2019;4(14):e128180. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.128180>.
2. Warawdekar et al.: A versatile method for enumeration and characterization of circulating tumor cells from patients with breast cancer; J Cancer Metastasis Treat 2017;3:23–33.
3. Kerklaan et al.: EpCAM-based flow cytometry in cerebrospinal fluid greatly improves diagnostic accuracy of leptomeningeal metastases from epithelial tumors; Neuro-Oncology 18(6), 855–862, 2016; doi:10.1093/neuonc/nov273.
4. Watanabe et al.: Multicolor Detection of Rare Tumor Cells in Blood Using a Novel Flow Cytometry-Based System; Cytometry Part A 85A, 2014, 206–213.
5. Simsek et al.: Determination of Circulating Tumor Cells in Peripheral Blood By Flow Cytometry; Niche, 2014; 3: 0–0 • DOI: 10.5152/niche.2015.246
6. Parkinson et al.: Considerations in the development of circulating tumor cell technology for clinical use; Journal of Translational Medicine 2012, 10:138.
7. Man et al.: Currently Used Markers for CTC Isolation – Advantages, Limitations and Impact on Cancer Prognosis; J Clinic Experiment Pathol 2011, 1:1.
8. Allard et al.: Tumor Cells Circulate in the Peripheral Blood of All Major Carcinomas but not in Healthy Subjects or Patients With Nonmalignant Diseases; Clinical Cancer Research Vol. 10, 2004, 6897–6904.