

Biomarker zum Nachweis von Blasenkrebs

Kombination von Survivin und UBC® Rapid unterstützt Diagnose



Jan Gleichenhagen, Irina Raiko, Thomas Brüning, Georg Johnen

Blasenkrebs ist bei Männern eine der häufigsten Krebserkrankungen. Zu den wichtigsten Risikofaktoren zählt neben dem Rauchen eine erhöhte berufliche Exposition gegenüber aromatischen Aminen. Wie für alle Krebsformen gilt auch hier: Je früher der Krebs erkannt wird, desto besser sind die Therapieoptionen. Am IPA wurde nun die Kombination zweier Biomarker Survivin und UBC® Rapid im Hinblick auf ihre diagnostische Aussage untersucht.

Das Robert-Koch-Institut prognostiziert für das Jahr 2018 ca. 16.000 Fälle von bösartigen Tumoren der Harnblase (Blasenkrebs) [1]. Bei Männern ist Blasenkrebs einer der häufigsten Krebserkrankungen. Der wichtigste Risikofaktor für die Entstehung von Blasenkrebs ist neben dem Rauchen eine erhöhte berufliche Exposition gegenüber aromatischen Aminen [1]. Hierzu zählen beispielsweise Beschäftigte in Malerbetrieben, Lackierereien oder in der chemisch-pharmazeutischen Industrie [2]. In Europa wurden die risikoerhöhenden Arbeitsstoffe bereits größtenteils substituiert. Jedoch ist die Latenzzeit zwischen Exposition und der Krebsentstehung sehr lang und so tritt beruflich-bedingter Blasenkrebs auch heute noch auf, häufig erst im Alter von über 70 Jahren. Bei Blasenkrebs unterscheidet man grob zwei Formen: oberflächlichen und muskel-invasiven Blasenkrebs. In Deutschland werden Schleimhautveränderungen, Krebs oder andere Neubildungen der Harnwege durch aromatische Amine unter der BK 1301 zusammengefasst. Hier wurden 2017 von den Unfallversicherungsträgern 206 Fälle anerkannt [2]. Die

pathologische Charakterisierung des betroffenen Gewebes (u.a. Grading) ist besonders wichtig für die Behandlung und Einschätzung des Krankheitsverlaufes. Die Therapie hängt u.a. davon ab, ob es sich um einen aggressiv wachsenden Tumor (*high-grade*) oder einen weniger aggressiv wachsenden Tumor (*low-grade*) handelt. Die Behandlungsmöglichkeiten sind heutzutage vergleichsweise gut, allerdings gilt: Je früher der Blasenkrebs erkannt wird, desto größer sind auch die Therapieoptionen und die Chancen auf Heilung.

Untersuchungen bei Verdacht auf Blasenkrebs

Häufige erste Symptome des Blasenkrebses sind Blut im Urin (Hämaturie), Blasenreizung, ungewöhnlicher Harndrang und Probleme beim Wasserlassen. Diese Symptome können aber auch bei anderen harmlosen Harnwegserkrankungen auftreten. Dies kann der Urologe im Vorfeld durch Urinzytologie (Mikroskopie von Zellen im Urin) oder auch Ultraschall abklären [3]. Wenn sich der Verdacht auf Blasenkrebs erhärtet, wird eine Blasenspiegelung (Zystoskopie) durchgeführt,

Kurz gefasst

gefolgt von einer pathologischen Begutachtung des dabei entnommenen tumorverdächtigen Gewebes. Die Zystoskopie ist eine relativ aufwändige und schmerzhafte Untersuchung. Negative Befunde und der schmerzhafte Eingriff führen häufig dazu, dass Patienten – gerade in der Nachsorge – diese Untersuchung gerne aufschieben oder ganz auslassen [4]. Daher wäre eine nicht-invasive Methode, wie die Untersuchung des Urins zur Diagnose von Blasenkrebs sinnvoll. Urin gilt als gute Quelle für Biomarker zur Diagnose von Blasenkrebs, da der Urin sehr nah am betroffenen Gewebe ist. Die Wahrscheinlichkeit ist daher sehr groß, dass einzelne Tumorzellen, Proteine oder auch andere Signal-Moleküle des Tumors in den Urin abgegeben werden.

Biomarker für den Nachweis von Blasenkrebs

Zu den bekanntesten urinbasierten Biomarker-Tests für Blasenkrebs gehören der UroVysion™ und der NMP22® Test. Beide Tests sind bislang von der FDA nur als unterstützende Analyse sowie zur begleitenden Nachsorge von Blasenkrebs zugelassen und ersetzen keine Blasenspiegelung. Beide Tests haben Vor- und Nachteile: Der NMP22® Test ist zwar sehr einfach in der Durchführung, dafür wird aber die Aussagekraft des Testes in der Literatur unterschiedlich bewertet. Unumstritten ist, dass die NMP22® Testergebnisse negativ durch Blut im Urin beeinflusst werden [5]. UroVysion™ ist ein robuster Test, allerdings in der Durchführung sehr aufwändig, kostenintensiv und nur von spezialisierten Laboren sowie Personal mit entsprechender Expertise durchzuführen.

Das IPA hat jetzt in Kooperation mit der Abteilung für Urologie des Lukaskrankenhauses Neuss zwei weitere urinbasierte Biomarkerkandidaten untersucht: UBC® Rapid und Survivin [6].

UBC® Rapid ist ein kommerziell erhältlicher Point-of-Care Test zur Bestimmung der Zytokeratinfragmente 8 und 18 im Urin. Der Test ist einfach in der Durchführung, was besonders für die Routinediagnostik wichtig ist. Survivin ist ein bekannter Biomarker-Kandidat, gilt aber nach wie vor als experimentell. Die meisten Studien zur Analyse von Survivin basieren auf entweder invasiv genommenen Gewebeproben oder sedimentierten Zellen. Dabei wurde häufig nicht das Protein selbst, sondern die mRNA von Survivin untersucht, da deren Nachweis einfacher ist. Aufgrund der begrenzten Stabilität von Survivin mRNA und der damit verbundenen Ungenauigkeit wurde in der Studie des IPA stattdessen das (stabilere) Survivin-Protein direkt analysiert. Ein in der Labor diagnostik etabliertes Verfahren zur Messung von Proteinen in flüssigen Proben ist der enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), der auf Antikörpern basiert, die Proteine spe-

- Survivin und UBC® Rapid können Blasenkrebs in Urinproben nachweisen
- Eine Kombination beider Marker erhöht die Chancen Blasenkrebs zu erkennen
- Die Biomarker-Kombination erkennt 82 % der aggressiven high-grade Tumoren im Urin

zifisch binden. Das IPA hat einen eigenen Antikörper gegen Survivin hergestellt, um den Survivin-ELISA den eigenen Bedürfnissen anzupassen und diesen auch gegebenenfalls in zukünftigen Technologien einzusetzen.

Nach erfolgreicher Etablierung des Survivin-ELISAs wurde dann eine Fall-Kontroll-Studie mit 244 Patienten (111 Blasenkrebspatienten und 133 Kontrollen) durchgeführt, um die Eignung von UBC® Rapid und des Survivin-ELISAs zur Detektion von Blasenkrebs zu überprüfen. Die Studie zeigte, dass der Survivin-ELISA nur etwa 35 % (39 von 111 Krebsfällen) der Blasenkrebspatienten erkannte, aber mit weniger als 2 % falsch-positiver Tests sehr spezifisch war; das heißt mehr als 98 % der gesunden Patienten (Kontrollen ohne Blasenkrebs) wurden korrekt als gesund erkannt. Der UBC® Rapid Test erkannte 56 % der Blasenkrebspatienten, wobei die Zahl falsch-positiver Ergebnisse mit weniger als 4% ebenfalls gering ausfiel. Als Einzelmarker bieten sowohl der Survivin-ELISA als auch der UBC® Rapid keine wesentliche Verbesserung bei der Blasenkrebsdiagnostik. Kombiniert man hingegen beide Biomarker in einem sogenannten Panel, so werden 66 % der Blasenkrebspatienten entdeckt, während die Anzahl an falsch-positiven Testergebnissen kleiner als 5 % bleibt. Betrachtet man nur *high-grade* Tumoren, so wurden durch die Kombination sogar 82 % (45 von 55 Fällen) dieser besonders aggressiv wachsenden Tumoren richtig-positiv identifiziert.

Die Ergebnisse der Studie wurden international in der Zeitschrift *International Journal of Molecular Sciences* veröffentlicht [6].

Fazit

Zusammengefasst zeigte sich, dass sowohl der Survivin-ELISA als auch der UBC® Rapid Blasenkrebs erkennen können. Als Einzelmarker sind beide Tests jedoch nur bedingt geeignet. Kombiniert man hingegen beide Biomarker, so wird bei deutlich mehr Patienten ein Blasenkrebs erkannt, insbesondere der aggressive *high-grade* Tumor. Am IPA wird derzeit an einer Verbesserung des Survivin-Nachweises geforscht, damit zukünftig auch kleinste Mengen des Proteins

nachgewiesen werden können. Darüber hinaus sind Untersuchungen beider Biomarker in prospektiven Studien angestrebt, um zu klären, ob die Biomarker-Kombination auch einen Beitrag zur Früherkennung von Blasenkrebs und somit zur nachgehenden Vorsorge leisten kann.

Die Autoren:
Prof. Dr. Thomas Brüning, Dr. Jan Gleichenhagen,
Dr. Georg Johnen, Dr. Irina Raiko
IPA

Literatur

1. www.krebsdaten.de
2. Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung: DGUV-Statistiken für die Praxis 2017
3. AWMF: S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Harnblasenkarzinoms. 2016
4. Taeger D, Pesch B, Leng G, Brüning T. Biomarker – Forschung für die Praxis. IPA-Journal 2009; 3: 24-25
5. Huber S, Schwentner C, Taeger D, Pesch B, Nasterlack M, Leng G, Mayer T, Gawrych K, Bonberg N, Pelster M, Johnen G, Bontrup H, Wellhäußer H, Bierfreund HG, Wiens C, Bayer C, Eberle F, Scheuermann B, Kluckert M, Feil G, Brüning T, Stenzl A and the UroScreen Study Group. Nuclear matrix protein-22: a prospective evaluation in a population at risk for bladder cancer. Results from the UroScreen study. BJU International 2011; 110: 669-708
6. Gleichenhagen J, Arndt C, Casjens S, Meinig C, Gerullis H, Raiko I, Brüning T, Ecke T, Johnen G. Evaluation of a New Survivin ELISA and UBC[®] Rapid for the Detection of Bladder Cancer in Urine. Int J Mol Sci 2018; 19: 226

Glossar

FDA	Food and Drug Administration. Amerikanische Behörde für Lebensmittelüberwachung sowie zur Überwachung von Arzneimitteln.
Falsch-positiv	Ein diagnostisches Testergebnis, das fälschlicherweise eine Erkrankung des Patienten (hier Blasenkrebs) anzeigt, der Patient aber in Wirklichkeit gesund ist.
Grading	Einteilung von Tumorzellen nach ihrem Wachstumsverhalten, ihrer Bösartigkeit sowie in welchem Maße sie sich von gesunden Zellen unterscheiden.
mRNA	Die mRNA (auch Boten-RNA genannt) ist eine Blaupause eines genkodierenden DNA-Abschnittes und dient als „Bauanleitung“ bei der Proteinbildung in einer Zelle.
NMP22[®]	Der NMP22-Test detektiert das nukleäre Matrixprotein 22 des Zellkerns, das von Tumoren der Harnblase vermehrt freigesetzt wird.
UroVysion[™]	In Krebszellen sind häufig Chromosomenveränderungen nachweisbar. Der UroVysion [™] detektiert typische Veränderungen der Chromosomen 3, 7, 17 und 9p21 in Zellen des Urins mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH).
Point-of-Care	Patientennahe Labordiagnostik, d.h. die Tests werden nicht in einem Labor durchgeführt, sondern direkt beim Patienten. Beispielsweise in der Praxis des niedergelassenen Arztes oder zu Hause (z.B. Blutzuckertest).
Survivin	Das Protein Survivin ist an mehreren zentralen Prozessen der Krebsentstehung beteiligt und wird in Tumoren vermehrt produziert. In gesunden Zellen kommt es kaum bis gar nicht vor.