

V. Waldmann · M. Deichmann · A. Jäckel
Hautklinik der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Disseminierte Melanomzellen in Blut und Knochenmark

Bedeutung und Nachweis durch potenzielle Tumormarker

Zusammenfassung

Die weit überwiegende Mehrzahl aller primären Melanome werden in sano exzidiert. Somit hängt die Prognose einer Melanom-erkrankung davon ab, ob zum Zeitpunkt der Exzision eine Tumorzellaussaat stattgefunden hat bzw. ob eine solche sich in der Folge etablieren kann und zum Auftreten klinisch apparenter Metastasen führt. Ein valider, prospektiver Nachweis einer solchen „minimal residual disease“ des malignen Melanoms ist bis heute nicht möglich. Die wichtigsten, gegenwärtig bekannten sog. Marker einer Melanom-erkrankung, Tyrosinase, S100 und MIA zeigen zwar alle einen, mit dem vorliegenden Stadium der Melanom-erkrankung korrelierten Anstieg positiver Patienten, eine valide Prognosebestimmung konnte aber bisher nur für S100 für Patienten mit bereits metastasierten Melanomen statistisch nachgewiesen werden. Es muss daher weiterhin in prospektiven Studien abgeklärt werden, ob eine routinemäßige Bestimmung der genannten Marker im klinischen Alltag einen signifikanten Informationsgewinn darstellen kann.

Schlüsselwörter

Tyrosinase · MIA · S100 · Mikrometastasen · „Minimal residual disease“

Begünstigende Faktoren einer „minimal residual disease“

Der entscheidende, die Prognose bestimmende Faktor beim malignen Melanom stellt wie bei anderen Tumoren auch die Tumorausbreitung dar. Die wichtigsten klinischen Parameter, mit denen sich diese abschätzen lässt, sind die maximale Dicke des Primärtumors und eine mögliche Lymphknotenbeteiligung bei Diagnosestellung. Im Gegensatz zu vielen anderen Malignomen hat sich beim malignen Melanom die vertikale Tumordicke nach Breslow und nicht der maximale Tumordurchmesser unabhängig von der Ebene als wichtigster prognostischer Parameter erwiesen [23]. Dies spiegelt sich in den gängigen Einteilungen wieder, in denen, abhängig von der Tumordicke nach Breslow, Stadium I–III unterschieden werden [23]. Da maligne Melanome operativ praktisch immer in toto exzidiert werden können, ist diese prognostische Bedeutung der vertikalen Tumordicke als Wahrscheinlichkeitsmaß für eine putative lymphogene oder hämatogene Streuung der Tumorzellen zu deuten. Dies würde auch die relative prognostische Irrelevanz einer eventuellen größeren, aber nicht vertikalen Tumordicke erklären.

Als zweiter wichtiger prognostischer Parameter hat die Lymphknotenbeteiligung Eingang in die Stadieneinteilungen gefunden. Hierbei verschlechtert sich die Prognose mit der Anzahl der befallenen regionären Lymphknoten

in der Lymphknotendisektion. Auch das Ausmaß des Befalls der betroffenen Lymphknoten ist von prognostischer Bedeutung [2]. Im Regelfall wird bei Patienten mit Lymphknotenbefall durch Melanomzellen die Lymphknotendisektion empfohlen, sodass von einer kompletten R₀-Resektion der betroffenen Lymphknotenstation ausgegangen werden kann. Die prognosebestimmende Bedeutung eines Lymphknotenbefalls scheint somit als begünstigend für das Vorliegen von Mikrometastasen jenseits der detektierten, befallenen Lymphknotenstation zu erklären zu sein. Als weitere Prognoseparameter wurden anhand multivariater Analysen beim Primärmelanom Tumorlokalisation und Geschlecht bestimmt [23]. Männer haben bei Erstdiagnose größere Melanome, weiter dominieren bei ihnen Rumpflokalisationen im Gegensatz zu Frauen, bei denen die Extremitätenlokalisationen überwiegen. Rumpflokalisationen zeichnen sich durch Lymphabstromverhältnisse aus, bei denen weniger Lymphknotenstationen vor einem möglichen viszeralem Zugang liegen.

Beim metastasierten malignen Melanom konnten als unabhängige Prognoseparameter eine LDH-Erhöhung und eine Albuminerniedrigung gefunden werden [34, 35]. Beide Parameter zeigen unspezifisch einen viszeralem ka-

Dr. V. Waldmann
Hautklinik der Universität Heidelberg,
Voßstraße 2, 69115 Heidelberg

V. Waldmann · M. Deichmann · A. Jäckel

Melanoma cells in the blood and bone marrow. Clinical importance and identification via potential tumor markers

Abstract

As the majority of primary malignant melanomas can be cured by surgical excision, the prognosis of melanomas is dependent on whether tumor cells have disseminated or are capable of doing so at the time of surgery. A prospective and valid detection of this minimal residual disease is not currently possible. The most important known so-called markers of melanoma disease, tyrosinase, S100 and MIA, all are more likely to be present in patients with more advanced disease. A valid prognostic effect has only been shown for S100 in patients with already identified metastatic disease. Further prospective studies are required to determine the potential gain of information by routine determination of these markers in melanoma patients.

Keywords

Tyrosinase · MIA · S 100 · Micrometastases · Minimal residual disease

tabolen Zustand an und sind auch bei zahlreichen anderen benignen und malignen Systemerkrankungen in ähnlicher Weise verändert. Darüber hinaus sind für die Prognose des metastasierten malignen Melanoms generelle Faktoren von Bedeutung (Übersicht bei [57]): die Lokalisation von Metastasen (insbesondere günstige Prognose bei Haut- und Lymphknotenmetastasen), die Anzahl der Lokalisationen und der Metastasen (also Ausbreitung des metastasierten Tumorleidens), die Geschwindigkeit des Wachstums und das Allgemeinbefinden des Patienten.

Die Zusammensicht dieser Faktoren legt nahe, dass eine einmal stattgehabte Tumorzellaussaat und deren Etablierung bzw. Progression der entscheidende Faktor für die Metastasierung und damit die Prognose des malignen Melanoms darstellt. Die Letalitätsrate des malignen Melanoms wird damit, ähnlich den Malignomen epithelialer Gewebe, durch die frühzeitige und zum Zeitpunkt der Diagnosestellung meist okkulte Metastasierung bestimmt [44, 45].

„Minimal residual disease“ und Mikrometastasierung

Einzelne, disseminierte Tumorzellen können bisher weder durch hochauflösende bildgebende Diagnoseverfahren noch durch konventionelle histopathologische Untersuchung mit vertretbarem Aufwand nachgewiesen werden [45, 51]. In den letzten Jahren gelang es, sensitivere sowohl immunhistochemische als auch molekularbiologische Nachweisverfahren zu entwickeln, mit denen einzelne disseminierte Tumorzellen und Mikrometastasen identifiziert werden können. Zu beachten ist, dass es sich beim Nachweis einzelner disseminierter Tumorzellen nicht notwendig um eine Mikrometastasierung handeln muss, da einzelne zirkulierende Tumorzellen noch keine (Mikro-)Metastasen darstellen [60]. Die meisten zirkulierenden Tumoreinzellen gehen zugrunde. Andererseits können einzelne, sich aus dem malignen Zellverband gelöste Tumorzellen bereits frühzeitig in die Lymph- oder Blutzirkulation gelangen, in andere Organe einwandern und dort in einem ruhenden Zustand über lange Zeit verharren (als sog. „dormant cells“). Diese Zellen können in einzelnen Fällen zu einem späteren Zeitpunkt zum Ausgangspunkt

einer klinisch manifesten Metastasierung werden. Die klinische und prognostische Signifikanz des Nachweises einzelner, disseminierter Tumorzellen muss daher weiter als unklar gewertet werden [21].

Als Ideal wäre wünschenswert, eine (klinisch und prognostisch signifikante) Mikrometastasierung zum Zeitpunkt der Erstdiagnose zu stellen. Dies erscheint zumindest zum gegenwärtigen Zeitpunkt für das maligne Melanom mit den gegenwärtig bekannten, im Folgenden vorgestellten Markern nicht zuverlässig möglich; es wird zurzeit mittels prospektiver Studien an großen Patientenkollektiven von Patienten im Stadium I und II geprüft, ob eine Verwendung der bisher bekannten Marker für Subgruppen sinnvoll ist. Ein weiteres, wichtiges Anwendungsgebiet des Nachweises einer „minimal residual disease“ besteht im Rahmen der Nachsorge von Melanompatienten, insbesondere in höheren Tumorstadien. Hier ist ein wesentliches Problem die Früherkennung der Tumorprogression bzw. eine Eingrenzung des Patientenkreises, der eine Tumorprogression erwarten lässt. Eine frühzeitige Erkennung der lymphogenen oder hämatogenen Metastasierung bereits im Stadium der Mikrometastasierung könnte nicht nur die sofortige Einleitung von Therapiemaßnahmen nach sich ziehen, sondern auch eine Stratifizierung zu adjuvanten Therapien ermöglichen.

Die Sensitivität des Nachweises eines eventuellen Lymphknotenbefalls kann durch die Verwendung immunhistologischer Techniken, z. B. unter Verwendung von S100-Antikörpern ca. um den Faktor 10 erhöht werden. Ein weiterer Anstieg der Sensitivität kann erreicht werden durch Verwendung molekularer Verfahren wie der RT-PCR [6] um mRNA von melanomspezifischen Proteinen wie Tyrosinase oder gp 100 zu detektieren. Die Verwendung dieser molekularen Nachweisverfahren erreicht eine Sensitivitätserhöhung ca. um den Faktor 100 [22]. Bisher wurden diese Techniken v. a. bei Patienten mit fortgeschrittener Melanomkrankung angewandt, da ihre prognostische Signifikanz leichter in Patientenkollektiven mit relativ hoher Tumormast und kurzer Lebenserwartung ermittelt werden kann. Eine bessere Evaluation von Sensitivität, Spezifität und der prognostischen Signifi-

kanz kann durch prospektive Studien an Niedrigrisiko- bzw. Mittelrisikomelanompatienten gewonnen werden. Bei positivem Ausfall könnte dies dazu führen, dass das gegenwärtige Stadieneinteilungssystem für das maligne Melanom erweitert wird. So könnte z. B. im Stadium IIB oder III (UICC 1992) die zusätzliche Detektion von Mikrometastasen eine Subgruppe definieren, deren optimale (adjuvante?) Therapie von jener der restlichen Stadien abweichen könnte; individuelle Belastung und kollektive Kosten könnten so minimiert werden.

Für eine frühzeitige Erkennung einer hämatogenen Metastasierung bereits im Stadium der Mikrometastasierung wurden zahlreiche Verfahren evaluiert. Unspezifische Serumparameter wie BSG, CRP, LDH, Elektrophorese wurden im Verlauf der Tumorerkrankung ermittelt und sollten in ihrer prädiktiven Aussagekraft nicht unterschätzt werden [17, 40]. Hierbei zeigt ein eventueller Anstieg nicht das Vorliegen von Mikrometastasen an, sondern eher eine ansteigende Tumormasse, welche den Gesamtorganismus belastet. Unter spezifischen Tumormarkern im engeren Sinne versteht man Substanzen in Blut oder anderen Kompartimenten, die durch ihr Vorhandensein oder ihre übermäßige Konzentration auf das Vorhandensein von Tumorzellen hinweisen [27, 49]. Die Mehrzahl dieser Marker ist jedoch nicht tumorspezifisch, sodass bislang für das maligne Melanom keine zuverlässigen Tumormarker zur Beurteilung von Tumorausmaß oder -progression zur Verfügung standen. Im Folgenden soll auf die 3 interessantesten potenziellen Marker, deren Signifikanz in den letzten Jahren untersucht wurde, eingegangen werden; dies sind Tyrosinase, S100 und MIA.

Potenzielle Tumormarker

Tyrosinase

Tyrosinase mRNA zum Nachweis zirkulierender Melanomzellen im peripheren Blut bzw. im Knochenmark von Melanompatienten mittels RT-PCR galt Anfang der 90er-Jahre als hoffnungsvoller Frühmarker einer Melanomprogression und wurde mittlerweile in zahlreichen Studien untersucht. Tyrosinase ist ein relativ spezifischer Marker melanozy-

tärer Differenzierung. Tyrosinase ist eine Monoxygenase und katalysiert die Umwandlung von Tyrosin zu Dopa und von Dopa zu Dopaquinon, den ersten Schritten der Biosynthese von Melanin. Tyrosinase ist stark exprimiert in Melanosomen [3]. Ursprünglich wurde Tyrosinase aus einer Reihe weiterer, für die Melaninbiosynthese spezifischer Enzyme für die mögliche Rolle als Marker ausgewählt, da sowohl cDNA als auch Exon/Intronstruktur bekannt waren [56], beides Voraussetzungen für die valide Durchführung von RT-PCRs.

Tyrosinase wird physiologischerweise exprimiert in Melanozyten, Schwann-Zellen und Melanomzellen. Da Schwann-Zellen und Melanozyten im peripheren Blut nicht vorhanden sind, wurde insbesondere das Vorliegen von Tyrosinaseexpression im peripheren Blut als Marker für das Vorliegen von zirkulierenden Melanomzellen gewertet. Smith et al. [56] konnten zeigen, dass bei 4 von 7 Patienten mit metastasiertem malignen Melanom Tyrosinase-mRNA mittels RT-PCR im Blut nachweisbar war, während Kontrollproben Gesunder keine Tyrosinase-mRNA aufwiesen. Die Anwendung der Tyrosinase RT-PCR auf verschiedene Gewebeproben erscheint problematischer, da Nerven Schwann-Zellen enthalten können und somit die Ergebnisse aus Gewebeproben von Lymphknoten oder Knochenmark falsch positiv verfälscht werden könnten. In der Tat konnte Tyrosinase-mRNA in metastatisch befallenen Lymphknoten von Mamma-, Lungen- und Nierentumoren nachgewiesen werden [3, 38]. Mittlerweile wurde aber gezeigt, dass die durch die Anwendung der Tyrosinase RT-PCR auf Gewebeproben von Lymphknoten von Patienten in den Melanomstadien bis III gesteigerte Sensitivität [47] eines detektierbaren Lymphknotenbefalls valide ist [7, 28, 30, 58]. Insbesondere die Kombination mit der „sentinel node biopsy“, der Schildwächterlymphknotenbiopsie erlaubt hier eine hohe diagnostische Sensitivität in der Detektion einer Melanomerkkrankung im Stadium III [28]. Zu bemerken bleibt, dass hier eine hohe diagnostische Sensitivität erzielt werden kann, deren prognostische und therapeutische Konsequenzen derzeit noch nicht abschließend bewertet werden können.

Zahlreiche Daten liegen mittlerweile zur Prävalenz von Tyrosinase-mRNA im

Blut bei Patienten mit metastasiertem malignen Melanom vor (Überblick bei [27]). Hierbei zeigt sich, dass der Anteil tyrosinasepositiver Patienten mit metastasiertem malignen Melanom in neueren Untersuchungen ziemlich konstant bei Werten um 50% liegt. Lediglich initiale Publikationen weichen hiervon z. T. wesentlich nach oben ab [14, 42]. Da bei Patienten mit Fernmetastasen eine hämatogene Aussaat notwendigerweise stattgefunden hat, sollte auch ein Nachweis von disseminierten Tumorzellen zumindest zeitweise möglich sein. Mehrfachbestimmungen brachten hierbei aber keine nennenswerte Steigerung der Prävalenz, auch die Intervallbestimmung in 2-stündigem Abstand nicht [48]. Eine Bestimmung zum Zeitpunkt des Eintritts ins klinische Stadium IV, vor Beginn einer systemischen Therapie, ergab eine Prävalenz von 35% [59], durch zusätzliche Bestimmung im Knochenmark konnte diese nur unwesentlich gesteigert werden [25, 46, 59]. Aus diesen Daten kann geschlossen werden, dass der Nachweis von Tyrosinase-mRNA durch RT-PCR keinen nützlichen Marker für die Tumorprogression im metastasierten Stadium darstellt. Ob eine eventuelle Tyrosinasepositivität bei Patienten im Stadium I bzw. II eine prognostische Signifikanz besitzt, wäre durch prospektive Studien zu klären [16, 50, 59].

S100

Im Jahr 1980 wurde das S100-Protein erstmals in humanen Melanomzelllinien entdeckt [24]. Die Proteine der S100-Familie sind Kalzium bindende Proteine und sind im Zytoplasma lokalisiert [43], wo sie für die Signaltransduktion von Differenzierungs- und Proliferationssignalen eine wichtige Rolle spielen [15]. Die Bestimmung von S100 erfolgt durch immunoluminometrische Testverfahren und kann als standardisiert angesehen werden.

In den letzten Jahren erschienen einige Arbeiten, die einen stadienabhängigen Anstieg der S100-Konzentration bei Patienten mit malignem Melanom zeigten. Bei Patienten mit metastasiertem malignen Melanom wurden zwischen 62 und 82% erhöhte S100-Konzentrationen im Blut beschrieben (Literatur bei [31]). In eigenen Untersuchungen wurde der Anteil von Patienten ohne erhöhte S100-Werte deutlich niedriger ge-

funden, möglicherweise aufgrund des Ausschlusses von Mehrfachbestimmungen [17, 37]. In Einzelfallbeobachtungen wurde darüber hinaus der Menge des messbaren S100 eine Korrelation zur Prognose der Erkrankung zugeschrieben [13, 17, 29, 35, 52, 53]. Hauschild et al. konnten bei Auswertung von 489 Proben von 64 Patienten mit metastasiertem malignem Melanom eine prognostische Signifikanz positiver S100-Werte bezüglich der Überlebenszeit zeigen [32]. In einer separat publizierten Auswertung konnten sie weiter bei 64 Patienten mit metastasiertem malignem Melanom in 95% der Therapieansprecher eine Konstanz bzw. Reduktion der S100-Werte zeigen [31]. Der verbleibende Anteil von Patienten im Stadium III und IV, die S100-negativ sind, ist jedoch nach wie vor bemerkenswert hoch, sodass in diesen Fällen eine S100-Bestimmung zum Therapiemonitoring nicht geboten erscheint. Ferner liegen auch Einzelfallbeobachtungen vor, in denen der Verlauf der S100-Konzentration nicht mit dem Verlauf der Melanomerkkrankung korreliert [37].

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass ein positiver S100-Wert am ehesten als Hinweis auf eine hämatogene Aussaat gesehen werden kann. Bei solchen Patienten mit erhöhten S100-Werten sollten in kürzeren Zeitabständen und engmaschig klinische Kontrollen durchgeführt werden; hier könnten den positiven S100-Werten eine prognostische Bedeutung zukommen [33]. Eine hämatogene Metastasierung kann selten auch im Stadium I/II vorliegen. Ob bei Patienten mit grenzwertig bzw. schwach positiven S100-Werten hier ein prognostischer Faktor vorliegt, muss in prospektiven, randomisierten Studien entschieden werden. Immerhin zeigen bis zu 5% gesunder Probanden erhöhte S100-Werte [37]. Patienten im Stadium III und mit erhöhten S100-Werten sind signifikant höher gefährdet, hämatogene Fernmetastasen zu entwickeln [9, 39]. Auch hier gilt das Gebot engmaschiger, konsequenter Nachsorge, evtl. auch die Einleitung einer adjuvanten Therapie. Im Stadium IV ist bei einmal positiven S100-Werten der Marker zum Monitoring des Therapieansprechens geeignet, auch wenn für endgültige Aussagen über die Zuverlässigkeit des Anzeigens der Krankheitsaktivität noch weitere Studien mit großen Fallzahlen von

unterschiedlichen Arbeitsgruppen abgewartet werden sollten [17, 29, 31, 35, 54]. Bemerkenswert erscheint, dass im Stadium IV die S100-Bestimmung keinen Vorteil gegenüber der wesentlich billigeren Bestimmung der LDH zu bieten scheint [17]. Auch die Frage, ob ein Stadienübergang in die Stadien III und IV eher angezeigt wird als durch andere Staginguntersuchungen, muss durch weitere Verlaufsbeobachtungen noch geklärt werden.

MIA

MIA wurde erstbeschrieben anlässlich des Versuches, zelleigene Proteine zu isolieren, die Melanomwachstum inhibierende Aktivität („*melanoma inhibitory activity*“) in Zellkultur zeigen [1, 8]. Nach Isolation und Sequenzierung der gesamten mRNA zeigte dieses neue Protein keine Homologie zu bisher bekannten Proteinen. In Melanozyten aus normaler Haut wird MIA nicht exprimiert, in gutartigen melanozytären Nävi findet sich eine schwache bis mittlere Expression. In der überwiegenden Zahl aller Melanome wird MIA exprimiert. Bei neoplastischen Geweben mit Ausnahme des malignen Melanoms lässt sich in einzelnen Karzinomen eine schwache Expression im Laufe der Tumorprogression nachweisen (Übersicht bei [12]). Weiterhin scheint MIA durch Behandlung mit Retinsäure in Chondrozyten exprimierbar zu sein [18]. Auch in Knorpelgewebe scheint die Expression im Laufe einer Tumorprogression anzusteigen, so konnte sie in einem Chondrosarkom der Maus nachgewiesen werden [10]. Die Bedeutung dieser Befunde ist aber letztlich unklar.

Aus der Arbeitsgruppe um Bosserhoff kommen auch die ersten Daten zur MIA-Expression bei Melanompatienten. Mithilfe eines nichtradioaktiven ELISA wurden die MIA-Serumspiegel von Patienten mit malignen Melanomen im Stadium I–IV bestimmt. Hierbei ergaben sich positive Werte bei 13% von 38 Patienten im Stadium I, bei 23% von 13 Patienten im Stadium II, bei 100% von 6 Patienten im Stadium III und bei 100% von 44 Patienten im Stadium IV. Darüber hinaus zeigten 16% von 25 Patienten mit Basaliomen leicht erhöhte MIA-Werte. Neun Patienten, bei denen benigne Nävi entfernt worden waren, waren negativ, bei einem Patienten mit multiplen Nävi zeigte sich ein positiver MIA-

Wert. Auch in 270 Serumproben von Patienten mit epithelialen und mesenchymalen Tumoren sowie Gliomen wurden, wenn auch in einem geringen Anteil, positive MIA-Werte nachgewiesen [10, 11]. Zumindest schwach positive MIA-Werte sind also nicht spezifisch für Patienten mit malignem Melanom, andererseits könnte sich dies durch Veränderung der „cut-off“-Werte des MIA-ELISAs möglicherweise beheben lassen.

Auch für die Verwendung von MIA als Verlaufsparameter in der Melanomnachsorge liegen erste Daten vor. Bosserhoff et al. [10, 11] berichten von 32 von 350 Patienten, deren MIA-Werte im Rahmen der halbjährlichen Nachsorge 6 Monate bis 5 Jahre nach Entfernung des Primärmelanoms bestimmt worden waren. Von diesen 32 Patienten zeigten sich bei 15 im Rahmen der Nachsorge gleichzeitig Melanommetastasen. Ein weiterer Patient entwickelte Metastasen 6 Monate nach der Erhebung des positiven MIA-Wertes. Die restlichen 16 Patienten zeigten bis dato keinen Hinweis auf Filialisierung. Bosserhoff et al. berichten 1 Jahr später, dass mittlerweile 17 Patienten eine Metastasierung entwickelt hätten [12]. Ob dieses Datenmaterial dahingehend interpretiert werden kann, dass MIA einen Beitrag zur Detektion von möglichen Metastasen im Rahmen der Melanomnachsorge leisten kann, muss bis zum Vorliegen größerer prospektiver Studien abgewartet werden. Einzelfallbeobachtungen weisen darauf hin, dass MIA-Werte zur Verlaufskontrolle von Patienten mit malignem Melanom im Stadium IV nützlich sein könnten. Mittlerweile konnte aber in einem größeren Kollektiv von 71 Patienten gezeigt werden, dass die Bestimmung von MIA wie auch von S100 keine Vorteile gegenüber der Bestimmung der LDH als Verlaufsmarker der metastasierten Melanomerkkrankung hat [17]. Diese Arbeit zeigt, dass die verheißungsvollen Anfangsdaten der MIA-Bestimmung als Verlaufsmarker beim malignen Melanom nicht zur Euphorie verleiten und stattdessen in großen, prospektiven Multicenterstudien auf Validität überprüft werden sollten.

Zusammenfassung

Alle 3 beschriebenen Marker, Tyrosinase, S100 und MIA, zeigen einen, mit dem vorliegenden Stadium der Melanomerkkrankung korrelierten Anstieg positiver

Patienten, weswegen sie als sog. Tumormarker vorgeschlagen wurden und evaluiert werden. Die bisher vorliegenden Daten können jedoch eine generelle Empfehlung zur Bestimmung im klinischen Alltag nicht rechtfertigen: Tyrosinase mRNA zeigt selbst im Stadium der manifesten Fernmetastasierung sowohl in Blut als auch in Knochenmark eine zu geringe Prävalenz. S100 und MIA können als Marker einer Progression des metastasierten Melanoms gelten. Ob sie hierbei aber konventionellen Markern, wie z. B. der LDH, überlegen sind, ist umstritten und muss durch weitere prospektive Studien überprüft werden.

Literatur

1. Apfel R, Lottspeich F, Hoppe J, Behl C, Durr G, Bogdahn U (1992) Purification and analysis of growth regulating proteins secreted by a human melanoma cell line. *Melanoma Res* 2:327–336
2. Barnhill R, Mihm M, Fitzpatrick T, Sober A (1993) Neoplasms: malignant melanoma. In: Fitzpatrick T, Eisen A, Wolff K, Freedberg I, Austen K (eds) *Dermatology in general medicine*, 4th edn. McGraw-Hill, New York, pp 1078–1115
3. Battayani Z, Xerri L, Hassoun J, Bonerandi J, Grob J (1993) Tyrosinase gene expression in human tissues. *Pigment Cell Res* 6:400–405
4. Battayani Z, Grob J, Xerri L et al. (1995) Polymerase chain reaction detection of circulating melanocytes as a prognostic marker in patients with melanoma. *Arch Dermatol* 10:887–889
5. Belli F, Lenisa L, Clemente C, Tragni G, Mascheroni L, Gallino G, Cascinelli N (1998) Sentinel node biopsy and selective dissection for melanoma nodal metastases. *Tumori* 84:24–28
6. Bernstam V (1992) *Handbook of gene level diagnostics in clinical practice*. CRC Press, Boca Raton, pp 400–408
7. Blaheta H, Schitteck B, Breuninger H et al. (1998) Lymph node micrometastases of cutaneous melanoma: increased sensitivity of molecular diagnosis in comparison to immunohistochemistry. *Int J Cancer* 79:318–323
8. Bogdahn U, Apfel R, Hahn M, Gerlach M, Behl C, Hoppe J, Martin R (1989) Autocrine tumor cell growth-inhibiting activities from human malignant melanoma. *Cancer Res* 49:5358–5363
9. Bonfrer J, Korse C, Nieweg O, Rankin E (1998) The luminescence immunoassay S-100: a sensitive test to measure circulating S-100B: its prognostic value in malignant melanoma. *Br J Cancer* 77:2210–2214
10. Bosserhoff A, Kondo S, Moser M et al. (1997) The mouse MIA/CD-RAP gene: structure, chromosomal location and expression in cartilage and chondrosarcoma. *Dev Dyn* 208:516–525
11. Bosserhoff A, Kaufmann M, Kaluzu B et al. (1997) Melanoma-inhibiting activity, a novel serum marker for progression of malignant melanoma. *Cancer Res* 57:3149–3153
12. Bosserhoff A, Golob M, Buettner R, Landthaler M, Hein R (1998) MIA. *Hautarzt* 49:762–769
13. Bröcker E, Bastian B, Dummer W (1997) Von der immunologischen zur molekularen Melanomdiagnostik. *Z Hautkrankh* 72:168–172
14. Brossart P, Keilholz U, Willhauck M, Scheibenbogen C, Möhler T, Hunstein W (1993) Hematogeneous spread of malignant melanoma cells in different stages of disease. *J Invest Dermatol* 10:887–889
15. Clapham D (1995) Calcium Signaling. *Cell* 80:259–268
16. Curry B, Myers K, Hersey P (1998) PCR detection of melanoma cells in the circulation: relation to clinical stage, surgical treatment, and recurrence from melanoma. *J Clin Oncol* 16:1760–1769
17. Deichmann M, Benner A, Bock M, Jäckel A, Uhl K, Waldmann V, Näher H (1999) S100, MIA and LDH discriminate progressive from non-progressive AJCC stage IV melanoma. *J Clin Oncol* 17:1891–1896
18. Dietz U, Sandell L (1996) Cloning of a retinoic acid-sensitive mRNA expressed in cartilage and during chondrogenesis. *J Biol Chem* 271:3311–3316
19. Farthmann B, Eberle J, Krasagakis K, Gstöttner M, Wang N, Bisson S, Orfanos C (1998) RT-PCR for tyrosinase-mRNA-positive cells in peripheral blood: evaluation strategy and correlation with known prognostic markers in 123 melanoma patients. *J Invest Dermatol* 110:263–267
20. Foss A, Guille M, Occlleston N, Hykin P, Hungerford J, Lightman S (1995) The detection of melanoma cells in peripheral blood by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Br J Cancer* 72:155–159
21. Funke I, Schraut W (1998) Meta-analyses of studies on bone marrow micrometastases: an independent prognostic impact remains to be substantiated. *J Clin Oncol* 16:55–66
22. Gao Y, Li G, Zhang X, Xu Q, Zheng B (1997) Detection of neuroblastoma cells in blood by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Chin Med J Engl* 110:341–345
23. Garbe C, Schaumburg-Lever G (1997) *Klinik und Histologie des malignen Melanoms*. In: Garbe C, Dummer R, Kaufmann R, Tilgen W (Hrsg) *Dermatologische Onkologie*. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, S 247–270
24. Gaynor R, Irie R, Morton D, Herschman H (1980) S100 protein is present in cultured human melanomas. *Nature* 286:400–401
25. Ghossein R, Coit D, Brennan M et al. (1998) Prognostic significance of peripheral blood and bone marrow tyrosinase mRNA in malignant melanoma. *Clin Cancer Res* 4:419–428
26. Gläser R, Rass K, Seiter S, Hauschild A, Christophers E, Tilgen W (1997) Detection of circulating melanoma cells by specific amplification of tyrosinase complementary DNA is not a reliable tumor marker in melanoma patients: a clinical two-center study. *J Clin Oncol* 15:2818–2825
27. Gläser R (1997) Tumormarker des malignen Melanoms. In: Garbe C, Dummer R, Kaufmann R, Tilgen W (Hrsg) *Dermatologische Onkologie*. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, S 247–270
28. Goydos J, Ravikumar T, Germino F, Yudd A, Bancila E (1998) Minimally invasive staging of patients with melanoma: sentinel lymphadenectomy and detection of the melanoma-specific proteins MART-1 and tyrosinase by reverse transcriptase PCR. *J Am Coll Surg* 187:182–190
29. Guo H, Stoffel-Wagner B, Bierwirth T, Mezger J, Klingmüller D (1995) Clinical significance of serum S100 in metastatic malignant melanoma. *Eur J Cancer* 31:1898–1902
30. Hatta N, Takata M, Takehara K, Ohara K (1998) PCR and immunohistochemistry frequently detect occult melanoma cells in regional lymph nodes of melanoma patients. *J Clin Pathol* 51:597–601
31. Hauschild A, Engel G, Brenner W, Gläser R, Mönig H, Henze E, Christophers E (1999) Predictive value of serum S100B for monitoring patients during chemotherapy and/or immunotherapy. *Br J Dermatol* 140:1065–1071
32. Hauschild A, Michaelsen J, Brenner W, Rudolph P, Glaser R, Henze E, Christophers E (1999) Prognostic significance of serum S100B detection compared with routine blood parameters in advanced metastatic melanoma patients. *Melanoma Res* 9:155–161
33. Hauschild A, Engel G, Brenner W, Glaser R, Mönig H, Henze E, Christophers E (1999) S100B protein detection in serum is a significant prognostic factor in metastatic melanoma. *Oncology* 56:338–344
34. Heimdal K, Hannisdal E, Gundersen S (1989) Regression analysis of prognostic factors in metastatic malignant melanoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 25:1219–1223
35. Henze G, Dummer R, Joller-Jemelka H, Boni R, Burg G (1997) Serum S100, a marker for disease monitoring in metastatic melanoma. *Dermatology* 194:208–212
36. Hoon D, Wang Y, Dale P et al. (1995) Detection of occult melanoma cells in blood with a multiple-marker polymerase chain reaction assay. *J Clin Oncol* 13:2109–2116
37. Jäckel A, Deichmann M, Waldmann V, Bock M, Näher H (1999) S100beta Protein im Serum als Tumormarker beim malignen Melanom – Aktueller Kenntnisstand und klinische Erfahrungen. *Hautarzt* 50:250–256

38. Jung F, Buzaid A, Woods K, Ross M, Grimm E (1996) Detection of melanoma cells in peripheral blood using reverse transcription polymerase chain reaction assay for tyrosinase mRNA. In: Leigh I, Newton Bishop J, Kripke M (eds) *Skin Cancer*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, pp 251–265
39. Karnell R, Schoultz E, Hansson L, Nilsson B, Arstrand K, Kagedal B (1997) S100B protein, 5-S-cysteinyldopa and 6-hydroxy-5-methoxyindole-2-carboxylic acid as biochemical markers for survival prognosis in patients with malignant melanoma. *Melanoma Res* 7:393–399
40. Keilholz U, Scheibenbogen C, Sommer M, Pritsch M, Geuke A (1996) Prognostic factors for response and survival in patients with metastatic melanoma receiving immunotherapy. *Melanoma Res* 6:173–178
41. Kunter U, Buer J, Probst M et al. (1996) Peripheral blood tyrosinase mRNA detection and survival in malignant melanoma. *J Natl Cancer Inst* 88:590–594
42. Mellado B, Colomer D, Castel T et al. (1996) Detection of circulating neoplastic cells by reverse-transcriptase polymerase chain reaction in malignant melanoma: association with clinical stage and prognosis. *J Clin Oncol* 14:2091–2097
43. Nakajima T, Sato Y, Watanabe S (1982) Immunoelectron microscopical demonstration of S100 protein in epidermal Langerhans cells. *Biomed Res* 3:226–231
44. Pantel K, Riethmüller G (1996) Micrometastasis detection and treatment with monoclonal antibodies. In: Günthert U, Schlag P, Birchmeier W (eds) *Attempts to understand metastasis formation, III*. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, pp 1–21
45. Pantel K, Knebel Doeberitz von M, Izbicki J, Riethmüller G (1997) Disseminierte Tumorzellen: Diagnostik, prognostische Relevanz, Phänotypisierung und therapeutische Strategien. *Chirurg* 68:1241–1250
46. Probst-Kepper M, Schrader A, Buer J et al. (1997) Detection of melanoma cells in peripheral blood stem cell harvests of patients with progressive metastatic malignant melanoma. *Br J Hematol* 98:488–490
47. Rankin E (1996) Detection of early micrometastases in malignant melanoma. *Eur J Cancer* 32A:1627–1629
48. Reinhold U, Lüdtker-Handjery H, Schnautz S, Kreysel H, Abken H (1997) The analysis of tyrosinase-specific mRNA in blood samples of melanoma patients by RT-PCR is not a useful test for metastatic tumor progression. *J Invest Dermatol* 108:166–169
49. Reinhold U (1998) Möglichkeiten der labormedizinischen Frühdiagnostik einer Tumorphase. In: Garbe C, Rassner G (Hrsg) *Dermatologie*. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, S 267–270
50. Sardi I, Moretti S, Ponchiotti R, Arriguicci S, Guazzelli R, Montali E (1999) The role of the detection of hematogenous micrometastasis in prostate adenocarcinoma and malignant melanoma by RT-PCR. *Int J Mol Med* 3:417–419
51. Schlimok G, Funke I, Holzmann B et al. (1987) Micrometastatic cancer cells in bone marrow: in vitro detection with anti-cytokeratin and in vivo labeling with anti-17-1A monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:8672–8676
52. Schoultz E, Hansson L, Djureen E et al. (1996) Prognostic value of serum analyses of S-100 beta protein in malignant melanoma. *Melanoma Res* 6:133–137
53. Schultz E, Diepgen T, Driesch P (1997) Clinical and prognostic relevance of serum S100B protein in malignant melanoma. *Br J Dermatol* 138:426–430
54. Seregini E, Massaron S, Martinetti A et al. (1998) S100 protein serum levels in cutaneous malignant melanoma. *Oncol Rep* 5:601–604
55. Sirott M, Bajorin D, Wong G, Tao Y, Tempelton M, Houghton A (1993) Prognostic factors in patients with metastatic malignant melanoma. A multivariate analysis. *Cancer* 72:3091–3099
56. Smith B, Selby P, Southgate J, Pittman K, Bradley C, Blair G (1991) Detection of melanoma cells in peripheral blood by means of reverse transcriptase and polymerase chain reaction. *Lancet* 338:1227–1229
57. Tilgen W, Uhl K, Bröcker E (1997) Palliative Therapie des malignen Melanoms. In: Garbe C, Dummer R, Kaufmann R, Tilgen W (Hrsg) *Dermatologische Onkologie*. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, S 247–270
58. Voit C, Schoengen A, Weber L, Proebstle T (1998) Identification of melanoma metastases by tyrosinase-reverse transcription-polymerase chain reaction of fine needle aspirates. *J Am Acad Dermatol* 39:1030–1032
59. Waldmann V, Deichmann M, Bock M, Jäckel A, Näher H (1999) Detection of tyrosinase-specific mRNA in bone marrow is not a more sensitive marker for micrometastatic melanoma disease compared to blood. *Br J Dermatol* 140:1060–1064
60. Wittekind C, Tannapfel A (1996) Die Entstehung von Metastasen und ihre Klassifikation. *Strahlenther Onkol* 172:287–294