

Wertigkeit des Leukozyten-Migrations-Inhibitionstests (LMI-Test) bei der Verlaufsbeobachtung von Patientinnen mit Mammakarzinom

Clinical Relevance of Leucocyte Migration Inhibition Test (LMI-Test) in the Follow-up of Breast Cancer Patients

P. Mallmann¹, D. Krebs¹, G. Fimmers²

¹ Universitäts-Frauenklinik, 5300 Bonn-Venusberg

² Institut für Medizinische Statistik der Universität, 5300 Bonn-Venusberg

Zusammenfassung:

Es liegen eine Vielzahl von Untersuchungen zur klinischen und prognostischen Bedeutung von Parametern der zellvermittelten Immunität bei Mammakarzinompatienten vor, deren Ergebnisse allerdings widersprüchlich sind. Es wurde im Rahmen einer prospektiven Studie bei 123 Patientinnen mit nichtmetastasiertem Mammakarzinom postoperativ und in regelmäßigen Abständen im Rahmen der Nachsorge bis maximal 108 Monate nach Primärtherapie (mittlere Beobachtungsdauer 73 Monate) der Leukozyten-Migrations-Inhibitionstest (LMI-Test) gegen autologes und homologes Tumorgewebe sowie gegen Tuberkulin und Streptokinase durchgeführt und die Ergebnisse mit der Ausbreitung und dem klinischen Verlauf der Erkrankung korreliert.

Es konnte bei 48 % aller untersuchten Patienten eine zellvermittelte Reaktion im LMI-Test gegen autologes und homologes Tumorgewebe nachgewiesen werden, während 18 % aller Patienten mit einer beschleunigten Migration reagierten. Es konnte bezüglich der LMI-Reaktivität kein signifikanter Unterschied zwischen nodal-negativen und -positiven Patienten gefunden werden, jedoch bestand eine Korrelation mit dem klinischen Verlauf der Erkrankung derart, daß Patienten mit ungünstigem klinischen Verlauf bereits bei der ersten Untersuchung im Rahmen der Primärtherapie signifikant häufiger mit einer Migrationsbeschleunigung und seltener mit einer Migrationshemmung reagierten als Patienten ohne Rezidiv. Hingegen war eine Reaktivität im LMI-Test gegen Tuberkulin bzw. Streptokinase/-dornase unabhängig vom klinischen Verlauf bei der Mehrzahl der Patienten nachweisbar.

Es kann somit bei Mammakarzinompatienten eine zellvermittelte Immunität im LMI-Test gegen Tumorgewebe nachgewiesen und mit dem klinischen Verlauf der Erkrankung korreliert werden. Möglicherweise ist dieser Test gemeinsam mit anderen Parametern zur Definition von Risikogruppen geeignet.

Schlüsselwörter:

Leukozyten-Migrations-Inhibitions-Test – Mammakarzinom – Prognose

Summary:

Up to now the results concerning a prognostic relevance of parameters of cell-mediated immunity in breast cancer patients are very contradictory. In a prospective study in 123 patients with nonmetastatic breast carcinoma leucocyte migration inhibition test (LMI-Test) against tumor tissue and recall antigens was performed. The results correlate with the spread and the clinical course of the disease up to max 108 months. In 48 % of all breast cancer patients examined a cell-mediated immunological reaction in the LMI test against tumor tissue could be demonstrated. There was no difference concerning the LMI reactivity between both groups of lymphnode negative and positive patients. Nevertheless the prognostic significance was such that patients with an unfavourable clinical course respond more frequently with enhanced macrophage migration and more rarely with a migration inhibition. On the other hand LMI reactivity against recall antigens did not reveal any prognostic significance. According to these results the determination of delayed type hypersensitivity reaction against tumor tissue in the LMI-test could possibly be of clinical value for risk assessment.

Keywords:

Leucocyte Migration Inhibition Test – Breast Cancer – Prognosis

Einleitung

Es werden beim primären Mammakarzinom eine Reihe von Faktoren diskutiert, die im Zusammenhang mit dem klinischen Verlauf der Erkrankung als Prognosefaktoren verwendet werden. Hierzu gehören neben dem Tumorstadium und der Ausbreitung der Erkrankung (10, 18) der Menopausenstatus der Patientin (13) und insbesondere der Rezeptorstatus (5, 15) und der Proliferations-Index des Tumors (18). Es wurden weitergehend auch eine Reihe immunologischer Parameter bezüglich ihrer klinischen und prognostischen Bedeutung überprüft. Während eine prognostische Relevanz der peritumorösen mononukleären Infiltrate sowie der reaktiven Veränderungen regionaler drainierender Lymphknoten als morphologische Zeichen einer immunologischen Auseinandersetzung zwischen Tumor und Tumorträger nahegelegt wird (4), sind die Ergebnisse zur prognostischen Bedeutung von Parametern der zellvermittelten Immunität sehr widersprüchlich. Während in einigen Arbeiten eine klinische Relevanz dieser Parameter nahegelegt wird (1, 2, 4, 7, 8, 9, 12, 19, 20, 24, 28), wird diese von anderen Autoren abgelehnt (9, 14, 26, 27).

Es wurde daher im Rahmen einer prospektiven Studie der Nachweis einer zellvermittelten Reaktion im LMI-Test mit der Ausbreitung des Tumors korreliert und durch engmaschige Nachsorgeuntersuchungen bezüglich seiner prognostischen Bedeutung analysiert.

Patientinnen und Methoden

Es wurden 123 Patientinnen mit nichtmetastasiertem Mammakarzinom in die Studie aufgenommen, die von 1978 bis 1984 in der Universitäts-Frauenklinik Bonn primär therapiert und mindestens 60 Monate im Rahmen der Nachsorge regelmäßig überwacht wurden, wobei der Medianwert der Beobachtungsdauer 79 (57 bis 108) Monate war. Eine Übersicht der untersuchten Patientinnen zeigt Tab. 1. Alle wurden nach histologischer Sicherung der Diagnose einer modifiziert radikalen Mastektomie unter Einschluß der Pectoralisfaszie und gleichzeitiger axillärer Lymphonodektomie bis zum Unterrand der Vena axillaris unterzogen. Alle lymphknotenpositiven Patientinnen erhielten eine adjuvante Chemotherapie, 12 Patientinnen erhielten zusätzlich eine Telekobalt-Bestrahlung.

Der LMI-Test wurde am 10. bis 14. postoperativen Tag nach Abklingen etwaiger immunologischer Effekte von Narkose und operativem Trauma und vor Beginn einer

adjuvanten Chemo- oder Radiotherapie sowie in 3-12monatigen Abständen im Rahmen der Nachsorge bis maximal 108 Monate nach der Primärtherapie durchgeführt.

Die Patientinnen wurden entsprechend des klinischen Verlaufes in zwei Gruppen unterteilt, Patientinnen mit rezidivfreiem Verlauf (Gruppe A) und solchen, bei denen im Beobachtungszeitraum eine Metastasierung auftrat und/oder die an ihrer Tumorerkrankung verstarben (Gruppe B). Beide Gruppen waren bezüglich Stadieneinteilung, Alter, Menopausenstatus, Komorbidität vergleichbar (Tab. 1).

Leukozyten-Migrations-Inhibitions-Test (LMI-Test)

Die Durchführung des LMI-Tests erfolgte nach der Methode von Black et al. (4, 11, 23).

Aus 40 ml Heparinblut wurden nach Lyse der Erythrozyten die Lymphozyten und Indikatorzellen (Makrophagen und Leukozyten) in einer Konzentration von $1,4 \times 10^8$ Zellen/ml in Kapillaren gefüllt und in Sykes-Moore-Kammern, bestehend aus zwei runden Deckgläsern, die über einen Stahlring miteinander verschraubt werden, eingesetzt. Als Antigen diente histologisch definiertes und quantifiziertes autologes Gewebe der Tumorträgerin. Zur Beurteilung der in vitro nachweisbaren zellulären Immunität gegen ubiquitäre Antigene wurde weiterhin Tuberkulin (Behringwerke, Marburg) und Streptokinase/Streptodornase (Cyanamid, Wolftratshausen) eingesetzt. Das Tumorgewebe wurde als Eluat in einem Nährmedium (RPMI 1640, Flow Laboratories, Meckenheim) nach der Methode von McCoy et al. (23) unter Zusatz von 20% fetalem Kälberserum, 2mmol/l L-Glutamin (Flow) und 100 IE/ml Penicillin und 0,1 g/l Streptomycin (Seromed, Berlin) präpariert und in den Zellkulturkammern eingesetzt. Die Standardisierung der Antigenkonzentration erfolgte über die Bestimmung der im Medium gelösten Proteinkonzentration. Als Kontrollen dienten Kammern mit Medium ohne Antigenzusatz. Nach 18 Stunden Inkubation bei 37° Celsius, 5% Kohlendioxid und Feuchtigkeit wurden die entstandenen Migrationshöfe planimetrisch vermessen und aus den Mittelwerten eines Dreifachansatzes je Antigen der Migrationsindex durch Vergleich mit der antigenfreien Kontrolle berechnet. Eine Reaktion wurde dann als positiv gewertet, wenn sich der Migrationsindex um mehr als die doppelte Standardabweichung im Student T-Test von der Kontrolle unterschied. Es konnten hierbei prinzipiell zwei Reaktionsformen unterschieden werden, eine Hemmung sowie eine Beschleunigung der Makrophagenmigration.

Statistische Auswertung

Der Vergleich der Überlebenszeiten und der rezidivfreien Intervalle zwischen den jeweiligen Gruppen erfolgte durch den Wilcoxon-Rank-Test, die Darstellung der Überlebenswahrscheinlichkeiten und des rezidivfreien Intervalls in Form von Kaplan-Meier-Kurven (17). Der Vergleich der Reaktivitäten erfolgte durch Chi-Quadrat-Test.

Ergebnisse

1. Präzision des LMI-Tests zum Nachweis einer Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ

Zur Überprüfung der Präzision des LMI-Tests zum Nachweis einer Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ wurde bei 10 gesunden Probandinnen die Reakti-

Tab. 1: Übersicht über die Tumorausbreitung und den klinischen Verlauf der untersuchten Patientinnen

	Gruppe A	Gruppe B
n =	70	53
Alter	59,4 Jahre	58,3 Jahre
prämenopausal	28 (40%)	18 (34%)
postmenopausal	42 (60%)	35 (66%)
Tumorgröße		
T1 und 2	17 (24,3%)	10 (18,9%)
T3 und 4	53 (75,7%)	43 (81,1%)
Lymphknotenstatus:		
- N0	37 (52,8%)	16 (30,2%)
- N1	25 (35,7%)	20 (37,7%)
- N2 und 3	8 (11,5%)	17 (32,1%)
Verstorben:	0	29 (54,7%)
davon nodalnegativ		5 (17,2%)
nodalpositiv		24 (82,8%)

vität gegen Tuberkulin in vivo mittels Hauttest und in vitro mittels LMI-Test untersucht und verglichen. Bei 5 von 10 Probandinnen war eine Hautreaktion mit einem Durchmesser von mehr als 2 mm gegen Tuberkulin nachweisbar, alle Probandinnen mit positiver Hautreaktion zeigten auch eine signifikante Migrationshemmung im LMI-Test. Bei den 5 Probandinnen mit negativem Hauttest gegen Tuberkulin war auch in vitro keine signifikante Reaktion im LMI-Test nachweisbar, es bestand jedoch keine Korrelation zwischen dem Durchmesser der Hautreaktion und dem Ausmaß der Migrationshemmung im LMI-Test.

2. LMI-Reaktivität zum Zeitpunkt der Primärtherapie

Bei der ersten Untersuchung 10 Tage nach der Primärtherapie konnte bei 48% aller untersuchten Mammakarzinompatientinnen eine zellvermittelte immunologische Reaktion im LMI-Test gegen autologes Tumorgewebe im Sinne einer gehemmten Makrophagenmigration nachgewiesen werden, während 18% aller Patientinnen mit einer beschleunigten Migration reagierten und 36% der Patientinnen keine signifikante Reaktion zeigten. In der Gruppe der lymphknotennegativen Patientinnen war der Anteil der immunologisch reaktiven Patientinnen leicht, wenn auch nicht statistisch verifizierbar erhöht, der Anteil der mit einer beschleunigten Makrophagenmigration reagierenden Patientinnen war in beiden klinischen Gruppen ungefähr gleich (Abb. 1).

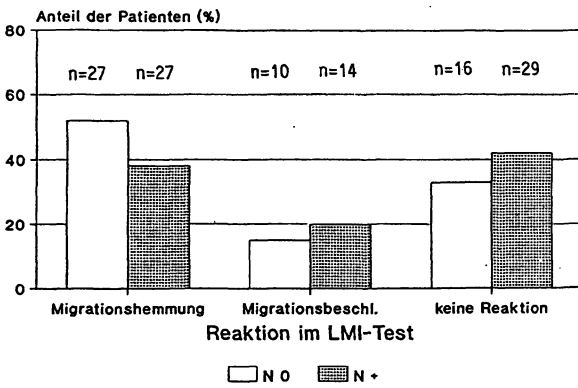


Abb. 1: Vergleich der Reaktivität im LMI-Test gegen autologes Tumorgewebe zwischen nodalnegativen und nodalpositiven Mammakarzinompatientinnen.

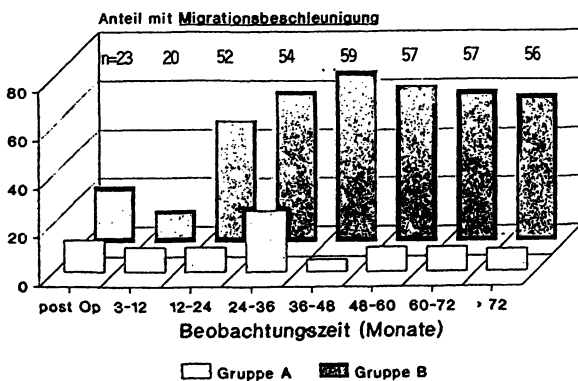


Abb. 3: Vergleich des Anteils der Patientinnen mit Migrationsbeschleunigung im LMI-Test gegen autologes Tumorgewebe zwischen Gruppe A (rezidivfreier Verlauf) und Gruppe B (Aufreten von Metastasen).

3. Korrelation der LMI-Reaktivität mit dem klinischen Verlauf

Bei dem ersten Test 10–14 Tage postoperativ reagierten 50% der Patientinnen der Gruppe A und 41% der Gruppe B mit einer Migrationshemmung, 13% der Patientinnen der Gruppe A und 23% der Gruppe B reagierten mit einer beschleunigten Migration. Der Anteil der mit einer Migrationshemmung reagierenden Patienten nahm in Gruppe A von 50% auf 33%, in Gruppe B noch stärker von 41% auf 17% ab (Abb. 2). Während der Anteil der mit einer Migrationsbeschleunigung reagierenden Patientinnen in Gruppe A ungefähr gleich blieb, nahm dieser Anteil der Patientinnen in Gruppe B von 23% auf 60% zu ($p < 0.05$) (Abb. 3).

Der Reaktivität im LMI-Test bei der ersten postoperativen Untersuchung konnte eine prognostische Bedeutung derart zugeordnet werden, daß bei Patienten, die zu diesem Zeitpunkt mit einer Migrationshemmung gegen autologes Tumorgewebe reagieren, sowohl das rezidivfreie Intervall ($p < 0.05$) (Abb. 4) als auch die Überlebenszeit (Abb. 5) signifikant im Vergleich zu Patienten mit einer Migrationsbeschleunigung verlängert war ($p < 0.05$).

4. LMI-Reaktivität gegen ubiquitäre Antigene

Bei der Mehrzahl der untersuchten Patienten konnte eine zellvermittelte Immunität vom verzögerten Typ im LMI-Test gegen die Antigene Tuberkulin und Streptokinase/

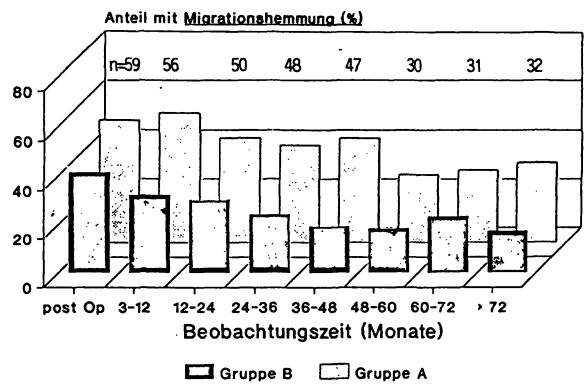


Abb. 2: Vergleich des Anteils der Patientinnen mit Migrationshemmung im LMI-Test gegen autologes Tumorgewebe zwischen Gruppe A (rezidivfreier Verlauf) und Gruppe B (Aufreten von Metastasen).

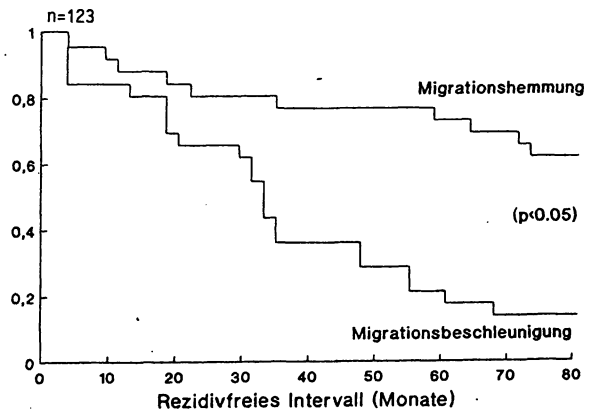


Abb. 4: Wahrscheinlichkeit des rezidivfreien Verlaufs in Abhängigkeit von der Reaktivität im LMI-Test gegen autologes Tumorgewebe zum Zeitpunkt der Primärtherapie.

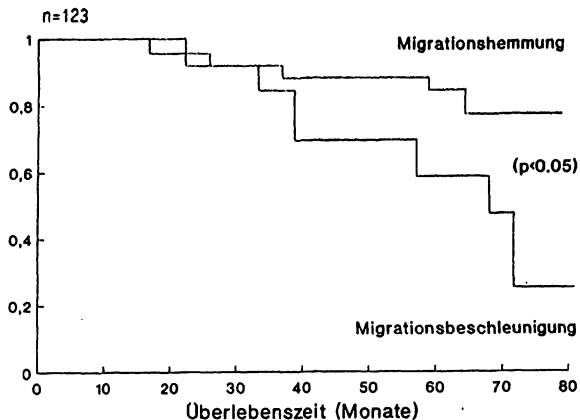


Abb. 5: Überlebenswahrscheinlichkeiten in Abhängigkeit von der Reaktivität im LMI-Test gegen autologes Tumorgewebe zum Zeitpunkt der Primärtherapie.

dornase nachgewiesen werden, wobei 73% mit einer Hemmung und 4% mit einer beschleunigten Makrophagenmigration reagierten. Die beiden nach dem klinischen Verlauf differenzierten Gruppen A und B unterschieden sich bezüglich der Reaktivität gegenüber diesen Antigenen nicht, die auch im gesamten Beobachtungszeitraum keine wesentlichen Veränderungen zeigte (Abb. 6).

Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß der LMI-Test als In-vitro-Korrelat einer Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ angesehen werden kann, weiterhin, daß mit Hilfe dieses Tests bei Mammakarzinompatientinnen eine zellvermittelte Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ gegen autologes und homologes Tumorgewebe in vitro nachgewiesen und als Migrationshemmung bzw. Beschleunigung der Migration differenziert werden kann. Die Migrationsinhibition kann dabei auf eine spezifische Lymphokinsekretion von sensibilisierten Lymphozyten zurückgeführt werden (23). Bei Verwendung von Tumorgewebsschnitten kann über die Art des induzierenden Antigens zwar keine Aussage gemacht, jedoch aufgrund der kurzen Inkubationszeit eine Reaktivität gegen Histokompatibilitätsantigene ausgeschlossen werden (26). Auch die hier beobachtete beschleunigte Migration konnte als spezifische immunologische Reaktion nachgewiesen werden (6), die nach den Untersuchungen von Gleicher et al. (11) möglicherweise auf eine gesteigerte Induktion einer Lymphozytensubpopulation mit Suppressorfunktion zurückgeführt werden kann.

Die klinische Relevanz einer im LMI-Test nachweisbaren Reaktion gegen Tumorgewebe wird in der Literatur sehr unterschiedlich beurteilt. Während einige Autoren von einem verminderten Anteil von Patienten mit Migrationshemmung bei fortgeschrittener Erkrankung berichten (4), wird eine Korrelation von Tumorausbreitung und LMI-Reaktivität in anderen Arbeiten abgelehnt (22, 23, 27) und in früheren Untersuchungen auch von uns nicht gefunden (21). Auch der Lymphknotenstatus, der allgemein als der wichtigste Prognosefaktor des Mammakarzinoms angesehen wird (25), zeigte in unseren Untersuchungen keine statistisch zu sichernde Korrelation mit der LMI-Reaktivität. In beiden Gruppen der lymphknotennegativen und -positiven Patientinnen war der Anteil der immunologisch reaktiven Patienten gleich.

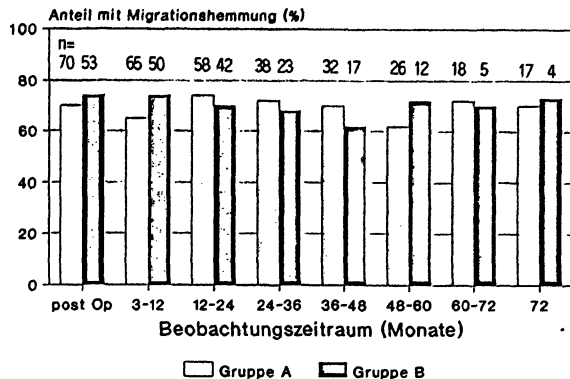


Abb. 6: Vergleich der Reaktivität im LMI-Test gegen Tuberkulin bzw. Streptokinase/dornase zwischen Patientinnen der Gruppe A (rezidivfreier Verlauf) und Gruppe B (Aufreten von Metastasen).

Der unterschiedlichen Reaktionsform im LMI-Test konnte in den vorliegenden Untersuchungen bei Mammakarzinompatientinnen eine prognostische Bedeutung derart zugesprochen werden, daß Patienten mit ungünstigem klinischen Verlauf im Sinne des Auftretens von Metastasen und Rezidiven bei der primären Untersuchung vor Durchführung von Chemotherapie und Bestrahlung seltener mit einer Migrationshemmung und häufiger mit einer beschleunigten Makrophagenmigration im LMI-Test reagierten. Dabei kommt weitergehend insbesondere dem In-vitro-Nachweis einer Migrationsbeschleunigung eine besondere prognostische Bedeutung zu, da wir diese Reaktionsform vermehrt bei Patienten, die später an ihrer Tumorerkrankung verstarben, beobachteten. Auch Gleicher et al. (11) fanden bei 18 gynäkologischen Tumorpatientinnen mit progredientem Krankheitsverlauf in 15 Fällen einen Migrationsbeschleunigung und führten diese Beobachtung auf eine durch progredientes Tumorstadium induzierte vermehrte Produktion tumorassoziierter Antigene und entsprechender zirkulierender Immunkomplexe zurück.

Es wurde die Reaktionsform, insbesondere das Auftreten einer Migrationsbeschleunigung im LMI-Test mit dem Verhalten der Tumormarker CEA und Ca 15-3 korreliert und dabei festgestellt, daß bei erhöhten Ca 15-3-, jedoch nicht CEA-Werten im Serum, vermehrt eine Migrationsbeschleunigung beobachtet wurde. Die Einzelfallanalyse zeigt jedoch, daß der Anstieg des Ca 15-3-Wertes bei Patientinnen mit dem Auftreten von Metastasen durchschnittlich 3,6 Monate vor dem Auftreten einer Migrationsbeschleunigung im LMI-Test erfolgte. Hingegen kann Parametern der allgemeinen Immunkompetenz, wie beispielsweise die im Rahmen dieser Untersuchung überprüfte Reaktionsfähigkeit gegen Tuberkulin und Streptokinase/dornase, keine prognostische Bedeutung zugemessen werden, da nahezu alle untersuchten Patientinnen, auch jene mit Rezidiven, im gesamten Beobachtungszeitraum eine inaktive Reaktionsfähigkeit im LMI-Test zeigten. Die diesbezüglich vorliegenden Berichte in der Literatur sind recht widersprüchlich. Während Adler et al. (1) bei Patientinnen mit operiertem Mammakarzinom eine Korrelation zwischen Hautreaktion gegen PPD und DNCB sowie mitogener Lymphozytenstimulation und Überlebenszeit fanden und diese Ergebnisse z. T. auch in anderen Arbeiten bestätigt wurden (7, 19, 27, 28), wird diese von Baral et al. (2) und Hasin et al. (14) abgelehnt.

Die prognostische Bedeutung des Wechsels der immunologischen Reaktionsfähigkeit im Verlauf der Erkrankung von gehemmter zu beschleunigter Makrophagenmigration kann nicht endgültig beurteilt werden, da hier die immunologischen Effekte von Chemo- und Hormontherapie bzw. Bestrahlung berücksichtigt werden müssen, die bei metastasierender Erkrankung natürlich ungleich häufiger angewendet werden.

Inwieweit mit Hilfe des LMI-Testes nur die allgemeine Immunkompetenz im Sinne einer Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ oder aber eine zellvermittelte Immunität gegenüber einem spezifischen, möglicherweise sogar tumorasoziierten Antigen und somit sowohl die Antigenität eines Tumors als auch das Vorhandensein spezifisch sensibilisierter Lymphozyten überprüft wird, kann verständlicher Weise anhand der vorliegenden Untersuchung nicht beurteilt werden. Nach diesen Ergebnissen scheint jedoch bei bestimmten Fragestellungen die Überprüfung der Reaktivität im LMI-Test gegenüber dem jeweiligen Tumorgewebe zur Definition von Risikogruppen berechtigt.

Schrifttum:

- ADLER, A., STEIN, J. A., BEN-EFRAIM, S.: Immuno-competence, immunosuppression and human breast cancer. II. Further evidence of initial immune impairment by integrated assessment effect of nodalinvolvement (N) and of primary tumor size (T). *Cancer* 45, 2061 (1980).
- BARAL, E., BLOMGREN, H., PETRINI, B., WASSERMANN, J., OGENSTAD, S., SILFVERSWÄRD, C.: Prognostic relevance of immunologic variables in breast carcinoma. *Act. Rad. Ther. Phys. Biol.* 16, (5), 417 (1977).
- BLACK, M. M., BARCLEY, T. H. C., HANKEY, B. F.: Prognosis in breast cancer utilizing histologic characteristics of the primary tumor. *Cancer* 36, 2048 (1975).
- BLACK, M. M., LEIS, H. P., SHORE, B., ZÄCHRAU, R. E.: Cellular hypersensitivity to breast cancer assessment by leucocyte migration procedure. *Cancer* 33, 952 (1974).
- BLAMEY, R. W., BISHOP, H. M., BLADE, J. R. S., DOYLE, P. J., ELSTON, C. W., HAYLITTLE, J. L., NICOLSON, R. J., GRIFFITHS, K.: Relationship between primary breast tumoreceptor status and patient survival. *Cancer* 46, 2765 (1980).
- BURMEISTER, F., WADLO, G. Z., MICHELS, E., BRÖCKER, E. B., SORG, E.: Use of a monoclonal antibody for the detection of isolated cells and tissues. Fourth International lymphokine workshop molecular and cellular biology of lymphokines, Schloß Elman, 17.-21. Oktober 1984.
- EILBER, F. R., MORTON, D. L.: Impaired immunologic reactivity and recurrence following cancer surgery. *Cancer* 23, 362 (1970).
- EILBER, F. R., NIZZA, J. A., MORTON, D. L.: Sequential evaluation of general immune competence in cancer patients and their correlation with clinical course. *Cancer* 35, 680 (1975).
- EVANS, R.: Evidence for and against a beneficial role of tumor-associated immunity. In: HASKILL, S. (ed.) *Tumor immunity in prognosis. The role of mononuclear cell infiltration.* Delderi, New York-Basel (1982).
- FISHER, B., SLACK, N. H., BROSS, I. D. J.: Cancer of the breast: Size of the neoplasm and prognosis. *Cancer* 24, 1071 (1969).
- GLEICHER, N., BEERS, P., COHEN, C. J., KERENGI, T. D., GUSBRY, S. B.: Leucocyte migration enhancement as an indicator of immunologic enhancement. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 136, 1 (1980).
- HACENE, K., DESPLACES, A.: Competitive prognostic value of clinicopathologic and bioimmunologic factors in primary breast cancer. *Cancer* 57, 245 (1986).

- HARRIS, J. R., HENDERSON, I. G.: Natural history and staging of breast cancer. In: *Breast diseases*, hrsg. von HARRIS, J. R., HELLMAN, S., HENDERSON, I. G., KINNE, D. Lippincott, Philadelphia (1987).
- HASIN, N.: Immune status in patients cured of breast and gynecologic cancer. *Clin. Oncol.* 7, 141 (1981).
- HILF, R., FELDSTEIN, M. C., GIBSON, S. L., SAVLOW, E. D.: The relative importance of Estrogen Receptor Analysis as a prognostic factor for Recurrence or Response to Chemotherapy in Women with Breast Cancer. *Cancer* 45, 1993 (1980).
- KAPLAN, E. L., MEIER, P.: Nonparametric estimation from incomplete observations. *J. Am. Statist. Ass.* 53, 457 (1958).
- KAUFMANN, M., KLINGA, K.: Mögliche prognostische Kriterien zur Therapieverbesserung beim primären Mammakarzinom. *Geburtsh. u. Frauenheilk.* 42, 501-509 (1982).
- KAUFMANN, M., KLINGA, K., KÜHN, W., ABEL, U.: Proliferations-Index, axillärer Lymphknotenstatus, Hormonrezeptoren und Alter als Prognosefaktoren beim primären Mammakarzinom. *Geburtsh. u. Frauenheilk.* 49, 104-108 (1989).
- KROWN, S. E., PINSKY, C. M., WANEBO, H. J., BROWN, D. M., WONG, P. P., DETTGEN, H. F.: Immunologic reactivity and prognosis in breast cancer. *Cancer* 46, 1746 (1980).
- LEE, Y. T. N., LEE, M.: Delayed cutaneous hypersensitivity, lymphocyte count, blood tests in patients with breast cancer. *J. Surg. Oncol.* 27, 135-140 (1984).
- MALLMANN, P., KOENIG, U. D.: Tumor-associated cellular and humoral immune reactions and staging according to the TNM classification in breast cancer patients. *J. Cancer Detect. Prevent* 10, 37 (1986).
- McCOY, J. L., DEAN, J. H., CANNON, G. B.: Detection of cell-mediated immunity against tumor-associated antigens. In: WYBRAN (ed.), *Clinical tumor immunology.* Pergamon Press, New York.
- McCOY, J. L., JEROME, L. F., DEAN, J. H., CANNON, G. B., CONNOR, R. J., HERBERMAN, R. B.: Direct capillary tube leucocyte migration inhibition. Assay for detection of cell-mediated immunity to human tumor-associated antigen method 57. In: BLOOD, DAVID (eds.), *In vitro methods in cell-mediated and tumor immunity.* AP, New York-San Francisco-London (1976).
- NEMOTO, T., HAN, T., MINOWADA, J., ANGKUR, V.: Cell-mediated immune status of breast cancer patients: evaluation by skin test, lymphocyte stimulation and counts of rosette-forming cells. *JNCI* 53, 641 (1974).
- NEMOTO, T., VANA, J., BEDWANI, R. N., BAKER, H. W., MCGREGOR, E. H., MURPHY, G. P.: Management and survival of female breast cancer: Results of a national survey by the american college of surgeons. *Cancer* 45, 2917 (1980).
- SZIGETI, R.: Application of migration inhibition techniques in tumor immunity. *Adv. Cancer Res.* 43, 241 (1985).
- WANEBO, H. J., ROSEN, P. P., VITHALER, T. Z., URBAN, J. A., OETTGEN, H. F.: Immunobiology of operable breast cancer, an assessment of biologic risk by immunoparameters. *Ann. Surg.* 184, (3), 258 (1976).
- YAMAMURA, J., FUDENBERG, A. H.: Relationship between general immunological status and prognosis. In: HASKILL, S. (ed), *Tumor immunity in Prognosis. The role of mononuclear cell infiltrations.* Delderi, New York-Basel (1982).

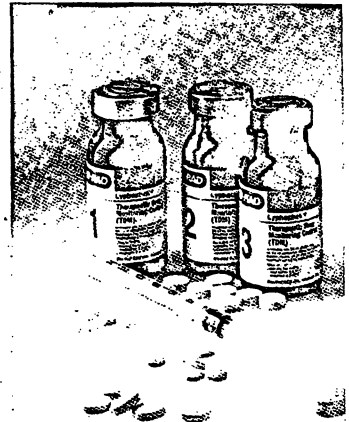
Danksagung

Wir danken Frau Gabriele Spiegel für die ausgezeichnete technische Assistenz bei der Durchführung der Versuche.

Anschrift des Verfassers:

Dr. Peter Mallmann
Universitäts-Frauenklinik
Sigmund-Freud-Str. 25
5300 Bonn-Venusberg

LYPHOCHEK TDM-Kontrolle



Die umfassendste Kontrolle zur Medikamentenspiegel- Überwachung

- Mehr als 40 Analyte
- Cyclosporin, Coffein, Haloperidol und Amiodaron sind exklusiv
- Werte von über 20 Kitherstellern incl. HPLC-Werte
- Referenzmethodenwerte
- 3 Bereichskontrolle
- 3 Jahre haltbar

BIO-RAD

BIO-RAD Laboratories GmbH

Diagnostica

Heidemannstr. 164

8000 München 45

Tel.: 0 89-31 88 41 40