

Diplomarbeit

Das klarzellige Nierenzellkarzinom

**Expression der Glykoproteine B7-H1 und B7-H3 auf
Tumorzellen von Patienten mit metastasiertem, klarzelligem
Nierenzellkarzinom**

Einfluss der Glykoproteine auf die Prognose

eingereicht von

Johannes Mischinger

Mat.Nr.: 0310616

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor(in) der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Urologie

unter der Anleitung von

**OÄ Dr. Katja Lipsky
Prof. Dr. Richard Zigeuner**

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwende habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am

Johannes Mischinger



Geschlechtsneutrale Formulierung

Aus Gründen der einfacheren Lesbarkeit wird in dieser Diplomarbeit auf die geschlechtsspezifische Differenzierung zum Beispiel Patienten/Innen verzichtet. Entsprechende Begriffe gelten im Sinne der Gleichbehandlung grundsätzlich für beide Geschlechter.

Danksagungen

Die Fertigstellung dieser Diplomarbeit war nur aufgrund der kontinuierlichen Unterstützung meiner Studienbetreuerin Frau Oberärztin Dr. Katja Lipsky und meines Studienbetreuers Prof. Dr. Richard Zigeuner möglich.

Ein besonderer Dank geht einerseits an Frau Prof. Dr. Eleonore Fröhlich, die mir bei sämtlichen Fragen zum praktischen Teil meiner Studie mit Rat und Tat zur Seite stand und andererseits an die außerordentlich engagierten biomedizinischen Analytiker des Zentrums für medizinische Grundlagenforschung (ZMF) Graz, Frau B.Sc. Diana Mujk, Frau Claudia Samberger und Herrn Markus Absenger, ohne die ich bei den unterschiedlichen Abschnitten meiner Studie nicht so schnell und erfolgreich vorangekommen wäre. Weiters möchte ich mich bei Prof. Dr. Sebastian Mannweiler vom Institut für Pathologie Graz für die kompetente Mitarbeit an der Studie bedanken.

Nicht zu vergessen ist Frau Mag.^a Antonia Griesbacher vom Statistikbüro des ZMF Graz, bei der ich mich ganz herzlich für ihre professionelle statistische Ausarbeitung der Forschungsergebnisse bedanken möchte.

Zusammenfassung

Zielsetzung der Studie

Ziel der Studie war es die Expression des B7-H1 und B7-H3 Glykoproteins beim metastasierten klarzelligem Nierenzellkarzinom zu detektieren. Diese wurde perzentuell erhoben und das Überleben jener Patienten, die mehr B7-H1 oder B7-H3 aufwiesen, mit dem Überleben derer verglichen, die weniger oder überhaupt keine Glykoproteine exprimierten. Eine weitere Fragestellung war, ob jene pathologischen Parameter, die durch den SSIGN-Score der Mayo Klinik definiert wurden, mit dem Überleben und der Glykoproteinexpression korrelierten.

Methode

Von 250 Patienten, die wegen eines klarzelligem Nierenzellkarzinoms nephrektomiert wurden und die zum Zeitpunkt der Operation oder im Laufe der Erkrankung Metastasen entwickelt hatten, konnten 78 Patienten, die zumindest für 3 Monate eine Interferontherapie an der Grazer Universitätsklinik für Urologie erhalten hatten, in die Studie aufgenommen werden. Die histopathologischen Schnitte des Tumorgewebes, wurden durch einen Pathologen in Unkenntnis der Diagnose, der Patientenidentität oder der Krankengeschichte erneut befundet. 45 der 78 Tumorgewebeproben wurden als eindeutig klarzellige Nierenzellkarzinome ausgewertet und konnten in der Studie verbleiben. In Zusammenarbeit mit dem Zentrum für medizinische Grundlagenforschung wurden, die Schnitte der 45 Patienten, jeweils mit einem Antikörper gegen das B7-H1- und das B7-H3 Glykoprotein gefärbt. Danach wurden alle Schnitte mit dem Aperio Technologies Scan Scope eingescannt und digitalisiert. Nach Bearbeitung mit der Image Scope Software wurden die prozentuellen Anteile der positiven Antigen-Antikörper Reaktion im Tumorgewebe berechnet. Die Ergebnisse wurden statistisch ausgewertet.

Ergebnisse

Die verschiedenen Expressionsmengen des B7-H1 Glykoproteins ergaben im Rahmen der Kaplan-Meier Analysen keinen statistisch signifikanten Zusammenhang mit dem Überleben oder dem SSIGN-Score. Die B7-H3 Proteinexpression hingegen zeigte, bezogen auf das Überleben, bei einem Grenzwert von 15% eine statistische Signifikanz. Zwischen den beiden SSIGN-Score Gruppen 0-4 und 5-13 ließ sich im Hinblick auf das Überleben mit einem p von 6,9% zwar ein tendenzieller Unterschied erkennen, jedoch keine statistische

Signifikanz. Ebenso gab es keinen Unterschied in der B7-H1 Expression zwischen den SSIGN-Score Gruppen 0-4 und 5-13 der statistisch signifikant gewesen wäre. In Bezug auf das B7-H3 Protein zeigten Patienten mit einem niedrigen SSIGN-Score (0-4) eine um 4% niedrigere B7-H3 Proteinexpression als jene mit höherem Score (5-13). Das multivariate Modell, in das beide Glykoproteine und der SSIGN-Score miteinbezogen wurden und deren Einfluss auf das Langzeitüberleben überprüft wurden, ergab für jede der drei Variablen ein statistisch signifikantes Ergebnis. Wenn sich die Expression von B7-H3 um 1% erhöhte, stieg gleichzeitig die Hazard-Ratio um 8,5%. Erhöhte sich der SSIGN-Score um eins, stieg parallel die Hazard-Ratio um 148,2% an. Im Gegensatz dazu sank bei einer Erhöhung der B7-H1-Expression um 1% die Hazard-Ratio um 5,1%. Die Interaktion des SSIGN-Score mit einer zeitabhängigen Kovariate stellte sich als signifikant ($p=0,004$) dar und zeigte, dass jene Patienten die einen niedrigen SSIGN-Score (4-6 bzw. (0-3) hatten nach 60 bzw. 150 Monaten keinen größeren Überlebensvorteil mehr aufwiesen als eine Gruppe mit höherem Score (7-9). Aufgrund dieser Ergebnisse wurde ein eventueller Einfluss einer Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren untersucht. Von den 45 Studienteilnehmern wurden 13 Probanden mit Tyrosinkinaseinhibitoren behandelt. Das Verteilungsmuster auf die vier gebildeten SSIGN-Score Untergruppen (0-3, 4-6, 7-9 und 10-13) war nahezu gleich. Innerhalb der Gruppe mit einer B7-H1 Glykoproteinexpression von 25% und weniger und der über 25% war die Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren jeweils gleichmäßig verteilt. Die Zahl der Patienten, die eine B7-H3 Expression von 15% oder weniger aufwiesen und eine Tyrosinkinaseinhibitor-Therapie erhalten hatten war mehr als doppelt so groß als jene mit einer Proteinexpression von mehr als 15% und einer TKI-Therapie.

Schlussfolgerung

Das B7-H1 Protein konnte sich in der aktuellen Studie nicht als Biomarker mit prognostischer Relevanz etablieren. Das B7-H3 Protein hingegen stellte in Bezug auf die Proteinexpression und auf den SSIGN-Score einen prognostisch relevanten Biomarker dar. Der SSIGN-Score ist allerdings ein Prognosefaktor, der mit fortschreitender Überlebenszeit der Nierenzellkarzinompatienten an Einfluss verliert. Pro futura könnte das Glykoprotein B7-H3 als wichtiger Marker für adjuvante und tumorzell-gezielte Therapieformen dienen.

Abstract

Purpose

The aim of the study was to evaluate B7-H1 and B7-H3 glycoprotein expressions in tumor tissue of patients with clear cell renal cell carcinoma (cc-Rcc). The percentage of glycoprotein-expression was matched between patients who showed a longer respectively shorter survival time. Further research was done on pathologic parameters which were summarized in the SSIGN-score defined by the Mayo Clinic and which were compared with survival and protein expression.

Methods

78 patients affected by metastatic CC-RCC and undergoing interferon treatment between 1996 and 2005 were included in the study. The tumor tissue on the histopathologic slides was re-evaluated for clear cell origin by a pathologist who was not aware of primary diagnosis and patients' outcome. Finally, 45/78 patients were eligible. Nephrectomy specimens were immunostained using antibodies targeting B7-H1 and B7-H3 glycoproteins. The stained tumor tissue was scanned and digitized. The regions of positive staining were processed with the Image Scope software and expressed as a certain percentage rate of the predefined tumor-tissue.

Results

Within the scope of the Kaplan-Meier analyses there was no significant coherency between B7-H1 expression and survival or SSIGN-score. In contrast B7-H3 expression was significantly associated with survival at a cutoff-level of 15% immunoreactivity. Furthermore we found out that patients with a low SSIGN-score (0-4) showed a 4% lower B7-H3 expression than those with a higher score (5-13). The multivariate model which included both, glycoproteins and SSIGN-score showed that patients with a SSIGN-score of 4-6, and 0-3, respectively had no survival advantage anymore after 60, 150 months of survival compared to a SSIGN-score of 7-9.

Conclusion

In our study the B7-H1 glycoprotein could not be demonstrated as a prognostic factor. In contrast the B7-H3 glycoprotein could be proven as prognostic factor whose amount of expression correlates with survival and malignity (SSIGN-Score) of the cc-RCC. On the other hand according to our results, the SSIGN-Score seems to be a prognostic marker, which loses influence as it comes to advanced survival. In future B7-H3 could be used as an important prognostic factor for adjuvant and targeted therapy methods.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Definition	1
1.2	Epidemiologie	1
1.3	Ätiologie.....	3
1.3.1	Sporadische Nierenzellkarzinome	4
1.3.2	Vererbare Syndrome.....	5
2	Tumorpathogenese und klinische Konsequenz	10
2.1	Einflüsse und Toleranz des Immunsystems	10
2.2	Multidrug Resistance.....	11
2.3	Angiogenese und das Nierenzellkarzinom.....	12
2.4	Regulation des Zellzyklus durch Wachstumsfaktoren und Signaltransduktion... 13	
2.5	Interzelluläre Adhärenz und Inaktivierung des Tumorzusammenhalts.....	15
3	Pathologie des Nierenzellkarzinoms.....	16
3.1	Die histologischen Subtypen des Nierenzellkarzinoms	17
3.1.1	Das klarzellige (konventionelle) Nierenzellkarzinom	17
3.1.2	Das papilläre Nierenzellkarzinom	18
3.1.3	Das chromophobe Nierenzellkarzinom	19
3.1.4	Das Sammelrohrkarzinom (Ductus-Bellini-Karzinom).....	20
3.1.5	Sarkomatoide Varianten des Nierenzellkarzinoms.....	20
3.1.6	Das unklassifizierbare Nierenzellkarzinom	21
3.2	TNM-Klassifikation	21
3.2.1	Der Primärtumor (T-Stadium)	22
3.2.2	Lymphknotenmetastasen (N-Kategorie).....	24
3.2.3	Fernmetastasen (M-Kategorie)	26
4	Klinische Präsentation des Nierenzellkarzinoms.....	27
4.1	Paraneoplastische Symptome.....	27
5	Prognosefaktoren	30
6	Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms.....	35
6.1	Nephrektomie bei metastasierten Tumorstadien	35
6.2	Die verschiedenen Ansätze der Immuntherapie.....	37
6.2.1	Zytokintherapie.....	37
6.2.2	Chemotherapie	42

6.2.3	Radiotherapie.....	43
6.2.4	Therapie mit zielgerichteten Wirkstoffen.....	45
6.2.5	Antikörpertherapie.....	47
6.2.6	Leitlinien zur Therapie des fortgeschrittenen Nierenzellkarzinoms.....	50
7	Einfluss von B7-H1 und B7-H3 auf das klarzellige Nierenzellkarzinom	52
7.1	Das Glykoprotein B7-H1 (B7homolog1, PD-L1, CD274)	52
7.2	Das Glykoprotein B7-H3	56
8	Studie	59
8.1	Ziel der Studie	59
8.2	Material und Methoden	60
8.2.1	Färbemethode des Tumorgewebes	60
8.2.2	Digitalisierung und Bearbeitung der Schnitte.....	63
8.3	Resultate	78
8.3.1	Zusammenfassung der Resultate	95
8.4	Diskussion	97

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Das T-Stadium.....	24
Abbildung 2: Das N-Stadium	25
Abbildung 3: Das M-Stadium.....	26
Abbildung 4: NCC-Leitlinien zur Therapie des Nierenzellkarzinoms	51
Abbildung 5: 2-Signal-Hypothese	53
Abbildung 6: HSI-Kreis.....	65
Abbildung 7: Verhältnisgrafik von Intensität und Helligkeit	67
Abbildung 8: Nicht vergrößertes digitalisiertes Übersichtsbild des B7-H1 positiven Tumorgewebeschnittes	69
Abbildung 9: Entspricht der „Pseudo-Color-markup Darstellung“ der Abbildung 8 nach Eingrenzung des Tumorbereiches mittels des Image Scope Pens und Bearbeitung mit dem PPC-Algorithmus.....	70
Abbildung 10: 5,2-fach vergrößerte digitale Darstellung der B7-H1 Färbung mit deutlicher Antigen-Antikörperreaktion.....	70
Abbildung 11: Entspricht Abbildung 10 nach der Bearbeitung mit dem PPC-Algorithmus	71
Abbildung 12: Dieses digitalisierte histologische Bild ist in 10,1-facher Vergrößerung dargestellt und zeigt die deutliche Braunfärbung der Tumorzellen, bei exprimierten B7-H1 Glykoprotein	71
Abbildung 13: Entspricht der Abbildung 12 nach Bearbeitung mit dem PPC-Algorithmus	72
Abbildung 14: 20-fache Vergrößerung des B7-H1-positiven, bräunlich gefärbten Tumorgewebes. Tumorzellmembranen und –zellkerne sind deutlich erkennbar	72
Abbildung 15: Entspricht Abbildung 14 nach Bearbeitung mit dem PPC-Algorithmus. Man kann sowohl orange und gelbe als auch rote Bereiche deutlich differenzieren.....	73
Abbildung 16: Digitalisiertes Übersichtsbild des mit dem Anti-human B7-H3 Antikörper gefärbten Schittes.....	74
Abbildung 17: Entspricht Abbildung 16, nach Bearbeitung mit dem PPC-Mode.....	74
Abbildung 18: 3,3-fache Vergrößerung des B7-H3 Protein exprimierenden Tumorgewebes	75
Abbildung 19: Entspricht Abbildung 18 nach Bearbeitung mit dem PPC-Algorithmus.....	75

Abbildung 20: 10.1-fache Vergrößerung des B7-H3 Glykoprotein exprimierenden Tumorgewebes.....	76
Abbildung 21: Entspricht Abbildung 20 nach Berarbeitung mit dem PPC-Algorithmus.....	76
Abbildung 22: 20-fache Vergrößerung bei B7-H3-positivem klarzelligen Nierenzellkarzinom.....	77
Abbildung 23: Entspricht Abbildung 22 nach Berarbeitung mit dem PPC-Algorithmus des Image Scope Programms	77
Abbildung 24: Verteilung der Expression von B7-H1	80
Abbildung 25: Verteilung der Expression von B7-H3	81
Abbildung 26: Boxplotdarstellung der in Prozent ausgedrückten Expression von B7-H1 und B7-H3	82
Abbildung 27: Vergleich von $\leq 15\%$ und $> 15\%$ B7-H1 Glykoproteinexpression in Bezug auf das Überleben	83
Abbildung 28: Vergleich von $\leq 25\%$ und $> 25\%$ B7-H1 Glykoproteinexpression in Bezug auf das Überleben	84
Abbildung 29: Vergleich von $\leq 15\%$ und $> 15\%$ B7-H3 Glykoproteinexpression in Bezug auf das Überleben	85
Abbildung 30: Vergleich von $\leq 20\%$ und $> 20\%$ B7-H3 Glykoproteinexpression in Bezug auf das Überleben	86
Abbildung 31: Vergleich der Gruppen mit einem SSIGN-Score von 0-4 und 5-13 in Bezug auf das Überleben	87
Abbildung 32: Boxplotdarstellung der verschiedenen Expressionshäufigkeiten von B7-H1 in den zwei SSIGN-Score Gruppen.....	88
Abbildung 33: Boxplotdarstellung der verschiedenen Expressionshäufigkeiten von B7-H3 in den zwei SSIGN-Score Gruppen.....	89
Abbildung 34: Durchschnittliche Überlebenskurve bei durchschnittlicher Ausprägung aller unabhängigen Kovariaten	92
Abbildung 35: Prozentueller Anteil der Überlebenden in allen vier SSIGN-Score Gruppen abhängig von der Zeit	93

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: ECOG-PS.....	31
Tabelle 2: Motzer Kriterien	32
Tabelle 3: SSIGN-Score Berechnungstabelle.....	34
Tabelle 4: PPC-Algorithmus Eingabedaten.....	67
Tabelle 5: PPC-Algorithmus Ausgabedaten	68
Tabelle 6: Deskriptive Statistik für B7-H1 und B7-H3	79
Tabelle 7: Levene-Test und T-Test.....	89
Tabelle 8: Omnibus-Tests der Modellkoeffizienten ^{a,b}	91
Tabelle 9: Variablen in der Gleichung des multivariaten Modells.....	91
Tabelle 10: Verteilung der Patienten mit TKI-Therapie auf die 4 SSIGN-Score Untergruppen	94
Tabelle 11: Verteilung der Patienten mit TKI-Therapie auf die 2 Untergruppen der B7-H1 Expression.....	94
Tabelle 12: Verteilung der Patienten mit TKI-Therapie auf die 2 Untergruppen der B7-H3 Expression.....	94

1 Einleitung

1.1 Definition

Die in der Niere auftretenden benignen und malignen Neoplasien leiten sich einerseits von epithelialen und andererseits von mesenchymalen Gewebeanteilen ab. Die epitheliale Komponente stellt allerdings den häufigsten Entstehungsort für Tumore dar.¹ In den meisten Fällen, also ungefähr 90%, handelt es sich um bösartige Nierentumore, von denen wiederum, das Nierenzellkarzinom mit 85% der Häufigste ist.²

Nierenzellkarzinome haben die Fähigkeit, das Nierneparenchym zu infiltrieren und über die Organgrenzen hinaus auch in Nachbarstrukturen einzubrechen. Da man im 19. Jahrhundert noch der Meinung war, dass es sich bei den Tumorzellen um Zellen der Nebenniere handeln müsse, wurde damals dieser Tumor, in Unkenntnis der wahren Histogenese, als Hypernephrom bezeichnet. Dieser Begriff ist heute obsolet.³

1.2 Epidemiologie

Etwa 3-4% aller bösartigen Neubildungen im Erwachsenenalter sind Nierentumore. Die überwiegende Mehrzahl dieser malignen Veränderungen sind mit 80-90% Nierenzellkarzinome. Bei den restlichen 10-20% handelt es sich um Urothelkarzinome beziehungsweise seltene Tumore oder Metastasen anderer Tumore.⁴ Diese Erkrankung betrifft meist ältere Patienten die sich in der sechsten oder siebenten Lebensdekade befinden, wobei Männer im Vergleich zu Frauen in einem Verhältnis von 3:2 häufiger betroffen sind. Typischerweise führt diese Erkrankung bei mehr als 40% der Patienten zum Tod.⁵ In den letzten drei Jahrzehnten hat die Inzidenz der Nierenzellkarzinome in den Industriestaaten der westlichen Welt stetig zugenommen. Weltweit konnte im Jahr 2006 eine jährliche Rate an Neuerkrankungen von 208 500 Patienten und 101 900 tumorbedingte Todesfällen beobachtet werden.⁶ In den USA berief sich die Neuerkrankungsrate für das Jahr 2007 auf 51190 Personen, wobei generell 8,9 neue Fälle pro 100.000 pro Jahr diagnostiziert werden. Die Zahl der durch das Nierenzellkarzinom geforderten Todesfälle wird auf 12890 geschätzt.⁷ Mit Inzidenzraten von 6-10/100.000 liegen die Industrienationen deutlich vor den Entwicklungsländern, die eine Inzidenz von 1-3/100.000 aufweisen.⁸ Aus noch ungeklärten Gründen, gibt es in der afro-

amerikanischen Bevölkerung der USA eine 10-20% höhere Inzidenz für das Nierenzellkarzinom. Aufgrund des mittlerweile viel häufigeren Gebrauchs von Ultraschall- und CT-Diagnostik, die in den meisten Fällen wegen unterschiedlichster abdomineller und gastrointestinaler Beschwerden verwendet werden, sind seit 1970 die Inzidenzraten für die weiße Bevölkerung der USA durchschnittlich um 3% und für die afro-amerikanische Bevölkerung um 4% gestiegen.⁹ In Europa liegt die Inzidenzrate für das Nierenzellkarzinom bei 85.000 pro Jahr. Allein in Deutschland werden 12.000 Neuerkrankungen pro Jahr festgestellt.¹⁰ Hier liegt die Inzidenzrate für Männer bei 17 pro 100.000 und für Frauen bei 7 pro 100.000 pro Jahr. Die Mortalität hingegen liegt für Männer bei 8 pro 100.000 und für Frauen bei 5 pro 100.000 pro Jahr.¹¹ In Summe liegt das Nierenzellkarzinom in Deutschland bei den Männern mit 4,4% an sechster und mit 3,2% bei den Frauen an elfter Stelle aller Tumorerkrankungen.¹²

Lokal fortgeschrittene bzw. metastasierte Tumore weisen mit 1,9- bzw. 0,68 % ebenfalls leicht steigende Werte auf. Es liegt der Verdacht nahe, dass demographische Einflüsse in Bezug auf die Inzidenz entsprechenden Einfluss nehmen. Als Beispiel sei hier Skandinavien mit der höchsten und Japan mit der niedrigsten Rate an Neuerkrankungen genannt.¹³

Obwohl in Summe bis zu zwei Drittel aller Nierenkarzinome, bei asymptomatischen Patienten entdeckt werden, kann die in den letzten Jahren gestiegene Inzidenz nicht alleine durch eine immer häufigere und verbreitetere Anwendung bildgebender Verfahren erklärt werden.¹⁴ Es müssen hier also auch andere Faktoren Einfluss nehmen, da die betreffende Mortalitätsrate in allen ethnischen Gruppen und beiden Geschlechtern, seit 1980 stetig ansteigt.¹⁵ Trotz der Tatsache, dass das Nierenzellkarzinom eine Tumorerkrankung des höheren Lebensalters ist, tritt diese in seltenen Fällen auch im Kindesalter auf. Im Gegensatz zu Erwachsenen repräsentiert das Nierenzellkarzinom im Kindesalter nur 2,3-6,6% aller Nierentumore.¹⁶ Das Durchschnittsalter liegt bei acht bis neun Jahren, wobei beide Geschlechter dieselbe Inzidenz aufweisen. Wenn Kinder oder Jugendliche am Nierenzellkarzinom erkranken, weist der Tumor histologisch meist ein papilläres Wachstumsmuster auf und zeigt sich als lokal fortgeschrittene Highgrade-Erkrankung mit schlechter Prognose.¹⁷ Tendenziell zeigte sich, dass trotz eines fortgeschrittenen Tumorstadiums, Kinder und Jugendliche von einer Lymphadenektomie

profitieren. Diese wird daher auch empfohlen wenn bei einem Kind oder Jugendlichen der Verdacht auf ein Nierenzellkarzinom besteht.¹⁸

1.3 Ätiologie

Der Einzige und allgemeinen akzeptierte umweltbedingte Risikofaktor für das Nierenzellkarzinom ist die Tabakexposition, obwohl das relative Risiko mit 1,4 bis 2,5 im Vergleich zu den Kontrollen eher gering zu sein scheint. Bei Kalkulierung aller Formen des Tabakkonsums wurde festgestellt, dass das Risiko mit der kumulativen Dosis oder den „Packyears“ ansteigt. Das relative Risiko steht bei Männern direkt mit der Menge des Tabakkonsum in Korrelation und scheint daher nach entsprechender Abstinenz abzufallen.¹⁹ Demgegenüber konnte bei weiblichen Patientinnen kein definitiver Zusammenhang festgestellt werden.²⁰ Potenzielle Risikofaktoren wie Chemikalien, Östrogene oder Bestrahlungen wurden in Tiermodellen zwar identifiziert, es konnte allerdings beim Menschen bisher kein spezifisches Agens als definitiver Auslöser des Nierenzellkarzinoms festgestellt werden.²¹ Mit einer Erhöhung des Risikos um das 1,5 bis 2-fache, konnte auch ein Zusammenhang zwischen einer Trichlorethylenexposition und dem Auftreten eines Nierenzellkarzinoms gezeigt werden.²² Arbeiter in der Metall-, Chemie- und Druckindustrie im Besonderen jene Personen, die Asbest oder Cadmium ausgesetzt sind, müssen ebenfalls mit einem leicht erhöhten Risiko rechnen.²³ Einige Fallstudien haben gezeigt, dass eine länger bestehende Adipositas, ein geringerer sozioökonomischer Status und das Leben in einem städtischen Umfeld zu einem häufigeren Auftreten von Nierenzellkarzinomen führt, aber ein diesbezüglicher definitiver ätiologischer Faktor konnte noch nicht gefunden werden.²⁴ Ebenso kann eine fett- und proteinreiche sowie frucht- und gemüsearme Ernährung, aber auch ein häufiger Kaffee- oder Teekonsum mit dem Nierenzellkarzinom in Verbindung gebracht werden. Die relativen Risiken in diesen Studien sind gering und die Daten in den meisten Fällen widersprüchliche.²⁵ Iatrogene Einflüsse, wie das in der Vergangenheit verwendete Kontrastmittel Thorotrast, Strahlentherapie und antihypertensive Medikation können, wenn auch nur mit einem geringen relativen Risiko, als Ursachen genannt werden.²⁶ In diesem Zusammenhang wurden retroperitoneale Bestrahlungen im Rahmen von Hodentumoren oder Neuroblastomen angeführt.²⁷ Auch Patienten die einen Wilms'tumor überlebten, scheinen, aufgrund der damals verabreichten Radio- oder Chemotherapie, ein erhöhtes Risiko zu zeigen.²⁸ Weiters wurde ein leicht erhöhtes Risiko

für Hypertoniker angegeben, die mit Diuretika und nicht-diuretisch wirkenden antihypertensiven Medikamenten behandelt wurden. Diese Behauptung wurde durch multivariate Datenanalysen dahingehend relativiert, dass der wesentliche Riskofaktor der Hypertonus sei.²⁹ Patienten mit Nierenzysten haben nur dann ein erhöhtes Risiko wenn sie dialysepflichtig sind. Unter den beschriebenen Voraussetzungen können etwa 5 – 25% maligne entarten, wobei Einflussfaktoren wie die Dialysedauer oder das Geschlecht zu berücksichtigen sind. Männer weisen diesbezüglich ein drei mal höheres Risiko als Frauen auf. Das Risiko aufgrund der Dialyse steigt potentiell von 13% nach 2 Jahren auf 87% nach 9 Jahren.³⁰ Das Entartungsrisiko für Patienten mit einer polyzystischen Nierendegeneration ist um das 3-fache erhöht.³¹ Die Einnahme von Analgetika über den Zeitraum von Jahren ist mit dem Risiko eine Analgetikanephropathie und in weiterer Folge einen malignen Nierentumor zu entwickeln, in Korrelation zu stellen. In diesen Fällen sind allerdings häufiger Urothelkarzinome als Nierenzellkarzinome zu beobachten.³²

Nicht zu vergessen sind familiär gehäufte Fälle des Nierenzellkarzinoms deren genetische Ursachen auch einen wichtigen ätiologischen Teil dieser Erkrankung repräsentieren.³³ Erst- oder zweitgradige Verwandtschaftsverhältnisse zu Patienten mit Nierenzellkarzinom, sind mit einem relativen Risiko von 2,9 möglicherweise auch ein progressiver Faktor für die Entwicklung eines solchen Tumors.³⁴

1.3.1 Sporadische Nierenzellkarzinome

Von den sporadischen Karzinomen der Niere, ist das klarzellige Nierenzellkarzinom der am häufigsten vorkommende Tumortyp. Meist ist dieser maligne Tumor fokal im Bereich des Nierenkortex zu finden. Aus ätiologischer Sicht sind bei dieser Erkrankung Verluste oder Inaktivierungen von Allelen des Chromosoms 3 typisch. Mutationen am von-Hippel-Lindau-Gen finden sich bei etwa 22% der Patienten.³⁵ Mit einem längeren tumorfreien Überleben können jene Patienten rechnen, die eine Mutation des VHL-Gens und pT1- oder pT2- Tumore aufweisen.³⁶ Zusätzliche chromosomale Veränderungen auf den Chromosomen 9p, 14q, 17p und 10q, sind jedoch mit einer Verschlechterung der Prognose vergesellschaftet³⁷. Sind in der histopathologischen Untersuchung additiv sarkomatoide Veränderungen zu finden, wird die Prognose dadurch negativ beeinflusst.³⁸ Die Inaktivierung des p53-Signalweges in Zelllinien des Nierenzellkarzinoms konnte erst

in den letzten Jahren nachgewiesen werden. Die Inaktivierung des Signalweges steht nicht in Zusammenhang mit einer Mutation am p53-Gen sondern wird mit anderen dominanten Mechanismen in Verbindung gebracht.³⁹ Mutationen im Bereich der PTEN- oder der Akt-Signalwege spielen möglicherweise bei der Entwicklung des Nierenzellkarzinoms eine Rolle, da sie üblicherweise bei Patienten mit progredientem Erkrankungsmuster gefunden werden.⁴⁰ Kommt es zu einem Verlust am kurzen Arm des Chromosoms 9 (9p13) geht dieser mit einer ungünstigeren Prognose einher.⁴¹

1.3.2 Vererbare Syndrome

In den 70-er Jahren wurde erstmals die familiär gehäufte Form von Krebserkrankungen als möglicher Schlüssel zur Identifikation wichtiger regulatorischer Elemente in Erwägung gezogen. Diese Elemente sind heute als Tumorsuppressorgene definiert. Speziell anhand von Retinoblastomen im Kindesalter, die familiär gehäuft besonders früh und multifokal auftraten, entwickelte man eine „zwei Stufen Theorie“ der Karzinogenese, da sporadische Fälle meist nur unifokal und zu späteren Zeitpunkten auftraten. Die Hypothese war dahingehend ausgelegt, dass ein Genprodukt, das die Tumorentwicklung unterdrücken kann, eine tragende Rolle spielen muss. Patienten mit familiären Formen weisen mutierte beziehungsweise inaktivierte Allele der Tumorsuppressorgene auf. Im Gegensatz dazu würde ein spontanes Auftreten des Tumors nur möglich sein, wenn eine Mutation beide Allele einer Zelle betreffen würde. Da aber jedes der beiden nötigen Ereignisse nur in geringer Frequenz auftritt, würden die daraus resultierenden Tumore eher in späteren Lebensphasen auftreten und meist unifokal wachsen.⁴² Diese Hypothese bewahrheitete sich nicht nur für das Retinoblastom sondern neben anderen Tumoren, auch für das Nierenzellkarzinom.⁴³ Ungefähr 5-10% aller Nierentumore treten im Zusammenhang mit familiären, das heißt vererbaren Syndromen auf.⁴⁴

1.3.2.1 Von-Hippel-Lindau (VHL) Erkrankung

Die Erstbeschreiber dieser vererbaren Erkrankung waren der deutsche Augenarzt von Hippel (1904) und der schwedische Pathologe Lindau (1926). Bei diesem Erkrankungsmuster handelt es sich um die familiäre autosomal dominant vererbare Form, des klarzelliges Nierenzellkarzinoms.⁴⁵ Die Inzidenz beträgt ca. 1/35.000

Menschen einer Normalbevölkerung.⁴⁶ Zu den Hauptmanifestationsformen dieses Syndroms, zählen das klarzellige Nierenzellkarzinom, das Phäochromozytom, das Angiom der Retina und die Hämangioblastome des Hirnstamms, des Kleinhirns und des Rückenmarks. Speziell die zentralnervösen Manifestationsformen können, wenn nicht rechtzeitig therapeutisch eingegriffen wird, von Lähmungen über Blindheit bis zum Tod führen. Weitere übliche Manifestationsformen sind Pankreaszysten, Innenohrtumore und papilläre Zystadenome des Nebenhodens. Mit einer erhöhten Inzidenz wurden auch endokrine Tumore des Pankreas beobachtet. Ein spezielles Charakteristikum dieser Form des Nierenzellkarzinoms ist die Manifestation des Tumors bereits in der dritten bis fünften Lebensdekade, häufig verbunden mit einem bilateralen und multifokalen Wachstum. Unter den Patienten, die eine Mutation des VHL-Gens aufweisen, ist in 50% der Fälle genau dieses Karzinom die Haupttodesursache.⁴⁷ In den späten achtziger Jahren konnte durch zytogenetische Studien ein Verlust des Chromosoms 3 in Tumorzellen nachgewiesen werden, der speziell für den histologisch klarzelligen Subtyp verantwortlich war.⁴⁸ Mitte der Neunziger konnte durch komplizierte molekulargenetische Linkage-Studien bei Patienten mit von-Hippel-Lindau Erkrankung, das VHL-Tumorsupressorgen identifizieren werden.⁴⁹ Dieses am kurzen Arm des Chromosom 3 gelegene Gen (3p25-26) wurde komplett sequenziert und bewies seine Relevanz sowohl beim sporadischen als auch beim familiären Typ des Nierenzellkarzinoms.⁵⁰ Wie bei allen Tumorsupressorgen müssen beide Allele des VHL-Gens mutiert oder inaktiviert sein, damit sich das Syndrom auch phänotypisch manifestieren kann. Bei nahezu allen Patienten mit von-Hippel-Lindau-Syndrom konnte eine Keimbahnmutation an einem Allel des VHL-Tumorsuppressorgens gefunden und eine autosomal dominante Vererbung über den betroffenen Elternteil bestätigt werden.⁵¹ Der Verlust des zweiten Allels erfolgt meist durch eine Gen- oder Chromosomendeletion.⁵² Bei den sporadischen Formen des klarzelligen Nierenzellkarzinoms wurden Mutationen oder andere genetische Mechanismen nachgewiesen, die zu einer Inaktivierung beider Allele führen.⁵³ Der wichtigste Unterschied zur familiären Form ist aber die Tatsache, dass die entsprechenden Mutationen beider Allele erst nach der Geburt auftreten und aus diesem Grund die sporadische Form viel später und unifokal auftritt.⁵⁴ Man weiß vom VHL-Protein, dass es sich an einen Proteinkomplex bindet, der sich aus den Proteinen Elongin B, C und CUL-2 zusammensetzt. Mit dem daraus resultierenden E3-Ubiquitinligase-Komplex wird der Abbau von wichtigen regulatorischen Proteinen beeinflusst. Eine der wesentlichen Funktionen des VHL-Proteinkomplexes ist es, den hypoxie-induzierbaren Faktor1 (HIF-1) zu binden und unter

„normalen“ Bedingungen herunterzuregulieren. HIF-1 ist ein besonders relevantes Protein in den zellulären Prozessen in Stresssituationen, wie beispielsweise der Hypoxie, reguliert. Kommt es aufgrund von Inaktivierung oder Mutation zum Funktionsausfall des VHL-Gens, kann sich HIF-1 in der Zelle anreichern. In weiterer Folge führt das zu einer gegenregulatorischen Erhöhung des Vaskular Endothelial Growth Factor (VEGF), dem bisweilen wichtigsten Angiogenese fördernden Faktor beim Nierenzellkarzinom. HIF-1 führt unter anderem auch zur Expressionserhöhung des Tumor Growth Factor- α , des Platelet-Derived Growth Factor (PDGF), des Glukosetransporters (GLUT 1), der Carboanhydrase 9 (CA-9), von Erythropoietin und eines für das klarzellige Nierenzellkarzinom spezifischen tumorassoziierten Antigens.⁵⁵

Des Weiteren scheint das VHL-Protein den Zellzyklus, die zelluläre Differenzierung und die intrazelluläre Verarbeitung wichtiger Matrixmoleküle, wie Fibronectin beispielsweise, zu beeinflussen.⁵⁶

1.3.2.2 Das hereditäre papilläre Nierenzellkarzinom

1995 wurde erstmals das hereditäre papilläre Nierenzellkarzinom, als nun mehr zweithäufigste erbliche Form des Nierenzellkarzinoms, beschrieben. Der histologisch papilläre Subtyp ist der zweithäufigste nach dem klarzelligen und ist durch eine Trisomie des Chromosoms 7 und 17, aber auch durch Abnormalitäten der Chromosomen 1, 12, 16, 20 und Y, charakterisiert.⁵⁷ Im Gegensatz zum von-Hippel-Lindau-Syndrom konnten man beim papillären Nierenzellkarzinom nur selten simultan auftretende Neoplasien anderer Organsysteme beobachten.⁵⁸

Die familiäre Form des papillären Nierenzellkarzinoms wird autosomal dominant vererbt, zeigt jedoch eine altersabhängige Penetranz und eine variable klinische Ausprägung.⁵⁹

Auch bei dieser Tumorform wurde durch molekulare Linkagestudien das defekte Gen am langen Arm des Chromosoms 7 (7q31) entdeckt. Als Ursache wurde eine Missense-Mutation des *met*-Protoonkogens gefunden. Das Proteinprodukt dieses Gens ist ein Tyrosinkinase-Rezeptor an den der hepatozyten-Wachstumsfaktor bindet. Dieser spielt eine wesentliche Rolle in der Regulation der Proliferation und Differenzierung von epithelialen und endothelialen Zellen der Niere als auch anderer Organe.⁶⁰ Die Trisomie

des Chromosoms 7 entsteht primär durch Verdoppelung jenes Chromosoms, welches das mutierte Allel des *met*-Protoonkogens beinhaltet und wodurch es zu einer massiven Erhöhung des aktivierten Rezeptors kommt.⁶¹ Eine frühe Manifestation und Multifokalität des papillären Nierenzellkarzinoms ist im Speziellen auf die Vererbung des mutierten *met*-Gens zurückzuführen. Diese setzt alle Zellen der Niere, bereits zum Zeitpunkt der Geburt, einem erhöhten Entartungsrisiko aus, aber die teilweise ungleich starke Penetranz und variable Klinik lassen darauf schließen, dass noch andere genetische Faktoren einen Einfluss auf den Phänotyp der Erkrankung haben.⁶² Obwohl Tumore des familiären papillären Nierenzellkarzinoms eher dazu neigen weniger aggressiv zu sein, kann der eine oder andere metastasieren und zum Tod führen.⁶³

1.3.2.3 Hereditäre Leiomyomatose und das Nierenzellkarzinom

Im Jahr 2001 wurde erstmals ein familiär auftretendes Syndrom beschrieben, das neben kutanen Leiomyomen und Leiomyomen der Gebärmutter auch durch papilläre Nierenzellkarzinome vom Typ 2 charakterisiert ist. Im Gegensatz zu den bereits bekannten typischen Manifestationen der familiär bedingten Nierenzellkarzinome, zeigen die Tumore dieses Syndroms vor allem ein solitäres und unilaterales Wachstum, das allerdings um einiges aggressiver zu sein scheint als bei anderen erblichen Formen. Neben den papillären Tumoren wurden im Rahmen dieses Syndroms auch Nierenzellkarzinome vom Sammelrohrtyp entdeckt, die eine weitere hoch maligne Form dieser renalen Neoplasien darstellen. Als Ursache dieser autosomal dominant vererbten Erkrankung, wurde eine Mutation auf dem langen Arm des Chromosoms 1 (1q 42-44) festgestellt. Dieser Genlocus codiert für die Fumarat-Hydratase, einem für den Krebszyklus des oxidativen Metabolismus, essenziellen Enzym, das Fumarat in Malat unwandelt. Durch die Mutation kommt es allerdings, im Vergleich zu Gesunden, zu einer stark verminderten Aktivität dieses Enzyms. Es scheint sich hier also eher um ein Tumorsuppressorgen als um ein Onkogen zu handeln.⁶⁴ Die Penetranz der Leiomyome der Haut und des Uterus ist höher als die der Nierenzellkarzinome, da „nur“ ungefähr 20% der Patienten ein Nierenzellkarzinom entwickeln, aber im Gegensatz dazu fast alle Patienten Leiomyome aufweisen. Die Leiomyome der Haut und Gebärmutter manifestieren sich meist im Alter von 20 bis 35.⁶⁵ Da nur bei einem Fünftel der Patienten Nierenzellkarzinome auftreten, wird ein hoher Prozentsatz der Patientinnen, die unter Leiomyomen des Uterus leiden hysterektomiert, bevor das Syndrom überhaupt

diagnostiziert werden kann. Aufgrund des invasiven und aggressiven Tumorwachstums, ist ein promptes chirurgisches Vorgehen besonders wichtig.⁶⁶

1.3.2.4 Birt-Hogg-Dubé Syndrom

Dieses Syndrom wurden erstmals 1977 beschrieben und ist durch Tumore des perifollikulären mesenchymalen Gewebes, Lungenzysten und verschiedenste Nierentumore, die primär von distalen Anteilen des Nephrons ausgehen, gekennzeichnet. Das, die Erkrankung verursachende BHD1-Gen liegt am kurzen Arm des Chromosoms 17 (17p11.2) und kodiert für das Follikulin Protein. Meist führen Insertionen, Deletionen oder Non-sense Mutationen zur Veränderung des Gens. Bei den Nierentumoren handelt es sich meist um chromophobe Nierenzellkarzinome, Onkozytome und Mischformen aus den beiden genannten. Weiters wurde bei diesem Syndrom auch ein beträchtlicher Anteil an klarzelligem Nierenzellkarzinomen nachgewiesen.⁶⁷ Die generelle Penetranz dieser autosomal dominant vererbten Nierentumore liegt zwar „nur“ bei 20-30%, allerdings treten diese in den meisten Fällen bilateral und multifokal auf.⁶⁸

2 Tumorpathogenese und klinische Konsequenz

2.1 Einflüsse und Toleranz des Immunsystems

Intensive Untersuchungen, die im Speziellen die Tumorpathogenese des Nierenzellkarzinoms betreffen, haben ergeben, dass renale Malignome entstellungsgeschichtlich im wesentlichen immunologischen Einflüssen unterliegen. Damit konnte gezeigt werden, dass eine Vielzahl an tumorassoziierten Antigenen wie beispielsweise PRAME, RAGE-1, MUC-1, gp47 oder CA-9 vermehrt in Tumorzellen des Nierenzellkarzinoms exprimiert werden.⁶⁹ Diese Antigene stimulieren natürliche Killerzellen, zytotoxische T-Zellen, T-Helferzellen sowie dendritische Zellen, die Interleukin-1 und -2 ausschütten und als antigenpräsentierende Zellen agieren.⁷⁰ Das tumorassoziierte Antigen CA-9, das auch als MN-9 bekannt ist, zeigt von allen Antigenen die größte Spezifität und wird in ungefähr 85% der überwiegend klarzelligen Nierenzellkarzinome exprimiert.⁷¹ In gesunden Geweben findet man dieses Antigen vor allem in der Mukosa des Magens, den großen Gallengängen und dem Pankreas.⁷² In den gesunden epithelialen Zellen der Niere wird die Expression von CA-9 durch den Wildtyp des VHL-Proteins unterdrückt.⁷³ Peptide die sich aus dem CA-9 Protein ableiten und HLA gebundene T-Zell-Epitope darstellen, können zytotoxische T-Zellen aktivieren und zeigen somit die reaktive und modulatorische Relevanz in der Entwicklung einer Immunantwort gegenüber den Tumorzellen des Nierenzellkarzinoms.⁷⁴ In einzelnen Studien konnte gezeigt werden, dass es bei Nierenzellkarzinompatienten in bis zu 7% zu einem spontanen nicht erklärbaren Rückgang des Tumorwachstums gekommen war.⁷⁵ Der tatsächliche Prozentwert solcher spontanen Remissionen dürfte in weit niedrigeren Bereichen liegen und sich auf Einzelfälle beschränken. Patienten mit pulmonaler Filisierung zeigten nach zytoreduktiver Nephrektomie die besten Ergebnisse. Allerdings wurde ein Wachstumsrückgang auch in jenen Fällen beschrieben in denen keine Therapie durchgeführt wurde.⁷⁶

Die Wirkung von Immunmodulatoren auf Tumorzellen des Nierenzellkarzinoms kann dauerhaft sein und zeigt die essentielle Rolle des Immunsystems in der Tumorgenese. Trotz immunmodulierender Behandlungsmethoden beispielsweise mit IL-2 und Interferon- α , liegen die Responderaten nur zwischen 10- und 20%.⁷⁷ Mögliche Ursachen für diese geringen Ansprechraten können, eine mangelnde Rekrutierung und Aktivierung

von dendritischen Zellen, eine verminderte Expression der Major Histocompatibility Complex (MHC) Antigene, eine fehlerhafte Verarbeitung von MHC-Antigenen durch Lymphozyten, eine beeinträchtigte Proliferation und Zytotoxizität der tumorinfiltrierenden Lymphozyten, eine erhöhte Expression verschiedener immunsuppressiver Zytokine, wie beispielsweise IL-10, eine verminderte Expression von Kaspasen, die für eine immunmedierte Apoptose der Nierenzellkarzinomzellen benötigt werden und eine erhöhte Expression des Fas-Rezeptors (CD95) auf tumorinfiltrierenden Lymphozyten, sein.⁷⁸ Ein Andocken des Fas-Liganden, der von Nierenzellkarzinomzellen exprimiert wird, an den dazupassenden Rezeptor führt zur Apoptose und Abbau der tumorinfiltrierenden Lymphozyten.⁷⁹ Auch der Transkriptionsfaktor NF- κ B, der die Aktivität und Entwicklungsfähigkeit von Lymphozyten durch Beeinflussung von Genen steuert, arbeitet fehlerhaft.⁸⁰ In Bezug auf das Nierenzellkarzinom konnte eine um 60% verminderte Aktivierung dieses Transkriptionsfaktors in tumorinfiltrierenden Lymphozyten nachgewiesen werden. Aus diesem Grund gehen Lymphozyten vermehrt in Apoptose und lösen dadurch eine funktionelle Störung der Immunaktivität aus.⁸¹ Der Vaskular Endothelial Growth Factor (VEGF), der von Tumorzellen in hohen Mengen exprimiert wird, fördert durch Blockierung der NF- κ B Aktivierung in den hämatopoetischen Vorläuferzellen auch die Immuntoleranz gegenüber den Tumorzellen. Durch ihn wird so die Ausreifung der dendritischen Zellen verhindert.⁸² Da die dendritischen Zellen die effizientesten antigenpräsentierenden Zellen des Immunsystems sind, ist dieser Defekt möglicherweise ein wichtiger Faktor in der Tumorgenese des Nierenzellkarzinoms.⁸³

2.2 Multidrug Resistance

Die hartnäckige Resistenz des Nierenzellkarzinoms gegenüber verschiedener Therapieansätze zeigt sich unter anderem durch die Expression des Multidrug-Resistance-Proteins. Für die Entwicklung der Multidrug-Resistenz (MDR) sind beim Menschen vor allem das MDR-1 und das MDR-assoziierte Protein (MRP) verantwortlich. MDR-1 ist ein Transmembranprotein, das vor allem von Tumoren exprimiert wird, die sich aus Geweben entwickelt haben, die von Natur aus eine hohe Dichte dieses Oberflächenproteins aufweisen. Neben Zellen des Pankreas, der Gallengänge oder der Blut-Hirn-Schranke lässt sich dieses verstärkt auch auf Zellen des proximalen Tubulussystems nachweisen. Diese energieabhängige Membranpumpe pumpt

hydrophobe Verbindungen aus der Zelle, um diese vor endogenen oder exogenen Toxinen zu schützen. Einige zytotoxische Medikamente wie beispielsweise die Vincaalkaloide oder Anthrazykline, sind solche hydrophoben Verbindungen und können aufgrund der Überexpression des P-Glykoproteins in Zellen des Nierenzellkarzinoms nur geringe intrazelluläre Konzentrationen erreichen. Diese vermehrte Proteinexpression scheint auf den ersten Blick die Ursache zu sein, warum Tumorzellen des Nierenzellkarzinoms nicht auf Chemotherapeutika ansprechen. Untersuchungen haben ergeben, dass das P-Glykoprotein jedoch durch Verapamil und Cyclosporin blockiert werden kann.⁸⁴ Demnach konnte in klinischen Verfahren mit dieser Strategie keine signifikante Erhöhung, der intrazellulären Anreicherung von Chemotherapeutika, erreicht werden.⁸⁵

Auch bei Tumoren ohne eine erhöhte Expression des P-Glykoproteins, konnte eine Resistenz gegenüber Chemotherapeutika festgestellt werden. Anaplastische Tumore zeigen deutlich weniger P-Glykoprotein als höher differenzierte Tumore. Auch Metastasen wiesen verglichen mit dem malignen Ursprungsgewebe geringere Mengen an P-Glykoprotein auf. Daraus schließt man, dass neben dem MDR-1 Protein, noch andere Mechanismen wirksam sein müssen, die zu einer Resistenz gegenüber Chemotherapeutika führen und das Wachstum von Tumorzellen unterstützen.⁸⁶ Leider konnten bis jetzt keine Strategien entwickelt werden, die die Wirkung von zytotoxischen Chemotherapeutika beim Nierenzellkarzinom signifikant erhöhen.⁸⁷

2.3 Angiogenese und das Nierenzellkarzinom

Für das Wachstum und die Metastasierung von soliden Tumoren, ist die Neovaskularisation ein essenzieller Faktor. Auch das Nierenzellkarzinom ist ein solider Tumor der durch seine reichliche Gefäßneubildung und arteriovenöse Malformationen charakterisiert ist. Der wichtigste angiogenesefördernde Wachstumsfaktor ist der Vaskular Endothelial Growth Factor (VEGF), der vom VHL-Protein unter normalen Bedingungen supprimiert, aber durch Tumorzellen des Nierenzellkarzinoms massiv überexprimiert wird.⁸⁸ Die erhöhten VEGF-Mengen können sowohl im Serum als auch im Urin der Karzinompatienten nachgewiesen werden.⁸⁹ Andere vermeintliche angiogenesefördernde Wachstumsfaktoren die in erhöhter Form bei erkrankten Patienten

gefunden wurden, sind der Fibroblast Growth Factor, Interleukin 8, der Tumor Growth Factor- β 1, Angiopoietin, und der Hepatocyte Growth Factor.⁹⁰

Die am vielversprechendsten Ergebnisse konnten durch antiangiogenetische Medika wie Bevacizumab, ein Antikörper der gegen den VEGF-Rezeptor gerichtet ist, erzielt werden.⁹¹ Solche Pharmaka bieten den Vorteile, keine Genotoxizität zu zeigen und eine stärkere Wirkung auf instabile Tumorzellen als auf stabile Endothelzellen aufzuweisen. Das Risiko therapiebedingte Zweitkarzinome zu entwickeln, scheint aus diesem Grund geringer zu sein. Die antiangiogenetischen Wirkstoffe haben gezeigt, dass sie untereinander oder mit Zytostatika kombiniert eine synergistische Wirkung aufweisen, die Nebenwirkungen jedoch geringer beziehungsweise nicht stärker als bei herkömmlichen Therapieformen sind.⁹² Um therapeutische Ergebnisse zu optimieren müssen wahrscheinlich potentere Kombinationsformen der antiangiogenetischen Wirkstoffe gefunden und eine multimodale Therapie entwickelt werden.⁹³

2.4 Regulation des Zellzyklus durch Wachstumsfaktoren und Signaltransduktion

Die Regulation des Zellzyklus spielt eine wichtige Rolle in der Tumorphathogenese des Nierenzellkarzinoms.⁹⁴ Eine verstärkte Expression des Tumor Growth Factor- α und dessen Rezeptor, der auch als Epidermal Growth Factor Rezeptor (EGFR) bezeichnet wird, unterstützt die Tumorentwicklung in Form von autokriner Stimulation und in weiterer Folge die Proliferation und Transformation der Tumorzellen.⁹⁵ In Studien, in denen Mäusen Nierenzellkarzinomzellen transplantiert wurden, konnte die Gabe des monoklonalen Antikörpers C225 durch Bindung an den EGFR das Tumorwachstum und in weiterer Folge die Metastasenbildung blockieren.⁹⁶ Von den Tumorzellen des Nierenzellkarzinoms wird auch das Protoonkogen erbB-2 vermehrt exprimiert, das eine gleichartige Wirkung aufweist wie EGFR. Abhängig von Tumorgrad und Tumorstadium können diese beiden das Tumorwachstum fördernden Rezeptoren ähnlich häufig nachgewiesen werden. Eine Überexpression beider Rezeptortypen war vor allem mit metastasierten Tumorstadien assoziiert.⁹⁷ Die abnorme Aktivierung von Signaltransduktionswegen in Tumorzellen des Nierenzellkarzinoms steuert veränderte Zellzyklusabläufe und bietet dadurch ein gutes Ziel für zielgerichtete Interventionen.⁹⁸

Ein Wirkstoff der in diese Kaskade eingreift, indem er Rezeptoren für VEGF und PDGF blockiert, ist beispielweise Sorafenib. Die meisten Medikamente dieser Art sind multifunktionelle Hemmer von Tyrosin-Rezeptorkinasen und blockieren möglicherweise mehrere Mechanismen die für das Tumorwachstum und die Metastasenbildung essentiell sind.⁹⁹

Andere molekulare Therapieoptionen in der Tumorbilogie zielen auf relevante Signaltransduktionswege ab, wobei das mTOR Protein eine wesentliche Rolle spielt. In diesem Fall werden Rapamycin und ähnliche Präparate wie CCI-779 therapeutisch eingesetzt.¹⁰⁰ Ein weiterer wichtiger wachstumsregulatorischer Faktor ist der Insulin-like Growth Factor Rezeptor. Patienten, mit einer Insulin-like Growth Factor Rezeptor Expression, zeigen in Studien ein um 70% erhöhtes Mortalitätsrisiko, gegenüber jenen Patienten, die diesen Rezeptor nicht exprimieren.¹⁰¹

Bei jeder physiologischen Zellteilung kommt es automatisch zum Verlust von Telomeren und in weiterer Folge zu einer Wachstumshemmung und zellulären Alterung.¹⁰² Eine erhöhte Telomeraseaktivität führt jedoch dazu, dass die Telomerenlänge konstant bleibt. Diese konnte bei 56- bis 93% der Nierenzellkarzinompatienten nachgewiesen werden.¹⁰³ Eine verstärkte Expression von Bcl-2, bei dem es sich um ein Protoonkogen handelt, das die Apoptose von Zellen verhindert, konnte in Nierenzellkarzinomzellen nachgewiesen werden. Diese ist möglicherweise für die Resistenz der Karzinomzellen gegenüber verschiedenster Chemotherapeutika oder Strahlentherapien verantwortlich.¹⁰⁴ Der Hepatocyte Growth Factor (HGF) und sein Rezeptor, das *met*-Protoonkogen beeinflussen ebenfalls die Pathogenese des Nierenzellkarzinoms.¹⁰⁵ Der Hepatocyte Growth Factor wird von proximalen Tubuluszellen der normalen Niere exprimiert und ist in der Entwicklungsphase der sich verzweigenden Tubuli der Niere als auch an ihrer Regeneration beteiligt.¹⁰⁶ Die meisten Nierenzellkarzinome und Subtypen weisen eine erhöhte Expression des Hepatocyte Growth Factor und dessen Rezeptor auf, die in manchen Fällen ebenfalls mit dem Tumolvolumen korrelieren kann.¹⁰⁷ Trotzdem scheint der potenteste Mechanismus der Pathogenese, nämlich die Aktivierung des Rezeptors, fast nur auf das papilläre Nierenzellkarzinom zuzutreffen.¹⁰⁸

2.5 Interzelluläre Adhärenz und Inaktivierung des Tumorzusammenhalts

Die Interaktionen der Tumorzellen mit ihren benachbarten Zellen sowie der umgebenden Matrix, bestimmen deren pathogenetisches Potential.¹⁰⁹ In gesunden Zellen interagieren das VHL-Protein und Fibronectin wodurch eine extrazelluläre Fibronectinmatrix entsteht. Beim Nierenzellkarzinom weisen dessen Zellen aufgrund einer VHL Mutation eine gestörte Bildung der extrazellulären Fibronectinmatrix auf.¹¹⁰ Diese Veränderungen repräsentieren nur einen Effekt der VHL Genmutation, zeigt jedoch die wichtige regulatorische Rolle, die die Matrix in Bezug auf die zelluläre Differenzierung und die Tumorinvasivität mit ihrer Metastasenbildung, spielt.¹¹¹ Die Metastasierung von Tumorzellen erfolgt prinzipiell durch die Anhaftung maligner Zellen an Endothelzellen eines Gefäßes und anschließender Penetration durch die Basalmembran. Diese Durchwanderung gelingt jedoch nur aufgrund tumorassoziierter Proteasen, die einen Schlüsselmechanismus darstellen, durch den es der Tumorzelle ermöglicht wird, die extrazellulären Matrixkomponenten abzubauen. Als Beispiel sei hier die Kollagen Typ 4 abbauende Progelatinase A, eine Matrix-Metalloproteinase, genannt. Die Überexpression dieser Proteinase korreliert mit dem invasiven Verhalten der Tumorzellen sowohl in vitro als auch in vivo.¹¹²

Der Verlust oder die abnormale Expression von Cadherinen in Tumoren kann zur Invasion und Progression der Erkrankung führen. Das Cadherin-6, ein neu entdecktes Adhäsionsmolekül, wird in den proximalen Tubuli der gesunden Niere und in Nierenzellkarzinomzellen exprimiert und scheint sich zu einem neuen wichtigen Prognosefaktor zu entwickeln.¹¹³ Vor allem schlecht bis nicht differenzierte Tumore, beziehungsweise Tumore mit einer infausten Prognose, weisen häufiger einen Verlust der Cadherin-6 Expression auf. Dieser scheint eine besondere Stellung in Bezug auf die Tumorinvasion, Tumorzirkulation und Metastasenimplantation einzunehmen.¹¹⁴ Andere Moleküle wie das endotheliale Leukozyten Adhäsionsmolekül (ELAM) und das vaskuläre Zelladhäsionsmolekül (VCAM), ermöglichen eine Interaktion zwischen Tumorzellen des Nierenzellkarzinoms und Endothelzellen, wodurch entartete Zellen im Rahmen der Metastasierung das Gefäßsystem verlassen und anderenorts wieder in dieses eindringen können.¹¹⁵

3 Pathologie des Nierenzellkarzinoms

Makroskopisch betrachtet nehmen die meisten Nierenzellkarzinome runde bis ovale Formen ein. Die den Tumor umfassende Pseudokapsel entsteht, durch die perifokale Gewebekompression im Rahmen der Tumorexpansion und ähnelt histologisch einer fibrösen Gewebestruktur als einer Kapsel im ursprünglichen Sinn. Die meisten dieser bösartigen Veränderungen wachsen nicht grob infiltrierend, jedoch gibt es mit dem Sammelrohrtyp des Nierenzellkarzinoms auch hier eine Ausnahme. Die Tumorgroße variiert zwischen wenigen Millimetern und Tumorausmaßen die sogar das gesamte Abdomen ausfüllen können.¹¹⁶ Generell wird ein Größendurchmesser in einem Bereich zwischen 3 und 15cm angegeben.¹¹⁷ Das Tumorgewebe selbst setzt sich aus fibrotischen, nekrotischen aber auch hämorrhagischen Bereichen zusammen. Bei 10% bis 25% kann eine zystische Degeneration nachgewiesen werden, die mit einer besseren Prognose einhergeht, als solide Tumore.¹¹⁸

Einige Grading Systeme basieren auf nukleären Eigenschaften der Tumorzellen. Eines dieser Systeme, bei dem die nukleäre Größe oder Form und die An- oder Abwesenheit von Nukleoli eine Rolle spielen, ist das System nach Fuhrman, das einen wichtigen, unabhängigen Prognosefaktor für Patienten mit Nierenzellkarzinom darstellt.¹¹⁹

Ein lokal aggressives Wachstum des Nierenzellkarzinoms kommt häufig und in verschiedener Ausprägung vor. Obwohl der Durchbruch und die Invasion des Sammelrohrsystems oder der Nierenkapsel in 20% der Fälle festgestellt werden kann, ist eine tumorbedingte Verdrängung dieser Strukturen häufiger zu finden. Die Ausbreitung des Tumors in angrenzende Organe oder in die Bauchhöhle, wird meist nur durch die Gerota Faszie, die eine natürliche Barriere darstellt, eingeschränkt. Eine, in 10% der Fälle vorkommende, besondere Eigenschaft des Nierenzellkarzinoms ist die Infiltration des venösen Systems.¹²⁰ Die Metastasierung erfolgt hauptsächlich hämatogen über den Cavatyp. In 20 % der Fälle breiten sich die Metastasen über die regionären Lymphknoten am Nierenhilus, sowie paraaortal und parakaval aus. Nicht selten tritt eine Metastasierung schon vor der Entdeckung des Primärtumors ein. Im Rahmen von Autopsien konnte gezeigt werden, dass das Nierenzellkarzinom am häufigsten in die Lunge (75%), die Knochen (40%), die Leber (30%), die Nebeniere (20%) und in das Gehirn (15%) metastasiert.¹²¹

Das sporadische Nierenzellkarzinom wächst meist unilateral und unifokal, in 2 bis 4% auch bilateral in synchroner oder asynchroner Weise.¹²² Das bilaterale Wachstum ist meist mit einer genetischen Disposition, wie sie beispielsweise beim von-Hippel-Lindau-Syndrom, in Zusammenhang zu stellen.¹²³ Ein multizentrisches Auftreten, kann im Vergleich zum klarzelligen Subtyp, häufiger beim papillären Subtyp beobachtet werden und ist zusätzlich mit Bilateralität bei einem fortgeschrittenen Tumorstadium assoziiert. Kleine auch als Satelliten bezeichnete Tumornester sind durch präoperative Bildgebung nur schwer zu identifizieren und sollen in weiterer Folge auch hauptverantwortlich für das Auftreten eines Rezidivs nach einer Nierenteilresektion sein.¹²⁴ Bei den meisten multifokalen Nierenzellkarzinomen, deutete die Analyse der Mikrosatelliten darauf hin, dass innerhalb der selben Niere nur Tumorzellen mit einer gemeinsamen klonalen Abstammung zu finden sind.¹²⁵

Ein Tumor in der kontralateralen Niere hingegen ist, wenn er synchron auftritt, eher als unabhängiges Gewächs einzustufen. Wenn er mit den Mikrosatelliten der Gegenseite zeitlich nicht korreliert, ist er als Metastase zu werten.¹²⁶ Bei allen Nierenzellkarzinomen handelt es sich per definitionem um Adenokarzinome, die von epithelialen Zellen des Tubulussystems ausgehen.¹²⁷ Auch für die konventionelle (klarzellige) und papilläre Variante des Nierenzellkarzinoms zeigen sich ähnliche histologische Eigenschaften.¹²⁸ In beiden Fällen sind Oberflächenmikrovilli und komplexe interzelluläre Haftverbindungen mit normalen proximalen Tubuluszellen nachweisbar. Die meisten anderen histologischen Subtypen leiten sich von weiter distal gelegenen Anteilen des Tubulussystems ab.¹²⁹ Eine weitere wesentliche Erkenntnis war, dass sarkomatoide Anteile eher einen schlecht differenzierten anderen histologischen Subtyp repräsentieren, als per se einen eigenen.¹³⁰ Das medulläre Nierenzellkarzinom wurde vor allem bei jungen Afroamerikanern mit Sichelzellanämie als spezieller Subtyp entdeckt.¹³¹

3.1 Die histologischen Subtypen des Nierenzellkarzinoms

3.1.1 Das klarzellige (konventionelle) Nierenzellkarzinom

Das klarzellige Nierenzellkarzinom macht ungefähr 70 bis 80% aller Nierenzellkarzinome aus. Diese Tumoren zeigen am Querschnitt eine charakteristisch gelbe Farbe und eine typische starke Gefäßzeichnung die unter dem Mikroskop einem

Netz aus zarten Sinusoiden entspricht, die zwischen den Tumorzellen eingestreut sind. Histologisch können sich die Tumorzellen als klar, granuliert oder gemischt darstellen. Klarzellige Tumorzellen sind rund bis polygonal und mit reichlich Zytoplasma ausgestattet, das vor allem Glykogen, Cholesterin, Cholesterolester und Phospholipide beinhaltet. Durch die histologische Präparation werden diese Stoffe allerdings ausgewaschen und die Tumorzelle erscheint bis auf den Zellkern unter dem Mikroskop als klar und leer.¹³² Bei 2 bis 5% der klarzelligen Subtypen lassen sich histologisch auch sarkomatoide Tumorzellen nachweisen. Die klarzellige Variante hat im Vergleich zu allen anderen Subtypen des Nierenzellkarzinoms auch die größte Tendenz zur Tumorausbreitung über das venöse System.¹³³ Insgesamt haben Patienten mit einem klarzelligen Nierenzellkarzinom eine schlechtere Prognose als jene mit einer papillären oder chromophoben Formvariante.¹³⁴ Für dieses konventionelle Nierenzellkarzinom gilt die Mutationen am Chromosom 3 und VHL-Gen als ätiologisch wichtigster Faktor. Diese sind mehrheitlich auch bei sporadisch auftretenden Fällen nachzuweisen.¹³⁵

3.1.2 Das papilläre Nierenzellkarzinom

Das chromophile Nierenzellkarzinom, das aufgrund anderer Klassifikationsschemen heutzutage nur mehr als papillärer Subtyp bezeichnet wird, repräsentiert mit 10 bis 15% die zweithäufigste Tumorform des Nierenzellkarzinoms, obwohl diese Tumorvariante für gewöhnlich nur bei speziellen Erkrankungen, wie Nierenzysten und Nierenfunktionsstörungen im Endstadium, auftritt.¹³⁶

Das mikroskopische Bild zeigt basophile und eosinophile Tumorzellen, die papillär oder tubulär angeordnet sind. Um jedoch von einer papillären Tumorform sprechen zu können müssen mindestens 50 bis 75% des gesamten Tumors diese Charakteristika aufweisen.¹³⁷

Die papilläre Variante des Nierenzellkarzinoms kann aber noch in zwei weitere Subtypen unterteilt werden: Der Typ 1 besteht aus basophilen Zellen mit nur geringen Zytoplasmaanteilen und der Typ 2 zeigt vorwiegend eosinophile Tumorzellen, die mit reichlich granuliertem Zytoplasma ausgestattet sind. Kleine papilläre Tumore mit ähnlichen genetischen Veränderungen wie das papilläre Nierenzellkarzinom, werden häufig bei Autopsien entdeckt. Sie sind meist gut abgekapselt und scheinen, nur ein

schwach malignes Potential aufzuweisen, weshalb sie auch als renale Adenome bezeichnet werden.¹³⁸

Äthiologisch sind genetische Veränderungen wie die Trisomie der Chromosome 7 und 17 sowie der Verlust des Y-Chromosoms entscheidend. Eine weitere Rolle spielt die Vermehrung der Chromosome 12, 16, 20 und der Verlust der Heterozygotie am Chromosom 14.¹³⁹ Der papilläre Subtyp des Nierenzellkarzinoms neigt, im Gegensatz zum klarzelligen Subtyp, nur im geringen Maße zur Hypervaskularisation, was auf eine niedrige Mutationsrate des VHL-Gens rückschließen lässt.¹⁴⁰ Die Aktivierung des mutierten *met*-Protoonkogens, scheint äthiologisch die Hauptkomponente darzustellen.¹⁴¹ Eine weitere interessante Eigenschaft des chromophilen Subtyps ist die Multizentrität, die er in bis zu 40% der Fälle aufweist.¹⁴² Daten von Studien, die sich mit der Prognose des papillären Nierenzellkarzinoms beschäftigten, sind neu zu überdenken, da alte Studien zu diesem Thema eher von einer Low-grade Erkrankung sprechen.¹⁴³ Neuere Studien besagen hingegen, dass es sich vermehrt um High-grade beziehungsweise fortgeschrittene Tumorstadien handelt.¹⁴⁴

3.1.3 Das chromophobe Nierenzellkarzinom

Dieser Tumortyp repräsentiert ungefähr 5% aller Nierenzellkarzinome und ist damit die dritthäufigste Variante des Nierenzellkarzinoms.¹⁴⁵ Das chromophobe Nierenzellkarzinom wurde erstmals 1985 als eigener Subtyp spezifiziert und scheint seinen Ursprung im rindennahen Anteil des Sammelrohrsystems zu haben.¹⁴⁶ Diese Theorie beruht darauf, dass chromophobe Zellen gleich wie die interkalierenden Zellen der Sammelrohre, eine positive Aktivität der Markerenzyme, Karboanhydrase und Cytochrom-c Oxidase, aufweisen.¹⁴⁷ Klassischerweise kommt die chromophobe Variante des Nierenzellkarzinoms beim Birt-Hogg-Dubé Syndrom vor.¹⁴⁸ Die Tumorzellen weisen ein relativ transparentes Zytoplasma mit einem feinen retikulären Muster auf, das rein morphologisch, dem Bild einer Pflanzenzelle ähnelt.¹⁴⁹ In ungefähr einem Drittel der Fälle wurde auch eine eosinophile Variante beschrieben.¹⁵⁰ Charakteristische histologische Merkmale für den chromophoben Subtyp sind ein perinukleärer Randsaum und zahlreiche, 150-300-nm große nur im Elektronenmikroskop sichtbare Mikrovesikel. Diese beinhalten spezifische Mukopolysaccharide, die mittels der Hale'sche kolloidale Eisenfärbung, nachgewiesen werden.¹⁵¹ Genetische Analysen des chromophoben Subtyps haben ergeben, dass in den meisten Fällen ein Verlust der Heterozygotie auf den

Chromosomen 1, 3, 6, 10, 21 nachzuweisen ist. Die meisten dieser Tumore sind Zytokeratin positiv aber negativ für Vimentin.¹⁵² Weiters wurde eine erhöhte Inzidenz von p53 Mutationen und eine vermehrte Expression des *c-kit* Onkogens bei dieser Tumorvariante nachgewiesen.¹⁵³

3.1.4 Das Sammelrohrkarzinom (Ductus-Bellini-Karzinom)

Das Sammelrohrkarzinom entspricht einem besonders seltenen aber aggressiven Subtyp und ist für weniger als 1% aller Nierenzellkarzinome verantwortlich.¹⁵⁴ Diese Erkrankung tritt am häufigsten bei jüngeren, männlichen Patienten auf und wird sehr oft erst auf Basis von tumorassoziierter Beschwerden wie Hämaturie und Rückenschmerzen diagnostiziert. In den meisten Fällen äußern sich diese malignen Neoplasien als high grade Tumore mit einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium.¹⁵⁵ Typisch für diese Tumorform, ist das infiltrative Wachstum und die Ausbreitung in den kortikalen Anteil der Niere.¹⁵⁶ Das Ductus-Bellini-Karzinom weist histologisch unterschiedliche Wachstumsmuster auf. Diese zeigen tubuläre, tubulopapilläre, solide oder sarkomatoide Formationen und manchmal auch papilläre oder tubulopapilläre Wachstumsformen, aufgrund derer sie rein histomorphologisch mit papillären Nierenzellkarzinomen verwechselt werden könnten. Wie auch gesunde Epithelzellen des Sammelrohrsystems, exprimieren die maligne entarteten Zellen in 60 % das High-Molecular-Weight-Zytokeratin. Mittels zytogenetischer Untersuchungen konnte am häufigsten eine Monosomie am Chromosom 1 nachgewiesen werden. Weniger häufig waren Monosomien auf den Chromosomen 4, 8, 9, 11, 13, 18, 21 und der Verlust des Y-Chromosoms.¹⁵⁷

3.1.5 Sarkomatoide Varianten des Nierenzellkarzinoms

Von nahezu allen histologischen Subtypen des Nierenzellkarzinoms aber auch vom Urothelkarzinom wurden sarkomatoide Varianten beschrieben. Da es keinen Nachweis einer de novo Entstehung des sarkomatoiden Nierenzellkarzinoms gibt, wird es nicht als eigener histologischer Subtyp gewertet, sondern als Manifestation eines high grade Karzinoms, das aus allen anderen Karzinomformen des Nierenparenchyms resultieren kann. Gelegentlich wird das primär vorherrschende Karzinom von sarkomatoiden Tumorzellen zur Gänze durchdrungen, wodurch der ursprüngliche Tumortyp nicht mehr

zu eruieren ist.¹⁵⁸ Die Inzidenz dieses Tumors liegt zwischen 1 und 13% aller Karzinome des renalen Gewebes. Histologisch stehen pleomorphe Spindelzellen im Vordergrund oder sehr große Zellen, die denen eines Sarkoms ähneln. Zusätzlich finden sich klare und granuläre epitheliale Zellen die für das Nierenzellkarzinom typisch sind. Aus klinischer Sicht handelt es sich hier um einen lokal aggressiven Tumor, der ein hohes Metastasierungspotenzial aufweist und dementsprechend mit einer schlechten Prognose assoziiert ist.¹⁵⁹

3.1.6 Das unklassifizierbare Nierenzellkarzinom

Nierenzellkarzinome werden als unklassifizierbar bezeichnet, wenn es sich um high grade Karzinome handelt, die keine zuordenbaren Zelltypen aufweisen oder eine reine sarkomatoide Histologie zeigen ohne typische epitheliale Zellkomponenten der Niere. Der Anteil dieser Tumoren beträgt weniger als 3% aller Nierenzellkarzinome. Allerdings handelt es sich bei diesen um Veränderungen mit hohem malignen Potential und schlechtem klinischen Outcome.¹⁶⁰

3.2 TNM-Klassifikation

Das erste Staging-System für Nierenzellkarzinome wurde von Flocks und Kadesky 1958 entwickelt. 1960 wurde dieses System von Robson modifiziert, indem er die vaskuläre Ausbreitung des Tumors in die Beurteilung der Tumorausdehnung miteinbezog. Da aber in diesem Staging-System Nierenzellkarzinome im Stadium III mit Lymphknotenmetastasen, von Tumoren mit Ausbreitung in das venöse Abflusssystem, nicht abgegrenzt wurden, obwohl letztere eine viel bessere Prognose aufwiesen, wurde 1978 mit dem TNM-System ein neues Staging-System entwickelt. Das TNM-System bezieht sich generell auf die Tumorgöße, den Lymphknotenbefall und die Metastasenbildung und definiert so die exakte Stadieneinteilung. Das TNM System wurde 1987, 1997 und 2002, vom American Joint Committee on Cancer und der Union International Contre le Cancer aktualisiert, entspricht bis dato dem diagnostischen Standard für das Nierenzellkarzinom und ermöglicht damit die internationale Vergleichbarkeit von klinischen und pathologischen Tumordaten.¹⁶¹

3.2.1 Der Primärtumor (T-Stadium)

Das „T“ der TNM-Klassifikation gibt Auskunft über die Größe des Tumors, die Infiltrationstiefe und inwieweit eine Veneninvasion vorliegt.¹⁶² Tumore die mit T1a bezeichnet werden, sind diejenigen, die weniger als 4cm im größten Durchmesser aufweisen und auf die Niere begrenzt sind. Sie weisen aufgrund ihrer geringen Größe die beste Prognose auf. Tumore mit einem Durchmesser von 4 bis maximal 7cm, die ebenfalls auf die Niere begrenzt sind, werden als T1b-Stadium klassifiziert.¹⁶³ Nur diese Tumorgößen erlaubten, unter den momentan geltenden Therapierichtlinien, ein organerhaltendes Vorgehen.¹⁶⁴ Als pT2 Tumore werden laut UICC jene Nierenzellkarzinome bezeichnet, die in ihrer größten Ausdehnung mehr als 7cm aufweisen, jedoch immer noch auf die Niere begrenzt sind. Für zukünftige Überarbeitungen des TNM-Systems, wäre zu überlegen ob eine zusätzliche Unterteilung der pT2 Tumoren in solche, die die Nierenkapsel zwar infiltrieren aber nicht durchbrechen und solche, bei denen es ohnehin zu keiner Nierenkapselpenetration kommt, sinnvoll wäre. Dieser Gedanke erscheint auch insofern plausibel, da pT2-Tumore ohne Kapselinvasion mit 90,5% eine um 16,7% längere 5-Jahres-Überlebenszeit aufweisen, als jene mit Penetration der Kapsel.¹⁶⁵

Ein weiterer Faktor, dem aufgrund seiner Seltenheit bisher zu wenig Achtung geschenkt wurde, der aber einen starken Einfluss auf die Prognose des Nierenzellkarzinoms zu haben scheint, ist die Ausbreitung des Tumors in das harnableitende Hohlraumssystem. Eine 2004 durchgeführte Studie hat gezeigt, dass eine Tumordinvasion auf Basis eines pT2-Stadiums, eine signifikant schlechtere Prognose liefert als für pT2-Tumore, die nicht in das Hohlraumssystem einwachsen. Der auf pT2-Tumoren bezogene unabhängige Prognosefaktor sollte bei der Planung adjuvanter Therapiemodelle eventuell miteinbezogen werden.¹⁶⁶

Tumore, die die Kriterien für das Stadium pT3a erfüllen, infiltrieren die Nebeniere oder wachsen in das perirenale Fettgewebe ein. Eine T3b Klassifikation setzt Tumorformationen in der Nierenvene oder dem infradiaphragmalen V.Cava-Abschnitt voraus. T3c Tumore infiltrieren entweder die Wand der Hohlvene, oder sind bereits in den supradiaphragmalen V. cava-Anteil vorgedrungen.¹⁶⁷

Auch innerhalb des pT3a Stadiums beeinflusst die Tumorgöße die Prognose. Wenn in diesem Stadium die Tumoren die 7cm-Marke nicht überschreiten liegt die Wahrscheinlichkeit, dass die Patienten über 5 Jahre ein tumorfreies Leben führen können bei ungefähr 90%. Sind pT3a Tumoren bereits größer als 7cm, sinkt die Wahrscheinlichkeit für ein tumorfreies Überleben von 5 Jahren auf 73%.¹⁶⁸ Das tumorspezifische Überleben der pT3b Tumore wird nicht von der intraluminalen Ausbreitung des Tumorzapfens beeinflusst. Zur Diskussion steht jedoch die unterschiedliche prognostische Einflussnahme des V.cava Thrombus beziehungsweise des Tumorthrombus in der V.renalis.¹⁶⁹ Von prognostischer Relevanz, ist vorallem die Unterscheidung zwischen pT3b und pT3c Tumoren, da Patienten mit pT3c Tumoren signifikant schlechter abschneiden als jene mit einem pT3b Tumor.¹⁷⁰ Auch beim pT3c Tumorstadium muss zwischen der Invasion der V.cava und einem losen Tumorthrombus, der zwar intracaval über die Zwerchfellhöhe hinauswächst, aber die V.cava nicht infiltrierte, unterschieden werden. Patienten bei denen der mobile Anteil des Thrombus entfernt werden konnte, hatten eine 67%ige 5-Jahres Überlebenswahrscheinlichkeit und somit eine um 43% höhere Überlebensrate als bei einer Hohlveneninfiltration. Bei radikaler Resektion des infiltrierenden Cavaabschnittes betrug die Differenz im 5-Jahres Überleben nur mehr 12%. Somit konnte gezeigt werden, dass die Prognose vom T-Stadium und der Wandinfiltration der V.Cava, aber nicht von der intracavalen Ausdehnung des Tumorthrombus bestimmt wird.¹⁷¹ Das T4-Stadium bedeutet, dass das Nierenzellkarzinom bereits die Gerotafaszie vollständig infiltrierte hat und über die Organfaszie hinaus gewachsen ist. Abbildung 1 liefert einen Überblick über das T-Stadium.¹⁷²

T – Primärtumor	
■ Tx	Primärtumor kann nicht klassifiziert werden
■ T0	Kein Anhalt für Primärtumor
■ T1	Tumor auf die Niere begrenzt; <7 cm
– T1a	Tumor auf die Niere begrenzt; <4 cm in der größten Ausdehnung
– T1b	Tumor auf die Niere begrenzt; 4–7 cm in der größten Ausdehnung
■ T2	Tumor >7 cm in größter Ausdehnung, auf die Niere begrenzt
■ T3	Tumor breitet sich bis in die Hauptvene aus oder infiltriert das perirenale Fettgewebe oder die Nebenniere
– T3a	Tumor infiltriert Nebenniere und/oder perirenales Fettgewebe
– T3b	Tumor in der Nierenvene oder V. cava unterhalb des Zwerchfells nachweisbar
– T3c	Tumor infiltriert die Wand der V. cava oder Ausdehnung des Thrombus oberhalb des Zwerchfells
■ T4	Tumorausdehnung über die Gerota-Faszie hinaus

Abbildung 1: Das T-Stadium

3.2.2 Lymphknotenmetastasen (N-Kategorie)

Das TNM-System unterscheidet zwischen einem solitären Lymphknotenbefall (N1) und jener Situation bei der bereits multiple Lymphknotenmetastasen (N2) vorliegen. Die Ausbreitung in regionäre Lymphknoten kann bei rund 10% der operierten Patienten nachgewiesen werden.¹⁷³ Die Einflussnahme des Metastasierungsmusters N1 vs. N2 auf die Prognose ist nicht unumstritten. Dies beruht auf Studien die bei einem positiven Lymphknotenbefall und einer 5-Jahres Überlebensrate von 18%, keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen pN1- und pN2-Stadien aufzeigen konnten. Auch die Anzahl der entfernten Lymphknoten hatte keinen Einfluss auf das Überleben von lymphknotenpositiven Patienten. Aus diesem Grund wurde in einer weiteren Studie als zusätzlicher Parameter die Lymphknotendichte, die sich aus dem Verhältnis von befallenen Lymphknoten und der Zahl der tatsächlich entfernten Lymphknoten zusammensetzt, vorgeschlagen. Dabei zeigte sich erst ein Befall von mehr als 4 Lymphknoten und eine Lymphknotendichte von über 60%, als prognostisch signifikant.¹⁷⁴

In der 2007 durchgeführten Studie von Karakiewicz et al. zeigten Patienten mit Lymphknotenmetastasen, aber ohne Fernmetastasierung (T, N1, M0), eine durchschnittliche Überlebenszeit von 2,3 Jahren und wiesen mit dieser Konstellation eine signifikant schlechtere Prognose auf als Patienten ohne Lymphknoten- oder Fernmetastasen.¹⁷⁵ Sind allerdings neben befallenen Lymphknoten auch Fernmetastasen vorhanden, ist die Prognose für diese Patienten schlechter als für Patienten, die zwar frei von Lymphknotenmetastasen sind, aber die Fernmetastasen aufweisen.¹⁷⁶

Lymphknotenmetastasen beim Nierenzellkarzinom sind daher als ein „Negativ-Faktor“ einzustufen und zeigen in Bezug auf die 5- bzw. 10-Jahres-Überlebensrate einen Schwankungsbereich von 5-30% bzw. 0-5%. Besonders deutlich ist das darin zu erkennen, dass ein positiver Lymphknotenstatus sowohl bei Patienten mit lokal begrenztem Nierenzellkarzinom als auch bei Patienten mit einer systemischen Metastasenausbreitung, zu einer Verminderung der medianen Überlebensrate um das Zweifache führt.¹⁷⁷

Um eine Lymphknotenmetastasierung exakt zu verifizieren, muss derzeit noch eine operative Exploration erfolgen, da über bildgebende Verfahren positive Lymphknoten noch nicht ausreichend darstellbar sind.¹⁷⁸ Bei nicht beurteilbarem Lymphknotenstatus erfolgt die Klassifikation mit einem Nx. Abbildung 2 liefert einen Überblick über das N-Stadium.¹⁷⁹

N – Regionale Lymphknoten	
■ Nx	Regionale Lymphknoten wurden nicht beurteilt
■ N0	Kein Anhalt für regionale Lymphknoten
■ N1	Metastase in einem Lymphknoten
■ N2	Metastase in mehr als einem Lymphknoten

Abbildung 2: Das N-Stadium

3.2.3 Fernmetastasen (M-Kategorie)

Als Metastasen des Nierenzellkarzinoms werden entweder Tumorabsiedelungen außerhalb des Lymphabflusssystemes oder der Befall von nicht-regionären Lymphknoten bezeichnet. Grundsätzlich kann das Nierenzellkarzinom in jedes Organ metastasieren, wobei die Lunge das am häufigsten von Metastasen befallene Organ ist.¹⁸⁰ Zum Zeitpunkt der Diagnose weisen mehr als 10% der Patienten Fernmetastasen auf.¹⁸¹ Die Entdeckung aller Absiedelungen ist insofern essentiell, da das therapeutische Ergebnis signifikant von der Radikalität des Eingriffs abhängt. Vorallem bei unilokulärer Ausbreitung, kann das Erreichen einer M0-Situation die Überlebensrate wesentlich verbessern. Die Inzidenz für eine Regression bei multipler Metastasierung nach einer Nephrektomie ist mit 0,3 % besonders gering, die Mortalitätsrate jedoch um einiges höher. Deshalb wird in diesen Fällen meist nur mehr eine Palliation empfohlen. Wenn eine solitäre pulmonale Metastase vollständig entfernt werden kann, haben die Patienten eine 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 25-35%.¹⁸² Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Diagnose eines Nierenzellkarzinoms eine synchrone singuläre Metastase vorliegt, haben eine signifikant schlechtere Prognose als Patienten, mit metachroner Metastasierung. Die 5-Jahres Überlebensrate für Patienten mit rezidivfreiem Intervall von mehr als 12 Monaten liegt bei 55% im Gegensatz zu jenen deren rezidiv innerhalb von 12 Monaten nachgewiesen wird (9%). Patienten mit singulärer Metastasierung haben eine 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 54%. Diese liegt somit um 25% über jenen mit multilokulär metastasiertem Nierenzellkarzinom.¹⁸³ Statistisch gesehen überleben 4,4% der Patienten mit Fernmetastasierung noch 3 Jahre und 2,7% 5 Jahre. Die durchschnittliche Lebenserwartung liegt bei Fernmetastasierung zwischen 6 und 9 Monaten.¹⁸⁴ Eine weitere Studie aus 2004 zeigte, anhand des Vorhandenseins von drei Risikofaktoren, dass das Überleben beim vortherapierten metastasierten Nierenzellkarzinom zwischen 5 (2-3 Risikofaktoren) und 22 Monaten (kein Risikofaktor) liegt.¹⁸⁵ Abbildung 3 liefert einen Überblick über das M-Stadium.¹⁸⁶

M – Fernmetastasen	
■	Mx Metastasen wurden nicht beurteilt
■	M0 Kein Anhalt für Fernmetastasen
■	M1 Fernmetastasen vorhanden

Abbildung 3: Das M-Stadium

4 Klinische Präsentation des Nierenzellkarzinoms

Die retroperitoneale Lage der Niere ist verantwortlich, dass viele renale Raumforderungen lange Zeit asymptomatisch bleiben. Erst im fortgeschrittenen Stadium werden sie symptomatisch und palpabel.¹⁸⁷ Aus US-Statistiken geht hervor, dass die Inzidenz für das Nierenzellkarzinom in allen ethnischen Bevölkerungsgruppen progredient ist. Die gehäufte inzidenzielle Entdeckung früher Tumorstadien lässt sich höchstwahrscheinlich auf den zunehmenden Einsatz von Sonographie, Computertomographie und Magnetresonanz zurückführen. Verdeutlicht wird diese Tatsache, durch den Vergleich zwischen den Jahren 1973 indem 13% der Nierentumore zufällig entdeckt wurden und dem Jahr 1998 in dem die Zahl der Zufallsdiagnosen mit 61% fast fünfmal größer war.¹⁸⁸ Typische mit dem Nierenzellkarzinom verbundene Symptome sind Hämaturie, Flankenschmerz oder Resistenzen im Bereich der Flanke oder des Abdomens. Das klassische Bild eines fortgeschrittenen Tumors mit allen drei Symptomen wird mittlerweile nur mehr selten beobachtet. Mehrheitlich zeigen Patienten gar keine Symptome oder Symptome, die primär nicht gleich auf ein Nierenzellkarzinom schließen lassen.¹⁸⁹

4.1 Paraneoplastische Symptome

Paraneoplastische Symptome führen nur selten zu einer primären Diagnose, beeinflussen jedoch meist indirekt, im Rahmen von bildgebenden Maßnahmen, deren Entdeckung.¹⁹⁰ Unter normalen physiologischen Umständen produziert die Niere 1,25-Dihydroxycholecalciferol, Renin, Erythropoietin und und verschiedenste Prostaglandine zur Kontrolle der Hämostase. Im Falle des Nierenzellkarzinoms werden diese aber in pathologischen Mengen produziert.¹⁹¹ Ungefähr 20% der Nierenzellkarzinompatienten weisen zum Zeitpunkt der Diagnose paraneoplastische Symptome auf. Weitere 10 bis 40% der Patienten zeigen eine solche Symptomatik im Verlauf ihrer Tumorerkrankung. Der Grund für diese Konstellation von klinischen Zeichen und Symptomen liegt darin, dass diese Karzinomzellen, spezielle tumorassoziierte Proteine produzieren und sezernieren. Paraneoplastische Symptome repräsentieren eine große Bandbreite an klinischen Merkmalen, die mit unterschiedlicher Häufigkeit in Erscheinung treten. Zu den am häufigsten auftretenden Symptomen zählen, mit sinkenden prozentuellen Vorkommen, um: Anämie, hepatische Dysfunktion, Gewichtsverlust, Hypoalbuminämie,

Unwohlsein und Schwächegefühl, Hyperkalzämie, Anorexie, Thrombozytose, nächtliches Schwitzen, Fieber, Erythrozytose, Schüttelfrost und Hypertonie. Nicht alle paraneoplastischen Symptome haben einen Einfluss auf die Prognose des Nierenzellkarzinoms. Hingegen beeinflussen kachexieassoziierte Symptome wie, Hypalbuminämie, Gewichtsverlust, Anorexie und im Verlauf stärker werdendes Schwächegefühl, unabhängig von bereits etablierten Prognosefaktoren wie der TNM-Klassifizierung, dem Grading und dem Eastern Cooperative Oncology Group Performance Scores (ECOG-PS) das Überleben.¹⁹²

Auch das Parathyroid hormone-related Peptide, das bisher nur für die paraneoplastische Hyperkalzämie bei Nierenzellkarzinomkrankungen verantwortlich gemacht wurde, steuert aber unter anderem das Tumorwachstum und wird von diesen Zellen deutlich stärker expremiert als von gesunden Zellen.¹⁹³ Durch die vermehrte Erythropetinproduktion, kann eine Erythrozytose resultieren. Diese steht auch als Prognosefaktor bezüglich des Ansprechens von Tumorzellen auf eine Immuntherapie zur Diskussion. Kachexie und fortschreitender Kräfteverlust sind möglicherweise eine Folge des Tumornekrosefaktors- α , IL-1 oder IL-6, die entweder von den Tumorzellen oder infiltrierenden Immunzellen sezerniert werden.¹⁹⁴ Ein paraneoplastischer Hypertonus kann sich in 14-35% der Fälle einstellen. Dieser kann durch die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteronsystems hervorgerufen werden.¹⁹⁵ Eine mit dem Nierenzellkarzinom zusammenhängende Polyzytämie hängt wahrscheinlich mit einer erhöhten Erythropoetinproduktion zusammen, die entweder durch die Tumorzellen selbst oder durch die Hypoxie des perifokal um den Tumor angrenzenden Gewebes ausgelöst wird.¹⁹⁶

Mit dem Stauffersyndrom wurde Anfang der Sechziger eine weitere paraneoplastische Erscheinungsform des Nierenzellkarzinoms definiert. Hierbei handelt es sich um eine Dysfunktion der Leber, die im Rahmen des Nierenzellkarzinoms auftritt, bei der aber keine Lebermetastasen nachzuweisen sind. Ist es jedoch möglich den gesamten Tumor mittels Nephrektomie zu entfernen, kommt es meist wieder zu Normalisierung der hepatischen Laborparameter. Insgesamt wird die Inzidenz des Stauffersyndroms in einem Bereich zwischen 3 und 20% angegeben. Klinisch präsentieren sich die Patienten am häufigsten mit Hepatosplenomegalie, Fieber, Müdigkeit und Gewichtsverlust.¹⁹⁷

Eine besondere Rolle in der Pathophysiologie der paraneoplastischen Symptome des Nierenzellkarzinoms nimmt das Zytokin IL-6 ein, da es eine starke proinflammatorische Aktivität besitzt. Mehr als 50% der Patienten mit Metastasen weisen einen erhöhten IL-6-Spiegel auf. Dieses Zytokin zeigt eine deutliche pyogene Aktivität und induziert die Produktion von Akute-Phasenproteinen in den Leberzellen, wie beispielsweise das C-reaktiven Protein und Haptoglobin. Zusätzlich nimmt IL-6 auch Einfluss auf die Proliferation und Differenzierung von multipotenten Vorläuferzellen des blutbildenden Systems.¹⁹⁸ Als Therapie der Nierenzellkarzinom-assoziierten paraneoplastischen Symptome, ist die Nephrektomie und eine systemische Immuntherapie das Mittel der Wahl. Eine simple medikamentöse Intervention ist bisher nur bei der Hyperkalzämie indiziert.¹⁹⁹

Suspekte klinische Zeichen, die im Rahmen physikalischer Untersuchungen auffallen können und möglicherweise auf eine Ausbreitung des Tumors in das venöse System hinweisen. Zu diesem zählen beispielsweise eine tastbare zervikale Lymphadenopathie, eine persistierende Varikozele oder eine bilaterale ödematöse Schwellung der unteren Extremität. In einigen seltenen Fällen präsentieren sich Patienten mit Knochenschmerzen wenn eine Knochenmetastasierung stattgefunden hat oder mit einem Husten wenn Lungemetastasen vorliegen.²⁰⁰ Auch selten vorkommende spontane perirenale Blutungen, die in 50% der Fälle durch maligne renale Neoplasien entstehen, können Zeichen eines bisher occult wachenden Nierenzellkarzinoms sein.²⁰¹

5 Prognosefaktoren

In den letzten Jahren ist die Zahl der meist zufällig entdeckten low-grade Tumoren des Nierenzellkarzinoms deutlich gestiegen. Diese Entwicklung, die größtenteils auf einen viel häufigeren Gebrauch von abdominellen Bildgebungsverfahren zurückzuführen ist, hat in weiterer Folge zu einer stärker frequentierten Anwendung von konservativen und minimalinvasiven Therapiemöglichkeiten wie beispielsweise der Nierenteilresektion und der Kryotherapie oder Radiofrequenzablation, geführt. Aus diesem Grund wird es immer wichtiger spezielle Prognosefaktoren zu entwickeln, die Risikogruppen indentifizieren können, um adäquate Therapieoptionen und Langzeitkontrollschemas zu definieren.²⁰² Die Rate der zufällig entdeckten Nierenzellkarzinome liegt in einem Bereich zwischen 15 und 61%. Dennoch wird die Diagnose Nierenzellkarzinoms mehrheitlich anhand tumorassoziierter Symptome gestellt. Wenn Patienten allerdings zum Zeitpunkt der Diagnose bereits tumorassozierte Symptome aufweisen, sinkt die tumorspezifische Überlebensrate um ein Drittel und das relative Risiko an dieser Erkrankung zu sterben steigt in multivariaten Datenanalysen auf 1,9. Die 5-Jahres Überlebensrate für Patienten mit zufällig entdeckten Nierenzellkarzinom liegt hingegen zwischen 85 und 97%.²⁰³

Die gebräuchlichsten klinischen Prognosefaktoren für das Nierenzellkarzinom sind das TNM-Staging, das Tumor-Grading und der Performancestatus (PS). Zusätzlich gibt es einige klinische und pathologische Charakteristika, die sowohl bei lokalisierten als auch bei fortgeschrittenen Tumorformen, Einfluss auf das klinische Verhalten und darausfolgend auf das Überleben der Patienten nehmen.²⁰⁴ Die Kriterien des von der Eastern Cooperativ Oncology Group (ECOG) eingeführten Performance Status (PS), dienen dazu die Krankheitsprogression und den Einfluss der Erkrankung auf die Aktivität und die Selbstständigkeit des Patienten zu objektivieren und sowohl die Therapie als auch die Prognose zu bewerten. In Tabelle 1 ist in der linken Spalte das ECOG-PS-Stadium und in der rechten die entsprechende Bedeutung zu sehen.²⁰⁵

Status	ECOG Performance
0	Voll aktiv, kann alle Tätigkeiten, die er vor der Erkrankung durchführen konnte, auch während dieser fortsetzen
1	<ul style="list-style-type: none"> • Eingeschränkt bei anstrengenden physischen Tätigkeiten • Wird ambulant therapiert • Kann sich selbst versorgen und körperlich weniger anstrengenden Arbeiten nachgehen (leichte Hausarbeit, Büroarbeit)
2	<ul style="list-style-type: none"> • Wird ambulant therapiert; kann sich selbst versorgen, aber keiner Arbeit nachgehen • Ist in mehr als 50% des Wachzustandes auf (sitzt und liegt nicht)
3	<ul style="list-style-type: none"> • Kann sich nur teilweise selbst versorgen • Ist in 50% des Wachzustandes auf ein Bett oder einen Sessel angewiesen
4	<ul style="list-style-type: none"> • Nicht mehr fähig sich zu versorgen • Komplette auf Sessel oder Bett angewiesen
5	Tot

Tabelle 1: ECOG-PS

Negativen Einfluss auf das Überleben haben, klinische Symptome zum Zeitpunkt der Nephrektomie, eine multiple Metastasierung, Metastasen zum Zeitpunkt der Nephrektomie oder innerhalb von 2 Jahren nach Nephrektomie. Ein Tumorthrombuslevel I-IV, schlecht differenzierte Karzinomzellen und koagulative Tumornekrosen wirken sich ebenso negativ aus. Für Patienten mit metastasierten Nierenzellkarzinom und einer tumorbedingten Klinik, gilt eine um 28% höhere Mortalitätswahrscheinlichkeit. Dennoch kann eine komplette Metastasenresektion mit einer verbesserten Überlebensrate in Zusammenhang gebracht werden.²⁰⁶

Motzer et al. haben 2002 mit den Motzer-Kriterien ein Prognosemodell für das metastasierte Nierenzellkarzinom unter Interferon- α Therapie entwickelt. In Tabelle 2 sind die jeweiligen Risikofaktoren und ihre Grenzwerte aufgelistet. Patienten mit einem geringen Risiko (0 Risikofaktoren) weisen laut diesen Kriterien eine mittlere Überlebenszeit von 30 Monaten auf. Jene mit einem mittleren Risiko (1-2 Risikofaktoren) haben eine mittlere Überlebenszeit von 14 Monaten und jene mit einem hohen Risiko (3 und mehr Risikofaktoren) eine mittlere Überlebenszeit von 5 Monaten.²⁰⁷

Risikofaktor	Grenzwert
niedriger Karnofsky-Index	<80%
hohe LDH	> 1,5-fache der Norm
niedriges Hb	< unterer Normwert
hohes korrigiertes Kalzium	> 10 mg/dl
Zeit von Tumornephrektomie bis Metastasenentstehung	< 1 Jahr

Tabelle 2: Motzer Kriterien

Wieviel prognostische Aussagekraft in den verschiedenen klinischen, anatomischen, histologischen und biologischen Markern tatsächlich steckt ist erst durch große prospektive Studien zu evaluieren.

Prognosefaktoren sollten klinisch relevant sein, eine signifikante Korrelation zu anderen bekannten Faktoren und deren Ergebnissen haben und eine unabhängige prognostische Signifikanz aufweisen. In einer 1997 veröffentlichten Studie wurden Prognosefaktoren die primär in drei Kategorien eingeteilt wurden jeweils wieder in patientenbezogene, tumorbezogene und therapiebezogene Kriterien unterteilt und untersucht. Allerdings scheint das Vorhandensein eines Tumorrezidivs, das einzig relevante therapiebezogene Prognosekriterium darzustellen.

Die patientenbezogenen Kriterien der ersten Kategorie, die allgemein verwendet werden und in der Literatur gut belegt sind, beinhalten die klinische Präsentation der Erkrankung, einen schlechten Performancestatus (ECOG-PS 2-3), einen Gewichtsverlust von mehr als 10% des Normalgewichts, eine Anämie, eine Hyperkalzämie, eine erhöhte Erythrozyten Sedimentationsrate, und eine erhöhte alkalische Phosphatase. Die tumorbezogenen Kriterien dieser Kategorie beinhalten die TNM-Klassifikation, das Tumorgrading, den histologischen Subtyp, einen sarkomatoiden Aufbau und den Tumorsektionsrand.

Die Kriterien der Kategorie zwei sind detailliert in klinischen oder biologischen und korrelativen Studien untersucht worden, versprechen teilweise auch eine prognostische Wertigkeit, die aber in multivariaten Datenanalysen nicht sicher bestätigt werden konnte. Hierzu zählen mit dem C-reaktiven Protein sowohl patientenbezogene aber auch tumorbezogene Faktoren. Diese setzen sich aus dem histologischen Zelltyp (Sammelrohrkarzinom), der Gestalt des Zellkerns, der Aneuploidie, aber auch aus Proliferationsmarkern zusammen.

Die Kriterien der Kategorie drei beinhalten Marker, die teilweise vielversprechend aber noch nicht ausreichend überprüft sind. Durch das Fehlen zuverlässiger prognostischer Werte erfüllen sie die Kriterien für die Gruppe eins oder zwei nicht.²⁰⁸

Neue molekulare Parameter, die sich teilweise auch mit denen der Kategorie drei aus dem Jahre 1997 decken und ein für das Nierenzellkarzinom relevantes prognostisches Potenzial aufweisen könnten, wurden 2005 veröffentlicht. Zu diesen neueren molekularen Parametern zählen hypoxieinduzierte Moleküle, Proliferationsmarker, Zellzyklusregulatoren und Zelladhäsionsmoleküle durch die Patienten zukünftig in allgemein gültige Risikogruppen eingeteilt werden könnten, aus denen spezifische Therapieschemen resultieren.²⁰⁹

2002 wurde mit dem SSIGN- (Stage-, Size-, Grade-, Necrosis-) Score ein Prognosemodell vorgestellt, das speziell für Patienten entwickelt wurde, die am klarzelligen Subtyp des Nierenzellkarzinoms erkrankt waren und einer radikalen Nephrektomie unterzogen wurden. Dieser Score erlaubt Klinikern, mehrere pathologische Tumorcharakteristika zu einer Variablen zu verbinden, die mit dem Outcome für Patienten in signifikanter Form korreliert. Zu den verschiedenen pathologischen Einflussfaktoren zählen, das Tumorstadium, der Lymphknotenbefall, das Vorliegen von Metastasen, die Tumorgröße, der Differenzierungsgrad und der Nachweis von Tumornekrosen. Den verschiedenen Tumorstadien und deren Malignitätsgrad, werden jeweils Zahlenwerte zugeordnet, die allesamt addiert eine Summe zwischen 0 und maximal 15 ergeben. Die Höhe des Zahlenwertes verhält sich umgekehrt proportional zu Überlebenszeit. Das wiederum bedeutet, dass mit dem steigenden Score, die krebsspezifische Überlebenswahrscheinlichkeit abnimmt. Prognosefaktoren sollten dazu dienen das Patientenmanagement zu verbessern und die Zuordnung von Probanden für Studien zu optimieren, um so die bestmögliche Entwicklung adjuvanter Therapiealgorithmen zu gewährleisten. In Tabelle 3 sieht man in der linken Spalte alle für den SSIGN-Score relevanten pathologischen Parameter und in der rechten Spalte die zugehörigen Zahlenwerte.²¹⁰

Relevante pathologische Variablen	Zugehöriger Wert
T-Stadium	
pT1	0
pT2	1
pT3a	2
pT3b	2
pT3c	2
pT4	0
N-Stadium	
pNx	0
pN0	0
pN1	2
pN2	2
M-Stadium	
M0	0
M1	4
Tumorgröße (cm)	
Weniger als 5cm Durchmesser	0
Mehr als 5cm Durchmesser	2
Differenzierungsgrad	
1 (gut differenziertes bösartiges Gewebe)	0
2 (mäßig differenziertes bösartiges Gewebe)	0
3 (schlecht differenziertes bösartiges Gewebe)	1
4 (nicht differenziertes bösartiges Gewebe)	3
Tumornekrosen	
Nicht vorhanden	0
Vorhanden	2

Tabelle 3: SSIGN-Score Berechnungstabelle

6 Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms

6.1 Nephrektomie bei metastasierten Tumorstadien

Im Falle des metastasierten Nierenzellkarzinoms, kann die Nephrektomie nur dann mit kurativer Ziesetzung erfolgen, wenn eine radikale Metastasenresektion möglich ist. Da sich 1-3% der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose mit einer einzelnen Metastase präsentieren, sollte in diesen Fällen die Metastasektomie simultan zur Nephrektomie durchgeführt werden. Sie kann aber auch im Intervall erfolgen.²¹¹ Bisher wurde davon ausgegangen, dass in ungefähr 30% der Fälle, bei Diagnosestellung eines Nierenzellkarzinoms eine Metastasierung vorliegt und von den Patienten mit einer initial lokalisierten Form dieses Malignoms, zwischen 30 und 50% im weiteren Krankheitsverlauf Metastasen entwickeln. In Anbetracht dieser Fakten, kommt es in nahezu zwei Drittel aller am Nierenzellkarzinom Erkrankten zur Filisierung.²¹² Neuere Daten einer Studie mit 1,862 Patienten, die an einem klarzelligem Nierenzellkarzinom erkrankt waren, zeigten allerdings, dass 6,1% zum Zeitpunkt der Nephrektomie bereits Metastasen aufweisen und von den insgesamt 1,714 primär nicht metastasierten (Nx, pN0 und M0) 19,4% im Laufe der Erkrankung Metastasen entwickeln.²¹³ Obwohl der gängigste Therapieansatz heutzutage größtenteils durch eine Immuntherapie abgedeckt ist, bestehen im Falle von solitären oder akut symptomatisch gewordenen Metastasen, klare Indikationen für eine Resektion der Metastasen. Bei radikaler Metastasektomie im Sinne einer R-0-Resektion, ist von einem kurativen Therapieansatz auszugehen. Bei akuten, symptomatischen Metastasen, handelt es sich mehrheitlich um eine palliative Maßnahme mit dem Ziel Lebensqualität zu erhalten. Die oftmals erwähnte spontane Regression des Nierenzellkarzinoms nach Tumornephrektomie ist allerdings eine Seltenheit, weshalb die strategischen Konzepte auf multimodalen Therapieansätzen basieren.

Insgesamt ist das Überleben von Patienten, denen pulmonale Metastasen entfernt wurden, höher als bei jenen mit Resektionen im Rahmen einer extrapulmonalen Metastasierung. Die Prognose ist auch für Patienten mit metachroner Metastasierung, die erst nach mehr als zwölf Monaten eintritt, besser als für jene die vorher Metastasen aufweisen.²¹⁴

Beim metastasierten Nierenzellkarzinom, gibt es für diejenigen Patienten, die körperlich und psychisch im Stande sind sich einer Behandlung zu unterziehen vier wesentliche therapeutische Möglichkeiten:

- 1.) die Nephrektomie und/oder Metastasektomie
- 2.) die zytoreduktive Nephrektomie, gefolgt von einer Immuntherapie
- 3.) eine neoadjuvante Immuntherapie, mit anschließender Nephrektomie (bei erfolgreicher Immuntherapie)
- 4.) eine alleinige Immuntherapie

Der Therapieansatz mit einer Tumor-und/oder Metastasenentfernung ist nur dann erfolgreich, wenn der primär- und die sekundär-Tumore im Sinne einer R-0-Resektion behandelt werden können. Wenn sich das Nierenzellkarzinom in Form einer multilokulären Metastasierung ausgebreitet hat, ist mit einer Nephrektomie alleine eine Heilung nicht möglich. Eine Lebensverlängerung kann unter diesen Umständen nur dann erreicht werden, wenn durch die Malignomentfernung eine bessere Kontrolle des Tumorwachstums hergestellt werden kann. Hierdurch kommt es zu einer Verminderung der Tumorlast und aufgrund der Entfernung möglicher Streuquellen wird das Risiko einer progredienten Metastasierung etwas herabgesetzt. Patienten mit Metastasektomie nach erstmaligem Wiederauftreten des Nierenzellkarzinoms zeigten eine 5-Jahres-Überlebensrate von 44%, wohingegen Patienten, die sich einer nur inkompletten beziehungsweise keiner Metastasektomie unterziehen, mit einem weitaus schlechterem Überleben von 14% rechnen müssen. Ein weiteres Ziel der Nephrektomie ist es, die Lebensqualität dadurch zu verbessern, dass tumorinduzierte Komplikationen gar nicht erst auftreten können. Diesbezüglich handelt es sich um Blutungen, die aufgrund ihrer Schwere ebenfalls zum Tod des Patienten führen können und andererseits um Schmerzzustände, die aus Tumornekrosen und Nervenkompressionen oder aus Hämaturie bedingten Koliken, resultieren können. Hauptsächlich entsteht die Schmerzsymptomatik aber durch das Einwachsen von Tumorzellen in nervales Gewebe oder Knochen. Die Therapie systemischer und paraneoplastischer Symptome mittels einer Nephrektomie ist nur dann sinnvoll, wenn keine weiteren Metastasen vorhanden sind. Der Zeitpunkt und die Sinnhaftigkeit der Nephrektomie müssen zwar weiter untersucht und hinterfragt werden, aber ohne die Entfernung des Primärtumors, ist es in keinem Therapieschema möglich eine komplette Tumorentfernung anzustreben.

Multivariate Analysen haben gezeigt, dass ein solitäres Tumorrezidiv, eine kurative Resektion der erstauftretenden Metastase, ein rezidivfreies Intervall von mehr als 12 Monaten und das metachrone Auftreten von Metastasen als günstige Prognoseparameter zu werten sind.²¹⁵

6.2 Die verschiedenen Ansätze der Immuntherapie

Das therapeutische Potential der Immuntherapie und insbesondere das der Zytokintherapie mit Interferonen und Interleukin-2, wurde in den letzten 30 Jahren bei Patienten, die an einem metastasiertem Nierenzellkarzinom erkrankt waren, außerordentlich intensiv untersucht und zeigen tendenziell eine positive Effizienz in Bezug auf Regression, Progression und Gesamtüberleben.²¹⁶ Die Grundlage der Immuntherapie geht darauf zurück, dass ein sehr geringer aber nachweisbarer Prozentsatz von Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom nach einer Nephrektomie eine Remission der Metastasen erfuhr. Dieser Verlauf wird als reaktive Immunantwort interpretiert obwohl in diesen speziellen Fällen keine Vermehrung der durch Lymphokine-aktivierten-Killerzellen, der lymphozytären Proliferationsrate oder der natürlichen Killerzellen nachgewiesen werden konnte.²¹⁷

6.2.1 Zytokintherapie

Die zwei am häufigsten verwendeten Zytokine, die in der Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms eingesetzt werden, sind das Interferon- α und das Interleukin-2. Interleukin-2 ist ein Zytokin, das von CD4- und CD8-positiven T-Lymphozyten gebildet wird und sowohl die Proliferation, bereits stimulierter zytotoxischer T-Zellen, als auch die Reifung der natürlichen Killerzellen unterstützt. Weiters nimmt es den Konterpart in Bezug auf immunsupprimierende Zytokine ein, wie beispielsweise das Interleukin-10. Interferone sind generell in zwei unterschiedliche Gruppen zu unterteilen.

Die erste Gruppe beinhaltet das Interferon- α , das von T-Lymphozyten exprimiert wird und das Interferon- β , das von Fibroblasten produziert wird. Sowohl Interferon- α als auch - β , binden an den identen Rezeptor und induzieren antiproliferative und antivirale Mechanismen in der Rezeptorzelle.

Die zweite Gruppe beinhaltet das Interferon- γ , welches dann von T-Lymphozyten produziert und ausgeschüttet wird, wenn diese mit einem entsprechenden Antigen in Kontakt treten. Dieses Interferon aktiviert zytotoxische T-Zellen und Phagozyten und erhöht die Antigenität von Tumorzellen, indem es die Anzahl von Humanen-Leukozyten-Antigen (HLA) -Klasse-1 Molekülen an deren Oberflächen steigert.²¹⁸ Da es sich bei Interferon- α um ein Zytokin handelt, dem antiproliferative und immunmodulatorische Einflüsse nachgewiesen werden konnten und es aufgrunddessen zu einer Tumorremission kommen kann, wäre es ratsam den Effekt einer Interferontherapie frühestens nach einer dreimonatigen Applikationsphase zu evaluieren. Zu den Patienten, die am besten auf eine Interferontherapie ansprechen sollten, zählen jene, die keine oder nur wenig Primärtherapie erfahren haben, die einen guten Performancestatus aufweisen und bei denen bisher nur Lungenmetastasen nachgewiesen werden konnten.²¹⁹ In einer großen Metaanalyse aus dem Jahre 2005, die aus 58 Studien aufgebaut war, wurden sowohl monotherapeutische Ansätze als auch verschiedenste Kombinationen der Zytokinbehandlung und deren Ergebnisse in Bezug auf die Remissionsrate und das Gesamtüberleben, miteinander verglichen.²²⁰ Der Vergleich einer intravenösen Hochdosis-Interleukin-2 Therapie mit der selben Medikationsapplikation, die nur ein Zehntel der Primärdosis ausmachte und einer subcutanen niedrig dosierten Interleukin-2 Therapie bei Patienten mit gutem Performancestatus und einem mittleren Alter von 40 bis 50, zeigte, dass die höhere Dosierung der i.v. Applikation mit 20%, eine um 7% höhere Remissionsrate aufwies als die niedrigere i.v. Dosierung, es aber keinen Unterschied im Gesamtüberleben gab. Die subkutane Applikation des Interleukin-2 lieferte die gleichen Ergebnisse wie die niedrige Dosierung des i.v. gegebenen Interleukins-2.²²¹ Auch der Vergleich einer Hochdosis-Interleukin-2 Therapie mit einer Kombination aus subkutan applizierten Interferon- α plus niedrig dosierten Interleukin-2 zeigte ein 3-jähriges progressionsfreies Überleben von 10% für die Hochdosistherapie und nur 2% für die Kombinationstherapie. Mit 23% war ebenfalls die Remissionsrate der Hochdosistherapie um 14% höher als die der Kombinationstherapie, allerdings konnte auch hier kein Vorteil für die eine oder andere Therapie in Bezug auf das Gesamtüberleben gefunden werden.²²² Insgesamt konnte in den soeben beschriebenen randomisierten Studien, bei 5-7% der Patienten mit hochdosierter Interleukin-2 Therapie und bei 0-2% der Kontrollarme eine komplette Remission der Erkrankung beobachtet werden. In den USA gilt die hochdosierte Form der Interleukin-2-Therapie aufgrund von dauerhaften kompletten

Remissionen, die in einigen klinischen Phase-II-Studien beobachtet wurden und die mit anderen Therapien nur sehr selten zu beobachten sind, als anerkannt.

In 39 der 58 Studien wurde Interferon- α als einer von mehreren Therapiezweigen eingesetzt und als einzige Immuntherapie mit nicht-immunologisch wirksamen Medikamenten verglichen. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Therapie mit Interferon- α effektiver war als eine Vielzahl nicht-immunologischer Therapievarianten. 5 Studien berichteten in diesem Zusammenhang über die entsprechenden Remissionsraten und das Überleben. In den Kontrollarmen von vier dieser Studien wurde Medroxyprogesteron und in einer Vinblastin verwendet.²²³ Einerseits wurde eine spezielle nicht-immunologische Therapie einmal mit und einmal ohne Interferon- α verabreicht, andererseits wurde Interferon- α alleine mit einer nicht-immunologischen Therapieform verglichen oder die gemeinsame Gabe von Interferon- α und Vinblastin mit einer Kontrolle verglichen.²²⁴ Die Patienten waren durchschnittlich 62 Jahre alt, 32% hatten einen Performancestatus von 0 und 86% der Studienteilnehmer waren primär nephrektomiert worden. Die Remissionsrate in den Interferon- α -Gruppen aller Studien war generell höher als die der Kontrollgruppen. In der Gruppe in der Vinblastin mit Interferon- α kombiniert wurde, konnte Vinblastin keine zusätzliche positive Wirkung aufweisen. Die Therapie mit Interferon- α zeigte in vier der fünf Studien eine signifikant geringere 1-Jahres-Mortalität und die durchschnittliche mittlere Überlebenszeit war bei der Interferon- α Therapie mit 11,4 Monaten um 3,8 Monate länger als bei den Kontrollen. Obwohl bei diesen Studien beide rekombinanten Interferonformen, Interferon- α -2a und Interferon- α -2b, eingesetzt wurden, gab es keine Unterschiede in Bezug auf die Remissionsraten oder das 1-Jahresüberleben.²²⁵

Die fünfte Studie beinhaltete einen Interferon- α Arm, einen Medroxyprogesteronarm, einen Arm mit subkutaner Interleukin-2 Gabe, einen mit der Kombination von subkutanen Interleukin-2 und Interferon- α und schloss nur Patienten mit intermediärer Prognose und mehr als einer Metastase mit ein. Patienten mit einem progressionfreien Intervall nach Nephrektomie von weniger als einem Jahr oder solche mit Lebermetastasen wurden ausgeschlossen.²²⁶ In dieser Studie konnten nur sehr wenige Remissionen beobachtet werden und das Gesamtüberleben zwischen den Armen war nicht zu unterscheiden. Der Grund für das nur geringe Ansprechen auf die Interferontherapie schien hier vorallem an der intermediären Prognose der Patienten zu

liegen. Trotz der in dieser Studie schlechteren Ergebnisse für Interferon im Vergleich zur Kontrolle weist die Metaanalyse dieser fünf Studien immer noch eine statistische Signifikanz auf.

Obwohl die Therapie mit Interferon keine mit Todesfällen assoziierte Toxizität aufwies, konnten verschiedene Nebenwirkungen der Therapie festgestellt werden. Hauptsächlich wurden grippeähnliche Symptome beobachtet, wie beispielsweise Krankheitsgefühl, Muskelschmerzen, Fieber, Appetitlosigkeit und Müdigkeit. Für gewöhnlich erlebten die Patienten einen Rückgang der Nebenwirkungsintensität im Laufe des Behandlungszeitraums, allerdings musste bei zu starker interferoninduzierter Toxizität eine Reduktion oder Unterbrechung der Therapie erfolgen.²²⁷

In weiteren drei Studien mit insgesamt 559 Patienten wurde die Wirkung von Interferon- α mit der von niedrig dosiertem Interleukin-2 verglichen. In jeder Studie gab es drei Gruppen, wobei eine die Interferon- α Therapie, eine die niedrig dosierte Interleukin-2 Therapie und die letzte Gruppe eine Kombination aus beiden Therapien verabreicht bekam.²²⁸ Unter den Studienteilnehmern der drei Studien konnte kein Unterschied zwischen der Interferon- α und der Interleukin-2 Therapie, in Bezug auf die Remissionsrate oder das 1-Jahresüberleben, gefunden werden. Im Vergleich wurde eine viel größere Zahl an Nebenwirkungen im Zusammenhang mit der Interleukin-2 Therapie beobachtet, als mit Interferon- α . Besonders deutlich konnte man diese Tatsache daran erkennen, dass die toxizitätsbedingte Müdigkeit, die bei beiden Therapievarianten eintreten kann, bei der Interleukin-2 Therapie doppelt so häufig zu diagnostizieren war.²²⁹

Neun weitere Studien haben sich damit befasst, inwieweit und mit welcher zusätzlichen medikamentösen Therapie man Interferon- α kombinieren könnte, um eine bessere Wirkung zu erzielen. Bei den zusätzlich eingesetzten Substanzen handelte es sich um Hormone, eine Vinblastin Chemotherapie, Interferon- γ , 13-cis Retinolsäure und diverse andere Wirkstoffe wie Aspirin sowie Cimetidin alleine oder mit Cumarinen.²³⁰ Die Kombination mit 13-cis Retinolsäure verbesserte zwar die Remissionsrate, führte aber auch zu mehr Nebenwirkungen und konnte das 1-Jahres Überleben nicht steigern. In Zusammenschau aller genannten Comedikationen konnte keine wesentliche Verbesserung der Remissionsraten oder der Überlebenszeit ermittelt werden.

Intensive Diskussionen begleiten die Fragestellung nach der Notwendigkeit einer operativen Tumorentfernung mit nachfolgender Gabe von Interferon- α , bei Patienten mit multipel metastasiertem Nierenzellkarzinom, da bei den meisten anderen mehrfach metastasierten malignen neoplastischen Erkrankungen, kein operatives Vorgehen mehr empfohlen wird.²³¹ Diesbezüglich wurde parallel sowohl in den USA als auch in Europa eine randomisierte Studie bei Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom und in Situ belassenen Primärtumoren durchgeführt. In beiden Studien wurden Patienten einmal mit versus einmal ohne primärer Nephrektomie verglichen. Zusätzlich wurde in beiden Gruppen postoperativ eine subkutane Interferon- α Therapie zu je 5 Millionen Einheiten drei mal pro Woche begonnen. Eine Zulassung für diese Studien wurde nur jenen Patienten erteilt, die einen operablen Primärtumor und einen ECOG-Performance Status von 0-1 aufwiesen.²³² Eine teilweise oder vollständige Remission konnte in 6% der insgesamt 331 Patienten beider Studien festgestellt werden, allerdings gab es keinen Hinweis auf einen signifikanten Unterschied zwischen den jeweiligen Kontrollgruppen. Trotz der geringen Remissionsinzidenz konnte in jeder der beiden Studien eine Verlängerung des Gesamtüberlebens erzielt werden. In der Gruppe mit den nephrektomierten Patienten konnte ein medianes Überleben von 12,6 Monaten berechnet werden, welches im Mittel um 4,8 Monate länger war als im Vergleich mit den nicht operierten Patienten. Das mediane Überleben für Patienten, die mit einem Performancestatus von 0 nephrektomiert wurden und anschließend eine Interferon- α Therapie erhielten, lag bei 17,4 Monaten und für die gleich therapierten Patienten mit einem Performancestatus von 1, bei 4,8 Monaten. Diejenigen, die eine Monotherapie mit Interferon- α erhielten und einen Performancestatus von 0 aufwiesen, zeigten ein medianes Überleben von 11,4 Monaten, das im Vergleich zu jenen Patienten, die einen Performancestatus von 1 hatten, um 6,9 Monate länger war. Dieser Überlebensvorteil innerhalb des ersten Jahres wird allerdings sowohl durch die Morbidität und die Risiken, die nach einer Nephrektomie auftreten können als auch durch die nötige postoperative Genesungsphase, die man bis zum Beginn der Interferon- α Therapie abwarten muss, in seiner Aussagekraft eingeschränkt. Von den 140 Patienten, an denen eine Nephrektomie durchgeführt wurde, mussten 18% postoperative Komplikationen hinnehmen, aber mit Ausnahme einer schweren Komplikation, konnten die meisten Patienten innerhalb von 4 Wochen postoperativ mit der Interferon- α Therapie beginnen.²³³ Besonderes Augenmerk sollte in diesen Fällen aber auf den Performance Status der Patienten gelegt werden, da

festgestellt wurde, dass sogar der Unterschied zwischen dem Performancestatus 0 und 1 einen größeren Einfluss auf die Prognose hatte, als die jeweiligen Therapien an sich.²³⁴

Aufgrund solcher Studien scheint es angemessen, bei einem vorselektionierten Patientengut mit metastasiertem Nierenzellkarzinom und einem hohen Performance Status eine Nephrektomie, sofern diese operationstechnisch möglich ist, zu empfehlen.²³⁵

Die Festsetzung von prätherapeutischen Merkmalen, die das Überleben prognostizieren können, ist von besonderer Wichtigkeit wenn es um das weitere therapeutische Vorgehen und die Interpretation von klinischen Studien geht.²³⁶

6.2.2 Chemotherapie

Bis heute gibt es keine standardisierte Therapie für Patienten mit fortgeschrittenem bzw. metastasiertem Nierenzellkarzinom. Bis Ende der 90er Jahre gabe es kein einziges Chemotherapeutikum, dass als Monotherapie oder in Kombination mit Interleukin-2 oder Interferon- α eine stärkere Wirkung aufwies als die jeweiligen Zytokine alleine. Zu diesem Zeitpunkt wurden Floxuridin und 5-Fluoruracil besonders intensiv untersucht. Letztere waren deshalb von besonderem Interesse, da sie nicht, wie andere Chemotherapeutika durch Mechanismen des Multidrug-Resistance-Proteins aus der Zelle geschleust wurden.²³⁷ Hrushesky et al. konnte 1990 durch eine kontinuierliche Floxuridine-Infusion, die in einem exakt definierten zirkadianen Rhythmus gegeben wurde, eine Ansprechrate von nahezu 20% nachweisen.²³⁸ 1995 wurde von Yagoda et al eine Studie mit 4000 Patienten, die am metastasierten Nierenzellkarzinom erkrankt waren, durchgeführt und festgestellt, dass insgesamt nur bei 6% ein Chemotherapie-assoziiertes Ansprechen zu erkennen war. In einer Subgruppe dieser Studie, die mit 5-Fluoruracil oder Floxuridin behandelt wurde konnte eine Ansprechrate von 14% gezeigt werden.²³⁹ In Summe beschränkte sich die Wirkung der verschiedenen Chemotherapien auf einige wenige Monate und war somit von sehr kurzer Dauer.²⁴⁰

Eine 1990 publizierte Studie von Fossa et al. mit 277 Patienten zeigte bei der Anwendung von Vinblastin noch geringere Ansprechraten von nur 4%.²⁴¹ In Anbetracht der nur gering bemessenen Überlebenszeit des metastasierten Nierenzellkarzinoms und einer spontanen Remissionsrate von weniger als 1% beziehungsweise maximal 5% nach zytoreduktiver Nephrektomie, wurde die Vinblastintherapie als ineffektiv gewertet.²⁴²

Die Studie von Haas et al. aus dem Jahr 2003, konnte diese Erkenntnis unterstützen²⁴³ Von 2000-2004 wurden ebenfalls zahlreiche Chemo- und Immuntherapeutika alleine oder kombiniert in Phase II- und III-Studien getestet.²⁴⁴

In der Studie von Ryan et al. aus dem Jahr 2002, fanden sich bei der Kombination von Gemcitabin mit 5-Floururacil oder die von 5-Floururacil mit einer Immuntherapie überprüft und es fanden sich Ansprechraten von 17% und 14,6%.²⁴⁵ Der Tausch von 5-Floururacil gegen Capacetabin in einer bereits existierenden dreifach-Kombinationstherapie von 5-Floururacil, Vinblastin und Interferon, bewies eine signifikante antitumorale Wirksamkeit und entsprechend der Studie von Oevermann et al. aus 2002, auch eine gute Verträglichkeit.²⁴⁶ Trotz des hohen Prozentsatzes an Patienten, die durch Capecitabin eine Krankheitsstabilisierung erfuhren, zeigte dieses Chemotherapeutikum nach einer Studie von Fizazi et al. 2003 nur eine begrenzte Wirksamkeit bei bereits fortgeschrittener Tumorerkrankung.²⁴⁷ Alle aktuellen verfügbaren Daten bezüglich einer Chemotherapie weisen darauf hin, dass es weder eine reproduzierbare antitumorale Wirksamkeit noch eine Verbesserung der Überlebenszeit von Patienten mit metastasiertem klarzelligen Nierenzellkarzinom gibt. Im Gegensatz dazu scheinen, bei Patienten mit metastasierten nicht-klarzelligen Neoplasien oder mit sarkomatoid differenzierten Tumoren der Niere, Chemotherapeutika wie Doxorubicin und Gemcitabin eine klinische Relevanz aufzuweisen.²⁴⁸

6.2.3 Radiotherapie

Die meisten Studien, die sich mit der Strahlentherapie des fortgeschrittenen Nierenzellkarzinoms beschäftigt haben, konnten keine Verbesserung des Langzeitüberlebens oder eine Reduktion der lokalen Remissionsraten nach postoperativer Strahlentherapie zeigen. Aus diesem Grund gilt das Nierenzellkarzinom im Rahmen der Primärtherapie als nicht-strahlensensibel. Die Radiatio konnte sich jedoch für den Einsatz als palliative Maßnahme bei Metastasen etablieren.²⁴⁹ Wenn man Nierenzellkarzinompatienten mit Knochenmetastasen kurzzeitig einer Radiotherapie mit moderaten Strahlendosen aussetzt, kann diese palliative Maßnahme für 30–50% der Patienten, vor allem im Hinblick auf die relativ geringe Lebenserwartung, sinnvoll sein.²⁵⁰ In diesem Zusammenhang wurde die Radiatio auch bei Hirnmetastasen eingesetzt.

Eine präoperative Bestrahlung liefert den Patienten keinen zusätzlichen Überlebensvorteil. Die postoperative Bestrahlung wird bei Tumorstadien mit perinephritischen Fettinvasionen, einer Invasion der Organgrenzen oder bereits der Nebenniere diskutiert.²⁵¹ Bei Patienten mit fortgeschrittenem Nierenzellkarzinom, das mit einer protrahierten Lebenserwartung verbunden ist, hat die Bestrahlung als Monotherapie keine ausreichende Wirkung auf das Überleben.²⁵² In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, dass die Kombination aus Immuno-Chemotherapie und Bestrahlung nicht nur durchgeführt werden kann sondern auch gut toleriert wird. Alle Patienten dieser Studie erfuhren eine deutliche Schmerzreduktion, die einen sehr wichtigen Teil des palliativen Konzeptes darstellt. 3 der insgesamt 20 Studienteilnehmer zeigten eine komplette, weitere 3 eine partielle Remission und 9 wiesen eine stabile Erkrankung auf. Bei den restlichen 5 Patienten kam es im Laufe der Kombinationstherapie zur Progredienz der Erkrankung. Wenn man diese Ergebnisse mit Daten früherer Literatur vergleicht in der entweder eine Immun- oder eine Radiomonotherapie eingesetzt wurde, kann suspiziert werden, dass diese Form der Kombinationstherapie möglicherweise eine verstärkte antitumorale Wirkung sowohl auf bestehende Knochenmetastasen als auch auf das lokale Wiederauftreten des Nierenzellkarzinoms hat.²⁵³

In 20-40% der Patienten mit systemischer Krebserkrankung breiten sich Metastasen auch auf das Hirn aus.²⁵⁴ Davon weisen nur 30-40% eine solitäre Hirnmetastase auf.²⁵⁵ Diese Patienten weisen zum Großteil eine schlecht Prognose auf. Mit einer Corticosteroidtherapie, liegt das mediane Überleben zwischen 1 und 2 Monaten und kann mit einer Ganzhirnbestrahlung auf maximal 6 Monate verlängert werden kann.²⁵⁶ Bei einer Kombination einer Ganzhirnbestrahlung mit stereotaktischer Radiochirurgie als Therapie von nicht resektablen singulären Hirnmetastasen, konnten bessere Ergebnisse in Bezug auf das Überleben erzielt werden, als bei alleiniger Bestrahlung des Hirns. Die stereotaktische Radiochirurgie führt zu keinen Nebenwirkungen und sollte wegen des positiven Einfluss auf den Performancestatus der Patienten, aber mit Berücksichtigung der Tumorgröße, gemeinsam mit der Ganzhirnbestrahlung als palliatives Konzept auch bei Patienten mit 2 bis 3 Metastasen in Betracht gezogen werden.²⁵⁷

6.2.4 Therapie mit zielgerichteten Wirkstoffen

Die Vertreter der zielgerichteten Therapieformen, wie beispielsweise Sorafenib, Sunitinib und Temsirolimus, die mittlerweile zur Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms sowohl als Primär- als auch als Sekundärtherapie eingesetzt werden, konnten bereits bessere Ergebnisse aufweisen, als frühere Studien mit Zytokinen.²⁵⁸ Obwohl diese Ergebnisse pro futuro sehr vielversprechend sind, darf nicht vergessen werden, dass eine komplette Tumorremission durch diese Therapeutika nur selten erzielt wird, da diese Tumoren teilweise durch Escape-Mechanismen von der Therapie unbeeinflusst weiterwachsen können.²⁵⁹

6.2.4.1 Sorafenib (Nexavar)

Bei diesem Medikament, handelt es sich um einen Hemmstoff, der sowohl die Serin- und Tyrosinkinase als auch die Rezeptortyrosinkinase blockiert und auf diese Weise die Gefäßneubildung und Vervielfältigung von Tumorzellen inhibiert. Dieser Wirkstoff wurde erstmals 2005 von der FDA und ein Jahr später von der EMA, als Zweitlinientherapie für jene Patienten mit fortgeschrittenem Nierenzellkarzinom zugelassen, bei denen die Primärtherapie mit Zytokinen entweder keine Wirkung zeigte oder aufgrund der Toxizität nicht mehr toleriert wurde.²⁶⁰

In der Zeit von November 2003 bis März 2005 wurden in einer Placebo-kontrollierten Phase-III –Studie wurden 903 Patienten mit fortgeschrittenem klarzelligem Nierenzellkarzinom und guter oder intermediärer Prognose nach Motzer in randomisierter Form entweder der Therapie mit Sorafenib oder der Placebogruppe zugeteilt. Der primäre Endpunkt dieser Studie war das Gesamtüberleben. Allerdings konnte in einer für 2005 geplanten Zwischenanalyse festgestellt werden, dass in der Sorafenib-Gruppe ein statistisch signifikanter Vorteil für das progressionsfreie Überleben nachgewiesen werden konnte. Das progressionsfreie Überleben lag in der Sorafenib-Gruppe mit 5,5 Monaten um 2,7 Monate höher als in der Placebogruppe weswegen nach einem Cross-over alle Studienpatienten der Therapie mit Sorafenib zugeführt wurden. Eine partielle Ansprechrate von 10% konnte in der Sorafenib-Gruppe und nur 2% in der Placebo-

Gruppe, festgestellt werden. Insgesamt reduzierte die Sorafenibtherapie zwar das Sterberisiko. Eine statistische Signifikanz konnte nicht ermittelt werden.²⁶¹

6.2.4.2 Sunitinib (Sutent)

Hierbei handelt es sich, wie bei Sorafenib, um einen Multikinaseinhibitor. Dieser Wirkstoff wurde erst im Jahr 2006 nach Versagen der Primärtherapie mit Zytokinen als Zweitlinienmedikament und im Jahr 2007 sogar als Erstlinientherapeutikum freigegeben.²⁶² In einer Multicenterstudie wurden 106 Patienten, die an einem zytokinrefraktären metastasierten klarzelligem Nierenzellkarzinom erkrankt waren, solange mit Sunitinib behandelt bis es zu einer Krankheitsprogression, nicht mehr akzeptablen Nebenwirkungen oder einem Ausstieg der Patienten aus der Studie, gekommen war. Die Ergebnisse der letztlich 105 analysierbaren Studienteilnehmer zeigten, dass bei 34% ein potentielles Ansprechen nachzuweisen war. Das mediane progressionsfreie Überleben lag bei 8,3 Monaten.²⁶³ Da Sunitinib als Therapie beim fortgeschrittenen zytokinrefraktären Nierenzellkarzinom erfolgreich eingesetzt werden konnte, wurde im Jahr 2007 eine klinische Phase-III-Studie begonnen, in der Sunitinib gegen Interferon- α , bei 750 Patienten mit nicht vortherapierten fortgeschrittenem klarzelligem Nierenzellkarzinom und guter oder intermediärer Prognose nach Motzer, verglichen wurde. Das mediane progressionsfreie Überleben war mit insgesamt 11 Monaten in der Sunitinibgruppe, um 6 Monate länger als in der Gruppe, die Interferon- α erhalten hatte. Ähnlich verhielten sich die objektiven Ansprechraten, die in der Sunitinibgruppe mit 31%, um 25% höher waren als die der Interferongruppe. Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass bei den mit Sunitinib behandelten Patienten gegenüber der Interferon- α -Gruppe ein längeres progressionsfreies Überleben und ein höheres objektives Ansprechen zu beobachten war.²⁶⁴

6.2.4.3 mTOR-Inhibitoren (Temsirrolimus (CCI-779), Everolimus)

Dieser Wirkstoff ist ein zielgerichteter Hemmer der mTOR (mammalian Target of Rapamycin)-Kinase, einem Signalprotein, das das Zellwachstum und die Angiogenese steuert. Im Jahr 2007 wurde eine dreiarmlige Studie begonnen in die 626 Patienten mit fortgeschrittenem Nierenzellkarzinom und schlechter Prognose eingeschlossen wurden.

Dabei wurde jeweils Temsirolimus und Interferon jeweils als Monotherapie und eine Kombination aus beiden Single-Therapien einander gegenüber gestellt. In der Zwischenanalyse dieser Studie konnte festgestellt werden, dass jene Studienteilnehmer, die mit Temsirolimus alleine therapiert wurden, ein signifikant höheres Gesamtüberleben aufwiesen, als jene, mit einer Interferon-Monotherapie. Die Ergebnisse, die zu einer vorzeitigen Studienbeendigung geführt hatten zeigten, dass das mediane Gesamtüberleben für jene Patienten, die nur eine Therapie mit Temsirolimus bekommen hatten bei 10,9 Monaten, für jene, die nur Interferon bekommen hatten bei 7,3 Monaten und für die, die eine Kombination aus beiden Präparaten verabreicht bekamen, bei 8,4 Monaten lag. Jene Patienten mit der Kombinationstherapie zeigten bemerkenswerter Weise kein signifikant längeres Überleben, als jene Patienten die eine Interferon-Monotherapie erhielten. Temsirolimus wurde als First-Line-Medikament für Patienten mit metastasierten Nierenzellkarzinom und schlechter Prognose empfohlen. Für Patienten mit guter und intermediärer Prognose gibt es keine Daten bezüglich einer First-Line-Therapie mit diesem Wirkstoff.²⁶⁵

2008 wurde eine doppel-blinde, placebokontrollierte, Phase-III-Studie bei Patienten mit metastasierten Nierenzellkarzinom durchgeführt, deren Erkrankung unter einer VEGF-gezielten Therapie fortgeschritten war. Von den 410 Patienten, wurden 272 in die Everolimus-Gruppe und 138 Patienten in eine Placebogruppe randomisiert. Auch diese Studie wurde nach der Zwischenanalyse aufgrund der signifikanten Unterschiede vorzeitig gestoppt. Zu diesem Zeitpunkt war es bei 37% der Everolimus-Gruppe und bei 65% der Placebogruppe zu einer Krankheitsprogression gekommen und das mediane progressionsfreie Überleben lag bei der Everolimus-Gruppe, bei 4 Monaten und war somit um 2,1 Monate länger, als das der Kontrollgruppe. In Summe konnte nach einer Therapie mit Everolimus im Vergleich zu einer Placebogabe beim fortgeschrittenen Nierenzellkarzinom mit frustraner VEGF-gezielter Therapie ein signifikant längeres progressionsfreies Überleben nachgewiesen werden.²⁶⁶

6.2.5 Antikörpertherapie

Mögliche Kombinationen verschiedener Therapieansätze mit Antikörpern werden derzeit in Studien untersucht.²⁶⁷ Die bisherigen Ergebnisse versprechen vor allem für Kombinationstherapien mit Bevacizumab ein zu beachtendes Potential in Bezug auf die Progression von bereits fortgeschrittenen Nierenzellkarzinomen.²⁶⁸

6.2.5.1 Bevacizumab (Avastin)

Die Bildung neuer Blutgefäße ist ein wichtiger Schritt im Wachstum von Tumoren und Metastasen. Der Vascular Endothelial Growth Factor ist ein spezieller Mediator in diesem Prozess, und wird auch in größeren Mengen in soliden Tumoren nachgewiesen. Mit Bevacizumab ist ein Wirkstoff entwickelt worden, der speziell diese angiogenesfördernden Faktoren bindet und hemmt. Bevacizumab ist, ein humanisierter monoklonaler Antikörper, der den VEGF-Rezeptor-1 und -2 erkennt und so die biologisch aktive Form des VEGF, die an diese Rezeptoren bindet. Mit Bevacizumab konnte bei Tumoren unterschiedlicher Genese die antiangiogenetische und antitumoröse Aktivität unter Beweis gestellt werden.²⁶⁹ In einer plazebokontrollierten Phase-II-Studie wurden von 116 Patienten, die primär eine Interleukin-2 Therapie bekommen hatten, 39 Patienten mit metastasierten Nierenzellkarzinom einer Hochdosis-, 37 einer Niedrigdosis-Antikörpertherapie und 40 einer Plazebogabe unterzogen. Ein Cross-over der Patienten, im Falle einer Krankheitsprogression, von der Plazebogruppe in die Gruppe mit der Bevacizumabtherapie war möglich. Die Zwischenanalyse ergab, dass das progressionsfreie Intervall der Gruppe mit der Hochdosis-Antikörpertherapie sowohl nach vier als auch nach acht Monaten signifikant über dem der Niedrigdosis-Therapie und der Plazebo-Gruppe lag. Die Studie wurde vorzeitig abgebrochen, da das Intervall bis zur Tumorprogression im Vergleich der Hochdosistherapie-Gruppe zur Plazebo-Gruppe um den Faktor 2,55 signifikant länger war. Die abschließende Analyse zeigte zwar, keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf das Gesamtüberleben, aber die Bevacizumab-Therapie wies eine deutliche Verlängerung des progressionsfreien Intervalls beim metastasierten Nierenzellkarzinom auf.²⁷⁰ 2007 wurden in einer multizentrischen Phase-III-Studie 649 Patienten mit einem primär unbehandelten fortgeschrittenen Nierenzellkarzinom und überwiegend guter bis intermediärer Prognose nach Motzer in zwei Gruppen mit einer Kombinationstherapie randomisiert. Die eine Gruppe erhielt Bevacizumab und Interferon- α -2a, die zweite eine Kombinationstherapie aus Interferon- α -2a plus einem Plazebo. Da während der laufenden Studie neue Zweitlinienmedikamente zugelassen wurden, musste die Studie zu diesem Zeitpunkt „entblindet“ werden. 325 Patienten der Bevacizumab plus Interferon- α -2a Gruppe und 316 der Interferon- α -2a plus einem Plazebo Gruppe, erhielten zumindest eine Dosis der

Studientherapie. Das mediane progressionsfreie Überleben lag in der Gruppe mit Bevacizumab plus Interferon- α -2a Gruppe bei 10,2 Monaten und war um 4,8 Monate länger als in der Kontrollgruppe. Insgesamt kam es in der Bevacizumabgruppe zu acht und in der Kontrollgruppe zu sieben Todesfällen. In drei Todesfällen der Bevacizumab-Gruppe wurde ein Zusammenhang mit der Antikörpertherapie vermutet. In dieser Studie zeigte die first-line Kombinationstherapie mit Bevacizumab und Interferon bei Patienten mit metastasierten Nierenzellkarzinom ein signifikant besseres progressionsfreies Überleben als eine alleinige Interferontherapie.²⁷¹

6.2.5.2 Antikörper gegen Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)

Die grundsätzliche Idee, den EGF-Rezeptor als Ansatz für eine tumorzielte Therapie einzusetzen liegt darin zu begründet, dass Veränderungen der durch diesen Rezeptor vermittelten Signaltransduktion einen immanenten Einfluss auf die Tumorproliferation hat.²⁷² In einer Studie an der 88 Patienten mit metastasierten Nierenzellkarzinom teilnahmen wurde Panitumumab, ein humaner Immunglobulin-G2 monoklonaler Antikörper als Zweitlinientherapie eingesetzt, der speziell gegen den EGF-Rezeptor ausgerichtet ist. Bei 76 Studienpatienten wurde eine immunhistochemische Färbung der Gewebeproben durchgeführt wobei in 91% der EGF-Rezeptor nachgewiesen werden konnte. Ein komplettes Ansprechen auf die Therapie konnte bei drei Patienten festgestellt werden, partiell sprachen 2 Patienten an. In den ersten acht Wochen der Studie wiesen 50% der 88 Probanden ein stabiles Krankheitsstadium auf und das mediane progressionsfreie Überleben lag bei 100 Tagen. Besonders auffallend war, dass der Schweregrad des kokomitanten Exanthems mit dem progressions-freien Überleben in Zusammenhang gebracht werden konnte. Im Gegensatz dazu konnte bei Patienten mit einem niedrigen Hämoglobin und erhöhter alkalischer Phosphatase ein erniedrigtes progressionsfreies Gesamtüberleben beobachtet werden. Insgesamt wurde das Medikament gut toleriert, allerdings war das objektive Ansprechen auf diese Form der Zweitlinientherapie gering.²⁷³

In einer multizentrisch aufgebauten Phase-II-Studie, an der 55 Patienten mit fortgeschrittenem Nierenzellkarzinom teilnahmen, wurde Cetuximab als Monotherapie verabreicht. Mit Einsatz dieses Antikörpers, der gegen den EGF-Rezeptor gerichtet ist, konnte weder eine komplette noch eine partielle Remission erzielt werden. Da das

progressionsfreie Intervall, im Vergleich zu Daten, die mit Interferon- α erhoben wurden, besonders gering war, wurde empfohlen, keine weitere Untersuchung mit einer alleinigen Cetuximabtherapie durchzuführen.²⁷⁴

Ein weiterer Vertreter der EGF-Rezeptorblocker ist Erlotinib, der in einer Studie gemeinsam mit dem VEGF-Blocker Bevacizumab als Therapie bei Patienten mit fortgeschrittenem Nierenzellkarzinom eingesetzt wurde. Die Studienteilnehmer wurden nach 2 Monaten reevaluiert, allerdings sollte die Medikation bei Therapieansprechen bis zum Einsetzen einer möglichen Krankheitsprogression weitergenommen werden. Ein Viertel der Patienten zeigte nach dieser Zeit ein objektives Ansprechen auf die Kombinationstherapie und bei weiteren 61% konnte ein stabiles Krankheitsstadium nachgewiesen werden. 14% des Kollektivs wiesen zu diesem Zeitpunkt allerdings eine Krankheitsprogression auf. Das mediane Gesamtüberleben konnte zum Zeitpunkt der Veröffentlichung noch nicht ermittelt werden, allerdings lag das mediane progressionsfreie Überleben nach einem Jahr bei 11 Monaten und das Überleben nach 18 Monaten bei 60%. Der gemeinsame Einsatz und die Effektivität dieser, an zwei unterschiedlichen Punkten ansetzenden Antikörper, erzielt möglicherweise bessere Ergebnisse, als wenn diese in Form einer Monotherapie eingesetzt werden.²⁷⁵

6.2.6 Leitlinien zur Therapie des fortgeschrittenen Nierenzellkarzinoms

2008 wurde ein Therapieschema des National Comprehensive Cancer Networks (NCCN) für Patienten mit fortgeschrittenem Nierenzellkarzinom veröffentlicht. Die einzelnen Untergruppen wurden den Prognosekriterien nach Motzer entsprechend, in niedrige, mittlere und hohe Risikogruppen unterteilt. Als first-line Therapie für ein niedriges und mittleres Risiko wurden dem Empfehlungsgrad und der Wichtigkeit nach zuerst Sunitinib (Grad-1), dann Bevacizumab plus Interferon- α (Grad-1), und zuletzt Temsirolimus als Grad-2b beziehungsweise für nicht klarzellige Histologien als Grad-2a-Empfehlung, vorgeschlagen. Patienten mit einem hohen Risiko sollten unabhängig von der Tumorhistologie Temsirolimus als (Grad-1)-Empfehlung bekommen.

In der second-line Therapie gelten alle Therapieempfehlungen, wiederum dem Empfehlungsgrad und der Wichtigkeit nach, für sämtliche Risikogruppen. Auch hier

wurde Sunitinib bzw. Sorafenib als Grad-1-Empfehlung nach Zytokinen und als Grad-2a-Empfehlung nach Tyrosinkinaseinhibitoren vorgeschlagen. Darauf folgend wurde Temsirolimus mit Grad-2a nach Zytokinen und Grad-2b nach Tyrosinkinaseinhibitoren empfohlen. Den dritten Platz in der Reihenfolge der Zweitlinientherapie nahm Everolimus ein und wurde als Grad-1 Empfehlung nach einer Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren gehandhabt. An letzter Stelle der second-line Therapien wurde Interferon- α , eine Hochdosis-Interleukin-2 Therapie und eine Bevacizumab Therapie mit Grad-2b und eine Niedrigdosis-Interleukin-2-Therapie mit oder ohne Interferon- α als Grad-3 Therapie empfohlen. In Abbildung 4 sind die NCC-Leitlinien zur Therapie des Nierenzellkarzinoms nochmals dargestellt.²⁷⁶

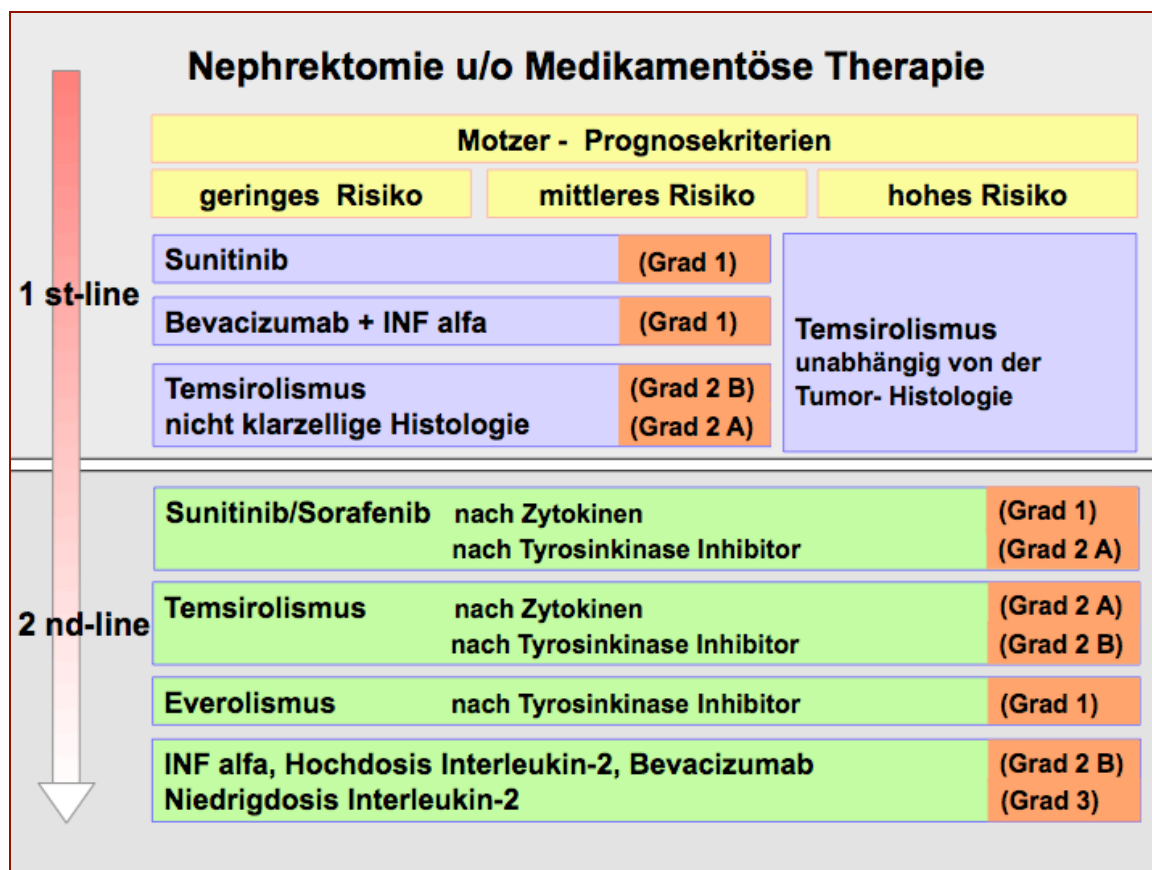


Abbildung 4: NCC-Leitlinien zur Therapie des Nierenzellkarzinoms

7 Einfluss von B7-H1 und B7-H3 auf das klarzellige Nierenzellkarzinom

7.1 Das Glykoprotein B7-H1 (B7homolog1, PD-L1, CD274)

Eine adäquate T-Zellfunktion des menschlichen Immunsystems ist deshalb von immanenter Wichtigkeit, da durch sie einerseits Pathogene erfolgreich ausgeschaltet werden können, andererseits aber bei einer Funktionsstörung der T-Zellen daraus autoimmunologische Prozesse und Krebserkrankungen resultieren können. Die Aktivierung und Reaktion der T-Zellen auf ein Antigen ist einerseits von stimulierenden und andererseits von hemmenden Cofaktoren, abhängig. Diese cofaktoriellen Einflüsse erfolgen primär durch eine Interaktion zwischen Molekülen der B7 Familie und deren CD28 Rezeptoren.²⁷⁷ Das bekannteste Erklärungsmodell für Co-Signale der T-Zell Aktivierung ist die 2-Signal-Hypothese, wobei das erste Signal dadurch entsteht, dass der T-Zell Rezeptor (TZR) mit einem Antigen in Kontakt tritt, das über den Major-Histocompatibility (MHC)-Komplex einer Antigen-präsentierenden Zelle (APZ), wie beispielsweise einer dendritischen Zelle oder einem Makrophage, vermittelt wird. Das zweite Signal entsteht durch die Bindung des Co-Rezeptors (Co-R) der T-Zelle an seinen Co-Liganden (Co-L), der sich auf der Antigen-präsentierenden Zelle befindet. Dieses zweite Signal ist das eigentlich entscheidende, da der Co-Rezeptor entweder stimulierend oder hemmend auf den Antigenstimulus und letztlich die T-Zelle wirkt. In Abbildung 5 ist die Interaktion zwischen einer Antigen-präsentierenden Zelle (APZ) und einer T-Zelle zu sehen. Das Bild A beschreibt den hemmenden Einfluss eines Co-Rezeptors (Co-R) und das Bild B den stimulierenden Einfluss.²⁷⁸

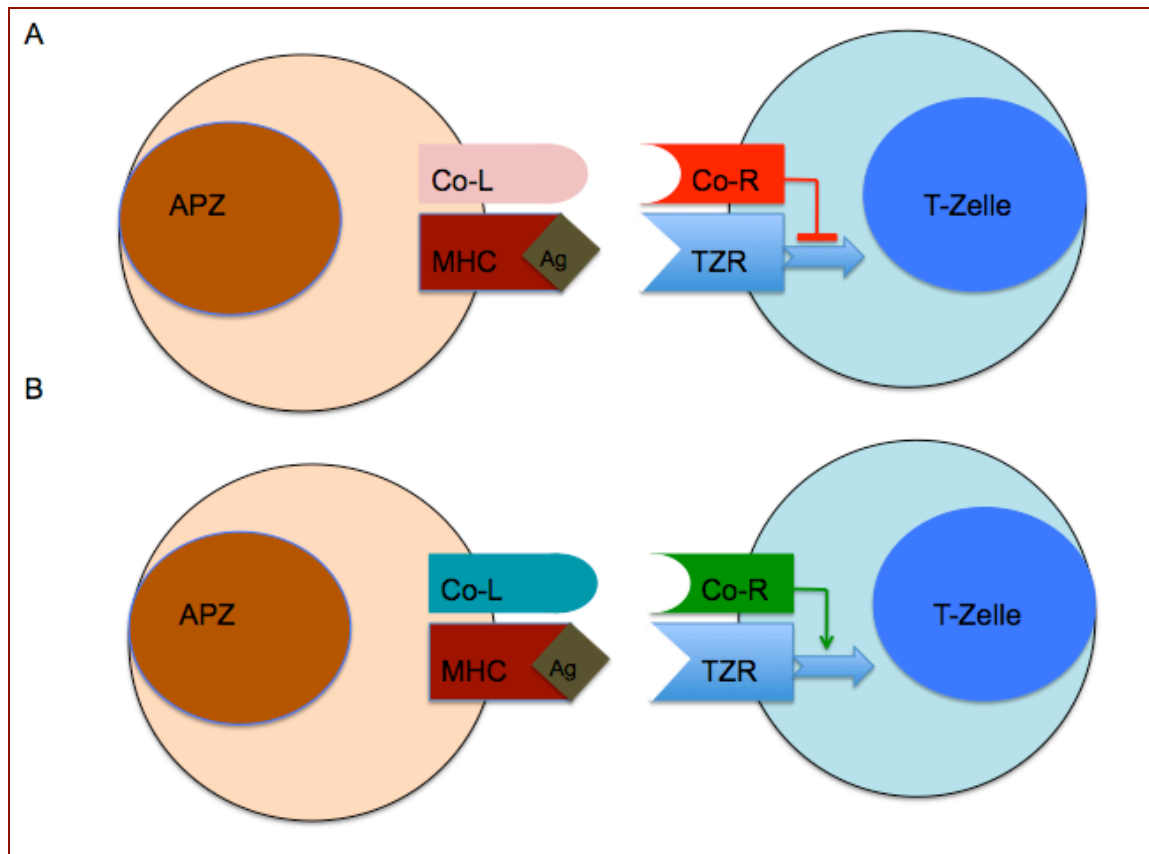


Abbildung 5: 2-Signal-Hypothese

Die B7 Familie beinhaltet sieben Mitglieder: B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), B7h (CD275), B7-H1 (PD-L1=CD274), PD-L2 (B7-DC=CD273), B7-H3 (CD276) und B7x (B7-H4 oder B7S1). Diese können wiederum in Gruppen eingeteilt werden. Die Gruppe I besteht aus B7-1, B7-2 und B7h, die Gruppe II aus PD-L1 und PD-L2 und die Gruppe III aus B7x und B7-H3. Die entsprechenden Rezeptoren für die Gruppe I sind CD28, Cytotoxic-T-Lymphocyte-Antigen-4 (CTLA-4) und Inducible Co-Stimulator (ICOS) allerdings bindet B7-1 auch an Programmed-Death-Ligand 1 (PD-L1). Für die Gruppe II dient Programmed-Death-1 (PD-1) als Rezeptor aber für die Gruppe III konnten die zugehörigen Rezeptoren noch nicht eindeutig zugeordnet werden.²⁷⁹ Neben dem bereits bekannten B7-1 und B7-2 wurde das B7-H1 Molekül erstmals 1999 von Dong et. al als damals drittes Mitglied der B7 Familie entdeckt. Bisher stellten die Moleküle der B7 Familie einen wichtigen kostimulatorischen T-Zell-Aktivierungspfad dar, der wiederum eine antigenspezifische humorale- und zellmedierte Immunantwort initiiert. B7-H1 bindet zwar nicht an Rezeptoren wie, CD-28, CTLA-4 oder ICOS, führt aber über einen anderen Rezeptor zu einem T-Zellwachstum und einer Interleukin-10 Sekretion, die wiederum mit einer verminderten zellulären Immunantwort, erhöhter Immunglobulinproduktion und Anergie der zytotoxischen T-Zellen assoziiert ist.²⁸⁰ Die

B7-H1 mRNA kann in nahezu allen Geweben des Menschen nachgewiesen werden, allerdings ist die Zellmembran assoziierte Proteinexpression auf eine Zelllinie der Makrophagen und Untergruppen von aktivierten T-Lymphozyten beschränkt.

Die T-Zellfunktionen, wie Aktivierung, Proliferation, Gedächtnisfunktion und Zytolyse, aber auch Aktivitätsmangel bis hin zur Unempfindlichkeit und programmierter Zelltod, hängen von einem sensiblen Gleichgewicht ab, das von positiven und negativen Signalen beeinflusst wird. Kostimulatorische Moleküle können, abhängig von Zeitpunkt und Ort, den Antrieb, das Wachstum, die Differenzierung und die funktionelle Reifung von T-Lymphozyten steuern. Positive Signale führen beispielsweise zu einer verstärkten antigenspezifischen T-Zellaktivierung und negative zu einer Inaktivierung oder sogar zum Zelltod der Selben. Mittlerweile konnte festgestellt werden, dass das B7-H1 Protein durch Interaktion mit entsprechenden Rezeptoren anderer T-Lymphozyten, diese in ihrer gesamten Aktivität und speziell der antitumoralen Wirkung, hemmen kann. Die B7-H1 Expression konnte sowohl beim Nierenzellkarzinoms als auch bei weiteren malignen Neoplasien, wie dem Mamma-, Colon- und Lungenkarzinom, nachgewiesen werden. Daraus resultiert die Theorie, dass vor allem die Überexpression dieses Moleküls, der antitumoralen Immunabwehr entgegenwirkt und so auch den Einfluss immunologischer Therapien schwächt.²⁸¹ Weitere Studien lassen vermuten, dass B7-H1 sowohl eine positive als auch eine negative T-Zellantwort herbeiführen kann, da dieses Molekül einerseits in lymphatischen Geweben eine Aktivierung von naiven T-Lymphozyten erleichtert und andererseits sowohl in peripheren Geweben als auch soliden Tumoren, aktivierte T-Lymphozyten und T-Lymphozyten mit Gedächtnisfunktion, hemmen kann.²⁸² Zu den positiv immunologisch beeinflussenden Coregulatoren gehören zum Beispiel OX-40 und 4-1BB. Eine gegenteilige Wirkung zeigen die Koinhibitoren B7-H1, PD-1 oder CTLA-4, die in weiterer Folge die T-Zellfunktion herunterregulieren oder das Überleben und die Autoantigenerkennung vorzeitig beenden. Man vermutet, dass an dieser Stelle auch der Ursprung und die Ursache für Autoimmunerkrankungen zu suchen ist.²⁸³

In vitro Untersuchungen konnten zeigen, dass eine B7-H1 Expression auf Tumorzellen, verstärkt zu einer Apoptose der aktivierten T-Lymphozyten führen und in diesem Zusammenhang eine B7-H1 Expression auf aktivierten T-Zellen nicht nur das Überleben, sondern auch die Funktion der T-Lymphozyten herabsetzen kann. Die tumorassoziierte

Inhibierung der T-Zell medierten Immunität entsteht durch eine Interaktion zwischen dem B7-H1 Glykoprotein auf Tumorzellen und dem PD-1 Rezeptor oder einem noch nicht identifizierten nicht-PD-1 Rezeptor auf T-Zellen, da es in weiterer Folge zu einem Stillstand der lymphozytären Zellzyklusprogression kommt. Diese Daten lassen vermuten, dass B7-H1 einerseits die organspezifische Toleranz im normalen gesunden Gewebe reguliert und andererseits das Tumorwachstum erleichtert, weil sich die neoplastischen Zellen der immunologischen Kontrolle durch eine Art Escape-Mechanismus entziehen können.²⁸⁴

Der (PD-1) Rezeptor gehört zur B7 Familie der kostimulatorischen Moleküle, die Signale von antigenspezifischen Rezeptoren der T-Zellen modulieren und so die Aktivierung oder Inaktivierung und das Überleben der T-Lymphozyten mitbeeinflussen.²⁸⁵ Eine Expression des PD-1 Glykoproteins konnte bisher auf aktivierten T- und B-Zellen sowie auf Makrophagen und reifen dendritischen Zellen nachgewiesen werden.²⁸⁶ B7-H1 (=PD-L1), bindet im Gegensatz zu B7-1 und -2 weder an CD-28 noch an CTLA-4, aber gemeinsam mit B7-DC (PD-L2) als bisher einzige Liganden an den PD-1 Rezeptor. Versuche mit Mäusen deuten darauf hin, dass PD-1 als ein negativer Regulator der Immunantwort wirkt, da es bei PD-1-inaktivierten Mäusen zu autoimmunologischen Prozessen in Form von Glomerulonephritiden, Arthritiden oder Kariomyopathien kam.²⁸⁷ Eine 2007 veröffentlichte Studie zeigte in diesem Zusammenhang, dass der PD-1 Rezeptor vor allem von mononukleären Immunzellen exprimiert wird, die Nierenzellkarzinome infiltrieren und diese Tumore häufiger einen signifikant größeren Durchmesser, ein höheres Grading und überregionale Lymphknotenmetastasen aufweisen. Auch das spezifische Sterberisiko und die Gesamtsterblichkeit waren bei Tumoren mit PD-1 positiven infiltrierenden Immunzellen erhöht.²⁸⁸

In Tierversuchen mit genetisch identen Mäusen konnte gezeigt werden, dass eine Blockade der B7-H1 Proteine mittels spezifischer Antikörper, auf künstlich übertragenen B7-H1 positiven Tumorzellen, die antitumorale Aktivität der T-Lymphozyten um vieles verstärkte und hiermit ein möglicher weiter zu untersuchender Therapieansatz im Zusammenhang mit B7-H1 positiven malignen Neoplasien, entdeckt wurde.²⁸⁹ Interessanterweise zeigt die Studie von Dong et al., dass sich das B7-H1 Molekül aber nicht auf den Zelloberflächen des proximalen Tubulussystems der Nierenrinde nachweisen lässt, die eigentlich dem Ursprung des Nierenzellkarzinoms entspricht.²⁹⁰

In einer rezenten Studie wurde die B7-H1 Glykoproteinexpression und das Überleben von Patienten mit einem Nierenzellkarzinom korreliert. Die Analyse ergab, dass eine erhöhte B7-H1 Expression mit einem drei Mal höheren Risiko vergesellschaftet war an dieser Erkrankung zu versterben. Gleichfalls konnte der Nachweis erbracht werden, dass ein erhöhter Level an tumorinfiltrierenden B7-H1 positiven Lymphozyten ebenfalls mit einer gesteigerten krankheitsspezifischen Sterberate assoziiert ist. Die Kombination beider Variablen ergab einen noch aussagekräftigeren Parameter für das Überleben der Patienten und korrelierte zusätzlich mit dem Befall regionärer Lymphknoten, der Metastasenbildung, einem höheren Grading, und Tumornekrosen.²⁹¹ Die Frage nach dem Langzeitüberleben von Patienten mit B7-H1 exprimierenden Nierenzellkarzinomen, hat gezeigt, dass die 5-Jahres-Überlebensrate von Patienten mit positiven B7-H1 Tumoren bei 42% und ohne B7-H1 Expression bei 83% liegt. Dieses erhöhte Sterberisiko konnte auch in multivariaten Studien bestätigt werden, die ebenfalls das Stadium der Lymphknotenmetastasierung, das Grading, den Performancessatus und SSIGN-Score mitberücksichtigen.²⁹²

Das Glykoprotein B7-H1 repräsentiert eine Zielstruktur für zukünftige antitumorale Immuntherapien und bietet sich eventuell auch als nützlicher Prognosefaktor für das Überleben von Nierenzellkarzinompatienten oder deren Ansprechen auf immunologische Therapieansätze an.²⁹³

7.2 Das Glykoprotein B7-H3

Die Rolle der B7-H Moleküle (B7-H1, -H2, -H3, -H4) in der Tumorentstehung und in Bezug auf immunologische Einflüsse, ist bislang noch nicht eindeutig geklärt. Obwohl die Expression der B7-H Moleküle prinzipiell auf lymphoide Zellen beschränkt ist, konnten diese auch an Zelloberflächen einiger humaner maligner Tumoren nachgewiesen werden. Bisher konnte gezeigt werden, dass die Expression von B7-H1 und B7-H4 auf Tumorzellen des klarzelligen Nierenzellkarzinoms, nicht nur mit schlechten pathologischen Tumoreigenschaften, sondern auch mit einer geringen Überlebensrate korreliert. Der Grund dafür scheint auch hier darin zu liegen, dass das Immunsystem durch diese Liganden neutralisiert wird.

Die Mechanismen, die die Expression regulieren sind noch nicht klar dargelegt. So findet man die B7-H3 mRNA einerseits in mehreren gesunden Geweben, sie wird aber auch von Monozyten und dendritischen Zellen exprimiert. Andererseits wird dieses Glykoprotein ebenso von den Zellen des klarzelligem Nierenzellkarzinoms als auch vom malignomassoziierten Gefäßsystem gebildet.²⁹⁴ CD4- und CD-25 positive T-Zellen sind in vivo in unmittelbarer Nähe von dendritischen Zellen zu finden und beeinflussen deren funktionellen Reifungsstatus dahingehend, dass die dendritischen Zellen vermehrt das inhibitorisch wirkende B7-H3 Protein hochregulieren und dadurch zu einer verminderten Bildung von MHC-Peptid-Komplexen und in weiterer Folge zu einer verminderten Stimulation der T-Zell-Funktion führen. Letztendlich induzieren diese T-Zellen im Gegenzug die Bildung eines immunsupprimierend wirkenden Phänotyps der dendritischen Zellen.²⁹⁵ Letztes Jahr konnte bereits eine lösliche Form des B7-H3 Proteins entdeckt werden, die von Monozyten, dendritischen Zellen, aktivierten T-Zellen und ausschließlich B7-H3 positiven Tumorzellen freigesetzt wurde. Diese freigesetzte aktive Form des B7-H3 Glykoproteins, die durch eine Matrix-Metalloproteinase von den Zelloberflächen gelöst wird, kann an einen B7-H3 Rezeptor auf aktivierten T-Zellen binden und diese regulatorisch beeinflussen.²⁹⁶

In einer 2008 veröffentlichten Studie wurde erstmals untersucht inwieweit die B7-H3-Glykoproteinexpression das Outcome von Patienten mit klarzelligem Nierenzellkarzinom beeinflusst. Insgesamt wurden 743 Patienten mit einem unilateralem klarzelligem Nierenzellkarzinom, die zwischen 1990 und 1999 einer Nierenteilresektion oder Nephrektomie unterzogen wurden, in die Studie aufgenommen. Die Färbungen der verschiedenen Schnitte mit dem Antikörper war auf allen glykoprotein-positiven Schnitten gleich intensiv, im Gegensatz dazu zeigte das angrenzende nichttumorale B7-H3-negative Nierenparenchym keine positive Antikörperreaktion und konnte somit nicht angefärbt werden. Die B7-H3 Expression der Zellen des klarzelligem Nierenzellkarzinoms und die symptomatische Präsentation, ein großer Tumordurchmesser, ein fortgeschrittenes TNM-Stadium, ein höheres Grading, Tumornekrosen und eine vorhandene sarkomatoide Differenzierung konnten allesamt in eine statistisch signifikante Beziehung gesetzt werden. Auch erhöhte B7-H3 Expressionen in Tumorgefäßen waren signifikant mit schlechteren klinischen und pathologischen Merkmalen assoziiert. Nierenzellkarzinompatienten, mit B7-H3 positiven Tumorzellen oder diffuser Tumorgefäßexpression dieses Moleküls, hatten ein 3 mal

höheres Risiko an ihrer Grunderkrankung zu versterben als jene die dieses Glykoprotein nicht exprimierten. Die Studienergebnisse zeigten, dass die B7-H3 Expression der Tumorzellen und der Tumorgefäße, statistisch signifikant mit mehreren prognostisch negativen klinischen und pathologischen Faktoren in Verbindung gebracht werden konnte. In Zusammenhang mit dem klarzelligen Nierenzellkarzinom erinnert das Expressionsprofil und die damit verbundene Prognose von B7-H3 an jenes von B7-H1 und B7-H4. Mit Letzterem teilt sich B7-H3 noch die Eigenschaft, dass beide Glykoproteine von Tumorgefäßen des klarzelligen Nierenzellkarzinoms verstärkt exprimiert werden. B7-H3 könnte in der Zukunft selbst einen prognostisch wertvollen Marker darstellen, um Patienten mit lokalisierten Tumoren, aber gleichzeitig hohem postoperativen Risiko für eine Progression der Grunderkrankung, herauszufiltern und eventuell einer adjuvanten Therapie zuzuführen.²⁹⁷

8 Studie

Expression der Glykoproteine B7-H1 und B7-H3 auf Tumorzellen von Patienten mit metastasiertem klarzelligem Nierenzellkarzinom. Einfluss der Glykoproteine auf die Prognose.

8.1 Ziel der Studie

Für Patienten mit der Diagnose metastasiertes klarzelliges Nierenzellkarzinom galt seit dem Jahr 1998 an der Universitätsklinik für Urologie des LKH Graz, die Kombination aus Interferon- α und Interferon- γ als Standardtherapie. Die bisherigen Studienergebnisse zu dieser Form der Therapie, waren international aufgrund besonders niedriger Ansprechraten eher enttäuschend. Im Jahr 2006 gab es mit den Tyrosinkinaseinhibitoren, erstmals die Hoffnung auf eine besser wirkende Medikation, die allerdings nur als Second-line-Therapie, nach Versagen von Interferon oder dem Auftreten von Unverträglichkeiten, zum Einsatz kam. Zum heutigen Zeitpunkt werden die Tyrosinkinaseinhibitoren bereits als first-line Medikamente eingesetzt.

Das Ziel der Studie war die B7-H1 und B7-H3 Expression auf den Tumorzellen jener Patienten zu analysieren, die im Laufe ihrer Erkrankung Metastasen entwickelt hatten und eine Interferontherapie bekommen hatten. Die Gruppe, die B7-H1 und B7-H3 exprimierte, wurden mit jener Gruppe, bei der diese Glykoproteine nur schwach oder gar nicht exprimiert wurden, verglichen. Weiters wurde untersucht, ob jene pathologischen Parameter, die durch den SSIGN-Score zusammengefasst wurden, mit dem Überleben und der Glykoproteinexpression der Probanden korrelierte. Für die Studie wurde postuliert dass jene Patienten, die durch die Interferontherapie profitierten, keine oder nur geringe Expressionmengen der Glykoproteine B7-H1 und B7-H3 auf den Tumorzelloberflächen aufweisen müssten. Vize versa würde sich auch das bessere Ansprechen auf die Interferontherapie erklären. Bei entsprechender Bestätigung dieser Annahme, könnte man in weiterer Folge bereits zum Zeitpunkt der Erstoperation, wenn noch keine Metastasierung vorliegt, die Hochrisikopatienten detektieren und diese eventuell einer adjuvanten Therapie zuführen.

8.2 Material und Methoden

Initial wurden 250 Patienten evaluiert, die sich einer Nephrektomie unterzogen hatten und zum Zeitpunkt der Operation oder im weiteren Verlauf der Erkrankung Metastasen eines klarzelligem Nierenzellkarzinoms entwickelt haben. Zu den in die Studie eingeschlossenen Probanden zählten alle jene Patienten, die an einem metastasierten klarzelligem Nierenzellkarzinom erkrankt waren und in der Zeit zwischen 1995 und 2006, zumindest für 3 Monate, eine Interferontherapie an der Universitätsklinik für Urologie des LKH Graz bekommen hatten. Als relevante Parameter, die erhoben wurden, zählte der OP-Zeitpunkt, die Tumorgröße, das TNM-Stadium, die Metastasenlokalisation zum Zeitpunkt der OP, der Differenzierungsgrad, das Vorhandensein von Tumornekrosen oder einer sarkomatoiden Differenzierung, der Zeitpunkt einer allfälligen Metastasektomie, die Dauer der Interferontherapie, eine Therapieumstellungen, die letzte urologische Kontrolle, der letzte dokumentierte Arztbesuch, sowie das Überleben. Insgesamt konnten nach diesen Vorgaben 78 Patienten in die Studie aufgenommen werden. Die histopathologischen Schnitte die ausschließlich durch die Befundnummern jener 78 Patienten gekennzeichnet waren, wurden anschließend am Institut für Pathologie Graz, in Unkenntnis der Diagnose, der Patientenidentität oder der Krankengeschichte erneut von einem Pathologen befundet. Nach der Reevaluierung wurden 33 histologische Schnitte als nicht eindeutig klarzellige Nierenzellkarzinome eingestuft, weshalb letztlich 45 Patienten in der Studie verblieben. In Zusammenarbeit mit dem Zentrum für medizinische Grundlagenforschung wurden, die für beide Antikörperfärbungen jeweils doppelt vorhandenen histologischen Schnitte der 45 Patienten, immunhistochemisch bearbeitet.

8.2.1 Färbemethode des Tumorgewebes

Der Antigen-Nachweis der gesuchten Glykoproteine B7-H1 und B7-H3 erfolgte anhand der Bindung eines gegen das Antigen gerichteten Antikörpers. Für B7-H3 wurde der Anti-human B7-H3 Antikörper (R&D Systems, Cat.no. AF1027) verwendet und gegen das B7-H1 Glykoprotein der Anti-CD274 Hasen-Antikörper (Novus Biologicals, no. NBP1-03220) eingesetzt. Eine Visualisierung dieser Bindung konnte nur über einen zweiten Antikörper erreicht werden. Dies wird dadurch ermöglicht, dass ein Zweitantikörper eingesetzt wird, der gegen die Immunglobuline der Spezies gerichtet ist,

in der der Erstantikörper produziert worden war. Da für die Detektionsreaktion dem Zweitantikörper das Enzym Meerrettichperoxidase angeheftet wurde, konnte im letzten Schritt, nach Hinzugabe des Substrats 3,3' Diaminobenzidin (DAB), ein brauner Niederschlag in den Bereichen des Schnittes mit positiver Reaktion, beobachtet werden. Damit der Antikörper das Antigen überhaupt erkennen konnte, war es nötig ein sogenanntes „Antigen-retrieval“ durchzuführen. Zu diesem Zweck müssen initial sämtliche Quervernetzungen, die durch die Fixierung entstanden sind mittels Hitze gelöst und die Schnitte von Paraffin befreit werden. Zu Vorbehandlung, des auf den Objektträgern vorhandenen Tumorgewebes, gehört ebenfalls die Neutralisierung der gewebeeigenen Peroxidase. Dies erfolgt mittels einer Lösung von H₂O₂ in Methanol.

8.2.1.1 B7-H3

Parallel zur Färbung der B7-H3 Glykoproteine, mittels der zuvor beschriebenen zweistufigen Antikörperbindung wurde eine Färbung von Negativkontrollen durchgeführt. Da es sich um Paraffinschnitte der klarzelligen Nierenzellkarzinome handelte, wurden diese zuerst in einen Objektträgerbehälter geschichtet und dann bei 65 Grad Celsius für 30 Minuten in einem Inkubator erhitzt. Anschließend wurden die Objektträger für die weitere Bearbeitung deparaffiniert und rehydriert. Dafür wurden diese, für 2 Mal 4 Minuten in eine Xylollösung, dann jeweils 4 Minuten lang in 100%iges, 70%iges und 50%iges Ethanol getaucht und schließlich für jeweils 2 Minuten in destilliertem Wasser und phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) gebadet. Nach dieser Prozedur wurden die Schnitte in einen Behälter mit der Dako Cytomation Target Retrieval Solution mit dem pH 9,0 geschichtet, dann in der Biocare Medical Decloaking Chamber für 10 Minuten bei 120 Grad Celsius gekocht und innerhalb von 30 Minuten wieder auf 85 Grad Celsius abgekühlt. Nach dreimaliger Reinigung der Objektträger für jeweils 10 Minuten in PBS wurde in weiterer Folge der Peroxidaseblock durchgeführt, wodurch die spezifischere Färbung des Tumorgewebes unterstützen und eine unspezifische Färbung des Hintergrundgewebes durch den Antikörper verhindert wird. Dies erfolgt in einem Gemisch aus 58 ml Methanol plus 2 ml 30%iger H₂O₂ Lösung, für circa 20 Minuten. Danach werden die Schnitte, erneut 3 Mal für je 10 Minuten in PBS gewaschen.

Nach dieser Vorbehandlung wird im ersten Schritt der Anti-human B7-H3 Antikörper (R&D Systems, Cat.no. AF1027) eingesetzt werden. Zu diesem Zweck wird dieser Antikörper mit Dako Antikörperdiluent (S080981) im Verhältnis 1:20 verdünnt. Die Gesamtmenge der Lösung setzte sich aus dem Produkt der Objektträgeranzahl und den 150-200 µl, die von diesem Gemisch pro Slide gebraucht wurden, zusammen. Parallel dazu wird ein zweiter Schnitt jedes einzelnen Tumorpräparates mit der Goat-IgG-Negativkontrolle (Fa. Linaris) behandelt, die aber zuvor ebenfalls mit dem selben Antikörperdiluent in einem Verhältnis von 1:1000 verdünnt wird. Um eine optimale Voraussetzung für die Anbindung der Antikörper an die jeweiligen Antigene zu schaffen werden die Proben im Shannon-System für 30 Minuten inkubiert. Nach diesem Prozedere, werden die Schnitte erneut jeweils 3 Mal mit der phosphatgepufferten Salzlösung „gereinigt“.

In einem zweiten Schritt wird der Rabbit anti goat HRP-Antikörper (Fa. Dako), der an den Anti-human B7-H3 Antikörper binden sollte in einer Konzentration von 0,5 g/l mit dem Antikörperdiluent, in einem Verhältnis von 1:150 gemischt, 200 µl davon in jede Kammer des Shannon-Systems pipettiert und für weitere 30 Minuten inkubiert. Danach wurden alle Slides wieder 3 Mal mit PBS „gewaschen“. Abschließend werden die Schnitte, mit einem Gemisch aus 20 µl 3, 3'-Diaminobenzidin (DAB) und 1 ml Substratpuffer, benetzt. Da die Detektionsreaktion bei fast allen Schnitten sehr stark war, wurde dieser Vorgang nach 10 Sekunden, mittels Eintauchen der Schnitte in PBS, abgebrochen, um eine zu starke Braunfärbung des Gewebes zu verhindern. Abschließend, wurden alle Schnitte für 3-10 Sekunden mit Hämalaun nach Mayer gegengefärbt und dann durch ein zweiminütiges Bad in heißem Wasser gebläut. Als letzter Schritt wurden die Proben zur Dehydrierung in aufsteigender Reihenfolge für jeweils 2 Minuten in 50%iges, 70%iges, 90%iges, 100%iges Ethanol und letztlich Xylol eingelegt. Nach Applikation von Xylol (Tissue Tek Coverslipping Resin) werden die Gewebeproben mit einem Deckglas versehen.

8.2.1.2 B7-H1

Die Färbung des B7-H1 Glykoproteins wurde nach einem fast identen Schema durchgeführt. Nachdem alle Proben deparaffiniert und rehydriert wurden, wurden die Schnitte wie bei der B7-H3 Färbung behandelt und in der Biocare Medical Decloaking

Chamber für 10 Minuten bei 120 Grad Celsius gekocht und innerhalb von 30 Minuten wieder auf 85 Grad Celsius abgekühlt. Nach dem Waschen in PBS wurde in weiterer Folge ein Peroxidaseblock durchgeführt. Um bei der Färbung mit dem Anti-CD274 Hasen-Antikörper (Novus Biologicals, no. NBP1-03220) eine unspezifische Hintergrundfärbung bestmöglich zu minimieren, wurde auf jedem der Schnitte zusätzlich ein Ultra-V-Block für 5 Minuten durchgeführt. Anschließend wurde wiederum eine Anti-CD274 Antikörper-Antikörperdiluent-Lösung im Verhältnis von 1:200 angefertigt, die einerseits zu einem Teil aus Antikörpern und andererseits aus Dako-Antikörperdiluent bestand. Im gleichen Arbeitsschritt wurde für die Behandlung der Zweitschnitte jedes einzelnen Tumorpräparates, die Rabbit-IgG-(I-1000) Negativkontrolle von Linaris in einem Verhältnis von 1:1000, ebenfalls mit dem selben Antikörperdiluent wie zuvor, verdünnt. Nachdem jeweils einer der doppelt vorhandenen 45 Objektträger, einmal mit 200 µl der Anti-CD274-Antikörper-Antikörperdiluent-Lösung und der Zweite mit 200 µl der Rabbit-IgG-(I-1000) Negativkontrolle von Linaris benetzt wurde, wurden alle Schnitte für 30 Minuten in einer Humid Chamber inkubiert, um optimale Voraussetzungen für die Anbindung der Antikörper an die jeweiligen Antigene zu schaffen. Nach erfolgter Reinigung mit PBS werden die Proben mit dem Primary Antibody Enhancer benetzt und für weitere 10 Minuten in der Humid Chamber inkubiert. Nach einer neuerlichen PBS-Reinigung wurden die Schnitte mit dem HRP Polymer benetzt, für 30 Minuten in der Humid Chamber aufbewahrt und wieder mit PBS „gereinigt“. Um eine erfolgreiche Färbung des B7-H1 Glykoproteins sehen zu können, mussten alle 90 Objektträger, ebenfalls mit einem Gemisch aus 20 µl 3, 3'-Diaminobenzidin (DAB) und 1 ml Substratbuffer, benetzt werden. Die abschließende Färbung und Fixierung der Präparate wird in exakt gleicher Weise wie bei der B7-H3-Darstellung durchgeführt.

8.2.2 Digitalisierung und Bearbeitung der Schnitte

Nachdem alle 45 Tumorgewebeproben mit den entsprechenden Antikörpern gefärbt worden waren, wurden alle Schnitte eingescannt und digitalisiert. Zu diesem Zweck wurde das Aperio Technologies Scan Scope Modell T3 verwendet. Hierbei handelt es sich um einen Scanner, der in der Lage ist, Proben von Gewebeschnitten je nach Objektiv in 20-facher beziehungsweise 40-facher-mikroskopischer Vergrößerung einzuscannen und mit einer entsprechend hohen Auflösung zu digitalisieren. Für diese Studie wurde

eine maximal 20-fache Vergrößerung gewählt, da hier bereits die Tumorzellmembranen und Zellkerne ausreichend darstellbar waren. Mit der entsprechenden Scan Scope Software konnte man den genauen Bereich auf dem Objektträger in dem sich der Gewebeschnitt befand und der digitalisiert werden sollte, eingrenzen. Für die Bearbeitung und Analyse kam die Image Scope Software von Aperio Technologies zur Anwendung. Mit dieser Software wurde jene Stellen des Tumorgewebes, die eine positive Antigen-Antikörper Reaktion aufwiesen und aufgrund dessen eine Braun-Färbung zeigten, ermittelt und analysiert. Mit Hilfe des Positive-Pixel-Count Algorithmus des Image Scope Programms konnte die Anzahl der Pixel mit einer spezifischen Färbung im gescannten Schnitt quantifiziert werden. Aufgrund der Tatsache, dass in den einzelnen Gewebeschnitten nicht nur Tumorgewebe, sondern auch eingefärbte Gefäßlumina, Bindegewebe, Fettgewebe und einzelne Artefakte zur Darstellung kommen, wurde bei jeder Gewebeprobe eine Referenz-Region definiert, die ausschließlich Tumorgewebe beinhaltet. Nach der Definition des Analysebereiches, wurde der Positive-Pixel-Count (PPC-) Algorithmus gestartet. Die Eingabeparameter für die gesuchte Farbe, wurden bereits vom Hersteller für die Quantifizierung brauner Farbtöne vorgegeben und für die Studie verwendet. Auf der Basis von numerisch bestimmten Farbwerten, die für die Farben Rot (0,0), Grün (0,33) und Blau (0,66) festgelegt waren, resultiert für die Farbe Braun, ein Zahlenwert von 0,1, der sich aus der Verknüpfung von Rot und Grün ergab. Der Erkennungsprozess der eingefärbten Areale basiert auf dem HSI (Hue=Farbton, Saturation=Farbsättigung, Intensity=Farbintensität)-Kreis, welcher in Abbildung 6 zu sehen ist und dessen Einstellungen in der Eingabetabelle für den PPC-Algorithmus verändert werden können. Sämtliche wesentliche Parameter und zugeordnete Werte des Positive-Pixel-Count Algorithmus, sind in Tabelle 4 aufgelistet.²⁹⁸

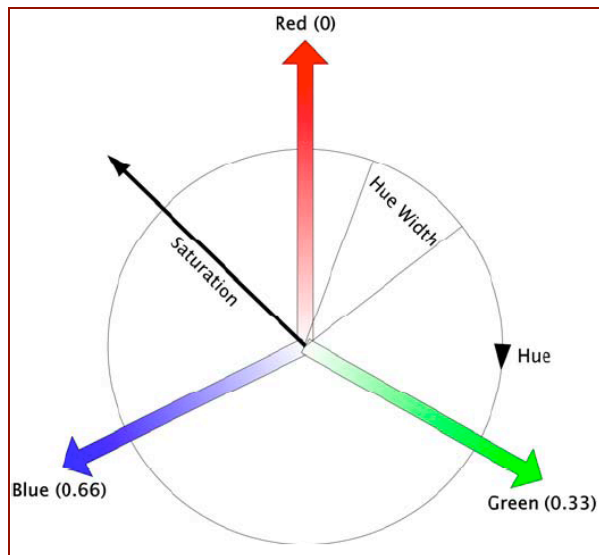


Abbildung 6: HSI-Kreis

View Width	Breite des histologischen Bildes	1052
View Height	Höhe des histologischen Bildes	520
Overlap Size	<ul style="list-style-type: none"> • Gesamtbild besteht aus Blöcken/Feldern; • stellt den Wert der Überschneidung dar • der Wert der Überschneidung ist vorhanden um sicher zu gehen, dass alle Felder nur einmal bearbeitet werden 	0
Image Zoom	1.0 = 100% der Pixel werden bearbeitet	1
Hue Value	<ul style="list-style-type: none"> • beschreibt einen definierten Farbtonwert auf dem Farbkreis, den das Programm entdecken soll und der genau einer Zahl zugeordnet ist(geht von 0-1); • 0,0=Rot, 0,1= Braun, 0,33=Grün, 0,66=Blau; • wird durch alle einzelnen Punkte, die auf der Linie des Kreisumfangs liegen, repräsentiert 	0,1
Hue Width	<ul style="list-style-type: none"> • Schwankungsbreite der Farbtöne, die einen definierten Farbtonwert umgibt und deren Farbtonwerte als die Gesuchten gelten; • diese beeinflusst die Erkennung der Farbtöne der histologischen Gewebeprobe (liegt zwischen 0 und 1); 	0,5

	<ul style="list-style-type: none"> • der Wert sollte zwischen 0,33 und 0,5 gewählt werden; • z.B soll nur ein spezieller Brauntön ausgewertet werden müsste Hue Width auf 0 gesetzt werden • wird durch einen kegelförmigen Anteil der Kreisfläche repräsentiert 	
Color Saturation Treshold	<ul style="list-style-type: none"> • Verlangte Sättigung oder „Reinheit“ des positiven Farbtons; • RGB-Werte werden in Grau+Farbe dargestellt; • kann zwischen 0,0 und 1 liegen; • 1=keine Grautöne, nur Farbe=100%ige Sättigung; • Pixel mit einer geringeren als der gewählten Sättigung, werden nicht gewertet • Die verschiedenen Sättigungsgrade sind auf der Linie des Kreisradius verteilt • Ein stärkeres Rot liegt weiter außen nahe der Kreislinie, ein schwächeres nahe dem Kreismittelpunkt 	0,04
Iwp (High)	<ul style="list-style-type: none"> • Obere Intensitätsgrenze für schwach-positive Pixel; • Pixel, die eine niedrigere Intensität als Iwp besitzen aber die Farbton-/Sättigungslimits nicht erreichen werden als negativ gewertet 	220
Iwp (Low) = Ip (High)	<ul style="list-style-type: none"> • Iwp (Low)=Untere Intensitätsgrenze für schwach positive Pixel; • Ip (High)=Obere Intensitätsgrenze für positive Pixel 	175
Ip (Low) = Isp (High)	<ul style="list-style-type: none"> • Ip (Low)=Untere Intensitätsgrenze für positive Pixel; • Isp (High)= Obere Intensitätsgrenze für stark positive Pixel 	100

Isp (Low)	Untere Intensitätsgrenze für stark positive Pixel	0
Intensity	<ul style="list-style-type: none"> • Wird nicht durch den Farbkreis repräsentiert; • Ist das Maß der Helligkeit eines Pixels; • Ist proportional zur Menge an Licht, die durch einen Schnitt gelangt; • Je größer die Helligkeit eines Pixels, desto größer ist die Intensität • Stellt den Durchschnitt der Rot+Grün+Blau Werte; dar ($=R+G+B/3$); • Reicht von 0 (=schwarz) bis 255 (=hell,weiß) 	

Tabelle 4: PPC-Algorithmus Eingabedaten

Die Eingabeparameter des PPC-Algorithmus erlauben es, die gesuchte, positive Pixelfarbe zu definieren und schwach-positive, positive und stark-positive Grenzwerte für die Intensität festzulegen. Die Intensität ist proportional zur Menge an Licht, die durch einen Schnitt durchgeht, das heißt, je höher die Intensität, desto heller, schwächer positiv und weniger intensiv wird ein Pixel bei der Messung wahrgenommen. Die Stärke, Intensität und Helligkeit des Pixel-Brauntons im gefärbten und eingescannten Tumoreal wurde vom PPC-Algorithmus durch die Farben Rot, Orange und Gelb in einer „Pseudo-color mark-up Darstellung“ visualisiert. Jedes Braun-positive Pixel wurde in einem Intensitätsbereich von 220-175 als gelbes (=schwach positiv), im Intervall von 175-100 als oranges (=positiv) und bei Werten von 100 bis 0 als rotes (=stark positiv) Pixel dargestellt. Alle Braun-negativen Pixel kommen als blauer Farbton zur Darstellung. Abbildung 7 zeigt sehr deutlich die Beziehung zwischen Intensität und Helligkeit. Je intensiver beispielsweise der Branton eines Pixels ist, desto geringer muss die Helligkeit sein und desto geringer ist die Intensität.

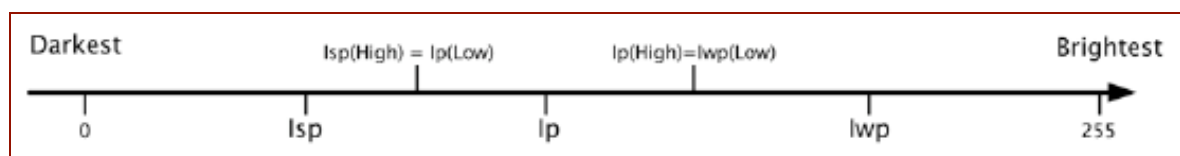


Abbildung 7: Verhältnisgrafik von Intensität und Helligkeit

Die „Pseudo-color mark-up Darstellung“ des bearbeiteten Schnittes machte es möglich die vorgegebenen Eingabeparameter, dahingehend zu vergleichen, ob im eingescannten Gewebeschnitt, nicht nur die gewünschte Braunfärbung und deren unterschiedliche Intensitäten als positive Pixel ausgewertet wurden, sondern auch alle braun-negativen Bereiche als negative-Pixel eingestuft wurden. Der Algorithmus addiert die Anzahl und Farbintensitäten jener Pixel, die die positive Farbvorgabe erfüllen und sortiert diese nach deren durchschnittlichen Intensität, dem Verhältnis der stark-positiven Pixel zur Gesamtpixelzahl sowie der Intensität der schwachen und positiven Pixel. Die wichtigsten Ergebnisvariablen des PPC-Algorithmus wurden in Tabelle 5 zusammengefasst.

Nwp	Anzahl der schwach positiven Pixel (gelbe Pixeldarstellung)
Np	Anzahl der positiven Pixel (orange Pixeldarstellung)
Nsp	Anzahl der stark positiven Pixel (rote Pixeldarstellung)
Iwp	Summe der Intensitätswerte für schwach-positive Pixel
Ip	Summe der Intensitätswerte für positive Pixel
Isp	Summe der Intensitätswerte für stark-positive Pixel
Iavg	Durchschnittliche Intensität für alle Pixel
Nsr	Verhältnis der stark positiven Pixel zur Gesamtpixelanzahl
Iwavg	Durchschnittliche Intensität von schwachen- und positiven Pixel gemeinsam
Nn	Anzahl der negativen Pixel
In	Summe der Intensitätswerte für alle negativen Pixel
Ntotal	Summe aller im definierten Bereich vorhandenen Pixel
Positivity	Verhältnis der negativen-Pixel zur Gesamtzahl der Pixel

Tabelle 5: PPC-Algorithmus Ausgabedaten

Der Prozentsatz der positiven Antigen-Antikörperreaktion, oder anders ausgedrückt, der positiven Braunfärbung im Tumorgewebe der Gewebeprobe, wurde wie folgt berechnet. Die Summe der drei verschiedenen positiven Pixelwerte ($N_{wp}+N_p+N_{sp}$) errechnet sich aus der Subtraktion der N_n von N_{total} . Um den prozentuellen Anteil der gesamt-positiven Pixelfärbung des definierten Bereichs zu berechnen, wurde die gesamt-positiv Pixelfärbung durch die Gesamtpixelzahl dividiert.

Durch die Verwendung des Scan Scope Gerätes und der Imagescope Software, konnte eine objektive Darstellung, Messung und Quantifizierung, der im Tumorbereich gesuchten Glykoproteine B7-H1 und B7-H3 durchgeführt werden.

In Abbildung 8, 10, 12 und 14 ist das digitalisierte mikroskopische Bild des Tumorgewebes nach Färbung mit dem Anti-B7-H1-Antikörper einmal ohne Bearbeitung und in Abbildung 9, 11, 13 und 15 einmal nach Bearbeitung mit dem Positive-Pixel-Count (PPC) Algorithmus, zu sehen.

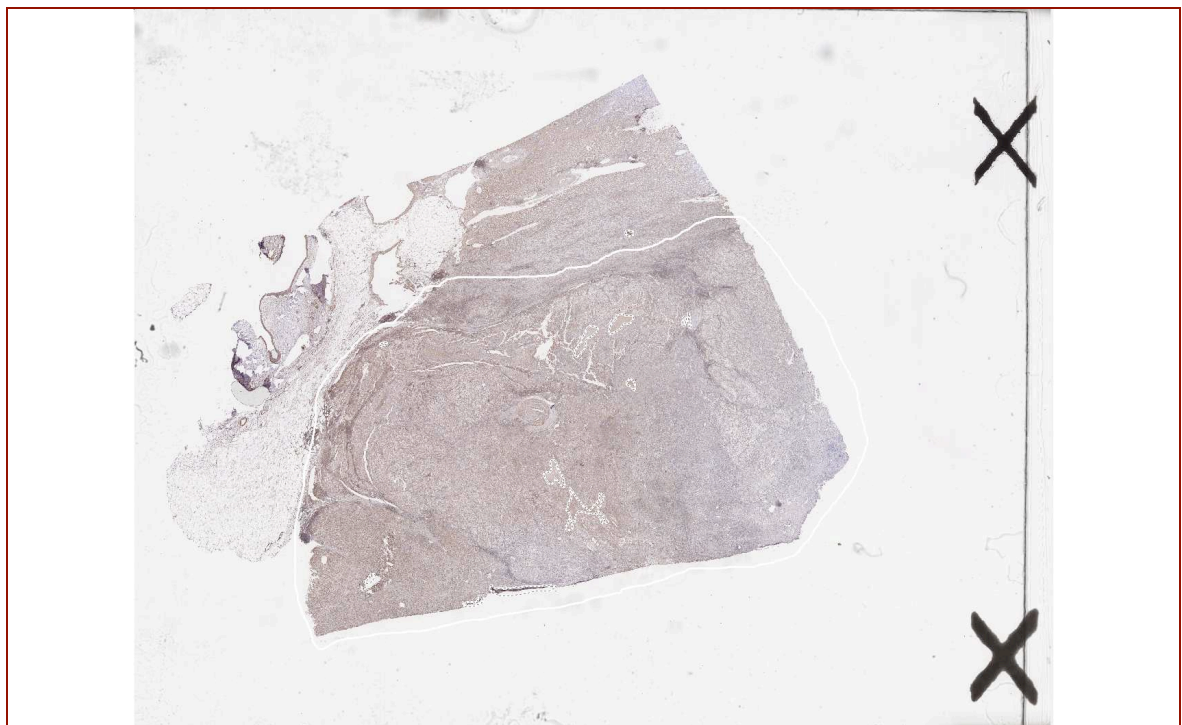


Abbildung 8: Nicht vergrößertes digitalisiertes Übersichtsbild des B7-H1 positiven Tumorgewebeschnittes

Die digitale mikroskopische Darstellung der B7-H1 Färbung in Abbildung 8 zeigt deutlich die Antigen-Antikörperreaktion, die durch den braunen Niederschlag gekennzeichnet wird. Die weiße Umrandung begrenzt den Bereich in dem das Tumorgewebe liegt und der im nächsten Schritt durch den PPC-Modus bearbeitet werden soll.

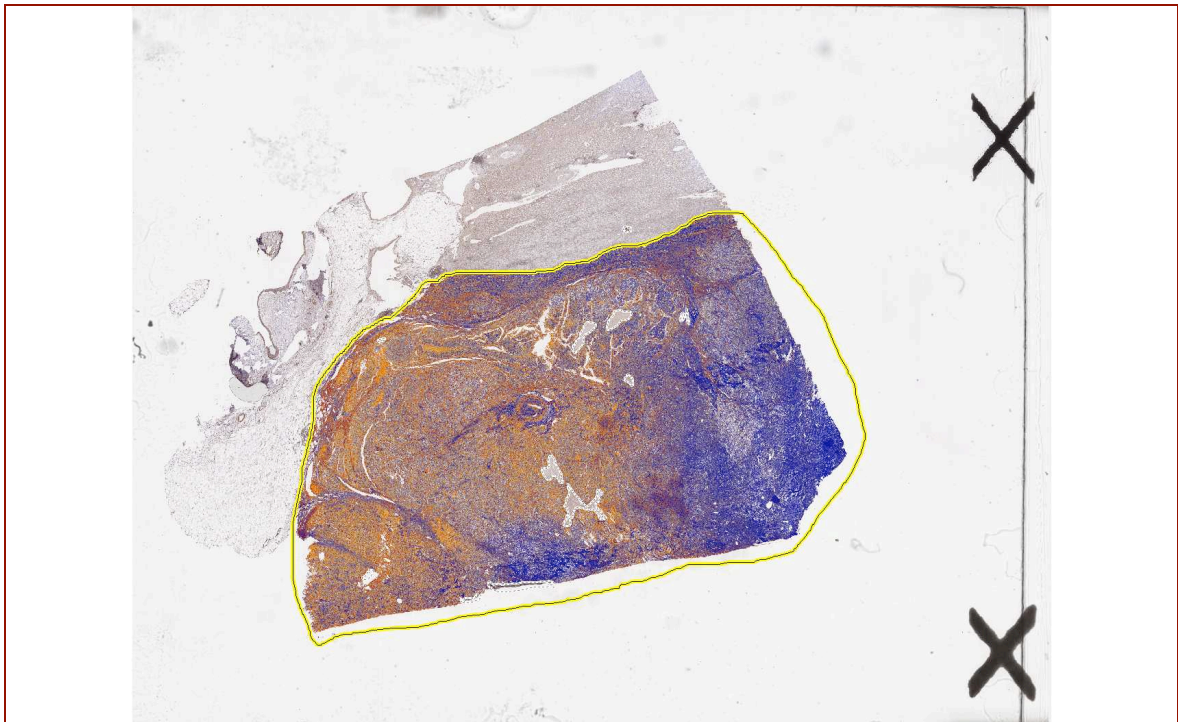


Abbildung 9: Entspricht der „Pseudo-Color-markup Darstellung“ der Abbildung 8 nach Eingrenzung des Tumorbereiches mittels des Image Scope Pens und Bearbeitung mit dem PPC-Algorithmus

Die braun-positiven Pixel der Abbildung 8 werden in Abbildung 9 vorwiegend als orange Pixel dargestellt, da hier die Färbung größtenteils eine mittel-starke Intensität (I_p) aufweist. Alle braun-negativen Pixel werden blau dargestellt. Der Prozentsatz aller braun-positiven ($= I_{wp} + I_p + I_{sp}$) Pixel in Bezug auf die Gesamtzahl des eingegrenzten Tumorbereiches betrug bei diesem Schnitt 47,45%.

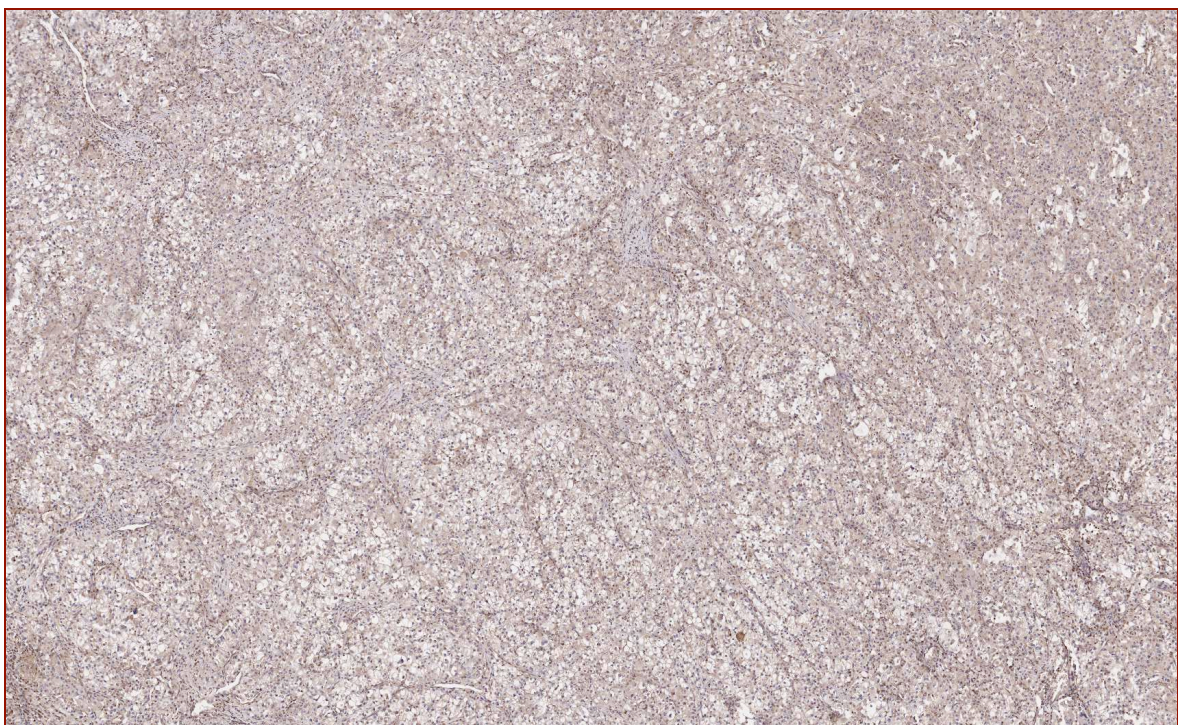


Abbildung 10: 5,2-fach vergrößerte digitale Darstellung der B7-H1 Färbung mit deutlicher Antigen-Antikörperreaktion

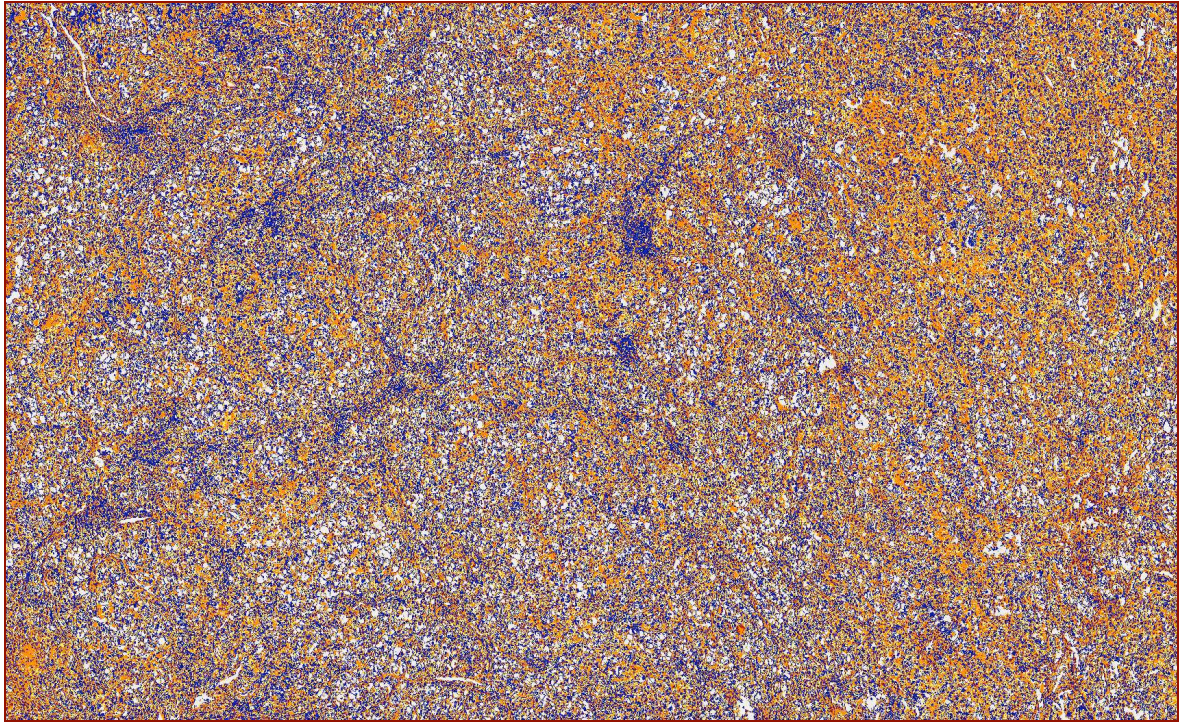


Abbildung 11: Entspricht Abbildung 10 nach der Bearbeitung mit dem PPC-Algorithmus

Von den gesuchten Intensitäten der braun-positiven Pixel in Abbildung 10 kann man nach Bearbeitung mit dem Positive-Pixel-Count Algorithmus größtenteils orange (Ip) und vereinzelt auch gelbe (Iwp) Pixel erkennen. Rote Pixel sind nur in geringer Zahl zu finden. Alle blauen Pixel zeigen jene Areale an, die nicht den gesuchten Brauntönen aufweisen.

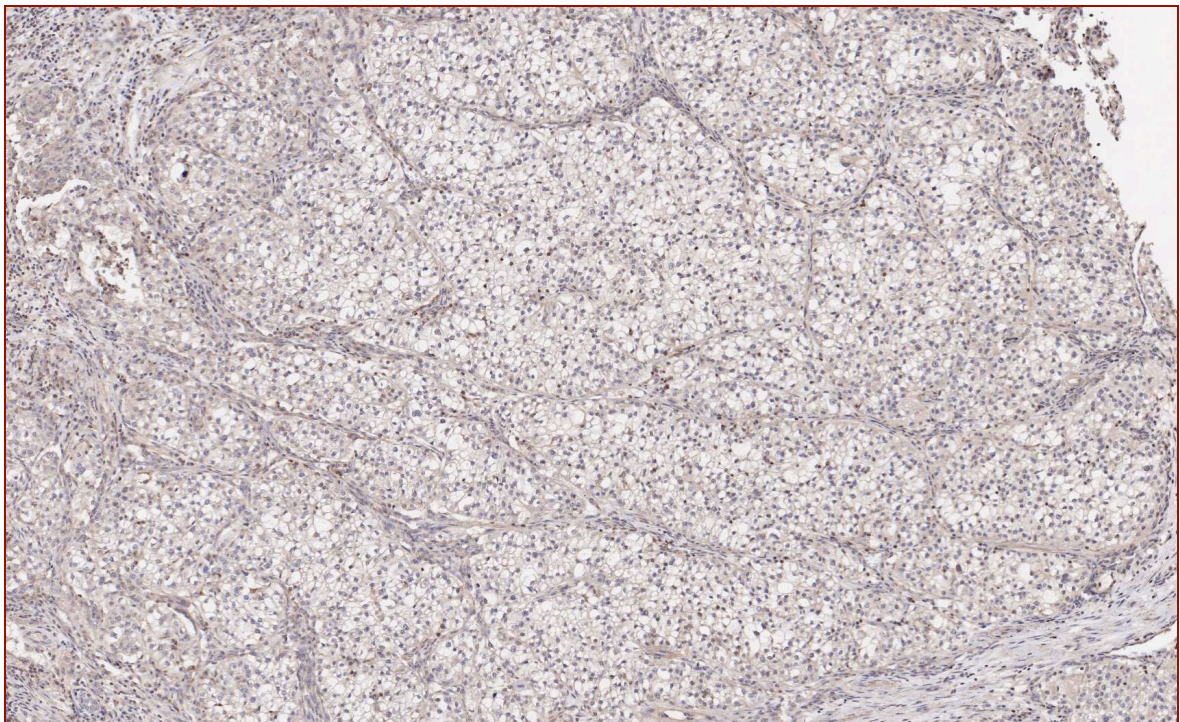


Abbildung 12: Dieses digitalisierte histologische Bild ist in 10,1-facher Vergrößerung dargestellt und zeigt die deutliche Braunfärbung der Tumorzellen, bei exprimierten B7-H1 Glykoprotein

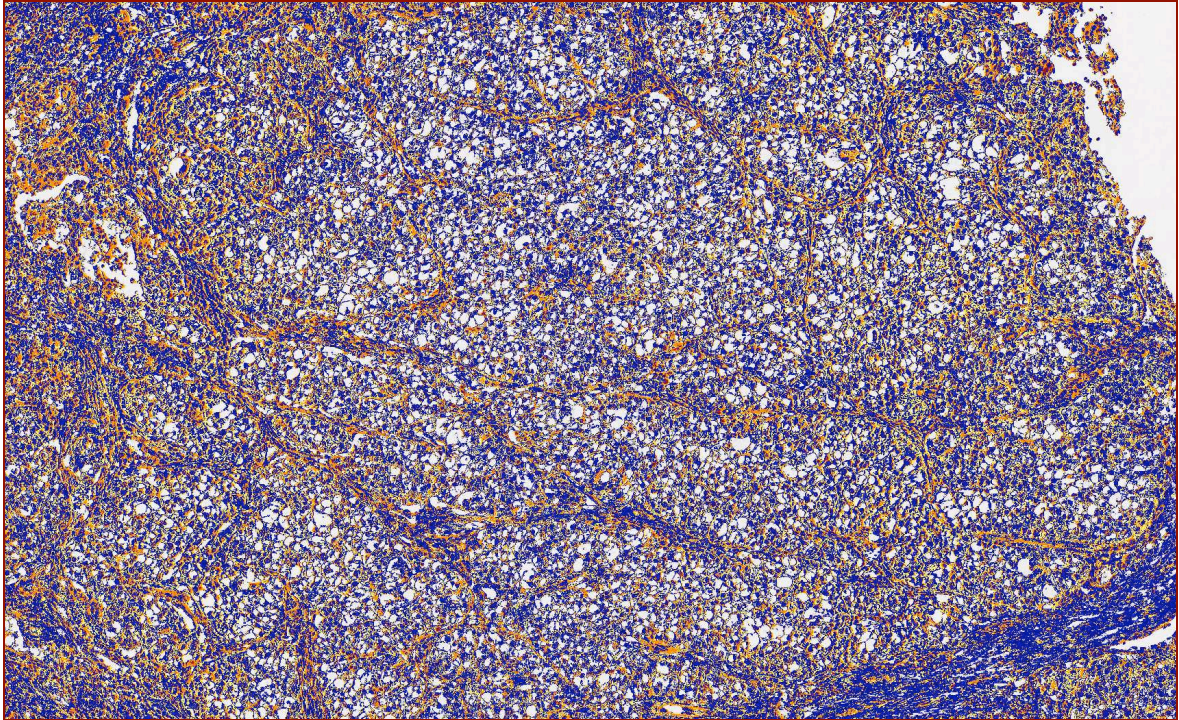


Abbildung 13: Entspricht der Abbildung 12 nach Bearbeitung mit dem PPC-Algorithmus

Die braun-positiven Pixel der Abbildung 12 werden auch in Abbildung 13 größtenteils durch orange Pixel repräsentiert, die die mittlere Farbintensität (I_p) des gesuchten Brauntons aufweisen. Jene Bereiche die den gesuchten Brauntön nicht aufweisen und als blaue Pixel dargestellt werden überwiegen in dieser Pseudo-Color-markup Darstellung.

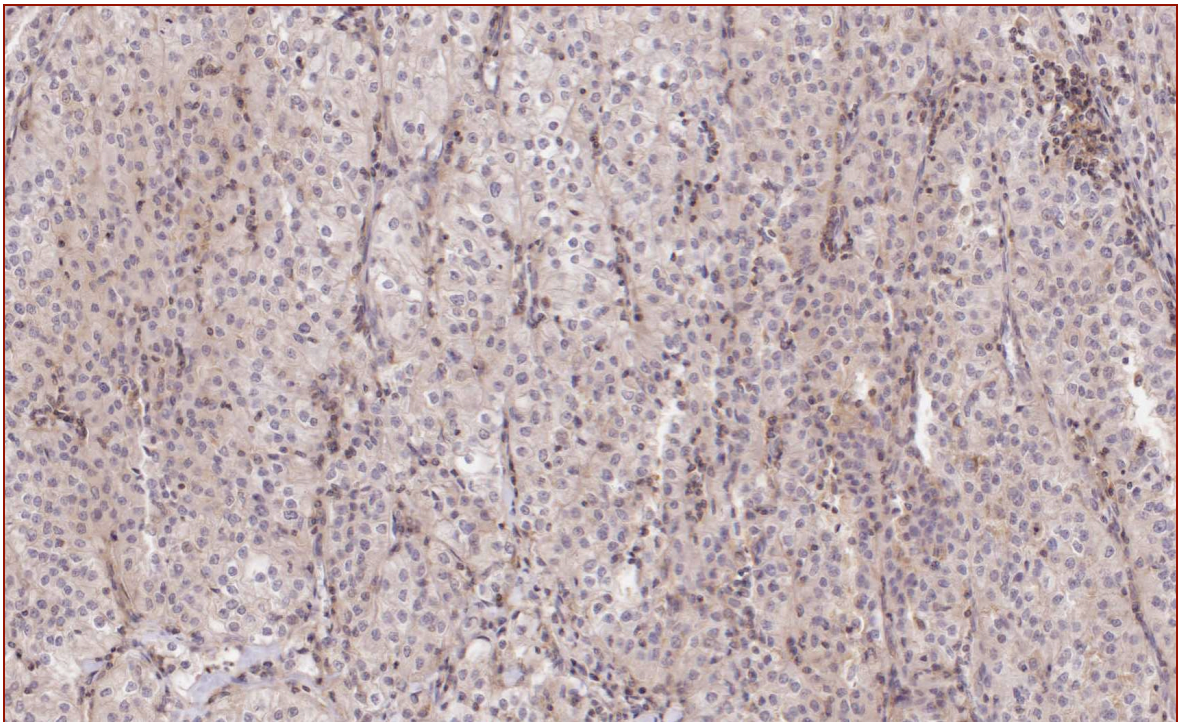


Abbildung 14: 20-fache Vergrößerung des B7-H1-positiven, bräunlich gefärbten Tumorgewebes. Tumorzellmembranen und -zellkerne sind deutlich erkennbar

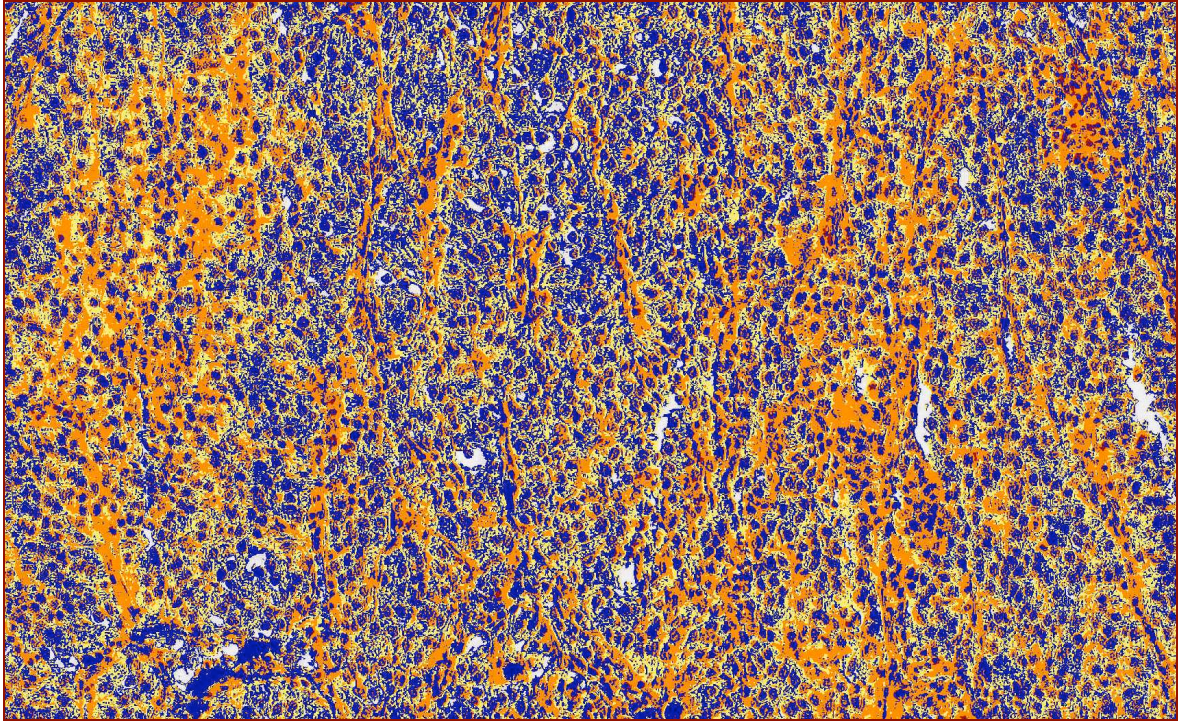


Abbildung 15: Entspricht Abbildung 14 nach Bearbeitung mit dem PPC-Algorithmus. Man kann sowohl orange und gelbe als auch rote Bereiche deutlich differenzieren

Um die Zweitschnitte des Tumorgewebes auf das B7-H3 Antigen zu untersuchen wurde der Anti-human B7-H3 Antikörper verwendet. Auch hier kam es in den Bereichen einer positiven Antigen-Antikörperreaktion zu einer Braunfärbung des Tumorgewebes.

In Abbildung 16, 18, 20 und 22 ist das digitalisierte mikroskopische Übersichtsbild des Tumorgewebes nach Färbung mit dem Anti-human B7-H3-Antikörper einmal ohne Bearbeitung und in Abbildung 17, 19, 21 und 23 einmal nach Bearbeitung mit dem Positive-Pixel-Count (PPC) Algorithmus, zu sehen.

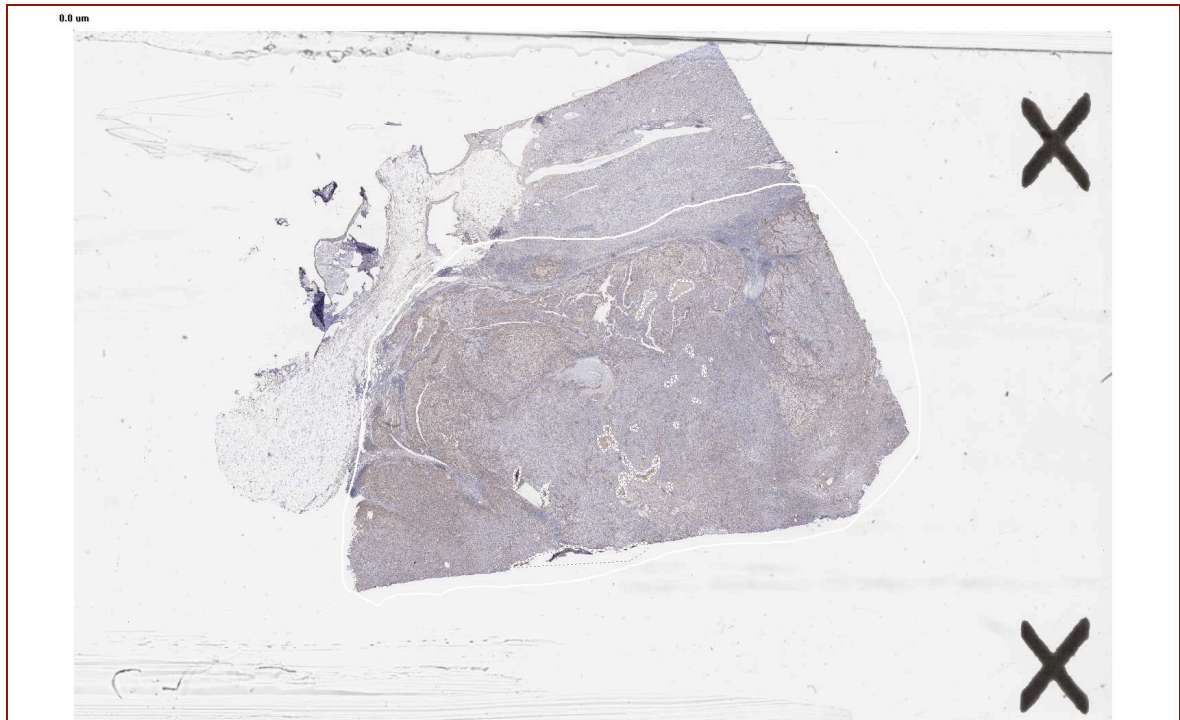


Abbildung 16: Digitalisiertes Übersichtsbild des mit dem Anti-human B7-H3 Antikörper gefärbten Schnittes

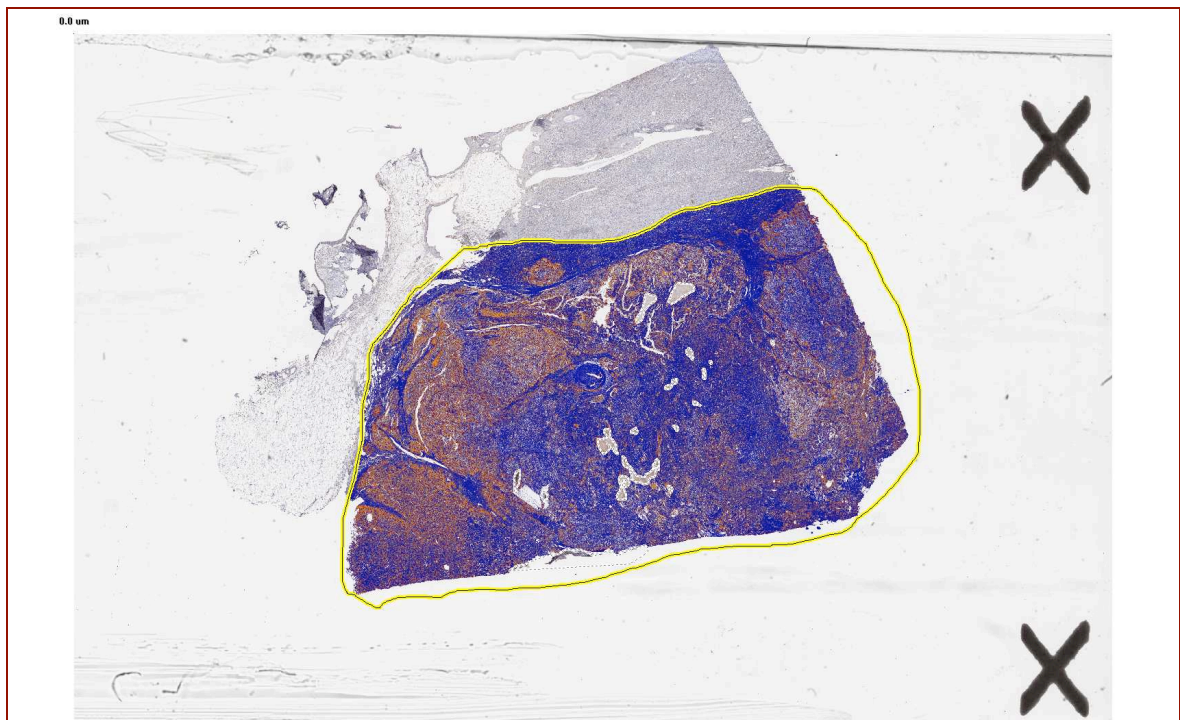


Abbildung 17: Entspricht Abbildung 16, nach Verarbeitung mit dem PPC-Mode

Der Prozentsatz aller B7-H3 positiven beziehungsweise braun-positiven (Iwp+Ip+Isp) Pixel in Bezug auf die Gesamtzahl des eingegrenzten Tumorbereiches in Abbildung 17 betrug bei diesem Schnitt 28,92%.

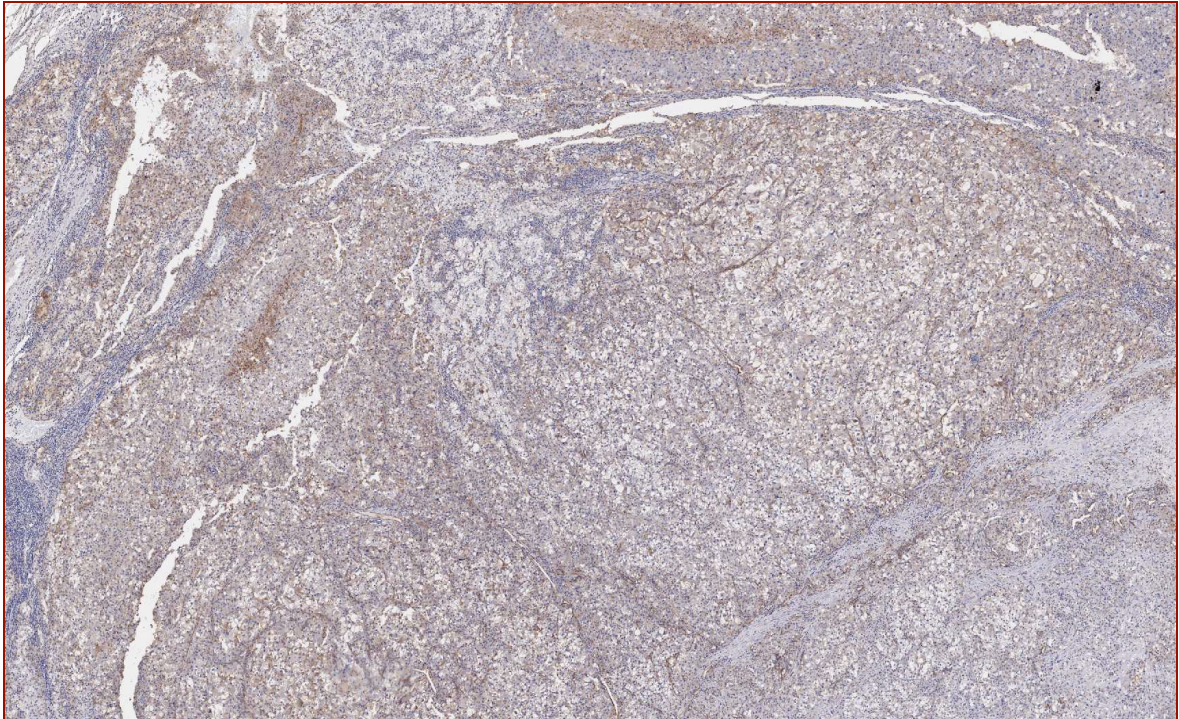


Abbildung 18: 3,3-fache Vergrößerung des B7-H3 Protein exprimierenden Tumorgewebes

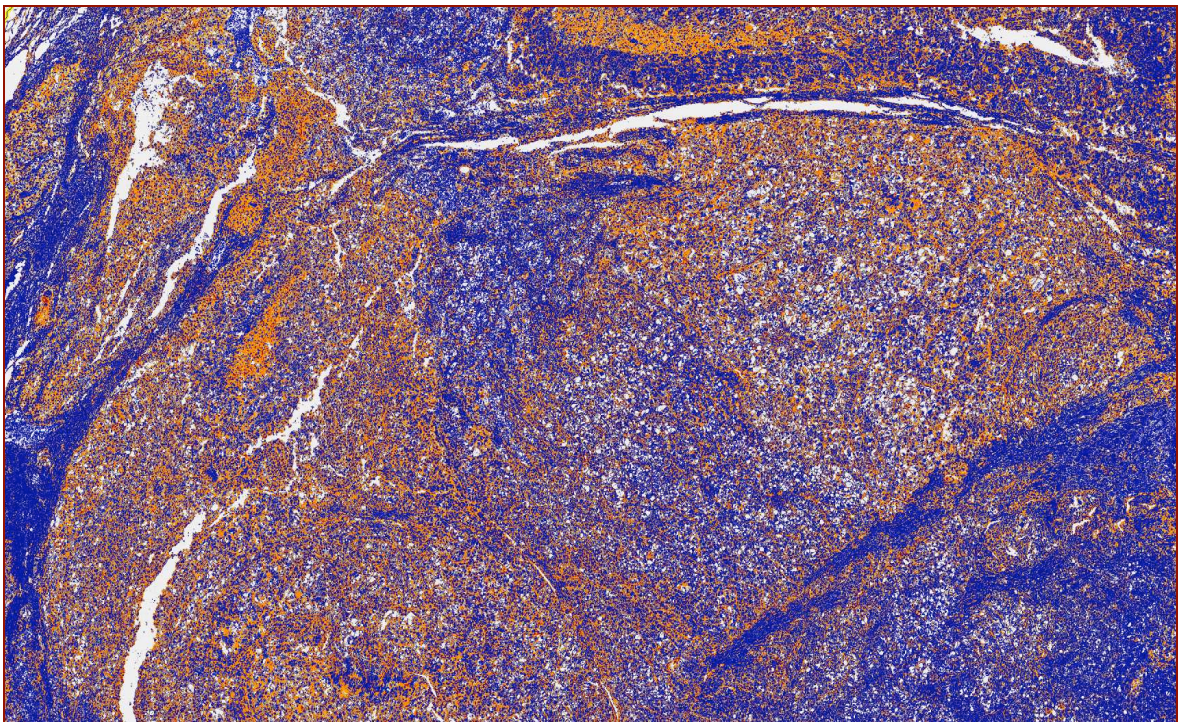


Abbildung 19: Entspricht Abbildung 18 nach Berarbeitung mit dem PPC-Algorithmus

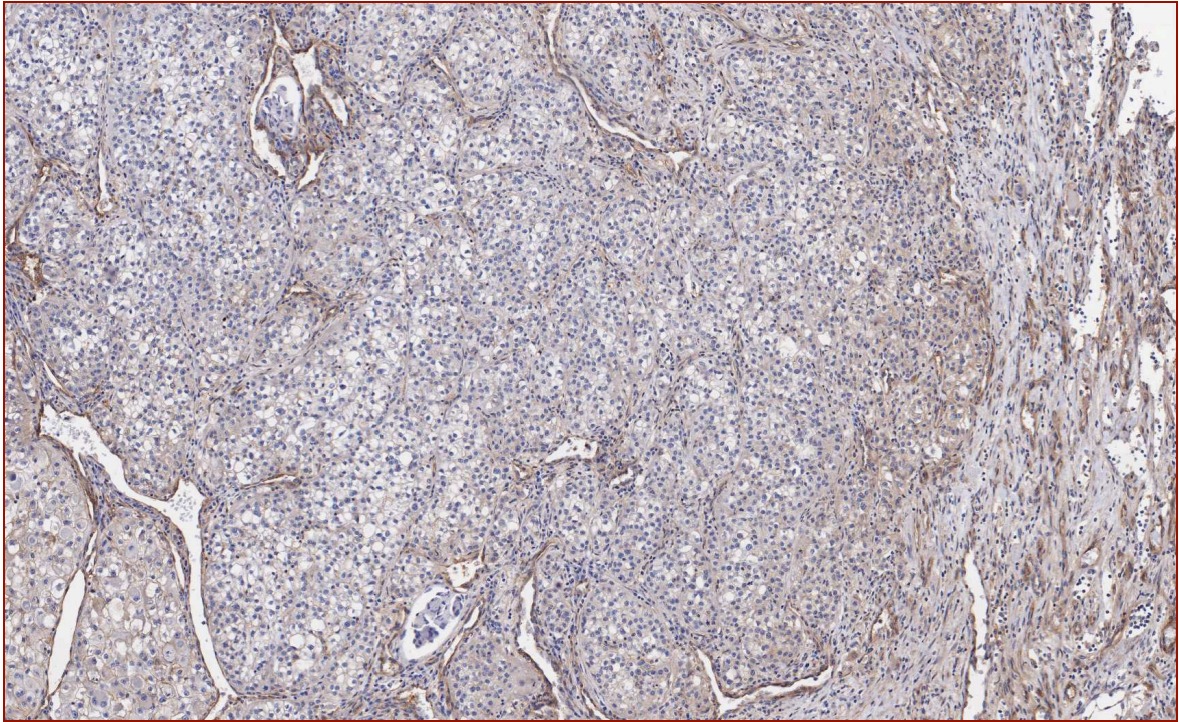


Abbildung 20: 10.1-fache Vergrößerung des B7-H3 Glykoprotein exprimierenden Tumorgewebes

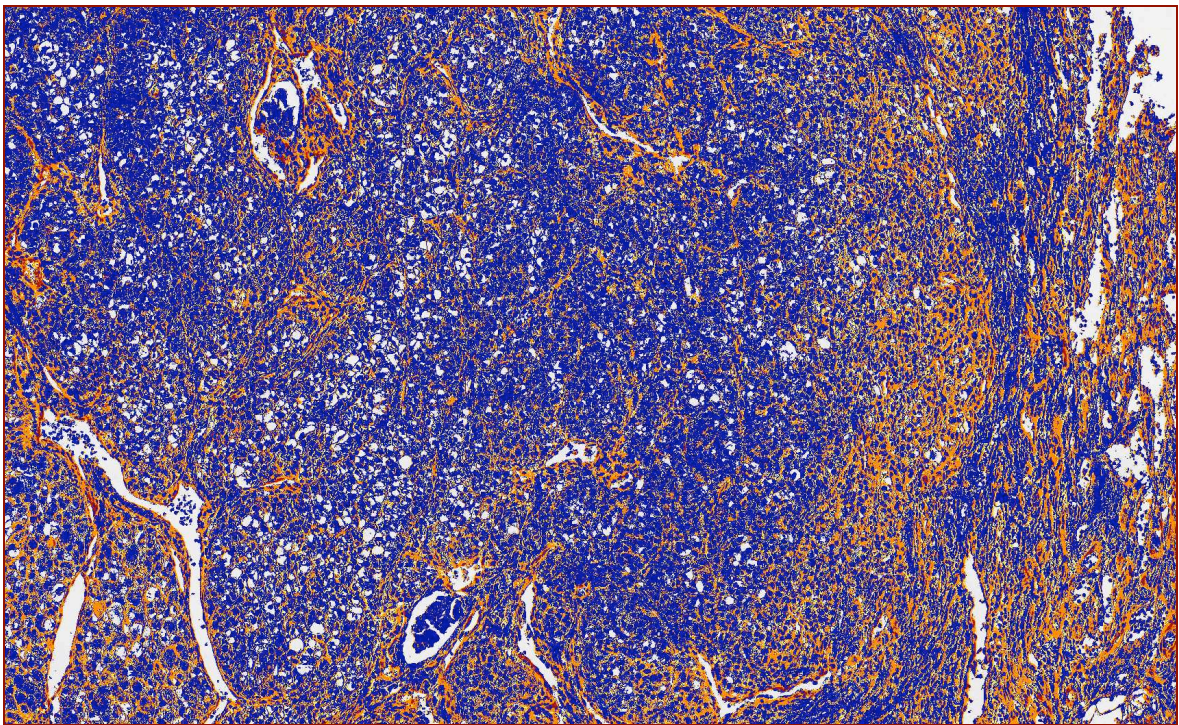


Abbildung 21: Entspricht Abbildung 20 nach Berarbeitung mit dem PPC-Algorithmus

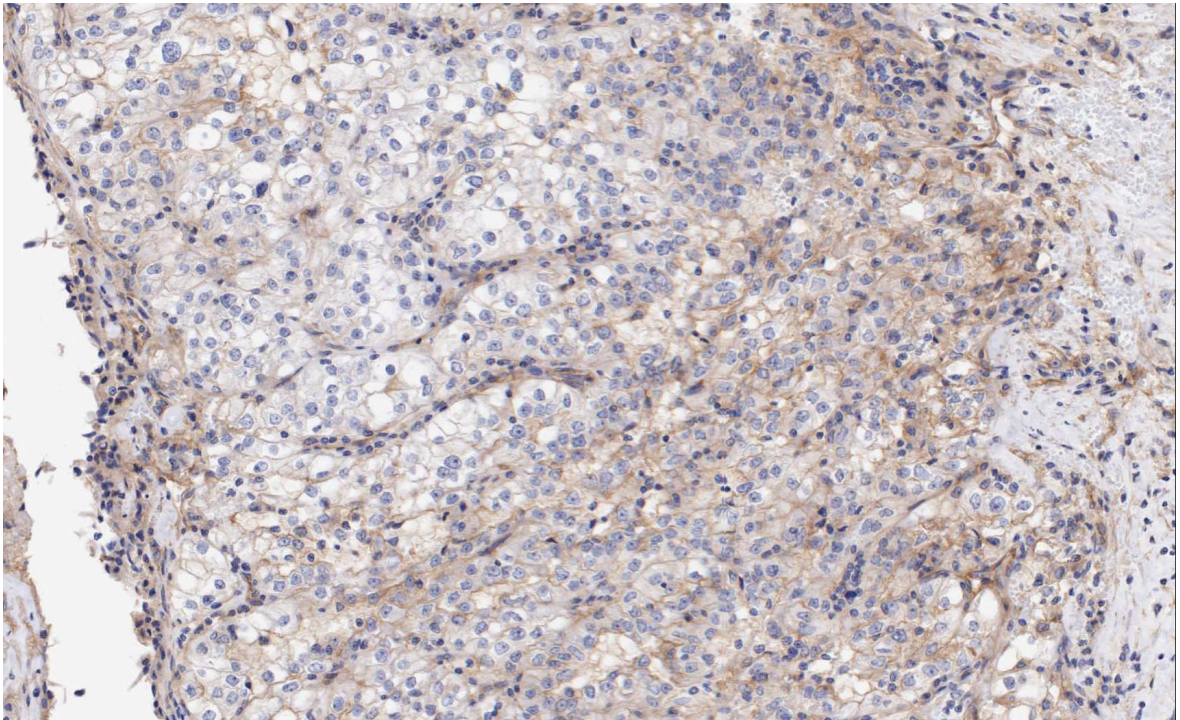


Abbildung 22: 20-fache Vergrößerung bei B7-H3-positivem klarzelligen Nierenzellkarzinom

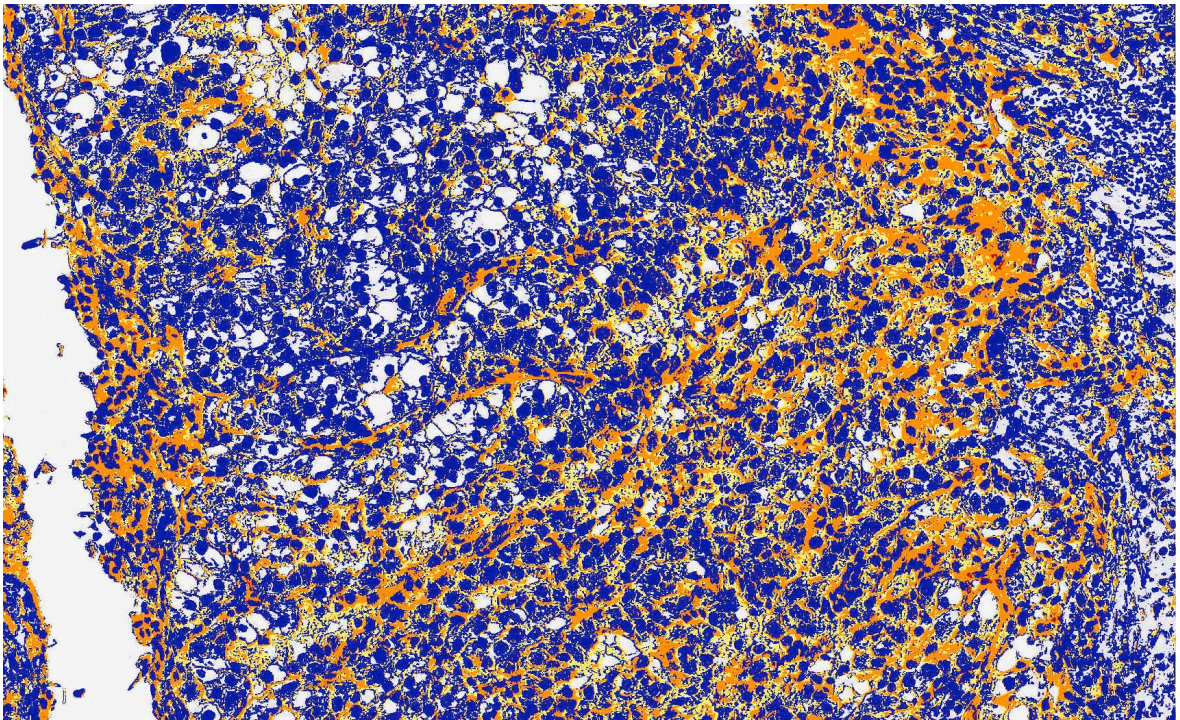


Abbildung 23: Entspricht Abbildung 22 nach Bearbeitung mit dem PPC-Algorithmus des Image Scope Programms

8.3 Resultate

Nachdem nun alle Gewebeproben zur Untersuchung der B7-H1- und B7-H3- Expression mit den entsprechenden Antikörpern gefärbt, diese Schnitte eingescannt und die prozentuellen Anteile der jeweiligen Glykoproteinexpressionen berechnet worden waren, wurden die Ergebnisse statistisch analysiert. Die Hauptfragestellung war, ob es einen Zusammenhang zwischen der Proteinexpression und der vom Zeitpunkt der Nephrektomie weg gemessenen Überlebensdauer der Patienten gab. Alle Patienten, die in der Probandenliste zwar bisher als metastasiert aber noch nicht als verstorben galten, wurden im November 2009 abermals überprüft. Insgesamt konnten nach Erfüllung der vorgegebenen Ein- und Ausschlusskriterien aus dem retrospektiv untersuchten Patientenkollektiv 45 Patienten in die Studie aufgenommen werden. Davon waren 31 Patienten bereits verstorben und 14 Studienteilnehmer noch am Leben. Zu Beginn wurde eine deskriptive Statistik für die in dem Tumorgewebe der klarzelligen Nierenzellkarzinome exprimierten Glykoproteine B7-H1 und B7-H3, erstellt. Die durchschnittliche Expression von B7-H1 beträgt 24,7%, bei einer Standardabweichung von 14,3% und einem 95% Konfidenzintervall von 0,2040 bis 0,2902. Die geringste Expressionsmenge belief sich auf 7% und der höchste Expressionswert des B7-H1 Proteins ergab 63% bei einem Medianwert von 21%. Beim Glykoprotein B7-H3 betrug die mittlere Expressionsrate 16,4%, die Standardabweichung lag bei 6,5% und einem 95% Konfidenzintervall von 0,1446 bis 0,1834. Die minimalste Expression von B7-H3 lag bei 4%, die höchste bei 32% und einem Medianwert von 16%.

Die Zusammenfassung aller deskriptiven Kennzahlen kann in Tabelle 6 nachgelesen werden.

	B7-H1	B7-H3
Mittelwert	0,2471	0,1640
95% Konfidenzintervall	0,2040 bis 0,2902	0,1446 bis 0,1834
5% getrimmtes Mittel	0,2360	0,1627
Median	0,2100	0,1600
Varianz	0,021	0,004
Standardabweichung	0,14351	0,0646
Minimum	0,07	0,04
Maximum	0,63	0,32
Spannweite	0,56	0,28
Interquartilbereich	0,18	0,09
Schiefe	1,078	0,313
Kurtosis	0,818	0,218

Tabelle 6: Deskriptive Statistik für B7-H1 und B7-H3

Der Test auf Normalverteilung zeigte, dass die Ergebnisse für das B7-H1 Glykoprotein rechtsschief, also nicht normalverteilt waren, die Werte für das B7-H3 Protein allerdings als einigermaßen symmetrisch und normalverteilt bewertet werden konnten. Die grafische Darstellung der Verteilung der Expression des B7-H1 Glykoproteins ist in Abbildung 24 und die des B7-H3 Proteins in Abbildung 25 zu sehen.

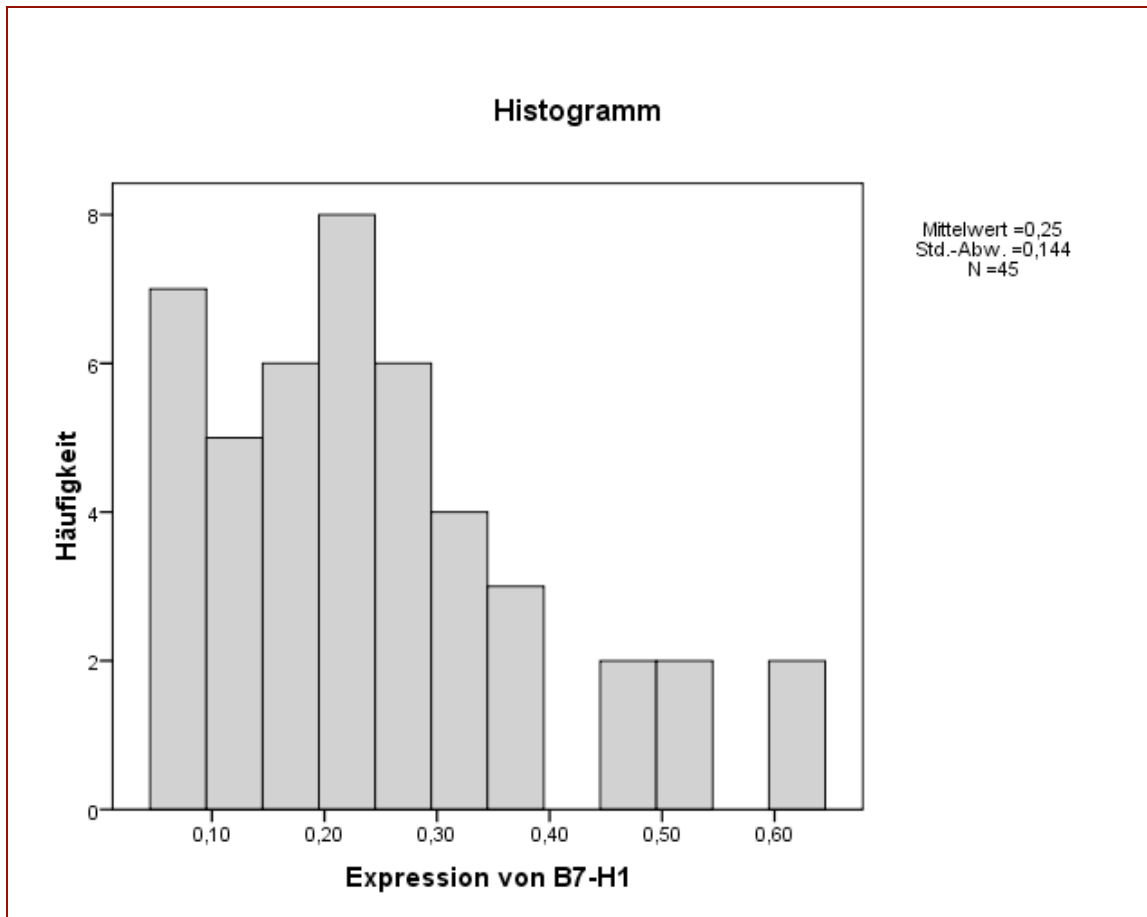


Abbildung 24: Verteilung der Expression von B7-H1

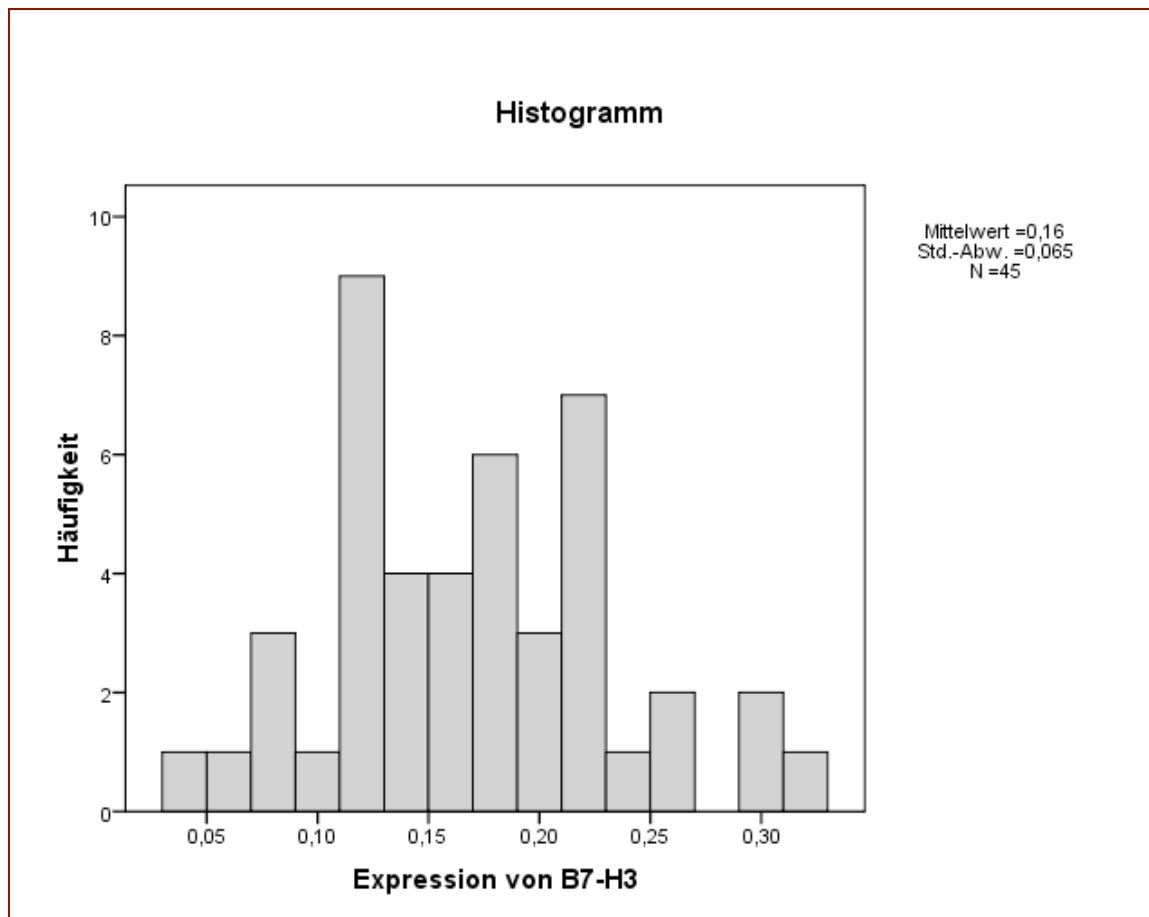


Abbildung 25: Verteilung der Expression von B7-H3

Wie man in Abbildung 26 deutlich erkennen kann, liegt in Zusammenhang mit dem B7-H1 Protein eine viel stärkere Streuung der Expressionswerte vor als beim B7-H3 Glykoprotein.

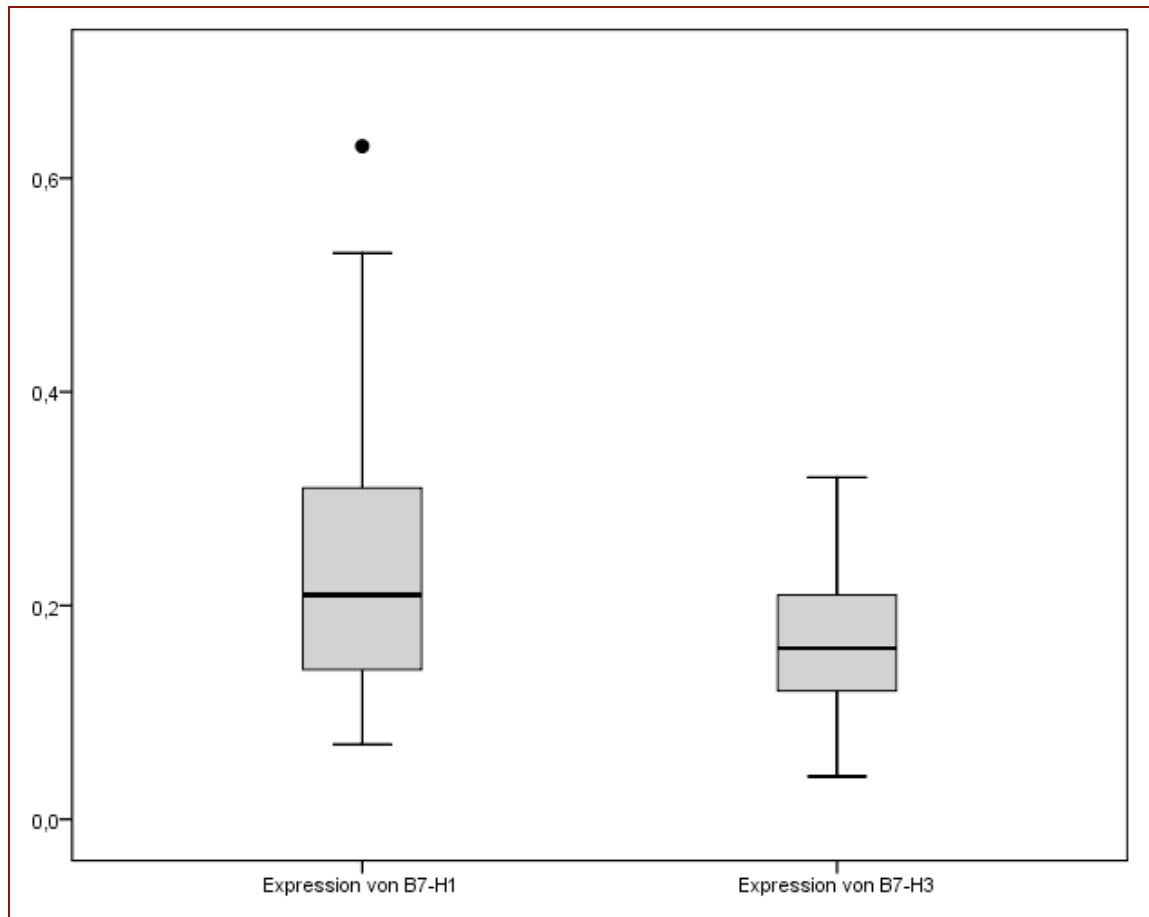


Abbildung 26: Boxplotdarstellung der in Prozent ausgedrückten Expression von B7-H1 und B7-H3

Im nächsten Schritt wurde der prozentuelle Cut-off-Wert der B7-H1 Expression gewählt. Alle Proben, die eine B7-H1 Expression von 15% und darunter zeigten, wurden in einer Gruppe und alle jene, die mehr als 15% Proteinexpression aufwiesen, in einer zweiten Gruppe zusammengefasst. Der im Rahmen der Kaplan-Meier-Analyse durchgeführte Log Rang-Test zeigte zwischen den beiden Gruppen keinen statistisch signifikanten Unterschied ($p=0,982$). In Abbildung 27 ist die auf die Überlebenszeit bezogene grafische Darstellung beider Gruppen zu sehen.

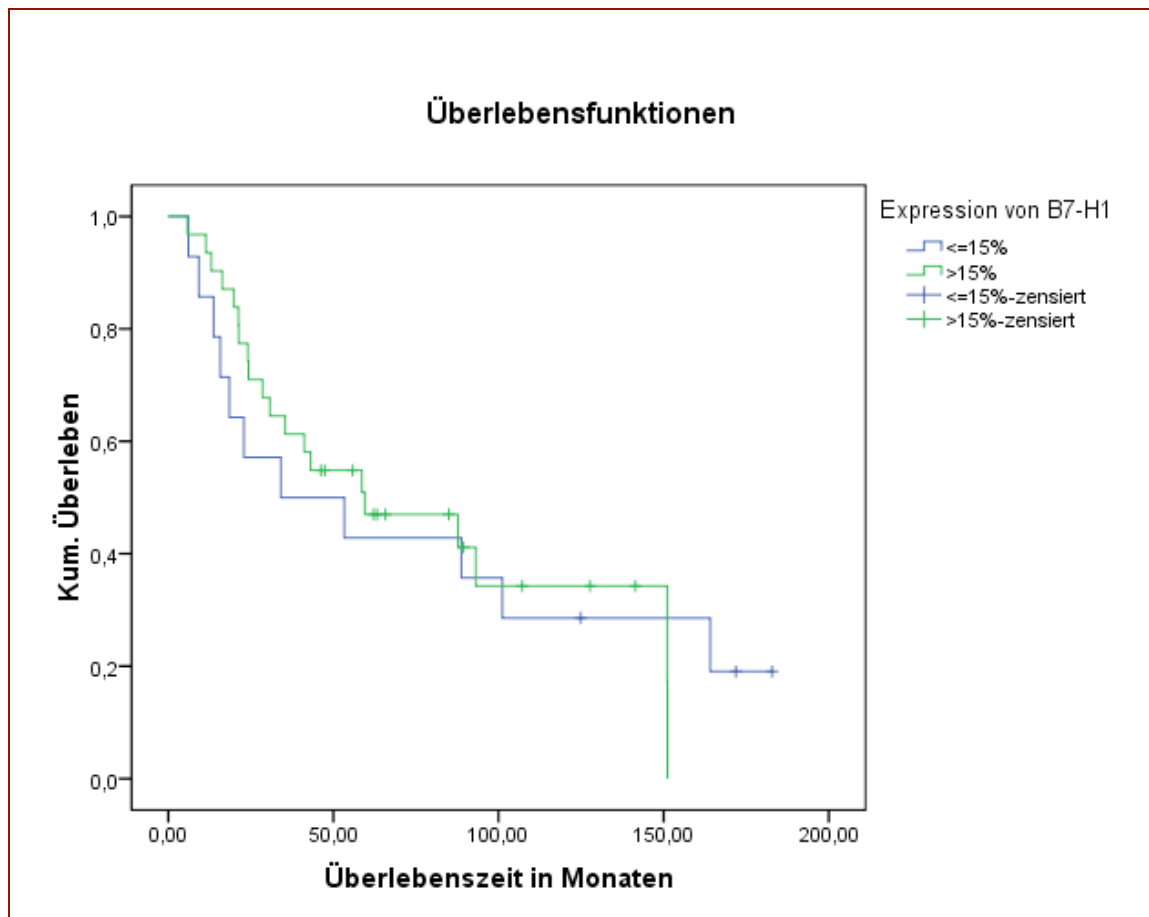


Abbildung 27: Vergleich von $\leq 15\%$ und $> 15\%$ B7-H1 Glykoproteinexpression in Bezug auf das Überleben

Für die weitere Analyse, wurde der neue Grenzwert bei einer 25%igen Proteinexpression festgelegt. Auch bei diesem Grenzwert konnte durch den im Rahmen der Kaplan-Meier-Analyse durchgeführten Log Rang-Test kein statistisch signifikanter Unterschied ($p=0.252$) zwischen den beiden Gruppen nachgewiesen werden. Allerdings zeigte die Gruppe mit mehr als 25% Expression von B7-H1 in Abbildung 28 tendenziell bessere Überlebensraten, obwohl dafür der statistische Nachweis nicht erbracht werden konnte. Eine Erklärung dafür könnte darin liegen, dass in der Gruppe mit mehr als 25% Expression des B7-H1 Glykoproteins viele Probanden noch am Leben sind und somit als zensiert gelten. Das bedeutet, dass diese Patienten nur bis zum letzten bekannten Datum an dem ein Hinweis auf deren Überleben vorhanden war, in die Studie miteinbezogen werden konnten.

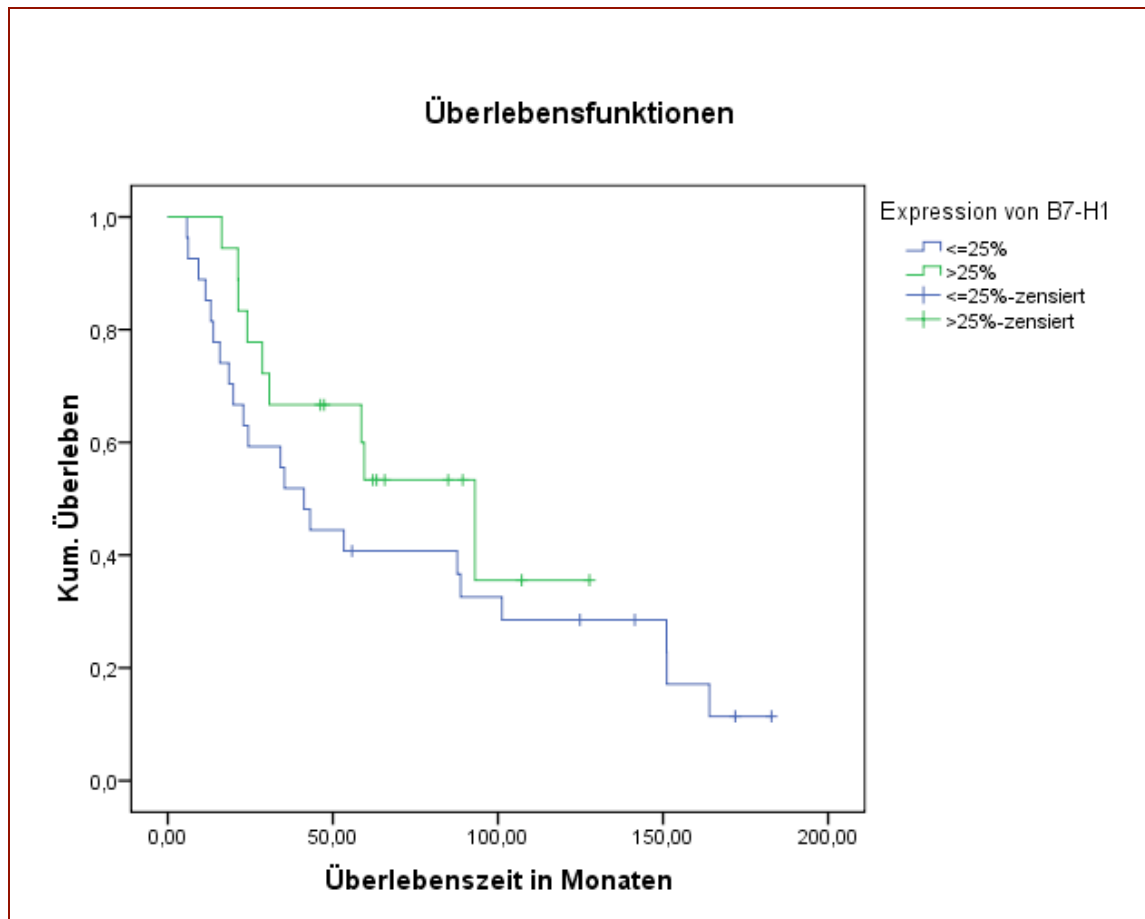


Abbildung 28: Vergleich von $\leq 25\%$ und $> 25\%$ B7-H1 Glykoproteinexpression in Bezug auf das Überleben

Im Gegensatz zu B7-H1 war für das Glykoprotein B7-H3 bei einem Cut-off-Wert von 15% Glykoproteinexpression, ein statistisch signifikanter Unterschied ($p=0,011$) zwischen beiden Gruppen nachweisbar. Allerdings zeigte sich die Grafik nicht aussagekräftig, da sich die Kurven der beiden Gruppen in Abbildung 29 am Anfang überschneiden. Bei neuerlicher Evaluierung des Tests mit Personen, die eine Überlebenszeit von 20 Monaten oder mehr aufwiesen, gab es bei entsprechend signifikantem Unterschied zwischen beiden Gruppen ($p\text{-Wert}=0,001$), keine Überschneidung der jeweiligen Kurven.

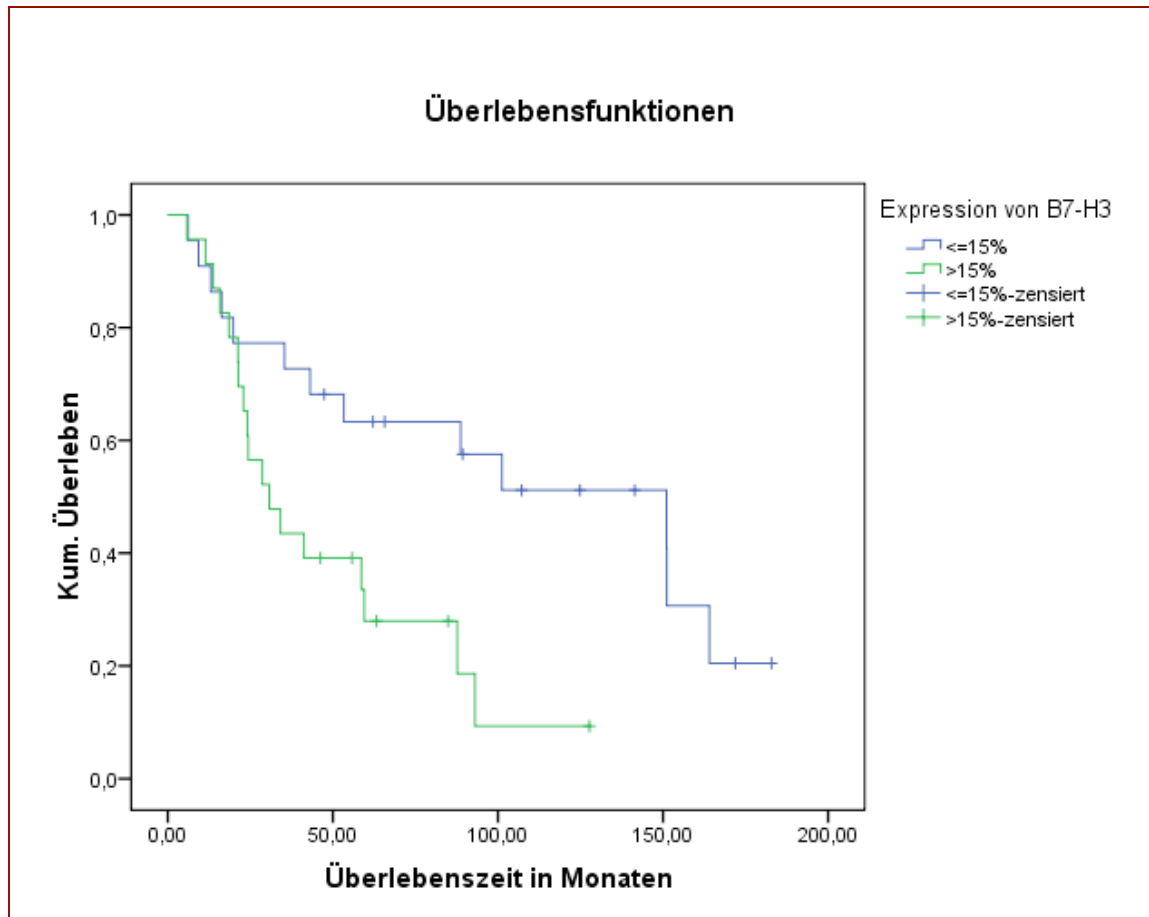


Abbildung 29: Vergleich von $\leq 15\%$ und $> 15\%$ B7-H3 Glykoproteinexpression in Bezug auf das Überleben

Bei einem Grenzwert von 20% war für die B7-H3 Proteinexpression der im Rahmen der Kaplan-Meier-Analyse durchgeführte Log Rang-Test allerdings statistisch nicht mehr signifikant ($p=0,186$) und zeigte somit, dass bei diesem Cutt-off-Wert kein Unterschied zwischen beiden Gruppen nachweisbar war. Die grafische Darstellung der beiden Überlebenskurven ist in Abbildung 30 zu sehen.

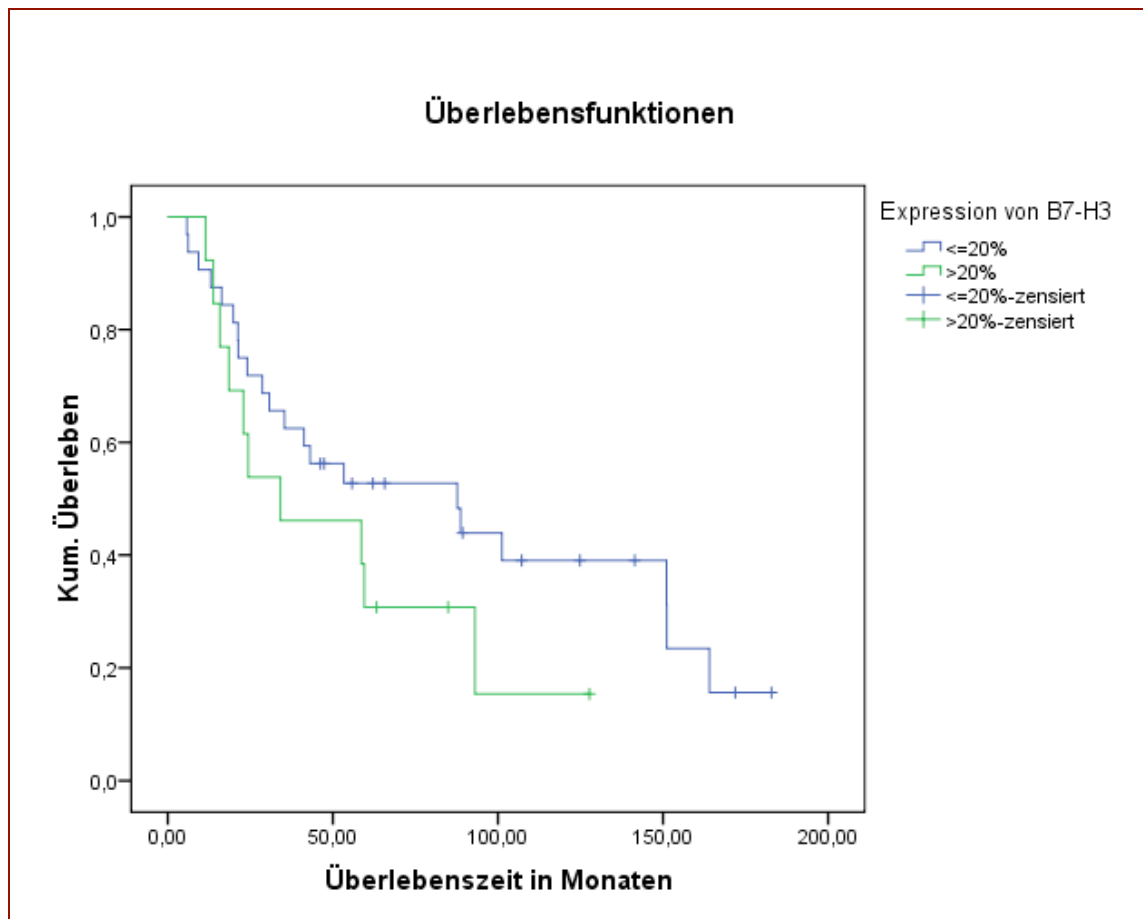


Abbildung 30: Vergleich von $\leq 20\%$ und $> 20\%$ B7-H3 Glykoproteinexpression in Bezug auf das Überleben

Neben der Glykoproteinexpression wurde der von der Mayo Klinik entwickelte SSIGN-Score erhoben und als relevanter Prognoseparameter mit dem Überleben in Verbindung gebracht. Der niedrigste erhobene SSIGN-Score-Wert der 45 Patienten lag bei 0, der Höchste bei 13. Es wurden zwei Gruppen gebildet, wobei die erste Gruppe alle Patienten mit einem Score von 0-4 und die zweite Gruppe alle Scores von 5-13 beinhaltete. Im Rahmen der Kaplan-Meier-Analyse wurden die Überlebenszeiten dieser beiden Gruppen miteinander verglichen, dabei zeigte der Log Rang-Test keinen statistisch signifikanten Unterschied ($p=0,069$) an. Dass der p-Wert jedoch nur knapp ober dem Signifikanzniveau von 5% liegt, kann daran liegen, dass dieses Ergebnis auf vielen zensierten, das heißt noch lebenden, Patienten, die in der Gruppe mit einem SSIGN Score von 5-13 vorhanden waren, beruht. Die Abbildung 31 zeigt, dass ein hoher SSIGN Score mit einer niedrigeren Lebenserwartung verknüpft ist. Der Unterschied ist statistisch deshalb schwer nachweisbar, da dieser ab einer gewissen Überlebenszeit der Studienteilnehmer verschwindet. Diese Tatsache äußert sich darin, dass sich die Kurven der beiden SSIGN-Score Gruppen überschneiden.

Auffallend ist, dass fünf Patienten trotz eines SSIGN-Scores von mindestens 6 oder höher, ab dem Zeitpunkt der Nephrektomie, bis zu 80 Monate und länger überlebten.

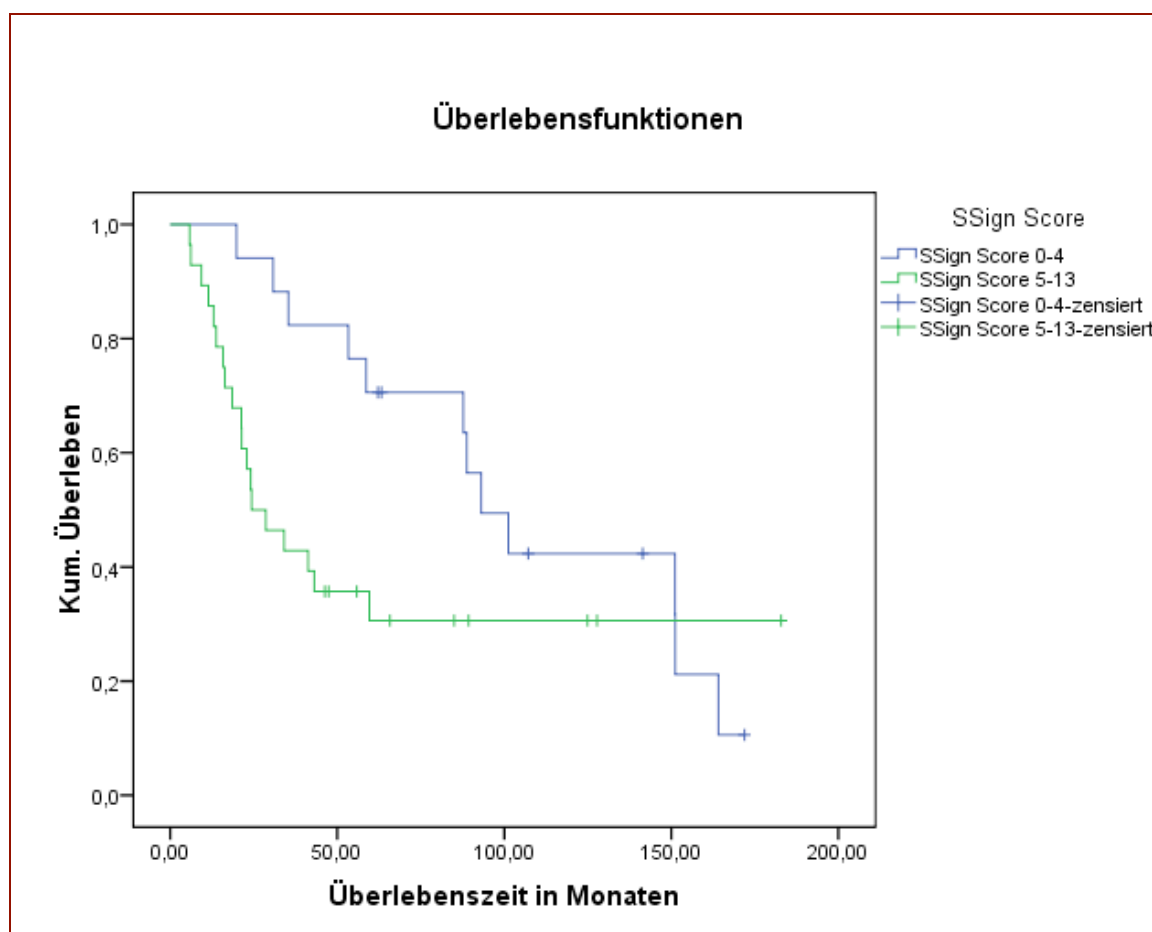


Abbildung 31: Vergleich der Gruppen mit einem SSIGN-Score von 0-4 und 5-13 in Bezug auf das Überleben

Da nun bereits der Einfluss der Glykoproteinexpression und des SSIGN-Scores auf das Überleben jeweils separat untersucht wurde, stellte sich die Frage, wie sich nun SSIGN-Score und Glykoproteinexpression gegenseitig beeinflussen. Zuerst wurde, da die Daten für das B7-H1 Glykoprotein nicht normalverteilt waren, der nichtparametrische Mann-Whitney Test durchgeführt. Die Überprüfung sollte einen eventuell signifikanten Unterschied bezüglich der B7-H1 Expression zwischen den beiden SSIGN-Score Gruppen (0-4 und 5-13) aufzeigen. Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied (asymptotische Signifikanz des $p=0,716$) festgestellt werden. Wie in Abbildung 32 zu sehen ist, zeigt auch die Boxplotdarstellung, dass die Verteilung der Expressionswerte der beiden SSIGN-Score Gruppen im Vergleich keine auffallenden Unterschiede aufweisen.

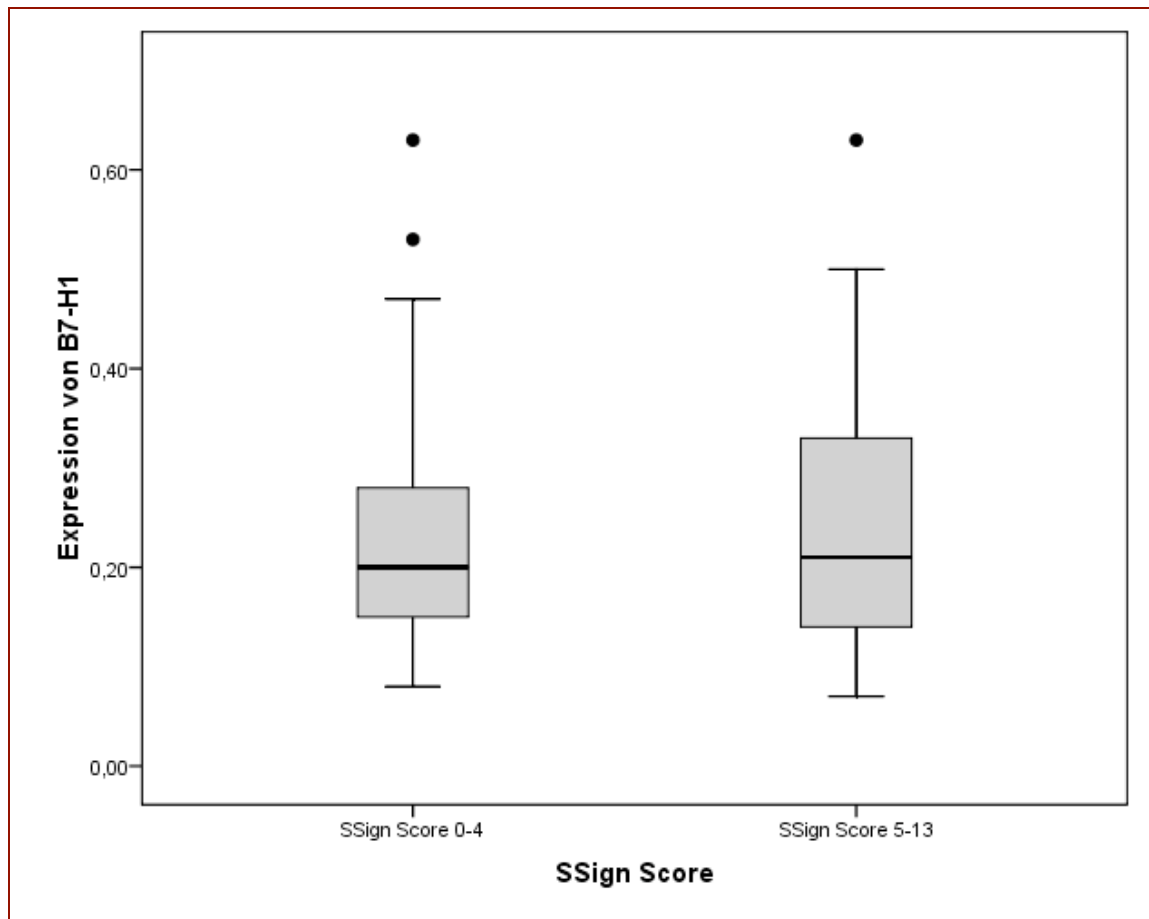


Abbildung 32: Boxplotdarstellung der verschiedenen Expressionshäufigkeiten von B7-H1 in den zwei SSIGN-Score Gruppen

Es wurde ebenfalls überprüft, ob das Glykoprotein B7-H3 und die zwei verschiedenen SSIGN-Score Gruppen 0-4 und 5-13, der Patienten mit metastasierten klarzelligen Nierenzellkarzinom, miteinander korrelieren. Zuerst wurden die beiden SSIGN-Score Gruppen auf Normalverteilung getestet und konnten schließlich als hinreichend normalverteilt beurteilt werden. Wie in Abbildung 33 zu sehen ist, zeigt auch die Boxplotdarstellung, dass die Verteilung der Expressionswerte der beiden SSIGN-Score Gruppen im Vergleich keine auffallenden Unterschiede aufweisen.

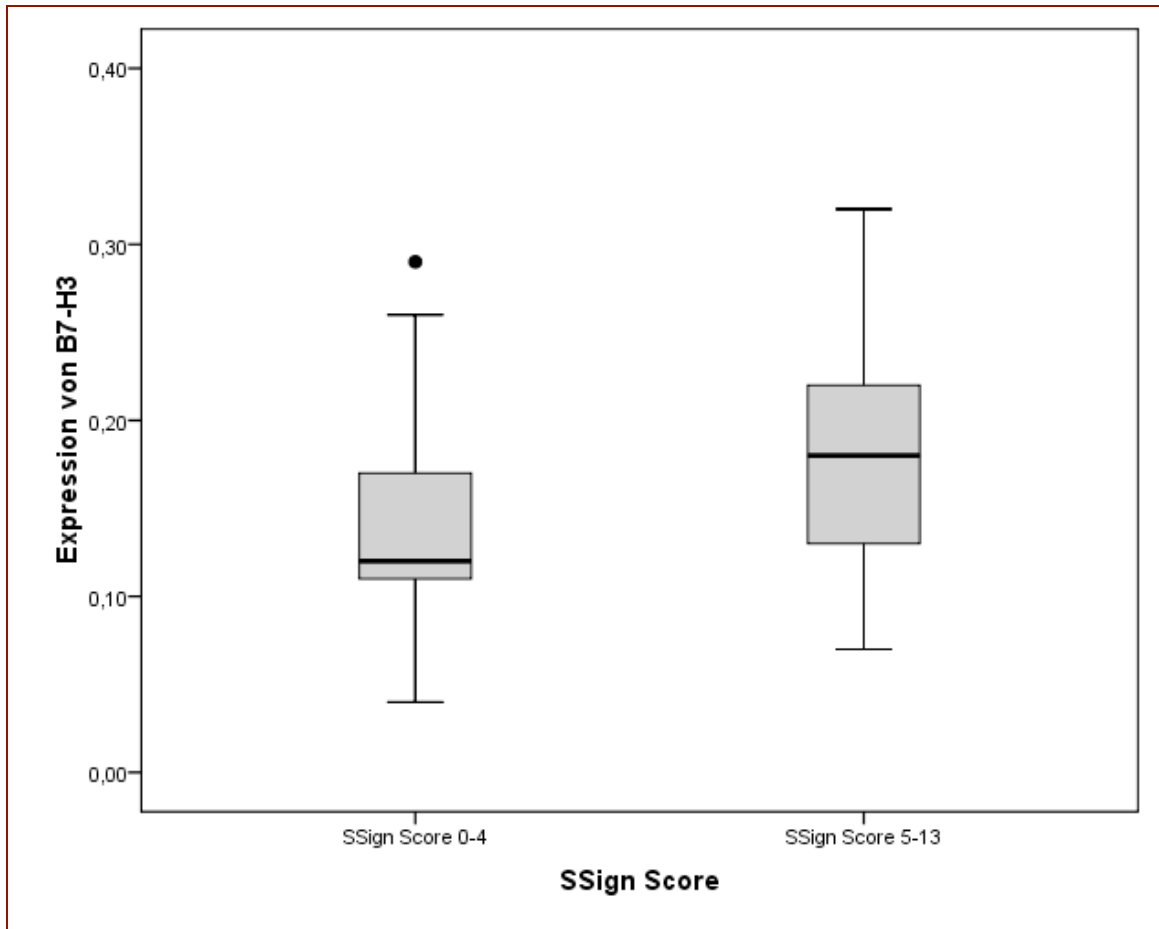


Abbildung 33: Boxplotdarstellung der verschiedenen Expressionshäufigkeiten von B7-H3 in den zwei SSIGN-Score Gruppen

Da der Levene-Test statistisch nicht signifikant war ($p=0,719$), konnten die Varianzen in beiden Gruppen als homogen angesehen werden. Der T-Test für unabhängige Stichproben lieferte ein statistisch signifikantes Ergebnis ($p=0,045$). Die Personen mit niedrigem SSIGN-Score wiesen im Schnitt eine um 4% niedrigere Expression des B7-H3 Proteins auf, als jene mit einem höherem Score (siehe mittlere Differenz). Beide Testergebnisse können in Tabelle 7 nachgelesen werden.

Test bei unabhängigen Stichproben

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit					95% Konfidenzintervall der Differenz	
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	Untere	Obere
Expression von B7-H3	Varianzen sind gleich	,131	,719	-2,061	43	,045	-,03952	,01917	-,07818	-,00086
	Varianzen sind nicht gleich			-1,993	30,387	,055	-,03952	,01983	-,07999	,00096

Tabelle 7: Levene-Test und T-Test

In einem multivariaten Modell, in das die Glykoproteinexpression von B7-H1 beziehungsweise B7-H3 und der SSIGN-Score als Kovariaten miteinbezogen wurden, sollte nun überprüft werden inwieweit diese drei Variablen das Überleben der Probanden beeinflussen. Der Einfluss der erst seit 2006 zugelassenen Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren wurde nicht in das Modell miteinbezogen, da diese Gruppe, zu viele zensierte Fälle beinhaltete.

Für die Gültigkeit dieses Modells musste jedoch noch im Nachhinein eine Residualanalyse durchgeführt werden, die die Proportionalität des Hazards für alle Variablen überprüfte. Die Teilresiduen für B7-H3 ergaben kein statistisch signifikantes Ergebnis ($p=0,241$), weshalb die geforderte Proportionalität des Hazards gegeben war. Gleiches galt für das B7-H1 Glykoprotein ($p=0,281$). Der Test zeigte allerdings ein statistisch signifikantes Ergebnis für die Residuen der Variablen SSIGN-Score ($p=0,000$), weshalb die Proportionalität des Hazards verletzt war und aus diesem Grund die Voraussetzungen für dieses Modell nicht ganz erfüllt waren. Diesen Sachverhalt zeigt auch die Grafik der Kaplan-Meier-Analyse die in der Abbildung 31 zu sehen ist.

Die Residuen der Variablen SSIGN-Score sind daher zeitabhängig und es galt nun zu überprüfen, ob sich der Einfluss des SSIGN-Scores mit fortschreitender Überlebenszeit verringert. Zu diesem Zweck musste ein Cox-Modell für zeitabhängige Kovariaten erstellt werden. Der Omnibus-Test der Modellkoeffizienten zeigte wie auch in der vorigen Analyse mit einem statistisch signifikanten Ergebnis ($p=0,000$) an, dass mindestens eine der unabhängigen Variablen dieses Modells einen Einfluss auf die Überlebensdauer hat. Die Ergebnisse des Omnibus-Tests sind in Tabelle 8 zu sehen. Die Überprüfung aller vier Variablen ergab ebenso, sowohl für die Glykoproteinexpression von B7-H1 ($p=0,004$) und B7-H3 ($p=0,010$) als auch für den SSIGN-Score ($p=0,000$) sowie eine zeitabhängige Kovariate ($p=0,004$) ein statistisch signifikantes Ergebnis. Die Ergebnisse für die einzelnen Variablen der multivariaten Analyse können in Tabelle 9 überprüft werden.

Omnibus-Tests der Modellkoeffizienten^{a,b}

-2 Log-Likelihood	Gesamt (Wert)			Änderung aus vorangegangennem Schritt			Änderung aus vorangegangennem Block		
	Chi-Quadrat	df	Signifikanz	Chi-Quadrat	df	Signifikanz	Chi-Quadrat	df	Signifikanz
156,334	26,593	4	,000	38,405	4	0,000	38,405	4	,000

a. Anfangsblocknummer 0, anfängliche Log-Likelihood-Funktion: -2 Log-Likelihood: 194,738

b. Beginnen mit Block-Nr. 1. Methode = Einschluß

Tabelle 8: Omnibus-Tests der Modellkoeffizienten^{a,b}

Variablen in der Gleichung

	B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)	95,0% Konfidenzintervall. für Exp(B)	
							Untere	Obere
B7H1_100	-,052	,018	8,150	1	0,004	,949	,915	,984
B7H3_100	,081	,032	6,579	1	0,010	1,085	1,019	1,154
SSign_Score	,909	,239	14,436	1	0,000	2,482	1,553	3,967
SSign_Score*T_COV_	-,002	,001	8,460	1	0,004	,998	,997	,999

Tabelle 9: Variablen in der Gleichung des multivariaten Modells

Die in der Abbildung 34 dargestellte durchschnittliche Überlebenskurve repräsentiert das Überleben für einen Patienten mit durchschnittlicher Ausprägung aller unabhängigen Variablen.

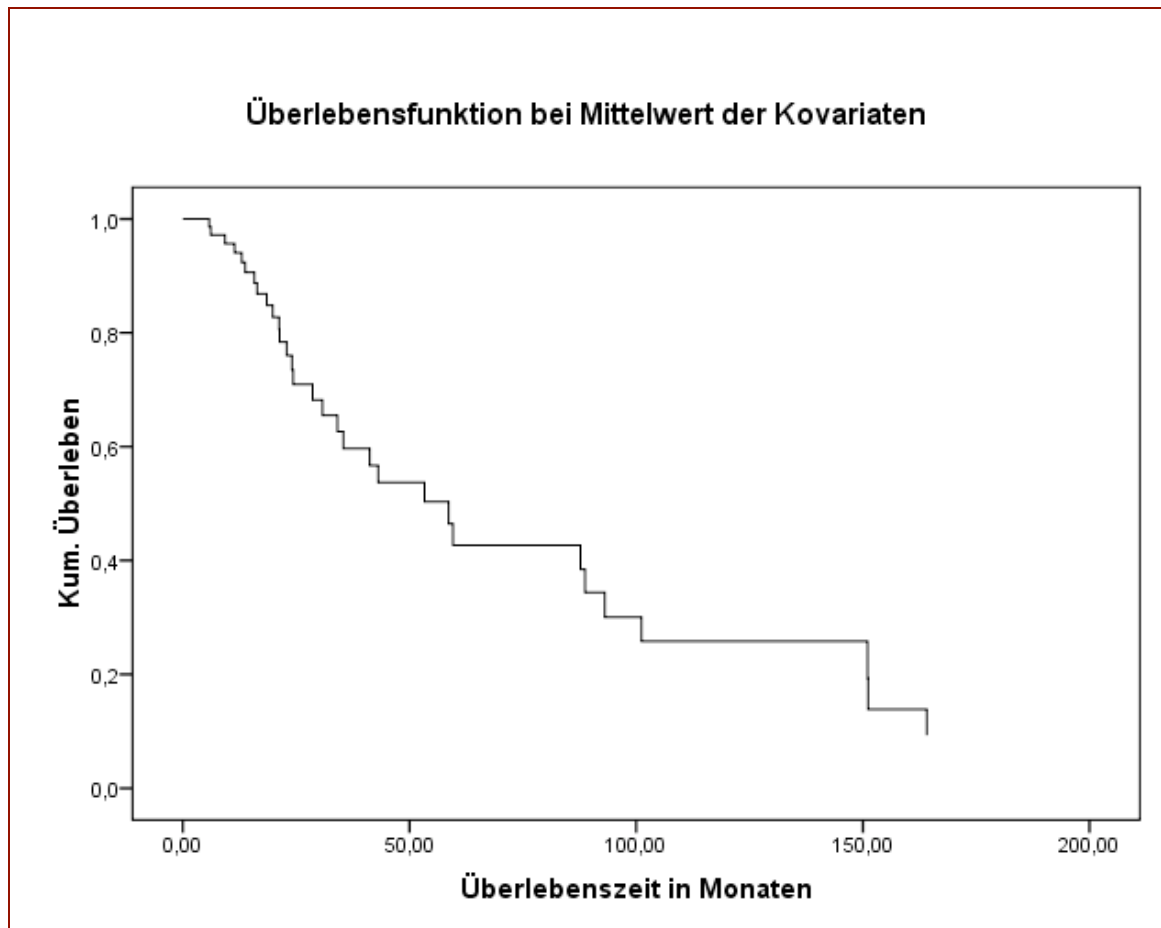


Abbildung 34: Durchschnittliche Überlebenskurve bei durchschnittlicher Ausprägung aller unabhängigen Kovariaten

Die Expression der Glykoproteine und der SSIGN-Score haben also einen Einfluss auf die Überlebensdauer. In Bezug auf das B7-H1 Glykoprotein stellten wir fest, dass sich bei einer Erhöhung der Expression um 1%, die Hazard-Ratio um 5,1% verminderte. Umgekehrt, stieg die Sterbewahrscheinlichkeit proportional mit der steigenden B7-H3 Glykoproteinexpression. Wenn sich die Expression von B7-H3 um 1% erhöhte, stieg gleichzeitig die Hazard-Rate um 8,5%. Auch ein hoher SSIGN-Score senkte die Überlebenswahrscheinlichkeit. Erhöhte sich dieser um eins, stieg parallel die Hazard-Rate um 148,2% an. Hervorzuheben ist, dass sich die Interaktion des SSIGN-Score mit einer zeitabhängigen Kovariate als signifikant darstellte ($p=0,004$). Der Einfluss des SSIGN-Scores verändert sich insofern mit der Zeit als, dass bei zunehmender Überlebensdauer der Patienten, der Einfluss des SSIGN-Scores sinkt. Zur Überprüfung und Interpretation der Abhängigkeit des SSIGN-Scores von der Zeit wurde dieser in vier Untergruppen von 0-3, 4-6, 7-9 und 10-13 eingeteilt und in Abbildung 35 für jede Gruppe die Überlebenszeit grafisch dargestellt.

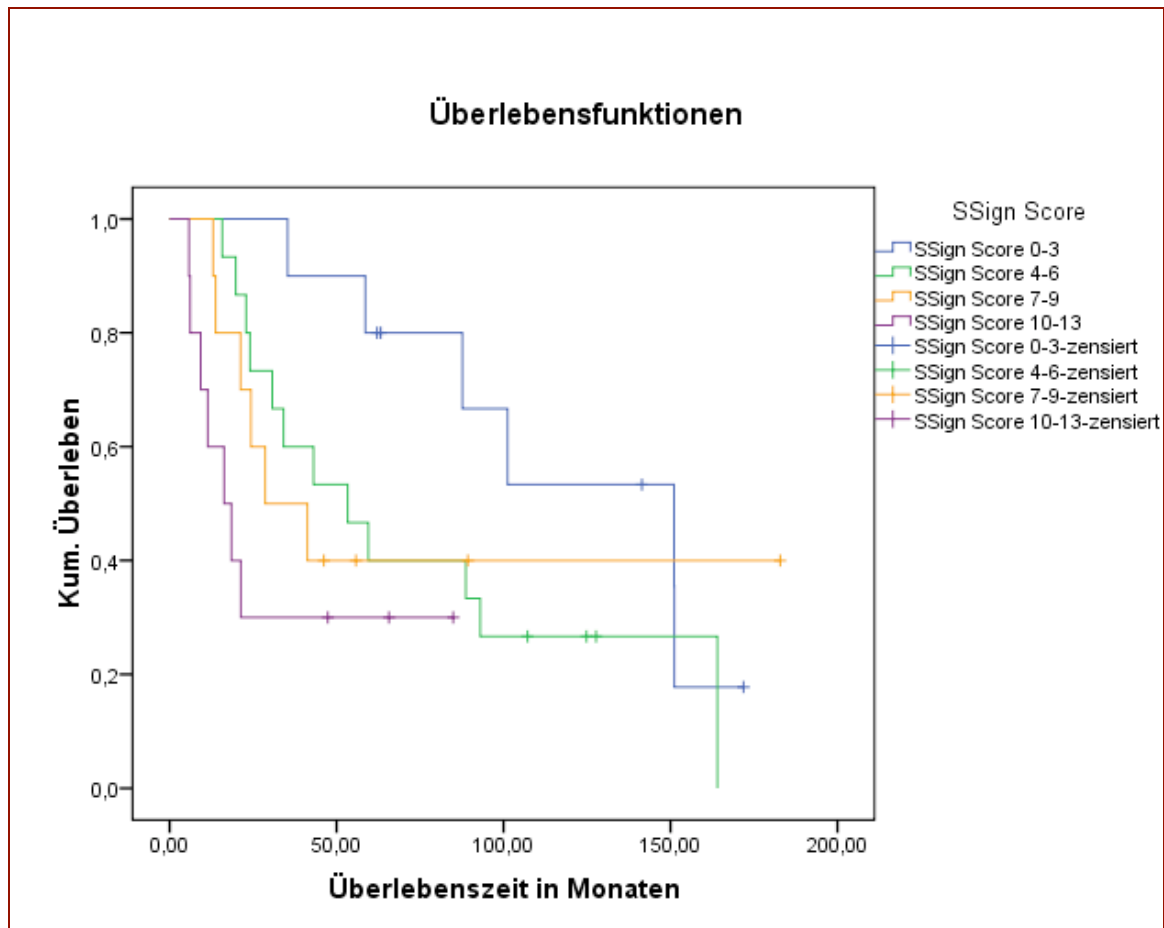


Abbildung 35: Prozentueller Anteil der Überlebenden in allen vier SSIGN-Score Gruppen abhängig von der Zeit

Zu Beginn, das heißt vom Zeitpunkt der Nephrektomie weg, hat der SSIGN Score einen Einfluss auf die Überlebenszeit. Vor allem jene Subgruppe mit einem SSIGN Score von 0-3 hebt sich von den anderen Kurven sichtbar ab und zeigt ein deutlich längeres Überleben als die Gruppen mit höherem Score. Ab einer gewissen Überlebenszeit, scheint dieser Einfluss jedoch verloren zu gehen. Das ist dadurch erkennbar, dass sich beispielsweise die Kurve der Gruppe mit einem SSIGN-Score von 7-9 sowohl mit jener des SSIGN-Score von 4-6 als auch mit der des Score von 0-3 überschneidet. Laut unseren Ergebnissen liegt der Vorteil eines niedrigen SSIGN-Scores, bezogen auf das Überleben, innerhalb der ersten 60 Monate.

Aufgrund dieser Ergebnisse wollten wir überprüfen, wie viele von jenen Patienten, die trotz eines hohen SSIGN-Scores länger überlebten, eine Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) erhalten hatten und wie diese hinsichtlich ihres SSIGN-Scores und ihrer Proteinexpression auf die jeweiligen Gruppen verteilt waren. Es wurde angenommen, dass diese neue Therapie eventuell hohe SSIGN-Scores kompensiert und

diesen Personen deshalb ein längeres Überleben ermöglicht. Von den 45 in die Studie aufgenommenen Patienten, erhielten insgesamt 13 Patienten eine Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren. Wie in Tabelle 10 zu sehen ist, waren diese 13 Patienten allerdings wider Erwarten auf die vier SSIGN-Score Untergruppen relativ gleichmäßig verteilt.

Behandlung mit Tyrosinkinaseinhibitoren * SSIGN Score Kreuztabelle

Anzahl		SSIGN Score				Gesamt
		0-3	4-6	7-9	10-13	
Behandlung mit keine TKI erhalten	Tyrosinkinaseinhibitoren	6	11	8	7	32
	TKI erhalten	4	4	2	3	13
Gesamt		10	15	10	10	45

Tabelle 10: Verteilung der Patienten mit TKI-Therapie auf die 4 SSIGN-Score Untergruppen

Die Anzahl der Patienten, die eine Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren bekommen hatte war innerhalb jener, die entsprechend ihrer B7-H1 Glykoproteinexpression in eine Gruppe mit 25% B7-H1 Expression oder weniger und in eine Gruppe mit mehr als 25% Glykoproteinexpression eingeteilt wurden, jeweils gleichmäßig verteilt. Die Verteilung kann in Tabelle 11 nachgelesen werden.

Behandlung mit Tyrosinkinaseinhibitoren * Expression von B7-H1 Kreuztabelle

Anzahl		Expression von B7-H1		Gesamt
		<=25%	>25%	
Behandlung mit keine TKI erhalten	Tyrosinkinaseinhibitoren	20	12	32
	TKI erhalten	7	6	13
Gesamt		27	18	45

Tabelle 11: Verteilung der Patienten mit TKI-Therapie auf die 2 Untergruppen der B7-H1 Expression

Wie aus Tabelle 12 ersichtlich, erhielten eher die Patienten, mit einer B7-H3 Expression von 15% oder weniger, diese neue Therapie als jene mit mehr als 15% Proteinexpression.

Behandlung mit Tyrosinkinaseinhibitoren * Expression von B7-H3 Kreuztabelle

Anzahl		Expression von B7-H3		Gesamt
		<=15%	>15%	
Behandlung mit keine TKI erhalten	Tyrosinkinaseinhibitoren	13	19	32
	TKI erhalten	9	4	13
Gesamt		22	23	45

Tabelle 12: Verteilung der Patienten mit TKI-Therapie auf die 2 Untergruppen der B7-H3 Expression

8.3.1 Zusammenfassung der Resultate

1. Die Grenzwerte des B7-H1 Glykoproteins weisen für die dadurch entstehenden zwei Gruppen, weder bei 20% noch bei 25% einen statistisch signifikanten Unterschied auf und korrelieren nicht mit dem Überleben der Patienten.
2. Im Gegensatz dazu weist das B7-H3 Glykoprotein bei einem Cut-off Wert von 15% einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der Gruppe, die 15% und weniger und der Gruppe, die mehr als 15% dieser Proteine exprimieren, auf. Bei einem Grenzwert von 20% zeigt aber auch das Glykoprotein B7-H3 keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen mehr.
3. Die Überprüfung der beiden SSIGN-Score Gruppen 0-4 und 5-13 zeigte im Hinblick auf das Überleben mit einem p von 6,9% knapp keinen statistisch signifikanten Unterschied.
4. Der Zusammenhang zwischen der B7-H1 Expression und den beiden SSIGN-Score Gruppen 0-4 und 5-13 zeigte keinen statistisch signifikanten Unterschied, da die Verteilung der Expressionswerte für B7-H1 in beiden Gruppen fast gleich war.
5. In Bezug auf das B7-H3 Protein war der Unterschied der Expressionshöhe in beiden SSIGN-Score Gruppen statistisch signifikant. Patienten mit einem niedrigen SSIGN-Score (0-4) zeigten im Schnitt eine um 4% niedrigere B7-H3 Proteinexpression im Vergleich zu höheren SSIGN-Scores (5-13).
6. Das multivariate Modell in das sowohl das B7-H1 als auch das B7-H3 Glykoprotein und der SSIGN-Score miteinbezogen wurden und das deren Einfluss auf das Langzeitüberleben der Patienten mit fortgeschrittenem klarzelligen Nierenzellkarzinom überprüfen sollte, ergab für jede der drei Variablen ein statistisch signifikantes Ergebnis. Die Hazard-Ratio des B7-H1 Glykoproteins sank, bei einer Erhöhung der Expression um 1%, allerdings um 5,1%. Umgekehrt, stieg die Sterbewahrscheinlichkeit proportional mit der steigenden B7-H3 Glykoproteinexpression. Wenn sich die Expression von B7-H3 um 1% erhöhte, stieg gleichzeitig die Hazard-Ratio um 8,5%. Auch ein hoher SSIGN Score senkte die Überlebenschance. Erhöhte sich dieser um eins, stieg parallel die Hazard-Ratio um 148,2% an.

7. Die Interaktion des SSIGN-Score mit einer zeitabhängigen Kovariate stellte sich als signifikant ($p=0,004$) dar. Unsere Studie zeigte, dass bei zunehmender Überlebensdauer der Patienten, der Einfluss des SSIGN-Scores auf das Überleben sank.
8. Zur Klärung der Frage warum manche Patienten trotz eines hohen SSIGN-Scores gleich lange lebten wie Patienten, die einen niedrigen SSIGN-Score aufwiesen, wurde untersucht wieviele Patienten Tyrosinkinaseinhibitoren eingenommen hatten. Es lag die Vermutung nahe, dass diese eventuell zu einem längeren Überleben der Patienten führen und hohe SSIGN-Scores kompensieren. Von den 45 Studienteilnehmern wurden 13 Probanden mit Tyrosinkinaseinhibitoren behandelt. Die Anzahl der Patienten die eine Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren erhalten hatten, war in allen vier gebildeten SSIGN-Score Untergruppen (0-3, 4-6, 7-9 und 10-13) nahezu gleich gut verteilt.
9. Die Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren war innerhalb der Patienten, die entsprechend ihrer B7-H1 Glykoproteinexpression in eine Gruppe mit 25% B7-H1 Expression oder weniger und in eine Gruppe mit mehr als 25% Glykoproteinexpression eingeteilt wurden, jeweils gleichmäßig verteilt.
10. Wenn man die Zahl der Probanden, die eine B7-H3 Expression von 15% oder weniger aufwiesen, mit der Zahl derer die mehr als 15% Proteinexpression aufwiesen verglich, waren in der Gruppe die 15% oder weniger B7-H3 Expression aufwies mehr als doppelt so viele Patienten, die eine Tyrosinkinaseinhibitor-Therapie bekommen hatten.

8.4 Diskussion

B7-H1 und B7-H3 Glykoproteine spielen in der Regulation der T-Zell medierten Immunabwehr und vorallem im Kampf gegen die Entstehung und das Wachstum von bösartigen Tumorzellen eine wichtige kostimulatorische Rolle, die allerdings noch nicht zu Gänze verstanden wird. Der hemmende Einfluss des B7-H1 Glykoproteins auf T-Zellen und die damit verbundene schlechtere Prognose für das Überleben konnte aber nicht nur im Zusammenhang mit dem Nierenzellkarzinom sondern auch mit dem Mamma-, Prostata, nicht-kleinzelligen Bronchuskarzinom, Ovarialkarzinom, Urothelkarzinom und Pankreaskarzinom beobachtet werden.²⁹⁹ Das erst seit kurzer Zeit bekannte B7-H3 Glykoprotein präsentierte sich neben dem Nierenzellkarzinom ebenfalls beim Prostata- und Ovarialzellkarzinom als prognostisch negativer Faktor für das Überleben.³⁰⁰ In der aktuellen Studie konnte sich das B7-H1 Protein im Rahmen der Kaplan-Meyer Analysen nicht als Biomarker mit prognostischer Relevanz etablieren, da keiner der gewählten Grenzwerte einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen in Bezug auf das Überleben liefern konnte und die Expressionshöhe auch keinen signifikanten Einfluss auf den SSIGN-Score hatte.

Von den vier Tests, die mit dem B7-H1 Glykoprotein in Zusammenhang mit dem Überleben, dem B7-H3 Protein und dem SSIGN erhoben wurden, wies lediglich ein multivariates Modell, das alle drei Variablen in Bezug auf das Überleben überprüfen sollte, ein signifikantes Ergebnis auf. Im Vergleich zu den bisher erfolgten Studien, die sich mit der B7-H1 Expression auf Zellen des klarzelligen Nierenzellkarzinoms beschäftigten, war dieses Ergebnis aber sehr gegensätzlich. In einer 2004 und 2007 durchgeführten Studie von Thompson et al. wurde gezeigt, dass eine vermehrte Expression des B7-H1 Glykoproteins auf Nierenzellkarzinomzellen mit aggressiveren Tumoren und einer geringeren Überlebenszeit der Patienten mit deutlicher Signifikanz korrelierte.³⁰¹ In unserem multivariaten Analysemodell war eine erhöhte B7-H1 Expression mit einem geringeren Sterberisiko verbunden. Die Ursache für dieses sehr unterschiedliche Ergebnis sollten primär im Bereich des von uns verwendeten B7-H1 Antikörpers gesucht werden, da dieser ein anderer Antikörper war als der, der in der Studie von Thompson verwendet wurde und es möglicherweise, trotz der mehrfachen Schritte eine unspezifische Hintergrundfärbung zu verhindern, zu Kreuzreaktionen mit anderen Oberflächenproteinen gekommen war.

Damit die Bereiche mit positiver Antigen-Antikörperreaktion sichtbar gemacht werden konnten wurde mit einem Zweitantikörper gearbeitet, der an den Anti-B7-H1 Antikörper binden sollte. Es wäre zu überlegen ob eine Kreuzreaktion des Zweitantikörpers eventuell auch ein Grund ist, der zu einer unspezifischen Reaktion führt. Allerdings wiesen die Negativkontrollen, die jeweils parallel zu den B7-H1 und B7-H3 Färbungen durchgeführt wurden und die zeigen sollten ob sich durch die Färbemethode neben den gesuchten Glykoproteine auch andere Oberflächenstrukturen anfärben, keine Unspezifität auf. In einer von Dong et al. durchgeführten Studie wurde beschrieben, dass Interferon- γ die B7-H1 Expression in Tumorzelllinien, die primär kein B7-H1 exprimieren, induzieren kann. Ein solcher medikamentöser Interferoneinfluss kann in der aktuellen Studie ausgeschlossen werden, da die für die Studie verwendeten Gewebeschnitte, alle von nephrektomierten Patienten waren, die an einem klarzelligem Nierenzellkarzinom erkrankt waren, im weiteren Krankheitsverlauf Metastasen entwickelt hatten und erst auf Grund dessen mit einer Interferonen Therapie begonnen wurde.

Das B7-H3 Protein hingegen stellte in Bezug auf die Proteinexpression bei einem Grenzwert von 15% einen prognostisch relevanten Biomarker dar. Der Korrelationstest zwischen B7-H3 und dem SSIGN-Score zeigte, dass Patienten, die einen höheren SSIGN-Score aufwiesen als andere Probanden auch das B7-H3 Protein vermehrt exprimierten. Der SSIGN-Score, der 2002 von einer Studiengruppe der Mayo Klinik für klarzellige Nierenzellkarzinome entwickelt wurde und einen signifikanten Prognosefaktor repräsentiert stellt sich in unserer Studie allerdings als Prognosefaktor dar, der mit fortschreitendem Überleben an Einfluss verliert. Da einige Patienten von der Interferontherapie auf die 2006 eingeführte Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) umgestellt wurden, wurde vermutet, dass die TKI-Therapie aufgrund besserer Studienergebnisse hohe SSIGN-Scores kompensieren könnte. Da die neue Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren in den Vergleichsgruppen aber ähnlich gut verteilt war, sind die Gründe für diesen zeitabhängigen Wirkungsverlust des SSIGN-Scores allerdings noch unklar. Möglicherweise liegt der Grund dafür darin, dass in die aktuelle Studie ausschließlich metastasierte Patienten einfließen, der SSIGN-Score allerdings für alle Patienten, auch nicht metastasierte, entwickelt wurde. Der geringere Einfluss des SSIGN-Score könnte daher auf die Selektion zurückgeführt werden. Die Überprüfung des signifikanten B7-H3 Grenzwertes auf Therapieumstellungen zeigte in beiden Gruppen, dass hier eher jene Patienten mit niedrigen SSIGN-Scores Tyrosinkinaseinhibitoren erhalten

hatten. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die signifikanten Ergebnisse der B7-H3 Expression nicht von der Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren beeinflusst wurden. Die Quantifizierung der Bereiche innerhalb des Tumorgewebes, die eine positive Antigen-Antikörperreaktion aufwiesen, konnten mittels des Aperio Technologies Scan Scopes in einer objektiven, gut nachvollziehbaren und überprüfbaren Form durchgeführt werden. Ein solcher Messvorgang könnte in Zukunft auch besser vergleichbare Ergebnisse von immunhistologischen Färbungen liefern. Mit dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Expression des Glykoproteins B7-H3 als guter Prognosefaktor sowohl für das Überleben als auch für die Aggressivität des klarzelliges Nierenzellkarzinoms eingesetzt werden kann. Pro futuro könnte das Glykoprotein B7-H3 als wichtiger Marker für adjuvante und tumorzell-gezielte Therapieformen dienen.

Curriculum Vitae

Persönliche Daten:

Vor- und Zuname: Johannes MISCHINGER
Adresse: Hartenaugasse 25, 8010 Graz, Österreich
Telefon: +43 316 381595
Mobile: +43 664 8946872
Fax: +43 316 381595-16
E-Mail: johannes.mischinger@stud.meduni-graz.at
Staatsangehörigkeit: Österreich
Geburtsdatum: 16.12.1983
Familienstand: ledig



Schulbildung:

Volkschule: Graben, Muchargasse 23, 8010 Graz
Zeitraum: 1990 – 1994
Gymnasium (AHS): Sacré Coeur, Petersgasse 1, 8010 Graz
Zeitraum: 1994 – 2002
Matura: 20 Juni 2002

Wehrdienst:

Kaserne: Kirchner, Kasernstraße, 8010 Graz
Zeitraum: Oktober 2002 – Mai 2003

Studium an der Medizinische Universität Graz:

Beginn: Oktober 2003
Ende: Jänner 2010
Diplomarbeitsthema: Expression der Glykoproteine B7-H1 und B7-H3 auf Tumorzellen des metastasierten klarzelligen Nierenzellkarzinoms. Einfluss der Glykoproteine auf die Prognose.
Famulaturen: Krankenhaus der Barmherzigen Brüder; Graz; Internistische Abteilung (10.07.06 – 06.08.06)
Hanuschkrankenhaus; Wien; Zentralröntgeninstitut (16.07.07 – 03.08.07)
Hanuschkrankenhaus; Wien; Allgemeinchirurgische Abteilung (06.08.07 – 10.08.07)
Rudolfstiftung; Wien, Allgemeinchirurgische Abteilung (07.07.08 – 01.08.08)
Landeskrankenhaus; Graz; Neurochirurgische Abteilung (29.09.08 – 10.10.08)
Landeskrankenhaus; Graz; Urologische Abteilung (20.10.08 – 07.11.08)
Spezielle Studienmodule: (SSM) Klinisch topographische Anatomie der Extremitäten (SSM 01)
Klinisch topographische Anatomie der Eingeweide (SSM 02)
Klinisch topographische Anatomie der Kopf-Hals-Region (SSM 03)
Allgemeinmedizin (SSM 40)
Case-based Learning in Klinik und Praxis (SSM 47)
Abschnitte des Klinikjahres: 5 Wochen Mitarbeit in einer allgemeinmedizinischen Lehrpraxis (Dr. Gehard Zeck, 1.März - 3.April 2009)
10 Wochen Mitarbeit an der Universitätsklinik für Urologie Graz (20.April – 3.Juli 2009)
4 Wochen Mitarbeit an der gynäkologischen Abteilung des Campus Benjamin Franklin der Charité Universitätsmedizin Berlin (3.August - 31.August)
6 Wochen Mitarbeit an der nephrologischen Abteilung des Campus Benjamin Franklin der Charité Universitätsmedizin Berlin (1.September – 14.Oktober)

Persönliche Fähigkeiten:

Muttersprache: Deutsch
Sonstige Sprachen: Englisch (fließend in Wort und Schrift)
Französisch (Basiswissen)
Italienisch (Basiswissen)
Führerschein(e): Klasse B
EDV: Office Kenntnisse durchschnittlich
Meine Hobbies : Basketball (im Verein, Grazer Athletik Club)
Fußball
Snowboarden
Golf
Sonstige Angaben: Italienischsprachkurs in Florenz (Juni 2003, 1 Monat)
Ferialarbeit Firma Dipl. Ing. Karl Heinz SCHLEICH Ges.m.b.H.(August 2002)
Neben hoher Einsatzbereitschaft und Zielstrebigkeit, zeichnet mich insbesondere Teamfähigkeit, Sozialkompetenz und Lernbereitschaft aus.

Literaturverzeichnis

- ¹Pathologie; Böcker, Denk, Heitz, 3. Auflage, Elsevier, Urban&Fischer (München), 2004, S.860
- ²Facharzt Nephrologie; Risler, Kühn, Alscher, 1. Auflage, Elsevier, Urban&Fischer (München), 2008, S.826
- ³Pathologie; Böcker, Denk, Heitz, 3. Auflage, Elsevier, Urban&Fischer (München), 2004, S.860
- ⁴Praxis der Urologie; Jocham, Miller, Band 2, 3. Auflage, Thieme (Stuttgart, New York), 2007, S.14
- ⁵Pantuck AJ, Zisman A, Belldegrun AS. The changing natural history of renal cell carcinoma. *J.Urol.* 2001 Nov;166(5):1611-1623.
Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1999. *CA Cancer.J.Clin.* 1999 Jan-Feb;49(1):8-31, 1.
- ⁶Praxis der Urologie; Jocham, Miller, Band 2, 3. Auflage, Thieme (Stuttgart, New York), 2007, S.14
- ⁷Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer.J.Clin.* 2007 Jan-Feb;57(1):43-66.
Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1999. *CA Cancer.J.Clin.* 1999 Jan-Feb;49(1):8-31, 1.
- ⁸Facharzt Nephrologie; Risler, Kühn, Alscher, 1. Auflage, Elsevier, Urban&Fischer (München), 2008, S.826
- ⁹Chow WH, Devesa SS, Warren JL, Fraumeni JF,Jr. Rising incidence of renal cell cancer in the United States. *JAMA* 1999 May 5;281(17):1628-1631.
- ¹⁰Facharzt Nephrologie; Risler, Kühn, Alscher, 1. Auflage, Elsevier, Urban&Fischer (München), 2008, S.826
- ¹¹Robert Koch Institut 2006; aus U.Humke, Das Nierenzellkarzinom, Kongress Medizin, Stuttgart 2009. Quelle aus: <http://www.aerztekammer-bw.de/25/15medizin09/B07/6.pdf>
- ¹²Praxis der Urologie; Jocham, Miller, Band 2, 3. Auflage, Thieme (Stuttgart, New York), 2007, S.14
- ¹³Uroonkologie; Rübben, 4. Auflage, Springer (Berlin), 2006, S.245
- ¹⁴Marberger M, Janetschek G. Renal cell carcinoma--developments in therapy. *Urologe A.* 2007 May;46(5):475-477.
- ¹⁵Chow WH, Devesa SS, Warren JL, Fraumeni JF,Jr. Rising incidence of renal cell cancer in the United States. *JAMA* 1999 May 5;281(17):1628-1631.
- ¹⁶Broecker B. Non-Wilms' renal tumors in children. *Urol.Clin.North Am.* 2000 Aug;27(3):463-9, ix.
- ¹⁷Renshaw AA, Granter SR, Fletcher JA, Kozakewich HP, Corless CL, Perez-Atayde AR. Renal cell carcinomas in children and young adults: increased incidence of papillary architecture and unique subtypes. *Am.J.Surg.Pathol.* 1999 Jul;23(7):795-802.
- ¹⁸Geller JI, Dome JS. Local lymph node involvement does not predict poor outcome in pediatric renal cell carcinoma. *Cancer* 2004 Oct 1;101(7):1575-1583.
- ¹⁹McLaughlin JK, Lindblad P, Mellemgard A, McCredie M, Mandel JS, Schlehofer B, et al. International renal-cell cancer study. I. Tobacco use. *Int.J.Cancer* 1995 Jan 17;60(2):194-198.
Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Declining mortality from kidney cancer in Europe. *Ann.Oncol.* 2004 Jul;15(7):1130-1135.
- ²⁰Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Declining mortality from kidney cancer in Europe. *Ann.Oncol.* 2004 Jul;15(7):1130-1135.
Muscat JE, Hoffmann D, Wynder EL. The epidemiology of renal cell carcinoma. A second look. *Cancer* 1995 May 15;75(10):2552-2557.
- ²¹Pathologie; Böcker, Denk, Heitz, Moch 4. Auflage, Elsevier, Urban&Fischer (München), 2008, S.883
- ²²Scott CS, Chiu WA. Trichloroethylene cancer epidemiology: a consideration of select issues. *Environ.Health Perspect.* 2006 Sep;114(9):1471-1478.
- ²³Hu J, Mao Y, White K. Renal cell carcinoma and occupational exposure to chemicals in Canada. *Occup.Med.(Lond)* 2002 May;52(3):157-164.
- ²⁴Goodman MT, Morgenstern H, Wynder EL. A case-control study of factors affecting the development of renal cell cancer. *Am.J.Epidemiol.* 1986 Dec;124(6):926-941.
- ²⁵Lindblad P. Epidemiology of renal cell carcinoma. *Scand.J.Surg.* 2004;93(2):88-96.
- ²⁶Wenz W. Tumors of the kidney following retrograde pyelography with colloidal thorium dioxide. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 1967 Dec 11;145(3):806-810.

-
- Vogelzang NJ, Yang X, Goldman S, Vijayakumar S, Steinberg G. Radiation induced renal cell cancer: a report of 4 cases and review of the literature. *J.Urol.* 1998 Dec;160(6 Pt 1):1987-1990.
- Lindblad P. Epidemiology of renal cell carcinoma. *Scand.J.Surg.* 2004;93(2):88-96.
- ²⁷Vogelzang NJ, Yang X, Goldman S, Vijayakumar S, Steinberg G. Radiation induced renal cell cancer: a report of 4 cases and review of the literature. *J.Urol.* 1998 Dec;160(6 Pt 1):1987-1990.
- ²⁸Cherullo EE, Ross JH, Kay R, Novick AC. Renal neoplasms in adult survivors of childhood Wilms tumor. *J.Urol.* 2001 Jun;165(6 Pt 1):2013-6; discussion 2016-7.
- ²⁹Grossman E, Messerli FH, Goldbourt U. Antihypertensive therapy and the risk of malignancies. *Eur.Heart J.* 2001 Aug;22(15):1343-1352.
- Lindblad P. Epidemiology of renal cell carcinoma. *Scand.J.Surg.* 2004;93(2):88-96.
- ³⁰Truong LD, Choi YJ, Shen SS, Ayala G, Amato R, Krishnan B. Renal cystic neoplasms and renal neoplasms associated with cystic renal diseases: pathogenetic and molecular links. *Adv.Anat.Pathol.* 2003 May;10(3):135-159.
- ³¹Stewart JH, Buccianti G, Agodoa L, Gellert R, McCredie MR, Lowenfels AB, et al. Cancers of the kidney and urinary tract in patients on dialysis for end-stage renal disease: analysis of data from the United States, Europe, and Australia and New Zealand. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2003 Jan;14(1):197-207.
- ³²Gago-Dominguez M, Yuan JM, Castelao JE, Ross RK, Yu MC. Regular use of analgesics is a risk factor for renal cell carcinoma. *Br.J.Cancer* 1999 Oct;81(3):542-548.
- ³³Linehan WM, Pinto PA, Srinivasan R, Merino M, Choyke P, Choyke L, et al. Identification of the genes for kidney cancer: opportunity for disease-specific targeted therapeutics. *Clin.Cancer Res.* 2007 Jan 15;13(2 Pt 2):671s-679s.
- ³⁴Gago-Dominguez M, Yuan JM, Castelao JE, Ross RK, Yu MC. Family history and risk of renal cell carcinoma. *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* 2001 Sep;10(9):1001-1004
- ³⁵Gimenez-Bachs JM, Salinas-Sanchez AS, Sanchez-Sanchez F, Lorenzo-Romero JG, Donate-Moreno MJ, Pastor-Navarro H, et al. Determination of vhl gene mutations in sporadic renal cell carcinoma. *Eur.Urol.* 2006 Jun;49(6):1051-1057.
- ³⁶Uroonkologie; Rübben, 4. Auflage, Springer (Berlin), 2006, 246
- ³⁷Presti JC,Jr, Wilhelm M, Reuter V, Russo P, Motzer R, Waldman F. Allelic loss on chromosomes 8 and 9 correlates with clinical outcome in locally advanced clear cell carcinoma of the kidney. *J.Urol.* 2002 Mar;167(3):1464-1468.
- ³⁸Moch H, Gasser T, Amin MB, Torhorst J, Sauter G, Mihatsch MJ. Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM staging system of renal cell carcinoma: a Swiss experience with 588 tumors. *Cancer* 2000 Aug 1;89(3):604-614.
- ³⁹Gurova KV, Hill JE, Razorenova OV, Chumakov PM, Gudkov AV. P53 Pathway in Renal Cell Carcinoma is Repressed by a Dominant Mechanism. *Cancer Res.* 2004 Mar 15;64(6):1951-1958.
- ⁴⁰Velickovic M, Delahunt B, McIver B, Grebe SK. Intragenic PTEN/MMAC1 loss of heterozygosity in conventional (clear-cell) renal cell carcinoma is associated with poor patient prognosis. *Mod.Pathol.* 2002 May;15(5):479-485.
- Horiguchi A, Oya M, Uchida A, Marumo K, Murai M. Elevated Akt activation and its impact on clinicopathological features of renal cell carcinoma. *J.Urol.* 2003 Feb;169(2):710-713.
- ⁴¹Uroonkologie; Rübben, 4. Auflage, Springer (Berlin), 2006, 246
- ⁴²Knudson AG,Jr, Strong LC. Mutation and cancer: a model for Wilms' tumor of the kidney. *J.Natl.Cancer Inst.* 1972 Feb;48(2):313-324.
- ⁴³Pavlovich CP, Schmidt LS. Searching for the hereditary causes of renal-cell carcinoma. *Nat.Rev.Cancer.* 2004 May;4(5):381-393.
- ⁴⁴Praxis der Urologie; Jocham, Miller, Band 2, 3. Auflage, Thieme (Stuttgart, New York), 2007, S.15
- ⁴⁵Zbar B, Klausner R, Linehan WM. Studying cancer families to identify kidney cancer genes. *Annu.Rev.Med.* 2003;54:217-233.
- ⁴⁶Junker K. Molecular diagnostics of renal diseases with underlying genetic predisposition. *Urologe A.* 2003 May;42(5):624-633.
- ⁴⁷Neumann HP, Zbar B. Renal cysts, renal cancer and von Hippel-Lindau disease. *Kidney Int.* 1997 Jan;51(1):16-26.
- ⁴⁸Hosoe S, Brauch H, Latif F, Glenn G, Daniel L, Bale S, et al. Localization of the von Hippel-Lindau disease gene to a small region of chromosome 3. *Genomics* 1990 Dec;8(4):634-640.
- ⁴⁹Latif F, Tory K, Gnarr J, Yao M, Duh FM, Orcutt ML, et al. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Science* 1993 May 28;260(5112):1317-1320.
-

-
- ⁵⁰Junker K. Molecular diagnostics of renal diseases with underlying genetic predisposition. *Urologe A*. 2003 May;42(5):624-633.
- ⁵¹Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. *J.Urol*. 2003 Dec;170(6 Pt 1):2163-2172.
- ⁵²Zbar B. Von Hippel-Lindau disease and sporadic renal cell carcinoma. *Cancer Surv*. 1995;25:219-232.
- ⁵³Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. *J.Urol*. 2003 Dec;170(6 Pt 1):2163-2172.
- ⁵⁴Knudson AG,Jr, Strong LC. Mutation and cancer: a model for Wilms' tumor of the kidney. *J.Natl.Cancer Inst*. 1972 Feb;48(2):313-324.
- ⁵⁵Yu F, White SB, Zhao Q, Lee FS. Dynamic, site-specific interaction of hypoxia-inducible factor-1alpha with the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein. *Cancer Res*. 2001 May 15;61(10):4136-4142.
- ⁵⁶Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. *J.Urol*. 2003 Dec;170(6 Pt 1):2163-2172.
- ⁵⁶Pavlovich CP, Schmidt LS. Searching for the hereditary causes of renal-cell carcinoma. *Nat.Rev.Cancer*. 2004 May;4(5):381-393.
- ⁵⁷Storkel S, Eble JN, Adlakha K, Amin M, Blute ML, Bostwick DG, et al. Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* 1997 Sep 1;80(5):987-989.
- ⁵⁸Czene K, Hemminki K. Familial papillary renal cell tumors and subsequent cancers: a nationwide epidemiological study from Sweden. *J.Urol*. 2003 Apr;169(4):1271-1275.
- ⁵⁹Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. *J.Urol*. 2003 Dec;170(6 Pt 1):2163-2172.
- ⁶⁰Pavlovich CP, Schmidt LS. Searching for the hereditary causes of renal-cell carcinoma. *Nat.Rev.Cancer*. 2004 May;4(5):381-393.
- ⁶¹Zhuang Z, Park WS, Pack S, Schmidt L, Vortmeyer AO, Pak E, et al. Trisomy 7-harboring non-random duplication of the mutant MET allele in hereditary papillary renal carcinomas. *Nat.Genet*. 1998 Sep;20(1):66-69.
- ⁶²Knudson AG,Jr, Strong LC. Mutation and cancer: a model for Wilms' tumor of the kidney. *J.Natl.Cancer Inst*. 1972 Feb;48(2):313-324.
- ⁶³Pavlovich CP, Schmidt LS. Searching for the hereditary causes of renal-cell carcinoma. *Nat.Rev.Cancer*. 2004 May;4(5):381-393.
- ⁶³Schmidt LS, Nickerson ML, Angeloni D, Glenn GM, Walther MM, Albert PS, et al. Early onset hereditary papillary renal carcinoma: germline missense mutations in the tyrosine kinase domain of the met proto-oncogene. *J.Urol*. 2004 Oct;172(4 Pt 1):1256-1261.
- ⁶⁴Pavlovich CP, Schmidt LS. Searching for the hereditary causes of renal-cell carcinoma. *Nat.Rev.Cancer*. 2004 May;4(5):381-393.
- ⁶⁵Choyke PL, Glenn GM, Walther MM, Zbar B, Linehan WM. Hereditary renal cancers. *Radiology* 2003 Jan;226(1):33-46.
- ⁶⁶Grubb RL,3rd, Behari A, Kim CM, Williams CR, Linehan WM, Coleman JA. Highlights from the Society of Urologic Oncology, 5th Annual Meeting, December 3-4, 2004, Bethesda, Maryland, United States of America. *J.Urol*. 2005 Dec;174(6):2330-2333.
- ⁶⁷Pavlovich CP, Schmidt LS. Searching for the hereditary causes of renal-cell carcinoma. *Nat.Rev.Cancer*. 2004 May;4(5):381-393.
- ⁶⁸Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. *J.Urol*. 2003 Dec;170(6 Pt 1):2163-2172.
- ⁶⁹Neumann E, Engelsberg A, Decker J, Storkel S, Jaeger E, Huber C, et al. Heterogeneous expression of the tumor-associated antigens RAGE-1, PRAME, and glycoprotein 75 in human renal cell carcinoma: candidates for T-cell-based immunotherapies? *Cancer Res*. 1998 Sep 15;58(18):4090-4095.
- ⁷⁰Finke JH, Rayman P, Edinger M, Tubbs RR, Stanley J, Klein E, et al. Characterization of a human renal cell carcinoma specific cytotoxic CD8+ T cell line. *J.Immunother.(1991)* 1992 Jan;11(1):1-11.
- ⁷¹Schwaab T, Schned AR, Heaney JA, Cole BF, Atzpodien J, Wittke F, et al. In vivo description of dendritic cells in human renal cell carcinoma. *J.Urol*. 1999 Aug;162(2):567-573.
- ⁷¹Liao SY, Aurelio ON, Jan K, Zavada J, Stanbridge EJ. Identification of the MN/CA9 protein as a reliable diagnostic biomarker of clear cell carcinoma of the kidney. *Cancer Res*. 1997 Jul 15;57(14):2827-2831.
-

-
- Vissers JL, De Vries IJ, Schreurs MW, Engelen LP, Oosterwijk E, Figdor CG, et al. The renal cell carcinoma-associated antigen G250 encodes a human leukocyte antigen (HLA)-A2.1-restricted epitope recognized by cytotoxic T lymphocytes. *Cancer Res.* 1999 Nov 1;59(21):5554-5559.
- ⁷²Vissers JL, De Vries IJ, Schreurs MW, Engelen LP, Oosterwijk E, Figdor CG, et al. The renal cell carcinoma-associated antigen G250 encodes a human leukocyte antigen (HLA)-A2.1-restricted epitope recognized by cytotoxic T lymphocytes. *Cancer Res.* 1999 Nov 1;59(21):5554-5559.
McKiernan JM, Buttyan R, Bander NH, Stifelman MD, Katz AE, Chen MW, et al. Expression of the tumor-associated gene MN: a potential biomarker for human renal cell carcinoma. *Cancer Res.* 1997 Jun 15;57(12):2362-2365.
- ⁷³Ivanov SV, Kuzmin I, Wei MH, Pack S, Geil L, Johnson BE, et al. Down-regulation of transmembrane carbonic anhydrases in renal cell carcinoma cell lines by wild-type von Hippel-Lindau transgenes. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 1998 Oct 13;95(21):12596-12601.
- ⁷⁴Vissers JL, De Vries IJ, Schreurs MW, Engelen LP, Oosterwijk E, Figdor CG, et al. The renal cell carcinoma-associated antigen G250 encodes a human leukocyte antigen (HLA)-A2.1-restricted epitope recognized by cytotoxic T lymphocytes. *Cancer Res.* 1999 Nov 1;59(21):5554-5559.
- ⁷⁵Oliver RT, Nethersell AB, Bottomley JM. Unexplained spontaneous regression and alpha-interferon as treatment for metastatic renal carcinoma. *Br.J.Urol.* 1989 Feb;63(2):128-131.
Vogelzang NJ, Priest ER, Borden L. Spontaneous regression of histologically proved pulmonary metastases from renal cell carcinoma: a case with 5-year followup. *J.Urol.* 1992 Oct;148(4):1247-1248.
- ⁷⁶Vogelzang NJ, Priest ER, Borden L. Spontaneous regression of histologically proved pulmonary metastases from renal cell carcinoma: a case with 5-year followup. *J.Urol.* 1992 Oct;148(4):1247-1248.
Kavoussi LR, Levine SR, Kadmon D, Fair WR. Regression of metastatic renal cell carcinoma: a case report and literature review. *J.Urol.* 1986 May;135(5):1005-1007.
- ⁷⁷Motzer RJ, Russo P. Systemic therapy for renal cell carcinoma. *J.Urol.* 2000 Feb;163(2):408-417.
- ⁷⁸Troy AJ, Summers KL, Davidson PJ, Atkinson CH, Hart DN. Minimal recruitment and activation of dendritic cells within renal cell carcinoma. *Clin.Cancer Res.* 1998 Mar;4(3):585-593.
Seliger B, Hohne A, Knuth A, Bernhard H, Meyer T, Tampe R, et al. Analysis of the major histocompatibility complex class I antigen presentation machinery in normal and malignant renal cells: evidence for deficiencies associated with transformation and progression. *Cancer Res.* 1996 Apr 15;56(8):1756-1760.
Kallfelz M, Jung D, Hilmes C, Knuth A, Jaeger E, Huber C, et al. Induction of immunogenicity of a human renal-cell carcinoma cell line by TAP1-gene transfer. *Int.J.Cancer* 1999 Mar 31;81(1):125-133.
Alexander JP, Kudoh S, Melsop KA, Hamilton TA, Edinger MG, Tubbs RR, et al. T-cells infiltrating renal cell carcinoma display a poor proliferative response even though they can produce interleukin 2 and express interleukin 2 receptors. *Cancer Res.* 1993 Mar 15;53(6):1380-1387.
Koo AS, Tso CL, Shimabukuro T, Peyret C, deKernion JB, Belldegrun A. Autologous tumor-specific cytotoxicity of tumor-infiltrating lymphocytes derived from human renal cell carcinoma. *J.Immunother.(1991)* 1991 Oct;10(5):347-354.
Lahn M, Fisch P, Kohler G, Kunzmann R, Hentrich I, Jesuiter H, et al. Pro-inflammatory and T cell inhibitory cytokines are secreted at high levels in tumor cell cultures of human renal cell carcinoma. *Eur.Urol.* 1999 Jan;35(1):70-80.
Kolenko V, Uzzo RG, Bukowski R, Bander NH, Novick AC, Hsi ED, et al. Dead or dying: necrosis versus apoptosis in caspase-deficient human renal cell carcinoma. *Cancer Res.* 1999 Jun 15;59(12):2838-2842.
Cardi G, Heaney JA, Schned AR, Ernstoff MS. Expression of Fas(APO-1/CD95) in tumor-infiltrating and peripheral blood lymphocytes in patients with renal cell carcinoma. *Cancer Res.* 1998 May 15;58(10):2078-2080.
- ⁷⁹Uzzo RG, Rayman P, Kolenko V, Clark PE, Bloom T, Ward AM, et al. Mechanisms of apoptosis in T cells from patients with renal cell carcinoma. *Clin.Cancer Res.* 1999 May;5(5):1219-1229.
- ⁸⁰Uzzo RG, Clark PE, Rayman P, Bloom T, Rybicki L, Novick AC, et al. Alterations in NFkappaB activation in T lymphocytes of patients with renal cell carcinoma. *J.Natl.Cancer Inst.* 1999 Apr 21;91(8):718-721.
- ⁸¹Finke JH, Rayman P, George R, Tannenbaum CS, Kolenko V, Uzzo R, et al. Tumor-induced sensitivity to apoptosis in T cells from patients with renal cell carcinoma: role of nuclear factor-kappaB suppression. *Clin.Cancer Res.* 2001 Mar;7(3 Suppl):940s-946s.
- ⁸²Oyama T, Ran S, Ishida T, Nadaf S, Kerr L, Carbone DP, et al. Vascular endothelial growth factor affects dendritic cell maturation through the inhibition of nuclear factor-kappa B activation in hemopoietic progenitor cells. *J.Immunol.* 1998 Feb 1;160(3):1224-1232.
-

-
- ⁸³Gabrilovich D, Ishida T, Oyama T, Ran S, Kravtsov V, Nadaf S, et al. Vascular endothelial growth factor inhibits the development of dendritic cells and dramatically affects the differentiation of multiple hematopoietic lineages in vivo. *Blood* 1998 Dec 1;92(11):4150-4166.
- ⁸⁴Tobe SW, Noble-Topham SE, Andrulis IL, Hartwick RW, Skorecki KL, Warner E. Expression of the multiple drug resistance gene in human renal cell carcinoma depends on tumor histology, grade, and stage. *Clin.Cancer Res.* 1995 Dec;1(12):1611-1615.
- ⁸⁵Motzer RJ, Russo P. Systemic therapy for renal cell carcinoma. *J.Urol.* 2000 Feb;163(2):408-417.
- ⁸⁶Gamelin E, Mertins SD, Regis JT, Mickley L, Abati A, Worrell RA, et al. Intrinsic drug resistance in primary and metastatic renal cell carcinoma. *J.Urol.* 1999 Jul;162(1):217-224.
- ⁸⁷Motzer RJ, Russo P. Systemic therapy for renal cell carcinoma. *J.Urol.* 2000 Feb;163(2):408-417.
- ⁸⁸Gnarra JR, Zhou S, Merrill MJ, Wagner JR, Krumm A, Papavassiliou E, et al. Post-transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor mRNA by the product of the VHL tumor suppressor gene. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 1996 Oct 1;93(20):10589-10594.
- ⁸⁹Chang SG, Jeon SH, Lee SJ, Choi JM, Kim YW. Clinical significance of urinary vascular endothelial growth factor and microvessel density in patients with renal cell carcinoma. *Urology* 2001 Dec;58(6):904-908.
- ⁹⁰Slaton JW, Inoue K, Perrotte P, El-Naggar AK, Swanson DA, Fidler IJ, et al. Expression levels of genes that regulate metastasis and angiogenesis correlate with advanced pathological stage of renal cell carcinoma. *Am.J.Pathol.* 2001 Feb;158(2):735-743.
Yagasaki H, Kawata N, Takimoto Y, Nemoto N. Histopathological analysis of angiogenic factors in renal cell carcinoma. *Int.J.Urol.* 2003 Apr;10(4):220-227.
Currie MJ, Gunningham SP, Turner K, Han C, Scott PA, Robinson BA, et al. Expression of the angiopoietins and their receptor Tie2 in human renal clear cell carcinomas; regulation by the von Hippel-Lindau gene and hypoxia. *J.Pathol.* 2002 Dec;198(4):502-510.
Pavlovich CP, Schmidt LS. Searching for the hereditary causes of renal-cell carcinoma. *Nat.Rev.Cancer.* 2004 May;4(5):381-393.
- ⁹¹Yang JC, Haworth L, Sherry RM, Hwu P, Schwartzentruber DJ, Topalian SL, et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N.Engl.J.Med.* 2003 Jul 31;349(5):427-434.
- ⁹²Campbell SC. Advances in angiogenesis research: relevance to urological oncology. *J.Urol.* 1997 Nov;158(5):1663-1674.
- ⁹³Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1590
- ⁹⁴Delahunt B, Bethwaite PB, Thornton A, Ribas JL. Proliferation of renal cell carcinoma assessed by fixation-resistant polyclonal Ki-67 antibody labeling. Correlation with clinical outcome. *Cancer* 1995 Jun 1;75(11):2714-2719.
- ⁹⁵Ramp U, Jaquet K, Reinecke P, Schardt C, Friebe U, Nitsch T, et al. Functional intactness of stimulatory and inhibitory autocrine loops in human renal carcinoma cell lines of the clear cell type. *J.Urol.* 1997 Jun;157(6):2345-2350.
- ⁹⁶Prewett M, Rothman M, Waksal H, Feldman M, Bander NH, Hicklin DJ. Mouse-human chimeric anti-epidermal growth factor receptor antibody C225 inhibits the growth of human renal cell carcinoma xenografts in nude mice. *Clin.Cancer Res.* 1998 Dec;4(12):2957-2966.
- ⁹⁷Stumm G, Eberwein S, Rostock-Wolf S, Stein H, Pomer S, Schlegel J, et al. Concomitant overexpression of the EGFR and erbB-2 genes in renal cell carcinoma (RCC) is correlated with dedifferentiation and metastasis. *Int.J.Cancer* 1996 Feb 20;69(1):17-22.
- ⁹⁸Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1590
- ⁹⁹Sridhar SS, Hedley D, Siu LL. Raf kinase as a target for anticancer therapeutics. *Mol.Cancer.Ther.* 2005 Apr;4(4):677-685.
- ¹⁰⁰Atkins MB, Hidalgo M, Stadler WM, Logan TF, Dutcher JP, Hudes GR, et al. Randomized phase II study of multiple dose levels of CCI-779, a novel mammalian target of rapamycin kinase inhibitor, in patients with advanced refractory renal cell carcinoma. *J.Clin.Oncol.* 2004 Mar 1;22(5):909-918.
- ¹⁰¹Parker A, Cheville JC, Lohse C, Cerhan JR, Blute ML. Expression of insulin-like growth factor I receptor and survival in patients with clear cell renal cell carcinoma. *J.Urol.* 2003 Aug;170(2 Pt 1):420-424.
- ¹⁰²Orlando C, Gelmini S, Selli C, Pazzagli M. Telomerase in urological malignancy. *J.Urol.* 2001 Aug;166(2):666-673.
-

-
- ¹⁰³Mehle C, Piatyszek MA, Ljungberg B, Shay JW, Roos G. Telomerase activity in human renal cell carcinoma. *Oncogene* 1996 Jul 4;13(1):161-166.
- ¹⁰⁴Huang A, Fone PD, Gandour-Edwards R, White RW, Low RK. Immunohistochemical analysis of BCL-2 protein expression in renal cell carcinoma. *J.Urol.* 1999 Aug;162(2):610-613.
- ¹⁰⁵Sweeney P, El-Naggar AK, Lin SH, Pisters LL. Biological significance of c-met over expression in papillary renal cell carcinoma. *J.Urol.* 2002 Jul;168(1):51-55.
- ¹⁰⁶Clifford SC, Czapla K, Richards FM, O'Donoghue DJ, Maher ER. Hepatocyte growth factor-stimulated renal tubular mitogenesis: effects on expression of c-myc, c-fos, c-met, VEGF and the VHL tumour-suppressor and related genes. *Br.J.Cancer* 1998 May;77(9):1420-1428.
- ¹⁰⁷Horie S, Aruga S, Kawamata H, Okui N, Kakizoe T, Kitamura T. Biological role of HGF/MET pathway in renal cell carcinoma. *J.Urol.* 1999 Mar;161(3):990-997.
- ¹⁰⁸Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1591
- ¹⁰⁹Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1591
- ¹¹⁰Ohh M, Yauch RL, Lonergan KM, Whaley JM, Stemmer-Rachamimov AO, Louis DN, et al. The von Hippel-Lindau tumor suppressor protein is required for proper assembly of an extracellular fibronectin matrix. *Mol.Cell* 1998 Jun;1(7):959-968.
- ¹¹¹Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1591
- ¹¹²Walther MM, Kleiner DE, Lubensky IA, Pozzatti R, Nyguen T, Gnarra JR, et al. Progelatinase A mRNA expression in cell lines derived from tumors in patients with metastatic renal cell carcinoma correlates inversely with survival. *Urology* 1997 Aug;50(2):295-301.
- ¹¹³Paul R, Necknig U, Busch R, Ewing CM, Hartung R, Isaacs WB. Cadherin-6: a new prognostic marker for renal cell carcinoma. *J.Urol.* 2004 Jan;171(1):97-101.
- ¹¹⁴Paul R, Ewing CM, Robinson JC, Marshall FF, Johnson KR, Wheelock MJ, et al. Cadherin-6, a cell adhesion molecule specifically expressed in the proximal renal tubule and renal cell carcinoma. *Cancer Res.* 1997 Jul 1;57(13):2741-2748.
- ¹¹⁵Steinbach F, Tanabe K, Alexander J, Edinger M, Tubbs R, Brenner W, et al. The influence of cytokines on the adhesion of renal cancer cells to endothelium. *J.Urol.* 1996 Feb;155(2):743-748.
- ¹¹⁶Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1591
- ¹¹⁷Pathologie; Böcker, Denk, Heitz, Moch 4. Auflage, Elsevier, Urban&Fischer (München), 2008, S.883
- ¹¹⁸Koga S, Nishikido M, Hayashi T, Matsuya F, Saito Y, Kanetake H. Outcome of surgery in cystic renal cell carcinoma. *Urology* 2000 Jul;56(1):67-70.
- ¹¹⁹Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am.J.Surg.Pathol.* 1982 Oct;6(7):655-663.
- ¹²⁰Schefft P, Novick AC, Straffon RA, Stewart BH. Surgery for renal cell carcinoma extending into the inferior vena cava. *J.Urol.* 1978 Jul;120(1):28-31.
- ¹²¹Pathologie; Böcker, Denk, Heitz, Moch 4. Auflage, Elsevier, Urban&Fischer (München), 2008, S.883
- ¹²²Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1591
- ¹²³Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. *J.Urol.* 2003 Dec;170(6 Pt 1):2163-2172.
- ¹²⁴Richstone L, Scherr DS, Reuter VR, Snyder ME, Rabbani F, Kattan MW, et al. Multifocal renal cortical tumors: frequency, associated clinicopathological features and impact on survival. *J.Urol.* 2004 Feb;171(2 Pt 1):615-620.
- ¹²⁵Junker K, Thrum K, Schlichter A, Muller G, Hindermann W, Schubert J. Clonal origin of multifocal renal cell carcinoma as determined by microsatellite analysis. *J.Urol.* 2002 Dec;168(6):2632-2636.
- ¹²⁶Kito H, Suzuki H, Igarashi T, Tobe T, Mizoguchi K, Kamiya N, et al. Distinct patterns of chromosomal losses in clinically synchronous and asynchronous bilateral renal cell carcinoma. *J.Urol.* 2002 Dec;168(6):2637-2640.
- ¹²⁷Zambrano NR, Lubensky IA, Merino MJ, Linehan WM, Walther MM. Histopathology and molecular genetics of renal tumors toward unification of a classification system. *J.Urol.* 1999 Oct;162(4):1246-1258.
-

-
- ¹²⁸Storkel S, Eble JN, Adlakha K, Amin M, Blute ML, Bostwick DG, et al. Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* 1997 Sep 1;80(5):987-989.
- ¹²⁹DeLong W, Grignon DJ, Eberwein P, Shum DT, Wyatt JK. Sarcomatoid renal cell carcinoma. An immunohistochemical study of 18 cases. *Arch.Pathol.Lab.Med.* 1993 Jun;117(6):636-640.
- ¹³⁰Weiss LM, Gelb AB, Medeiros LJ. Adult renal epithelial neoplasms. *Am.J.Clin.Pathol.* 1995 May;103(5):624-635.
- ¹³¹Davis CJ,Jr, Mostofi FK, Sesterhenn IA. Renal medullary carcinoma. The seventh sickle cell nephropathy. *Am.J.Surg.Pathol.* 1995 Jan;19(1):1-11.
- ¹³²Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1593
- ¹³³Rabbani F, Hakimian P, Reuter VE, Simmons R, Russo P. Renal vein or inferior vena caval extension in patients with renal cortical tumors: impact of tumor histology. *J.Urol.* 2004 Mar;171(3):1057-1061.
- ¹³⁴Beck SD, Patel MI, Snyder ME, Kattan MW, Motzer RJ, Reuter VE, et al. Effect of papillary and chromophobe cell type on disease-free survival after nephrectomy for renal cell carcinoma. *Ann.Surg.Oncol.* 2004 Jan;11(1):71-77.
- ¹³⁵Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. *J.Urol.* 2003 Dec;170(6 Pt 1):2163-2172.
- ¹³⁶Storkel S, Eble JN, Adlakha K, Amin M, Blute ML, Bostwick DG, et al. Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* 1997 Sep 1;80(5):987-989.
- ¹³⁷Renshaw AA, Zhang H, Corless CL, Fletcher JA, Pins MR. Solid variants of papillary (chromophil) renal cell carcinoma: clinicopathologic and genetic features. *Am.J.Surg.Pathol.* 1997 Oct;21(10):1203-1209.
- ¹³⁸Renshaw AA. Subclassification of renal cell neoplasms: an update for the practising pathologist. *Histopathology* 2002 Oct;41(4):283-300.
- ¹³⁹Brunelli M, Eble JN, Zhang S, Martignoni G, Cheng L. Gains of chromosomes 7, 17, 12, 16, and 20 and loss of Y occur early in the evolution of papillary renal cell neoplasia: a fluorescent in situ hybridization study. *Mod.Pathol.* 2003 Oct;16(10):1053-1059.
- ¹⁴⁰Herts BR, Coll DM, Novick AC, Obuchowski N, Linnell G, Wirth SL, et al. Enhancement characteristics of papillary renal neoplasms revealed on triphasic helical CT of the kidneys. *AJR Am.J.Roentgenol.* 2002 Feb;178(2):367-372.
- ¹⁴¹Schmidt LS, Nickerson ML, Angeloni D, Glenn GM, Walther MM, Albert PS, et al. Early onset hereditary papillary renal carcinoma: germline missense mutations in the tyrosine kinase domain of the met proto-oncogene. *J.Urol.* 2004 Oct;172(4 Pt 1):1256-1261.
- ¹⁴²Chow GK, Myles J, Novick AC. The Cleveland Clinic experience with papillary (chromophil) renal cell carcinoma: clinical outcome with histopathological correlation. *Can.J.Urol.* 2001 Apr;8(2):1223-1228.
- ¹⁴³Mydlo JH, Bard RH. Analysis of papillary renal adenocarcinoma. *Urology* 1987 Dec;30(6):529-534.
- ¹⁴⁴Amin MB, Corless CL, Renshaw AA, Tickoo SK, Kubus J, Schultz DS. Papillary (chromophil) renal cell carcinoma: histomorphologic characteristics and evaluation of conventional pathologic prognostic parameters in 62 cases. *Am.J.Surg.Pathol.* 1997 Jun;21(6):621-635.
- ¹⁴⁵Storkel S, Eble JN, Adlakha K, Amin M, Blute ML, Bostwick DG, et al. Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* 1997 Sep 1;80(5):987-989.
- ¹⁴⁶Storkel S, Steart PV, Drenckhahn D, Thoenes W. The human chromophobe cell renal carcinoma: its probable relation to intercalated cells of the collecting duct. *Virchows Arch.B.Cell.Pathol.Incl Mol.Pathol.* 1989;56(4):237-245.
- ¹⁴⁷Nagashima Y. Chromophobe renal cell carcinoma: clinical, pathological and molecular biological aspects. *Pathol.Int.* 2000 Nov;50(11):872-878.
- ¹⁴⁸Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. *J.Urol.* 2003 Dec;170(6 Pt 1):2163-2172.
- ¹⁴⁹Nagashima Y. Chromophobe renal cell carcinoma: clinical, pathological and molecular biological aspects. *Pathol.Int.* 2000 Nov;50(11):872-878.
- ¹⁵⁰Thoenes W, Storkel S, Rumpelt HJ, Moll R, Baum HP, Werner S. Chromophobe cell renal carcinoma and its variants--a report on 32 cases. *J.Pathol.* 1988 Aug;155(4):277-287.
- ¹⁵¹Kuroda N, Toi M, Hiroi M, Enzan H. Review of chromophobe renal cell carcinoma with focus on clinical and pathobiological aspects. *Histol.Histopathol.* 2003 Jan;18(1):165-171.
-

-
- 152 Polascik TJ, Bostwick DG, Cairns P. Molecular genetics and histopathologic features of adult distal nephron tumors. *Urology* 2002 Dec;60(6):941-946.
- 153 Contractor H, Zariwala M, Bugert P, Zeisler J, Kovacs G. Mutation of the p53 tumour suppressor gene occurs preferentially in the chromophobe type of renal cell tumour. *J.Pathol.* 1997 Feb;181(2):136-139. Petit A, Castillo M, Santos M, Mellado B, Alcover JB, Mallofre C. KIT expression in chromophobe renal cell carcinoma: comparative immunohistochemical analysis of KIT expression in different renal cell neoplasms. *Am.J.Surg.Pathol.* 2004 May;28(5):676-678.
- 154 Storkel S, Eble JN, Adlakha K, Amin M, Blute ML, Bostwick DG, et al. Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* 1997 Sep 1;80(5):987-989.
- 155 Tokuda N, Naito S, Matsuzaki O, Nagashima Y, Ozono S, Igarashi T, et al. Collecting duct (Bellini duct) renal cell carcinoma: a nationwide survey in Japan. *J.Urol.* 2006 Jul;176(1):40-3; discussion 43.
- 156 Pickhardt PJ, Siegel CL, McLarney JK. Collecting duct carcinoma of the kidney: are imaging findings suggestive of the diagnosis? *AJR Am.J.Roentgenol.* 2001 Mar;176(3):627-633.
- 157 Polascik TJ, Bostwick DG, Cairns P. Molecular genetics and histopathologic features of adult distal nephron tumors. *Urology* 2002 Dec;60(6):941-946.
- 158 Storkel S, Eble JN, Adlakha K, Amin M, Blute ML, Bostwick DG, et al. Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* 1997 Sep 1;80(5):987-989.
- 159 Cangiano T, Liao J, Naitoh J, Dorey F, Figlin R, Belldegrun A. Sarcomatoid renal cell carcinoma: biologic behavior, prognosis, and response to combined surgical resection and immunotherapy. *J.Clin.Oncol.* 1999 Feb;17(2):523-528.
- 160 Zisman A, Chao DH, Pantuck AJ, Kim HJ, Wieder JA, Figlin RA, et al. Unclassified renal cell carcinoma: clinical features and prognostic impact of a new histological subtype. *J.Urol.* 2002 Sep;168(3):950-955.
- 161 Gettman MT, Blute ML. Update on pathologic staging of renal cell carcinoma. *Urology* 2002 Aug;60(2):209-217. Greene FL, Sobin LH. The TNM system: our language for cancer care. *J.Surg.Oncol.* 2002 Jul;80(3):119-120.
- 162 Hermanek P, Schrott KM. Evaluation of the new tumor, nodes and metastases classification of renal cell carcinoma. *J.Urol.* 1990 Aug;144(2 Pt 1):238-41; discussion 241-2.
- 163 *Uroonkologie; Rübben, 4. Auflage, Springer (Berlin), 2006, S.249*
- 164 Hafez KS, Fergany AF, Novick AC. Nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: impact of tumor size on patient survival, tumor recurrence and TNM staging. *J.Urol.* 1999 Dec;162(6):1930-1933.
- 165 *Uroonkologie; Rübben, 4. Auflage, Springer (Berlin), 2006, S.249*
- 166 Terrone C, Cracco C, Guercio S, Bollito E, Poggio M, Scoffone C, et al. Prognostic value of the involvement of the urinary collecting system in renal cell carcinoma. *Eur.Urol.* 2004 Oct;46(4):472-476.
- 167 *Uroonkologie; Rübben, 4. Auflage, Springer (Berlin), 2006, S.249*
- 168 Siemer S, Lehmann J, Kamradt J, Loch T, Remberger K, Humke U, et al. Adrenal metastases in 1635 patients with renal cell carcinoma: outcome and indication for adrenalectomy. *J.Urol.* 2004 Jun;171(6 Pt 1):2155-9; discussion 2159.
- 169 Kim HL, Zisman A, Han KR, Figlin RA, Belldegrun AS. Prognostic significance of venous thrombus in renal cell carcinoma. Are renal vein and inferior vena cava involvement different? *J.Urol.* 2004 Feb;171(2 Pt 1):588-591. Moinzadeh A, Libertino JA. Prognostic significance of tumor thrombus level in patients with renal cell carcinoma and venous tumor thrombus extension. Is all T3b the same? *J.Urol.* 2004 Feb;171(2 Pt 1):598-601.
- 170 Kim HL, Zisman A, Han KR, Figlin RA, Belldegrun AS. Prognostic significance of venous thrombus in renal cell carcinoma. Are renal vein and inferior vena cava involvement different? *J.Urol.* 2004 Feb;171(2 Pt 1):588-591.
- 171 Hatcher PA, Anderson EE, Paulson DF, Carson CC, Robertson JE. Surgical management and prognosis of renal cell carcinoma invading the vena cava. *J.Urol.* 1991 Jan;145(1):20-3; discussion 23-4.
- 172 *Uroonkologie; Rübben, 4. Auflage, Springer (Berlin), 2006, S.249*
- 173 Ficarra V, Galfano A, Mancini M, Martignoni G, Artibani W. TNM staging system for renal-cell carcinoma: current status and future perspectives. *Lancet Oncol.* 2007 Jun;8(6):554-558.
-

-
- 174 Terrone C, Cracco C, Porpiglia F, Bollito E, Scoffone C, Poggio M, et al. Reassessing the current TNM lymph node staging for renal cell carcinoma. *Eur.Urol.* 2006 Feb;49(2):324-331.
- 175 Karakiewicz PI, Trinh QD, Bhojani N, Bensalah K, Salomon L, de la Taille A, et al. Renal cell carcinoma with nodal metastases in the absence of distant metastatic disease: prognostic indicators of disease-specific survival. *Eur.Urol.* 2007 Jun;51(6):1616-1624.
- 176 Pantuck AJ, Zisman A, Belldegrun A. Biology of renal cell carcinoma: changing concepts in classification and staging. *Semin.Urol.Oncol.* 2001 May;19(2):72-79.
- 177 Phillips CK, Taneja SS. The role of lymphadenectomy in the surgical management of renal cell carcinoma. *Urol.Oncol.* 2004 May-Jun;22(3):214-23; discussion 223-4.
- 178 *Uroonkologie; Rübben, 4. Auflage, Springer (Berlin), 2006, S.250*
- 179 *Uroonkologie; Rübben, 4. Auflage, Springer (Berlin), 2006, S.249*
- 180 Mueller-Lisse UG, Mueller-Lisse UL, Meindl T, Coppentrath E, Degenhart C, Graser A, et al. Staging of renal cell carcinoma. *Eur.Radiol.* 2007 Sep;17(9):2268-2277.
- 181 Hutterer GC, Patard JJ, Jeldres C, Perrotte P, de La Taille A, Salomon L, et al. Patients with distant metastases from renal cell carcinoma can be accurately identified: external validation of a new nomogram. *BJU Int.* 2008 Jan;101(1):39-43.
- 182 Reznick RH. CT/MRI in staging renal cell carcinoma. *Cancer.Imaging* 2004 Feb 14;4 Spec No A:S25-32.
- 183 Motzer RJ, Russo P. Systemic therapy for renal cell carcinoma. *J.Urol.* 2000 Feb;163(2):408-417.
- 184 *Uroonkologie; Rübben, 4. Auflage, Springer (Berlin), 2006, S.250*
- 185 Motzer RJ, Bacik J, Schwartz LH, Reuter V, Russo P, Marion S, et al. Prognostic factors for survival in previously treated patients with metastatic renal cell carcinoma. *J.Clin.Oncol.* 2004 Feb 1;22(3):454-463.
- 186 *Uroonkologie; Rübben, 4. Auflage, Springer (Berlin), 2006, S.250*
- 187 *Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1597*
- 188 Pantuck AJ, Zisman A, Rauch MK, Belldegrun A. Incidental renal tumors. *Urology* 2000 Aug 1;56(2):190-196.
- 189 Jayson M, Sanders H. Increased incidence of serendipitously discovered renal cell carcinoma. *Urology* 1998 Feb;51(2):203-205.
- 190 Jayson M, Sanders H. Increased incidence of serendipitously discovered renal cell carcinoma. *Urology* 1998 Feb;51(2):203-205.
- 191 *Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1597*
- 192 Kim HL, Belldegrun AS, Freitas DG, Bui MH, Han KR, Dorey FJ, et al. Paraneoplastic signs and symptoms of renal cell carcinoma: implications for prognosis. *J.Urol.* 2003 Nov;170(5):1742-1746.
- 193 Massfelder T, Lang H, Schordan E, Lindner V, Rothhut S, Welsch S, et al. Parathyroid hormone-related protein is an essential growth factor for human clear cell renal carcinoma and a target for the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene. *Cancer Res.* 2004 Jan 1;64(1):180-188.
- 194 Kim HL, Belldegrun AS, Freitas DG, Bui MH, Han KR, Dorey FJ, et al. Paraneoplastic signs and symptoms of renal cell carcinoma: implications for prognosis. *J.Urol.* 2003 Nov;170(5):1742-1746.
- 195 Moein MR, Dehghani VO. Hypertension: a rare presentation of renal cell carcinoma. *J.Urol.* 2000 Dec;164(6):2019.
- 196 Gross AJ, Wolff M, Fandrey J, Miersch WD, Dieckmann KP, Jelkmann W. Prevalence of paraneoplastic erythropoietin production by renal cell carcinomas. *Clin.Investig.* 1994 May;72(5):337-340.
- 197 *Comprehensive textbook of genitourinary oncology; Nicholas Vogelzang, Peter T. Scardino, William U. Shipley, Frans M.J. Debruyne, W. Marston Linehan, Third Edition, Lippincott Williams & Wilkins (Philadelphia), 2006, S. 665*
- 198 Blay JY, Rossi JF, Wijdenes J, Menetrier-Caux C, Schemann S, Negrier S, et al. Role of interleukin-6 in the paraneoplastic inflammatory syndrome associated with renal-cell carcinoma. *Int.J.Cancer* 1997 Jul 29;72(3):424-430.
- 199 *Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1598*
- 200 *Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1597*
- 201 Zhang JQ, Fielding JR, Zou KH. Etiology of spontaneous perirenal hemorrhage: a meta-analysis. *J.Urol.* 2002 Apr;167(4):1593-1596.
-

-
- 202 Patard JJ, Dorey FJ, Cindolo L, Ficarra V, De La Taille A, Tostain J, et al. Symptoms as well as tumor size provide prognostic information on patients with localized renal tumors. *J.Urol.* 2004 Dec;172(6 Pt 1):2167-2171.
- 203 Schips L, Lipsky K, Zigeuner R, Salfellner M, Winkler S, Langner C, et al. Impact of tumor-associated symptoms on the prognosis of patients with renal cell carcinoma: a single-center experience of 683 patients. *Urology* 2003 Dec;62(6):1024-1028.
- 204 Lam JS, Leppert JT, Figlin RA, Belldegrun AS. Role of molecular markers in the diagnosis and therapy of renal cell carcinoma. *Urology* 2005 Nov;66(5 Suppl):1-9.
- 205 Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am.J.Clin.Oncol.* 1982 Dec;5(6):649-655. The Eastern Cooperative Oncology Group, Robert Comis M.D., Group Chair
- 206 Leibovich BC, Cheville JC, Lohse CM, Zincke H, Frank I, Kwon ED, et al. A scoring algorithm to predict survival for patients with metastatic clear cell renal cell carcinoma: a stratification tool for prospective clinical trials. *J.Urol.* 2005 Nov;174(5):1759-63; discussion 1763.
- 207 Motzer RJ, Bacik J, Murphy BA, Russo P, Mazumdar M. Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. *J.Clin.Oncol.* 2002 Jan 1;20(1):289-296.
Quelle aus: http://www.urologielehrbuch.de/nierenzellkarzinom_04.html#tab_motzer_kriterien (Letzte Aktualisierung am 21.12.2009)
- 208 Srigley JR, Hutter RV, Gelb AB, Henson DE, Kenney G, King BF, et al. Current prognostic factors--renal cell carcinoma: Workgroup No. 4. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* 1997 Sep 1;80(5):994-996.
- 209 Lam JS, Leppert JT, Figlin RA, Belldegrun AS. Role of molecular markers in the diagnosis and therapy of renal cell carcinoma. *Urology* 2005 Nov;66(5 Suppl):1-9.
- 210 Frank I, Blute ML, Cheville JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score. *J.Urol.* 2002 Dec;168(6):2395-2400.
- 211 Skinner DG, Colvin RB, Vermillion CD, Pfister RC, Leadbetter WF. Diagnosis and management of renal cell carcinoma. A clinical and pathologic study of 309 cases. *Cancer* 1971 Nov;28(5):1165-1177.
- 212 Volkmer BG, Gschwend JE. Value of metastases surgery in metastatic renal cell carcinoma. *Urologe A.* 2002 May;41(3):225-230.
- 213 {{253 Zigeuner,R. 2008; }}
214 Volkmer BG, Gschwend JE. Value of metastases surgery in metastatic renal cell carcinoma. *Urologe A.* 2002 May;41(3):225-230.
- 215 Mickisch GH. Urologic approaches to metastatic renal cell carcinoma. *Onkologie* 2001 Apr;24(2):122-126.
- 216 Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1626
- 217 Abubakr YA, Chou TH, Redman BG. Spontaneous remission of renal cell carcinoma: a case report and immunological correlates. *J.Urol.* 1994 Jul;152(1):156-157.
- 218 Praxis der Urologie; Jocham, Miller, Band 2, 3. Auflage, Thieme (Stuttgart, New York), 2007, S.34
- 219 Muss HB. Interferon therapy for renal cell carcinoma. *Semin.Oncol.* 1987 Jun;14(2 Suppl 2):36-42.
- 220 Coppin C, Porzsolt F, Awa A, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst.Rev.* 2005 Jan 25;(1)(1):CD001425.
- 221 Yang JC, Sherry RM, Steinberg SM, Topalian SL, Schwartzentruber DJ, Hwu P, et al. Randomized study of high-dose and low-dose interleukin-2 in patients with metastatic renal cancer. *J.Clin.Oncol.* 2003 Aug 15;21(16):3127-3132.
- 222 McDermott DF, Regan MM, Clark JI, Flaherty LE, Weiss GR, Logan TF, et al. Randomized phase III trial of high-dose interleukin-2 versus subcutaneous interleukin-2 and interferon in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J.Clin.Oncol.* 2005 Jan 1;23(1):133-141.
- 223 Coppin C, Porzsolt F, Awa A, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst.Rev.* 2005 Jan 25;(1)(1):CD001425.
- 224 Pyrhonen S, Salminen E, Ruutu M, Lehtonen T, Nurmi M, Tammela T, et al. Prospective randomized trial of interferon alfa-2a plus vinblastine versus vinblastine alone in patients with advanced renal cell cancer. *J.Clin.Oncol.* 1999 Sep;17(9):2859-2867.
-

- Steineck G, Strander H, Carbin BE, Borgstrom E, Wallin L, Achtnich U, et al. Recombinant leukocyte interferon alpha-2a and medroxyprogesterone in advanced renal cell carcinoma. A randomized trial. *Acta Oncol.* 1990;29(2):155-162.
- Kriegmair M, Oberneder R, Hofstetter A. Interferon alfa and vinblastine versus medroxyprogesterone acetate in the treatment of metastatic renal cell carcinoma. *Urology* 1995 May;45(5):758-762.
- 225 Coppin C, Porzsolt F, Awa A, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst.Rev.* 2005 Jan 25;(1)(1):CD001425.
- 226 S. Negrier, D. Perol, A. Ravaud, C. Chevreau, J. O. Bay, R. Delva, E. Sevin, A. Caty, N. Tubiana-Mathieu, B. Escudier the French Immunotherapy Intergroup
Do cytokines improve survival in patients with metastatic renal cell carcinoma (MRCC) of intermediate prognosis? Results of the prospective randomized PERCY Quattro trial
J Clin Oncol (Meeting Abstracts) 2005 23: LBA4511.
- 227 Coppin C, Porzsolt F, Awa A, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst.Rev.* 2005 Jan 25;(1)(1):CD001425.
- 228 Boccardo F, Rubagotti A, Canobbio L, Galligioni E, Sorio R, Lucenti A, et al. Interleukin-2, interferon-alpha and interleukin-2 plus interferon-alpha in renal cell carcinoma. A randomized phase II trial. *Tumori* 1998 Sep-Oct;84(5):534-539.
- Negrier S, Escudier B, Lasset C, Douillard JY, Savary J, Chevreau C, et al. Recombinant human interleukin-2, recombinant human interferon alfa-2a, or both in metastatic renal-cell carcinoma. *Groupe Francais d'Immunotherapie. N.Engl.J.Med.* 1998 Apr 30;338(18):1272-1278.
- S. Negrier, D. Perol, A. Ravaud, C. Chevreau, J. O. Bay, R. Delva, E. Sevin, A. Caty, N. Tubiana-Mathieu, B. Escudier the French Immunotherapy Intergroup Do cytokines improve survival in patients with metastatic renal cell carcinoma (MRCC) of intermediate prognosis? Results of the prospective randomized PERCY Quattro trial *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)* 2005 23: LBA4511.
- 229 Coppin C, Porzsolt F, Awa A, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst.Rev.* 2005 Jan 25;(1)(1):CD001425.
- 230 Porzsolt F, Messerer D, Hautmann R, Gottwald A, Sparwasser H, Stockamp K, et al. Treatment of advanced renal cell cancer with recombinant interferon alpha as a single agent and in combination with medroxyprogesterone acetate. A randomized multicenter trial. *J.Cancer Res.Clin.Oncol.* 1988;114(1):95-100.
- Radosavljevic D, Jelic S, Babovic N, Popov I, Kreacic M, Stamatovic L, et al. Addition of medroxyprogesterone-acetate to interferon- α -vinblastine combination in advanced renal-cell carcinoma - is there any impact on quality of life?. *Annals of Oncology.* 2000; Vol. 11 Suppl(4):332P
- Buzogany I, Feher G, Kocsis J, Molnar I, Nagy G, Laszlo K, et al. Interferon alfa-2b versus interferon alfa 2b+vinblastin treatment in advanced renal cell carcinoma; randomized multicenter trial. *Magyar Urologia* 2001;13(1):19-31.
- Fossa SD, Martinelli G, Otto U, Schneider G, Wander H, Oberling F, et al. Recombinant interferon alfa-2a with or without vinblastine in metastatic renal cell carcinoma: results of a European multi-center phase III study. *Ann.Oncol.* 1992 Apr;3(4):301-305.
- Neidhart JA, Anderson SA, Harris JE, Rinehart JJ, Laszlo J, Dexeus FH, et al. Vinblastine fails to improve response of renal cancer to interferon alfa-n1: high response rate in patients with pulmonary metastases. *J.Clin.Oncol.* 1991 May;9(5):832-836.
- De Mulder PH, Oosterhof G, Bouffieux C, van Oosterom AT, Vermeylen K, Sylvester R. EORTC (30885) randomised phase III study with recombinant interferon alpha and recombinant interferon alpha and gamma in patients with advanced renal cell carcinoma. The EORTC Genitourinary Group. *British Journal of Cancer* 1995; 71(2):371-5.
- Foon K, Doroshow J, Bonnem E, Fefer A, Graham S, Grosh B, et al. A prospective randomized trial of alpha 2B-interferon/gamma-interferon or the combination in advanced metastatic renal cell carcinoma. *J.Biol.Response Mod.* 1988 Dec;7(6):540-545.
- Aass N, De Mulder PHM, Mickisch GHJ, Mulders P, van Oosterom AT, van Poppel H, Fossa SD, de Puijck L, Sylvester RJ. Randomized phase II/III trial of interferon alfa-2a with and without 13-cis-retinoic acid in patients with progressive metastatic renal cell carcinoma: the European Organization for Research and Treatment of Cancer Genito-Urinary Tract Cancer Group (EORTC 30951). *Journal of Clinical Oncology* 2005;23:4172-8.
- Motzer RJ, Murphy BA, Bacik J, Schwartz LH, Nanus DM, Mariani T, et al. Phase III trial of interferon alfa-2a with or without 13-cis-retinoic acid for patients with advanced renal cell carcinoma. *J.Clin.Oncol.* 2000 Aug;18(16):2972-2980.

-
- Creagan ET, Twito DI, Johansson SL, Schaid DJ, Johnson PS, Flaum MA, et al. A randomized prospective assessment of recombinant leukocyte A human interferon with or without aspirin in advanced renal adenocarcinoma. *J.Clin.Oncol.* 1991 Dec;9(12):2104-2109.
- Kinouchi T, Sakamoto J, Tsukamoto T, et al. Prospective randomized trial of natural interferon-alpha (IFN) versus IFN + cimetidine in advanced renal cell carcinoma with pulmonary metastasis. *Proceedings of the Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology.* 2004; Vol. 23:A4676.
- {{205 Sagaster,P. 1995; }}
- 231 Coppin C, Porzolt F, Awa A, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst.Rev.* 2005 Jan 25;(1)(1):CD001425.
- 232 Flanigan RC, Salmon SE, Blumenstein BA, Bearman SI, Roy V, McGrath PC, et al. Nephrectomy followed by interferon alfa-2b compared with interferon alfa-2b alone for metastatic renal-cell cancer. *N.Engl.J.Med.* 2001 Dec 6;345(23):1655-1659.
- Mickisch GH, Garin A, van Poppel H, de Prijck L, Sylvester R, European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Genitourinary Group. Radical nephrectomy plus interferon-alfa-based immunotherapy compared with interferon alfa alone in metastatic renal-cell carcinoma: a randomised trial. *Lancet* 2001 Sep 22;358(9286):966-970.
- 233 Coppin C, Porzolt F, Awa A, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst.Rev.* 2005 Jan 25;(1)(1):CD001425.
- 234 Flanigan RC, Salmon SE, Blumenstein BA, Bearman SI, Roy V, McGrath PC, et al. Nephrectomy followed by interferon alfa-2b compared with interferon alfa-2b alone for metastatic renal-cell cancer. *N.Engl.J.Med.* 2001 Dec 6;345(23):1655-1659.
- 235 Coppin C, Porzolt F, Awa A, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst.Rev.* 2005 Jan 25;(1)(1):CD001425.
- 236 Motzer RJ, Russo P. Systemic therapy for renal cell carcinoma. *J.Urol.* 2000 Feb;163(2):408-417.
- 237 Lilleby W, Fossa SD. Chemotherapy in metastatic renal cell cancer. *World J.Urol.* 2005 Jul;23(3):175-179.
- 238 Hrushesky WJ, von Roemeling R, Lanning RM, Rabatin JT. Circadian-shaped infusions of floxuridine for progressive metastatic renal cell carcinoma. *J.Clin.Oncol.* 1990 Sep;8(9):1504-1513.
- 239 Yagoda A, Abi-Rached B, Petrylak D. Chemotherapy for advanced renal-cell carcinoma: 1983-1993. *Semin.Oncol.* 1995 Feb;22(1):42-60.
- 240 Lilleby W, Fossa SD. Chemotherapy in metastatic renal cell cancer. *World J.Urol.* 2005 Jul;23(3):175-179.
- 241 Fossa SD, Droz JP, Pavone-Macaluso MM, Debruyne FJ, Vermeylen K, Sylvester R. Vinblastine in metastatic renal cell carcinoma: EORTC phase II trial 30882. The EORTC Genitourinary Group. *Eur.J.Cancer* 1992;28A(4-5):878-880.
- 242 Marcus SG, Choyke PL, Reiter R, Jaffe GS, Alexander RB, Linehan WM, et al. Regression of metastatic renal cell carcinoma after cytoreductive nephrectomy. *J.Urol.* 1993 Aug;150(2 Pt 1):463-466.
- Lilleby W, Fossa SD. Chemotherapy in metastatic renal cell cancer. *World J.Urol.* 2005 Jul;23(3):175-179.
- 243 Haas NB, Giantonio BJ, Litwin S, Minniti CJ, Jr, Fox S, Yeslow G, et al. Vinblastine and estramustine phosphate in metastatic renal cell carcinoma: a phase II trial of the Fox Chase Network. *Cancer* 2003 Nov 1;98(9):1837-1841.
- 244 Lilleby W, Fossa SD. Chemotherapy in metastatic renal cell cancer. *World J.Urol.* 2005 Jul;23(3):175-179.
- 245 Ryan CW, Vogelzang NJ, Stadler WM. A phase II trial of intravenous gemcitabine and 5-fluorouracil with subcutaneous interleukin-2 and interferon-alpha in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Cancer* 2002 May 15;94(10):2602-2609.
- 246 Oevermann K, Buer J, Hoffmann R, Franzke A, Schrader A, Patzelt T, et al. Capecitabine in the treatment of metastatic renal cell carcinoma. *Br.J.Cancer* 2000 Sep;83(5):583-587.
- 247 Fizazi K, Rolland F, Chevreau C, Droz JP, Mery-Mignard D, Culine S, et al. A phase II study of irinotecan in patients with advanced renal cell carcinoma. *Cancer* 2003 Jul 1;98(1):61-65.
- 248 Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1626
- 249 Campbell-Walsh Urology; Wein, Kavoussi, Novick, Partin, Peters, Vol.2, Ninth Edition, Saunders-Elsevier, 2007, S.1626
- Facharzt Nephrologie; Risler, Kühn, Alscher, 1. Auflage, Elsevier, Urban&Fischer (München), 2008, S.845
-

-
- 250 Fossa SD, Kjolseth I, Lund G. Radiotherapy of metastases from renal cancer. *Eur.Urol.* 1982;8(6):340-342.
Jacobsen KD, Folleras G, Fossa SD. Metastases from renal cell carcinoma to the humerus or the shoulder girdle. *Br.J.Urol.* 1994 Feb;73(2):124-128.
- 251 Curti BD. Renal cell carcinoma. *JAMA* 2004 Jul 7;292(1):97-100.
- 252 Jacobsen KD, Folleras G, Fossa SD. Metastases from renal cell carcinoma to the humerus or the shoulder girdle. *Br.J.Urol.* 1994 Feb;73(2):124-128.
- 253 Brinkmann OA, Bruns F, Gosheger G, Micke O, Hertle L. Treatment of bone metastases and local recurrence from renal cell carcinoma with immunochemotherapy and radiation. *World J.Urol.* 2005 Jul;23(3):185-190.
- 254 Cairncross JG, Kim JH, Posner JB. Radiation therapy for brain metastases. *Ann.Neurol.* 1980 Jun;7(6):529-541.
- 255 Lohr F, Pirzkall A, Hof H, Fleckenstein K, Debus J. Adjuvant treatment of brain metastases. *Semin.Surg.Oncol.* 2001 Jan-Feb;20(1):50-56.
- 256 Diener-West M, Dobbins TW, Phillips TL, Nelson DF. Identification of an optimal subgroup for treatment evaluation of patients with brain metastases using RTOG study 7916. *Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.* 1989 Mar;16(3):669-673.
Borgelt B, Gelber R, Kramer S, Brady LW, Chang CH, Davis LW, et al. The palliation of brain metastases: final results of the first two studies by the Radiation Therapy Oncology Group. *Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.* 1980 Jan;6(1):1-9.
- 257 Andrews DW, Scott CB, Sperduto PW, Flanders AE, Gaspar LE, Schell MC, et al. Whole brain radiation therapy with or without stereotactic radiosurgery boost for patients with one to three brain metastases: phase III results of the RTOG 9508 randomised trial. *Lancet* 2004 May 22;363(9422):1665-1672.
- 258 *Praxis der Urologie; Jocham, Miller, Band 2, 3. Auflage, Thieme (Stuttgart, New York), 2007, S.38*
- 259 *Uroonkologie; Rübben, 4. Auflage, Springer (Berlin), 2006, S.261*
- 260 *Praxis der Urologie; Jocham, Miller, Band 2, 3. Auflage, Thieme (Stuttgart, New York), 2007, S.36*
- 261 Escudier B, Eisen T, Stadler WM, Szczylik C, Oudard S, Siebels M, et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N.Engl.J.Med.* 2007 Jan 11;356(2):125-134.
- 262 *Praxis der Urologie; Jocham, Miller, Band 2, 3. Auflage, Thieme (Stuttgart, New York), 2007, S.37*
- 263 Motzer RJ, Rini BI, Bukowski RM, Curti BD, George DJ, Hudes GR, et al. Sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma. *JAMA* 2006 Jun 7;295(21):2516-2524.
- 264 Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N.Engl.J.Med.* 2007 Jan 11;356(2):115-124.
- 265 Hudes GR. mTOR as a target for therapy of renal cancer. *Clin.Adv.Hematol.Oncol.* 2007 Oct;5(10):772-774.
- 266 Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, Hutson TE, Porta C, Bracarda S, et al. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet* 2008 Aug 9;372(9637):449-456.
- 267 *Praxis der Urologie; Jocham, Miller, Band 2, 3. Auflage, Thieme (Stuttgart, New York), 2007, S.39*
- 268 Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P, Ravaud A, Bracarda S, Szczylik C, et al. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. *Lancet* 2007 Dec 22;370(9605):2103-2111.
Hainsworth JD, Sosman JA, Spigel DR, Edwards DL, Baughman C, Greco A. Treatment of metastatic renal cell carcinoma with a combination of bevacizumab and erlotinib. *J.Clin.Oncol.* 2005 Nov 1;23(31):7889-7896.
- 269 Culy C. Bevacizumab: antiangiogenic cancer therapy. *Drugs Today (Barc)* 2005 Jan;41(1):23-36.
- 270 Yang JC, Haworth L, Sherry RM, Hwu P, Schwartzentruber DJ, Topalian SL, et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N.Engl.J.Med.* 2003 Jul 31;349(5):427-434.
- 271 Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P, Ravaud A, Bracarda S, Szczylik C, et al. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. *Lancet* 2007 Dec 22;370(9605):2103-2111.
- 272 Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat.Rev.Mol.Cell Biol.* 2001 Feb;2(2):127-137.
Walker RA. The erbB/HER type 1 tyrosine kinase receptor family. *J.Pathol.* 1998 Jul;185(3):234-235.
-

-
- 273 Rowinsky EK, Schwartz GH, Gollob JA, Thompson JA, Vogelzang NJ, Figlin R, et al. Safety, pharmacokinetics, and activity of ABX-EGF, a fully human anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody in patients with metastatic renal cell cancer. *J.Clin.Oncol.* 2004 Aug 1;22(15):3003-3015.
- 274 Motzer RJ, Amato R, Todd M, Hwu WJ, Cohen R, Baselga J, et al. Phase II trial of antiepidermal growth factor receptor antibody C225 in patients with advanced renal cell carcinoma. *Invest.New Drugs* 2003 Feb;21(1):99-101.
- 275 Hainsworth JD, Sosman JA, Spigel DR, Edwards DL, Baughman C, Greco A. Treatment of metastatic renal cell carcinoma with a combination of bevacizumab and erlotinib. *J.Clin.Oncol.* 2005 Nov 1;23(31):7889-7896.
- 276 National Comprehensive Cancer network, Practice Guidelines in Oncology, Kidney Cancer, V2.2009[X].
- 277 Hofmeyer KA, Ray A, Zang X. The contrasting role of B7-H3. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2008 Jul 29;105(30):10277-10278.
- 278 Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat.Rev.Immunol.* 2004 May;4(5):336-347.
- 279 Hofmeyer KA, Ray A, Zang X. The contrasting role of B7-H3. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2008 Jul 29;105(30):10277-10278.
- 280 Dong H, Zhu G, Tamada K, Chen L. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat.Med.* 1999 Dec;5(12):1365-1369.
- 281 Thompson RH, Dong H, Kwon ED. Implications of B7-H1 expression in clear cell carcinoma of the kidney for prognostication and therapy. *Clin.Cancer Res.* 2007 Jan 15;13(2 Pt 2):709s-715s.
- 282 Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat.Rev.Immunol.* 2004 May;4(5):336-347.
- 283 Thompson RH, Dong H, Kwon ED. Implications of B7-H1 expression in clear cell carcinoma of the kidney for prognostication and therapy. *Clin.Cancer Res.* 2007 Jan 15;13(2 Pt 2):709s-715s.
- 284 Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat.Med.* 2002 Aug;8(8):793-800. Dong H, Chen L. B7-H1 pathway and its role in the evasion of tumor immunity. *J.Mol.Med.* 2003 May;81(5):281-287.
- 285 Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat.Rev.Immunol.* 2004 May;4(5):336-347.
- 286 Yamazaki T, Akiba H, Iwai H, Matsuda H, Aoki M, Tanno Y, et al. Expression of programmed death 1 ligands by murine T cells and APC. *J.Immunol.* 2002 Nov 15;169(10):5538-5545.
- 287 Blank C, Gajewski TF, Mackensen A. Interaction of PD-L1 on tumor cells with PD-1 on tumor-specific T cells as a mechanism of immune evasion: implications for tumor immunotherapy. *Cancer Immunol.Immunother.* 2005 Apr;54(4):307-314.
- 288 Thompson RH, Dong H, Lohse CM, Leibovich BC, Blute ML, Cheville JC, et al. PD-1 is expressed by tumor-infiltrating immune cells and is associated with poor outcome for patients with renal cell carcinoma. *Clin.Cancer Res.* 2007 Mar 15;13(6):1757-1761.
- 289 Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, Okazaki T, Honjo T, Minato N. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2002 Sep 17;99(19):12293-12297.
- 290 Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat.Med.* 2002 Aug;8(8):793-800.
- 291 Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC, Lohse CM, Dong H, Webster WS, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2004 Dec 7;101(49):17174-17179.
- 292 Thompson RH, Dong H, Kwon ED. Implications of B7-H1 expression in clear cell carcinoma of the kidney for prognostication and therapy. *Clin.Cancer Res.* 2007 Jan 15;13(2 Pt 2):709s-715s.
- 293 Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC, Lohse CM, Dong H, Webster WS, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2004 Dec 7;101(49):17174-17179.
- 294 Crispin PL, Sheinin Y, Roth TJ, Lohse CM, Kuntz SM, Frigola X, et al. Tumor cell and tumor vasculature expression of B7-H3 predict survival in clear cell renal cell carcinoma. *Clin.Cancer Res.* 2008 Aug 15;14(16):5150-5157.
-

-
- ²⁹⁵ Mahnke K, Ring S, Johnson TS, Schallenberg S, Schonfeld K, Storn V, et al. Induction of immunosuppressive functions of dendritic cells in vivo by CD4+CD25+ regulatory T cells: role of B7-H3 expression and antigen presentation. *Eur.J.Immunol.* 2007 Aug;37(8):2117-2126.
- ²⁹⁶ Zhang G, Hou J, Shi J, Yu G, Lu B, Zhang X. Soluble CD276 (B7-H3) is released from monocytes, dendritic cells and activated T cells and is detectable in normal human serum. *Immunology* 2008 Apr;123(4):538-546.
- ²⁹⁷ Crispin PL, Sheinin Y, Roth TJ, Lohse CM, Kuntz SM, Frigola X, et al. Tumor cell and tumor vasculature expression of B7-H3 predict survival in clear cell renal cell carcinoma. *Clin.Cancer Res.* 2008 Aug 15;14(16):5150-5157.
- ²⁹⁸ Quelle: Positive Pixel Count Algorithm, User's Guide, Copyright © 2004, 2006-2008 Aperio Technologies, Inc., Part Number/Revision: MAN-0024, Revision C, Date: September 4, 2009.
- ²⁹⁹ Zang X, Allison JP. The B7 family and cancer therapy: costimulation and coinhibition. *Clin.Cancer Res.* 2007 Sep 15;13(18 Pt 1):5271-5279.
- ³⁰⁰ Hofmeyer KA, Ray A, Zang X. The contrasting role of B7-H3. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2008 Jul 29;105(30):10277-10278.
- ³⁰¹ Thompson RH, Dong H, Kwon ED. Implications of B7-H1 expression in clear cell carcinoma of the kidney for prognostication and therapy. *Clin.Cancer Res.* 2007 Jan 15;13(2 Pt 2):709s-715s.
Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC, Lohse CM, Dong H, Webster WS, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2004 Dec 7;101(49):17174-17179.