

**Die Bedeutung der Expression von CD44-h und seiner Isoformen CD44-v3,
CD44-v6 und CD44-v9 sowie von E-Cadherin und PCNA für die klinische
Progressionstendenz des Nierenzellkarzinoms**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Humanmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Christian Georg

aus Gießen

Gießen 1999

Aus dem Medizinischen Zentrum für Chirurgie, Anästhesiologie und Urologie
Urologische Klinik

Leiter: Prof. Dr. med. W. Weidner

des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: PD Dr. med. Fischer

Gutachter: Prof. Dr. med. Schulz

Tag der Disputation: 16. Mai 2000

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	3
1.1	EPIDEMIOLOGIE, ÄTIOLOGIE UND PATHOGENESE DES NIERENZELLKARZINOMS	3
1.2	KLASSIFIKATION DES NIERENZELLKARZINOMS	8
1.2.1	TNM-SYSTEM (UICC 1992)	8
1.2.2	GRADING	9
1.2.3	ROBSON-STADIEN	11
1.2.4	PROGNOSESCORE NACH STÖRKE	12
1.3	KLINIK UND DIAGNOSTIK DES NIERENZELLKARZINOMS	13
1.4	THERAPIE DES NIERENZELLKARZINOMS	15
1.5	PROGNOSE	16
2	FRAGESTELLUNG	18
2.1	KLINISCHE UND PATHOLOGISCHE BEDEUTUNG VON ZELLADHÄSIONSMOLEKÜLEN UND PROLIFERATIONSMARKERN	18
2.1.1	EINFÜHRUNG	18
2.1.2	CD44-STANDARD (CD44-H) UND SEINE ISOFORMEN (CD44-V)	19
2.1.3	E-CADHERIN	21
2.1.4	PCNA	23
2.2	FRAGESTELLUNG DER ARBEIT	24
3	MATERIAL	25
3.1	PATIENTENKOLLEKTIV UND UNTERSUCHUNGSMATERIAL	25
3.2	BESCHREIBUNG DER VERWENDETEN ANTIKÖRPER	25
3.3	ANSÄTZE DER GEBRAUCHSLÖSUNGEN	26
3.3.1	WASCHPUFFER	26
3.3.2	RPMI-LÖSUNG	26
3.3.3	ENTWICKLUNGSPUFFER	26
3.3.4	PROPANDIOL	26
3.3.5	NEUFUCHSIN	26
3.3.6	CITRATPUFFER	27
3.3.7	HÄMALAUN	27
3.3.8	EOSIN	27
3.3.9	ENTWICKLUNGSLÖSUNG	28
3.3.10	ANTI-KÖRPERVERDÜNNUNG	28
4	METHODEN UND UNTERSUCHUNGEN	29
4.1	ANFERTIGUNG DER PRÄPARATE	29
4.2	VORVERSUCHE	29
4.3	HÄMATOXYLIN-EOSIN-FÄRBUNG	30
4.4	APAAP-METHODE	30
4.4.1	BESCHREIBUNG	30
4.4.2	FIXIERUNG	31
4.4.3	MIKROWELLENINKUBATION	31
4.4.4	FÄRBUNG	31

4.4.5	ENTWICKLUNG UND GEGENFÄRBUNG	32
4.4.6	EINDECKEN DER PRÄPARATE	32
4.5	INTERPRETATION DER HISTOLOGISCHEN BEFUNDE	32
4.6	KLINISCHE DATENERHEBUNG	33
4.7	DATENVERARBEITUNG	33
4.7.1	DATENERFASSUNG	33
4.7.2	ANALYSE UND STATISTIK	34
5	ERGEBNISSE	35
5.1	HISTOPATHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN	35
5.2	IMMUNHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN	36
5.2.1	ÜBERBLICK	36
5.2.2	ANALYSE VON HISTOLOGIE UND IMMUNHISTOCHEMIE	41
5.2.3	ANALYSE DES IMMUNHISTOCHEMISCHEN VERHALTENS VON PRIMÄRTUMORMATERIAL UND METASTASEN	59
5.3	ERGEBNISSE DES KLINISCHEN FOLLOW-UP	62
5.3.1	ANALYSE VON HISTOLOGIE UND KLINISCHEM VERLAUF	64
5.3.2	ANALYSE VON IMMUNHISTOCHEMIE UND KLINISCHEM VERLAUF	70
6	DISKUSSION	77
6.1	ALLGEMEINES	77
6.2	HISTOPATHOLOGISCHE PARAMETER	77
6.3	CD 44-H UND SEINE ISOFORMEN	77
6.4	E-CADHERIN	80
6.5	PCNA	82
6.6	ABSCHLIEßENDE BETRACHTUNG	83
7	ZUSAMMENFASSUNG	84
8	ANHANG	85
8.1	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	85
8.2	TABELLENVERZEICHNIS	88
8.3	INDEX	89
8.4	LITERATURVERZEICHNIS	91
8.5	VORTRÄGE UND VERÖFFENTLICHUNGEN	101
8.6	LEBENS LAUF	102
8.7	DANKSAGUNG	103

1 Einleitung

1.1 *Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese des Nierenzellkarzinoms*

Das Nierenzellkarzinom (Synonym: Hypernephrom, hypernephroides Nierenkarzinom), ein maligner epithelialer Tumor des Nierenparenchyms, ist mit einem Anteil von über 80% der häufigste maligne Tumor der Niere und macht ca. 1-2% aller bösartigen Tumoren überhaupt aus (American Cancer Society, 1994; Fischer et al. 1998). Urothelkarzinome der Niere sowie mesenchymale oder Mischtumoren sind wesentlich seltener, s. Abbildung 1. Das Hypernephrom tritt überwiegend sporadisch auf, familiäre Häufungen sind auch beschrieben worden. Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt im siebten Lebensjahrzehnt, Männer befällt dieses Krebsleiden doppelt so häufig wie Frauen. Das Nierenzellkarzinom betrifft beide Nieren gleich häufig, zu 1% finden sich bilaterale Nierenzellkarzinome (nach Ausschluß von Metastasen eines einseitigen Nierenzellkarzinoms). Die Ätiologie ist nicht gesichert, diskutiert werden heute u.a. hormonelle Einflüsse, Schwermetallbelastung (z.B. Cadmium, Blei), starker Tabakkonsum, vernarbende Prozesse der Niere sowie Virusinfektionen oder genetische Einflüsse wie z.B. beim seltenen von-Hippel-Lindau-Syndrom, einer autosomal dominant vererbten Phakomatose mit Hämangioblastomen des Kleinhirns und anderen ZNS-Regionen, Angiomatosis retinae, Phäochromozytom und polyzystischen Organanomalien. In einer 1996 veröffentlichten Studie der *UICC* (Schlehofer et al., 1996) zur Untersuchung der medizinischen und familiären Geschichte von Patienten mit Nierenzellkarzinomen wird berichtet, daß unter bestimmten Umständen, wie der Infektion einer Niere, beim Vorliegen von Nierensteinen, der Erkrankung an Diabetes mellitus, dem arteriellen Hypertonus oder einer Schilddrüsenerkrankung das Risiko, an einem Nierenzellkarzinom zu erkranken, nur gering erhöht ist, wohingegen zusätzlich zu dem erblichen von-Hippel-Lindau-Syndrom wahrscheinlich eine erbliche Prädisposition für die Erkrankung an einem Nierenzellkarzinom besteht.

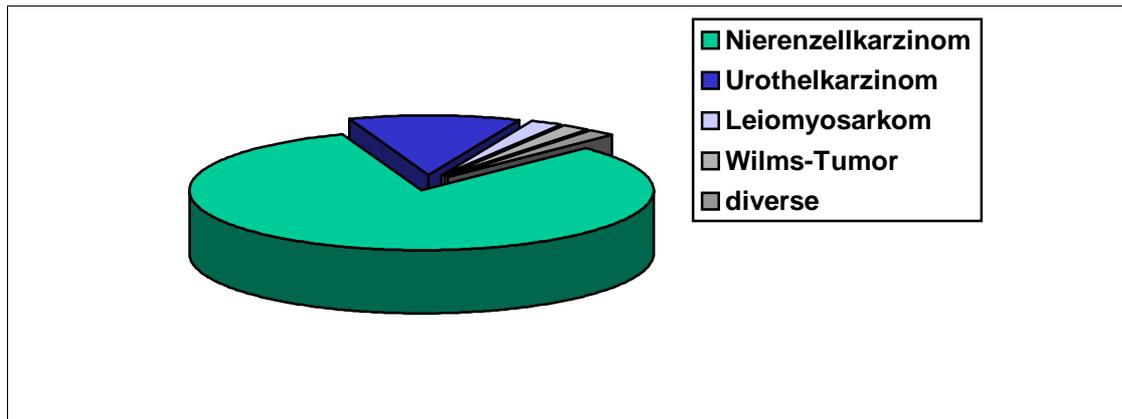


Abbildung 1: Häufigkeit maligner Nierentumoren

Seinen Ausgang nimmt das Nierenzellkarzinom in der Regel vom proximalen Tubulusepithel (klarzelliges und chromophiles Nierenzellkarzinom), das seltenere chromophobe Nierenzellkarzinom, das gutartige Onkozytom sowie das Ductus-Bellini-Karzinom entstehen jedoch von den Zellen der Verbindungsstücke und der Sammelrohre (Thoenes et al., 1986). Nierenzellkarzinome werden aufgrund histologischer Kriterien in kompakte, kompakt/tubulopapilläre, kompakt/zystische, zystische und tubulopapilläre Muster unterteilt, wobei Onkozytome zusätzlich noch azinäre Strukturen aufweisen (Mostofi et al., 1981). Die zytologischen Kriterien beziehen sich auf zytoplasmatische Veränderungen, wobei klarzellige, chromophobe, chromophile mit basophilen und eosinophilen Untergruppen, gemischte und spindelzellig-pleomorphe Formen unterschieden werden. Die Nierenzelladenome, kleine und gut differenzierte, tubulopapilläre Nierentumore ohne histologische Malignitätskriterien, sowie die Onkozytome, gutartige, langsam wachsende und nicht metastasierende Nierentumore, bilden eine Sondergruppe (Thoenes et al., 1986, 1990; Thoenes u. Störkel, 1991; Störkel, 1993, s. Abbildung 2).

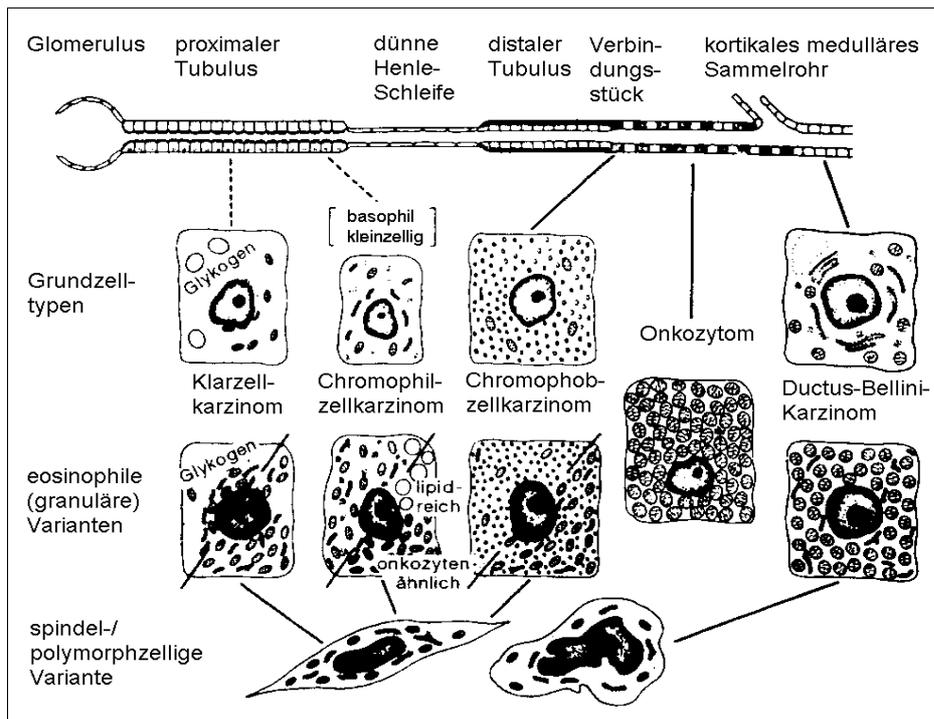


Abbildung 2: Typen des Nierenzellkarzinoms und des Onkozytoms in phänotypischer Beziehung zum Nephron/Sammelrohrsystem (n. Störkel)

Pathogenetische Bedeutung scheint der Verlust eines Tumor-Suppressorgens auf Chromosom 3p zu haben (Zbar et al., 1987, Anglard et al., 1992). Ebenso spielen eine Deletion von Chromosom 17p sowie Mutationen im Bereich von p53 eine Rolle in der Metastasierung des Nierenzellkarzinoms bzw. in der Transformation eines benignen in einen malignen Nierentumor (Reiter et al., 1993).

Folgende Abbildungen zeigen exemplarisch die verschiedenen Typen des Nierenzellkarzinoms:

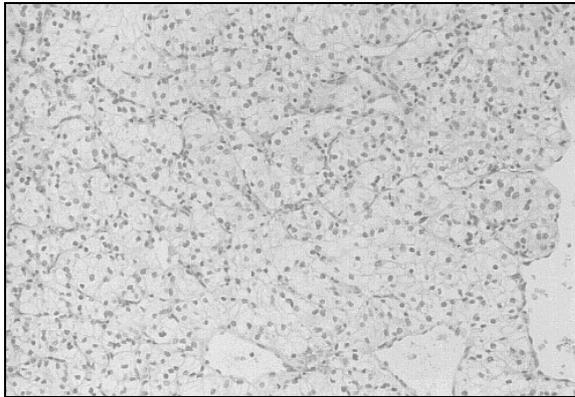


Abbildung 3: Hetzelliges Nierenzellkarzinom, Grad 2, K 1805/94, Vergrößerung 1:100

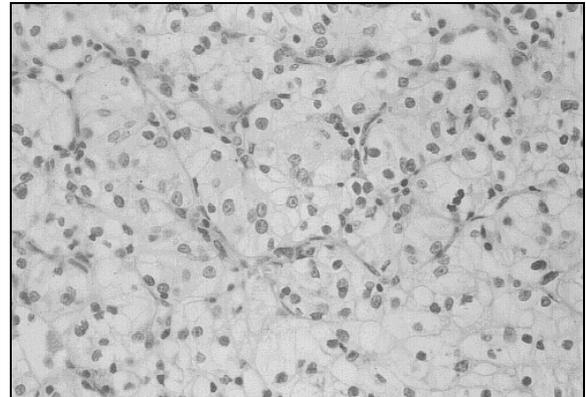


Abbildung 4: Ausschnitt aus Abbildung 3, Vergrößerung 1:200

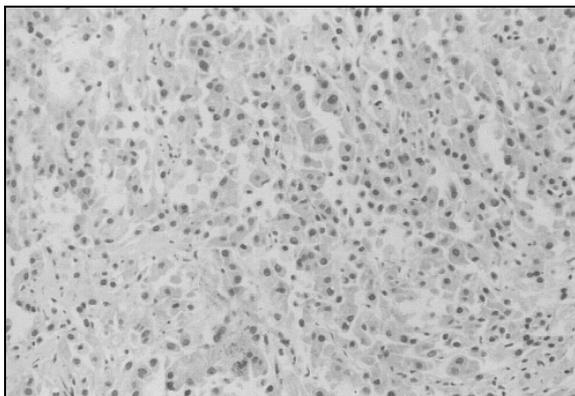


Abbildung 5: Chromophil eosinophiles Nierenzellkarzinom, K 2662/93, Vergrößerung 1:100

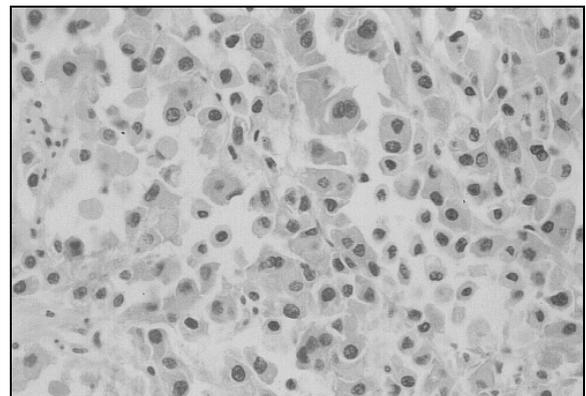


Abbildung 6: Ausschnitt aus Abbildung 5, Vergrößerung 1:200

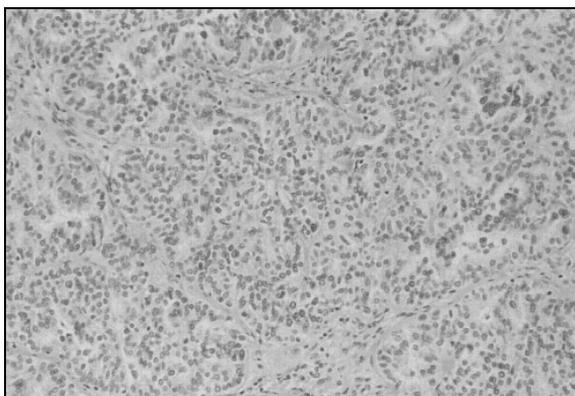


Abbildung 7: Chromophil basophiles Nierenzellkarzinom, K 5670/93, Vergrößerung 1:100

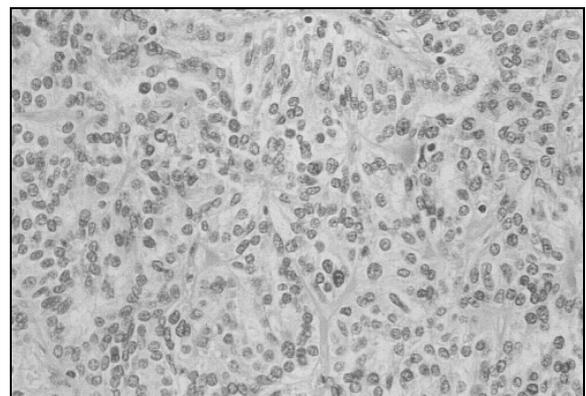


Abbildung 8: Ausschnitt aus Abbildung 7, Vergrößerung 1:200

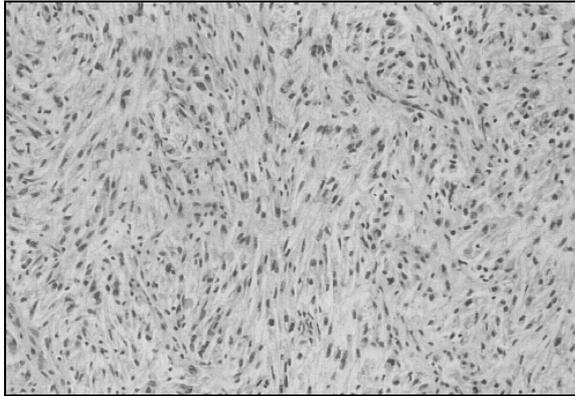


Abbildung 9: Spindelzelliges Nierenzellkarzinom, K 7052/93, Vergrößerung 1:100

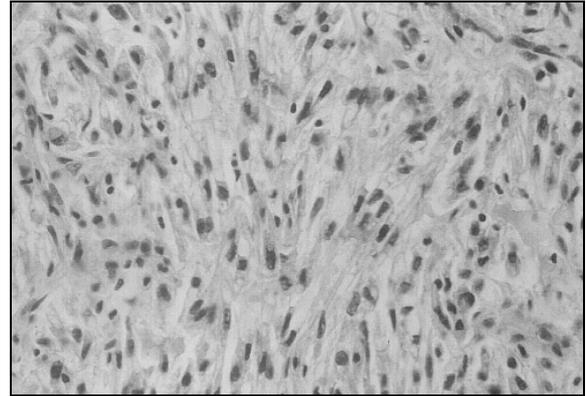


Abbildung 10: Ausschnitt aus Abbildung 9, Vergrößerung 1:200

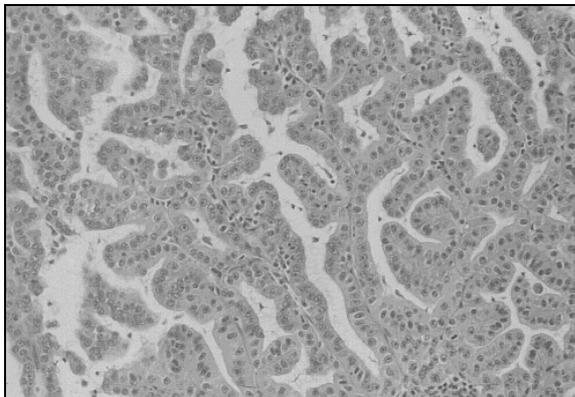


Abbildung 11: Ductus-Bellini-Karzinom der Niere, K 1348/95, Vergrößerung 1:100

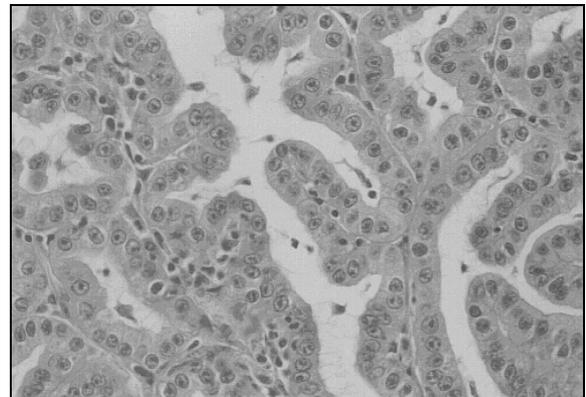


Abbildung 12: Ausschnitt aus Abbildung 11, Vergrößerung 1:200

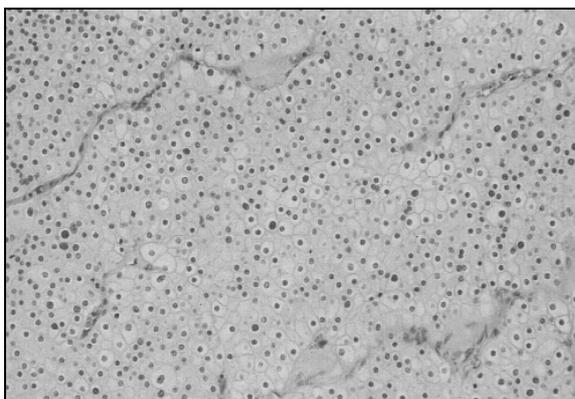


Abbildung 13: Onkozytom der Niere, K 3018/94, Vergrößerung 1:100

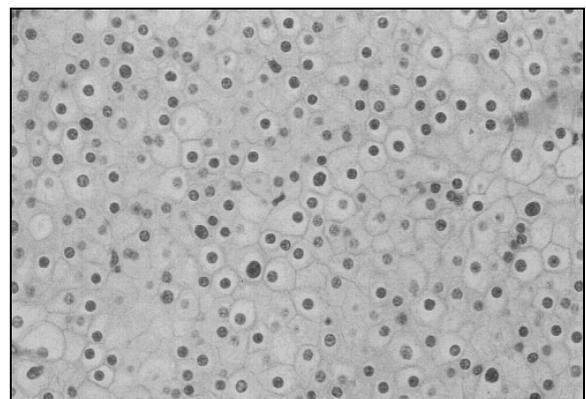


Abbildung 14: Ausschnitt aus Abbildung 13, Vergrößerung 1:200

1.2 Klassifikation des Nierenzellkarzinoms

Wie für die meisten Tumore des menschlichen Körpers gibt es auch für die Stadieneinteilung des Nierenzellkarzinoms eine einheitliche und präzise Definition durch die *Union Internationale Contre le Cancer (UICC)* anhand des TNM-Systems. Auch der histopathologische Differenzierungsgrad muß zur korrekten Klassifikation des Nierenzellkarzinoms berücksichtigt werden. Ebenso weitverbreitet ist die amerikanische Klassifikation nach Robson et al., 1969. In der vorliegenden Arbeit fand zusätzlich noch der Prognosescore nach Störkel Anwendung.

1.2.1 TNM-System (UICC 1992)

T: Primärtumor	
T X	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T 0	Kein Anhalt für Primärtumor
T 1	Tumor 2,5 cm oder weniger in größter Ausdehnung, begrenzt auf die Niere
T 2	Tumor mehr als 2,5 cm in größter Ausdehnung, begrenzt auf die Niere
T 3	Tumor breitet sich in größeren Venen aus oder infiltriert Nebenniere oder perirenales Gewebe, jedoch nicht jenseits der Gerota-Faszie
T 3a	Tumor infiltriert Nebenniere oder perirenales Gewebe, aber nicht jenseits der Gerota-Faszie
T 3b	Tumor mit makroskopischer Ausbreitung in die Nierenvene(n) oder V. cava unterhalb des Zwerchfells
T 3c	Tumor mit makroskopischer Ausbreitung in die V. cava oberhalb des Zwerchfells
T 4	Tumor infiltriert über die Gerota-Faszie hinaus
pT	Die Ausdehnung des Tumors ist postoperativ durch einen Pathologen bestimmt
N: Regionäre Lymphknoten	
N X	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N 0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N 1	Metastase in solitärem Lymphknoten, 2 cm oder weniger in größter Ausdehnung
N 2	Metastase(n) in solitärem Lymphknoten, mehr als 2 cm, aber nicht mehr als 5 cm in größter Ausdehnung, oder in multiplen Lymphknoten, keine mehr als 5 cm in größter Ausdehnung
N 3	Metastasen in Lymphknoten, mehr als 5 cm in größter Ausdehnung
pN	Der Lymphknotenstatus ist postoperativ durch einen Pathologen bestimmt
M: Fernmetastasen	
M X	Das Vorliegen von Fernmetastasen kann nicht beurteilt werden
M 0	Keine Fernmetastasen
M 1	Fernmetastasen

Tabelle 1: TNM-System (UICC 1992)

1.2.2 Grading

Die histopathologische Gradeinteilung der Tumoren erfolgt nach den WHO-Richtlinien (Mostofi et al., 1981). Hiernach wird eine Einteilung in drei Grade vorgenommen:

Grad 1:

Die Zellkerne sind vorwiegend rund und etwa von der Größe der Kerne der Tubulusepithelzellen mit nur geringer Größenvarianz. Das Chromatin ist fein bzw. kondensiert bis pyknotisch. Nukleolen finden sich vereinzelt zentral, selten in Nähe der Kernmembran. Ihre Größe entspricht etwa jener der Nukleolen der Tubulusepithelzellen. Mitosen finden sich praktisch nicht.

Grad 2:

Die Zellkerne in Tumorzellen dieses Malignitätsgrades sind nicht mehr nur rund, sondern variieren in der Form. Invaginationen sind nicht ungewöhnlich, ebenso wie eine Größenzunahme im Vergleich mit den Kernen der Tubulusepithelzellen. Das Chromatin ist fein bis grob, gelegentlich kondensiert bis hyperchromatisch. Die Größe der Zellkerne untereinander schwankt leicht. Gelegentlich sieht man auch mehrkernige Zellen. Ein bis zwei etwas vergrößerte Nukleolen pro Zellkern finden sich zentral oder leicht exzentrisch. Mitosen sind vorhanden, aber nicht zahlreich.

Grad 3:

Große bis riesige und in ihrer Form sehr unterschiedliche Zellkerne sind charakteristisch für diese Art der Tumoren. Die Gestalt der Kerne ist unregelmäßig, polyzyklisch und polymorph. Das Chromatin ist sehr grob, ungleich verteilt und immer hyperchromatisch. Die Anzahl der Nukleolen pro Kern reicht von einem Nukleolus bis hin zu mehreren Nukleoli welche sehr groß werden können. Mehrkernige Zellen finden sich häufig, hochgradig atypische und riesige Tumorzellen sind keine Seltenheit. Ebenso zahlreich sind atypische Mitosen. Die Form der Zellen folgt keinem Schema mehr, oftmals sind die Zellen spindelförmig bzw. pleomorph.

Folgende Abbildungen zeigen exemplarisch Nierenzellkarzinome der verschiedenen Grade G 1, G 2 und G 3.

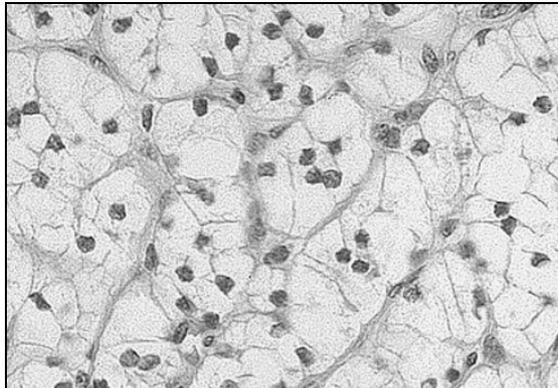


Abbildung 15: Hellzelliges Nierenzellkarzinom Grad 1, K 9597560 1.2, 1:400

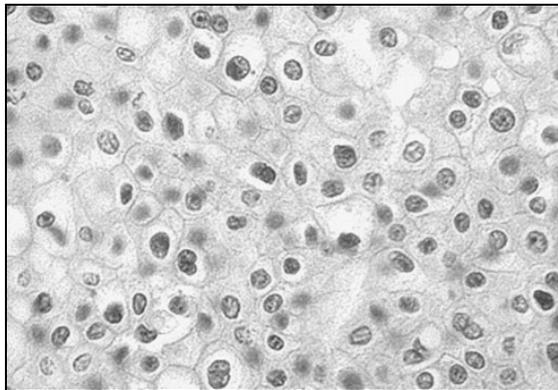


Abbildung 16: Chromophobes Nierenzellkarzinom Grad 2, K 9506734 1.1, 1:400

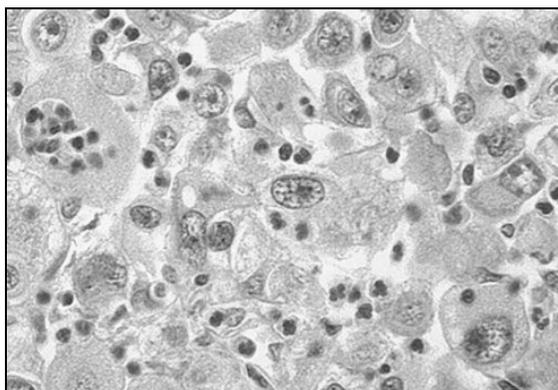


Abbildung 17: Hellzelliges Nierenzellkarzinom Grad 3, K 9509002 1.4, 1:400

1.2.3 Robson-Stadien

Robson et al. haben im Jahre 1969 die Ausdehnung des Nierenzellkarzinoms in verschiedenen Stadien zusammengefaßt. Demnach entspricht einem Stadium I ein kleiner Tumor (T 1) ohne Lymphknoten- oder Fernmetastasen. Die Ausbreitung des Tumors entspricht dem Stadium II, wenn es sich um einen Tumor größer als 2,5 cm handelt, der ebenfalls noch nicht lymphogen oder hämatogen metastasiert hat. Eine Lymphknotenmetastasierung (N 1) eines T 1- oder T 2-Tumors bzw. ein T 3-Tumor mit oder ohne Lymphknotenbefall aber ohne Fernmetastasen gilt als Stadium III. Eine Fernmetastasierung bzw. ein Lymphknotenbefall > N 1 sowie ein T 4-Tumor entsprechen immer einem Stadium IV nach Robson.

	T 1	T 2	T 3a	T 3b	T 3c	T 4	N 0	N 1	N 2	N 3	M 0	M 1
Stadium I	X						X				X	
Stadium II		X					X				X	
Stadium III	X	X					X	X			X	
Stadium IV	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X

Tabelle 2: Stadieneinteilung des Nierenzellkarzinoms nach Robson et al., 1969

1.2.4 Prognosescore nach Störkel

Für die Einteilung der Tumoren in die verschiedenen Prognosegruppen nach Störkel werden folgende Bewertungskriterien herangezogen: Das Robson-Stadium, das Grading, der Zelltyp aufgrund der histopathologischen Morphologie (Thoenes et al., 1986), das Wachstumsmuster sowie das Alter des Patienten zum Zeitpunkt der Operation. Der Prognosescore ergibt sich durch Addition der entsprechenden Punktzahl jedes einzelnen Parameters. Treffen gleichzeitig mehrere Möglichkeiten eines Parameters zu (z.B. klarzellig, teils chromophil), so ist die höhere Punktzahl zu wählen.

Parameter		Punkte
Staging	Robson-Stadium I	1
	Robson-Stadium II	2
	Robson-Stadium III	4
	Robson-Stadium IV	6
Grading	Grad I	1
	Grad II	3
	Grad III	5
Zelltyp	klarzellig	2
	chromophil	1
	chromophob	1
	spindelzellig/pleomorph	2
Wachstumsmuster	kompakt	2
	tubulo-papillär	1
	cystisch	1
Alter bei Operation	< 30 Jahre	1
	31 - 40 Jahre	2
	41 - 50 Jahre	1
	51 - 60 Jahre	2
	61 - 70 Jahre	2
	> 70 Jahre	1
Prognosegruppe 1 (gute Prognose)		5 - 9
Prognosegruppe 2 (intermediäre Prognose)		10 - 14
Prognosegruppe 3 (schlechte Prognose)		15 - 17

Tabelle 3: Prognosescore des Nierenzellkarzinoms mit Definition von 3 Prognosegruppen

1.3 Klinik und Diagnostik des Nierenzellkarzinoms

Das Nierenzellkarzinom ist primär symptomlos, so daß die Diagnose in den meisten Fällen erst spät gestellt wird. Dementsprechend weisen 13 - 18% aller Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose bereits Fernmetastasen auf (Fischer et al., 1998). Die klassische Symptomtrias Schmerz, Hämaturie und tastbare Resistenz findet sich nur bei 11% der Patienten, gleichwohl finden sich einzelne Symptome wesentlich häufiger (s. Tabelle 4).

Schmerzen	48%
Hämaturie	40%
tastbare Resistenz	39%
Gewichtsabnahme	37%
Hochdruck	22%
Fieber	19%
Trias: Schmerz	} 11%
Resistenz	
Hämaturie	
keine	5%

Tabelle 4: Klinische Symptomatik des Nierenzellkarzinoms

Das Nierenzellkarzinom metastasiert vorwiegend hämatogen vom Cavatyp, bevorzugt in die Lunge, die Leber, das Gehirn, in die Knochen sowie in die Nebennieren. Allerdings sind gerade für das Nierenzellkarzinom Metastasen ungewöhnlicher Lokalisation und Symptomatik typisch, so sind beispielsweise Metastasen in den Tonsillen, den Kieferhöhlen, der Mundschleimhaut, in den Speicheldrüsen und auch in der Vagina beobachtet worden (Melnick et al., 1989; Müller-Mattheis et al., 1989). Auch das Auftreten von Spätmetastasen 10 bis 20 Jahre nach dem Primärtumor ist keine Seltenheit. Selten finden sich verschiedene paraneoplastische Syndrome wie z.B. Polyzythämie, Hyperkalzämie, Hypertonie, Cushing-Syndrom oder Galaktorrhoe. Bei etwa 3% der Patienten kommt es zu einer sekundären Amyloidose mit Ablagerung von Amyloid-A (vorwiegend beim klarzelligen kompakten Typ) in den Nieren und in der Milz. Klinisch manifestieren sich solche Fälle häufig als nephrotisches Syndrom. In 15% kommt es zu einem Stauffer-Syndrom mit gestörten Leberfunktionen und einer Hepatomegalie ohne Ikterus (Stambolis et al. 1981; Schubert 1984). Ein diagnostisches Merkmal ist von besonderer Wertigkeit: Eine neuauftretende Varikozele (varikös erweiterter Plexus pampiniformis), vor allem rechtsseitig, kann ein erstes Symptom für ein Nierenzellkarzinom sein (symptomatische Varikozele aufgrund Behinderung des venösen Abflusses durch einen Tumorzapfen in der V. renalis, ggf. bis in die V. cava inferior), neben einer deutlich erhöhten Blutkörperchengeschwindigkeit. Das einfachste und preiswerteste bildgebende Verfahren, das sich der klinischen Untersuchung

direkt anschließen sollte, ist die Ultraschalluntersuchung. Hiermit läßt sich relativ leicht und sicher eine Raumforderung im Bereich einer Niere feststellen. Als Kriterien gelten ein im Niveau oder über das Niveau der Niere hinausreichender, strukturveränderter Bezirk mit Binnenechos, bei großen Tumoren nicht selten mit kleinen zystischen Hohlräumen. Röntgenologisch zeigt sich in der Nierenleeraufnahme ein vergrößerter Weichteilschatten neben einer verstärkten Vaskularisation im Angiogramm (Bischoff et al., 1977). Im Ausscheidungsurogramm erscheint die Kelcharchitektur meist verworfen, die Computertomographie als eine der letzten Untersuchungen in der Hierarchie der Diagnostik liefert exakte Angaben über die Größe und Ausbreitung des Tumors sowie den Verdacht auf lymphogene Metastasierung aufgrund vergrößerter Lymphknoten im Bereich des Nierenstiels. Die Magnetresonanztomographie bringt bei dieser Erkrankung keinen Informationsgewinn, so daß man, nicht zuletzt aus wirtschaftlichen Gründen, darauf verzichten kann. Um im Falle unklarer Dignität eine präoperative Histologie der Raumforderung zu gewinnen, ist es möglich, den Tumor Ultraschall- bzw. CT-gesteuert zu punktieren. In Einzelfällen kann bei Verdacht auf Invasion des Tumors in die V. cava inferior zusätzlich eine Cavografie angeschlossen werden, hierbei besteht gleichzeitig die Möglichkeit, einen Cava-Schirm zu plazieren um einer Tumorembolisation in die Lungenstrombahn vorzubeugen. Zur korrekten Stadieneinteilung bei nachgewiesenem Nierentumor sind eine Thorax-Röntgenaufnahme in 2 Ebenen und eine Computertomographie des Abdomens notwendig. Bei Verdacht auf Knochenfiliae kann zusätzlich ein Knochenszintigramm erforderlich werden.

1.4 Therapie des Nierenzellkarzinoms

Die einzige kurative Therapie des Nierenzellkarzinoms ist die Diagnose und Entfernung des Primärtumors im Frühstadium. Das operative Verfahren der Wahl hierzu ist die radikale Tumornephrektomie unter Mitnahme der ipsilateralen Nebenniere sowie der Lymphknoten entlang des Nierenstiels. Bei geringer Größe des Primärtumors kann in besonderen Fällen, z.B. bei anatomischer oder funktioneller Einzelniere, um den Patienten vor dem Schicksal der Dialysepflichtigkeit zu bewahren, auf eine Entfernung der gesamten Niere verzichtet und statt dessen eine organerhaltende Nierenteilresektion durchgeführt werden (Steinbach et al., 1991). Unter diesem Aspekt muß man jedoch die Eigenschaft der Nierenzellkarzinome berücksichtigen, multizentrisch, d.h. gleichzeitig an mehreren Stellen in einer Niere, aufzutreten. Cheng et al. beziffern in einer 1991 durchgeführten Untersuchung die Inzidenz eines Zweitkarzinoms in der selben Niere wie der Primärtumor mit sieben Prozent. In einer Studie von Nissenkorn et al., 1995, in der die Multizentrität des Nierenzellkarzinoms untersucht wurde, konnte gezeigt werden, daß bei Tumoren mit einem Durchmesser von weniger als 3 cm die totale Nephrektomie in mindestens 96% der Fälle eine Übertherapie ist. Untersuchungen zur Zytostatikasensibilität des Nierenzellkarzinoms erbrachten ernüchternde Ergebnisse. Nach dem heutigen Kenntnisstand gibt es keine wirkungsvolle Chemotherapie des Nierenzellkarzinoms. Sämtliche Therapieansätze mit verschiedenen Chemotherapie-schemata, welche in-vitro eine Wirkung auf das Tumorzellwachstum i.S. einer Verringerung bzw. einer Abtötung von Zellen zeigten, konnten in-vivo zu keinem Effekt bezüglich einer Verlängerung der Überlebenszeit der Patienten führen. Einzig die Immunmodulationstherapie mit rekombinantem Interleukin-2 (von Römeling et al., 1988), Interferon (Buzaid et al., 1989; Muss, 1991; Mani et al., 1996) oder Lymphokin-aktivierten Killer-Zellen (LAKC) stellt heute die Therapie der Wahl des metastasierten Nierenzellkarzinoms dar. Den Interleukinen, besonders Interleukin-2, kommt in diesem Zusammenhang die wichtigere Bedeutung zu, denn sie führen zu höheren Remissionsraten als die Interferone, welche in nur 2% bzw. 12% zu einer kompletten bzw. partiellen Remission führen. Eine Durchsicht der hierzu bis heute publizierten Ergebnisse läßt jedoch leider keinen Zweifel daran, daß nur 3% aller mit Interferon behandelten Patienten eine länger als 12 Monate andauernde Remission aufweisen (Mani et al., 1996).

1.5 Prognose

Die Prognose des Nierenzellkarzinoms ist abhängig von der Tumorgroße, dem Erkrankungsstadium sowie dem histomorphologischen Grading. Diese drei Faktoren sind die bis heute allgemein akzeptierten Prognoseparameter des Nierenzellkarzinoms. Demnach findet sich bei T 1-Tumoren eine Letalität von 45% nach 10 Jahren Überlebenszeit, bei T 2- und T 3-Tumoren eine Letalität von 50% nach 5 Jahren Überlebenszeit und bei T 4-Tumoren eine 50%-ige Letalität bei einer Lebensdauer von 18 Monaten. Ein Veneneinbruch des Tumors erhöht die Letalität auf 62% nach 5-6 Jahren Überlebenszeit. Ebenso haben Patienten mit Lymphknotenmetastasen eine verkürzte Überlebenszeit von 3 Jahren (Störkel et al., 1986; Medeiros et al., 1988; Ljungberg et al., 1988). Entsprechend der Stadieneinteilung nach Robson ist, bezogen auf die 5-Jahresüberlebensraten von 95%, 75% und 35%, für das Stadium I eine mittlere Überlebenszeit von 137 Monaten bei einer Letalität von 4%, für das Stadium II eine mittlere Überlebenszeit von 84 Monaten bei einer Letalität von 16% und für das Stadium III eine mittlere Überlebenszeit von 80 Monaten bei einer Letalität von 33% sowie im Stadium IV eine mittlere Überlebenszeit von 38 Monaten bei einer Letalität von 59% bestimmt worden (Thoenes et al., 1986; Störkel et al., 1986). Nach dem histomorphologischen Grading findet sich bei G 1-Tumoren eine mittlere Überlebenszeit von 130 Monaten bei einer Letalität von 5%, bei G 2-Tumoren eine Überlebenszeit von 91 Monaten bei einer Letalität von 25% und bei G 3-Tumoren eine Überlebenszeit von 34 Monaten bei 69% Letalität. Bezogen auf die 5-Jahresüberlebensraten finden sich Werte von 95% für G 1-, 60% für G 2- und 25% für G 3-Karzinome (Störkel et al., 1986). Unter Berücksichtigung der Wachstumsformen ist kompakten Karzinomformen eine mittlere Überlebenszeit von 94 Monaten bei einer Letalität von 25% zuzuordnen, tubulopapillären Karzinomformen eine Überlebenszeit von 17 Monaten bei einer Letalität von 17% und zystischen Wachstumsformen eine mittlere Überlebenszeit von 59 Monaten bei einer Letalität von fast null Prozent. Die histopathologische Morphologie ergibt für klarzellige Karzinome eine mittlere Überlebenszeit von 86 Monaten bei einer Letalität von 25%, für chromophobe Karzinome findet sich eine mittlere Überlebenszeit von 79 Monaten bei einer Letalität von 17% und für chromophile eine mittlere Überlebenszeit von 119 Monaten bei einer Letalität von 14%. Prognostisch sind die klarzelligen Karzinome am ungünstigsten (Störkel et al., 1990). Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Prognose eines im Frühstadium diagnostizierten und adäquat behandelten Nierenzellkarzinoms, insbesondere derer mit guter histopathologischer Differenzierung, günstig ist. Hingegen haben bereits metastasierte

Nierenzellkarzinome, nicht zuletzt wegen mangelnder therapeutischer Möglichkeiten, eine vergleichsweise schlechte Prognose.

Die nachfolgende *Tabelle 5* gibt nochmals einen Überblick:

Kriterium		Mittlere Überlebenszeit in Monaten	Letalität in %
T-Stadium	pT 1	120	45
	pT 2	60	50
	pT 3	60	50
	pT 4	18	50
Veneneinbruch	positiv	60-72	62
Lymphknoten	positiv	36	keine Angabe
Robson-Stadium	I	137	4
	II	84	16
	III	80	33
	IV	38	59
Grading	G 1	130	5
	G 2	91	25
	G 3	34	69
Wachstumsmuster	kompakt	94	25
	tubulopapillär	17	17
	zystisch	59	0
Histologie	klarzellig	86	25
	chromophob	79	17
	chromophil	119	14

Tabelle 5: Prognose des Nierenzellkarzinoms in Abhängigkeit verschiedener Kriterien

2 Fragestellung

2.1 *Klinische und pathologische Bedeutung von Zelladhäsionsmolekülen und Proliferationsmarkern*

2.1.1 Einführung

Adhäsion von Zellen ist ein grundlegend notwendiger Prozeß für die Gewebedifferenzierung, den Aufbau einer Gewebearchitektur und für die Entstehung eines Zellverbandes bis hin zur Entwicklung eines vollständigen Organs. Gerade im Zusammenhang mit malignen neoplastischen Erkrankungen, bei denen das Tumorwachstum, die Invasion und schließlich die Absiedelung von Zellen des Primärtumors (Metastasierung) für den Patienten entscheidende Ereignisse bezüglich des weiteren Verlaufs seiner Erkrankung darstellen, ist die Untersuchung der Zell-Zell- sowie der Zell-Matrix-Interaktion auf der Ebene der molekularen Vermittlung von Zelladhärenz äußerst interessant. Vor allem die Fähigkeit maligner Tumoren, in fernen Organen Metastasen zu bilden, setzt die Fähigkeit zur molekularen Kommunikation voraus. Nach dem Einbruch von Zellen in das Blut- oder Lymphgefäßsystem müssen diese darin überleben, sich an einem fremden Ort an das Endothel anheften, in das Parenchym einwandern und schließlich dort wachsen können. Viele dieser Prozesse, wenn nicht alle, erfordern von den Tumorzellen die Fähigkeit, sich an ein bestimmtes Gewebe anzuheften bzw. sich davon lösen zu können. Hier spielen die sog. Zelladhäsionsmoleküle eine wichtige Rolle. Man teilt in fünf Familien ein: CD44 (s. 2.1.2), Integrine, Cadherine (s. 2.1.3), Selectine sowie die Immunglobulin-Superfamilie (Hynes et al., 1992). Zelladhäsionsmoleküle sind transmembranäre Glykoproteine, welche über ihren extrazellulären Anteil mit Strukturen benachbarter Zellen oder der Zellmatrix kommunizieren und über ihre intrazelluläre Region mit Funktionseinheiten der Zelle in Verbindung stehen. Proliferationsmarker wie das in der vorliegenden Arbeit untersuchte Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA, s. 2.1.4) sind erst seit wenigen Jahren Gegenstand intensiver Forschung an verschiedenen Malignomen. Bedeutung haben sie erlangt, da über sie die Bestimmung der Proliferationsaktivität von malignen Tumoren möglich und hilfreich ist, das biologische Verhalten maligner Tumoren vorherzusagen, indem man Hochrisikopatienten in Bezug auf Tumorrezidive und den tumorassoziierten Tod erkennen kann. Die Proliferationsaktivität kann über verschiedene Methoden bestimmt werden (Zählung von Mitosen, Messung des DNA-Gehaltes, Bestimmung von Proteinen des Zellzyklus), am

einfachsten aber sicher am für die tägliche histopathologische Diagnostik routinemäßig angefertigten Paraffinmaterial.

2.1.2 CD44-Standard (CD44-h) und seine Isoformen (CD44-v)

Hinter der Bezeichnung CD44 verbirgt sich eine ganze Gruppe heterogener, transmembranärer Glykoproteine mit Molekulargewichten zwischen 85 kD und 300 kD (Picker et al., 1989; Gallatin et al., 1991; Mackay et al., 1994), welche ihre Funktion in der Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktion haben. Der von der Maus gewonnene monoklonale Antikörper Hermes-3 erkennt den 85-95 kD schweren humanen Lymphozyten-Homing-Rezeptor. Mittels Maus-Mensch-hybridisierten T-Lymphozyten und Hybriden von Ovarialzellen des chinesischen Hamsters mit menschlichen Amnionfibroblasten zeigten 1989 Ala-Kapee et al. durch indirekte Immunfluoreszenz und Immunpräzipitation, daß die Expression von Hermes-3 von der Region 11pter-p13 determiniert wird. Forsberg et al., 1989, bestätigten die Position des Lymphozyten-Homing-Rezeptor-Gens auf Chromosom 11pter-p13 durch Studien an Hybridzellen von Mensch und chinesischem Hamster, worin die humanen Parentalzellen verschiedene Deletionen auf Chromosom 11 hatten. Ebenfalls im Jahre 1989 konnten Stefanova et al. auf der Grundlage von Studien des 3rd *International Workshops on Human Leukocyte Differentiation Antigens* die Identität des Lymphozyten-Homing-Rezeptors mit dem humanen Leukozyten-Oberflächenglykoprotein CDw44 bestätigen. Strukturelle Gleichheit scheint auch mit dem Pgp-1-Glykoprotein von Omary et al. 1988, zu bestehen. Heute herrscht kein Zweifel mehr daran, daß das Gen, welches für CD44 kodiert, sich auf Chromosom 11 in der Region 11pter-p13 befindet.

Derzeit sind von CD44 neben der hämatopoetischen Form (CD44-h) bzw. Standard-Form (CD44-s) zehn Isoformen bekannt (CD44-v1 - CD44-v10), von denen einige eine wichtige Rolle in der Tumordinvasion und Metastasierung zu spielen scheinen (Günthert et al., 1991; Terpe et al., 1996). So konnte für CD44-v6 nachgewiesen werden, daß seine Transfektion in eine nicht-metastasierende Zelllinie von Pankreaskarzinomzellen der Ratte (BSp73AS) diese Zellen zu hochaggressivem und extrem metastasierendem Verhalten befähigte (Günthert et al., 1991). Die beim Menschen vorkommenden Formen von CD44 werden durch 20 Exons codiert. Hiervon bezeichnet man die Exons 1s bis 10s als "Standard-Exons", da sie für die hämatopoetische oder Standardform von CD44, CD44-h, kodieren. Die weiteren zehn Exons, 1v bis 10v nehmen am sog. "alternativen Splicing" teil (Screatton et al., 1992; Terpe et al., 1996). Hierbei werden in der extrazellulären Region an der Aminosäuren-Position 223 die

zusätzlichen Sequenzen eingefügt. Zusätzlich zum Ein- oder Ausschluß von ganzen Exons wird eine zusätzliche Heterogenität durch die Verwendung von internen „Splicing“-Stellen in 2 Exons erreicht. Eine Variation der zytoplasmatischen Region resultiert aus dem alternativen „Splicing“ von 2 Exons. Daraus ergibt sich eine bemerkenswerte Komplexität der genomischen Struktur von CD44, resultierend in einer strukturellen und funktionellen Diversität auf der Basis des sog. „alternativen Splicing“. CD44-v1 wird beim Menschen aufgrund eines Stopcodons nicht exprimiert (Screaton et al., 1993).

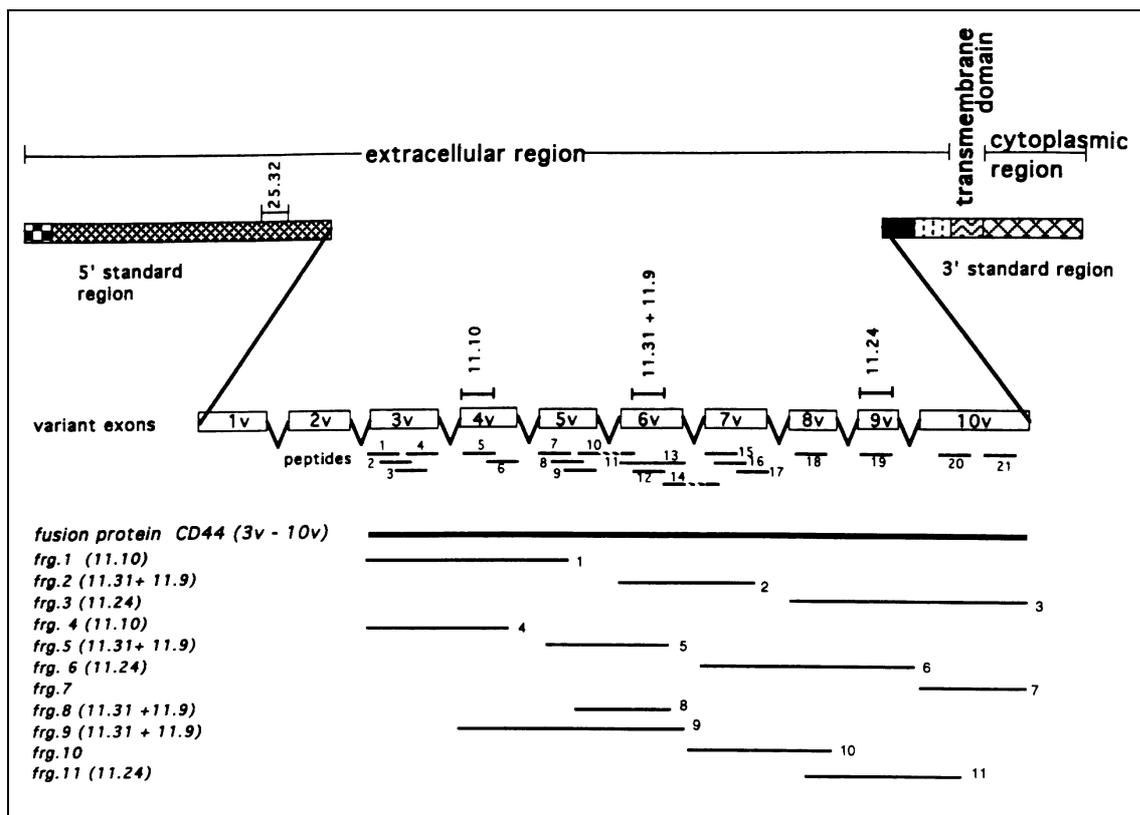


Abbildung 18: Darstellung der Regionen von CD44-h und seiner Isoformen (aus Mackay et al., 1994)

Seine Funktion, soweit heute bekannt, hat CD44 als Rezeptor für Hyaluronsäure (Aruffo et al., 1990; Culty et al., 1992; Lesley et al., 1990), in der T-Zell-Aktivierung und Signaltransduktion (Huet et al., 1989; Shimizu et al., 1989; Denning et al., 1990), in der Lymphozyten-Zirkulation, dem sog. „Homing“ der Lymphozyten (Jalkanen et al., 1987; Goldstein et al., 1989) sowie als Element in der Vermittlung von Zellmotilität (Jacobson et al., 1984). Hyaluronsäure ist ein Hauptbestandteil der extrazellulären Matrix und bewirkt vermutlich eine wenig resistente Matrix mit erhöhter Zellmotilität. Diese Zellmotilität ist in der Embryonalphase und bei der Wundheilung essentiell und möglicherweise Voraussetzung zur Lymphozytenzirkulation und Tumorzellmetastasierung (Reid und Flint, 1974; Underhill 1989).

2.1.3 E-Cadherin

E-Cadherin gehört zu einer Familie Ca^{++} -abhängiger interzellulärer transmembranärer Glykoproteine, den sog. Cadherinen. Cadherine spielen eine wichtige Rolle in der Organogenese und der Aufrechterhaltung der normalen Gewebestruktur und -funktion. Derzeit unterteilt man die Cadherine in drei Klassen, die epithelialen E-Cadherine, die N-Cadherine, welche in Nerven- und Muskelgewebe exprimiert werden und die P-Cadherine, die man zuerst aus Maus-Placenta isolierte, die aber auch in menschlichen epithelialen Strukturen vorkommen. Alle diese Cadherine unterscheiden sich nicht im Molekulargewicht, wohl aber in der Verteilung im Gewebe und in der immunologischen Spezifität (Behrens et al., 1985; Eidelman et al., 1989; Takeichi, 1991). Mansouri et al., 1987, erforschten die Aminosäuresequenz von Uvomorulin, der Vergleich der Sequenz ergab eine starke Ähnlichkeit mit Hühner-LCAM. Mit Hilfe des Maus-cDNA-Klons verglichen die selben Autoren eine cDNA-Bibliothek von menschlichen Leberzellen und isolierten einen 2-kb cDNA-Klon, welcher Codesequenzen für humanes Uvomorulin enthielt. Ein Sequenzvergleich erbrachte eine 80%-ige Identität der Nukleotid- und Aminosäuresequenz mit Uvomorulin der Maus. Mit Hilfe der DNA-Southern-Blot-Analyse von somatischen Maus-Mensch-Hybrid-Zellen lokalisierten ebenfalls Mansouri et al. (1987, 1988) das Uvomorulin-Gen auf Chromosom 16p11-qter. Mittels einer cDNA-Sonde des humanen Uvomorulin-Gens beschrieben Natt et al., 1989, durch Southern-Blot-Analyse den Uvomorulin-Locus auf Chromosom 16q22.1. Chen et al., 1991, bestätigten die Position auf Chromosom 16. Berx et al., 1995, kloneten das humane E-Cadherin-Gen und beschrieben 16 Exons, welche ca. 100 kb genomischer DNA umfassen. Die Struktur des Gens gleicht derer anderer Cadherine. Durch Fluoreszenz-in-situ-Hybridisation bestätigten die Autoren die Position auf Chromosom 16q22.1.

E-Cadherin setzt sich zusammen aus einer 80 kD schweren extrazellulären Domäne, einer 15 kD schweren transmembranären sowie einer ebenfalls 15 kD schweren zytoplasmatischen Domäne, welche in direkter Verbindung mit Funktionsproteinen des Zytoskeletts steht. Eine wichtige Rolle spielt E-Cadherin in der embryonalen Entwicklung der Niere. Hierbei findet das metanephrogene Blastem Anschluß an die Ureterknospe, welche sich daraufhin wiederholt verzweigt und die Bildung der Sammelrohre induziert. Dies beinhaltet eine Umwandlung des Mesenchyms in ein Epithel, das schon bald eine starke Adhärenz der Zellen untereinander aufweist, hervorgerufen durch die Synthese von Zelladhäsionsmolekülen (Wartiovaara, 1966). In einer Publikation von Vestweber et al., 1985, wird die Expression von Uvomorulin, heute E-Cadherin, während der embryonalen Nierenentwicklung beschrieben.

Ihre Ergebnisse haben heute noch Gültigkeit und belegen das Vorhandensein von E-Cadherin in den verschiedenen Abschnitten des Nephrons. Im Glomerulum wird kein E-Cadherin exprimiert, im proximalen Tubulus und in der Henle'schen Schleife nur wenig, wohingegen im distalen Tubulus sowie in den Sammelrohren stets eine starke Expression von E-Cadherin gefunden wird (s.a. Nouwen et al., 1993). Behrens et al. fanden 1989, daß die maligne Transformation von normalerweise nicht-invasiven Madin-Darby-Kaninchen-Nierenzellen durch Harvey- und Maloney-Sarkom-Viren die Zellen dazu befähigte, in kollagene Gels und in embryonales Herzmuskelgewebe zu invadieren. Im Gegenzug verminderte die Transfektion von für E-Cadherin kodierende cDNA in hochinvasive epitheliale Tumorzelllinien von Hundenieren und Maus-Brustdrüsengewebe die Invasionsaktivität in in-vitro-Versuchen. Ebenso zeigten Frixen et al. 1991 in Immunfluoreszenzversuchen sowie in Western- und Northern-Blotting-Studien, daß Karzinomzelllinien mit epitheloidem Phänotyp E-Cadherin exprimierten und nicht-invasiv waren, wohingegen fibroblastenähnliches Tumorzellwachstum keine Expression von E-Cadherin zeigte und von invasiver Gestalt war. Eine negative Korrelation der Expression in Bezug auf das histomorphologische Grading fanden Katagiri et al., 1995. Hierzu gibt es jedoch auch anderslautende Veröffentlichungen, worin der Zusammenhang zwischen histopathologischem Differenzierungsgrad und der Expression von E-Cadherin nicht bestätigt werden kann (Tani et al., 1995). Bringuier et al. publizierten 1993 eine retrospektive Studie wonach die verminderte Expression von E-Cadherin mit zunehmender Entdifferenzierung und höheren Krankheitsstadien sowie, was von besonderem Interesse ist, mit einer kürzeren Überlebenszeit einhergeht. Ähnliche Bedeutung von E-Cadherin in der Tumorinvasion scheint es auch in der Tumorzellmetastasierung zu haben. Eine verminderte Expression kann hier eine leichtere Ablösung einzelner Zellen aus dem Zellverband bewirken, andererseits scheint E-Cadherin wiederum als Anheftungs faktor für Tumorzellen in tumorfernen Geweben zu dienen (Oka et al., 1992).

2.1.4 PCNA

Im Jahre 1978 beschrieben Miyachi et al. einen Autoantikörper gegen ein nukleäres Antigen im Serum von Patienten mit Systemischem Lupus erythematodes (SLE). Bravo et al. beschrieben im Jahre 1986 ein Zell-Zyklus-abhängiges Protein, genannt Cyclin, von dem gezeigt wurde, daß es mit PCNA identisch ist. Proliferating Cell Nuclear Antigen wird zur Replikation der Simian-Virus 40 (SV40)-DNA benötigt und ist ein auxiliäres Protein (Kofaktor) der DNA-Polymerase- δ (Bravo et al., 1987; Prelich et al., 1987). Im Gegensatz zu Polymerase- α , Polymerase- β und Polymerase- γ besitzt die Polymerase- δ Exonuklease-Aktivität welche vom 3'-Ende zum 5'-Ende gerichtet ist und eine fehlerkorrigierende Funktion hat. Dadurch wird PCNA eine bedeutende Rolle in der Aufrechterhaltung der fehlerfreien DNA-Replikation bei Säugetieren zugeschrieben. Während der Evolution scheint sich dieses Protein nicht wesentlich verändert zu haben, die Aminosäuresequenzen des PCNA der Ratte und des Menschen unterscheiden sich nur in 4 von 261 Aminosäuren. Der gegen humanes PCNA gerichtete Antikörper reagiert nicht nur mit den Zellkernen proliferierender Zellen von sämtlichen untersuchten Versuchstieren, sondern sogar mit den Zellkernen von Pflanzenzellen. Dies wurde in einer Arbeit von Suzuka et al., 1989, demonstriert. Im Jahre 1989 isolierten Travali et al. einen cDNA-Klon des gesamten humanen PCNA-Gens und der flankierenden Sequenzen. Das humane Gen existiert in einfacher Ausfertigung, besitzt 6 Exons, umfaßt insgesamt 4961 Basenpaare und es finden sich starke Strukturähnlichkeiten zwischen Introns sowie zwischen Introns und Exons. Mittels in-situ-Hybridisation fanden Rao et al., 1991, daß sich das Gen, welches für PCNA kodiert, in oder zumindest nahe der Region 20p12 befindet.

Seine Funktion hat PCNA als Kofaktor in der DNA-Synthese während des Zellzyklus, wobei es maximal in der späten G1- und in der S-Phase (DNA-Synthesephase) exprimiert wird um dann in der G2- und in der M-Phase wieder abzunehmen (Takasaki et al., 1981; Celis und Celis, 1985). Demzufolge spiegelt sich in der Stärke der PCNA-Expression die Geschwindigkeit des Zellzyklus wider, somit eignet sich die Darstellung dieses Antigens mittels monoklonaler Antikörper, um als Maß für die Proliferationsaktivität des Gewebes zu dienen. In einigen Untersuchungen bezüglich der Expression von PCNA in verschiedenen malignen Tumoren konnte gezeigt werden, daß sich die Stärke der PCNA-Expression im klinischen Verlauf der Erkrankung widerspiegelt. Cronin et al., 1994 halten den PCNA-Index (prozentualer Anteil der PCNA-positiven Zellkerne an den gezählten Zellkernen) für ein gutes

Kriterium bezüglich der Prognose des Patienten, ebenso Tanioka et al., 1993, Delahunt et al., 1993 und Kamel et al., 1994.

2.2 Fragestellung der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit soll die Bedeutung der Expression der Zelladhäsionsmoleküle CD44-h, CD44-v3, CD44-v6, CD44-v9, E-Cadherin und des Proliferationsmarkers PCNA für die klinische Progressionstendenz des Nierenzellkarzinoms untersucht werden. Die folgenden Fragen werden berücksichtigt:

- Korreliert die Expression von CD44-h und seiner Isoformen mit den histopathologischen Malignitätskriterien und dem klinischen Tumorstadium?
- Zeigen Tumoren an ihren Invasionszonen eine gegenüber den übrigen Arealen veränderte Expression ?
- Unterscheiden sich Primärtumore in ihrer Expression von Metastasen?
- Kann eine stärkere Expression von CD44 bei Nierenzellkarzinomen in fortgeschrittenen Stadien bzw. von höherer Malignität gefunden werden als bei Tumoren von niedrigerem malignem Potential?
- Können aggressive Tumoren das Verhalten von Lymphozyten in gewisser Weise imitieren, nämlich die vermehrte Expression von CD44-h, um sich in die Umgebung auszubreiten bzw. zu metastasieren?
- Können die beeindruckenden Ergebnisse der Arbeit von Günthert et al., 1991, für das Nierenzellkarzinom nachvollzogen werden?
- In welchem Maße korrelieren die E-Cadherin-Expression und die histopathologischen bzw. klinischen Befunde?
- Spielt der Verlust des Zelladhäsionsmoleküls E-Cadherin beim Nierenzellkarzinom tatsächlich eine bedeutende Rolle für das Fortschreiten der Erkrankung?
- Welche Bedeutung kann der Expressionsstärke von PCNA zugemessen werden?
- Hat die Antigenexpression eine Bedeutung für die tumorfreie Überlebenszeit des Patienten?
- Ist es möglich, anhand des Expressionsmusters eines Tumors eine Aussage bezüglich der Prognose des Patienten zu treffen?
- Können diese Faktoren als unabhängige Prognoseparameter des Nierenzellkarzinoms gelten?

3 Material

3.1 Patientenkollektiv und Untersuchungsmaterial

Das Kollektiv der vorliegenden Arbeit bilden Nierenzellkarzinome und Onkozytome von 208 Patienten der Urologischen Klinik der Justus-Liebig-Universität Gießen (Leiter: Prof. Dr. med. W. Weidner), die im Zeitraum von 1986 bis 1995 diagnostiziert und operiert wurden. Das Alter der Patienten reicht von 37 bis 83 Jahre mit einem Durchschnittsalter zum Zeitpunkt der Diagnose von 62,5 Jahren. Das Verhältnis Männer zu Frauen beträgt 1,92:1. Das Untersuchungsmaterial setzt sich zusammen aus 189 primären Nierenzellkarzinomen, 9 Onkozytomen sowie 22 Metastasen. Von 10 Metastasen war kein Primärtumormaterial zu erhalten, die übrigen 12 Metastasen stammen von vorhandenen und untersuchten primären Nierenzellkarzinomen ab. Bei 14 der 22 Metastasen handelt es sich um Fernmetastasen, 8 sind regionäre Lymphknotenmetastasen. 2 Fälle konnten als beidseitige Nierenzellkarzinome gesichert werden. Von den meisten Tumoren werden bis zu 3 Gewebeblöcke untersucht, um eine eventuell unterschiedliche Expression der mit den ausgewählten Antikörpern darzustellenden Strukturen an den Invasionszonen des Tumors (Einbruch in das Nierenbecken, Kapseldurchbruch, Infiltration des perirenal Fettgewebes, Einbruch des Tumors in Venen) zu erforschen. Insgesamt umfassen die Untersuchungen 316 mit Formalin fixierte und in Paraffin eingebettete Tumorpräparate aus dem Archiv des Instituts für Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen (Leiter: Prof. Dr. med. A. Schulz).

3.2 Beschreibung der verwendeten Antikörper

Bei den Primärantikörpern handelt es sich um gegen menschliche Antigene gerichtete monoklonale Antikörper (mAk) der Maus. Im folgenden sind dies CD44-h (anti-human CD44h, Clone BBA10, R&D Systems), CD44-v3 (anti-human CD44-v3, Clone BBA11, R&D Systems), CD44-v6 (anti-human CD44-v6, Clone BBA13, R&D Systems), CD44-v9 (anti-human CD44-v9, Clone 11-24, U. Günthert, Basel), E-Cadherin (anti-human E-Cadherin, Clone HECD-1, Fa. Takara Shuzo Co.) und PCNA (anti-human PCNA, Clone PC10, Fa. Medac). Der Brückenantikörper (Link-Antikörper, Fa. DAKO, Glostrup) ist vom Typ Kaninchen-Anti-Maus, der Endantikörper (APAAP-Komplex, Fa. DAKO) ist ein Maus-Anti-Kaninchen-Antikörper, gekoppelt mit einem Enzymkomplex zur Umsetzung des Farbstoffes Neufuchsin in der Entwicklungslösung.

3.3 Ansätze der Gebrauchslösungen

3.3.1 Waschpuffer

- 18 g Tris-Base (United States Biochemicals, Cleveland)
- + 137 g Tris-HCl (United States Biochemicals, Cleveland)
- + 175,6 g NaCl (Roth, Karlsruhe)
- + 2500 ml Aqua dest.

Der pH des Waschpuffers sollte nun zwischen pH 7,4 und pH 7,6 liegen. Diese Lösung wird mit Aqua dest. auf 20 l aufgefüllt.

3.3.2 RPMI-Lösung

- 50 ml RPMI 1640 (Life Technologies, Faisley)
- + 450 ml Aqua dest.
- + 50 ml inaktiviertes Rinderserum (Seromed, Berlin)
- + 500 mg Natriumacid (Merck, Darmstadt)

Der pH-Wert des RPMI wird zwischen pH 7,4 und pH 7,6 eingestellt und die Lösung wird im Kühlschrank aufbewahrt.

3.3.3 Entwicklungspuffer

- 87 g NaCl
- + 15 g Tris-HCl
- + 49 g Tris-Base (Sigma, Deisenhofen)
- + 1750 ml Aqua dest.

Der Entwicklungspuffer wird bei Raumtemperatur in einer dunklen Flasche aufbewahrt.

3.3.4 Propandiol

- 21 g Propandiol (Merck, Darmstadt)
- + 1000 ml Aqua dest.

Die Lösung wird in einer dunklen Flasche im Kühlschrank aufbewahrt.

3.3.5 Neufuchsin

- 5 g Neufuchsin (Chroma-Gesellschaft, Köngen)
- + 100 ml 2N HCl (Merck, Darmstadt)

Die Lösung wird in einer dunklen Flasche im Kühlschrank aufbewahrt.

3.3.6 Citratpuffer

Es werden folgende zwei Stammlösungen benötigt:

Stammlösung A: 21,01 g Zitronensäure (Merck, Darmstadt)
+ 1000 ml Aqua dest.

Stammlösung B: 29,41 g Natriumcitrat (Merck, Darmstadt)
+ 1000 ml Aqua dest.

Die Stammlösungen werden im Kühlschrank aufbewahrt.

Der endgültige Citratpuffer wird wie folgt zusammengesetzt:

9 ml Stammlösung A
+ 41 ml Stammlösung B
+ 450 ml Aqua dest

Ein Einstellen des pH-Wertes ist nicht notwendig.

3.3.7 Hämalan

1 g Hämatoxylin (Merck, Darmstadt)
+ 0,2 g NaJO₃ (Merck)
+ 50 g Kalialaun (Merck)
+ 1000 ml Aqua dest.
+ 50 g Chloralhydrat (Merck)
+ 1 g Zitronensäure (Merck)

3.3.8 Eosin

Es ist folgende Stammlösung zu verwenden:

10 g Eosin (Merck, Darmstadt)
+ 1000 ml 96 %igen Alkohol

Die Eosin-Stammlösung ist in einer dunklen Flasche bei Raumtemperatur aufzubewahren.

Die Eosin-Gebrauchslösung setzt sich wie folgt zusammen:

100 ml Stammlösung
+ 100 ml 70 %igen Alkohol
+ 3-4 Tropfen 100 %ige Essigsäure (Eisessig, Merck Darmstadt)

3.3.9 Entwicklungslösung

Küvettenanzahl		1	2	3	4	5	6	7	8
Entwicklungspuffer	[ml]	35	70	105	140	175	210	245	280
Propandiol	[ml]	12,5	25	37,5	50	62,5	75	87,5	100
Laevamisol	[mg]	20	40	60	80	100	120	140	160
Natriumnitrit	[mg]	10	20	30	40	50	60	70	80
Aqua dest	[ml]	250	500	750	1000	1250	1500	1750	2000
Naphtol	[mg]	25	50	75	100	125	150	175	200
Dimethylformamid	[ml]	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400
Neufuchsin	[ml]	100	200	300	400	500	600	700	800

Tabelle 6: Zusammensetzung der Entwicklungslösung

Um die Entwicklungslösung korrekt anzusetzen, ist folgende Reihenfolge einzuhalten:

- Lösung 1: Entwicklungspuffer und Propandiol zusammengießen und den pH dieser Lösung auf pH 9,75 einstellen
- Laevamisol abwiegen und zu Lösung 1 geben
- Lösung 2: Natriumnitrit abwiegen und mit der entsprechenden Menge Aqua dest. auflösen
- Lösung 3: Naphtol abwiegen und mit der entsprechenden Menge Dimethylformamid auflösen
- Neufuchsin abmessen und zu Lösung 2 geben
- Lösungen 1-2 min stehenlassen
- Lösung 2 zu Lösung 1 geben
- Lösung 3 zu Lösung 1 geben
- Den pH der Gesamtlösung auf pH 8,80 einstellen
- Gesamtlösung filtrieren

3.3.10 Antikörperverdünnung

In der folgenden Tabelle 7 ist dargestellt, in welchem Verhältnis die Antikörper mit RPMI-Lösung verdünnt werden müssen, um eine ausreichende Menge für 60 Objektträger zu erhalten. Die Menge pro Objektträger wurde mit 120 µl vorgegeben. Für den Link- bzw. den APAAP-Antikörper mußte die doppelte Menge berechnet werden, da diese zweimal aufgetragen wurden. Siehe dazu auch 4.4.4.

Antikörper	CD44h	CD44v3	CD44v6	CD44v9	E-Cadherin	PCNA	NK	Link	APAAP
Verdünnung	1:100	1:300	1:700	1:25	1:400	1:150	1:100	1:25	1:50
Ak [µl]	72	24	10	288	18	48	72	576	288
RPMI [µl]	7128	7176	7190	6912	7182	7152	7128	13824	14112

Tabelle 7: Antikörperverdünnung für 60 Objektträger

4 Methoden und Untersuchungen

4.1 Anfertigung der Präparate

Von jedem Präparat wurden 11 Schnitte (insgesamt 3476 histologische Präparate) à 2 µm Dicke mit einem Mikrotom (Modell Jung SM2000R, Fa. Leica, Nussloch) angefertigt und nach Glättung im Wasserbad (Aqua dest., 48°C) auf Objektträger vom Typ Superfrost (Fa. Menzel-Gläser, Deutschland) aufgebracht. Nach Trocknung über Nacht in einem Brutschrank (BE 400, Fa. Memmert, Schwabach) bei 37°C wurde je Block ein Hämatoxylin-Eosin-gefärbtes Präparat (HE-Präparat) zur histopathologischen Diagnostik angefertigt und die restlichen Schnitte wurden bis zur Untersuchung bei Zimmertemperatur in einem Objektträgerschrank aufbewahrt.

4.2 Vorversuche

Die hier durchgeführten Untersuchungen umfassen in erster Linie die Ermittlung der optimalen Verdünnung des Antikörpers in Beziehung zur Re-Antigenisierungszeit in der Mikrowelle (s. 4.4.3). Ziel war es, ein optimal verwertbares Färbeergebnis bei gleichzeitig höchstmöglicher Verdünnung des Antikörpers (Minimierung unspezifischer Reaktionen, Kostenersparnis) zu erreichen. Die Versuche beziehen sich auf die beiden Antikörper HECD-1 (E-Cadherin) und PC-10 (PCNA). Die Konzentration der CD44-Antikörper sowie deren Mikrowellenzeit wurden als Standard übernommen.

Zunächst galt es, für die Darstellung von E-Cadherin an Paraffingewebe einen geeigneten Antikörper zu finden. Nach sorgfältiger Recherche gelangten drei verschiedene Klone in die Endauswahl. Im einzelnen sind dies der Klon 5H9 (lt. Firmenangaben geeignet für Gefrier- und Paraffinschnitte, Fa. Laboserv, Gießen), der Klon 6F9 (lt. Firmenangaben nur geeignet für Gefrierschnitte, Fa. Laboserv, Gießen) sowie der Klon HECD-1 (lt. Firmenangaben nur geeignet für Gefrierschnitte, Fa. Takara-Shuzo-Chemicals, Japan). Es zeigte sich relativ schnell, daß die beiden Klone 5H9 und 6F9 dem Klon HECD-1 nach Variation der Konzentration sowie der Dauer der Mikrowellenanwendung im Färberesultat deutlich unterlegen waren. Obwohl der Klon HECD-1 laut Herstellerangaben nicht für Paraffinschnitte geeignet sein sollte, fanden sich hervorragende Färberesultate bei einer Verdünnung von 1:400 und einer Mikrowellendauer von 6 x 5 min bei 600 Watt.

Für die Bestimmung der Proliferationsrate wurde der Klon PC-10 des Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) ausgewählt. Ein paraffingängiger Antikörper der Fa. Medac wurde

nach Variation von Mikrowellenzeit und Konzentration schließlich in der Verdünnung 1:150 nach 4 x 5 minütiger Mikrowelleninkubation eingesetzt.

4.3 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Zunächst werden die Schnitte für 10 Minuten in Xylol gestellt um das Paraffin herauszulösen. Anschließend folgt die Wässerung der Präparate in einer absteigenden Alkoholreihe (nacheinander jeweils zweimal in 100%-igen, 96%-igen und 70%-igen Alkohol tauchen) und danach eine Spülung mit Leitungswasser. Nun werden die Präparate für 7 Minuten in die Hämalaun-Lösung gestellt, mit Leitungswasser gespült und dann für 4 Minuten mit Eosin gefärbt um danach nochmals mit Leitungswasser gespült zu werden. Anschließend folgt die Entwässerung der Präparate in einer aufsteigenden Alkoholreihe (nacheinander jeweils zweimal in 70%-igen, 96%-igen und 100%-igen Alkohol tauchen) um danach bis zur Eindeckung mit Deckgläsern in Xylol zu stehen.

4.4 APAAP-Methode

4.4.1 Beschreibung

Die APAAP-Methode (Alkalische-Phosphatase-Anti-Alkalische-Phosphatase-Methode) ist ein immunhistochemisches Färbeverfahren zur Darstellung antigener Determinanten an Gewebe (Cordell et al., 1984). Dem Färbeprinzip liegen verschiedene hochspezifische Antigen-Antikörperreaktionen und enzymatische Farbstoffreaktionen zugrunde. Im Vergleich zur Immunperoxidase-Methode ist weder eine Blockade zelleigener Enzyme (z.B. endogene Peroxidase) notwendig, noch eine wesentliche störende Hintergrundfärbung zu erwarten. Nach einer Fixierungsphase, welche sich für Gefrierschnitte von Paraffinschnitten unterscheidet, trägt man nacheinander drei Antikörper auf das Gewebe auf. Hierbei handelt es sich im einzelnen um den Primärantikörper gegen die darzustellende Struktur (Maus-anti-human-Antikörper), einen Brückenantikörper (Link, Kaninchen-anti-Maus-Immunglobulin), der den Primärantikörper mit dem APAAP-Komplex verbindet und den eigentlichen APAAP-Komplex, einen Enzymkomplex zur Umsetzung des Farbstoffes Neufuchsin in der Entwicklungslösung. Dieses Vorgehen liefert deutlich erkennbare und mit dem Hintergrund hervorragend kontrastierende Färbungen.

4.4.2 Fixierung

Zum Fixieren der Paraffinschnitte ist folgende Vorgehensweise notwendig:

Zuerst werden die Präparate für 10 min in Xylol (Roth, Karlsruhe) entparaffinisiert, dann 10 min in Acteon (Roth, Karlsruhe) und danach 10 min in Aceton-Waschpuffer-Gemisch (Verhältnis 1:2) inkubiert. Zum Schluß der Fixierung stellt man die Schnitte für 10 min in Waschpuffer (Ansatz s. 3.3.1).

4.4.3 Mikrowelleninkubation

Um die immunologischen Reaktionen zu ermöglichen bzw. zu verstärken, werden die Tumorpräparate nach der APAAP-Fixierung in einem Mikrowellenherd (Fa. Bosch, Modell HMT 832 A, Frequenz 2,45 GHz) re-antigenisiert (Shi et al., 1991). Dadurch werden antigene Strukturen wieder aufgedeckt und durch die Formalinfixierung kreuzverbundene Proteine wieder gelöst bzw. deletäre Effekte des Formalins zumindest an einigen Epitopen rückgängig gemacht. Die exakte Wirkung ist derzeit noch nicht aufgeklärt, zumal widersprüchliche Methoden Anwendung finden (z.B. Denaturierung von Proteinen bei Temperaturen bis 100°C in der Mikrowelle). Die Objektträger werden auf mit Citratpuffer (Ansatz s. 3.3.6) gefüllte Kunststoffküvetten verteilt, max. 8 Objektträger pro Küvette. Reichen die Objektträger nicht aus, um alle Küvetten vollständig zu besetzen, so werden leere Objektträger dazugestellt um in allen Küvetten gleiche Bedingungen zu garantieren. Die nun folgende Inkubationsdauer bei 600 Watt Mikrowellenleistung hängt wesentlich vom verwendeten Antikörper ab. Um hierfür das Optimum zu ermitteln, waren umfangreiche Vorversuche notwendig (s. 4.2). Nach Inkubationsende läßt man die Objektträger für 15 min in Waschpuffer abkühlen.

4.4.4 Färbung

Alle benötigten Antikörper werden zuvor mit RPMI (Ansatz s. 3.3.2) zur gewünschten Endkonzentration verdünnt (s. Tabelle 7) und sodann bis zum Gebrauch im Kühlschrank aufbewahrt. Die Objektträger werden auf der Rückseite und um das Präparat herum mit einem sauberen Papiertuch getrocknet, um eine weitere Verdünnung des Antikörpers und ein Abfließen der Lösung vom Objektträger zu vermeiden. Nun werden auf jedes Präparat 120 µl Primäantikörper-Lösung pipettiert und gleichmäßig verteilt. Als Negativkontrolle diente ein Maus-Kaninchen-IgG-Antikörper welcher anstelle des Primäantikörpers aufgetragen wurde. Die folgende Inkubationszeit beträgt 30 min bei Zimmertemperatur. Anschließend werden die Objektträger 3-4 x mit Waschpuffer gespült. Danach folgt die Inkubation mit dem Brückenantikörper (Link-Antikörper). Es folgt die gleiche Vorgehensweise wie zuvor. Im

dritten Schritt der Färbung werden die Präparate mit dem APAAP-Antikörper beschickt. Ebenfalls gleiche Vorgehensweise wie zuvor. Zur Reaktionsverstärkung werden die Schnitte noch einmal für 10 min mit dem Link-Antikörper inkubiert. Sonst selbe Vorgehensweise wie oben beschrieben. Als letzter Schritt folgt nun noch einmal eine Inkubation mit dem APAAP-Komplex für weitere 10 min. Wiederum selbe Vorgehensweise, jedoch werden die Schnitte nach dieser Phase unbedingt 10 x kräftig mit Waschpuffer gespült um nichtgebundene Enzymkomplexe vollständig zu beseitigen.

4.4.5 Entwicklung und Gegenfärbung

Die Menge der anzusetzenden Entwicklungslösung richtet sich nach der Anzahl der Küvetten (s. Tabelle 3.3.9), wobei jede Küvette mit 8-10 bestückt sein sollte. Die Schnittpräparate werden für 25 min auf einem langsam eingestellten Schüttler (ca. 130 - 150 min⁻¹) entwickelt. Um eine gute Kontrastierung des Gewebes zu gewährleisten, werden die Präparate, nachdem sie 1x mit Leitungswasser gespült wurden, für 45 sec mit Hämalaun (Ansatz s. 3.3.7) gegengefärbt. Überflüssiges Hämalaun wird mit Leitungswasser 2x ausgewaschen.

4.4.6 Eindecken der Präparate

Die nun fertig gefärbten Schnitte werden mit 170°C heißem Glycergel (Fa. DAKO) unter üblichen Deckgläschen eingedeckt.

4.5 Interpretation der histologischen Befunde

Um die Expressionsstärke der untersuchten Antigene möglichst exakt zu bestimmen, wurde folgender Schlüssel definiert, nach dessen Kriterien jedem Tumor eine eindeutige Expressionsstärkeklasse zugewiesen werden konnte. Zunächst wurde in der Übersichtsvergrößerung die Menge des Tumormaterials bestimmt, welche sich für den untersuchten Antikörper positiv darstellte. Hierzu erhielt ein Tumor die Zahl 1, wenn bis zu 5 % des Tumormaterials positiv waren, die Zahl 2 für 5 - 20 % Positivität, die Zahl 3 für 20 - 70 % Positivität und entsprechend die Zahl 4 für mehr als 70 % positive Tumoranteile. Anschließend wurde in der 400-fachen Vergrößerung der Stärkegrad der Expression in 3 Stufen eingeteilt: Stärkegrad 1 für schwache Expression, Stärkegrad 2 für mäßige Expression und Stärkegrad 3 für starke Expression des Antigens.

Die so erhaltenen Werte wurden nun miteinander multipliziert und ergaben nach folgendem Schema die Einteilung in die endgültige Expressionsstärkeklasse.

Gefärbte Tumoranteile	keine	bis 5 %	5 – 20 %	20 - 70 %	über 70 %
	0	1	2	3	4
Stärkegrad 1	-	1	2	3	4
Stärkegrad 2	-	2	4	6	8
Stärkegrad 3	-	3	6	9	12

Tabelle 8: Berechnung der Expressionsstärke

Expressionsstärke	Expressionsstärkeklasse
0	negativ
1 - 4	schwach positiv
5 - 8	mäßig positiv
9 - 12	stark positiv

Tabelle 9: Einteilung in die Expressionsstärkeklassen

Zur Bestimmung der PCNA-Expression wurden mit Hilfe eines Spezialokulars je Präparat 1000 Zellkerne gezählt und der prozentuale Anteil positiv gefärbter Kerne bestimmt. Zur Beschreibung wurden verschiedene statistische Maße verwendet welche in Tabelle 17 und Tabelle 18 dargestellt sind.

4.6 Klinische Datenerhebung

Um verlässliche Daten über den Verlauf der Erkrankung jedes Patienten zu erhalten, wurde in jedem Fall die gesamte stationäre Krankenakte studiert, alle erhältlichen Ambulanzakten ausgewertet sowie mit den nachsorgenden Ärztinnen und Ärzten korrespondiert.

4.7 Datenverarbeitung

4.7.1 Datenerfassung

Der große Umfang der anfallenden Daten dieser Arbeit, insgesamt über 11.000 Einzeldaten, machte es notwendig, von vornherein sämtliche Daten strukturiert in Datensätzen zusammenzufassen. Dies sollte die spätere Auswertung erheblich erleichtern. Hierzu wurde eine eigene Datenbank mit dem Programm *Microsoft Access 97*[®] entworfen. Ziel war es, sämtliche Daten fallweise zu archivieren, um jederzeit auf einfachste Weise auf alle Daten zugreifen zu können.

Die folgende Abbildung zeigt die Eingabemaske der Datenbank.

The screenshot shows a Microsoft Access window titled 'TUMORDATENBANK RCC'. The interface is a data entry form with the following sections:

- Header:** 'TUMORDATENBANK RCC' and a 'Nummer:' field.
- Klinische Daten:** Fields for Name, Vorname, geboren, Alter, Erstdiagnose, Akte eingegeben, LifeStatus, am, and Nachbeobachtungszeit (Monate).
- Tumorpathologie:** Fields for JNummer, Block, Größe (cm), Primärtumor, Metastase, Histologie, pT, pN, M, V, Grading, Daten kontrolliert, Stadium, Punkte, and PG.
- Bemerkungen:** A large text area for notes.
- Auswertung:** A table for staining intensity and score:

	Färbeintensität:	Färbescore:
CD 44 h:	[Dropdown]	[0]
CD 44 v3:	[Dropdown]	[0]
CD 44 v6:	[Dropdown]	[0]
CD 44 v9:	[Dropdown]	[0]
E-Cadherin:	[Dropdown]	[0]
PCNA:	[Dropdown]	[0]

The status bar at the bottom indicates 'Datensatz: 316 von 316' and 'Formularansicht'.

Abbildung 19: Eingabemaske der Datenbank

Mit Hilfe dieser komfortablen Maske ließen sich sämtliche Befunde bequem in die Datenbank eingeben und verwalten.

4.7.2 Analyse und Statistik

Die so erfaßten Daten konnten nun bequem und ohne Informationsverlust in die Programme *Microsoft Excel 97*[®] sowie *SPSS 7.5.2 für Windows 95*[®] exportiert und mit Hilfe derer tabellenkalkulatorischen und statistischen Funktionen analysiert und ausgewertet werden.

Für die Berechnung signifikanter Zusammenhänge wurde der exakte Test nach Fisher verwendet, die Signifikanzen in der Betrachtung der progressionsfreien Überlebenszeiten wurden mittels Wilcoxon-Gehan-Statistik erstellt.

5 Ergebnisse

5.1 Histopathologische Untersuchungen

Die Verteilung der 189 primären Nierenzellkarzinome auf die drei Malignitätsgrade nach den WHO-Richtlinien ist wie folgt: Grad 1: n=10 (5,3%); Grad 2: n=124 (65,6%); Grad 3: n=55 (29,1%). Die Einteilung anhand der TNM-Klassifikation ergibt für das pT-Stadium: pT1: n=12 (6,3%); pT2: n=89 (47,1%); pT3: n=84 (44,5%); pT4: n=4 (2,1%), für das pN-Stadium: pN0: n=166 (87,8%); pN1: n=10 (5,3%); pN2: n=11 (5,8%); pN3: n=2 (1,1%), und für das M-Stadium: M0: n=143 (75,7%); M1: n=46 (24,3%). Die Klassifikation nach Robson erbrachte folgendes Bild: Stadium I: n=11 (5,8%); Stadium II: n=79 (41,8%); Stadium III: n=51 (27,0%); Stadium IV: n=48 (25,4%). Die nach Störkel vorgenommene Einteilung in verschiedene Prognosegruppen liefert folgendes Resultat: Prognosegruppe 1, gute Prognose: n=25 (13,2%); Prognosegruppe 2, mäßige Prognose: n=113 (59,8%); Prognosegruppe 3, schlechte Prognose: n=51 (27,0%). Die histomorphologische Zuteilung ergab für 198 Nierenzellkarzinome: hellzellig: n=162 (81,8%); chromophil: n=12 (6,1%); chromophob: n=8 (4,0%); spindelzellig-pleomorph: n=6 (3,0%); Ductus-Bellini-Ca: n=1 (0,5%) sowie 9 Onkozytome (4,5%).

Grading	Grad 1	Grad 2	Grad 3			
	10 (5,3%)	124 (65,6%)	55 (29,1%)			
pT-Stadium	pT1	pT2	pT3	pT4		
	12 (6,3%)	89 (47,1%)	84 (44,4%)	4 (2,1%)		
pN-Stadium	pN0	pN1	pN2	pN3		
	166 (87,8%)	10 (5,3%)	11 (5,8%)	2 (1,1%)		
M-Stadium	M0	M1				
	143 (75,7%)	46 (24,3%)				
Robson-Stadium	Stadium I	Stadium II	Stadium III	Stadium IV		
	11 (5,8%)	79 (41,8%)	51 (27 %)	48 (25,4%)		
Prognosegruppe	PG 1	PG 2	PG 3			
	25 (13,2%)	113 (59,8%)	51 (27%)			
Histologie	hellzellig	chromophil	chromophob	spindelzellig	Ductus-Bellini-Ca	Onkozytom
	162 (81,8%)	12 (6,1%)	8 (4,0%)	6 (3,0%)	1 (0,5%)	9 (4,5%)

Tabelle 10: Ergebnisse der histopathologischen Untersuchungen an 189 primären Nierenzellkarzinomen und 9 Onkozytomen

Die zwölf separat zu betrachtenden sekundären Metastasen verteilen sich auf das Malignitätsgrading exakt wie ihre zugehörigen Primärtumoren. 5 von 12 sind vom Grad 2, 7 von 12 vom Grad 3, keine Metastase gehört dem Grad 1 an. Die zehn primären Metastasen

sind vom Grading wie folgt: 3 von 10 entsprechen Grad 2, 7 von 10 primären Metastasen Grad 3, auch hier finden sich keine Metastasen vom Grad 1.

5.2 Immunhistochemische Untersuchungen

5.2.1 Überblick

Es wurden insgesamt 316 Tumorproben mit Hilfe der Alkalischen-Phosphatase-Anti-Alkalische-Phosphatase-Methode (APAAP-Methode) bezüglich der Expression von CD44-h, seiner Varianten CD44-v3, CD44-v6 und CD44-v9, sowie bezüglich der Expression von E-Cadherin und von PCNA getestet. Wie sich anhand der im Vergleich zur Anzahl der Patienten größeren Zahl der Tumorproben erkennen läßt, wurden von einigen Tumoren mehrere Regionen untersucht. Hierbei sollte die Expression in den Gebieten des Tumors bestimmt werden, in denen deutliche Invasivität wie Kapseldurchbruch oder Einbruch in das Nierenbecken vorlag. Während der mikroskopischen Auswertung stellte sich jedoch heraus, daß kein deutlicher Unterschied in der Expression der getesteten Antikörper in den verschiedenen Tumorregionen festzustellen war. Daher wurde im weiteren nicht näher darauf eingegangen. Letztlich fanden 198 primäre Nierentumoren (189 Nierenzellkarzinome und 9 Onkozytome) sowie 22 Metastasen, welche gesondert betrachtet werden sollen, Eingang in die Auswertung. CD44-h war in 125 von 198 Tumoren (63,1%) negativ, 73 Tumore (36,9%) gehörten zur Gruppe der schwach bis stark exprimierenden Fälle. 196 von 198 Tumoren (99,0%) exprimierten kein CD44-v3, ähnliches galt auch für CD44-v6. 193 von 198 Proben (97,5%) zeigten keine Expression. CD44-v9 wurde in 173 von 198 Fällen (87,4%) nicht exprimiert, nur 25 Tumoren (12,6%) zeigten eine schwache bis starke Reaktion. E-Cadherin war in 108 von 198 Tumoren (54,5%) nicht nachweisbar, immerhin 90 Tumoren (45,5%) konnten der Gruppe mit schwacher bis starker Expression zugeordnet werden. Die Verteilung der Nierentumore bezüglich ihrer PCNA-Expression wurde anhand des PCNA-Mittelwertes (13%) aller Fälle vorgenommen. Danach entfielen auf die Gruppe mit gleichviel oder weniger als 13% PCNA-positiver Tumorzellen 124 Tumoren (62,6%), mehr als 13% PCNA-positive Zellen fanden sich in 74 Proben (37,4%). Siehe Tabelle 11.

Antikörper	Negativ	schwach positiv	mäßig positiv	stark positiv
CD44-h	125 (63,1%)	35 (17,7%)	16 (8,1%)	22 (17,7%)
CD44-v3	196 (99,0%)	1 (0,5%)	1 (0,5%)	0 (0%)
CD44-v6	193 (97,5%)	4 (2,0%)	1 (0,5%)	0 (0%)
CD44-v9	173 (87,4%)	18 (9,1%)	3 (1,5%)	4 (2,0%)
E-Cadherin	108 (54,5%)	39 (19,7%)	31 (15,7%)	20 (10,1%)
	<=13%	>13%		
PCNA	124 (62,6%)	74 (37,4%)		

Tabelle 11: Ergebnisse der APAAP-Färbung von 189 primären Nierenzellkarzinomen und 9 Onkozytomen

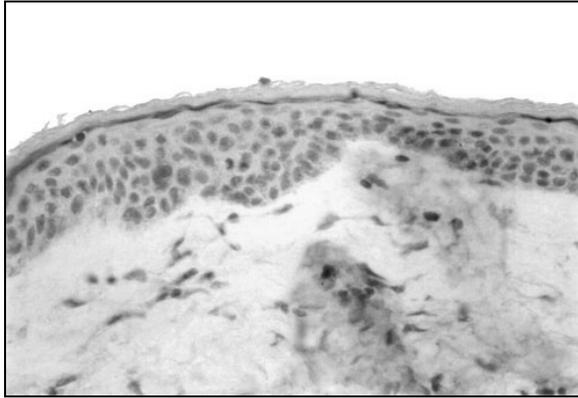


Abbildung 20: Negativkontrolle, Haut

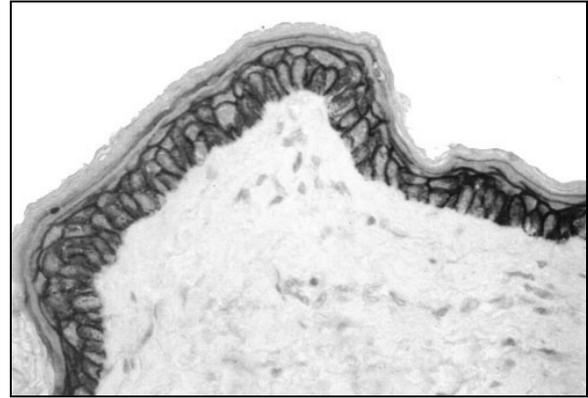


Abbildung 21: Positivkontrolle, Haut, CD44

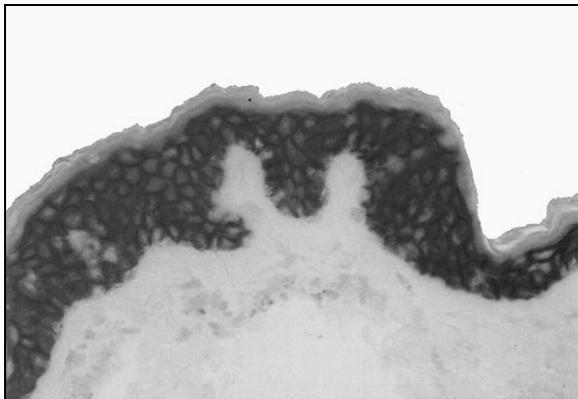


Abbildung 22: Positivkontrolle, Haut, E-Cadherin

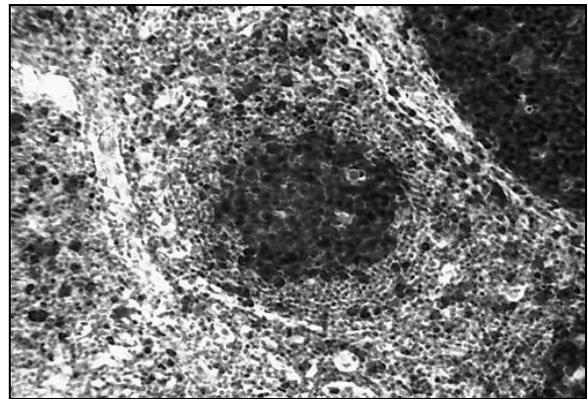


Abbildung 23: Positivkontrolle, Lymphknoten, PCNA

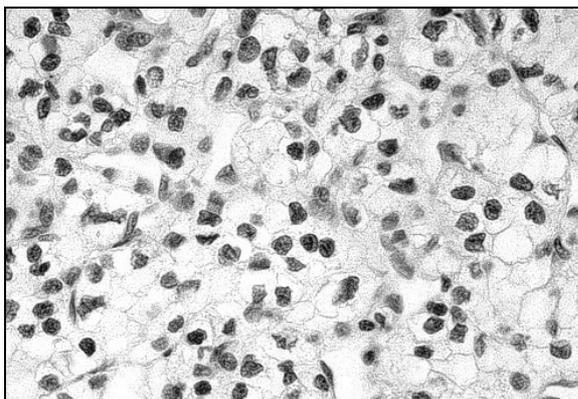


Abbildung 24: Fehlende Expression von CD44-h, Präparat-Nr. K 363/95 2, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung

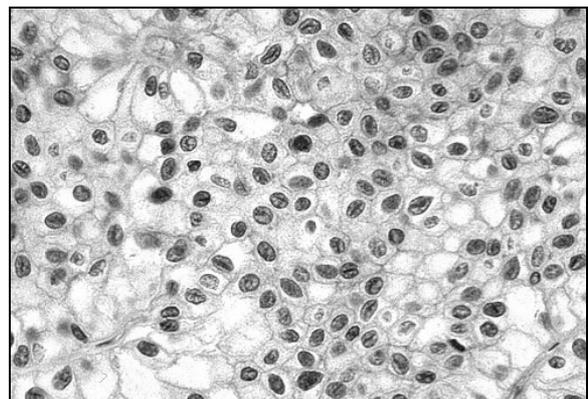


Abbildung 25: Schwache Expression von CD44-h, Präparat-Nr. K 9506734 1.2, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung

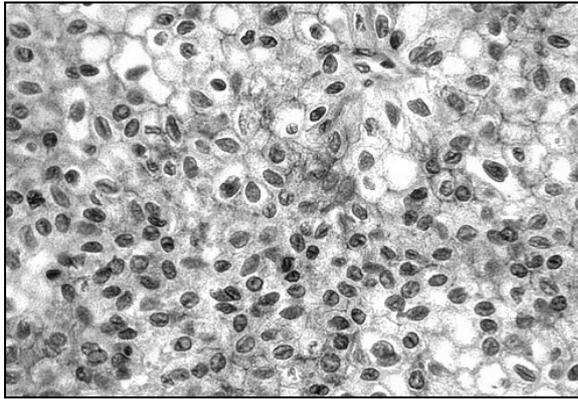


Abbildung 26: Mäßig starke Expression von CD44-h, Präparat-Nr. K 9506734 1.2, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung

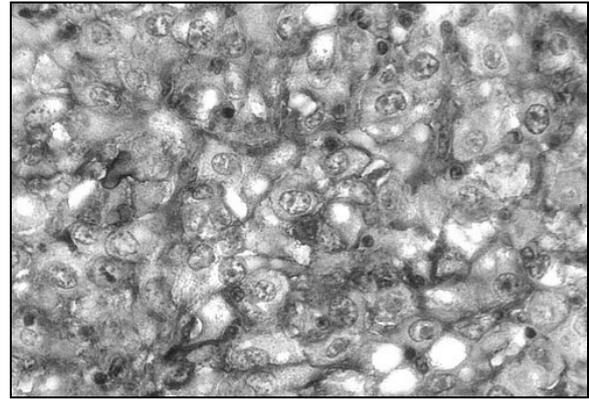


Abbildung 27: Starke Expression von CD44-h, Präparat-Nr. K 9509002 1.4, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung

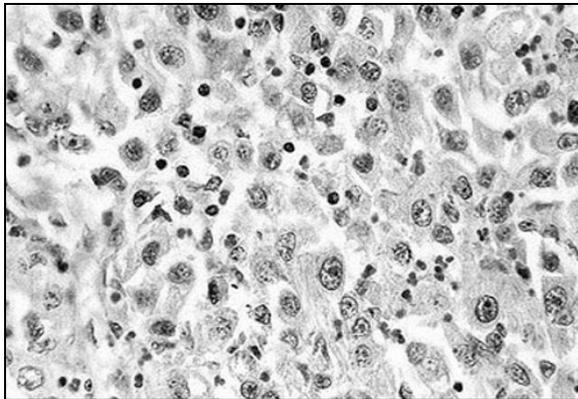


Abbildung 28: Fehlende Expression von E-Cadherin, Präparat-Nr. K 9509002, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung

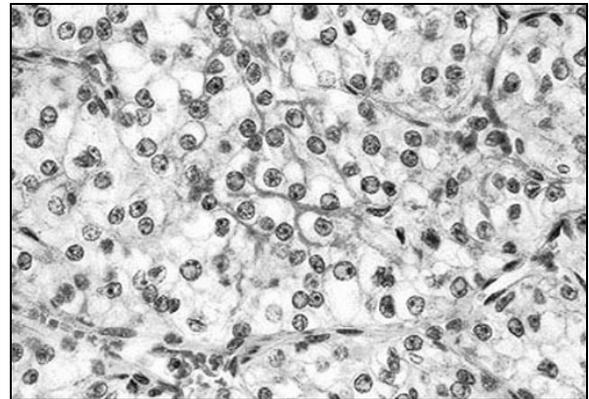


Abbildung 29: Schwache Expression von E-Cadherin, Präparat-Nr. K 6419/94, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung

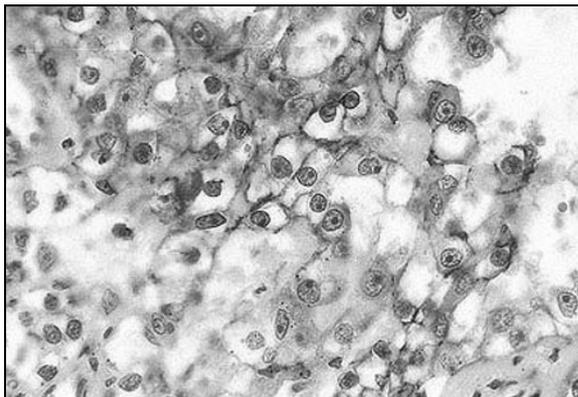


Abbildung 30: Mäßig starke Expression von E-Cadherin, Präparat-Nr. K 1551/95, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung

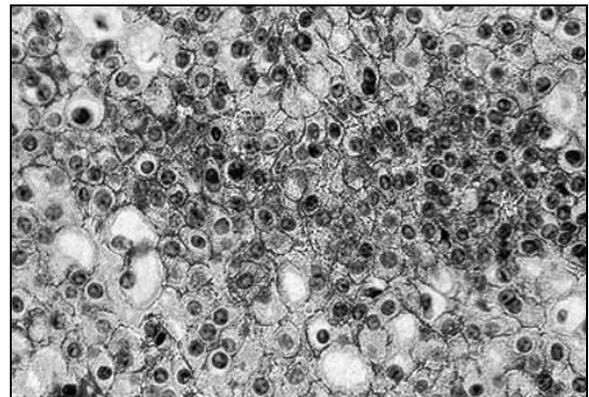


Abbildung 31: Starke Expression von E-Cadherin, Präparat-Nr. K 9506734, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung

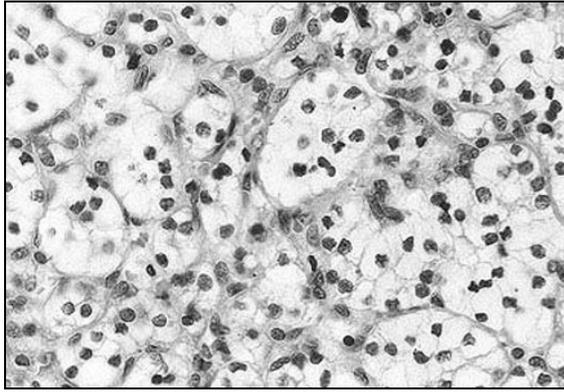


Abbildung 32: Unterdurchschnittliche Expression ($\leq 13\%$) von PCNA, Präparat-Nr. K 9507560, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung

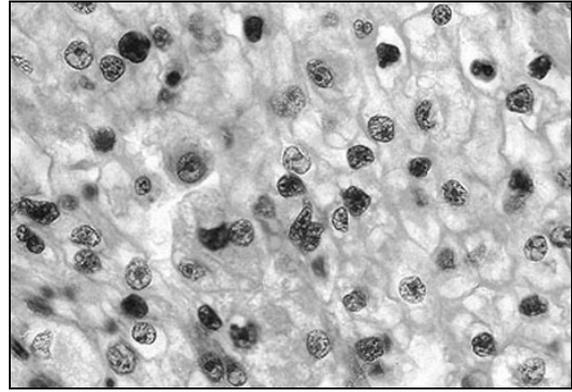


Abbildung 33: Überdurchschnittliche Expression ($> 13\%$) von PCNA, Präparat-Nr. K 2027/93, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung

5.2.2 Analyse von Histologie und Immunhistochemie

5.2.2.1 CD44-h

CD44-h war in 118 von 189 Nierenzellkarzinomen nicht nachweisbar (62,4%), von den restlichen 71 Karzinomen waren 33 schwach positiv (17,5%), 16 mäßig positiv (8,5%) und 22 stark positiv (11,6%). 7 von 9 Onkozytomen zeigten keine Expression von CD44-h, zwei Onkozytome färbten lediglich schwach positiv.

Nierenzellkarzinome des Grades 1 zeigten in 9 von 10 Fällen keine CD44-h-Expression, Karzinome des Grades 2 waren in 95 von 124 (76,6%) Fällen negativ, in 21 (16,9%) schwach positiv, in 5 (4,0%) mäßig positiv und in 3 (2,4%) Fällen stark positiv für CD44-h. Grad 3-Nierenzellkarzinome exprimierten in 14 von 55 (25,5%) Proben kein, in 12 Proben (21,8%) schwach, in 11 (20,0%) mäßig sowie in 18 (32,7%) Proben stark CD44-h. Insgesamt wurde deutlich, daß Nierenzellkarzinome vom Malignitätsgrad 3 in 41 von 55 (74,5%) Fällen eine schwache bis starke CD44-h-Expression zeigten, wohingegen Tumore des Grades 1 oder 2 in nur 30 von 134 (22,4%) Fällen CD44-h-exprimierten. Dieser Unterschied war signifikant auf einem Niveau von $p < 0,0001$.

10 von 12 Tumoren des Stadiums pT1 zeigten keine CD44-h-Expression, die beiden übrigen exprimierten nur schwach. Von 89 Tumoren des Stadiums pT2 waren 57 (64,0%) negativ für CD44-h, 16 (18,0%) schwach positiv, 7 (7,9%) mäßig und 9 (10,1%) stark positiv für CD44-h. 47 von 84 (56,0%) Tumore des Stadiums pT3 zeigten keine CD44-h-Expression, 15 (17,9%) waren schwach, 9 (10,7%) mäßig und 13 (15,5 %) stark positiv. Alle vier Tumore des Stadiums pT4 waren negativ bezüglich der Expression von CD44-h.

Die Verteilung der CD44-h-Expression nach dem pN-Stadium der TNM-Klassifikation ergab für das Stadium pN0 109 (65,7%) negative, 29 (17,5%) schwach positive, 13 (7,8%) mäßig positive und 15 (9,0%) stark positive Fälle. Das pN1-Stadium setzte sich zusammen aus 5 negativen, 1 schwach positiven und 2 mäßig bzw. stark positiven Fällen. Für das Stadium pN2 galt: 4 CD44-h-negative Tumoren, 2 schwach positive, 1 mäßig positiver sowie 4 stark positive Tumore. Die lediglich 2 Fälle des pN3-Stadiums waren CD44-h schwach resp. stark positiv.

Die Aufteilung nach dem Lymphknotenstatus ergab folgendes Bild: 109 von 166 (65,7%) Tumoren, welche zum Zeitpunkt der Diagnosestellung keine Lymphknotenmetastasen gesetzt hatten, zeigten auch keine Expression von CD44-h. Hingegen konnte in 14 von 23 (60,9%) Nierenzellkarzinomen mit Lymphknotenmetastasierung eine CD44-h-Expression nachgewiesen werden ($p < 0,01$).

Bezogen auf das M-Stadium galt: 100 Nierenzellkarzinome von insgesamt 143 Nierenzellkarzinomen (69,9%) ohne Fernmetastasierung zum Zeitpunkt der Diagnose zeigten keine Expression von CD44-h. In 28 von 46 (60,9%) Tumoren mit Fernmetastasen konnte eine CD44-h-Expression bestimmt werden. Dies bedeutete, Tumore mit einer Expression des Zelladhäsionsmoleküls CD44-h metastasierten signifikant ($p < 0,01$) häufiger als Tumore mit fehlender CD44-h-Expression.

10 von 11 Tumoren des Robson-Stadiums I zeigten keine CD44-h-Expression, ein Tumor exprimierte nur schwach. Von 79 Tumoren des Robson-Stadiums II waren 54 (68,4%) negativ für CD44-h, 14 (17,7%) schwach positiv, 6 (7,6%) mäßig und 5 (6,3%) stark positiv für CD44-h. 35 von 51 (68,6%) Tumoren des Robson-Stadiums III zeigten keine CD44-h-Expression, 7 (13,7%) waren schwach, 5 (9,8%) mäßig und 4 (7,8 %) stark positiv. Die 48 Tumore des Robson-Stadiums IV waren in 19 (39,6%) Fällen negativ, in 11 (22,9%) schwach positiv, in 5 (10,4%) mäßig stark und in 13 (27,1%) stark positiv für CD44-h.

Die Ergebnisse bezüglich der Einteilung in die Prognosegruppen nach Störkel gestalteten sich folgendermaßen: Innerhalb der Prognosegruppe 1 waren 18 von 25 (72,0%) der Tumore negativ, 3 (12,0%) schwach, 1 (4,0%) mäßig und 3 (12,0%) stark positiv für CD44-h. 82 von insgesamt 113 (72,6%) Fällen der Prognosegruppe 2 zeigten wiederum keine CD44-h-Expression, 20 (17,7%) zeigten eine schwache, 7 (6,2%) eine mäßige und 4 (3,5%) eine starke Expression des untersuchten Antigens. Die Prognosegruppe 3 setzte sich wie folgt zusammen: 18 von 51 (35,3%) der Nierenzellkarzinome waren CD44-h-negativ, 10 (19,6%) schwach positiv, 8 (15,7%) mäßig positiv und 15 (29,4%) stark CD44-h-positiv.

109 von 162 hellzelligen Nierenzellkarzinomen (67,3%) exprimierten kein CD44-h, 25 (15,4%) schwach und jeweils 14 (8,6%) mäßig respektive stark CD44-h. 7 von 12 chromophilen Tumoren waren CD44-h-negativ, 4 schwach und 1 stark positiv. 1 von 8 chromophoben Karzinomen zeigte keine CD44-h-Expression, 2 eine schwache, ebenfalls 2 eine mäßige sowie 3 eine starke Expression. 1 von 6 spindelzellig-pleomorphen Karzinomen

war negativ für CD44-h, 1 schwach positiv, die übrigen 4 stark positiv. Unter den gesondert betrachteten Onkozytomen waren 7 von 9 negativ, ebenso wie der eine Fall eines Ductus-Bellini-Karzinoms, die übrigen beiden Onkozytome nur schwach positiv für CD44-h (s. Tabelle 12).

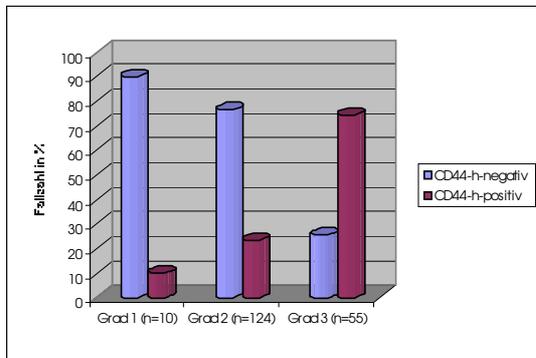


Abbildung 34: CD44-h-Expression in Beziehung zum Grading [1]

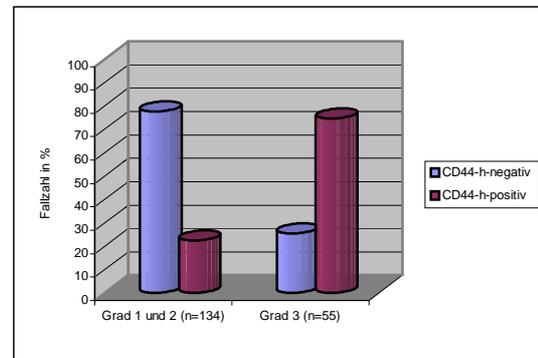


Abbildung 35: CD44-h-Expression in Beziehung zum Grading [2]

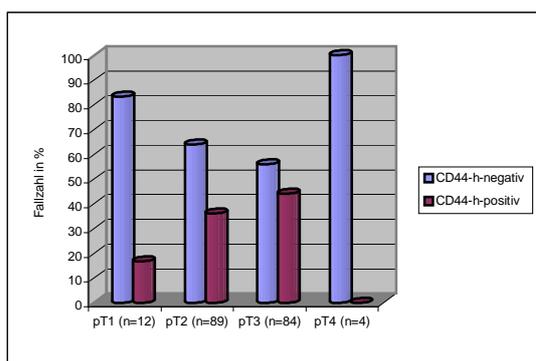


Abbildung 36: CD44-h-Expression in Beziehung zum pT-Stadium

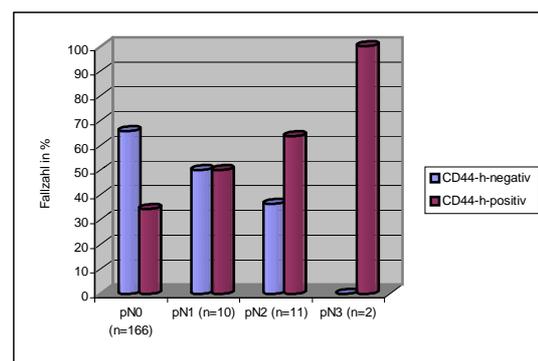


Abbildung 37: CD44-h-Expression in Beziehung zum pN-Stadium

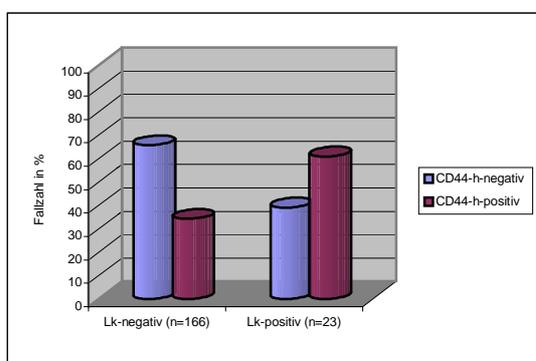


Abbildung 38: CD44-h-Expression in Beziehung zum Lk-Status

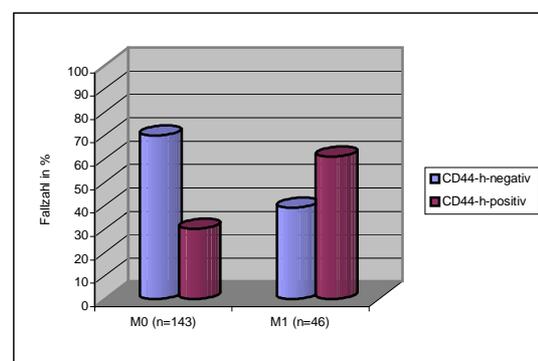


Abbildung 39: CD44-h-Expression in Beziehung zum M-Stadium

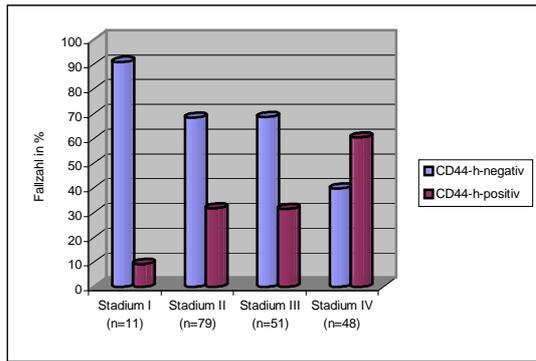


Abbildung 40: CD44-h-Expression in Beziehung zum Robson-Stadium

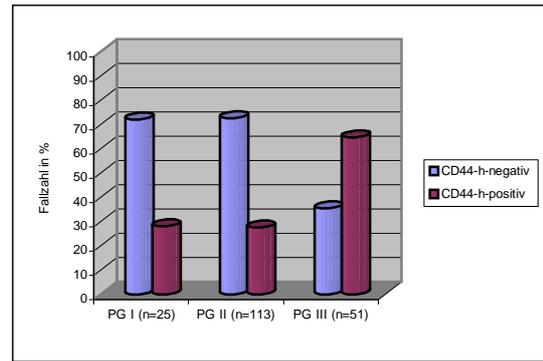


Abbildung 41: CD44-h-Expression in Beziehung zur Prognosegruppe nach Störkel

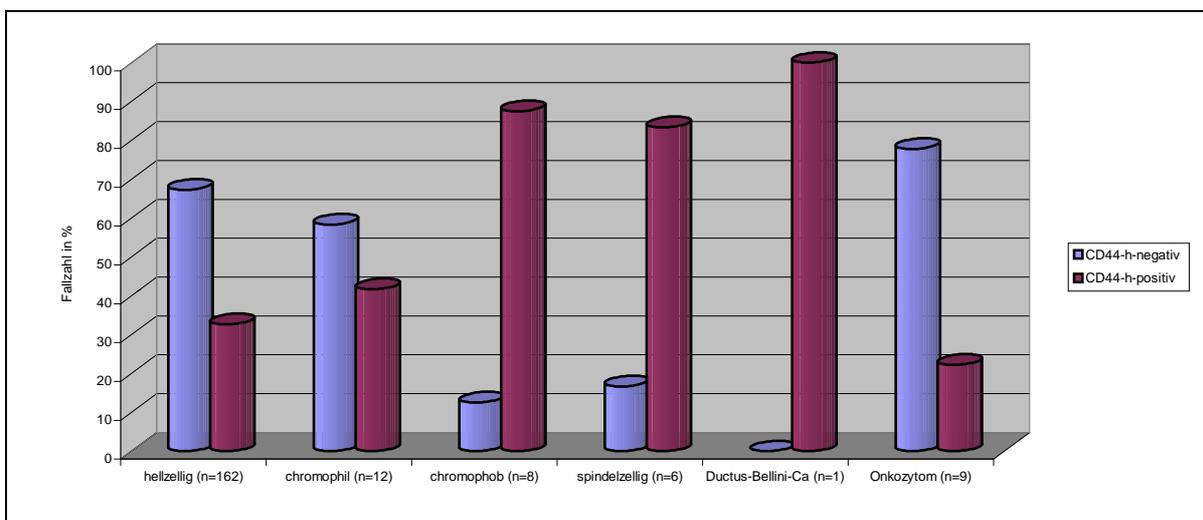


Abbildung 42: CD44-h-Expression in Beziehung zur Histologie

		Stärke der CD44-h-Expression				
		negativ	schwach positiv	mäßig positiv	stark positiv	gesamt
Grading	Grad 1	9 (90%)	0	0	1 (10%)	10
	Grad 2	95 (76,6%)	21 (16,9%)	5 (4,0%)	3 (2,4%)	124
	Grad 3	14 (25,5%)	12 (21,8%)	11 (20,0%)	18 (32,7%)	55
pT-Stadium	1	10 (83,3%)	2 (16,7%)	0	0	12
	2	57 (64,0%)	16 (18,0%)	7 (7,9%)	9 (10,1%)	89
	3	47 (56,0%)	15 (17,9%)	9 (10,7%)	13 (15,5%)	84
	4	4 (100,0%)	0	0	0	4
pN-Stadium	pN0	109 (65,7%)	29 (17,5%)	13 (7,8%)	15 (9,0%)	166
	pN1	5 (50,0%)	1 (10,0%)	2 (20,0%)	2 (20,0%)	10
	pN2	4 (36,4%)	2 (18,2%)	1 (9,1%)	4 (36,4%)	11
	pN3	0	1 (50,0%)	0	1 (50,0%)	2
Lk-Status	Lk-negativ	109 (65,7%)	29 (17,5%)	13 (7,8%)	15 (9,0%)	166
	Lk-positiv	9 (39,1%)	4 (17,4%)	3 (13,0%)	7 (30,4%)	23
M-Stadium	M0	100 (69,9%)	22 (15,4%)	12 (8,4%)	9 (6,3%)	143
	M1	18 (39,1%)	11 (23,9%)	4 (8,7%)	13 (28,3%)	46
Robson-Stadium	Stadium I	10 (90,9%)	1 (9,1%)	0	0	11
	Stadium II	54 (68,4%)	14 (17,7%)	6 (7,6%)	5 (6,3%)	79
	Stadium III	35 (68,6%)	7 (13,7%)	5 (9,8%)	4 (7,8%)	51
	Stadium IV	19 (39,6%)	11 (22,9%)	5 (10,4%)	13 (27,1%)	48
Prognosegruppe	Prognosegruppe 1	18 (72,0%)	3 (12,0%)	1 (4,0%)	3 (12,0%)	25
	Prognosegruppe 2	82 (72,6%)	20 (17,7%)	7 (6,2%)	4 (3,5%)	113
	Prognosegruppe 3	18 (35,3%)	10 (19,6%)	8 (15,7%)	15 (29,4%)	51
Histologie	hellzellig	109 (67,3%)	25 (15,4%)	14 (8,6%)	14 (8,6%)	162
	chromophil	7 (58,3%)	4 (33,3%)	0	1 (8,3%)	12
	chromophob	1 (12,5%)	2 (25,0%)	2 (25,0%)	3 (37,5%)	8
	spindelzellig	1 (16,7%)	1 (16,7%)	0	4 (66,7%)	6
	Ductus-Bellini-Ca	0	1 (100,0%)	0	0	1
	Onkozytom	7 (77,8%)	2 (22,2%)	0	0	9

Tabelle 12: Ergebnisse der CD44-h-Expression

5.2.2.2 CD44-v3

Von den 189 Nierenzellkarzinomen, welche auf das Vorhandensein des Antigens CD44-v3 untersucht wurden, waren 187 (98,9%) negativ, 1 Tumor schwach, sowie ebenfalls 1 Tumor mäßig positiv. Kein Tumor zeigte eine starke Positivität für CD44-v3. Am Material sämtlicher Onkozytome (n=9) ließ sich ebenfalls kein CD44-v3 nachweisen. Aufgrund der mangelnden Expression dieses Antigens entsprach die Verteilung der Färbeergebnisse nach den Parametern Grading, TNM-Klassifikation, Robson-Stadium, Prognosegruppe und Histologie nahezu derjenigen, welche an den üblichen Hämatoxylin-Eosin-gefärbten Präparaten erhoben wurde (s. Tabelle 13).

		Stärke der CD44-v3-Expression				gesamt
		negativ	schwach positiv	mäßig positiv	stark positiv	
Grading	Grad 1	10 (100,0%)	0	0	0	10
	Grad 2	124 (100,0%)	0	0	0	124
	Grad 3	53 (96,4%)	1 (1,8%)	1 (1,8%)	0	55
pT-Stadium	1	12 (100,0%)	0	0	0	12
	2	88 (98,9%)	0	1 (1,1%)	0	89
	3	83 (98,8%)	1 (1,2%)	0	0	84
	4	4 (100,0%)	0	0	0	4
pN-Stadium	pN0	164 (98,8%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)	0	166
	pN1	10 (100,0%)	0	0	0	10
	pN2	11 (100,0%)	0	0	0	11
	pN3	2 (100,0%)	0	0	0	2
Lk-Status	Lk-negativ	164 (98,8%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)	0	166
	Lk-positiv	23 (100,0%)	0	0	0	23
M-Stadium	M0	142 (99,3%)	1 (0,7%)	0	0	143
	M1	45 (97,8%)	0	1 (2,2%)	0	46
Robson-Stadium	Stadium I	11 (100,0%)	0	0	0	11
	Stadium II	79 (100,0%)	0	0	0	79
	Stadium III	50 (98,0%)	1 (2,0%)	0	0	51
	Stadium IV	47 (97,9%)	0	1 (2,1%)	0	48
Prognosegruppe	Prognosegruppe 1	25 (100,0%)	0	0	0	25
	Prognosegruppe 2	112 (99,1%)	1 (,9%)	0	0	113
	Prognosegruppe 3	50 (98,0%)	0	1 (2,0%)	0	51
Histologie	hellzellig	160 (98,8%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)	0	162
	chromophil	12 (100,0%)	0	0	0	12
	chromophob	8 (100,0%)	0	0	0	8
	spindelzellig	6 (100,0%)	0	0	0	6
	Ductus-Bellini-Ca	1 (100,0%)	0	0	0	1
	Onkozytom	9 (100,0%)	0	0	0	9

Tabelle 13: Ergebnisse der CD44-v3-Expression

5.2.2.3 CD44-v6

Ähnlich den Ergebnissen der CD44-v3-Färbung verhielt es sich auch mit den Resultaten der Untersuchungen auf CD44-v6. 184 von 189 Nierenzellkarzinomen (97,4%) waren negativ, 4 schwach positiv und 1 Tumor zeigte mäßige Positivität für CD44-v6. Auch hier konnte an keinem Tumor eine starke Expression festgestellt werden. Alle 9 Onkozytome zeigten keine Expression von CD44-v6. Ebenso entsprach auch hier wegen des großen Anteils von 97,4% negativer Fälle das Färberesultat nahezu der histopathologischen Einteilung und klinischen Stadienbestimmung (s. Tabelle 14)

		Stärke der CD44-v6-Expression				gesamt
		negativ	schwach positiv	mäßig positiv	stark positiv	
Grading	Grad 1	10 (100,0%)	0	0	0	10
	Grad 2	123 (99,2%)	1 (0,8%)	0	0	124
	Grad 3	51 (92,7%)	3 (5,5%)	1 (1,8%)	0	55
pT-Stadium	1	12 (100,0%)	0	0	0	12
	2	86 (96,6%)	2 (2,2%)	1 (1,1%)	0	89
	3	82 (97,6%)	2 (2,4%)	0	0	84
	4	4 (100,0%)	0	0	0	4
pN-Stadium	pN0	163 (98,2%)	2 (1,2%)	1 (0,6%)	0	166
	pN1	9 (90,0%)	1 (10,0%)	0	0	10
	pN2	10 (90,9%)	1 (9,1%)	0	0	11
	pN3	2 (100,0%)	0	0	0	2
Lk-Status	Lk-negativ	163 (98,2%)	2 (1,2%)	1 (0,6%)	0	166
	Lk-positiv	21 (91,3%)	2 (8,7%)	0	0	23
M-Stadium	M0	142 (99,3%)	1 (0,7%)	0	0	143
	M1	42 (91,3%)	3 (6,5%)	1 (2,2%)	0	46
Robson-Stadium	Stadium I	11 (100,0%)	0	0	0	11
	Stadium II	78 (98,7%)	1 (1,3%)	0	0	79
	Stadium III	51 (100,0%)	0	0	0	51
	Stadium IV	44 (91,7%)	3 (6,3%)	1 (2,1%)	0	48
Prognosegruppe	Prognosegruppe 1	25 (100,0%)	0	0	0	25
	Prognosegruppe 2	112 (99,1%)	1 (0,9%)	0	0	113
	Prognosegruppe 3	47 (92,2%)	3 (5,9%)	1 (2,0%)	0	51
Histologie	hellzellig	157 (96,6%)	4 (2,5%)	1 (0,6%)	0	162
	chromophil	12 (100,0%)	0	0	0	12
	chromophob	8 (100,0%)	0	0	0	8
	spindelzellig	6 (100,0%)	0	0	0	6
	Ductus-Bellini-Ca	1 (100,0%)	0	0	0	1
	Onkozytom	9 (100,0%)	0	0	0	9

Tabelle 14: Ergebnisse der CD44-v6-Expression

5.2.2.4 CD44-v9

Die Untersuchungen auf CD44-v9 ergaben folgende Verteilung: 166 von 189 Tumoren (87,8%) waren negativ, 16 schwach positiv (8,5%), 3 mäßig positiv (1,6%) und 4 stark positiv (2,1%). 7 von 9 Onkozytomen waren ohne CD44-v9-Expression, 2 zeigten eine schwache Expression. Auch hier schien es aus den vorgenannten Gründen nicht sinnvoll, verschiedene Expressionsstärkeklassen zusammenzuziehen und zu vergleichen (s. Tabelle 15).

		Stärke der CD44-v9-Expression				
		negativ	schwach positiv	mäßig positiv	stark positiv	gesamt
Grading	Grad 1	9 (90,0%)	0	1 (10,0%)	0	10
	Grad 2	113 (91,1%)	10 (8,1%)	0	1 (0,8%)	124
	Grad 3	44 (80,0%)	6 (10,9%)	2 (3,6%)	3 (5,5%)	55
pT-Stadium	1	11 (91,7%)	1 (8,3%)	0	0	12
	2	79 (88,8%)	7 (7,9%)	1 (1,1%)	2 (2,2%)	89
	3	72 (85,7%)	8 (9,5%)	2 (2,4%)	2 (2,4%)	84
	4	4 (100,0%)	0	0	0	4
pN-Stadium	pN0	148 (89,2%)	12 (7,2%)	3 (1,8%)	3 (1,8%)	166
	pN1	8 (80,0%)	2 (20,0%)	0	0	10
	pN2	9 (90,0%)	1 (10,0%)	0	1 (10,0%)	11
	pN3	1 (50,0%)	1 (50,0%)	0	0	2
Lk-Status	Lk-negativ	148 (89,2%)	12 (7,2%)	3 (1,8%)	3 (1,8%)	166
	Lk-positiv	18 (78,3%)	4 (17,4%)	0	1 (4,3%)	23
M-Stadium	M0	127 (88,8%)	12 (8,4%)	2 (1,4%)	2 (1,4%)	143
	M1	39 (84,8%)	4 (8,7%)	1 (2,2%)	2 (4,3%)	46
Robson-Stadium	Stadium I	10 (90,1%)	1 (9,1%)	0	0	11
	Stadium II	70 (88,6%)	7 (8,9%)	1 (1,3%)	1 (1,3%)	79
	Stadium III	45 (88,2%)	4 (7,8%)	1 (2,0%)	1 (2,0%)	51
	Stadium IV	41 (85,4%)	4 (8,3%)	1 (2,1%)	2 (4,2%)	48
Prognosegruppe	Prognosegruppe 1	20 (80,0%)	3 (12,0%)	1 (4,0%)	1 (4,0%)	25
	Prognosegruppe 2	104 (92,0%)	7 (6,2%)	1 (0,9%)	1 (0,9%)	113
	Prognosegruppe 3	42 (82,4%)	6 (11,8%)	1 (2,0%)	2 (3,9%)	51
Histologie	hellzellig	147 (90,7%)	10 (6,2%)	2 (1,2%)	3 (1,9%)	162
	chromophil	11 (91,7%)	1 (8,3%)	0	0	12
	chromophob	2 (25,0%)	4 (50,0%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)	8
	spindelzellig	5 (83,3%)	1 (16,7%)	0	0	6
	Ductus-Bellini-Ca	1 (100,0%)	0	0	0	1
	Onkozytom	7 (77,8%)	2 (22,2%)	0	0	9

Tabelle 15: Ergebnisse der CD44-v9-Expression

5.2.2.5 *E-Cadherin*

E-Cadherin war in 107 von 189 Proben von Nierenzellkarzinomen (56,6%) negativ, 39 Proben waren schwach positiv (20,6%), 28 mäßig positiv (14,8%) und 15 stark positiv (7,9%). In der Gruppe der Onkozytome war nur 1 von 9 Onkozytomen negativ, hingegen 8 von 9 mäßig oder stark positiv.

Grad 1-Nierenzellkarzinome waren in 7 von 10 Fällen negativ für E-Cadherin, Grad 2-Karzinome in 64 von 124 Fällen (51,6%), Grad 3-Tumoren in 36 von 55 Proben (65,5%). 1 Grad 1-Tumor exprimierte schwach, 2 Tumoren stark E-Cadherin. Die 60 Fälle von Grad 2-Karzinomen, welche E-Cadherin exprimierten, waren in 28 Fällen (22,6%) schwach positiv, in 22 Fällen (17,7%) mäßig stark positiv sowie in 10 Fällen (8,1%) stark positiv.

Tumore des Stadiums pT1 zeigten in 11 von 12 Fällen keine E-Cadherin-Expression, 1 Tumor färbte mäßig stark positiv. pT2-Tumoren waren in 49 von 89 Fällen (55,1%) negativ bzgl. E-Cadherin, 19 Fälle (21,3%) schwach, 12 (13,5%) mäßig und 9 (10,1%) Fälle stark positiv. pT3-Karzinome zeigten in gut der Hälfte der Proben (44 von 84, 52,4%) keine E-Cadherin-Expression, die übrigen exprimierten schwach in 20 (23,8%), mäßig in 15 (17,9%) sowie stark in 5 (6,0%) Fällen. 3 von 4 pT4-Tumoren waren negativ, 1 Tumor stark positiv für E-Cadherin.

Die Verteilung der E-Cadherin-Expression nach dem pN-Stadium der TNM-Klassifikation erbrachte folgendes Bild: Stadium pN0 90 von 166 (54,2%) negativ, 35 (21,1%) schwach, 26 (15,7%) mäßig stark und 15 (9,0%) stark E-Cadherin positiv. 10 Tumoren des pN1-Stadiums waren in 9 Fällen negativ, 11 Tumoren des Stadiums pN2 in 6 Fällen ohne Expression, 3 weitere waren schwach und 2 mäßig stark positiv. Beide Tumoren des pN3-Stadiums exprimierten kein E-Cadherin.

Gut die Hälfte der Nierenzellkarzinome (90 von 166, 54,2%), welche zum Zeitpunkt der Diagnosestellung noch nicht metastasiert hatten, zeigten auch keine E-Cadherin-Expression. Hingegen konnte in nahezu 3 von 4 Fällen (73,9%) mit Lk-Metastasierung E-Cadherin nicht nachgewiesen werden.

Bezogen auf das M-Stadium galt: 73 von 143 Tumoren (51,0%) des Stadiums M0 zeigten keine E-Cadherin-Expression, hingegen konnte nur in 12 von 46 Fällen (26,1%) der bereits fernmetastasierten Tumore E-Cadherin nachgewiesen werden. Dieser Unterschied in der E-Cadherin-Expression von Tumoren unterschiedlichen M-Stadiums war signifikant auf einem Niveau von $p < 0,001$.

11 Tumore des Robson-Stadiums I waren in 10 Proben negativ bzgl. E-Cadherin, 41 von 79 Stadium II-Karzinome ebenfalls, die übrigen waren in 22,8% schwach, in 13,9% mäßig stark und in 11,4% stark positiv für E-Cadherin. Nierenzellkarzinome des Robson-Stadiums III exprimierten in 43,1% der Fälle kein, in 29,4% nur schwach, in 17,6% mäßig stark sowie in 9,8% stark positiv E-Cadherin. Die 48 Tumoren des Robson-Stadiums IV waren in 34 Fällen (70,8%) negativ, in 6 Proben (12,5%) schwach positiv, in 7 Proben (14,6%) mäßig stark sowie in 1 Fall (2,1%) stark positiv für E-Cadherin.

Die Ergebnisse bezüglich der Einteilung in die Prognosegruppen nach Störkel gestalteten sich folgendermaßen: 16 von 25 Fällen (64,0%) der Prognosegruppe 1 waren E-Cadherin negativ, 7 von 25 (28,0%) stark positiv. In 56 von 113 Tumoren (49,6%) der Prognosegruppe 2 sowie in 35 von 51 Tumoren (68,6%) der Prognosegruppe 3 konnte keine E-Cadherin-Expression nachgewiesen werden.

95 von 162 hellzelligen Nierenzellkarzinomen (58,6%) exprimierten kein E-Cadherin, 6 von 12 chromophilen Tumoren ebenso. 7 von 8 chromophoben Nierenzellkarzinome färbten sich stark positiv, hingegen zeigten 5 von 6 spindelzellig-pleomorphen Karzinome keine Positivität für E-Cadherin. Unter den gesondert betrachteten Onkozytomen waren 8 von 9 mäßig bzw. stark positiv, der eine Fall eines Ductus-Bellini-Karzinoms zeigte keine Expression von E-Cadherin (s. Tabelle 16).

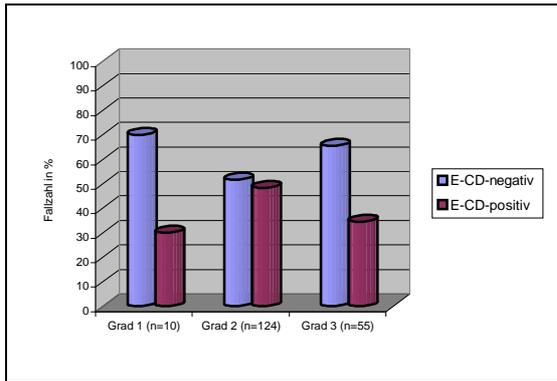


Abbildung 43: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum Grading [1]

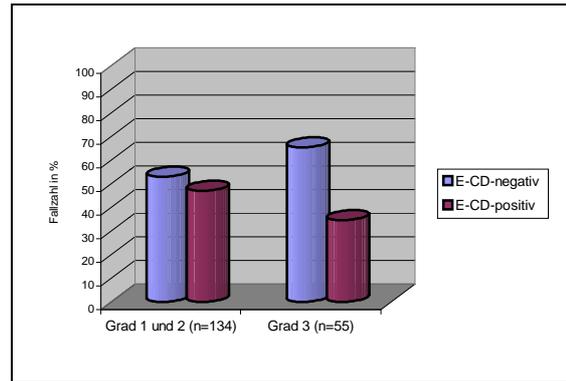


Abbildung 44: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum Grading [2]

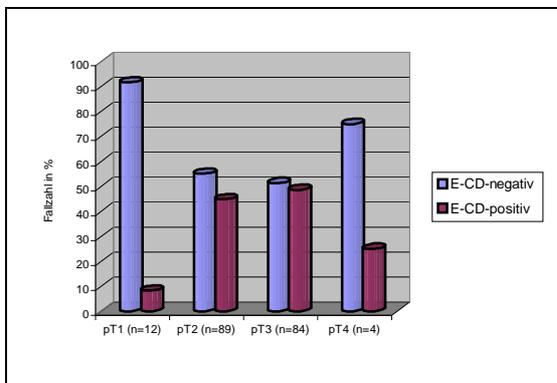


Abbildung 45: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum pT-Stadium

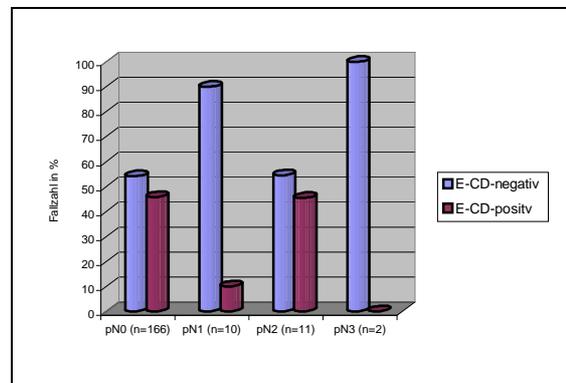


Abbildung 46: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum pN-Stadium

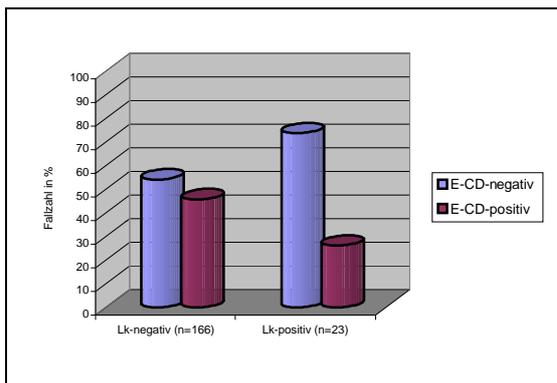


Abbildung 47: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum Lk-Status

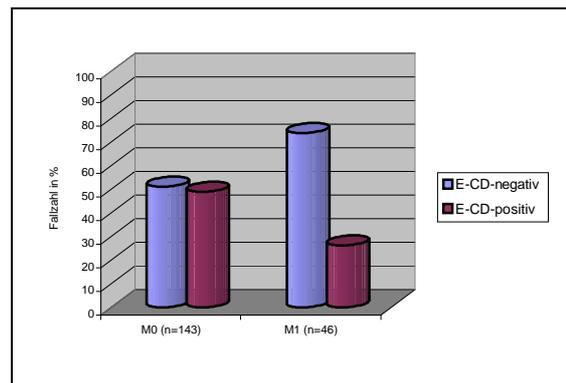


Abbildung 48: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum M-Stadium

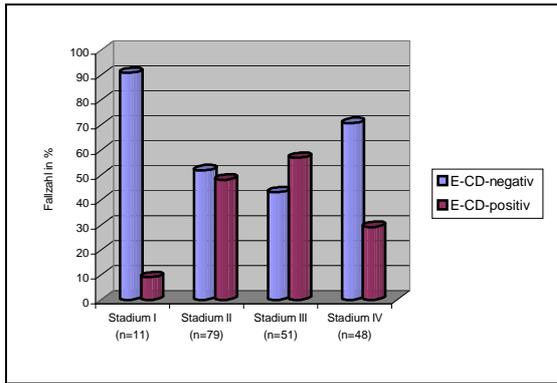


Abbildung 49: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum Robson-Stadium

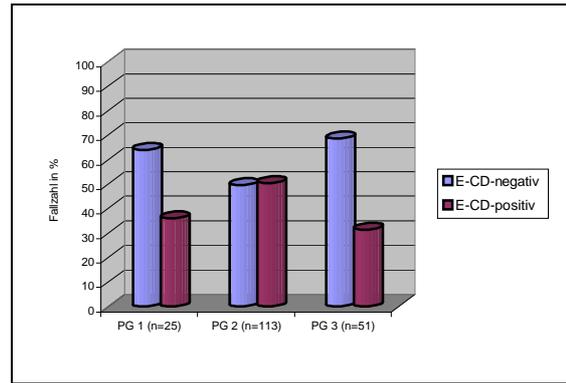


Abbildung 50: E-Cadherin-Expression in Beziehung zur Prognosegruppe nach Störkel

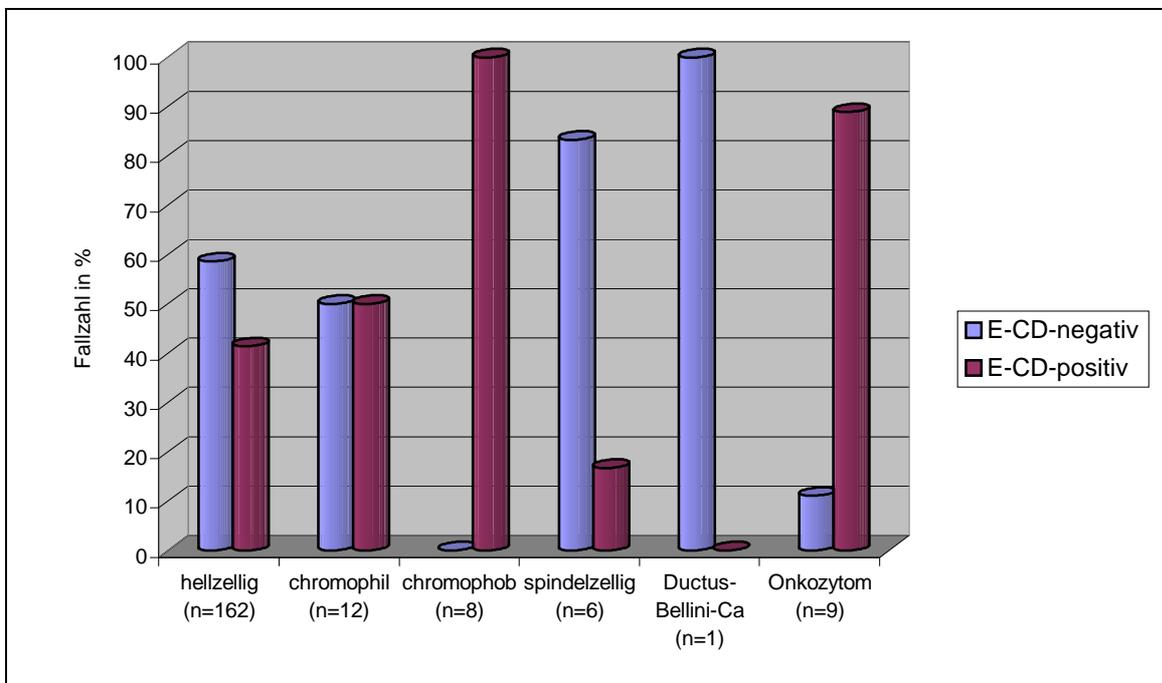


Abbildung 51: E-Cadherin-Expression in Beziehung zur Histologie

		Stärke der E-Cadherin-Expression				
		negativ	schwach positiv	mäßig positiv	stark positiv	gesamt
Grading	Grad 1	7 (70%)	1 (10,0%)	0	2 (20%)	10
	Grad 2	64 (51,6%)	28 (22,6%)	22 (17,7%)	10 (8,1%)	124
	Grad 3	36 (65,5%)	10 (18,2%)	6 (10,9%)	3 (5,5%)	55
pT-Stadium	1	11 (91,7%)	0	1 (8,3%)	0	12
	2	49 (55,1%)	19 (21,3%)	12 (13,5%)	9 (10,1%)	89
	3	44 (52,4%)	20 (23,8%)	15 (17,9%)	5 (6,0%)	84
	4	3 (75,0%)	0	0	1 (25,0%)	4
pN-Stadium	pN0	90 (54,2%)	35 (21,1%)	26 (15,7%)	15 (9,0%)	166
	pN1	9 (90,0%)	1 (10,0%)	0	0	10
	pN2	6 (54,5%)	3 (27,3%)	2 (18,2%)	0	11
	pN3	2 (100,0%)	0	0	0	2
Lk-Status	Lk-negativ	90 (54,2%)	35 (21,1%)	26 (15,7%)	15 (9,0%)	166
	Lk-positiv	17 (73,9%)	4 (17,4%)	2 (8,7%)	0	23
M-Stadium	M0	73 (51,0%)	34 (23,8%)	22 (15,4%)	14 (9,8%)	143
	M1	34 (73,9%)	5 (10,9%)	6 (13,0%)	1 (2,2%)	46
Robson-Stadium	Stadium I	10 (90,9%)	0	1 (9,1%)	0	11
	Stadium II	41 (51,9%)	18 (22,8%)	11 (13,9%)	9 (11,4%)	79
	Stadium III	22 (43,1%)	15 (29,4%)	9 (17,6%)	5 (9,8%)	51
	Stadium IV	34 (70,8%)	6 (12,5%)	7 (14,6%)	1 (2,1%)	48
Prognosegruppe	Prognosegruppe 1	16 (64,0%)	2 (8,0%)	0	7 (28,0%)	25
	Prognosegruppe 2	56 (49,6%)	29 (25,7%)	22 (19,5%)	6 (5,3%)	113
	Prognosegruppe 3	35 (68,6%)	8 (15,7%)	6 (11,8%)	2 (3,9%)	51
Histologie	hellzellig	95 (58,6%)	36 (22,2%)	25 (15,4%)	6 (3,7%)	162
	chromophil	6 (50,0%)	2 (16,7%)	2 (16,7%)	2 (16,7%)	12
	chromophob	0	0	1 (12,5%)	7 (87,5%)	8
	spindelzellig	5 (83,3%)	1 (16,7%)	0	0	6
	Ductus-Bellini-Ca	1 (100,0%)	0	0	0	1
	Onkozytom	1 (11,1%)	0	3 (33,3%)	5 (55,6%)	9

Tabelle 16: Ergebnisse der E-Cadherin-Expression

5.2.2.6 PCNA

Der als PCNA-Index angegebene Wert entspricht dem prozentualen Anteil PCNA-positiver Zellen an der untersuchten Tumormasse.

Die Verteilung nach dem Grading war wie folgt: Grad 1-Tumore hatten einen PCNA-Index zwischen 0% und 24% mit einem Mittelwert von 4,8%. Grad 2-Tumoren exprimierten PCNA zwischen 0% und 40% der Tumormasse bei einem mittleren Wert von 9,9%. Tumoren vom Malignitätsgrad 3 zeigten PCNA-Positivität zwischen 0% und 72% der Zellen und einem Mittelwert von 22,7%. Der Mittelwertvergleich ergab eine Signifikanz von $p < 0,001$.

Bezogen auf das pT-Stadium der TNM-Klassifikation exprimierten pT1-Tumore PCNA zwischen 2% und 20%, pT2-Tumoren zwischen 0% und 66%, pT3-Tumoren zwischen 0% und 72% und pT4-Tumoren zwischen 1% und 22% der Tumormasse. Die Mittelwerte dieser Gruppen lagen bei 8,8% für pT1, 11,7% für pT2, 15,7% für pT3 und 14% für das Stadium pT4, wobei bei letzterem sicher die geringe Anzahl von nur 4 Tumoren in dieser Gruppe keinen aussagekräftigen Vergleich zuließ. Gleichfalls war dieses Ergebnis mit $p \gg 0,05$ nicht signifikant.

Tumore, welche zum Zeitpunkt der Diagnose noch keine Lymphknotenmetastasen gesetzt hatten, hatten PCNA-Indizes zwischen 0% und 72% mit einem Mittelwert von 12,3%, bereits lymphogen metastasierte Tumoren bewegten sich im Bereich von 0% bis 66% mit einem mittleren PCNA-Index von 20,9% ($p=0,005$).

Ein ähnliches Ergebnis galt für Tumore, welche zum Zeitpunkt der Diagnose schon fernmetastasiert waren. M0-Tumore exprimierten PCNA in einem Bereich zwischen 0% und 55% der Tumormasse, Mittelwert 10,8%, M1-Tumoren hingegen bewegten sich zwischen 0% und 72% PCNA-Index mit einem mittleren Wert von 21,4%. Die Differenz der Mittelwerte zwischen den beiden Gruppen war signifikant ($p < 0,001$).

Die Stadieneinteilung nach Robson ergab für das Stadium I Expressionswerte zwischen 2% und 20%, für die übrigen Stadien II-IV bewegten sich die Werte zwischen 0% bis 55%, respektive 52% und 72%. Die Mittelwerte der Stadien I bis IV lagen bei 8,9% für das Stadium

I, 10,3% für das Stadium II, 11,7% für das Stadium III und 21% für das Stadium IV. Dieser Unterschied war ebenfalls signifikant auf einem Niveau von $p < 0,001$.

Die Verteilung der PCNA-Indizes auf die Prognosegruppen nach Störkel ergab für die Gruppe mit guter Prognose (Prognosegruppe 1) PCNA-Expressionswerte zwischen 0% und 33%, für die Gruppe mit mäßiger Prognose (Prognosegruppe 2) Werte zwischen 0% und 55% und für die Gruppe mit schlechter Prognose (Prognosegruppe 3) PCNA-Indizes zwischen 0% und 72%. Die Mittelwerte für die Prognosegruppen 1, 2 und 3 beliefen sich auf 8,8%, 11,2% bzw. 20,3% ($p < 0,001$).

Für die hellzelligen Nierenzellkarzinome ergaben sich Werte zwischen 0% und 66%, der Mittelwert betrug 13%, die chromophilen Tumoren exprimierten PCNA in einem Bereich zwischen 0% und 40% bei einem mittleren Wert von 13,4%. Der PCNA-Index chromophober Karzinome lag zwischen 2% und 33%, ihr Mittelwert belief sich auf 11%. Die spindelzellig-pleomorphen Nierenzellkarzinome exprimierten PCNA in einem Bereich von 2% bis 72% der Tumormasse, wobei der Mittelwert 24,2% betrug. Die 9 Onkozytome bewegten sich im Bereich zwischen 1% und 47% Expression, der mittlere Wert ist 20,2%. Der eine Fall eines Ductus-Bellini-Karzinoms exprimierte in 20% aller Tumorzellen PCNA (s. Tabelle 17 und Tabelle 18).

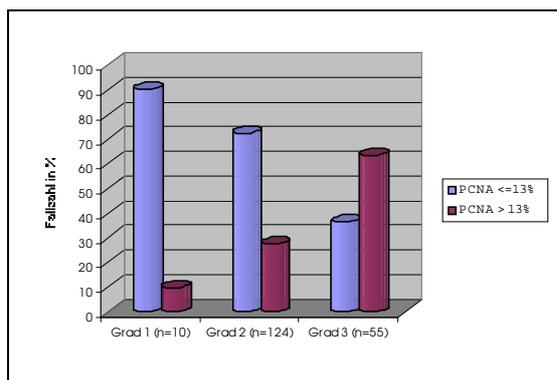


Abbildung 52: PCNA-Expression in Beziehung zum Grading [1]

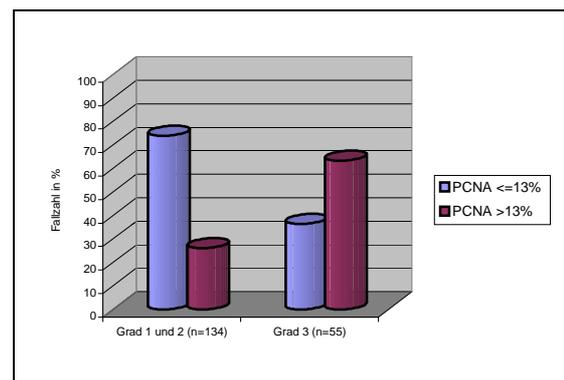


Abbildung 53: PCNA-Expression in Beziehung zum Grading [2]

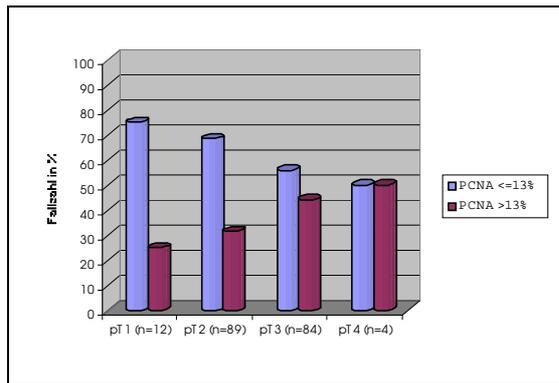


Abbildung 54: PCNA-Expression in Beziehung zum pT-Stadium

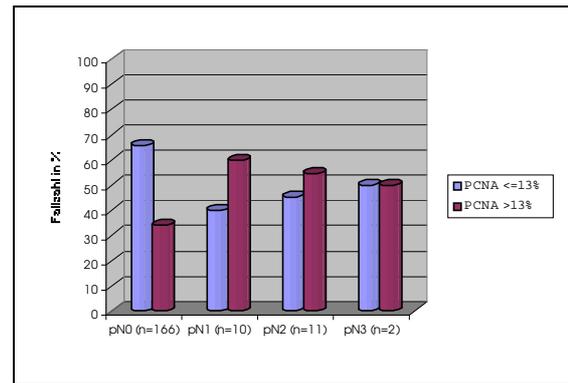


Abbildung 55: PCNA-Expression in Beziehung zum pN-Stadium

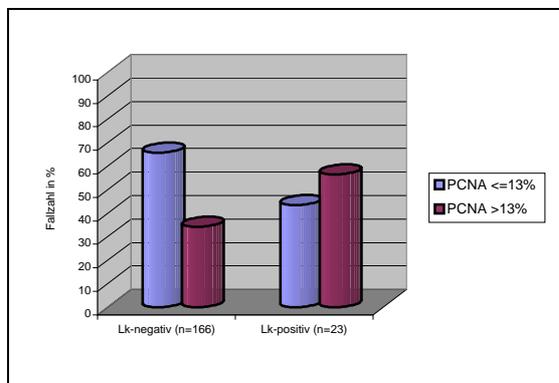


Abbildung 56: PCNA-Expression in Beziehung zum Lk-Status

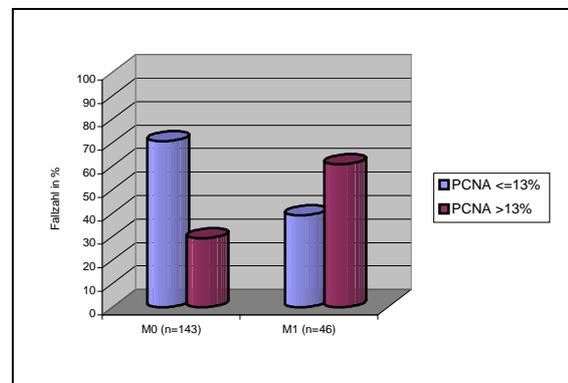


Abbildung 57: PCNA-Expression in Beziehung zum M-Stadium

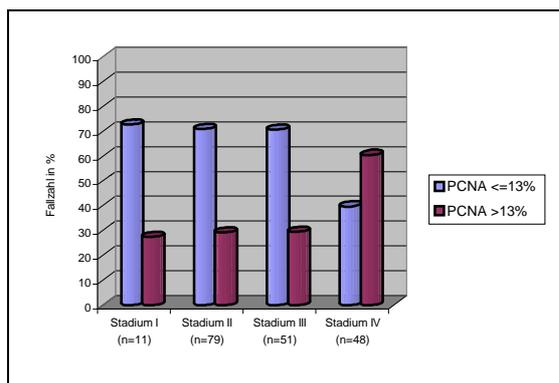


Abbildung 58: PCNA-Expression in Beziehung zum Robson-Stadium

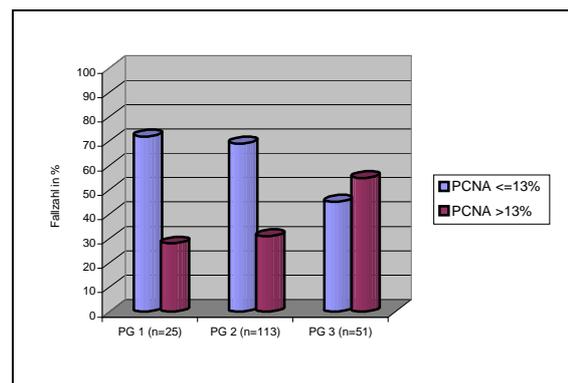


Abbildung 59: PCNA-Expression in Beziehung zur Prognosegruppe nach Störkel

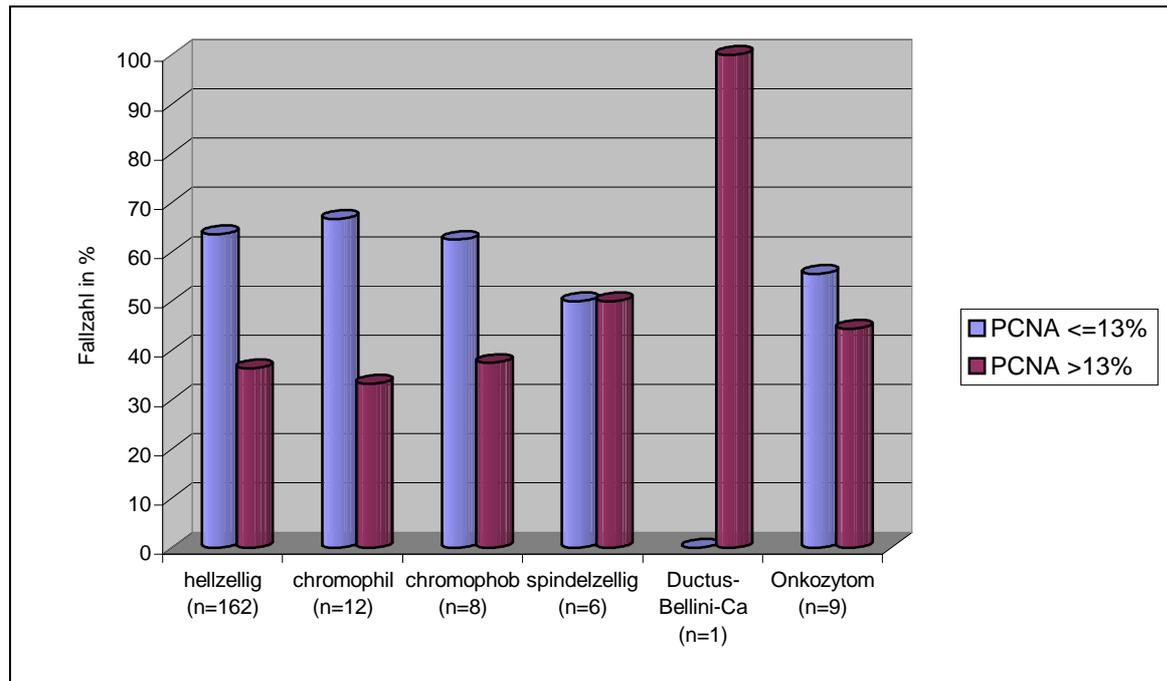


Abbildung 60: PCNA-Expression in Beziehung zur Histologie

		PCNA-Expression		
		<= 13%	> 13%	gesamt
Grading	Grad 1	9 (90,0%)	1 (10,0%)	10
	Grad 2	90 (72,6%)	34 (27,4%)	124
	Grad 3	20 (36,4%)	35 (63,6%)	55
pT-Stadium	pT1	9 (75,0%)	3 (25,0%)	12
	pT2	61 (68,5%)	28 (31,5%)	89
	pT3	47 (56,0%)	37 (44,0%)	84
	pT4	2 (50,0%)	2 (50,0%)	4
pN-Stadium	pN0	109 (65,7%)	57 (34,3%)	166
	pN1	4 (40,0%)	6 (60,0%)	10
	pN2	5 (45,5%)	6 (54,5%)	11
	pN3	1 (50,0%)	1 (50,0%)	2
Lk-Status	Lk-negativ	109 (65,7%)	57 (34,3%)	166
	Lk-positiv	10 (43,5%)	13 (56,5%)	23
M-Stadium	M0	101 (70,6%)	42 (29,4%)	143
	M1	18 (39,1%)	28 (60,9%)	46
Robson-Stadium	Stadium I	8 (72,7%)	3 (27,3%)	11
	Stadium II	56 (70,9%)	23 (29,1%)	79
	Stadium III	36 (70,6%)	15 (29,4%)	51
	Stadium IV	19 (39,6%)	29 (60,4%)	48
Prognosegruppe	PG 1	18 (72,0%)	7 (28,0%)	25
	PG 2	78 (69,0%)	35 (31,0%)	113
	PG 3	23 (45,1%)	28 (54,9%)	51
Histologie	hellzellig	103 (63,6%)	59 (36,4%)	162
	chromophil	8 (66,7%)	4 (33,3%)	12
	chromophob	5 (62,5%)	3 (37,5%)	8
	spindelzellig	3 (50,0%)	3 (50,0%)	6
	Ductus-Bellini-Ca	0	1 (100,0%)	1
	Onkozytom	5 (55,6%)	4 (44,4%)	9

Tabelle 17: Ergebnisse der PCNA-Expression [1]

		n	Min	Max	Mittelwert	Median	25. Perzentile	75. Perzentile
Grading	Grad 1	10	0	24,0	4,8	2,5	10	4,0
	Grad 2	124	0	40,0	9,9	6,0	2,0	15,5
	Grad 3	55	0	72,0	22,7	21,0	9,0	32,0
gesamt		189	0	72,0	13,3	8,0	3,0	21,0
pT-Stadium	pT1	12	2,0	20,0	8,8	7,5	3,5	12,0
	pT2	89	0	66,0	11,7	5,0	2,0	18,0
	pT3	84	0	72,0	15,7	12,0	3,5	22,0
	pT4	4	1,0	22,0	14,0	16,5	7,0	21,0
gesamt		189	0	72,0	13,3	8,0	3,0	21,0
pN-Stadium	pN0	166	0	72,0	12,3	7,0	2,0	19,0
	pN1	10	0	66,0	23,6	20,5	9,0	32,0
	pN2	11	0	45,0	18,6	20,0	2,0	32,0
	pN3	2	11,0	29,0	20,0	20,0	11,0	29,0
gesamt		189	0	72,0	13,3	8,0	3,0	21,0
Lk-Status	Lk-negativ	166	0	72,0	12,3	7,0	2,0	19,0
	Lk-positiv	23	0	66,0	20,9	20,0	9,0	32,0
gesamt		189	0	72,0	13,3	8,0	3,0	21,0
M-Stadium	M0	143	0	55,0	10,8	6,0	2,0	17,0
	M1	46	0	72,0	21,4	20,0	8,0	32,0
gesamt		189	0	72,0	13,3	8,0	3,0	21,0
Robson-Stadium	Stadium I	11	2,0	20,0	8,9	8,0	3,0	15,0
	Stadium II	79	0	55,0	10,3	5,0	2,0	17,0
	Stadium III	51	0	52,0	11,7	9,0	3,0	18,0
	Stadium IV	48	0	72,0	21,0	20,0	7,5	31,0
gesamt		189	0	72,0	13,3	8,0	3,0	21,0
Prognosegruppe	Prognosegruppe 1	25	0	33,0	8,8	4,0	2,0	15,0
	Prognosegruppe 2	113	0	55,0	11,2	6,0	2,0	17,0
	Prognosegruppe 3	51	0	72,0	20,3	19,0	7,0	30,0
gesamt		189	0	72,0	13,3	8,0	3,0	21,0
Histologie	hellzellig	162	0	66,0	13,0	8,0	3,0	21,0
	chromophil	12	0	40,0	13,4	7,0	0,5	28,0
	chromophob	8	2,0	33,0	11,0	5,0	3,0	18,5
	spindelzellig	6	2,0	72,0	24,2	16,5	9,0	29,0
	Ductus-Bellini-Ca	1	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
gesamt	Onkozytom	9	1,0	47,0	20,2	8,0	5,0	45,0
gesamt		198	0	72,0	13,64	8,0	3,0	22,0

Tabelle 18: Ergebnisse der PCNA-Expression [2]

5.2.3 Analyse des immunhistochemischen Verhaltens von Primärtumormaterial und Metastasen

Diese Untersuchungen galten der Bestimmung der Expression im Material von Metastasen im Vergleich zur Expression im Primärtumormaterial. Hierzu wurden die zehn primären Metastasen mit den 12 sekundären Metastasen zu einer Gruppe vereint und mit der Gruppe der primären Nierenzellkarzinome verglichen. Bezüglich der Expression von CD44-h ist zu sagen, daß die Gruppe der Metastasen tendentiell ($p=0,096$) stärker CD44-h exprimiert als die Gruppe der Primärtumoren. Die Expression von CD44-v3, CD44-v6 und CD44-v9 ist auch hier aufgrund der geringen Anzahl positiver Fälle nicht aussagekräftig. E-Cadherin wird in beiden Gruppen ohne einen deutlich feststellbaren Unterschied exprimiert ($p=0,21$). Hingegen findet sich bezüglich der PCNA-Expression folgendes: Nur 70 von 189 (37,0%) primären Nierenzellkarzinomen exprimieren in mehr als 13% ihrer Tumorzellen PCNA, in der Gruppe der Metastasen liegt der Anteil der mehr als 13% PCNA-positiven Zellen bei 68,2% (15 von 22). Dieser Unterschied ist signifikant ($p=0,005$). Zusammenfassend muß man sagen, daß Metastasen von Nierenzellkarzinomen im Vergleich mit primären Nierentumoren tendentiell stärker CD44-h exprimieren sowie signifikant höhere PCNA-Expressionsindizes haben. Die Expression von E-Cadherin weist in beiden Gruppen keinen aussagekräftigen Unterschied auf. CD44-v3, CD44-v6 und CD44-v9 haben keine Bedeutung im Vergleich von Metastasen mit primären Nierenzellkarzinomen.

Die folgenden Abbildungen und die Tabelle geben einen Überblick über die Ergebnisse.

CD44-v3, CD44-v6 sowie CD44-v9 werden nicht berücksichtigt.

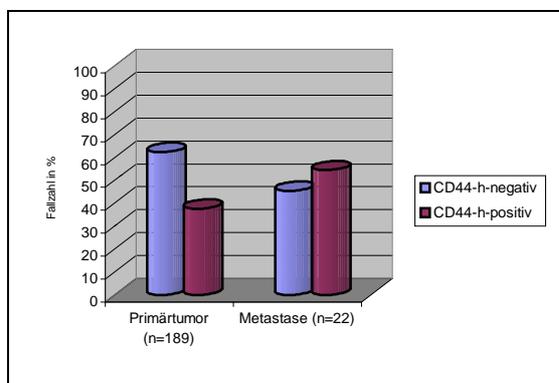


Abbildung 61: CD44-h-Expression in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation

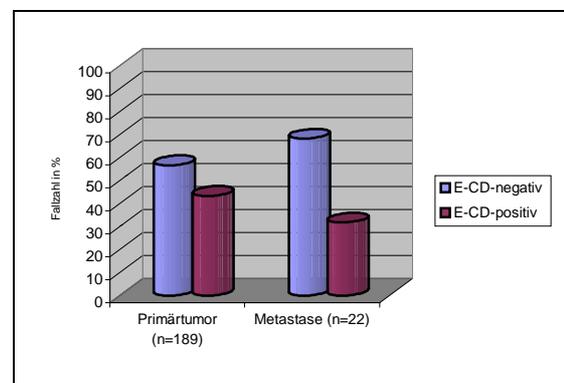


Abbildung 62: E-Cadherin-Expression in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation

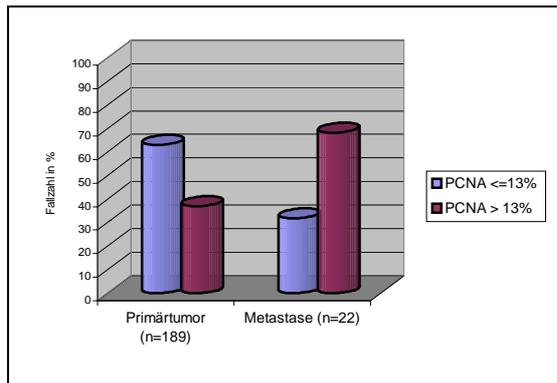


Abbildung 63: PCNA-Expression in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation

		Metastase	
		Nein	Ja
CD44-h	negativ	118 (62,4%)	10 (45,5%)
	schwach positiv	33 (17,5%)	2 (9,1%)
	mäßig positiv	16 (8,5%)	5 (22,7%)
	stark positiv	22 (11,6%)	5 (22,7%)
E-Cadherin	negativ	107 (56,6%)	15 (68,2%)
	schwach positiv	39 (20,6%)	4 (18,2%)
	mäßig positiv	28 (14,8%)	2 (9,1%)
	stark positiv	15 (7,9%)	1 (4,5%)
PCNA	<= 13%	119 (63,0%)	7 (31,8%)
	> 13%	70 (37,0%)	15 (68,2%)

Tabelle 19: Vergleich der Färbergebnisse für Primärtumoren und Metastasen

Desweiteren sollte untersucht werden, ob sich die Expression der Zelladhäsionsmoleküle bzw. des Proliferationsmarkers PCNA im Primärtumor von der Expression in den dazugehörigen Metastasen unterscheidet. Im vorliegenden Material, d.h. an 12 Primärtumoren und den zugehörigen sekundären Metastasen, konnte dies nicht bestätigt werden. Die vergleichenden Resultate lassen, auch aufgrund der geringen Anzahl von nur 12 Tumorproben, keinen signifikanten Unterschied erkennen.

Die folgende Tabelle stellt die Färberesultate der Antikörper für die Primärtumore und ihre zugehörigen sekundären Metastasen gegenüber.

Nr	Journal-Nr	Antikörper	P=Primärtumor; M=Metastase				PCNA-Index
			negativ	schwach positiv	mäßig positiv	stark positiv	
1	P=K 2613 / 86 M=K 2495 / 88 li. Axilla	CD44-h				P M	P 9%; M 49%
		CD44-v3	P			M	
		CD44-v6	P M				
		CD44-v9	P M				
		E-Cadherin	P	M			
2	P=K 6908 / 87 M=K 7795 / 87 Magenwand	CD44-h	P M				P 22%; M 60%
		CD44-v3	P M				
		CD44-v6	P M				
		CD44-v9	P M				
		E-Cadherin	P M				
3	P=K 6111 / 88 M=K 6111 / 88 hilärer Lk	CD44-h			P	M	P 21%; M 6%
		CD44-v3	P M				
		CD44-v6	P M				
		CD44-v9	P M				
		E-Cadherin	P M				
4	P=K 6513 / 88 M=K 6513 / 88 hilärer Lk	CD44-h	P M				P 14%; M 26%
		CD44-v3	P M				
		CD44-v6	P M				
		CD44-v9	P M				
		E-Cadherin	P M				
5	P=K 8285 / 88 M=K 7130 / 88 Humerus	CD44-h				P M	P 66%; M 30%
		CD44-v3	P M				
		CD44-v6	M	P			
		CD44-v9	M	P			
		E-Cadherin	M	P			
6	P=K 1169 / 90 M=K 1169 / 90 paraaortaler Lk	CD44-h		P			P 10%; M 8%
		CD44-v3	P M				
		CD44-v6	P M				
		CD44-v9	P M				
		E-Cadherin	P M				
7	P=K 7551 / 90 M=K 7551 / 90 hilärer Lk	CD44-h	P M				P 36%; M 44%
		CD44-v3	P M				
		CD44-v6	P M				
		CD44-v9	P M				
		E-Cadherin	P M				
8	P=K 7968 / 90 M=K 7707 / 94 Wirbelkörper	CD44-h	P M				P 5%; M 0%
		CD44-v3	P M				
		CD44-v6	P M				
		CD44-v9	P M				
		E-Cadherin	P	M			
9	P=K 3665 / 92 M=K 8192 / 92 Peritonealmet.	CD44-h	P	M			P 14%; M 32%
		CD44-v3	P M				
		CD44-v6	P M				
		CD44-v9	P M				
		E-Cadherin	P M				
10	P=K 4026 / 92 M=K 4049 / 92 paraaortaler Lk	CD44-h	P M				P 1%; M 16%
		CD44-v3	P M				
		CD44-v6	P M				
		CD44-v9	P M				
		E-Cadherin			P M		
11	P=K 7071 / 93 M=K 7052 / 93 Mesocolon	CD44-h			M	P	P 72%; M 14%
		CD44-v3	P M				
		CD44-v6	P M				
		CD44-v9	P M				
		E-Cadherin	P M				
12	P=K 1348 / 95 M=K 1348 / 95 paraaortaler Lk	CD44-h		P	M		P 20%; M 20%
		CD44-v3	P M				
		CD44-v6	P M				
		CD44-v9	P	M			
		E-Cadherin	P M				

Tabelle 20: Gegenüberstellung der Färbegergebnisse für Primärtumoren und zugehörige Metastasen

5.3 Ergebnisse des klinischen Follow-up

Jedem Patienten mußte ein eindeutiger Status bezüglich seiner Tumorerkrankung im Verlauf zugewiesen werden. Dies gelang mit folgendem Schema:

NED	no evidence of disease	lebt ohne Tumor bzw. verstarb, war aber ohne Tumornachweis
CR	complete remission	lebt ohne Tumor, mit adjuvanter Therapie (Immun- oder Chemotherapie, Metastasenchirurgie)
SD	silent disease	lebt mit Tumornachweis, ohne erneuten Progreß
PD	progressive disease	Progreß des Tumorleidens (Rezidiv, Metastasen, Tod)

Tabelle 21: Definition des Krankheitsstadiums in der Nachbeobachtungszeit

Um in der Auswertung der klinischen Nachbeobachtungszeiten nur mit validen Daten zu arbeiten, wurde eine Nachbeobachtungszeit von mindestens 6 Monaten für Fälle ohne Progreß gefordert, hingegen gingen sämtliche Fälle mit Progreß unabhängig von der Zeitspanne in die Auswertung ein. Dadurch ergibt sich eine Anzahl von 140 gültigen Fällen der insgesamt 198 Patienten mit einem Primärtumor der Niere (70,7%). Die Nachbeobachtungszeit der Fälle, die ohne einen Tumornachweis leben bzw. an einer anderen Ursache als an der Tumorerkrankung gestorben sind und bei ihrem Tod progressionsfrei waren (NED, n=71), reicht von 6 - 118 Monaten bei einer mittleren Nachbeobachtungszeit von 54,3 Monaten (4,5 Jahre). Die Patienten, die sich einer Nachbehandlung unterzogen haben (CR, n=6), hatten Nachbeobachtungszeiten zwischen 9 - 120 Monaten, bei einem mittleren Wert von 53,0 Monaten (4,4 Jahre). Patienten, die an ihrem Tumor verstorben sind (PD, n=22), hatten Nachbeobachtungszeiten von 1 - 77 Monaten bei einem Mittelwert von 16,8 Monaten (1,4 Jahre). Die Zeitspanne von der Diagnose und Therapie der Erkrankung bis zu einem Progreß des Leidens i.S. eines Rezidivs oder Metastasierung (PD, n=33) bewegte sich zwischen 1-91 Monaten, lag jedoch im Mittel bei 21,9 Monaten (1,8 Jahre). Acht Patienten, die zum Zeitpunkt des letzten Kontaktes mit dem behandelnden Arzt Anzeichen für einen Tumor hatten, ohne daß die Erkrankung weiter fortgeschritten war (SD, n=8), wiesen Nachbeobachtungszeiten zwischen 1 - 53 Monaten auf, der Mittelwert dafür beträgt 10,8 Monate.

Um die spätere Auswertung zu vereinfachen wurden folgende Gruppen zusammengezogen: NED und CR bilden die Gruppe der Patienten, welche keinen Progreß erlitten haben, SD und PD soll gleichbedeutend sein mit einer Progredienz der Grunderkrankung. Eine separate

Auswertung der Patienten, welche in der Nachbeobachtungszeit keinen Progreß erlitten ohne eine adjuvante Therapie erhalten zu haben und denen mit einer postoperativen Immun- oder Chemotherapie bzw. Metastasen Chirurgie ist aufgrund der geringen Fallzahl von nur n=6 Patienten mit CR-Status nicht sinnvoll.

5.3.1 Analyse von Histologie und klinischem Verlauf

Für das histomorphologische Grading gilt: Kein Patient mit einem Grad 1-Tumor zeigte einen Progredienz der Erkrankung, noch kam es zu einem Todesfall aufgrund des Tumorleidens. Patienten mit einem Grad 2-Tumor hatten im Mittel eine progressionsfreie Überlebenszeit von 82,5 Monaten (6,9 Jahre), solche mit einem Grad 3-Tumor eine selbige von 25,3 Monaten (2,1 Jahre). Dieser Zusammenhang ist signifikant ($p < 0,001$), erklärt sich jedoch durch eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit der Tumoren, mit zunehmender Entdifferenzierung verstärkt zu metastasieren ($p < 0,001$). Schließlich stellt sich in der Regressionsanalyse das M-Stadium als letztlich einzig signifikanter Prognosefaktor heraus ($p < 0,001$). Die progressionsfreien Überlebenszeiten bezogen auf das pT-Stadium der TNM-Klassifikation ergeben 98,2 Monate (8,2 Jahre) für das Stadium pT1, 81,8 Monate (6,8 Jahre) für das Stadium pT2, 47,6 Monate (4 Jahre) für das Stadium pT3 und 4,7 Monate für das Stadium pT4. Wiederum gilt auch hier: Mit zunehmendem pT-Stadium wächst die Wahrscheinlichkeit, einen Progredienz zu erleiden ($p = 0,001$), doch ebenso das Risiko, Metastasen zu entwickeln ($p < 0,001$). pT1-Tumoren metastasierten nie, pT2- und pT3-Tumoren zunehmend bis zu den pT4-Tumoren, welche sämtlich metastasierten. Für das pN-Stadium läßt sich zusammenfassend sagen, daß Patienten ohne Lymphknotenmetastasen im Mittel 74,1 Monate (6,2 Jahre) progressionsfrei überlebten wohingegen Patienten mit Lymphknotenmetastasen zum Zeitpunkt der Diagnose nur 13,9 Monate (1,2 Jahre) progressionsfrei überlebten. Auch die Lk-positiven Tumoren gehören signifikant häufiger ($p < 0,001$) dem M1-Stadium an als die Lk-negativen. Berücksichtigt man nur das M-Stadium der TNM-Klassifikation, so kommt man zu folgender Aussage: Liegen bei Diagnose bereits Fernmetastasen vor, so hat der Patient eine mittlere Überlebenszeit von 10,3 Monaten bis es zu einem weiteren Progredienz der Erkrankung kommt. Die längste Zeit bis zum Progredienz des Tumorleidens in diesem Stadium betrug 61 Monate (5,1 Jahre). Bei noch nicht eingetretener Fernmetastasierung beträgt die mittlere progressionsfreie Überlebenszeit 85,8 Monate (7,2 Jahre). 73% der Patienten mit einem M0-Stadium erlebten keinen Progredienz, hingegen zeigten 97,3% der Patienten mit einem M1-Stadium einen Progredienz der Erkrankung ($p < 0,001$). Diese Tatsache stellt sich in der Regressionsanalyse für die progressionsfreien Überlebenszeiten als der entscheidende prognostische Faktor bezüglich des Erleidens eines Progredienz heraus. Demnach haben Patienten im Stadium M1 eine signifikant kürzere Überlebenszeit bis zur Tumorprogression als Patienten im Stadium M0. In den folgenden Einteilungen (Robson-Stadium, Prognosegruppen nach Störkel) herrscht ein gewisses Maß an Redundanz, da in diese Klassifikationen einzelne

Parameter, darunter auch das M-Stadium, eingehen. Auf eine eingehende Analyse wird daher aufgrund des zu erwartenden Zusammenhangs mit dem M-Stadium verzichtet. Nach der Stadieneinteilung von Robson beträgt die Zeit bis zum Eintritt eines Progredienz für das Stadium I im Mittel 98,2 Monate (8,2 Jahre), für das Stadium II 92,9 Monate (7,7 Jahre), für das Stadium III 73,2 Monate (6,1 Jahre) und für das Stadium IV nur 11,4 Monate. Die Einteilung in drei Prognosegruppen nach Störkel liefert folgende Resultate: Die mittlere progressionsfreie Überlebenszeit beträgt für die Prognosegruppe 1 (gute Prognose) 111,6 Monate (9,3 Jahre), für die Prognosegruppe 2 (mäßig Prognose) 81,8 Monate (6,8 Jahre) und für die Prognosegruppe 3 (schlechte Prognose) 14,1 Monate (1,2 Jahre).

In den folgenden Abbildungen wird die progressionsfreie Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit der verschiedenen histopathologischen Parameter und klinischen Stadieneinteilungen nach der Methode von Kaplan und Meier dargestellt. Die Angaben für zensierte Daten entsprechen hierbei den Überlebensdaten von Patienten, die aus dem Nachbeobachtungszeitraum ausschieden ohne daß das Ereignis *Progredienz der Erkrankung* eingetreten war.

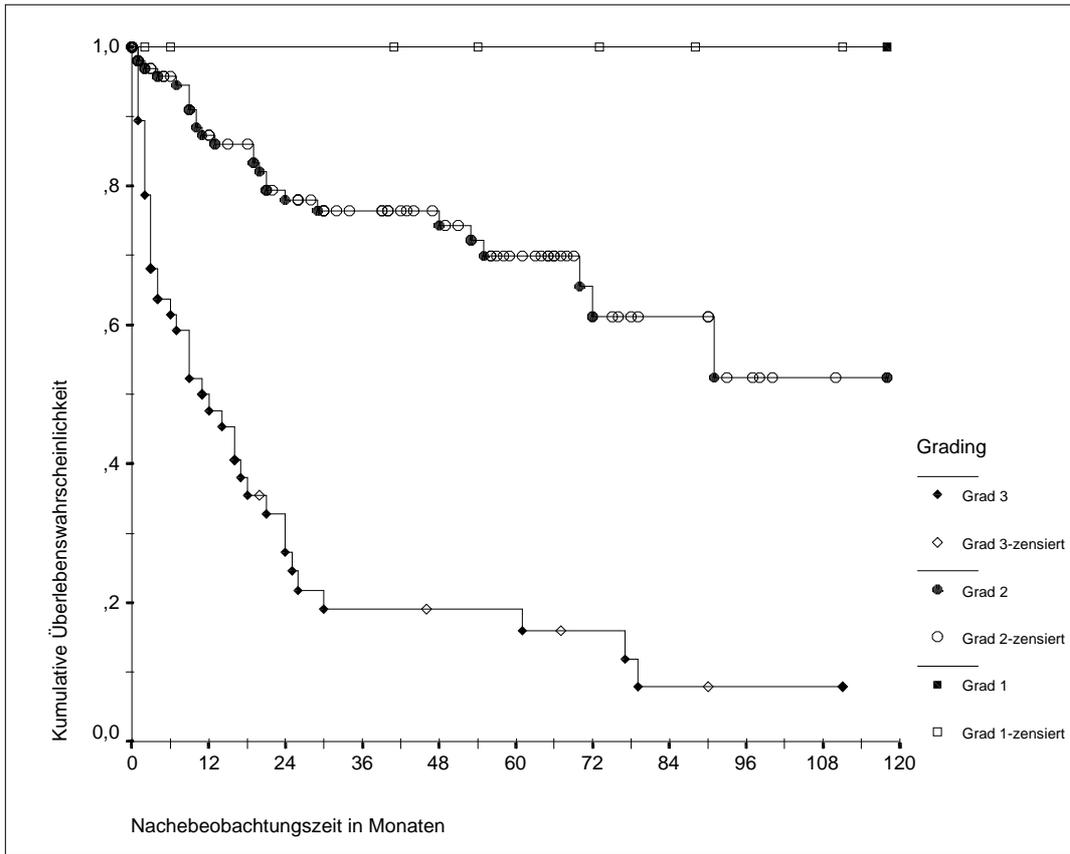


Abbildung 64: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom Grading

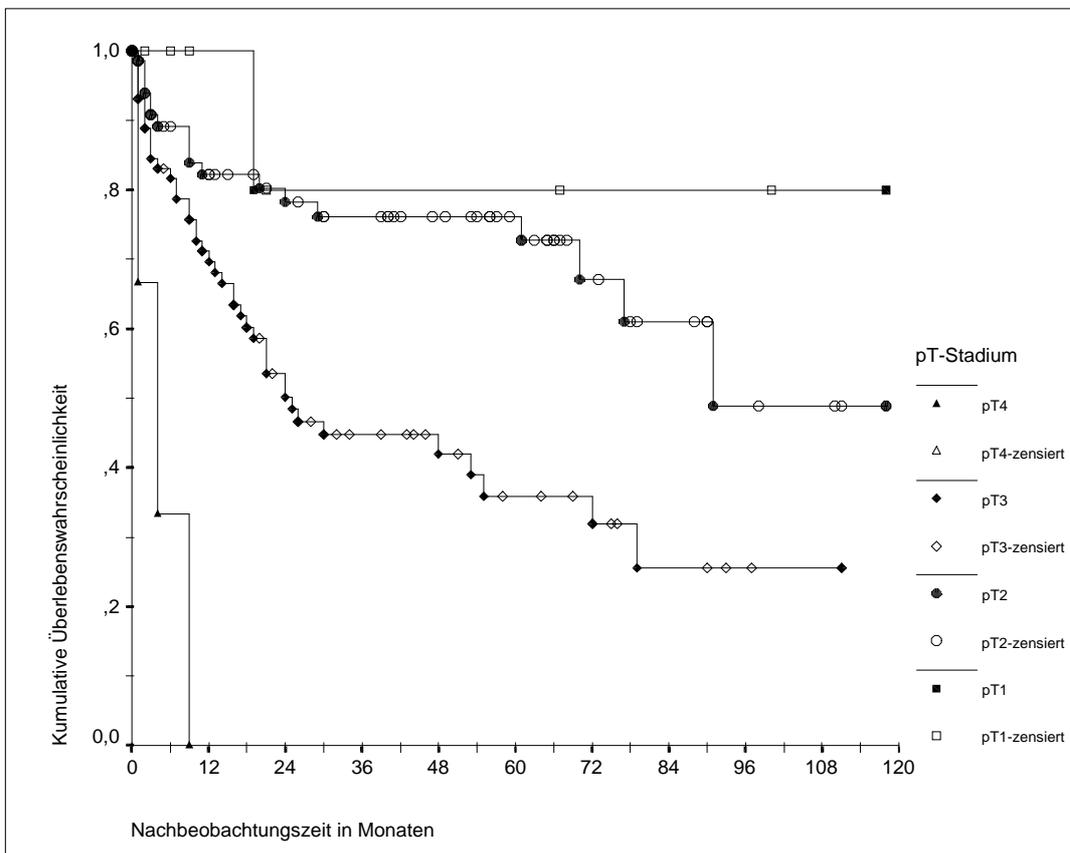


Abbildung 65: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom pT-Stadium

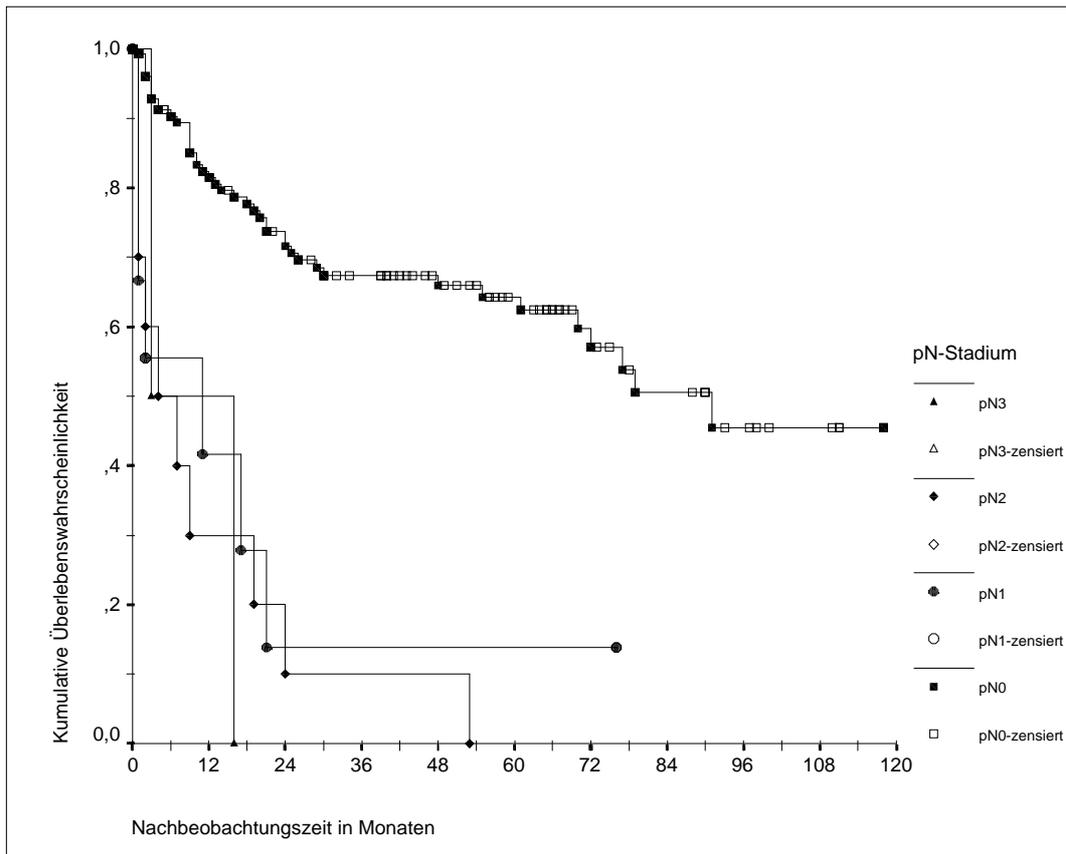


Abbildung 66: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom pN-Stadium

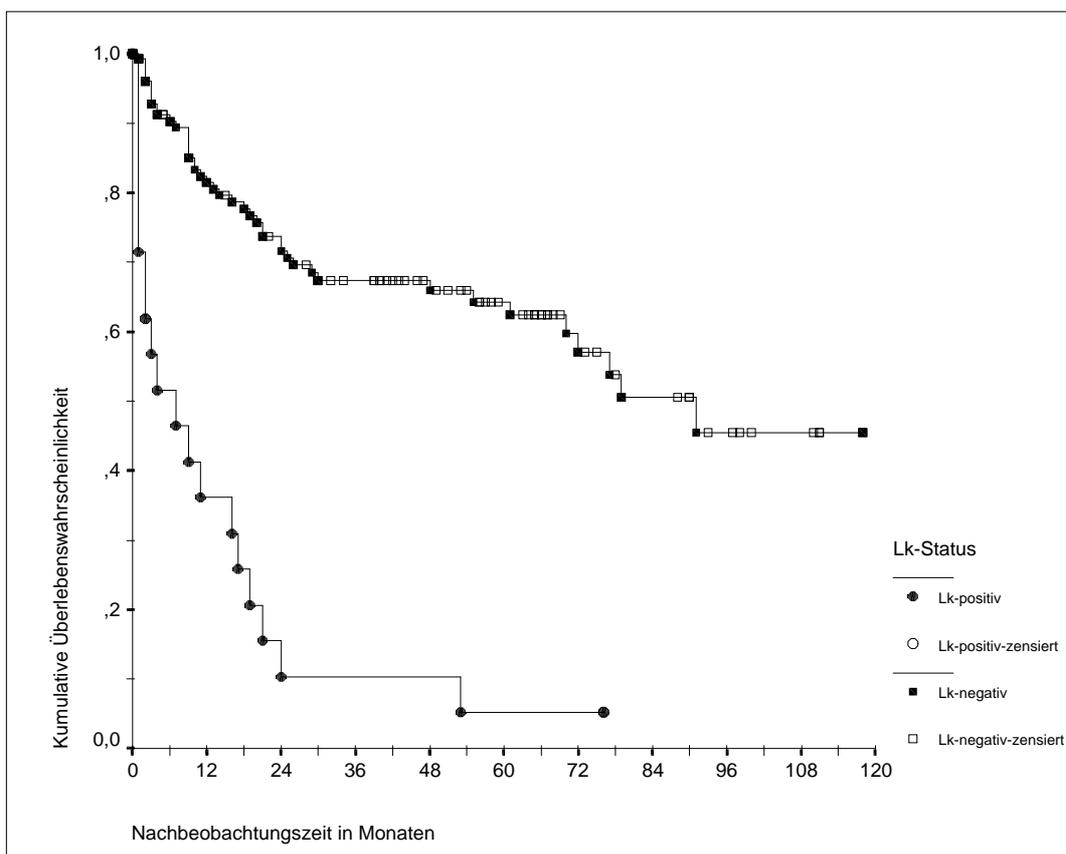


Abbildung 67: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom Lk-Status

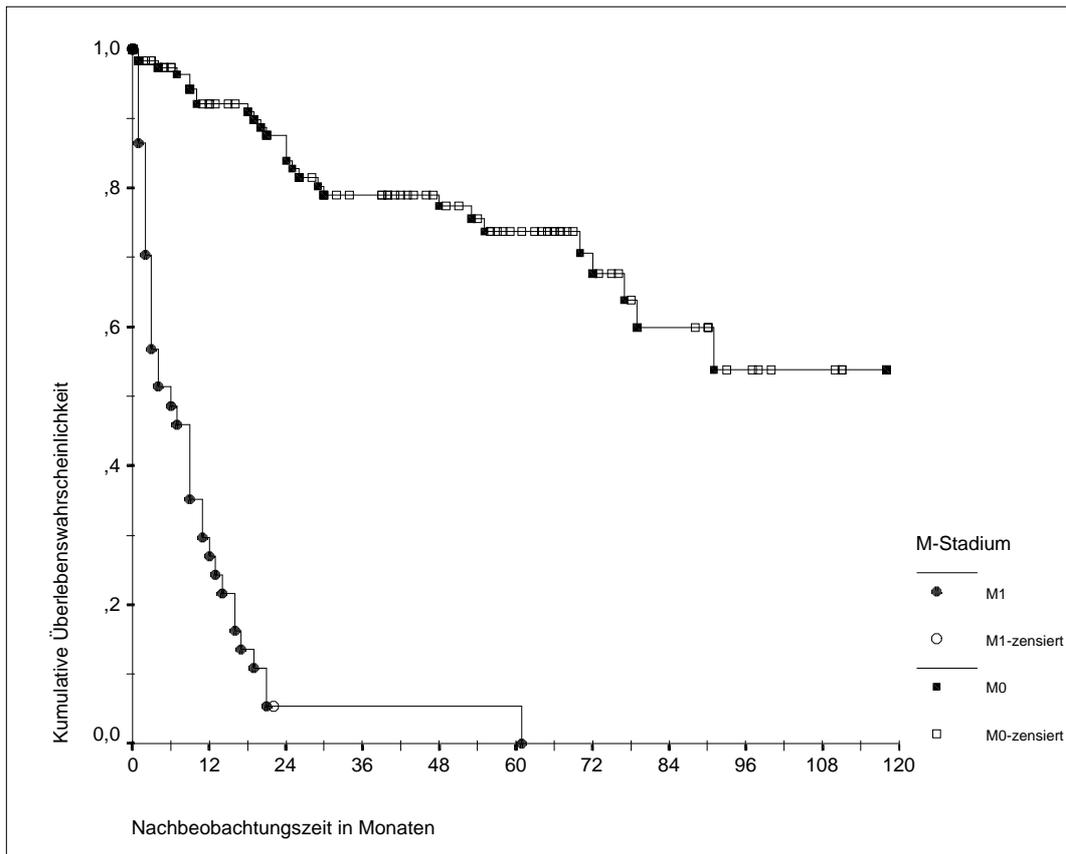


Abbildung 68: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom M-Stadium

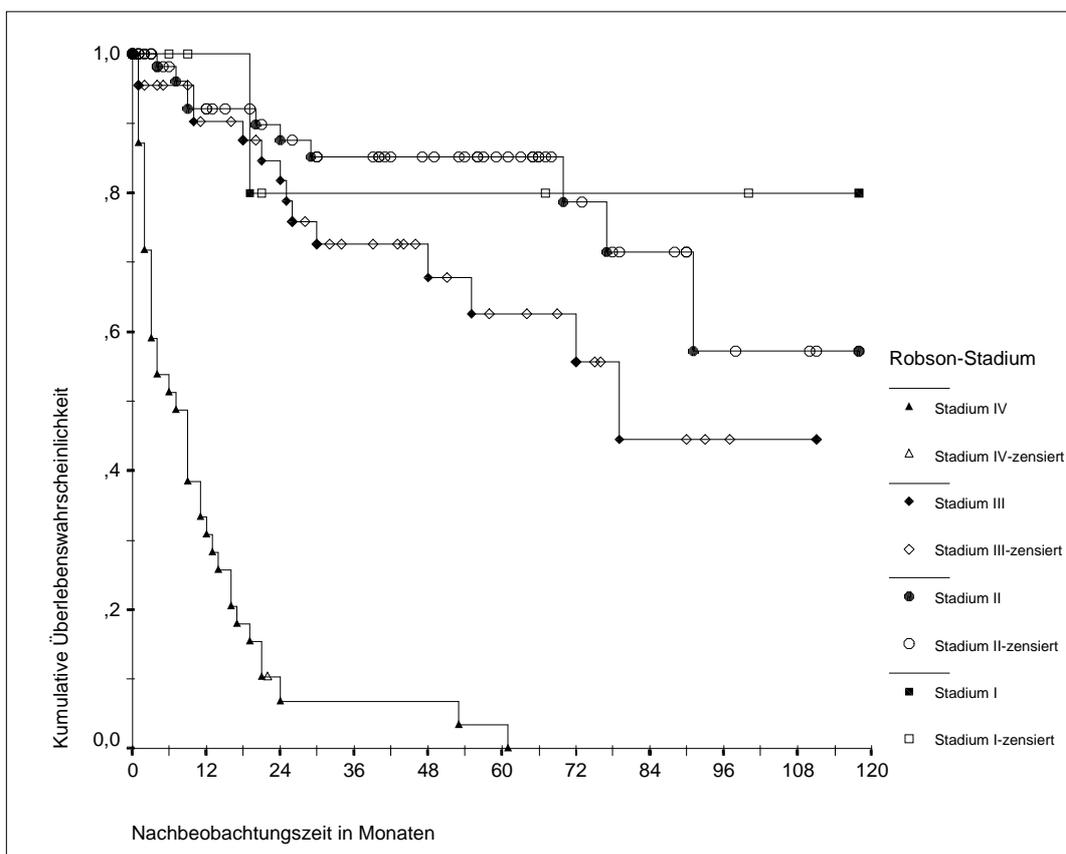


Abbildung 69: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom Robson-Stadium

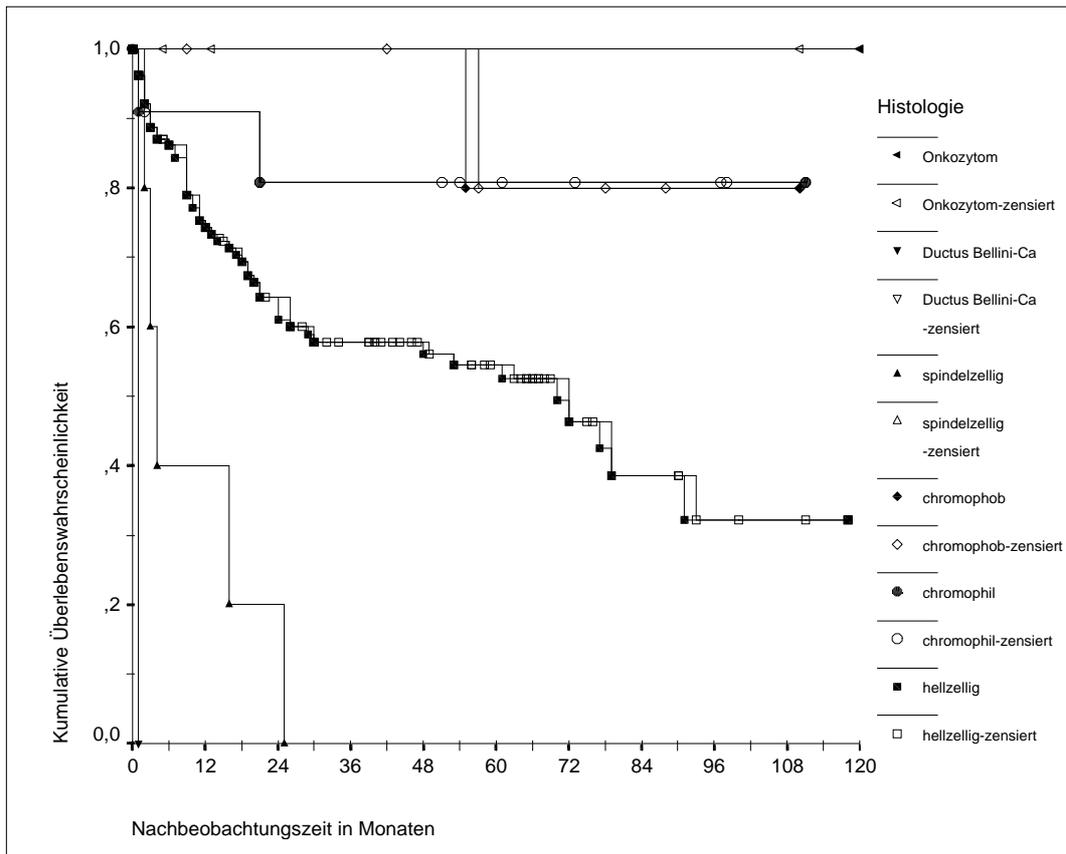


Abbildung 70: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Histologie

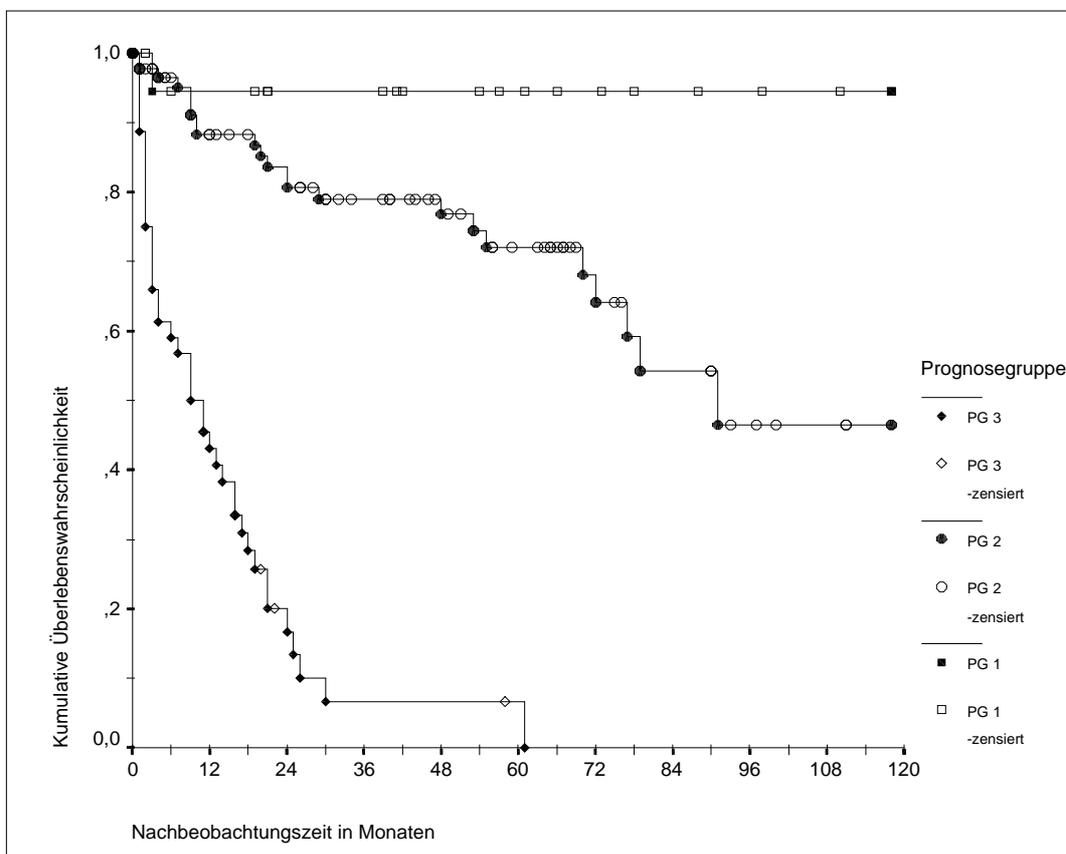


Abbildung 71: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Prognosegruppe

5.3.2 Analyse von Immunhistochemie und klinischem Verlauf

Die Analyse der untersuchten Parameter im Zusammenhang mit dem klinischen Verlauf der Tumorerkrankung ergab folgendes Bild: Die Expression von CD44-h schien einen deutlichen Zusammenhang mit der progressionsfreien Überlebenszeit zu haben. Immerhin 68,3% der Patienten, deren Tumor kein CD44-h exprimiert, kamen nicht in einen Progreß, hingegen erfuhr ca. 60-70% der Patienten mit einem schwach bis stark CD44-h-exprimierenden Tumor eine Progression. Diese Beobachtung erwies sich als signifikant ($p=0,0001$). Bei näherer Betrachtung ergab sich jedoch ein differenziertes Bild: Vergleich man die CD44-h-Expression der Tumoren mit dem zugehörigen M-Stadium der TNM-Klassifikation, so sah man, daß jene Tumoren, welche stark CD44-h exprimierten überwiegend solche des Stadiums M1 waren (56,3%). Umgekehrt gehörten 81,3% der CD44-h-negativen Fälle dem Stadium M0 an. Dieser Zusammenhang war signifikant auf einem Niveau von $p=0,016$. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß sich das M-Stadium in der Regressionsanalyse als letztlich einzig signifikanter Prognosefaktor herausstellte, mußte man aus diesen Zusammenhängen ableiten, daß sich das Risiko, bei starker CD44-h-Expression des Tumors Metastasen zu entwickeln, deutlich erhöhte. Der Effekt von CD44-h auf die progressionsfreie Überlebenszeit wurde über eine erhöhtes Risiko, Metastasen zu entwickeln, vermittelt.

Für die untersuchten Isoformen CD44-v3, CD44-v6 und CD44-v9 ließ sich, nicht zuletzt aufgrund der fast ausschließlich negativen Expression, kein Einfluß auf die klinische Progressionstendenz für das Nierenzellkarzinom ableiten.

Für E-Cadherin ergab die Analyse des Zusammenhangs zwischen E-Cadherin-Expression und M-Stadium eine höhere Zugehörigkeit der Tumoren ohne Expression zum M1-Stadium als derer mit schwacher bis starker Expression ($p=0,005$). Sämtliche Tumoren mit starker E-Cadherin-Expression gehörten sogar dem Stadium M0 an. Dies war wiederum signifikant ($p=0,01$). Eine starke Expression von E-Cadherin ist somit gleichbedeutend für ein deutlich vermindertes Risiko, Metastasen zu entwickeln.

In der Analyse der progressionsfreien Überlebenszeit ergab sich folgendes Bild: Patienten mit Tumoren mit starker E-Cadherin-Expression hatten im Vergleich zu Patienten mit Tumoren mit negativer bis mäßig starker Expression eine signifikant längere Überlebenszeit ohne Progression ($p=0,0013$).

Gleichfalls gehörten Tumore, welche überdurchschnittlich PCNA exprimieren signifikant häufiger dem Stadium M1 an als solche mit einer unterdurchschnittlichen PCNA-Expression ($p < 0,001$). Auch hier galt: Die Wahrscheinlichkeit, Metastasen zu entwickeln, war erhöht bei stark PCNA-exprimierenden Tumoren.

In den folgenden Abbildungen ist die kumulative progressionsfreie Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit der o.g. Parameter dargestellt.

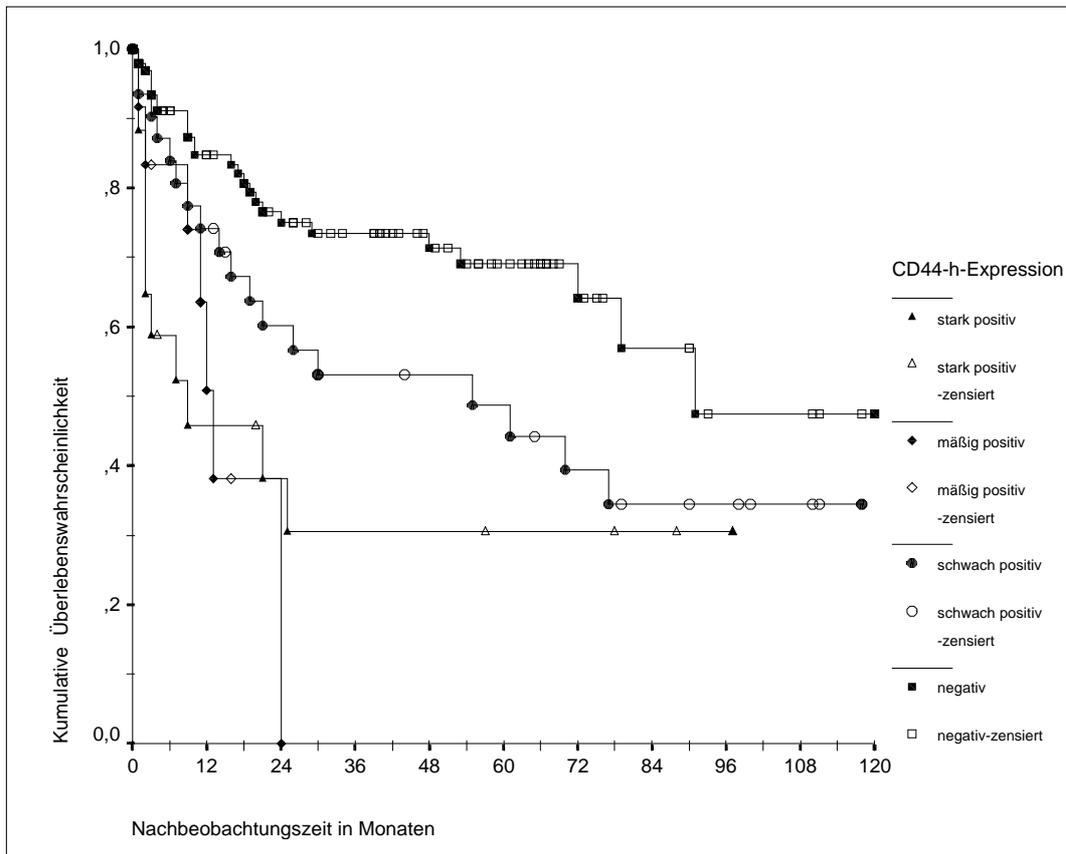


Abbildung 72: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Stärke der CD44-h-Expression [1]

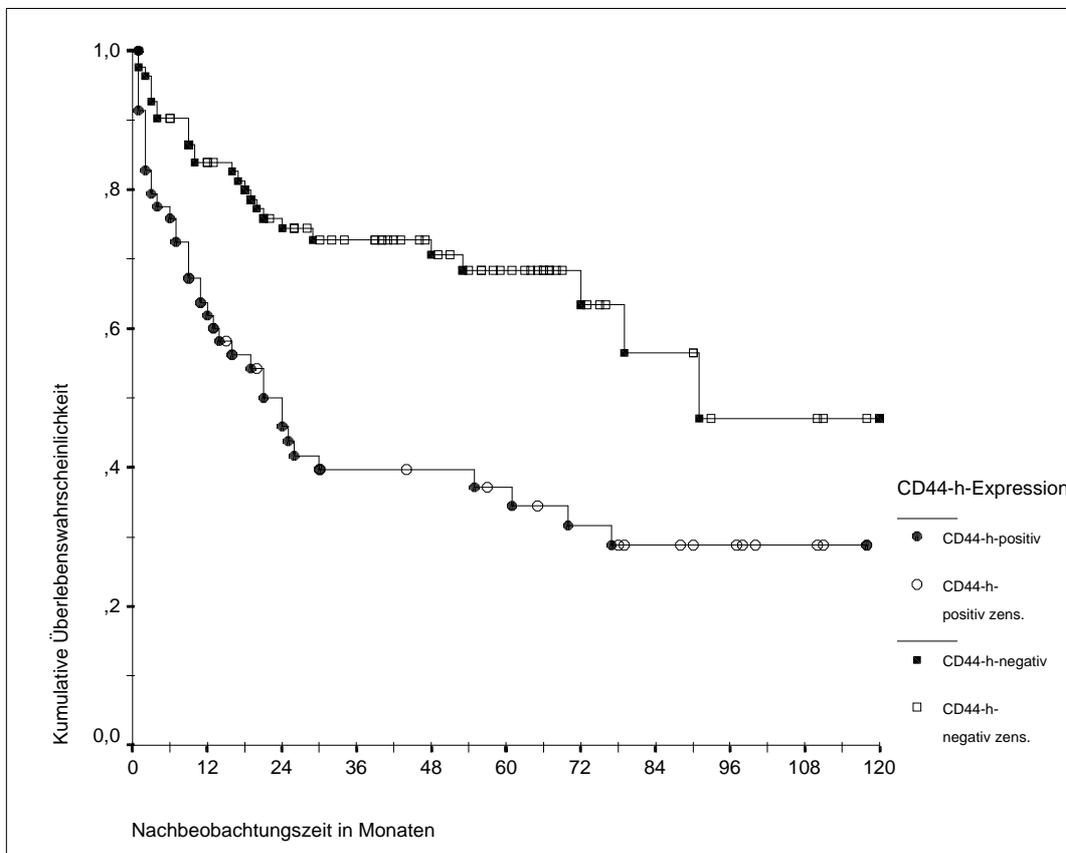


Abbildung 73: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Stärke der CD-44-h-Expression [2]

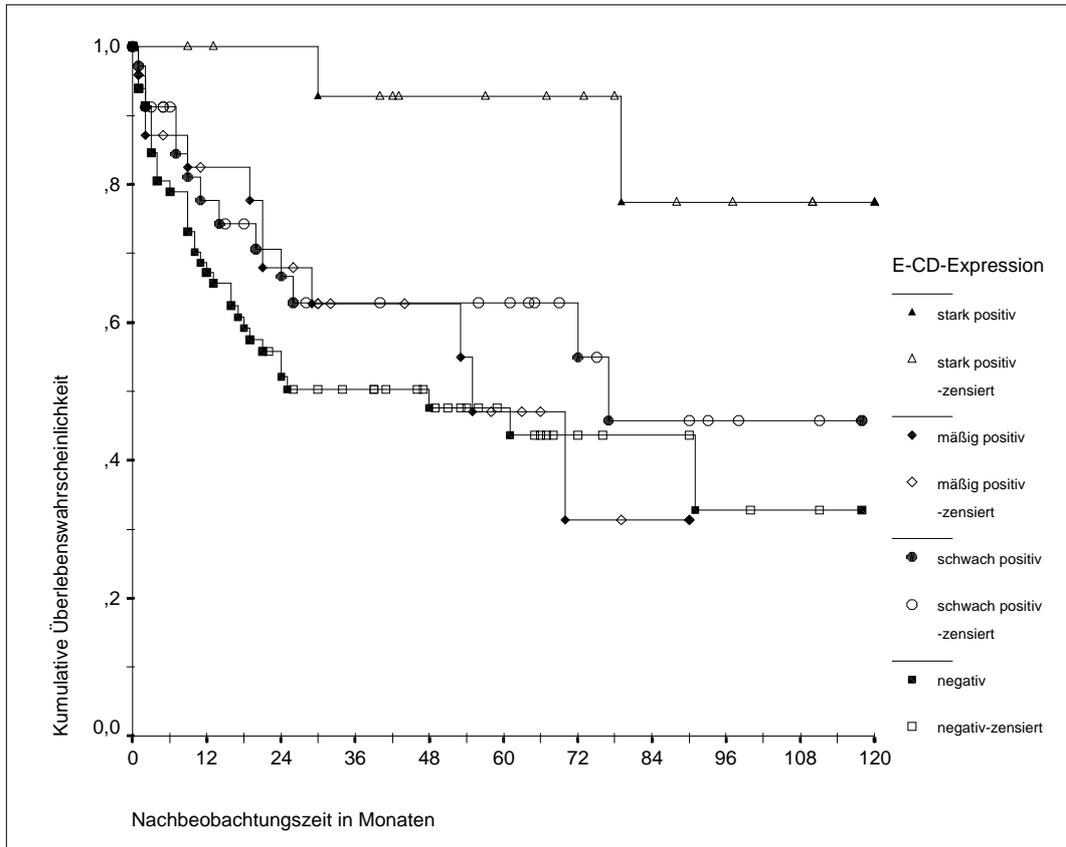


Abbildung 74: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Stärke der E-Cadherin-Expression [1]

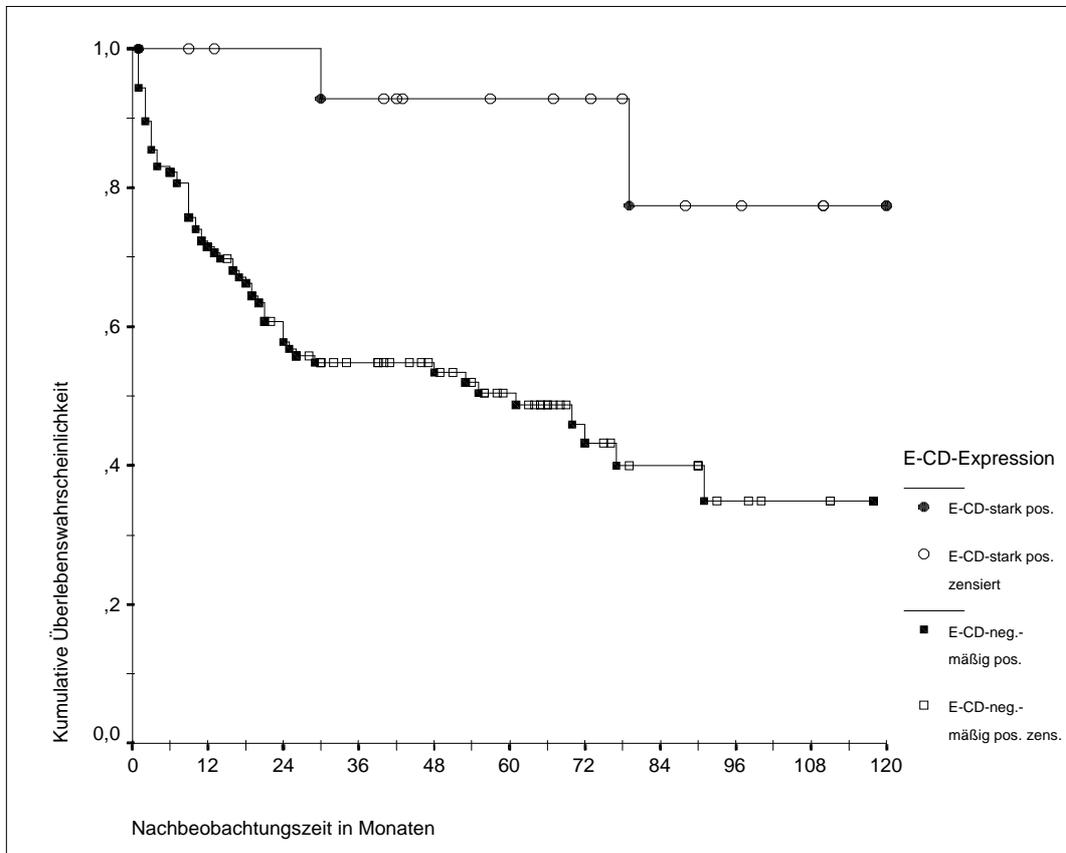


Abbildung 75: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Stärke der E-Cadherin-Expression [2]

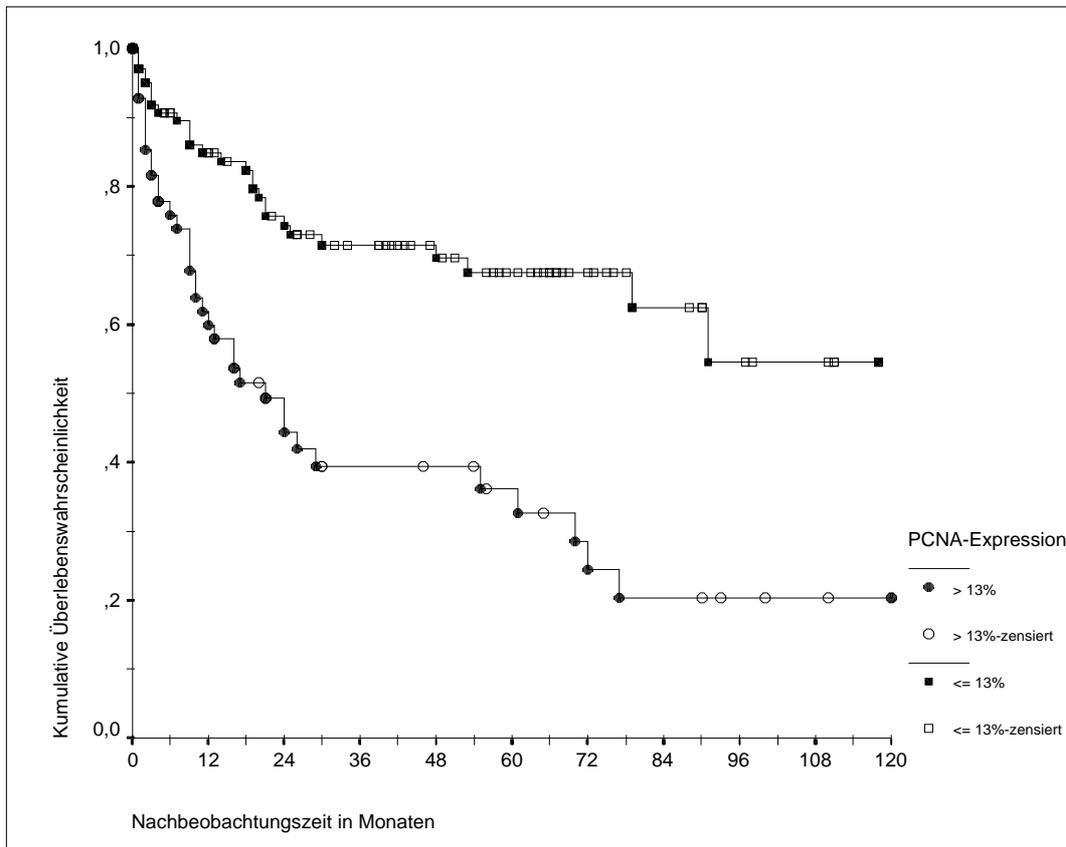


Abbildung 76: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Stärke der PCNA-Expression

Zusammenfassend kann man sagen, daß Patienten mit Tumoren, welche CD44-h und überdurchschnittlich PCNA exprimierten, sowie solche, die gar nicht oder nur in geringerem Umfang E-Cadherin exprimierten, eine besonders schlechte Prognose hatten. Diese Parameter kann man nun zur Prognoseabschätzung in einer Formel zusammenfassen:

$$\text{Expressions-Ratio} = \frac{CD44 - h - \text{Wert} * PCNA - \text{Wert}}{E - \text{Cadherin} - \text{Wert}}$$

Dabei bedeuten *CD44-h-Wert*, *E-Cadherin-Wert* und *PCNA-Wert* Zahlen, die sich aus der Zugehörigkeit der Expressionsstärke der Antigene zu einem festgelegten und o.b. Bereich ergeben:

	Wert = 1	Wert = 2
CD44-h	negativ	schwach bis stark positiv
E-Cadherin	negativ bis mäßig stark positiv	stark positiv
PCNA	$\leq 13\%$	$> 13\%$

Tabelle 22: Vergabe von Expressionswerten in Abhängigkeit der Expressionsstärke

Diese Formel kann Werte aus der Menge $\{1/2, 1, 2, 4\}$ annehmen. Führt man damit eine Überlebensanalyse nach Kaplan und Meier durch, so finden sich zwischen den Gruppen der Werte $\{1/2\}$ und $\{1\}$ keine signifikanten Unterschiede, im Gegenteil, man kann diese sogar aufgrund der gleichen Prognose vereinen. Die übrigen Gruppen unterscheiden sich hoch signifikant ($p < 0.001$). Dies reduziert die weiter zu betrachtende Wertemenge auf $\{1, 2, 4\}$, oder anders ausgedrückt auf $\{<2, =2, >2\}$. Eine erneute Kaplan-Meier-Analyse liefert dann das in Abbildung 77 dargestellte Ergebnis.

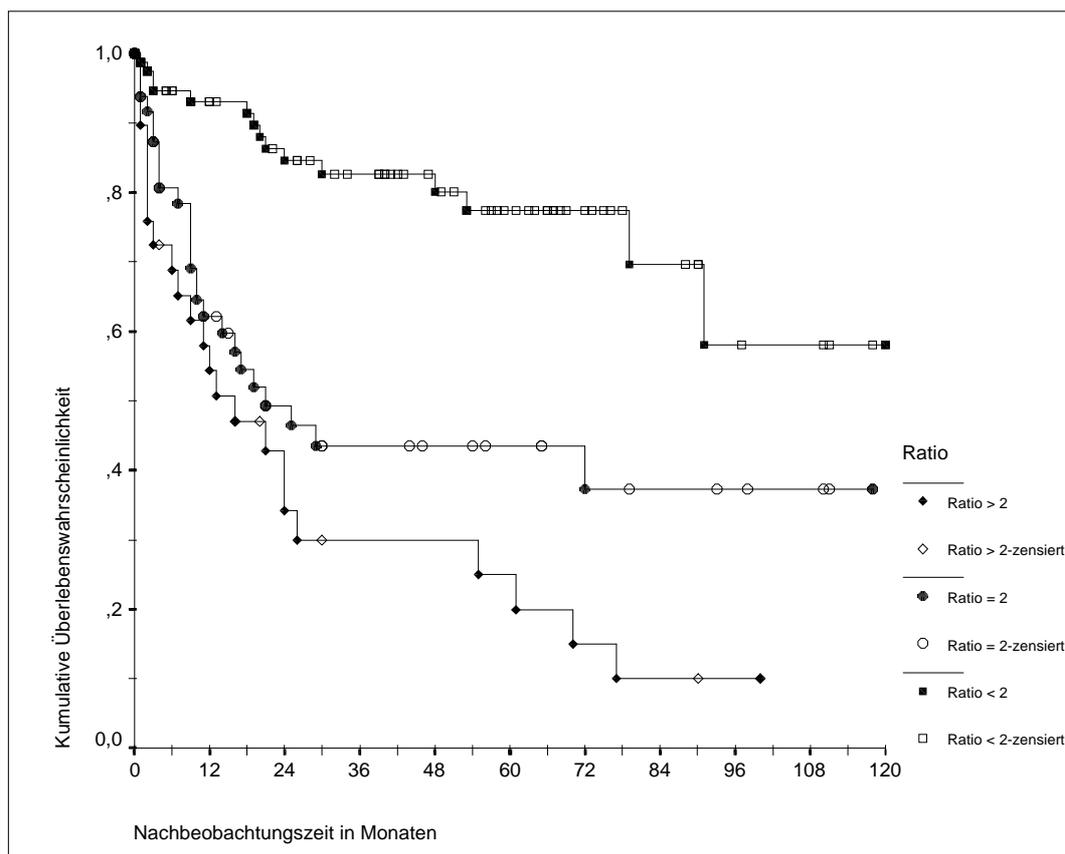


Abbildung 77: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Expressions-Ratio

Hiernach haben Patienten mit einem Tumor, welcher stark CD44-h und PCNA bei gleichzeitig geringerer Expression von E-Cadherin (Ratio > 2) exprimiert, eine besonders schlechte Prognose in dem Sinne, daß die mittlere progressionsfreie Zeit nur 30,3 Monate beträgt und 50% der Patienten bereits nach 16 Monaten einen Progreß erleiden. Nach 5 Jahren

ist bei ca. 75% der genannten Patientengruppe ein Progreß zu verzeichnen. Patienten, deren Tumor im Verhältnis 2:1 nach o.b. Formel exprimiert, sind nach 54,5 Monaten im Mittel noch ohne Progreß, erleiden aber zu 50 % bereits nach 21 Monaten einen Progreß. Ihre Progressionsfreiheit nach 5 Jahren beträgt allerdings noch ca. 44%. Die Tumoren der Gruppe mit einem ausgewogenen oder zugunsten von E-Cadherin verschobenen Verhältnis der Expression zeigen einen deutlich günstigeren klinischen Verlauf. Die mittlere progressionsfreie Zeit dieser Patientengruppe liegt bei 91,6 Monaten, ca. 78 % der Patienten dieser Gruppe waren nach 5 Jahren noch progressionsfrei. Nach 10 Jahren war immerhin noch bei ca. 58 % der Patienten kein Progreß der Grunderkrankung zu erkennen.

6 Diskussion

6.1 Allgemeines

Als Untersuchungsmaterial dieser Arbeit dienten die histologischen Präparate von 220 Proben von Onkozytomen sowie Nierenzellkarzinomen und deren Metastasen aus den Jahren 1986 bis 1995. 198 Patienten unterzogen sich zum damaligen Zeitpunkt einer radikalen Tumornephrektomie, von 10 Patienten lag nur Material von Metastasen zur Untersuchung vor. Die Daten, welche den Verlauf der Erkrankung beschreiben und hier in die Auswertung eingingen, stammen alle aus dem Studium der Krankenakten des stationären Aufenthaltes, den Ambulanzakten sowie aus Nachfragen bei den nachsorgenden Ärztinnen und Ärzten. Wesentliche klinische Bedeutung als Faktoren der Prognose bezüglich einer Erkrankung an einem Nierenzellkarzinom erlangten bisher nur die klassischen Parameter Tumorgrading, Tumorgröße und Tumorstadium. Die Bedeutung von Zelladhäsionsmolekülen und Proliferationsmarkern für die klinische Progressionstendenz dieses Tumors ist bis heute noch nicht ausreichend dokumentiert. In der vorliegenden Arbeit wurde daher die Expression der Zelladhäsionsmoleküle CD44-s, CD44-v3, CD44-v6, CD44-v9 und E-Cadherin sowie die Expression des Proliferationsmarkers PCNA am zuvor beschriebenen Material untersucht.

6.2 Histopathologische Parameter

Die Ergebnisse der histopathologischen Untersuchungen sowie die Daten, welche aus den klinischen Nachuntersuchungen gewonnen wurden, zeigen, daß sich mit zunehmender Entdifferenzierung der Tumoren von Grad 1 nach Grad 3 die Prognose für die Patienten bezüglich eines tumorfreien Überlebens signifikant verschlechtert. Ebenso geht mit wachsender Tumorgröße von pT1 nach pT4 eine deutliche Verkürzung des progressionsfreien Überlebenszeitraums einher. Gleichfalls bedeutet die Zugehörigkeit zu einem höheren Krankheitsstadium nach dem TNM-System eine signifikante Prognoseverschlechterung für den einzelnen Patienten.

6.3 CD 44-h und seine Isoformen

Nachdem Ergebnisse von Arbeiten verschiedener Untersucher vorlagen, welche einen Zusammenhang zwischen der Expression von Zelladhäsionsmolekülen (CD44, E-Cadherin) sowie Proliferationsmarkern (PCNA) und dem klinischen Verlauf von Erkrankungen an

unterschiedlichen Tumoren vermuten ließen, wurde die Hypothese auf das Nierenzellkarzinom übertragen.

CD44 ist ein integrales Membranprotein mit einer postulierten Funktion in Matrix-Adhäsion, Lymphozyten-Aktivierung und Lymphozyten-„Homing“. Lymphozyten in der Blutzirkulation migrieren selektiv aus dem Blutstrom in verschiedene lymphatische Gewebe durch hochspezialisiertes venuläres Endothel. Moleküle auf der Oberfläche der Lymphozyten, genannt „Homing-Rezeptoren“, interagieren spezifisch mit dem venulären Endothel und spielen dadurch eine zentrale Rolle in der Migration. Die Rolle, welche CD44 in der Lymphozyten-Rezirkulation spielt, nämlich die Erleichterung des Auswanderns von Lymphozyten aus dem Blut in lymphatisches Gewebe (Jalkanen et al., 1986; Goldstein et al., 1989; Stamenkovic et al., 1991), scheint ebenfalls eine Bedeutung für das Metastasierungsverhalten des Nierenzellkarzinoms zu haben. In den Ergebnissen der Untersuchungen bezüglich eines Zusammenhangs zwischen der Expression von CD44-h und der lymphogenen Metastasierung des Nierenzellkarzinoms findet sich eine deutliche Zunahme der Expression bei den Tumoren, welche bereits lymphogen gestreut haben. Dies läßt sich zumindest als Hinweis, wenn nicht gar als Bestätigung der Bedeutung von CD44-h für das lymphogene Metastasierungsverhalten des Nierenzellkarzinoms werten.

Splice-Varianten von CD44, z.B. CD44-v6, spielen möglicherweise eine Rolle in der Metastasierung von Tumoren und ihre Bestimmung könnte daher nützlich sein in der Beschreibung des malignen Potentials von Tumoren, in der Früherkennung von bösartigen Erkrankungen oder in der Nachsorge von Tumorpatienten, wenn es darum geht, ein Fortschreiten des Leidens oder ein Rezidiv rechtzeitig zu erkennen (Matsumura und Tarin, 1992). Für das Magenkarzinom zeigten Mayer et al. 1993, daß die Expression von CD44, welches normalerweise in der Magenschleimhaut nicht exprimiert wird und nur in 49% der Primärtumoren gefunden wurde, mit dem Vorhandensein von Fernmetastasen zum Diagnosezeitpunkt, der Rezidivrate sowie der erhöhten Sterblichkeit an Magenkrebs zusammenhing. Die Ergebnisse bezüglich der Expression der Zelladhäsionsmoleküle CD44-v3, CD44-v6 sowie CD44-v9 sind ernüchternd. Sieht man doch schon in den Tabelle 13, Tabelle 14 und Tabelle 15 die hohe Anzahl negativer Expressionen, so wird der mangelnde Einfluß dieser Zelladhäsionsmoleküle auf den klinischen Krankheitsverlauf erst recht bei Betrachtung der Überlebenskurven nach Kaplan und Meier deutlich. Durch die geringe Anzahl positiver Antigenexpression von CD44-v3 (1 Fall) und CD44-v6 (1 Fall) läßt sich keine Aussage bezüglich eines Effektes auf die tumorfreie Überlebenszeit treffen. Ebenso läßt die geringe Zahl von nur 4 positiven Fällen für CD44-v9 keine sicheren Rückschlüsse auf

eine evtl. Beeinflussung der Progredienzzeit zu. Die von Günthert et al., 1991 beschriebenen Ergebnisse, wonach die Einführung eines Gens, welches für CD44-v6 kodiert, in eine nicht-metastasierende Pankreaskarzinomzelllinie der Ratte diese Zellen zu außerordentlich starker Metastasierung befähigt, konnten anhand des verwendeten Materials für das Nierenzellkarzinom nicht nachvollzogen werden.

Weber et al. zeigten im Jahre 1996, daß das CD44-Gen für ein transmembranäres Protein kodiert, welches in verschiedenen molekularen Isoformen exprimiert wird, generiert durch alternatives Splicing und posttranslationale Modifikationen. Bestimmte CD44-Isoformen, welche die Aktivierung und Migration von Lymphozyten und Makrophagen regulieren, erhöhen möglicherweise auch das lokale Wachstum und die Metastasierung von malignen Zellen. Als ein Ligand für CD44 dient Hyaluronsäure (Aruffo et al., 1990; Culty et al., 1990; Lesley et al., 1990; Jacobson et al., 1984), welche durch Bindung an das aminoternale Ende von CD44 zelluläre Aggregation und Tumorzellwachstum zu fördern in der Lage ist. Krainer et al., 1991, beschrieben den Rezeptor als „Hyaladherin“. Ebenfalls Weber et al. konnten 1996 Osteopontin als einen zweiten Liganden von CD44 bestimmen. Osteopontin induziert zelluläre Chemotaxis aber nicht homotypische Aggregation von Zellen, für die Interaktion von Hyaluronsäure und CD44 gilt das Gegenteil. Diese Alternativen in der Reaktion von CD44 auf Bindung von entweder Osteopontin oder Hyaluronsäure werden möglicherweise von Tumorzellen dazu ausgenutzt, Hyaluronsäure-abhängiges Tumorzellwachstum und/oder Osteopontin-abhängige Metastasierung in infiltrierten Geweben zu imitieren.

CD44-h zeigte eine Zunahme der Expression mit abnehmendem Differenzierungsgrad des Tumors. Die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse über die Zunahme der Expression von CD44-h mit steigendem pT-Stadium sprechen für die o.g. Mechanismen. In den Ergebnissen dieser Arbeit wurde beschrieben, daß nicht direkt die zunehmende Expression von CD44-h die Prognose verschlechtert, sondern die Tatsache der Metastasierung. Aber es war auch durchaus der Zusammenhang zwischen einer verstärkten Expression und einem erhöhten Metastasierungsrisiko herzustellen. Aufgrund der Tatsache, daß die höhere Zugehörigkeit der stark CD44-h-exprimierenden Tumoren zu den M 1-Stadien als die der weniger stark oder gar nicht exprimierenden Tumoren nicht zufällig ist, sondern ein tatsächlicher, wie oben beschriebener biologischer Bezug besteht, so muß die zunehmende Expressionsstärke von CD44-h für das Nierenzellkarzinom als ungünstiger prognostischer Faktor gewertet werden.

6.4 E-Cadherin

E-Cadherin ist ein Zelladhäsionsmolekül aus der Gruppe der Cadherine, Ca^{++} -abhängiger interzellulärer transmembranärer Glykoproteine. Den Cadherinen kommt eine wichtige Rolle in der Organogenese und der Aufrechterhaltung der normalen Gewebestruktur und -funktion zu. Die verminderte Expression von E-Cadherin wird in der Dysfunktion von Zell-Zell-Adhäsion, welche zu Tumorinvasion und -metastasierung führen kann, mit als wichtigstes Ereignis auf molekularer Ebene angesehen. Das Entstehen eines malignen Tumors hängt mitunter von der Fähigkeit der Zellen ab, Zell-Zell-Adhäsion zu überwinden und in umliegendes Gewebe zu infiltrieren. E-Cadherin, das wichtigste Adhäsionsmolekül in epithelialen Verbänden, ist in vielen epithelialen Neoplasien nicht nachweisbar. Eine Wiederherstellung der adhäsiven Funktion von E-Cadherin in Zellkulturen von malignen Tumoren führt zur Umwandlung von invasivem zu benignem Zellwachstum. Becker et al., 1994, vermuteten aufgrund des Nachweises von abnormalen Gen-Transkripten in 13 von 26 diffus wachsenden Magen-Karzinomen mit verminderter Zell-Zell-Adhäsion, daß Mutationen im E-Cadherin-Gen zum histopathologischen Erscheinungsbild des Magenkarzinoms beitragen. In gesundem Gewebe der gleichen Patienten fanden sich die beschriebenen Veränderungen nicht. Perl et al. fanden im Jahre 1998 anhand eines transgenen Maus-Modells von Beta-Zell-Karzinomen des Pankreas, daß der Verlust der Expression von E-Cadherin mit dem Übergang von gut differenzierten Adenomen in invasive Karzinome zusammenhängt. Nach den Ergebnissen der Arbeit von Vestweber et al., 1985 und Tani et al., 1995, wonach E-Cadherin im distalen Tubulus sowie in den Sammelrohren jeweils stark exprimiert wird, kann man annehmen, daß Tumoren, welche ihren Ausgang von diesen Abschnitten des Nephrons nehmen, ebenfalls eine deutliche E-Cadherin-Expression aufweisen können. Nach Thoenes et al., 1986, handelt es sich hierbei um die chromophoben Nierenzellkarzinome, die gutartigen Onkozytome sowie um das Ductus-Bellini-Karzinom. Eine Bestätigung dieser Vermutung wurde in der vorliegenden Arbeit gefunden. In der vorliegenden Arbeit exprimieren sämtliche chromophoben Nierenzellkarzinome mäßig oder stark E-Cadherin, wobei die starke Expression deutlich überwiegt. Ebenfalls exprimieren 8 von 9 Onkozytomen E-Cadherin mäßig bzw. stark. Da leider nur 1 Fall eines Ductus-Bellini-Karzinoms vorliegt, kann hierüber keine vergleichbare Aussage gemacht werden. Die Stärke der Expression von E-Cadherin korreliert in vielen Untersuchungen (vgl. Behrens et al., 1989; Bringuier et al., 1993) positiv mit einer günstigen Prognose, daher sollte auch anhand der erhobenen Daten dieser Arbeit Ähnliches nachvollzogen werden können. Es zeigt sich tatsächlich, daß die Expressionsstärke

von E-Cadherin im Nierenzellkarzinom mit einem tumorfreien Überleben in positivem Sinne assoziiert ist. Man kann daher sagen, daß die Prognose eines Patienten mit einem Nierenzellkarzinom um so günstiger ist, je stärker das Tumorgewebe E-Cadherin exprimiert. In der vergleichsweise schlechten Prognose von Patienten mit bereits metastasiertem Leiden spiegelt sich die E-Cadherin-Expression ebenfalls wider. Patienten, deren Tumor bei Diagnosestellung bereits lymphogen metastasiert war, zeigen eine deutlich niedrigere Positivität für E-Cadherin (8,7%), als Patienten ohne Lymphknotenmetastasen (24,7%). Auch die Einteilung anhand des M-Stadiums läßt Beobachtungen in der gleichen Weise machen. Patienten des Tumorstadiums M 0 zeigen zu 25,2% Positivität, dagegen nur 15,2% derer im Stadium M 1. Für die Bedeutung von E-Cadherin bezüglich eines Effektes auf die progneßfreie Überlebenszeit läßt sich ähnliches sagen wie für CD44-h. Auch hier wird die vermeintliche Wirkung über die höhere Metastasierungswahrscheinlichkeit vermittelt. Allerdings besteht kein Zweifel daran, daß E-Cadherin als Zelladhäsionsmolekül wirkt und sein Expressionsverlust zur Auflockerung des Gewebeverbandes und daher bei Tumoren zu einem stärkeren Invasions- bzw. Metastasierungsverhalten führt. Es ist deshalb auch für E-Cadherin zumindest wahrscheinlich, daß die verminderte Expression als ein ungünstiger prognostischer Faktor angesehen werden kann.

6.5 PCNA

Proliferating Cell Nuclear Antigen wurde durch Immunfluoreszenzuntersuchungen entdeckt als ein Protein des Zellkerns, dessen Auftreten mit dem Proliferationsstatus der Zelle korreliert. PCNA wird maximal in der späten G1- und besonders in der S-Phase des Zellzyklus, in der die DNA-Synthese und –Verdoppelung stattfindet, exprimiert. Die Konzentration des Kofaktors PCNA ist dabei um so höher, je öfter sich die Zelle in der S-Phase befindet. Ein häufiges Durchlaufen der DNA-Synthesephase des Zellzyklus ist somit gleichbedeutend mit einer erhöhten Proliferationsrate der Zellen. Daher ist die Bestimmung der PCNA-Konzentration in einem Gewebe ein guter Marker dessen Proliferationsneigung. Für das Wachstum eines malignen Tumors, der sich durch Infiltration des Nachbargewebes und Metastasenbildung auszeichnet, gilt eine Verkürzung der Tumorverdopplungszeit als Ausdruck der erhöhten Proliferationsrate. Durch ein schnelleres Tumorwachstum kann es eher zu einem Einbruch in Blut- und Lymphgefäße kommen und damit möglicherweise zur Metastasierung, welche ihrerseits die Prognose des betroffenen Patienten entscheidend verschlechtert. Es ist eindeutig festzustellen, daß eine Erhöhung der Proliferationsrate mit zunehmender Entdifferenzierung der Tumorzellen sowie einem höheren Krankheitsstadium korreliert. Auch ist eine signifikante Verkürzung der progressionsfreien Überlebenszeit von Patienten zu beobachten, deren Tumor vermehrt PCNA exprimiert. Daher bestätigen die Ergebnisse der für diese Arbeit durchgeführten Untersuchungen zweifelsfrei die Bedeutung einer erhöhten Proliferation von Tumorzellen für eine Prognoseverschlechterung der an einem Nierenzellkarzinom erkrankten Patienten.

6.6 Abschließende Betrachtung

Die oben beschriebenen Fakten sowie die im Ergebnisteil erläuterten Daten lassen folgende Aussagen zu:

- Die Wahrscheinlichkeit einer Tumorprogression ist gering bei fehlender Expression von CD44-h, starker Expression von E-Cadherin oder unterdurchschnittlicher PCNA-Expression.
- Umgekehrt erhöht sich das Risiko einen Progreß zu erleiden, wenn der betreffende Tumor CD44-h-positiv ist, gar nicht, nur schwach oder mäßig stark E-Cadherin exprimiert oder überdurchschnittlich proliferativ aktiv ist.
- Patienten mit einem Tumor, welcher eine Expressionsratio >2 hat, haben eine besonders schlechte Prognose, bei einer Ratio=2 kann die Prognose als mäßig bezeichnet werden, eine Ratio <2 ist gleichbedeutend mit einer guten Prognose.

Die dargelegten Daten zeigen somit deutlich, daß anhand der Bestimmung der Expression von CD44-h, PCNA und E-Cadherin der klinische Verlauf einer Erkrankung an einem Nierenzellkarzinom unabhängig von anderen Parametern in gewissem Umfang vorhergesagt werden kann. Liegt zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits eine Fernmetastasierung vor, so erübrigt sich aufgrund der unerreichten prognostischen Aussagekraft der Tatsache einer Fernmetastasierung eine weitere immunhistochemische Diagnostik, die Parameter der histopathologischen Diagnostik treten ebenfalls in den Hintergrund.

Daher eignet sich die immunhistochemische Bestimmung der Expression der Zelladhäsionsmoleküle CD44-h und E-Cadherin sowie des Proliferationsmarkers PCNA und anschließende Berechnung des Expressionsverhältnisses besonders in den Fällen, in denen es noch nicht zu einer Fernmetastasierung gekommen ist zur Prognoseabschätzung.

7 Zusammenfassung

Die Ergebnisse dieser Arbeit können wie folgt zusammengefasst werden:

- Die progressionsfreie Überlebenszeit eines an einem Nierenzellkarzinom erkrankten Patienten ist umgekehrt proportional zur Stärke der Expression von CD44-h.
- Die Stärke Expression der CD44-Isoformen CD44-v3, CD44-v6 und CD44-v9 hat für die Prognose der Erkrankung keine Bedeutung.
- Die Expressionsstärke von E-Cadherin korreliert positiv mit der progressionsfreien Überlebenszeit.
- Nur gering proliferierende Tumoren gehen im Vergleich zu proliferativ stark aktiven Tumoren einher mit einer signifikant längeren progressionsfreien Überlebenszeit.
- Eine starke CD44-h-Expression, eine überdurchschnittliche PCNA-Expression sowie eine schwache oder negative Expression von E-Cadherin bedeuten ein stark erhöhtes Risiko für eine Progression der Tumorerkrankung.
- Anhand der Parameter CD44-h-, E-Cadherin- sowie PCNA-Expression lässt sich das biologische Potential des Nierenzellkarzinoms unabhängig von histopathologischen und klinischen Parametern sehr gut einschätzen und es kann eine Aussage über den weiteren Verlauf der Erkrankung getroffen werden.

8 Anhang

8.1 *Abbildungsverzeichnis*

Abbildung 1: Häufigkeit maligner Nierentumoren.....	4
Abbildung 2: Typen des Nierenzellkarzinoms und des Onkozytoms in phänotypischer Beziehung zum Nephron/Sammelrohrsystem (n. Störkel)	5
Abbildung 3: Hellzelliges Nierenzellkarzinom, Grad 2, K 1805/94, Vergrößerung 1:100.....	6
Abbildung 4: Ausschnitt aus Abbildung 3, Vergrößerung 1:200	6
Abbildung 5: Chromophil eosinophiles Nierenzellkarzinom, K 2662/93, Vergrößerung 1:1006	
Abbildung 6: Ausschnitt aus Abbildung 5, Vergrößerung 1:200	6
Abbildung 7: Chromophil basophiles Nierenzellkarzinom, K 5670/93, Vergrößerung 1:100...6	
Abbildung 8: Ausschnitt aus Abbildung 7, Vergrößerung 1:200	6
Abbildung 9: Spindelzelliges Nierenzellkarzinom, K 7052/93, Vergrößerung 1:100.....	7
Abbildung 10: Ausschnitt aus Abbildung 9, Vergrößerung 1:200	7
Abbildung 11: Ductus-Bellini-Karzinom der Niere, K 1348/95, Vergrößerung 1:100.....	7
Abbildung 12: Ausschnitt aus Abbildung 11, Vergrößerung 1:200	7
Abbildung 13: Onkozytom der Niere, K 3018/94, Vergrößerung 1:100.....	7
Abbildung 14: Ausschnitt aus Abbildung 13, Vergrößerung 1:200	7
Abbildung 15: Hellzelliges Nierenzellkarzinom Grad 1, K 9597560 1.2, 1:400	10
Abbildung 16: Chromophobes Nierenzellkarzinom Grad 2, K 9506734 1.1, 1:400	10
Abbildung 17: Hellzelliges Nierenzellkarzinom Grad 3, K 9509002 1.4, 1:400	10
Abbildung 18: Darstellung der Regionen von CD44-h und seiner Isoformen	20
Abbildung 19: Eingabemaske der Datenbank.....	34
Abbildung 20: Negativkontrolle, Haut	38
Abbildung 21: Positivkontrolle, Haut, CD44	38
Abbildung 22: Positivkontrolle, Haut, E-Cadherin.....	38
Abbildung 23: Positivkontrolle, Lymphknoten, PCNA.....	38
Abbildung 24: Fehlende Expression von CD44-h, Präparat-Nr. K 363/95 2, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung	38
Abbildung 25: Schwache Expression von CD44-h, Präparat-Nr. K 9506734 1.2, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung	38
Abbildung 26: Mäßig starke Expression von CD44-h, Präparat-Nr. K 9506734 1.2, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung	39

Abbildung 27: Starke Expression von CD44-h, Präparat-Nr. K 9509002 1.4, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung	39
Abbildung 28: Fehlende Expression von E-Cadherin, Präparat-Nr. K 9509002, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung	39
Abbildung 29: Schwache Expression von E-Cadherin, Präparat-Nr. K 6419/94, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung	39
Abbildung 30: Mäßig starke Expression von E-Cadherin, Präparat-Nr. K 1551/95, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung	39
Abbildung 31: Starke Expression von E-Cadherin, Präparat-Nr. K 9506734, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung	39
Abbildung 32: Unterdurchschnittliche Expression ($\leq 13\%$) von PCNA, Präparat-Nr. K 9507560, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung	40
Abbildung 33: Überdurchschnittliche Expression ($> 13\%$) von PCNA, Präparat-Nr. K 2027/93, 400-fache Vergrößerung, APAAP-Färbung	40
Abbildung 34: CD44-h-Expression in Beziehung zum Grading [1]	43
Abbildung 35: CD44-h-Expression in Beziehung zum Grading [2]	43
Abbildung 36: CD44-h-Expression in Beziehung zum pT-Stadium	43
Abbildung 37: CD44-h-Expression in Beziehung zum pN-Stadium.....	43
Abbildung 38: CD44-h-Expression in Beziehung zum Lk-Status.....	43
Abbildung 39: CD44-h-Expression in Beziehung zum M-Stadium	43
Abbildung 40: CD44-h-Expression in Beziehung zum Robson-Stadium	44
Abbildung 41: CD44-h-Expression in Beziehung zur Prognosegruppe nach Störkel.....	44
Abbildung 42: CD44-h-Expression in Beziehung zur Histologie	44
Abbildung 43: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum Grading [1].....	51
Abbildung 44: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum Grading [2].....	51
Abbildung 45: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum pT-Stadium.....	51
Abbildung 46: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum pN-Stadium	51
Abbildung 47: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum Lk-Status	51
Abbildung 48: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum M-Stadium	51
Abbildung 49: E-Cadherin-Expression in Beziehung zum Robson-Stadium.....	52
Abbildung 50: E-Cadherin-Expression in Beziehung zur Prognosegruppe nach Störkel	52
Abbildung 51: E-Cadherin-Expression in Beziehung zur Histologie.....	52
Abbildung 52: PCNA-Expression in Beziehung zum Grading [1].....	55
Abbildung 53: PCNA-Expression in Beziehung zum Grading [2].....	55

Abbildung 54: PCNA-Expression in Beziehung zum pT-Stadium	56
Abbildung 55: PCNA-Expression in Beziehung zum pN-Stadium.....	56
Abbildung 56: PCNA-Expression in Beziehung zum Lk-Status	56
Abbildung 57: PCNA-Expression in Beziehung zum M-Stadium	56
Abbildung 58: PCNA-Expression in Beziehung zum Robson-Stadium.....	56
Abbildung 59: PCNA-Expression in Beziehung zur Prognosegruppe nach Störkel	56
Abbildung 60: PCNA-Expression in Beziehung zur Histologie.....	57
Abbildung 61: CD44-h-Expression in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation.....	59
Abbildung 62: E-Cadherin-Expression in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation	59
Abbildung 63: PCNA-Expression in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation	60
Abbildung 64: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom Grading.....	66
Abbildung 65: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom pT-Stadium.....	66
Abbildung 66: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom pN-Stadium	67
Abbildung 67: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom Lk-Status	67
Abbildung 68: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom M-Stadium.....	68
Abbildung 69: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom Robson-Stadium...	68
Abbildung 70: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Histologie	69
Abbildung 71: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Prognosegruppe	69
Abbildung 72: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Stärke der CD44- h-Expression [1].....	72
Abbildung 73: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Stärke der CD- 44-h-Expression [2]	72
Abbildung 74: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Stärke der E- Cadherin-Expression [1]	73
Abbildung 75: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Stärke der E- Cadherin-Expression [2].....	73
Abbildung 76: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Stärke der PCNA- Expression.....	74
Abbildung 77: Progressionsfreie Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Expressions-Ratio	75

8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: TNM-System	8
Tabelle 2: Stadieneinteilung des Nierenzellkarzinoms nach Robson et al., 1969	11
Tabelle 3: Prognosescore des Nierenzellkarzinoms mit Definition von 3 Prognosegruppen...	12
Tabelle 4: Klinische Symptomatik des Nierenzellkarzinoms	13
Tabelle 5: Prognose des Nierenzellkarzinoms in Abhängigkeit verschiedener Kriterien	17
Tabelle 6: Zusammensetzung der Entwicklungslösung	28
Tabelle 7: Antikörperverdünnung für 60 Objektträger	28
Tabelle 8: Berechnung der Expressionsstärke	33
Tabelle 9: Einteilung in die Expressionsstärkeklassen	33
Tabelle 10: Ergebnisse der histopathologischen Untersuchungen an 189 primären Nierenzellkarzinomen und 9 Onkozytomen	35
Tabelle 11: Ergebnisse der APAAP-Färbung von 189 primären Nierenzellkarzinomen und 9 Onkozytomen	37
Tabelle 12: Ergebnisse der CD44-h-Expression	45
Tabelle 13: Ergebnisse der CD44-v3-Expression	46
Tabelle 14: Ergebnisse der CD44-v6-Expression	47
Tabelle 15: Ergebnisse der CD44-v9-Expression	48
Tabelle 16: Ergebnisse der E-Cadherin-Expression	53
Tabelle 17: Ergebnisse der PCNA-Expression [1]	57
Tabelle 18: Ergebnisse der PCNA-Expression [2]	58
Tabelle 19: Vergleich der Färbeergebnisse für Primärtumoren und Metastasen	60
Tabelle 20: Gegenüberstellung der Färbeergebnisse für Primärtumoren und zugehörige Metastasen	61
Tabelle 21: Definition des Krankheitsstadiums in der Nachbeobachtungszeit	62
Tabelle 22: Vergabe von Expressionswerten in Abhängigkeit der Expressionsstärke	75

8.3 Index

A

Ätiologie.....	3
Alkalische-Phosphatase-Anti-Alkalische-Phosphatase-Methode	<i>Siehe</i> APAAP-Methode
alternatives Splicing	19
Angiogramm.....	14
Anhang	85
Antikörper	25
APAAP-Komplex.....	25, 30
Ausscheidungsprogramm	14

B

Brückenantikörper	25
Brutschrank	29

C

Cadherine	21
Cavografie	14
CD44	19
Chemotherapie	15
Citratpuffer	27
Computertomographie.....	14
cr	62
Cyclin	23

D

Datenbank	33
Datenverarbeitung	33
Diskussion	77
DNA-Polymerase- δ	23
DNA-Synthese	82
Durchschnittsalter.....	25

E

E-Cadherin	21
Eingabemaske.....	34
Endantikörper	25
Entwicklung	32
Entwicklungslösung.....	28
Entwicklungspuffer	26
Eosin.....	27
Ergebnisse	35
Erkrankungsalter	3
Exakter Test nach Fisher	34
Expressions-Ratio.....	74
Expressionsstärke	32
Expressionsstärkeklasse	32

F

Färbung	31
Fixierung	31
Follow-up.....	62
Fragestellung.....	24

G

Gebrauchslösungen	26
Gegenfärbung.....	32
Glycergel.....	32
Grading	9

H

Hämalaun	27
Hämatoxylin-Eosin-Färbung.....	30
HE-Präparat	29
Hintergrundfärbung.....	30
Hyaluronsäure	20

I

Immunmodulationstherapie.....	15
Immunperoxidase-Methode	30
Interferon	15
Interleukin-2.....	15

K

Klinische Datenerhebung	33
-------------------------------	----

L

Link-Antikörper	25
Lymphokin-aktivierte Killer-Zellen.....	15
Lymphozyten-Homing-Rezeptor	19
Lymphozyten-Zirkulation	20

M

Metastasierung	13
Mikrotom	29
Mikrowellenherd.....	31
Mikrowelleninkubation	31

N

Nachbeobachtungszeiten.....	62
NaCl	26
Natriumacid	26

Natriumcitrat	27
N-Cadherin	21
ned	62
Neufuchsin	26

O

Objektträger	29
Osteopontin	79

P

p53	5
Patientenkollektiv	25
P-Cadherin	21
PCNA	23
PCNA-Index	23
pd	62
Prognose	16
Prognoseabschätzung	74
Prognoseparameter	16
Prognosescore nach Störkel	12
Proliferationsmarker	18
Propandiol	26

R

radikale Tumornephrektomie	15
Rinderserum	26
Robson-Stadien	11
RPMI 1640	26
RPMI-Lösung	26

S

Signaltransduktion	20
Signifikanzberechnung	34
Stadieneinteilung	14
Stammlösung A	27
Stammlösung B	27

Stärkegrad	32
Stauffer-Syndrom	13
Symptome	13
Systemischer Lupus erythematoses	23

T

Therapie	15
TNM-System	8
Tris-Base	26
Tris-HCl	26
Tumor-Suppressorgens	5
T-Zell-Aktivierung	20

U

Ultraschalluntersuchung	14
Untersuchungsmaterial	25
Uvomorulin	21

V

von-Hippel-Lindau-Syndrom	3
Vorversuche	29

W

Waschpuffer	26
Wasserbad	29
Wilcoxon-Gehan-Statistik	34

Z

Zelladhäsionsmoleküle	18
Zitronensäure	27
Zusammenfassung	84

8.4 Literaturverzeichnis

1. Ala-Kapee M , Forsberg UH, Jalkanen S, Schroder J
Mapping of gene for human lymphocyte homing receptor to the short arm of chromosome 11
(Abstract)
Cytogenet Cell Genet : 51 : 948 – 949 : 1989
2. American Cancer Society
Cancer facts and figures
Atlanta 1994
3. Anglard P, Trahan E, Liu S, Latif F, Merino MJ, Lerman MI, Zbar B, Linehan WM
Molecular and cellular characterization of human renal cell carcinoma cell lines
Cancer Res : 52 : 348 - 356 : 1992
4. Aruffo A, Stamenkovic I, Melnick M, Underhill CB, Seed B
CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate
Cell : 61 : 1303 - 1313 : 1990
5. Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, Becker I, Nekarda H, Siewert JR, Hoefler H
E-Cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas
Cancer Res : 54 : 226 - 237 : 1994
6. Behrens J, Birchmeier W, Goodman SL, Imhof BA
Dissociation of Madin-Darby canine kidney epithelial cells by the monoclonal antibody anti-arc-1: mechanistic aspects and identification of the antigen as a component related to uvomorulin.
J Cell Biol : 101 (4) : 1307 – 1315 : 1985
7. Behrens J, Mareel MM, van Roy FM, Birchmeier W
Dissecting tumor cell invasion: Epithelial cells acquire invasive properties after the loss of uvomorulin-mediated cell-cell adhesion
J Cell Biol : 108 : 2435 - 2447 : 1989
8. Berx G, Cleton-Jansen AM, Nollet F, de Leeuw WJF, van de Vijver MJ, Cornelisse C, van Roy F
E-Cadherin is a tumor/invasion suppressor gene mutated in human lobular breast cancers
EMBO J : 14 : 6107 - 6115 : 1995
9. Bischoff W, Sommerkamp H
Preoperative diagnosis in malignant kidney tumors.
Dtsch Med Wochenschr : 102 (31) : 1125 – 1126 : 1977
10. Bravo R et al.
Synthesis of the nuclear protein cyclin (PCNA) and its relationship with DNA replication
Exp Cell Res : 163 : 287 - 293 : 1986
11. Bravo R, Frank R, Blundell PA, MacDonald-Bravo H
Cyclin-PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-d
Nature : 326 : 515 - 517 : 1987

12. Bringuier PP, Bouvier R, Berger N, Piaton E, Revillard JP, Perrin P, Devonec M
DNA ploidy status and DNA content instability within single tumors in renal cell carcinoma
Cytometry : 14 (5) : 559 - 564 : 1993

13. Bringuier PP, Umbas R, Schaafsma HE, Karthaus HF, Debruyne FM, Schalken JA
Decreased E-Cadherin immunoreactivity correlates with poor survival in patients with bladder tumors
Cancer Res : 53 (14) : 3241 - 3245 : 1993

14. Buzaid AC, Todd MB
Therapeutic options in renal cell carcinoma
Semin Oncol : 16 (1 Suppl 1) : 12 - 19 : 1989

15. Celis JE, Celis A
Cell cycle-dependent variations in the distribution of the nuclear protein cyclin
proliferating cell nuclear antigen in cultured cells: subdivision of S phase
Proc Natl Acad Sci : 82 (10) : 3262 - 3266 : 1985

16. Chen LZ, Harris PC, Apostolou S, Baker E, Holman K, Lane SA, Nancarrow JK,
Whitmore SA,
Stallings RL, Hildebrand CE, Richards RI, Sutherland GR, Callen DF
A refined physical map of the long arm of human chromosome 16
Genomics : 10 : 308 - 312 : 1991

17. Cheng WS, Farrow GM, Zincke H
The incidence of multicentricity in renal cell carcinoma
J Urol : 146 : 1221 - 1223 : 1991

18. Cordell JL, Falini B, Erber WN, Ghosh AK, Abdulaziz Z, MacDonald S, Pulford KAF,
Stein H, Mason DY
Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline
phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAP complexes)
J Histochem Cytochem : 32 (2) : 219 - 229 : 1984

19. Cronin KJ, Williams NN, Kerin MJ, Creach TA, Dervan PA, Smith JM, Fitzpatrick JM
Proliferating cell nuclear antigen: a new prognostic indicator in renal cell carcinoma
J Urol : 152 : 834 - 836 : 1994

20. Culty M, Nguyen HA, Underhill CB
The hyaluronan receptor (CD44) participates in the uptake and degradation of hyaluronan
J Cell Biol : 116 : 1055 - 1062 : 1992

21. Delahunt B, Bethwaite PB, Nacey JN, Ribas JL
Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression as a prognostic indicator for renal cell
carcinoma: comparison with tumor grade, mitotic index and silver-staining nucleolar
organizer region numbers
J Pathol : 170 (4) : 471 - 477 : 1993

22. Denning SM, Le PT, Singer KH, Haynes BF
Antibodies against the CD44 p80 lymphocyte homing receptor molecule augment human peripheral blood T cell activation
J Immunol : 144 : 7 - 15 : 1990

23. Eidelmann S, Damsky CH, Wheelock MJ, Damjanov I
Expression of the cell-cell adhesion glycoprotein Cell-CAM 120/80 in normal human tissues and tumors
Am J Pathol : 135 : 101 - 110 : 1989

24. Fischer CG, Waechter W, Kraus S, Perez EF, Weidner W, Dudeck J
Urologic tumors in the Federal Republic of Germany: data on 56.013 cases from hospital cancer registries
Cancer : 82 (4) : 775 - 783 : 1998

25. Forsberg UH, Ala-Kapee MM, Jalkanen S, Andersson LC, Schroder J
The gene for human lymphocyte homing receptor is located on chromosome 11.
Eur J Immunol : 19 (2) : 409 - 412 : 1989

26. Frixen UH, Behrens J, Sachs M, Eberle G, Voss B, Warda A, Lochner D, Birchmeier W
E-cadherin-mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells :
J Cell Biol : 113 (1) : 173 - 185 : 1991

27. Gallatin WM, Rosenman SJ, Ganji A, St.John TP
Structure-function relationships of the CD44 class of glycoproteins
Cell Mol Med Inf : 2 : 131 - 150 : 1991

28. Goldstein LA, Zhou DF, Picker LJ, Minty CJ, Bargatze RF, Ding JF, Butcher EC
A human lymphocyte homing receptor, the hermes antigen, is related to cartilage proteoglycan core and link proteins
Cell : 56 (6) : 1063 - 1072 : 1989

29. Günthert U, Hofmann M, Rudy W, Reber S, Zöller M, Haussmann I, Matzku S, Wenzel A, Ponta H, Herrlich P
A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells
Cell : 65 : 13 - 24 : 1991

30. Huet S, Groux H, Caillou B, Valentin H, Prieur AM, Bernard A
CD44 contributes to T cell activation
J Immunol : 143 (3) : 798 - 801 : 1989

31. Hynes RO et al.
Specificity of cell adhesion in development: the cadherin superfamily
Curr Opin Genet Dev : 2 (4) : 621 - 623 : 1992

32. Jacobson K, O'Dell D, Holifield B, Murphy TL, August JT
Redistribution of a major cell surface glycoprotein during cell movement
J Cell Biol : 99 (5) : 1613 - 1623 : 1984

33. Jalkanen S, Wu N, Bargatze RF, Butcher EC
Human lymphocyte and lymphoma homing receptors
Annu Rev Med : 38 : 467 – 476 : 1986
34. Jalkanen S, Bargatze RF, De los Toyos J, Butcher EC
Lymphocyte recognition of high endothelium: antibodies to distinct epitopes of an 85-95 kD glycoprotein antigen differentially inhibit lymphocyte binding to lymph node, mucosal or synovial endothelial cells
J Cell Biol : 105 : 983 - 990 : 1987
35. Kamel D, Turpeenniemi-Hujanen T, Vähäkangas K, Pääkkö P, Soini Y
Proliferating cell nuclear antigen but not p53 or human papillomavirus DNA correlates with advanced clinical stage in renal cell carcinoma
Histopathology : 25 (4) : 339 - 347 : 1994
36. Katagiri A, Watanabe R, Tomita Y
E-Cadherin expression in renal cell cancer and its significance in metastasis and survival
Br J Cancer : 71 (2) : 376 - 379 : 1995
37. Krainer AR, Mayeda A, Kozak D, Binns G
Functional expression of cloned human splicing factor SF2: homology to RNA-binding proteins, U1 70K and *Drosophila* splicing regulators
Cell : 66 : 383 – 394 : 1991
38. Lesley J, Schulte R, Hyman R
Binding of hyaluronic acid to lymphoid cell lines is inhibited by monoclonal antibodies against Pgp-1
Exp Cell Res : 187 (2) : 224 – 233 : 1990
39. Lesley J, He Q, Miyake K, Hamann A, Hyman R, Kincade PW
Requirements for hyaluronic acid binding by CD44: a role for the cytoplasmic domain and activation antibody
J Exp Med : 175 : 257 - 266 : 1992
40. Lesley J, Kincade P, Hyman R
Antibody-induced activation of the hyauronan receptor function of CD44 requires multivalent binding by antibody
Eur J Immunol : 23 : 1902 - 1909 : 1993
41. Ljungberg B, Joanssen H, Stenling R
Prognostic factors in renal cell carcinoma
Int Urol Nephrol : 20 : 115 - 121 : 1988
42. Ljungberg B, Stenling R, Roos G
Tumor spread and DNA content in human renal cell carcinoma
Cancer Res : 48 (11) : 3165 - 3167 : 1988
43. Mackay CR, Terpe HJ, Stauder R, Marston WL, Stark H, Günthert U
Expression and modulation of CD44 variant isoforms in humans
J Cell Biol : 124 : 71 - 82 : 1994

44. Mani S, Poo WJ :
Single institution experience with recombinant gamma-interferon in the treatment of patients with metastatic renal cell carcinoma
Am J Clin Oncol : 19 (2) : 149 - 153 : 1996
45. Mani S, Todd M, Poo WJ
Recombinant beta-interferon in the treatment of patients with metastatic renal cell carcinoma
Am J Clin Oncol : 19 (2) : 187 - 189 : 1996
46. Mansouri A, Goodfellow PN, Kemler R
Molecular cloning and chromosomal localization of the human cell adhesion molecule uvomorulin (UVO)
Cytogenet Cell Genet : 46 : 655 : 1987
47. Mansouri A, Spurr N, Goodfellow PN, Kemler R
Characterization and chromosomal localization of the gene encoding the human cell adhesion molecule uvomorulin
Differentiation : 38 : 67 - 71 : 1988
48. Matsumura Y, Tarin D
Significance of CD44 gene products for cancer diagnosis and disease evaluation
Lancet : 340 : 1053 - 1058 : 1992
49. Mayer B, Johnson JP, Leitl F, Jauch KW, Heiss MM, Schildberg FW, Birchmeier W, Funke I
E-Cadherin expression in primary and metastatic gastric cancer: Down-regulation correlates with cellular dedifferentiation and glandular disintegration
Cancer Res : 53 : 1690 - 1695 : 1993
50. Medeiros LJ, Gelb AB, weiss LM
Renal cell carcinoma. Prognostic significance of morphologic parameters in 121 cases
Cancer : 61 : 1639 - 1651 : 1988
51. Melnick SJ, Amazon K, Dembrow V
Metastatic renal cell carcinoma presenting as a parotid tumor: a case report with immunohistochemical findings and a review of the literature
Hum Pathol : 20 : 195 - 197 : 1989
52. Miyachi K, Fritzler MJ, Tan EM
Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells
J Immunol : 121 : 2228 - 2234 : 1978
53. Mostofi FK et al.
Histological typing of kidney tumours
Int Histol Classification of Tumours, No. 25, WHO Geneva : 0 : 0 : 1981
54. Müller-Mattheis V, Hagen M, Frenzel H, Ackermann R
Seltene Metastasierungsform des Nierenzellkarzinoms. Fallbericht über eine intraorale Weichteilmetastase
Urologe A : 28 (6) : 355 - 358 : 1989

55. Muss HB et al.
The use of interferon in renal cell carcinoma
Eur J Cancer : 27 (4) : 84 - 87 : 1991
56. Natt E, Magenis RE, Zimmer J, Mansouri A, Scherer G
Regional assignment of the human loci for uvomorulin (UVO) and chymotrypsinogen B (CTRB) with the help of two overlapping deletions on the long arm of chromosome 16
Cytogenet Cell Genet : 50 (2-3) : 145 - 148 : 1989
57. Nissenkorn I, Bernheim J
Multicentricity in renal cell carcinoma
J Urol : 153 : 620 - 622 : 1995
58. Nouwen EJ, Dauwe S, van der Biest I, De Broe ME
Stage- and segment-specific expression of cell-adhesion molecules N-CAM, A-CAM and L-CAM in the kidney
Kidney Int : 44 (1) : 147 - 158 : 1993
59. Oka H, Shiozaki H, Kobayashi K, Tahara H, Tamura S, Miyata M, Doki Y, Iihara K, Matsuyoshi N, Hirano S, Takeichi M, Mori T
Immunohistochemical evaluation of E-Cadherin adhesion molecule expression in human gastric cancer
Virchows Archiv A Pathol Anat : 421 : 149 - 156 : 1992
60. Omary MB, Kelleher D, Kagnoff MF
An 80 to 85 kilodalton human phosphoglycoprotein associated with cell activation
J Immunol : 141 (10) : 3492 - 3497 : 1988
61. Omary MB, Trowbridge IS, Letarte M, Kagnoff MF, Isacke CM
Structural heterogeneity of human Pgp-1 and its relationship with p85
Immunogenetics : 27 (6) : 460 - 464 : 1988
62. Perl AK, Wilgenbus P, Dahl U, Semb H, Christofori G
A causal role for E-Cadherin in the transition from adenoma to carcinoma
Nature : 392 : 190 - 193 : 1998
63. Picker LJ, Nakache M, Butcher EC
Monoclonal antibodies to human lymphocyte homing receptors define a novel class of adhesion molecules on diverse cell types
J Cell Biol : 109 (2) : 927 - 937 : 1989
64. Prelich G, Tan CK, Kostura M, Mathews MB, So AG, Downey KM, Stillman B
Functional identity of proliferating cell nuclear antigen and a DNA polymerase- δ auxiliary protein
Nature : 326 : 517 - 520 : 1987
65. Rao VVNG, Schnittger S, Hansmann I
Chromosomal localization of the human proliferating cell nuclear antigen (PCNA) gene to or close to 20p12 by in situ hybridization
Cytogenet Cell Genet : 56 : 169 - 170 : 1991

66. Reid T, Flint MH
Changes in glycosaminoglycan content of healing rabbit tendon
J Embryol Exp Morphol : 31 : 489 - 495 : 1974
67. Reiter RE, Anglard P, Liu S, Gnarra JR, Linehan WM
Chromosome 17p deletions and p53 mutations in renal cell carcinoma :
Cancer Res : 53 (13) : 3092 - 3097 : 1993
68. Robson CJ, Churchill BM, Anderson W
The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma
J Urol : 101 : 297 - 301 : 1969
69. Schlehofer B, Pommer W, Mellempgaard A, Stewart JH, McCredie M, Niwa S, Lindblad P, Mandel JS, McLaughlin JK, Wahrendorf J
International renal-cell-cancer study. VI. The role of medical and family history
Int J Cancer : 66 (6) : 723 - 726 : 1996
70. Schubert GE
Nierenkarzinom
Pathologie (Remmele W, Hrsg.), Bd. 3 : 0 : 93 - 100 : 1984
71. Sreaton GR, Bell MV, Bell JI, Jackson DG
The identification of a new alternative exon with highly restricted tissue expression in transcripts encoding the mouse Pgp-1 (CD44) homing receptor. Comparison of all 10 variable exons between mouse, human and rat
J Biol Chem : 268 (17) : 12235 - 12238 : 1993
72. Sreaton GR, Bell MV, Jackson DG, Cornelis FB, Gerth U, Bell JI
Genomic structure of DNA encoding the lymphocyte homing receptor CD44 reveals at least 12 alternatively spliced exons.
Proc Natl Acad Sci USA : 89 (24) : 12160 - 12164 : 1992
73. Shi SR, Key ME, Kalra KL
Antigen retrieval in formalin fixed, paraffin embedded tissues, an enhancement method for immunohistochemical method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections
J Histochem Cytochem : 39 (6) : 741 - 748 : 1991
74. Shimizu Y, van Seventer GA, Siraganian R, Wohl L, Shaw S
Dual role of CD44 molecule in T cell adhesion and activation
J Immunol : 143 : 2457 - 2463 : 1989
75. Stambolis C, Doppel W, Kracht J
Das Nierenzellkarzinom
Med Welt NF : 32 : 1283 - 1288 : 1981
76. Stamenkovic I, Aruffo A, Amiot M, Seed B
The hematopoietic and epithelial forms of CD44 are distinct polypeptides with different adhesion potentials for hyaluronate-bearing cells
EMBO J : 10 (2) : 343 - 348 : 1991

77. Stefanova I, Hilgert I, Bazil V, Kristofova H, Horejsi V
Human leucocyte surface glycoprotein CDw44 and lymphocyte homing receptor are identical molecules
Immunogenetics : 29 (6) : 402 – 404 : 1989
78. Steinbach F, Thüroff JW, Stöckle M, Furrer A, Riedmiller H, Diewel R, Hohenfellner R
Organerhaltende Chirurgie des Nierenzellkarzinoms. Operative Technik, Ergebnisse, Komplikationen
Dtsch Med Wochenschr : 116 : 121 - 127 : 1991
79. Störkel S
Carcinoma and oncocytoma of the kidney. Phenotypic characteristics and prognostic features
Veröff Pathol : 140 : 1 - 165 : 1993
80. Störkel S, Rumpelt HJ, Jacobi GH, Lippold R, Thoenes W
Prognosekriterien beim Nierenzellkarzinom
Verh Dtsch Ges Path : 70 : 635 : 1986
81. Störkel S, Thoenes W, Jacobi GH, Engelmann U, Lippold R
Prognostic parameters of renal cell carcinoma
Eur J Urol : 18 : 36 - 37 : 1990
82. Suzuka I, Daidoli H, Matsuoka M, Kadowaki K, Takasaki Y, Nakane PK, Moriuchi T
Gene for proliferating cell nuclear antigen (DNA polymerase delta auxiliary protein) is present in both mammalian and higher plant genomes
Proc Natl Acad Sci : 86 : 3189 - 3193 : 1989
83. Takasaki Y, Deng JS, Tan EM
A nuclear antigen associated with cell proliferation and blast transformation
J Exp Med : 154 (6) : 1899 – 1909 : 1981
84. Takeichi M
Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenic regulator
Science : 251 : 1451 - 1455 : 1991
85. Tani T, Laitinen L, Kangas L, Lehto VP, Virtanen I
Expression of E- and N-Cadherin in renal cell carcinomas, in renal cell carcinoma cell lines in vitro and in their xenografts
Int J Cancer : 64 (6) : 407 - 414 : 1995
86. Tanioka F, Hiroi M, Yamane T, Hara H
Proliferating cell nuclear antigen (PCNA), immunostaining and flow cytometric DNA analysis of renal cell carcinoma
Zentralbl Pathol : 139 (3) : 185 - 193 : 1993
87. Terpe HJ, Störkel S, Zimmer U, Anquez V, Fischer C, Pantel K, Günthert U
Expression of CD44 isoforms in renal cell tumors. Positive correlation to tumor differentiation
Am J Pathol : 148 : 453 - 463 : 1996

88. Thoenes W, Rumpelt HJ, Störkel S
Klassifikation der Nierenzelltumoren und ihre Beziehung zum Nephron-Sammelrohrsystem
Klin Wochenschr : 68 : 1102 - 1111 : 1990 (b)
89. Thoenes W, Störkel S
Die Pathologie der benignen und malignen Nierenzelltumore
Urologe [A], Urologe [B] : 30, 31 : 6, 6 : 1991
90. Thoenes W, Störkel S, Rumpelt HJ
Histopathology and classification of renal cell tumors (adenomas, oncocytomas and carcinomas). The basic cytological and histopathological elements and their use for diagnostics.
Pathol Res Pract : 181 (2) : 125 - 143 : 1986
91. Thoenes W, Störkel S, Rumpelt HJ, Jacobi GH
Das Nierenzellkarzinom - eine Systematik aufgrund zytomorphologischer Merkmale
Zentralbl Allg Pathol : 132 : 503 - 513 : 1986 (b)
92. Thoenes W, Störkel S, Rumpelt HJ, Moll R
Cytomorphological typing of renal cell carcinoma - a new approach
Eur Urol : 18 : 6 - 9 : 1990 (a)
93. Travali S, Ku DH, Rizzo MG, Ottavio L, Baserga R, Calabretta B
Structure of the human gene for the proliferating cell nuclear antigen
J Biol Chem : 264 : 7466 - 7472 : 1989
94. Underhill CB
The interaction of hyaluronate with the cell surface: the hyaluronate receptor and the core protein
Ciba Found Symp : 143 : 87 - 99 : 1989
95. Vestweber D, Kemler R, Ekblom P
Cell-adhesion molecule uvomorulin during kidney development
Dev Biol : 112 : 213 - 221 : 1985
96. von Roemeling R, Rabatin JT, Fraley EE, Hrushesky WJ
Progressive metastatic renal cell carcinoma controlled by continuous 5-fluoro-2-deoxyuridine infusion
J Urol : 139 (2) : 259 - 262 : 1988
97. Wartiovaara et al.
Studies on kidney tubulogenesis. V. Electron-microscopy of basement membrane formation in vitro.
Ann Med Exp Biol Fenn : 44 (2) : 140 - 150 : 1966
98. Weber GF, Ashkar S, Glimcher MJ, Cantor H
Receptor-ligand interaction between CD44 and osteopontin (Eta-1)
Science : 271 : 509 - 512 : 1996

99. Zbar B, Brauch H, Talmadge C, Linehan M

Loss of alleles of loci on the short arm of chromosome 3 in renal cell carcinoma

Nature : 327 (6124) : 721 - 724 : 1987

8.5 Vorträge und Veröffentlichungen

Georg C, Fischer CG, Terpe HJ, Störkel S, Schulz A, Weidner W

Significance of CD44-h / -v and E-Cadherin expression for progression in renal cell carcinoma.

Forschungstag Uroonkologie, Gießen (1997)

Georg C, Fischer CG, Terpe HJ, Störkel S, Schulz A, Weidner W

Klinische Daten zur prognostischen Bedeutung von Zelladhäsionsmolekülen beim Nierenzellkarzinom in n=137 Fällen

Symposium Nierenzellkarzinom, Tübingen (1998)

Fischer CG, **Georg C**, Lüdecke G, Terpe HJ, Schulz A, Störkel S, Weidner W

Die Bedeutung von CD44-h, E-Cadherin und PCNA für die klinische Progressionstendenz des Nierenzellkarzinoms

49. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Urologie, Wiesbaden (1997)

Urologe A, Suppl. 1/97, Abstract P9.1 (1997)

Fischer CG, **Georg C**, Kraus S, Schulz A, Weidner W

Significance of CD44-h, -v and E-Cadherin expression for progression in renal cell carcinoma
92. Meeting American Urological Association, New Orleans (1997)

J Urol, Suppl. 157/4, Nr. 1077, S. 277 (1997)

Fischer CG, **Georg C**, Kraus S, Terpe HJ, Lüdecke G, Weidner W

CD44-s, E-Cadherin and PCNA as markers für progression in renal cell carcinoma

Anticancer Res, 19 (2C), S. 1513 – 1517 (1999)

8.6 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Christian Georg
Wohnort Goethestraße 70
35390 Gießen
Telefon/Fax 0641 / 74549
eMail Christian.Georg@innere.med.uni-giessen.de
Geburtsdatum 26. Januar 1971
Geburtsort Neustadt an der Weinstraße
Familienstand verheiratet, 1 Kind
Religion römisch-katholisch

Schulbildung

08/77 – 07/81 Grundschule Neustadt-Gimmeldingen
08/81 – 07/87 Staatl. Leibniz-Gymnasium Neustadt an der Weinstraße
08/87 – 05/90 Staatl. Käthe-Kollwitz-Gymnasium Neustadt an der Weinstraße

Studium

10/90 – 04/91 Universität Kaiserslautern
Studium der Mathematik und Informatik
04/91 – 10/94 Universität Mainz
Studium der Humanmedizin
10/94 – 10/97 Universität Gießen
Studium der Humanmedizin

Berufstätigkeit

02/98 – 07/99 Arzt im Praktikum an der III. Medizinischen Klinik und
Poliklinik des Zentrums für Innere Medizin der
Justus-Liebig-Universität Gießen
seit 8/99 Assistenzarzt an der Abteilung für Radiologische Diagnostik der
Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Sonstiges

1993 – 1994 Regelmäßige Nachtdiensttätigkeit in der Klinik für Neurologie,
Universitätsklinik Mainz
1995 – 1996 Studentische Hilfskraft in der Klinik für Urologie,
Universitätsklinik Gießen
seit 1994 Mitglied im Katholischen Studentenverein Ketteler im KV zu
Mainz

8.7 Danksagung

Herrn Prof.Dr.med. W. Weidner gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas und die Bereitstellung von Mitteln zur Durchführung dieser Arbeit.

Danken möchte ich auch Herrn PD Dr.med. C.G. Fischer für die wertvolle Unterstützung, die gute Zusammenarbeit und die jederzeit mögliche und fruchtbare Diskussion. Herrn PD Dr.med. H.-J. Terpe, der mich seinerzeit im Institut für Pathologie mitbetreut hatte, danke ich für die hervorragende Zusammenarbeit und seine Hilfe bei den histologischen Auswertungen.

Herrn Dr.med. F.E. Franke sei ebenfalls für die vielfältige Unterstützung im Rahmen der histologischen Arbeiten gedankt.

Danken möchte ich in diesem Zusammenhang auch Herrn Prof.Dr.med. A. Schulz für die Möglichkeit zur Arbeit im Labor des Instituts für Pathologie.

Den Mitarbeitern des Wissenschaftlichen Labors der Klinik für Urologie, insbesondere Herrn Dipl.Phys. J. Kraushaar sei gedankt für die Hilfe beim Anfertigen der Fotoarbeiten und der Literaturrecherche.

Schließlich danke ich ganz herzlich meiner Frau für die Jahre, in denen sie jederzeit für mich da war und in denen sie durch Kritik und Motivation zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Christian Georg