

Aus der Universitätsklinik für Urologie Tübingen

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. A. Stenzl

**Retrospektive immunhistochemische Untersuchungen
zur Expression von Ksp-Cadherin an verschiedenen
Subtypen des Nierenzellkarzinoms und des
Onkozytoms der Niere mittels der
Tissue Microarray Technik**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Lisa-Marie Kristin Geiger

aus

Tübingen

2012

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. A. Stenzl

2. Berichterstatter: Professor Dr. F. Fend

„Gehe nicht, wohin der Weg führen mag, sondern dorthin,
wo kein Weg ist, und hinterlasse eine Spur.“

(Jean Paul)

Meinen Eltern gewidmet

Abkürzungsverzeichnis	IV
1. Einleitung	1
1.1 Epidemiologie und Ätiologie der Nierentumoren	1
1.2 Unterschiedlicher klinischer Verlauf der malignen Nierentumoren und des benignen Onkozytoms sowie histopathologische und molekulargenetische Charakteristika	2
1.2.1 Klarzelliges Nierenzellkarzinom	6
1.2.2 Papilläre Nierentumore	7
1.2.3 Chromophobe Nierentumore	7
1.2.4 Onkozytom	9
1.3 Präoperative Diagnostik und Therapie	10
1.3.1 Rolle der Bildgebung zur Differenzierung zwischen benignen und malignen Tumoren	10
1.3.2 Weitere Diagnoseverfahren und klinische Wertigkeit der Nierenbiopsie zur Abklärung von renalen Raumforderungen	11
1.3.3 Operative Therapie	13
1.3.4 Verbesserung der präoperativen Diagnostik durch neue immunhistochemische Marker	15
1.3.5 Zelladhäsion und Zelladhäsionsmoleküle	16
1.3.6 Ksp-Cadherin	17
1.4 Fragestellung	19
2. Material und Methoden	20
2.1 Material	20
2.1.1 Patientenkollektiv und Datenerhebung	20
2.1.2 Untersuchungsmaterial	22
2.2. Methode	22
2.2.1 Tissue Microarray Technik – Vorteile und Herstellung	22
2.2.2 Immunhistochemie	24
2.2.2.1 Entparaffinierung	24
2.2.2.2 Inaktivierung endogener Peroxidase	24
2.2.2.3 Demaskierung durch Mikrowelleninkubation	24
2.2.2.4 Avidin-Biotin Block	25
2.2.2.5 Primärantikörper	25
2.2.2.6 Sekundärantikörper	25
2.2.2.7 Avidin-Biotin-Komplex-Methode	26
2.2.2.8 Hämatoxylin-Färbung	26
2.2.2.9 Negativ- und Positivkontrolle	26
2.3 Auswertung	27
2.3.1 Dokumentation	27
2.3.2 Bewertung der Färbeergebnisse	27
2.3.3 Auswertung der Gewebeproben	28
2.3.4 Statistische Auswertung	29
3. Ergebnisse	30
3.1 Membranöse und zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin im proximalen und distalen Tubulus des gesunden Nierenparenchyms	30

3.2 Membranöse und zytoplasmatische Expression von KSP-Cadherin in den malignen Tumorsubgruppen und dem Onkozytom.....	32
3.2.1 Klarzellige Nierenzellkarzinome	32
3.2.2 Papilläre Nierentumoren	35
3.2.3 Chromophobe Nierentumoren.....	38
3.2.4 Onkozytome	41
3.3 Statistische Auswertung der Ksp-Cadherin-Expression im normalen Nierenparenchym und den Tumorsubgruppen	44
3.3.1 Unterschiede der Ksp-Cadherin-Expression innerhalb des normalen Nierengewebes	44
3.3.2 Unterschiede der Ksp-Cadherin-Expression zwischen dem normalen Nierengewebe und den Tumorsubgruppen.....	44
3.3.3 Unterschiede der Ksp-Cadherin-Expression zwischen den Tumorsubgruppen.....	45
3.4 Membranöse und zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin in den Tumorsubgruppen in Bezug auf das TNM- und G-Stadium sowie auf die TumorgroÙe	47
3.4.1 Klarzellige Nierenzellkarzinome	47
3.4.1.1 T-Stadium	47
3.4.1.2 N-Stadium.....	47
3.4.1.3 M-Stadium	48
3.4.1.4 G-Stadium	48
3.4.1.5 TumorgroÙe.....	49
3.4.2 Papilläre Nierentumore	50
3.4.2.1 T-Stadium	50
3.4.2.2 N-Stadium.....	51
3.4.2.3 M-Stadium	51
3.4.2.4 G-Stadium	52
3.4.2.5 TumorgroÙe.....	52
3.4.3 Chromophobe Nierentumoren.....	53
3.4.3.1 T-Stadium	53
3.4.3.2 N-Stadium.....	54
3.4.3.3 M-Stadium	55
3.4.3.4 G-Stadium	56
3.4.3.5 TumorgroÙe.....	56
3.4.4 Onkozytome	57
3.4.4.1 TumorgroÙe.....	57
3.4.5 Tendenz der Ksp-Cadherin-Expression in den Tumorsubgruppen und in den malignen Tumoren zusammengefasst im Hinblick auf die tumorbiologischen Eigenschaften	58
4. Diskussion	59
4.1 Schlussfolgerung und Ausblick.....	67
5. Zusammenfassung.....	69
6. Verzeichnisse	71
6.1 Abbildungsverzeichnis	71
6.2 Tabellenverzeichnis	72

6.3 Literaturverzeichnis.....	73
7. Anhang	90
8. Danksagung.....	93

Abkürzungsverzeichnis

%	-	Prozent
®	-	geschützter Markenname
°C	-	Grad Celcius
µm	-	Mikrometer
A. dest.	-	Aqua destillata
ABC – Methode	-	Avidin-Biotin-Komplex Methode
bzw.	-	beziehungsweise
CC NZK	-	klarzellige Nierenzellkarzinome
Chr NT	-	chromophober Nierentumor
cm	-	Zentimeter
CT	-	Computertomographie
DAB	-	3,3'- Diamminobenzidin
DT	-	distaler Tubulus
FCRC	-	Familial Clear-Cell Renal Cancer
GF	-	Großflächen Schnitt
H ₂ O ₂	-	Wasserstoffperoxyd
HCL	-	Salzsäure
HLRCC	-	Hereditary Leiomyomatosis and Renal-Cell Cancer
HPRC	-	Hereditary Papillary Renal Carcinoma
HPT-1- Cadherin	-	Cadherin der Gruppe „Liver intestine Cadherin“ (Leber-Darm-Cadherin)
Ig	-	Immunglobulin
IRS	-	Immunreaktiver Punktwert
kDA	-	kilo Dalton
Ksp	-	Kideney specific-cadherin
Ksp-Cadherin	-	Kideney specific-cadherin
LI-Cadherin	-	Cadherin der Gruppe „Liver intestine Cadherin“ (Leber-Darm-Cadherin)
M	-	Männer
Max	-	Maximal
Min	-	Minimal

mm	-	Millimeter
MRT	-	Magnetresonanztomographie
NaCl	-	Natriumchlorid
NSCLC	-	Nicht kleinzelliges Bronchialkarzinom
NT	-	Nierentumoren
OP	-	Operation
Pap NT	-	papillärer Nierentumor
PCR	-	Polymerase-Kettenreaktion
pH	-	pH-Wert
PP	-	Prozentsatz positiver Zellen
PT	-	proximaler Tubulus
RNA	-	Ribonukleinsäure
SI	-	Staining Intensity (Färbeintensität)
SR	-	Sammelrohr
TBS	-	Tris-buffered Saline (Tris gepufferte Kochsalzlösung)
TBST	-	Tris-buffered Saline + Tween 20 (0,1%)
TMA	-	Tissue Microarray
TMT	-	Tissue Microarray Technik
TNM	-	Stadieneinteilung von malignen Krebserkrankungen
u. a.	-	unter anderem
v. a.	-	vor allem
VEGF	-	Vascular Endothelial Growth Factor
vergl.	-	vergleiche
VHL	-	von Hippel Lindau
W	-	Frauen
WHO	-	World Health Organization
z. B.	-	zum Beispiel

1. Einleitung

1.1 Epidemiologie und Ätiologie der Nierentumoren

Im Jahr 2010 erkrankten allein 58.240 Menschen in den USA an Nierenkrebs, davon 35.370 Männer und 22.870 Frauen. Dies macht den Nierenkrebs zur siebthäufigsten Tumorerkrankung des Mannes und zur achthäufigsten Tumorerkrankung der Frau⁷⁵. In Deutschland erkrankten im Jahre 2010 ca. 10.750 Männer und ca. 6.650 Frauen an einem Nierenkarzinom⁶⁸. Mit 4.593 Todesfällen bei Männern und 2.831 Todesfällen bei Frauen und einer altersstandardisierten Mortalitätsrate pro 100.000 von 5,19 (3,9% aller Krebstodesursachen) bzw. 2,13 (2,5% aller Krebstodesursachen) war dies im Jahr 2008 die acht- bzw. neunthäufigste Krebstodesursache in Deutschland^{41,42}. Im Hinblick auf die urologischen Tumoren ist das Nierenzellkarzinom der dritthäufigste Tumor mit der höchsten Mortalität¹⁰⁹. Circa 2 % aller Nierentumoren (NT) sind auf vererbte Syndrome zurückzuführen²⁹. NT lassen sich aufgrund ihrer unterschiedlichen histopathologischen Merkmale in verschiedene Subtypen einteilen. Die derzeit gültige Klassifikation wurde 2004 von der WHO (World Health Organization) publiziert⁴⁶ (vergl. Tabelle 1) und löste die bis dato gültige Heidelberger-Rochester-Klassifikation von 1997^{88,158} ab.

Potentielle Risikofaktoren zur Entwicklung eines NT sind unter anderem: Rauchen^{39,90,149}, Übergewicht^{26,129,134}, arterieller Hypertonus^{26,118,150} und phenacetinhaltige Medikamente^{113,114,118}. Diese Medikamente sind in Deutschland seit 1986 nicht mehr zugelassen⁵⁵. Weitere Risikofaktoren sind chronische Niereninsuffizienz²⁹ und genetische Dispositionen wie z. B. das autosomal dominant vererbte von Hippel-Lindau-Syndrom, bei dem oft schon in frühen Jahren multifokale klarzellige NT auftreten⁵⁹.

Nachstehend soll auf die histopathologischen Charakteristika und Unterscheidungsmöglichkeiten einiger Subtypen der NT, speziell des Onkozytoms, eingegangen werden.

1.2 Unterschiedlicher klinischer Verlauf der malignen Nierentumoren und des benignen Onkozytoms sowie histopathologische und molekulargenetische Charakteristika

Renale Tumoren machen sich klassischerweise durch die Virchow Trias Flankenschmerzen, Hämaturie und palpable abdominelle Vergrößerungen bemerkbar. Unspezifische Symptome sind: Müdigkeit, Gewichtsverlust und Anämie. Mikro- und Makrohämaturie können wichtige klinische Hinweise auf das Vorliegen eines NT sein und müssen abgeklärt werden²⁹.

Für die Prognose wird die derzeit gültige Klassifikation der WHO von 2004^{46,135} in Kombination mit dem TNM-Klassifikationsschema von NT herangezogen^{56,59,123,186}. Die hier verwendete TNM-Klassifikation beruht auf der von der „Union Internationale Contre le Cancer“ und dem „American Joint Committee on Cancer“ 1997 vorgeschlagenen TNM-Klassifikation mit Einarbeitung und Ergänzung der TNM-Klassifikation von 2003^{56,186}. Die TNM-Einteilung beschreibt die Ausdehnung bzw. das Verhalten des Primärtumors (T) sowie das Fehlen bzw. Vorhandensein von regionären Lymphknotenmetastasen (N) und Fernmetastasen (M). Die Prognose hängt sowohl vom Grading bzw. Stadium^{6,29} als auch vom Subtyp der NT ab^{46,123} (vergl. Tabelle 1 Eble et al. 2004⁴⁶ und Tabelle 2 Haferkamp et al. 2006⁵⁹).

Tabelle 1: WHO-Klassifikation von Nierentumoren (Stand 2004)

WHO Klassifikation Nierentumoren
Klarzelliges Nierenzellkarzinom
Multilokuläres klarzelliges Nierenzellkarzinom
Papilläres Nierenzellkarzinom
Chromophobes Nierenzellkarzinom
Ductus-Bellini-Karzinom
Renales medulläres Karzinom
Xp11-Translokations Karzinom
Muzinöses, tubuläres spindelzelliges Karzinom
Nierenkarzinom, nicht klassifiziert
Papilläres Adenom
Onkozytom

Tabelle 2: TNM-Klassifikation des Nierenzellkarzinoms (Stand 2003)

T – Primärtumor	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
T1	Tumor ≤ 7,0 cm in größter Ausdehnung, begrenzt auf Niere
T1a	Tumor ≤ 4,0 cm in größter Ausdehnung
T1b	Tumor 4,0 bis maximal 7,0 cm in größter Ausdehnung
T2	Tumor > 7,0cm in größter Ausdehnung, begrenzt auf Niere
T3	Tumor breitet sich in größeren Venen aus oder infiltriert direkt Nebenniere oder perirenales Gewebe, jedoch nicht über die Gerota-Faszie hinaus
T3a	Tumor infiltriert direkt Nebenniere oder perirenales Gewebe, aber nicht über die Gerota-Faszie hinaus
T3b	Tumor mit makroskopischer Ausbreitung in Nierenvene(n) oder V. cava (einschließlich Wandbefall) unterhalb des Zwerchfells
T3c	Tumor mit makroskopischer Ausbreitung in die V.cava (einschließlich Wandbefall) oberhalb des Zwerchfells
T4	Tumor infiltriert über die Gerota-Faszie hinaus
N – regionale Lymphknoten	
NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastase(n) in einem regionären Lymphknoten
N2	Metastase(n) in mehr als einem regionären Lymphknoten
M – Fernmetastasen	
MX	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Laut WHO zählen u. a. das klarzellige Nierenzellkarzinom (CC NZK), die chromophoben und papillären NT sowie das Onkozytom zu den Subtypen der NT^{6,59,135} (vergl. Tabelle 1).

1941 beschrieb Zippel¹⁹¹ erstmals das Auftreten von renalen Onkozytomen. Erst 1976 wurde das Onkozytom aufgrund der 13 Fallbeschreibungen von Klein und Valensi⁸³ als eigenständiger Subtyp der Nierentumoren anerkannt. Ein Grund für die spätere Anerkennung als eigenständige Entität lag u. a. in ihrem sehr unterschiedlichen makro- sowie mikroskopischen Erscheinungsbild gegenüber malignen Nierentumoren. Maligne NT sind in der Regel goldgelb bis orange, haben große Areale mit Einblutungen und Nekrosen und bieten ein gemischtes histologisches Bild mit vielen Mitosen. Typisch ist weiter eine Infiltration der renalen Venen, des umliegenden Fettgewebes sowie der regionalen Lymphknoten. Das Onkozytom dagegen präsentiert sich makroskopisch einheitlich braun und weist unabhängig von seiner Größe keine Einblutungen oder Nekrosen auf. Mikroskopisch sieht man eosinophile epitheliale Zellen ohne Mitosen. Ultrastrukturell findet man eine beachtliche Anzahl von Mitochondrien, welche typischerweise geschwollen und vergrößert aussehen. Fettvakuolen sind nicht zu sehen, was ein weiteres Unterscheidungskriterium zu malignen NT darstellt. Ein weiterer wichtiger Punkt ist, dass sich Onkozytome klinisch nicht bemerkbar machen⁸³. Sollte die Aussage von Bennington (1973)¹⁰ stimmen, dass es eine lineare Beziehung zwischen dem Durchmesser eines Tumors und der Fähigkeit zu metastasieren gibt, so ist dies laut Klein und Valensi (1976)⁸³ ein weiterer Grund, das größenunabhängig gutartige, nicht metastasierende Onkozytom als biologisch unterschiedlich und somit als eigene Entität unter den Nierentumoren anzusehen. In manchen Studien wurde über maligne Formen von Onkozytomen berichtet, was zur vorübergehenden Infragestellung ihrer Benignität führte. Heute weiß man, dass es sich hierbei um chromophobe NT handelte^{37,48,101,133,137}.

Die verschiedenen Subtypen der NT entstehen aus unterschiedlichen Zelltypen des Nephrons¹⁵². Das CC NZK und die papillären Nierentumoren (Pap NT) finden ihren Ursprung im proximalen Tubulus (PT) des Nephrons^{152,165}. Das

Onkozytom und die chromophoben Nierentumoren (Chr NT) haben ihren Ursprung in „Schaltzellen“ des distalen Tubulus (DT)¹⁵², bzw. in Zellen des Verbindungsstücks von DT und Sammelrohr (SR)^{15,21,37,165}.

Cohen und McGovern (2005)²⁹ gehen davon aus, dass die Onkozytome sich aus Typ-A Schaltzellen des SR entwickeln, wohingegen die Chr NT aus Typ-B Schaltzellen des SR entstehen (vergl. Abb. 1; Thoens et al. 1990)¹⁶⁵.

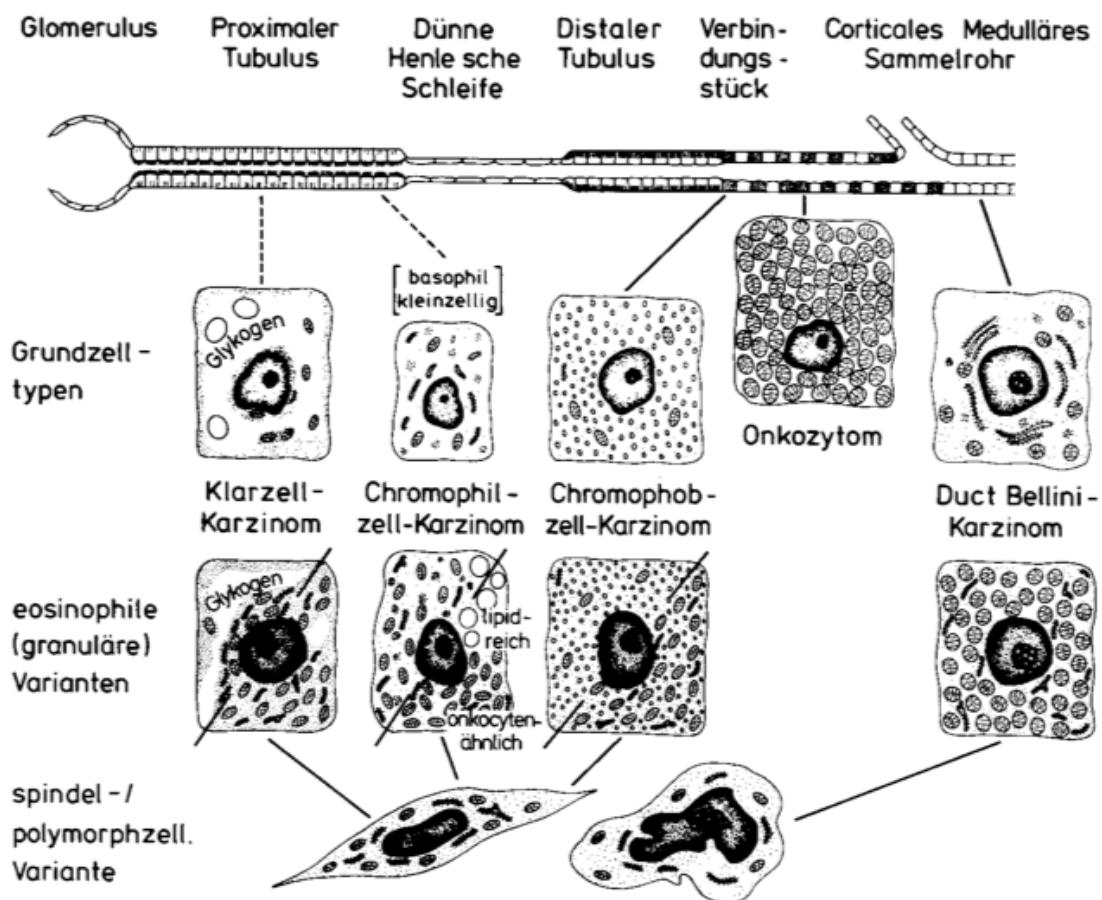


Abbildung 1: Nierentumoren – Schematische Darstellung

Schematische Darstellung der verschiedenen malignen Nierentumoren und des Onkozytoms anhand der jeweiligen Grundzelltypen und ihrer eosinophilen (granulären) Variante in ihrer phänotypischen / histogenetischen Beziehung zum Nephron und Sammelrohrsystem der Niere.

1.2.1 Klarzelliges Nierenzellkarzinom

Das CC NZK ist mit 63 % bis 80 % der häufigste NT^{6,98,135}. Bezüglich der Erkrankungshäufigkeit liegt das Verhältnis zwischen Mann und Frau bei 2:1. Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt in der 6. Lebensdekade¹⁸². Das CC NZK hat im Vergleich zu den anderen Subtypen eine relativ ungünstige Prognose. Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose weisen bereits 27,4 % bis 38,1 % der Patienten eine Metastasierung auf^{6,106,143}. Das krankheitsfreie und das Gesamtüberleben korrelieren mit dem Grading und dem Krankheitsstadium^{50,116}. Die 5-Jahres-Überlebensrate für NT im Allgemeinen liegt bei Patienten mit einem pT4 Stadium und Lymphknotenmetastasen bei 20 %¹³⁵ bzw. bei 5 % bis 30 %⁹⁵. Die 5 Jahre progressionsfreie Überlebensrate liegt bei 70 % und die 5 Jahre krankheitsspezifische Überlebensrate liegt bei 68,9 % bis 76 %^{6,23}.

Histologisches Merkmal des CC NZK ist sein überwiegend solides Wachstum (96%). Es kommen aber auch zystische (3%) und papilläre (1%) Formen vor¹⁶⁵. Das typische klare Zytoplasma, das durch einen erhöhten Lipid- und Glykogenanteil bedingt ist¹⁴⁴, ist Ausdruck einer tumorbedingten Stoffwechselanomalie¹¹¹. Manchmal findet sich granuläres Zytoplasma oder eine Kombination von klarem und granulärem Zytoplasma. Das solide Erscheinungsmuster des CC NZK kommt durch eine Separation der neoplastischen Zellen in Form eines starken vaskulären fibrotischen Stromas zustande¹⁸². Charakteristisch für diese Tumorart sind der Verlust von genetischem Material auf dem kurzen Arm des Chromosoms 3 (3p), strukturelle und numerische Veränderungen der Chromosomen 3, 7 und 17 sowie Mutationen im VHL-Gen (von Hippel Lindau)^{19,87,89,128,162,180}. Zusätzlich zum VHL-Syndrom finden sich in Assoziation zum CC NZK die selteneren Syndrome „FCRC (Familial Clear-Cell Renal Cancer)“ und das „Hereditary paraganglioma“²⁹.

1.2.2 Papilläre Nierentumore

10 % bis 20 % der NT gehören zur Gruppe der Pap NT^{6,46,98}. Von dieser Tumorart sind überwiegend Männer mit einem Verhältnis von 5:1 betroffen²⁹. Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose wird eine Metastasierung bei 16 % der Patienten beobachtet¹⁰⁶. Im Gesamtverlauf zeigen bis zu 25,6 % der Patienten mit einem hohen Grading eine Metastasierung, u. a. in die regionalen Lymphknoten^{93,141,148}.

Bei dem Pap NT unterscheidet man zwischen Typ 1- und Typ 2-Tumoren³⁶. Die 5-Jahres-Überlebensrate im Gesamtverlauf (follow-up) liegt bei den Typ 1-Tumoren bei 63,5 % und bei den Typ 2-Tumoren bei 50 %³⁸.

Die 5 Jahre progressionsfreie Überlebensrate liegt bei 88 % und die 5 Jahre krankheitsspezifische Überlebensrate liegt bei 79 % bis 92 %^{6,23,143}.

Auf histologischer Ebene sind Typ 1-Tumoren papilläre Läsionen, welche von kleinen Zellen mit ovalen Zellkernen und blassem Zytoplasma bedeckt sind. Die Zellkerne weisen schlecht differenzierte Nucleoli auf. Typ 2-Tumoren sind papilläre Läsionen, die von großen Zellen mit reichlich eosinophilem Zytoplasma bedeckt sind. Charakteristika der Typ 2-Zellen sind Pseudogliederungen und kugelförmige Zellkerne mit eindeutigen Nucleoli. Diese Typ 2-Tumoren können aus Typ 1-Tumoren entstehen und haben eine schlechtere Prognose^{29,58}.

Die Tumorzellen der Pap NT sind ähnlich wie die der CC NZK von genetischen Veränderungen, wie z. B. der Trisomie 3q, 7, 8, 12, 16, 17 und 20 oder der Deletion des Y-Chromosoms, betroffen^{32,37,66,72,77,136,175}. Assoziierte Syndrome sind das HPRC ("Hereditary Papillary Renal Carcinoma") und das HLRCC ("Hereditary Leiomyomatosis and Renal-Cell Cancer")²⁹.

1.2.3 Chromophobe Nierentumore

Chr NT wurden erstmals 1985 von Thoenes et al.¹⁶⁶ beschrieben und machen einen Anteil von 4 % bis 8 % der NT aus^{98,159,167}. Das mediane Erkrankungsalter liegt in der 6. Lebensdekade¹⁸². Männer und Frauen sind gleichermaßen betroffen¹³⁵. Dieser Tumor hat unter den malignen Subtypen die

beste Prognose⁶. 86 % der Tumoren sind bei Diagnosestellung im Stadium 1 oder 2⁴⁶. Von über 349 in der Literatur dokumentierten Fällen und Nachsorgedaten (follow-up-Daten) von mindestens 319 Fällen metastasierten bis zu 7,1 %^{4,6,31,131,142,146,161,171}. Die 5 Jahre progressionsfreie Überlebensrate liegt bei 94 % und die 5 Jahre krankheitsspezifische Überlebensrate liegt bei 86,7 % bis 100 %^{6,23}.

Histologisches Merkmal ist ein solides, „pflastersteinartiges“ Wachstumsmuster^{144,182}. Gelegentlich exprimiert diese Tumorart fokal ein tubuläres oder ein schnurartiges Muster, welches das Erscheinungsmuster von neuroendokrinen Neoplasien oder Onkozytomen nachahmt. Die Zellkerne sind zentral oder geringfügig exzentrisch, mit einer perinukleären Aufhellung (perinucleär „halo“)^{144,182}. Diese perinukleäre Aufhellung kommt durch „Vesicles“ (Bläschen), die den Zellkern umgeben, zustande und ist ausschließlich bei dieser Tumorart zu finden^{4,14,164,167}. Häufig treten binukleäre Kerne auf¹⁴⁴. Es existieren zwei zytoplasmatische Varianten: In der typischen Variante (ca. zwei Drittel der Chr NT) sind die Zellen voluminös, blass (aber nicht klarzellig) und weisen ein retikuläres Zytoplasma auf¹⁸². Diese Variante kann aufgrund ihres blassen Zytoplasmas als CC NZK fehldiagnostiziert werden¹⁸. In der eosinophilen Variante (ca. ein Drittel der Chr NT) ist das Zytoplasma ausgesprochen eosinophil und feingranulär¹⁸². Eine Verwechslung mit dem Onkozytom¹⁶⁷ oder mit einer granulären Variante des CC NZK ist möglich¹⁸.

Auf genetischer Ebene weisen die Chr NT einen Verlust der Heterozygotie auf den Chromosomen 1, 2, 6, 10, 13, 17, und 21 auf^{18,37}. Zusätzlich ist dieser Tumor mit dem Birt-Hogg-Dubé Syndrom assoziiert²⁹. Dies ist ein seltenes, autosomal dominant vererbtes Syndrom, welches durch die Entwicklung von Haarfollikel-Hamartomen im Gesicht, Nacken sowie am oberen Rumpf charakterisiert ist. Die typische Trias besteht aus Fibrofollikulomen, Trichodiscomen und Acrochordonen^{13,46,173,189}.

1.2.4 Onkozytom

Onkozytome stellen eine seltene benigne Subgruppe der NT dar^{61,83}. Insgesamt machen sie 3,2 % bis 18 % aller NT aus^{3,7,34,105,110,117,133,143}. Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt in der 6. Lebensdekade mit einer Bevorzugung des männlichen Geschlechts (2,3:1)^{6,24,110}. Seit 1991 wurden über 450 Fälle von Onkozytomen in der Literatur beschrieben^{7,33,34,45,63,102,119,133}. Sie sind häufig asymptomatisch und metastasieren nicht^{6,103,160,183}. In lediglich 0,4 % der seit 1991 dokumentierten Fälle wurde eine mögliche Metastasierung beschrieben. Keiner dieser von Metastasen betroffenen Patienten starb aufgrund des Tumors^{6,133}. Heute weiß man, dass diese malignen Tumoren zur Gruppe der Chr NT gehörten³⁷. Die Prognose ist mit einer 5- und 10-Jahres-Überlebensrate von 100 % günstig⁶.

Trotz der unterschiedlichen Erscheinungsbilder von Onkozytomen und malignen NT kann die Diagnose Onkozytom erst nach einer kompletten Resektion sicher gestellt werden¹²⁶. Ungeachtet ihrer Benignität machen die Onkozytome 4 % bis 10,7 % aller Nephrektomien aus, da maligne NT nicht ausgeschlossen werden konnten^{29,156}.

Ein histologisches Charakteristikum ist ein solitäres Erscheinungsbild¹²⁶. Die Neoplasie besteht aus relativ einheitlich geschwollenen Zellen mit einem eosinophilen Zytoplasma (auch „Oncocytes“ genannt)^{5,83,124,144,176}. Die Tumorzellen sind in „Nestern“, lobulären oder alveolären Mustern, angeordnet, zeigen aber niemals ein papilläres Wachstumsmuster^{100,144}. Der Nucleus ist rund und kann einen prominenten, regelmäßigen Nucleolus enthalten¹⁴⁴. Mitosen kommen in Onkozytomen sehr selten vor^{47,144}.

Das Onkozytom besteht aus mitochondrienreichen eosinophilen Zellen und hat eine zentrale Sklerosierungstendenz^{60,103,104,160,183}.

Auf genetischer Ebene zeigen Onkozytome am häufigsten einen Verlust des Y-Chromosoms und des Chromosoms Nummer 1¹⁴⁴. Das Onkozytom ist wie der Chr NT mit dem seltenen, autosomal dominant vererbten Birt-Hogg-Dubé-Syndrom assoziiert^{13,29,135,173,181}.

1.3 Präoperative Diagnostik und Therapie

1.3.1 Rolle der Bildgebung zur Differenzierung zwischen benignen und malignen Tumoren

Renale Raumforderungen werden überwiegend im Rahmen einer routinemäßigen Sonographie der Niere diagnostiziert. Hierbei ist eine Differenzierung zwischen soliden und zystischen Raumforderungen zu fast 100 % möglich^{9,80}. Die so diagnostizierten Tumoren sind kleiner und in einem niedrigeren Stadium^{79,132}. Solide Raumforderungen werden durch CT (Computertomographie, Goldstandard)^{64,109} und/oder MRT (Magnetresonanztomographie)^{52,67,188} weiter abgeklärt. Andere diagnostische Verfahren sind die Angiographie und die Urographie^{5,126,172}. Hierbei werden die primäre Tumorexpansion, Venenbeteiligung, regionale Lymphknotenvergrößerung, Nebennieren, Leber sowie Funktion und Morphologie der kontralateralen Niere beurteilt^{64,126}. Zusätzlich wird eine Diskriminierung zwischen benignen und malignen Tumoren angestrebt¹²⁶. Auf Ebene der Schnittbilddiagnostik ist eine eindeutige Zuordnung zwischen dem benignen Onkozytom und den malignen Varianten der renalen Neoplasien nicht^{35,51,100,110} bzw. nur bedingt möglich^{62,65,82,147}.

Typischerweise weisen maligne NT in der Sonographie, der CT- und der MRT-Untersuchung ein heterogenes Muster mit einer heterogenen Kontrastmittelanreicherung im Tumorareal auf. Weiter sind multiple nekrotische Areale, Einblutungen und Kalkablagerungen innerhalb der malignen Tumoren pathognomonisch^{64,100,126}. Im Gegensatz zum Onkozytom findet man keine zentrale sternförmige Narbe¹²⁶. Irreguläre und lobuläre Konturen, sowie unklare Verbindungen mit dem benachbarten Nierenparenchym sind typisch¹⁰⁰.

Onkozytome stellen sich dagegen in der Sonographie, dem CT und dem MRT typischerweise homogen dar^{54,62,64,172}. Im CT erscheinen sie als homogene, solide Areale, welche isodens oder leicht hypodens im Vergleich zum gesunden Nierenparenchym sind^{64,172,176}. Es wurden auch heterogene Erscheinungsbilder im CT (hyperdens, hypodens oder isodens) im Vergleich zum normalen Nierenparenchym beschrieben¹⁷². Im MRT sind Onkozytome in der T1-Gewichtung im Vergleich zum normalen Nierenparenchym isodens oder

hypodens. In der T2-Gewichtung stellen sich die Tumoren oft heterogen dar, obgleich homogene, isodense, hypodense und hyperdense Erscheinungen beschrieben wurden^{126,157}. Falls vorhanden, ist die sternförmige Narbe von verminderter Intensität sowohl in der T1-⁸ als auch in der T2-Gewichtung⁶² darstellbar. Das Fehlen von Einblutungen, Nekrosen und Kalkablagerungen, das Vorhandensein einer zentralen Narbe oder eines sternförmigen Musters sowie einer Kapsel, glatte Konturen und eine deutliche Abgrenzung zum umgebenden Nierenparenchym sind Merkmale des Onkozytoms^{62,100}.

Das benigne Angiomyolipom, bestehend aus einer variierenden Menge reifen oder unreifen Fettgewebes, glatten Muskelzellen und dickwandigen Blutgefäßen, kann in den meisten Fällen präoperativ Mithilfe von CT und Sonographie diagnostiziert werden^{65,82,99,187}. Weist das Angiomyolipom eine niedrige Fettkomponente auf, so resultiert dies in einer mannigfaltigen radiologischen Erscheinung, welches die Unterscheidung gegenüber anderen NT sehr schwierig macht^{51,65,76}.

Trotz der sehr guten bildgebenden Verfahren ist es nicht möglich, anhand dieser eine sichere Diagnose bezüglich der Benignität bzw. Malignität zu stellen¹²⁶. Überschneidungen in beide Richtungen sind möglich^{100,110}. Maligne Neoplasien können mit einem homogenen Erscheinungsbild sowie einer zentralen Nekrose, die der sternförmigen Narbe des Onkozytoms ähnelt, einhergehen^{8,85}. Des Weiteren können maligne Neoplasien eine Kapsel und speichenradförmige Gefäße aufweisen^{74,100,130}. Onkozytome dagegen können Verkalkungen, Einblutungen und Nekrosen (typisch für maligne Neoplasien) aufweisen¹²⁶.

1.3.2 Weitere Diagnoseverfahren und klinische Wertigkeit der Nierenbiopsie zur Abklärung von renalen Raumforderungen

Zusätzlich zur bildgebenden Diagnostik können Chromosomenanalysen durchgeführt werden, um ein von Hippel-Lindau-Syndrom oder andere häufig mit renalen Neoplasien einhergehenden Veränderungen oder Syndrome zu diagnostizieren^{32,66,72,77,89,136,175}.

Die perkutane Nierenbiopsie war aufgrund von Bedenken bezüglich der Sicherheit, der Tumorausbreitung entlang des Stichkanals, sowie der Genauigkeit und Fehlerfreiheit traditionellerweise nicht weit verbreitet. Durch die Entwicklung neuer Biopsie-Techniken, durch die zunehmende Diagnostik von kleinen renalen Tumoren, durch die Entwicklung von konservativen und minimal invasiven Therapien sowie durch den zunehmenden Einsatz von immunhistochemischen und molekularen Markern erlebt sie heutzutage eine Renaissance¹⁷⁹. Zunehmender Einblick in die Erkrankung, die sich ändernde Klinik der NT, sowie die Entwicklung neuer chirurgischer und systemischer Therapien rechtfertigen ein erneutes Interesse an der perkutanen Biopsie als diagnostischem Mittel. Zusätzlich wird die Nierenbiopsie vor ablativen Therapien sowie bei der „Follow-up“-Kontrolle zunehmend angewandt^{16,94,140,151,155,178}. Ziel der Nierenbiopsie ist es, neben der Malignität auch die Subgruppe sowie das Grading zu bestimmen¹⁵⁵. Initial lag die diagnostische Exaktheit durch Biopsien bei 70 %³⁵. In Zentren mit entsprechender Expertise kann mittlerweile anhand perkutaner Biopsien (mit oder ohne Fein-Nadel-Aspiration) eine exakte Diagnose in bis zu 90 % aller Fälle gestellt werden^{96,177,179}. Besonders nützlich kann die Biopsie zur Abklärung kleiner renaler Tumoren sein, die häufig bei älteren Patienten zufällig entdeckt werden¹⁷⁹. Jüngste Studien zeigten, dass es sich bei diesen vermehrt diagnostizierten Tumoren um eine Gruppe mit einem sehr heterogenen biologischen Potential handelte. Lediglich ein kleiner Teil dieser Tumoren zeigte ein hohes Grading oder andere aggressive Eigenschaften. Nach einer Operation wiesen bis zu einem Drittel dieser Tumoren eine benigne Histologie auf, und die meisten malignen Tumoren hatten ein niedriges Grading^{96,179}. Eine perkutane biopsische Voruntersuchung könnte daher die Inzidenz von unnötigen chirurgischen Eingriffen für benigne Tumoren reduzieren und helfen, Patienten eine angemessene Therapie in Form von aktiver Beobachtung und/oder minimal invasiver Therapien zu ermöglichen^{145,155,179}. Vor allem für ältere Patienten, nicht operable Patienten oder in Situationen, in denen die Wahl der Therapie schwierig ist, kann nach Meinung einiger Autoren eine vorherige perkutane Biopsie hilfreich sein^{96,179}. Eine vorherige Nierenbiopsie ist laut

Dutcher et al. (2009)⁴⁴ auch bei metastasierten Tumoren vor Beginn einer systemischen Therapie indiziert. Bei großen renalen Tumoren, welche primär durch eine Nephrektomie therapiert werden, ist eine vorherige perkutane Biopsie hingegen selten notwendig¹⁵⁵.

Die Rolle der renalen Biopsie kann sich laut Russo zusätzlich aufgrund der zunehmenden Vielfalt immunhistochemischer und molekularer Marker weiterentwickeln, da hierdurch eventuell dem Pathologen die Möglichkeit gegeben werden kann, auch anhand kleiner Proben bessere Aussagen über Tumorphistologie und Grading zu treffen¹⁴⁵. Einer dieser immunhistochemischen Marker ist Ksp-Cadherin, das in dieser Arbeit ausführlicher untersucht werden soll.

1.3.3 Operative Therapie

In den vergangenen Jahren durchlief die chirurgische Therapie von Nierenkarzinomen viele Veränderungen. Galt in den 1990er Jahren die offene radikale Nephrektomie mit Adrenalektomie bei gesunder kontralateraler Niere als Standard, so ist heute die elektive Nierenteilresektion bei Tumoren bis zu 4 cm bzw. bis zu 7 cm im radiologischen Durchmesser mit vergleichbarem onkologischen Outcome und krankheitsfreiem Überleben realisierbar und sollte nach Möglichkeit angewandt werden^{20,43,97,156,185,190}. Eine solche Wandlung war unter anderem durch eine wachsende Kenntnis über die Tumorphistologie und onkologische Therapie sowie die onkologische Gleichwertigkeit von partieller und radikaler Nephrektomie im T1-Stadium möglich. Weiter trugen aufkommende Bedenken bezüglich des Risikos, eine chronische Niereninsuffizienz zu entwickeln, und die damit verbundenen potentiell kardiovaskulären Risiken, welche mit einer erhöhten Mortalität einhergehen, zu dieser Entwicklung bei¹⁴⁵.

Der Goldstandard bei Tumoren von mehr als 4 cm (T1b – T2) ist zurzeit die laparoskopische Nephrektomie, wobei bei unauffälliger Bildgebung, bei unauffälligem intraoperativem Nebennieren-Befund sowie bei Ausschluss einer direkten Invasion der Nebenniere, ausgehend von einem renalen Oberpoltumor, eine Adrenalektomie unterbleiben kann^{108,190}. Eine offene Nephrektomie ist

hingegen weiterhin bei vergrößerten Lymphknoten, Cavazapfen und/oder lokal fortgeschrittenen Tumoren durchzuführen¹⁹⁰. Die Standardtherapie bei einer partiellen Nephrektomie ist, aufgrund der niedrigeren perioperativen Komplikationsrate, nach wie vor die offene Operation; eine laparoskopische Nierenteilresektion wird von spezialisierten Zentren angeboten (vergl. Tabelle 3; Ljungberg et al., 2010)^{107,190}. Vorteile dieser minimal invasiven Chirurgie liegen einerseits im geringeren postoperativen Schmerzmittelbedarf, im verkürzten Krankenhausaufenthalt und in der schnelleren Genesung^{40,53}.

Der chirurgische Zugang wird durch die Lokalisation und die Größe des Tumors, das TNM-Stadium und die anatomischen Variabilitäten bestimmt und festgelegt²⁹. Bei einem metastasierten NT ist eine Nephrektomie ebenfalls berechtigt. Die Kombination von Interferon α oder zielgerichteten Antikörpern gegen VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) und einer Nephrektomie ist der alleinigen Therapie mit Interferon α oder Antikörpern gegen VEGF überlegen und bietet einen Überlebensgewinn von 3 bis 10 Monaten^{25,49,122}.

Die adäquate Therapie des Onkozytoms zur histologischen Unterscheidung eines Nierentumors wird primär in einer organerhaltenden Operation gesehen^{28,64,119,126,176}. Von der Tumorlokalisierung abhängig, kann vereinzelt eine Nephrektomie notwendig sein¹¹⁹. Trotz des enormen Fortschritts der bildgebenden Verfahren (Sonographie, CT und MRT) sind benigne Läsionen nicht immer von malignen NT zu unterscheiden. Dies führt dazu, dass nach bildgebenden Verfahren 16,4 % bis 23 % der Patienten, die sich aufgrund eines verdächtigen renalen Befundes einer partiellen oder radikalen Nephrektomie unterziehen, benigne Läsion wie z. B. Onkozytome, Angiomyolipome, metanephrotische Adenome oder hämorrhagische Zysten aufweisen^{35,115,154,156}. Dabei machen Onkozytome 4 % aller Nephrektomien aus²³.

Tabelle 3: Empfohlene chirurgische Therapie-Strategien, übereinstimmend mit den klinischen Tumorstadien (Stand 2010)¹⁰⁷

Stadium	Operation	Zugang	Empfehlungen
T1	Teil Nephrektomie	Offen	Empfohlen Standardtherapie
		Laparoskopisch	Optional in erfahrenen Zentren
	Radikale Nephrektomie	Laparoskopisch	Bei Patienten, welche nicht für eine partielle Nephrektomie geeignet sind
		Offen	Optional bei Patienten, welche nicht für eine partielle Nephrektomie geeignet sind
T2	Radikale Nephrektomie	Laparoskopisch	Empfohlene Standardtherapie
		Offen	Adäquate, zu empfehlende Therapie, allerdings mit einer höheren Morbidität
		Teil Nephrektomie	Empfohlene Therapie bei ausgewählten Patienten in erfahrenen Zentren
T3, T4	Radikale Nephrektomie	Offen	Empfohlene Standardtherapie für die meisten Patienten
		Laparoskopisch	Durchführbar bei ausgewählten Patienten

1.3.4 Verbesserung der präoperativen Diagnostik durch neue immunhistochemische Marker

In den letzten Jahrzehnten haben sich das molekulare Verständnis hinsichtlich Tumorentstehung und Metastasierung und die chirurgischen sowie chemotherapeutischen Behandlungsoptionen stark erweitert¹⁹⁰. Mittlerweile sind etliche molekulare medikamentöse Therapieformen zur Behandlung des metastasierten Nierenzellkarzinoms, wie z. B. Sunitinib (Sutent®), Sorafenib (Nexavar®) und Bevacizumab (Avastin®) auf dem Markt⁷³. Sunitinib und Sorafenib sind Tyrosinkinase-Inhibitoren, Bevacizumab ist ein monoklonaler IgG1 Antikörper gegen VEGF^{73,108}.

Durch die Option der immer besser werdenden präoperativen Diagnostik, vor allem aufgrund immunhistochemischer Marker die an perkutan gewonnenem Biopsiematerial nachweisbarer sind, könnte eine bessere Tumorsubgruppenunterscheidung, eine bessere Aussage über Tumorhistologie und Grading sowie eine daraus resultierende personalisierte Therapie-Strategie

in Zukunft möglich sein¹⁴⁵. Zu den immunhistochemischen Markern gehören unter anderem Zelladhäsionsmoleküle. Zelladhäsionsmoleküle wie z. B. E-Cadherin spielen u. a. eine Rolle in ovariellen Tumoren, wo sie bei Malignität eine signifikante Reduktion im Vergleich zu benignen ovariellen Läsionen aufweisen⁸⁴. Des Weiteren zeigte die Arbeitsgruppe von Chelidonis et al., (2009)²² in nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen (NSCLC) eine Korrelation von E-Cadherin mit dem G- und N-Stadium.

1.3.5 Zelladhäsion und Zelladhäsionsmoleküle

Eine funktionierende Zelladhäsion ist entscheidend für die Entstehung und die Vielfalt von Organismen und Organen der Lebewesen. Ohne Molekülbindung und Zelladhäsion mit reaktiven Interaktionen wäre die Entstehung von Leben nicht möglich. Auch bei pathologischen Prozessen wie der Tumorentstehung ist die Zelladhäsion von entscheidender Bedeutung.

Es handelt es sich dabei um komplexe Vorgänge, welche bereits während der Embryogenese beginnen. Zelladhäsion ist für die Ausprägung der Zelldifferenzierung, für die Aufrechterhaltung bereits ausdifferenzierten Gewebes, für den Erhalt der Gewebeintegrität sowie für die in der Morphogenese notwendige Dynamik innerhalb der Zellen zuständig⁵⁷. Vermittelt wird die Adhäsion von verschiedenen Zelladhäsionsmolekülen. Diese lassen sich bezüglich ihrer Primärstruktur in vier Hauptgruppen, namentlich den Integrinen, Selektinen, Immunglobulinen und Cadherinen, unterteilen⁶⁹. Des Weiteren spielen Zelladhäsionsmoleküle in der Immunantwort¹⁷⁴, der neuronalen Informationsverarbeitung¹²⁵ und bei pathologischen Prozessen wie der Tumorgenese und der Metastasierung eine bedeutende Rolle^{12,27}. So kommt es als Folge interzellulärer Adhäsionsverluste innerhalb epithelialer Tumoren zum Verlust der epithelialen Differenzierung. Dies führt zu einer höheren Mobilität und Invasivität der Tumorzellen¹². Weiter verbinden Zelladhäsionsmoleküle den Extrazellulärraum über eine Transmembrandomäne mit dem Intrazellulärraum und sind somit an komplexen Signaltransduktionswegen beteiligt^{17,78}.

1.3.6 Ksp-Cadherin

Ksp-Cadherin (kidney-specific-cadherin), auch Cadherin 16 genannt, ist ein 130 kDa großes Protein, welches 1995 von Thomson et al.¹⁶⁹ entdeckt wurde und in die Gruppe der Cadherine gehört. Die Cadherine, eine genetische Familie der membrangebundenen Zell-Zell-Adhäsionsmoleküle, können in zwei Subgruppen unterteilt werden. Zur Gruppe I gehören E-, N-, P-, und R-Cadherin sowie Cadherin 13, zur Gruppe II Cadherin 5-12 und 18-20^{81,127}. Ein paar klassische Cadherine können zu keiner dieser beiden Gruppen gezählt werden. Eines davon ist das Ksp-Cadherin^{70,169}. Ksp-Cadherin ist das einzige Mitglied seiner Familie, welches bisher ausschließlich im Nierengewebe gefunden wurde¹⁶⁹. In der Niere des Kaninchens wird das Molekül an der basolateralen Membran des distalen und proximalen Tubulus, dem Intermediärtubulus, dem dicken und dünnen Anteil der Henle-Schleife, sowie in dem Sammelrohr exprimiert¹⁶⁹. Das stärkste Expressionsmuster fand man im DT und SR¹⁶⁸. Während der Embryogenese nimmt die Expressionsstärke von Ksp-Cadherin in der Niere kontinuierlich zu, bis sie in der adulten Niere ihren Höhepunkt erreicht^{71,168}. Thedieck et al. bestätigten 2005¹⁶³ diese Aussage an humanem embryonalen Nierengewebe.

Die Tatsache, dass die Ksp-Cadherin-Expression in der adulten Niere am höchsten ist, lässt einige Arbeitsgruppen^{71,163,168,170} vermuten, dass Ksp-Cadherin für die Aufrechterhaltung des ausdifferenzierten Status quo zuständig ist. Thomson et al. (1995)¹⁶⁹ nehmen weiter an, dass Ksp-Cadherin sowie LI-Cadherin und HPT-1 Cadherin für die Erhaltung der epithelialen Architektur sowie für die Vermittlung des vektorialen Transports gelöster Stoffe zuständig sind.

Da die Ksp-Cadherin-Expression erst in einem fortgeschrittenen Stadium der Differenzierung sowohl im tubulären Nephron als auch im Sammelrohr-System einsetzt, ist es laut Thomson und Aronson (1999)¹⁶⁸ ausgeschlossen, dass Ksp-Cadherin in der frühen Phase der Morphogenese eine entscheidende Rolle spielt.

Ksp-Cadherin ist wie die anderen Cadherine ein integrales Plasma-Membran-Protein. Es besitzt eine extrazelluläre sowie eine intrazelluläre Domäne, welche sich im Aufbau von den anderen Cadherinen unterscheidet¹⁸⁴. Das Fehlen der für die Cadherine typischen HAV Adhäsions-Erkennungs-Sequenz bei LI-Cadherin, HPT-1 und Ksp-Cadherin ist ein wesentlicher Unterschied zu den restlichen Cadherinen. Die zytoplasmatische Domäne von Ksp-Cadherin mit nur 18 bis 22 Aminosäuren ist gegenüber den anderen Cadherinen sehr kurz¹⁷⁰. Anders als die klassischen Cadherine besitzt Ksp-Cadherin keine β -Catenin-Bindung, welche für die Adhäsionsfunktion wichtig ist¹. Gemeinsam mit allen Cadherinen ist dem Ksp-Cadherin die Ca^{2+} -abhängige Adhäsion sowie die zelluläre Erkennung und Vermittlung zwischen homotypischen Zellen^{11,169}.

In der humanen adulten Niere konnte die Ksp-Cadherin-Expression im DT sowie im SR, aber nicht im PT nachgewiesen werden¹⁶³. Andere Forschungsgruppen fanden zusätzlich zum distalen Expressionsmuster eine Expression im dicken, aufsteigenden Ast der Henle-Schleife sowie eine schwache Expression im PT^{92,152}.

In den letzten Jahren wurde zunehmend das Expressions-Muster von Ksp-Cadherin in Nierentumoren untersucht.

Unter den verschiedenen Typen der NT wurden unterschiedliche Beobachtungen zur Ksp-Cadherin-Expression gemacht^{2,92,112,152}.

2005 berichteten Mazal et al.¹¹² als Erste von einer Ksp-Cadherin-Expression von 6,5 % in Onkozytomen, 97 % in Chr NT, 2 % in Pap NT und 0 % in CC NZK. Shen et al. (2005)¹⁵² hingegen beschrieben eine 95%ige Expression von Ksp-Cadherin in Onkozytomen und eine 100%ige Expression in Chr NT. In CC NZK lag die Ksp-Cadherin-Expression bei 14 % und in Pap NT bei 13 %¹⁵². Die Ergebnisse von Shen et al. (2005)¹⁵² stimmen mit denen von Adley et al. (2006)² (86% Ksp-Cadherin-Expression in Chr NT; 76% in Onkozytomen) überein.

Ein bisher wenig untersuchtes Expressionsmuster von Ksp-Cadherin findet man in tumorbiologischen Zusammenhängen wie dem TNM- und G-Stadium. Eine solche Untersuchung wurde, unserer Kenntnis nach, bisher nur von Rao et al.,

(2007)¹³⁸ vorgenommen. Sie fanden, dass die Ksp-Cadherin-Expression mit dem Tumor-Stadien und dem G-Stadium innerhalb der CC NZK korreliert.

1.4 Fragestellung

Aufgrund der widersprüchlichen Aussagen in der Literatur sowie der bisher kaum untersuchten tumorbiologischen Zusammenhänge hat sich unsere Arbeitsgruppe mit folgenden Fragen beschäftigt:

1. Wie unterscheidet sich die membranöse und zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin in den malignen Tumorsubgruppen und dem Onkozytom von der membranösen und zytoplasmatischen Expression im proximalen und distalen Tubulus des gesunden Nierenparenchyms?
2. Wie unterscheidet sich die membranöse bzw. zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin in den malignen Tumorsubgruppen und dem Onkozytom?
3. Wie unterscheidet sich die membranöse von der zytoplasmatischen Expression von Ksp-Cadherin innerhalb der einzelnen malignen Tumorsubgruppen, des Onkozytoms und des proximalen und distalen Tubulus des gesunden Nierenparenchyms?
4. Gibt es biologische Zusammenhänge zwischen der TNM-Klassifizierung, dem G-Stadium und der Tumorgröße sowie der membranösen bzw. zytoplasmatischen Expression von Ksp-Cadherin innerhalb der malignen Tumorsubgruppen bzw. innerhalb der malignen Tumoren beim alleinigen Betrachten der tumorbiologischen Eigenschaften?
5. Kann die Bestimmung von Ksp-Cadherin eine bessere Diagnostik im Bezug auf die Subgruppendifferenzierung von Nierentumoren ermöglichen?

2. Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Patientenkollektiv und Datenerhebung

Insgesamt wurden retrospektiv 111 Patienten, die zwischen 2002 und 2007 in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen an Nierentumoren operiert wurden, in diese Studie aufgenommen. Für die Durchführung der Studie lag nach entsprechender Beantragung ein positives Ethikvotum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Tübingen vor (Studiennummer 292/2008B01).

Von den 111 Patienten hatten 40 Patienten (22 M und 18 W) ein CC NZK, 25 Patienten (18 M und 7 W) einen Pap NT, 19 Patienten (10 M und 9 W) einen Chr NT und 27 Patienten (15 M und 12 W) ein Onkozytom.

Als Referenzwert wurde von 32 Patienten normales (gesundes) Nierenparenchym, welches sich in proximale und distale Tubuli gliedern ließ, untersucht. Zusätzlich wurde das gesunde Nierenparenchym in Rinde und Mark unterteilt, was bei dem Tumorgewebe aufgrund der Entdifferenzierung nicht mehr möglich war.

Das durchschnittliche Erkrankungsalter lag bei den Patienten mit der Diagnose CC NZK bei 62 Jahren und die durchschnittliche Tumorgöße lag bei 4,8 cm (1,7 cm - 12,5 cm). Bei den Patienten mit einem Pap NT lag das durchschnittliche Erkrankungsalter bei 68 Jahren und die durchschnittliche Tumorgöße bei 4,7 cm (1,8 cm – 13 cm). Die Patienten mit einem Chr NT wiesen ein Durchschnittsalter von 59 Jahren mit einer durchschnittlichen Tumorgöße von 4,8 cm (1,3 cm – 12 cm) auf. Die Patienten mit einem Onkozytom hatten ein Durchschnittsalter von 64 Jahren und eine durchschnittliche Tumorgöße von 3,4 cm (1,0 cm – 7,8 cm; vergl. Tabelle 4).

Das Alter der untersuchten Patienten lag zum Zeitpunkt der Operation zwischen 18 und 91 Jahren, der arithmetische Mittelwert betrug 63 Jahre.

Auskunft über die histologischen Eigenschaften der einzelnen Tumorsubgruppen gibt Tabelle 5.

Für die Analyse des Ksp-Cadherin konnten 40/40 CC NZK, 25/25 Pap NT, 19/19 Chr NT und 27/27 Onkozytome ausgewertet werden.

Tabelle 4: Patientendaten

	Patienten (M/W)	Durchschnittsalter	Durchschnittliche Tumorgröße in cm (Min - Max)
Klarzellige Nierenzellkarzinome	40 (22/18)	62	4,8 cm (1,7 – 12,5)
Papilläre Nierentumoren	25 (18/7)	68	4,7 cm (1,8 – 13)
Chromophobe Nierentumoren	19 (10/9)	59	4,8 cm (1,3 – 12)
Onkozytome	27 (15/12)	64	3,4 cm (1,0 – 7,8)

Tabelle 5: Histologische Eigenschaften

Klarzellige Nierenzellkarzinome (n = 40)			
T-Stadium	T1 (24 Pat.)	T2 (0 Pat.)	T3 (16 Pat.)
N-Stadium	N0 (36 Pat.)	N1 (4 Pat.)	
M-Stadium	M0 (32 Pat.)	M1 (8 Pat.)	
G-Stadium	G1 (6 Pat.)	G2 (27 Pat.)	G3 (7 Pat.)
Tumorgröße	≤ 4 cm (18 Pat.)	> 4 cm (22 Pat.)	
Papilläre Nierentumoren (n = 25)			
T-Stadium	T1 (19 Pat.)	T2 (1 Pat.)	T3 (5 Pat.)
N-Stadium	N0 (22 Pat.)	N1 (3 Pat.)	
M-Stadium	M0 (21 Pat.)	M1 (4 Pat.)	
G-Stadium	G1 (4 Pat.)	G2 (18 Pat.)	G3 (3 Pat.)
Tumorgröße	≤ 4 cm (16 Pat.)	> 4 cm (9 Pat.)	
Chromophobe Nierentumoren (n = 19)			
T-Stadium	T1 (14 Pat.)	T2 (0 Pat.)	T3 (5 Pat.)
N-Stadium	N0 (17 Pat.)	N1 (2 Pat.)	
M-Stadium	M0 (17 Pat.)	M1 (2 Pat.)	
G-Stadium	G1 (2 Pat.)	G2 (16 Pat.)	G3 (1 Pat.)
Tumorgröße	≤ 4 cm (9 Pat.)	> 4 cm (10 Pat.)	
Onkozytome (n = 27)			
Tumorgröße	≤ 4 cm (22 Pat.)	> 4 cm (5 Pat.)	

2.1.2 Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial dienten von den 111 Patienten (siehe 2.1.1) intraoperativ gewonnene Nierenpräparate, welche in Paraffinblöcken fixiert wurden.

Zur Herstellung der Paraffinblöcke wurden die Nierenpräparate intraoperativ von der Fettkapsel befreit und hiluswärts der Länge nach eingeschnitten. Danach entnahm man aus dem makroskopisch abgrenzbaren Tumorareal, sowie aus dem distal davon gelegenen (tumorfernen) benignen Nierenparenchym jeweils Gewebeproben von ca. 6 mm Kantenlänge. Anschließend wurde das Gewebe in 4,5 % phosphatgepuffertem Formalin fixiert und im weiteren Verlauf über eine aufsteigende Alkoholreihe (Ethanol 70%: zweimal 30 Minuten, Ethanol 96%: zweimal 30 Minuten, Ethanol 100%: zweimal 30 Minuten und einmal 60 Minuten) dehydriert. Zum Schluss wurde das Gewebe durch die Paraffinierung (Xylol einmal 60 Minuten, Xylol einmal 120 Minuten, anschließend bei 60 °C: Paraffin einmal 60 Minuten und einmal 120 Minuten) mittels eines Einbettautomaten und einer Gießstation in Paraffin eingebettet und somit haltbar gemacht.

Die Tabellen 12 bis 17 im Anhang geben Auskunft über verwendete Chemikalien, Reagenziensets, Antikörper, Puffer und Lösungen sowie über die verwendeten Geräte (Materialliste).

2.2.Methode

2.2.1 Tissue Microarray Technik – Vorteile und Herstellung

Die im Jahre 1998 erstmals durch Kononen et al.⁸⁶ beschriebene Methode der Gewebeaufarbeitung mittels Tissue Microarray Technik (TMT) erlaubt im Rahmen einer immunhistochemischen Färbung pathologische sowie benigne Gewebeproben gleichzeitig (z. B. in Bezug auf die Expression einzelner Proteine innerhalb dieser Gewebeproben) nebeneinander zu betrachten, ohne dass z. B. verschiedene Färbequalitäten oder Temperaturschwankungen die Auswertung der immunhistochemischen Reaktionen beeinflussen. Durch Tissue Microarrays (TMA) können so (je nach

Gewebebeschaffenheit) bis zu 1.000 Gewebeproben in einem einzigen Paraffinblock platziert und aufgearbeitet werden⁸⁶. Diese Methode ermöglicht darüber hinaus ein deutlich schnelleres und effizienteres Screening im Sinne eines „High-throughput-tool“ von Gewebematerialien im Vergleich zu den konventionellen Großschnitt-Färbungen. Die Herstellung weiterer TMA-Schnitte bietet zudem die Möglichkeit, mehrere Antikörper simultan an beinahe identischen Gewebeproben zu untersuchen. Durch diese Option, große Datenmengen zu untersuchen, ergibt sich die Möglichkeit einer statistisch validen Auswertung^{91,120,121}.

Zur Anfertigung der TMAs wurden mit einer handelsüblichen Bohrmaschine in einen zuvor durch eine spezielle Einspannvorrichtung fixierten Paraffinblock (recipient block) Löcher von 1 mm Durchmesser gebohrt.

Aus den jeweiligen Nephrektomie-Paraffinblöcken (donor block) entnommene, 1 mm große Stanzzyylinder wurden in die so entstandenen Hohlräume an der vorgesehene Stelle mit Hilfe eines x-y-Achsen Justiersystems mit digitaler Mikrometeranzeige zur Kontrolle platziert. Zuvor wurde in einem HE-Schnitt durch mikroskopische Untersuchungen ein zur Stanze geeignetes Gewebeareal (maligne sowie benigne) ausgesucht. Um sich später am TMA-Schnitt orientieren zu können, und um Verwechslungen auszuschließen, wurden am Anfang des TMAs zwei und am Ende acht bzw. sechs Positionen mit Leberzirrhose-Stanzzyindern gefüllt. Des Weiteren wurden die intern vergebenen Patientennummern systematisch in einer Tabelle erfasst, was eine genaue Patientenzuordnung gewährleistete. Von jedem Patienten wurden jeweils mehrere (zwei bis vier) Tumorareale und - soweit vorhanden - zwei oder mehrere Areale von benignem Nierenparenchym (Rinde und Mark) entnommen.

Anschließend wurden die fertigen TMA-Paraffinblöcke durch Aufdrücken eines erwärmten Objektträgers versiegelt, was zu einer besseren Fixation der Gewebezylinder führte. Aus dem TMA wurden 5 µm dicke Schnitte mit Hilfe eines Mikrotoms hergestellt und in einem 48°C warmen Wasserbad geglättet. Die Schnitte wurden auf Superfrost-Plus-Objektträger aufgezogen und auf einer Wärmeplatte getrocknet.

Für diese Studie wurden insgesamt drei TMAs (zwei TMAs mit Tumorgewebe und ein TMA mit gesundem Nierenparenchym) hergestellt.

2.2.2 Immunhistochemie

2.2.2.1 Entparaffinierung

Die Präparate wurden am Versuchstag auf Zimmertemperatur aufgewärmt und anschließend einmal für 15 Minuten und zweimal für 10 Minuten in Xylol entparaffiniert. Es folgte eine absteigende Alkoholreihe (Ethanol zweimal 100%, Ethanol zweimal 96%; Ethanol einmal 70%) für jeweils 7 Minuten zur Rehydrierung der Schnitte.

2.2.2.2 Inaktivierung endogener Peroxidase

Anschließend wurden die Schnitte für 30 Minuten in 3 % H₂O₂ Lösung zur Inaktivierung endogener Peroxidase inkubiert. Danach wurde die Reaktion durch zweimaliges Waschen (jeweils 10 Minuten) in Aqua destillata (A. dest.) gestoppt.

2.2.2.3 Demaskierung durch Mikrowelleninkubation

Zur weiteren Behandlung wurde der Antikörper in einem Citratpuffer (pH6), welcher zuvor aus den Stammlösungen (Natriumcitrat-Dihydrat und Zitronensäure-Monohydrat) angesetzt wurde, demaskiert. Dieses Verfahren, welches nach Shi et al. (1991)¹⁵³ zur Vorbehandlung von mit Formalin fixiertem und in Paraffin eingebettetem Gewebe modifiziert wurde, gewährleistet eine deutliche Intensivierung der immunhistochemischen Färbung bei gleichzeitiger Reduzierung der unspezifischen Hintergrundreaktion. Zur Demaskierung wurden die Präparate dreimal 5 Minuten in Citratpuffer, welcher unmittelbar vor Gebrauch angesetzt wurde, bei 750 Watt (Stufe 2) in einer Mikrowelle gekocht. Durch regelmäßiges Auffüllen der verdunsteten Flüssigkeit mit A. dest. wurde ein Austrocknen der Schnitte während des Demaskierungsvorgangs verhindert, sowie gleichzeitig einer eventuellen Konzentrationsänderung vorgebeugt. Nach dem Kochvorgang kühlten die Schnitte für 30 Minuten im Inkubationsmedium ab. Im Anschluss wurden sie dreimal für 5 Minuten in TBST gewaschen.

2.2.2.4 Avidin-Biotin Block

Als nächstes wurden die Präparate mit einem Avidin-Biotin-Blocking-Kit behandelt, um nicht spezifische Bindungen durch eine eventuelle endogene Biotinaktivität zu verhindern. Dazu wurden die Präparate 15 Minuten mit einer Avidin Lösung inkubiert und danach dreimal 10 Minuten in TBST gewaschen. In gleicher Weise wurde mit der Biotin-Lösung verfahren. Auch hier wurde die Reaktion durch ein dreimaliges Waschen der Schnitte in TBST gestoppt.

2.2.2.5 Primärantikörper

Der Primärantikörper wurde in Vorversuchen an den geeigneten Geweben (hier an Onkozytomen, malignen NT und benignem Nierenparenchym) getestet, um ein optimales Färbeergebnis bei gleichzeitig höchstmöglicher Verdünnung (mit einem dazu geeigneten Verdünnungsmedium) des Antikörpers zu erreichen und um unspezifische Färbungen zu reduzieren. Hierdurch konnte die Verdünnung des Primärantikörpers optimiert werden.

Die Präparate wurden zur Inkubation des Primärantikörpers im Kühlschrank bei 4 °C für 16 Stunden in einer feuchten Kammer belassen. Das verwendete Diluent zur Verdünnung des Primärantikörpers war das Diluent von DAKO S3022 und die gewählte Verdünnung betrug 1:100. Die Negativkontrolle wurde lediglich mit dem Diluent und nicht mit dem Primärantikörper inkubiert.

2.2.2.6 Sekundärantikörper

Nach 16 Stunden wurden die Objektträger dreimalig für 10 Minuten in TBST gewaschen, wobei darauf zu achten war, dass die Negativkontrolle in eine separate Waschschale gegeben wurde, um ungewollte Primärantikörperbindungen zu verhindern.

Anschließend wurde der Sekundärantikörper (Mouse IgG, aus dem Vectastain-Kit) in einem geeigneten Verdünnungsmedium und in einer Verdünnung von 1:200 aufgetragen und für 60 Minuten in einer feuchten Kammer bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden die Schnitte erneut für dreimal 10 Minuten in TBST gewaschen.

2.2.2.7 Avidin-Biotin-Komplex-Methode

Durch die Avidin-Biotin-Komplex-Methode (ABC-Methode) war es möglich, auch bei einer hohen Verdünnung des Primärantikörpers eine Färbereaktion mit einer guten Intensität und hohen Spezifität zu bekommen. Der hierzu verwendete Kit (Vectastain-Elite-ABC-Kit) wurde dafür nach den Angaben des Herstellers verwendet. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten wurden die Schnitte erneut in einer TBST-Lösung dreimal 10 Minuten gewaschen. Anschließend wurde für die Substrat-Chromogen-Reaktion (DAB) das Peroxidase-Substrat-Kit DAB (Vector SK 4100), welches für das Sichtbarmachen der Reaktion vom Hersteller empfohlen wurde, aufgetragen.

Die Reaktion wurde bei Ksp-Cadherin nach 3 Minuten 20 Sekunden durch zweimaliges Waschen der Schnitte für jeweils 10 Minuten in A. dest. gestoppt.

2.2.2.8 Hämatoxylin-Färbung

Um eine Kontrastverstärkung zu erreichen, wurden die Schnitte mit Hämatoxylin für 10 Sekunden gegengefärbt und anschließend für 7 Minuten in fließendem Leitungswasser gebläut. Als Letztes erfolgte die Dehydrierung in einer aufsteigenden Alkoholreihe (zweimal 3 Minuten 96% Ethanol, zweimal 5 Minuten 100% Ethanol und dreimal 5 Minuten Xylol).

Abschließend wurden die Objektträger mit Eukit und einem Deckglas versehen.

2.2.2.9 Negativ- und Positivkontrolle

Bei jeder immunhistochemischen Färbung wurde eine Positiv- und Negativkontrolle mitgefärbt. Als Positivkontrolle diente ein Schnitt des gesunden Nierenparenchyms. Es konnte keine andere Positivkontrolle gewählt werden, da Ksp-Cadherin ausschließlich in der Niere exprimiert wird.

Die Negativkontrolle wurde, anders als die restlichen Schnitte, nur mit einem Diluent, welches auch zur Verdünnung des Primärantikörpers verwendet wurde, inkubiert. Alle andern Schritte der immunhistochemischen Färbung waren gleich.

2.3 Auswertung

2.3.1 Dokumentation

Für jeden TMA wurde eine separate Liste, die über die Tumorarten und ihre Lokalisation auf dem TMA Auskunft gab, erstellt. Anstelle der Namen enthielt diese Liste nur die intern zugeteilten Patientennummern. Eine weitere Tabelle gab Auskunft über Lokalisation, Größe, TNM-Stadium und Grading des Tumors, sowie über Geschlecht und Alter des Patienten bei OP. Gleiche Listen existierten ebenfalls für den TMA mit dem normalen (gesunden) Nierenparenchym.

Die Auswertung erfolgte digital. Dazu wurden die einzelnen Objektträger mit Hilfe des Mirax Desk (Zeiss) und des Mirax Scan-Programms (Zeiss) eingescannt und digital erfasst. Anschließend wurden die einzelnen Stanzzyylinder bzw. Gewebeproben auf den Objektträgern im Mirax Viewer Programm (Zeiss) durchgehend nach der bestehenden Liste nummeriert, in JPEG-Dateien umgewandelt und gespeichert. Diese JPEG-Dateien wurden mit Hilfe des ACDSee-Programms am Computer ausgewertet. Zusätzlich wurden sowohl die Negativ- als auch die Positivkontrolle überprüft.

Während der Auswertung hatte der Auswertende keinen Einblick in die Daten. Die Auswertung erfolgte durch drei unabhängige Prüfer. Die Daten wurden anschließend miteinander verglichen und bei Unstimmigkeiten nochmals diskutiert.

2.3.2 Bewertung der Färbeergebnisse

Die immunhistochemische Expression wurde bei Auswertung der Tumoren in zwei Färbemuster unterteilt. Zum einen wurde die Expression im Zytoplasma und zum anderen die membranständige Expression ausgewertet. Die Bewertung der Färbeergebnisse im normalen Nierenparenchym erfolgte zusätzlich nach Färbelokalisation (proximaler Tubulus, distaler Tubulus). Weiter fand eine Unterscheidung zwischen Rinden- und Markschnitt statt.

Der verwendete Antikörper wurde nach dem immunreaktiven Score (IRS) nach Remmele und Stegner (1987)¹³⁹ ausgewertet. Dieser erfasst sowohl den

prozentualen Anteil positiver Zellen als auch die Färbeintensität. Der IRS wurde wie folgt berechnet: Prozentsatz positiver Zellen (PP) x vorherrschende Färbeintensität (SI = Staining Intensity) = IRS (vergl. Tabelle 6).

Tabelle 6: Berechnung des IRS (Immunreaktiver Punktwert)

Prozentangabe PP		SI		IRS	Expressionsklasse
0%	0	0	negativ	0	negativ
< 10%	1	1	schwach	1-3	schwach
10-50%	2	2	mäßig	4-7	mäßig
51-80%	3	3	stark	8-12	stark
> 80%	4				

Anhand des IRS konnte man die Ksp-Cadherin-Expression in den Tumoren in Expressionsklassen wie negativ, schwach, mäßig und stark positiv einteilen.

2.3.3 Auswertung der Gewebeproben

Von jedem Tumorpatienten gab es zwei bis vier Gewebeproben, die unabhängig voneinander ausgewertet wurden. Der IRS wurde für jeden Tumorpatienten wie folgt ermittelt: Zuerst wurde von jeder Gewebeprobe der IRS errechnet. Diese Werte wurden addiert und daraus wurde ein Mittelwert berechnet, der den endgültigen IRS darstellt.

Bei den normalen Nierenparenchym-Gewebeproben gab es pro Patient zwei bis vier Rinden- und Markproben. Bei der Auswertung des normalen Nierenparenchyms wurde darauf geachtet, dass nur gesundes Nierenparenchym ausgewertet wurde, da dieses Material von den Tumornieren stammte. Gewebeproben mit viel Interstitium und vielen Entzündungszellen wurden nicht ausgewertet. Auf diese Art konnte das Färbemuster im gesunden Nierenparenchym am besten beurteilt werden. Für die Berechnung des IRS-Werts wurde gleich wie bei den Tumoren verfahren.

2.3.4 Statistische Auswertung

Die Korrelation klinischer Daten wurde mit dem Wilcoxon/Kruskal-Wallis-Test und der post-hoc-Tukey-Kramer-Analyse durchgeführt. Die Daten wurden in Datentabellen eingetragen und mit einem Statistik-Programm (JMP Version 8.0.2) berechnet. P-Werte wurden als signifikant betrachtet, wenn die Werte $< 0,05$ waren.

3. Ergebnisse

3.1 Membranöse und zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin im proximalen und distalen Tubulus des gesunden Nierenparenchyms

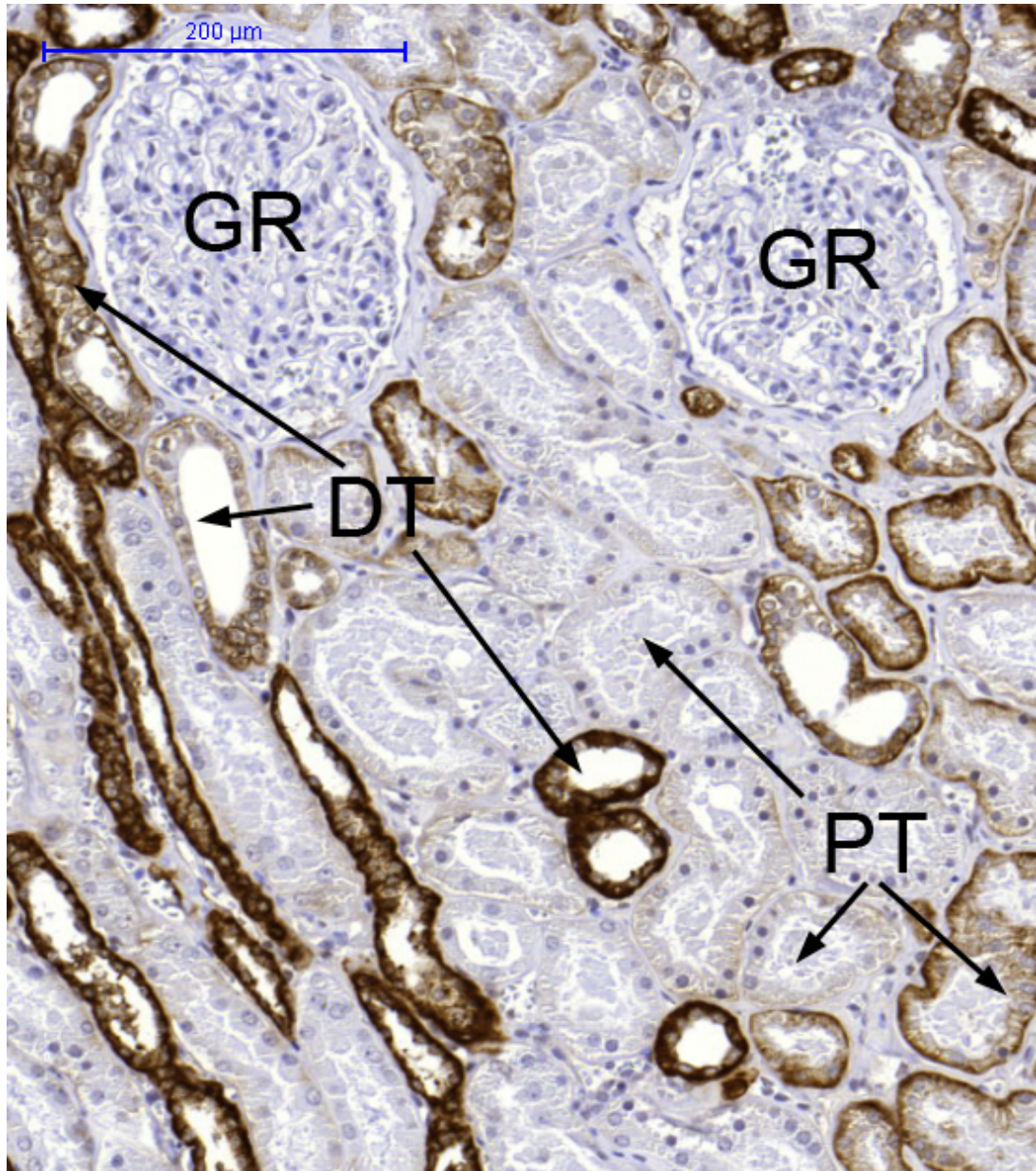
Für die Auswertung der proximalen Tubuli konnten von insgesamt 31 Patienten die Gewebeproben der Nierenrinde herangezogen werden.

In den proximalen Tubuli lag der Median der membranösen Expression bei einem immunoreaktiven Punktwert (IRS) von 4,5 mit einem Minimalwert (Min) von 2 und einem Maximalwert (Max) von 8. Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 4 Gewebeproben (13%) schwach, 24 (77%) mäßig und 3 (10%) stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 0). Nach Einteilung in die Expressionsklassen waren 100 % der auswertbaren Gewebeproben negativ.

Für die Auswertung der distalen Tubuli konnten von 31 Patienten die Gewebeproben der Rinde und von 23 Patienten die Gewebeproben des Marks herangezogen werden.

In den distalen Tubuli lag der Median der membranösen Expression bei einem IRS von 12 (Min 12, Max 12). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 100 % der auswertbaren Gewebeproben stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag bei einem IRS von 7,5 (Min 0, Max 12). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 6 Gewebeproben (11%) negativ, 2 (3,7%) schwach, 33 (61%) mäßig und 13 (24%) stark an.

In den proximalen Tubuli war die membranöse Expression von Ksp-Cadherin signifikant höher als die zytoplasmatische Expression ($p < 0,05$). In den distalen Tubuli war die membranöse Expression von Ksp-Cadherin signifikant höher als die zytoplasmatische Expression ($p < 0,05$). Kein signifikanter Unterschied fand sich in der membranösen Expression von Ksp-Cadherin in den proximalen und der zytoplasmatischen Expression von Ksp-Cadherin in den distalen Tubuli ($p > 0,05$) (vergl. Abb. 2).

**Abbildung 2: Gesundes Nierenparenchym**

Die proximalen Tubuli zeigen vereinzelt eine mäßig starke membranöse und keine zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin.

Die distalen Tubuli zeigen eine starke membranöse und teilweise eine mäßig starke bis starke zytoplasmatische Ksp-Cadherin-Expression.

Legende: GR – Glomerulum, PT – proximaler Tubulus, DT – distaler Tubulus

3.2 Membranöse und zytoplasmatische Expression von KSP-Cadherin in den malignen Tumorsubgruppen und dem Onkozytom

3.2.1 Klarzellige Nierenzellkarzinome

Es konnten von insgesamt 40 Patienten die Gewebeproben ausgewertet werden. Die klarzelligen Nierenzellkarzinome färbten sich im Allgemeinen sowohl membranös also auch zytoplasmatisch sehr schwach an.

Der Median der membranösen Expression lag bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in Expressionsklassen färbten sich 25 Gewebeproben (62,5%) negativ, 11 (27,5%) schwach und 4 (10%) mäßig stark an (vergl. Abb. 3).

Der Median der zytoplasmatischen Expression lag bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 22 Gewebeproben (55%) negativ und 18 (45%) schwach positiv an (vergl. Abb. 4).

Die membranöse Expression von Ksp-Cadherin zeigte keinen signifikanten Unterschied gegenüber der zytoplasmatischen Expression ($p > 0,05$).

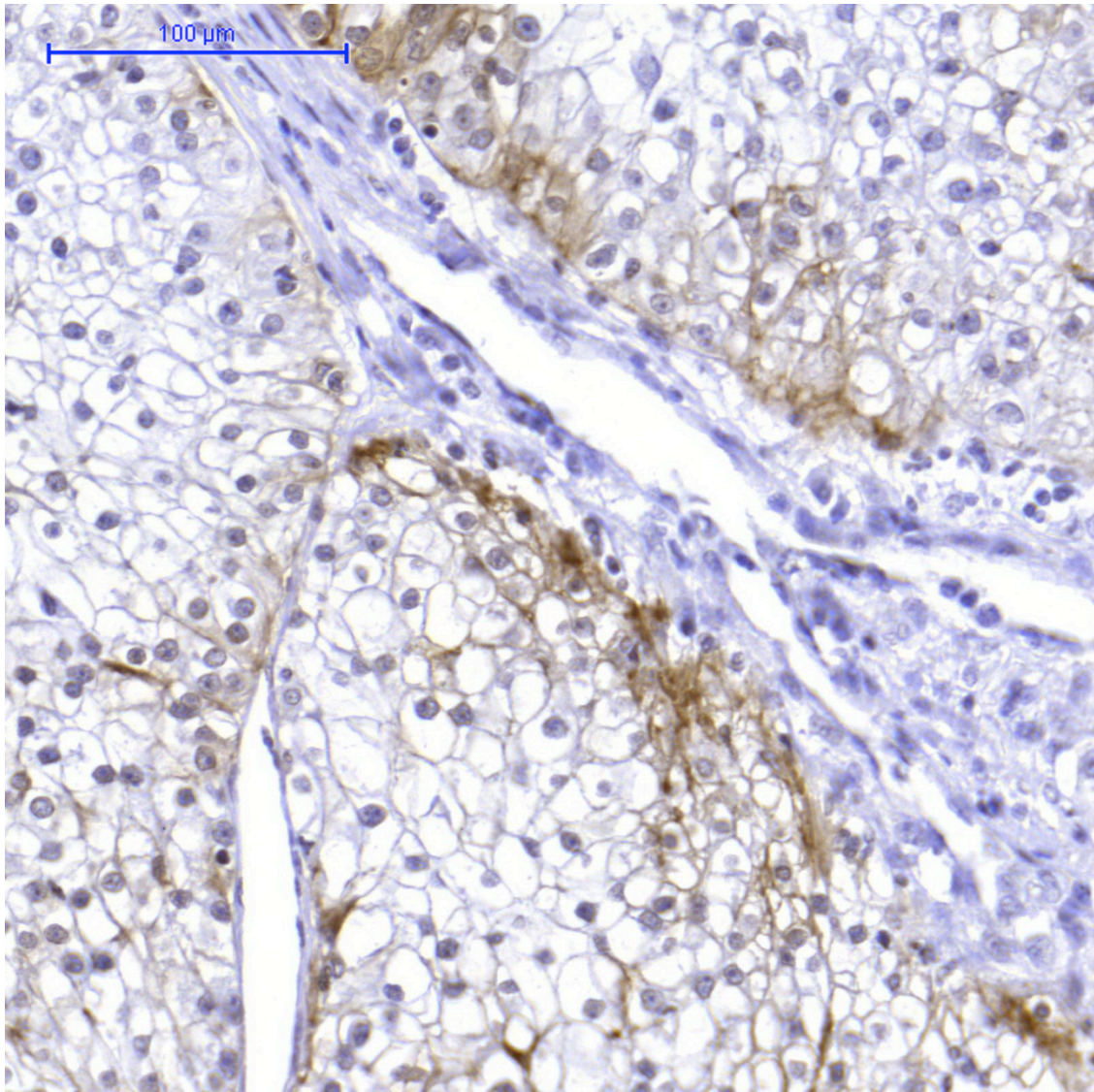


Abbildung 3: Klarzelliges Nierenzellkarzinom
Teilweise mäßig bis starke membranöse Ksp-Cadherin-Expression.

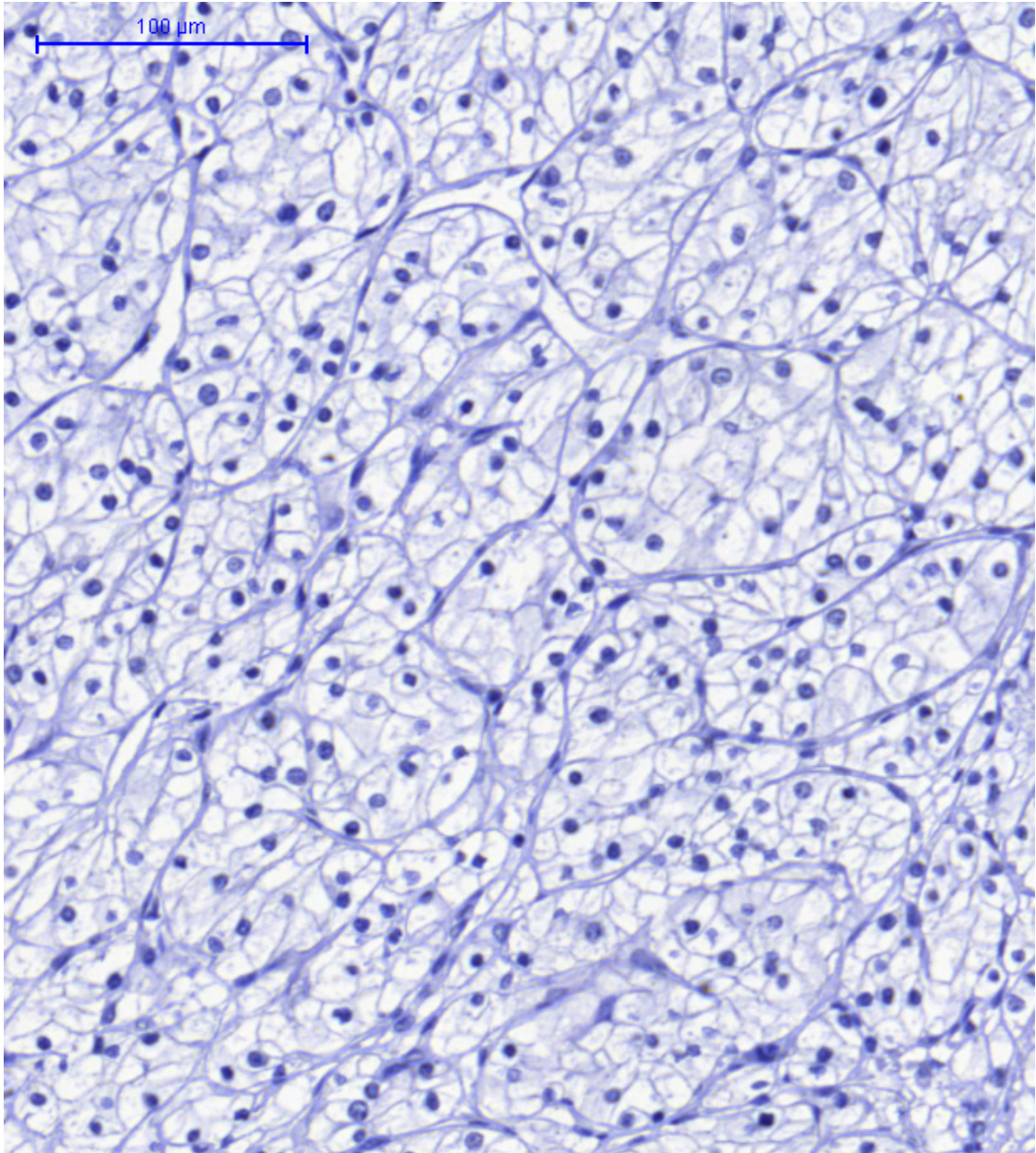


Abbildung 4: Klarzelliges Nierenzellkarzinom
Negativ für Ksp-Cadherin.

3.2.2 Papilläre Nierentumoren

Es konnten von insgesamt 25 Patienten die Gewebeproben ausgewertet werden.

Der Median der membranösen Expression lag bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in Expressionsklassen färbten sich 13 Gewebeproben (52%) negativ, 8 (32%) schwach und 4 (16%) mäßig stark an (vergl. Abb. 5).

Der Median der zytoplasmatischen Expression lag bei einem IRS von 1 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 9 Gewebeproben (36%) negativ und 16 (64%) schwach an (vergl. Abb. 6).

Die membranöse Expression von Ksp-Cadherin zeigte keinen signifikanten Unterschied gegenüber der zytoplasmatischen Expression ($p > 0,05$).

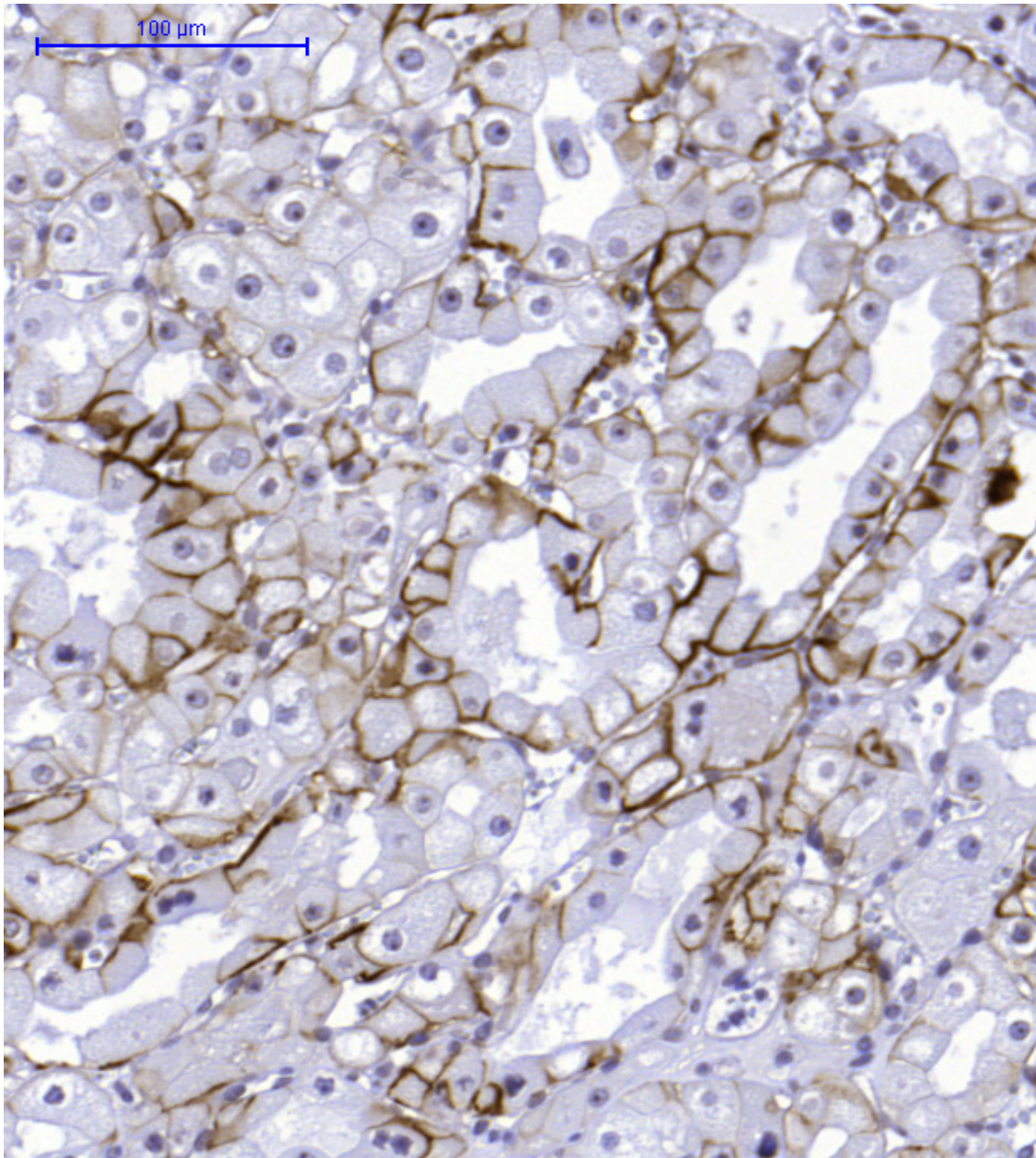


Abbildung 5: Papillärer Nierentumor
Starke basolaterale (membranöse) Ksp-Cadherin-Expression.

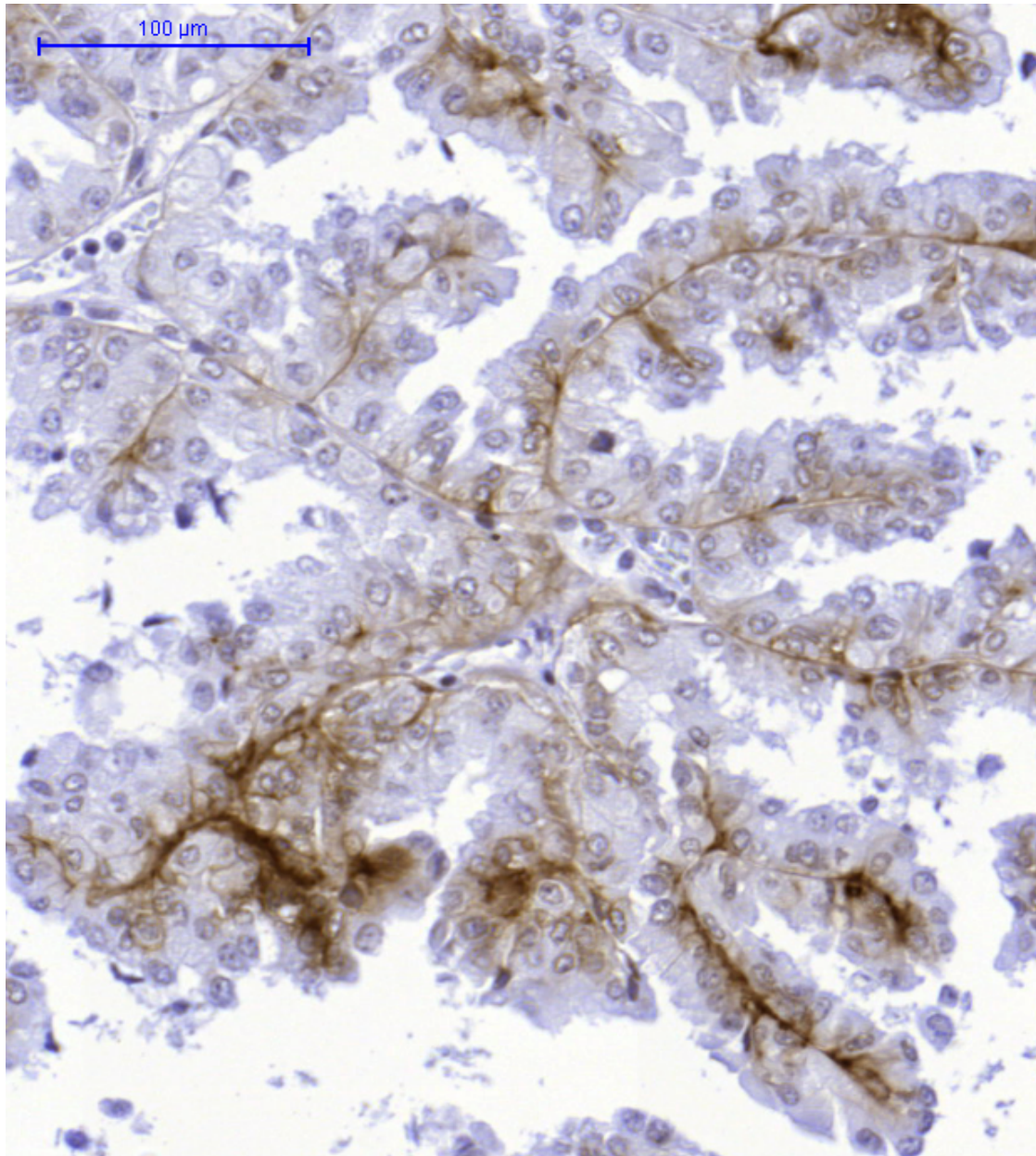


Abbildung 6: Papillärer Nierentumor

Mäßig bis starke membranöse Ksp-Cadherin-Expression.

Teilweise mäßig bis starke zytoplasmatische Ksp-Cadherin-Expression.

3.2.3 Chromophobe Nierentumoren

Es konnten von insgesamt 19 Patienten die Gewebeproben ausgewertet werden.

Bei 17 Gewebeproben (89,5%) war ein typisches membranöses Expressionsmuster für Ksp-Cadherin zu beobachten. Der Median der membranösen Expression lag bei einem IRS von 5 (Min 0, Max 12). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (10,5%) negativ, 5 (26,3%) schwach, 5 (26,3%) mäßig und 7 (38,8%) stark an (vergl. Abb. 7 und 8).

Der Median der zytoplasmatischen Expression lag bei einem IRS von 2 (Min 0, Max 4,3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (10,5%) negativ, 15 (78,9%) schwach und 2 (10,5%) mäßig stark an (vergl. Abb. 7 und 8).

Die membranöse Expression von Ksp-Cadherin war signifikant höher als die zytoplasmatischen Expression ($p < 0,05$).

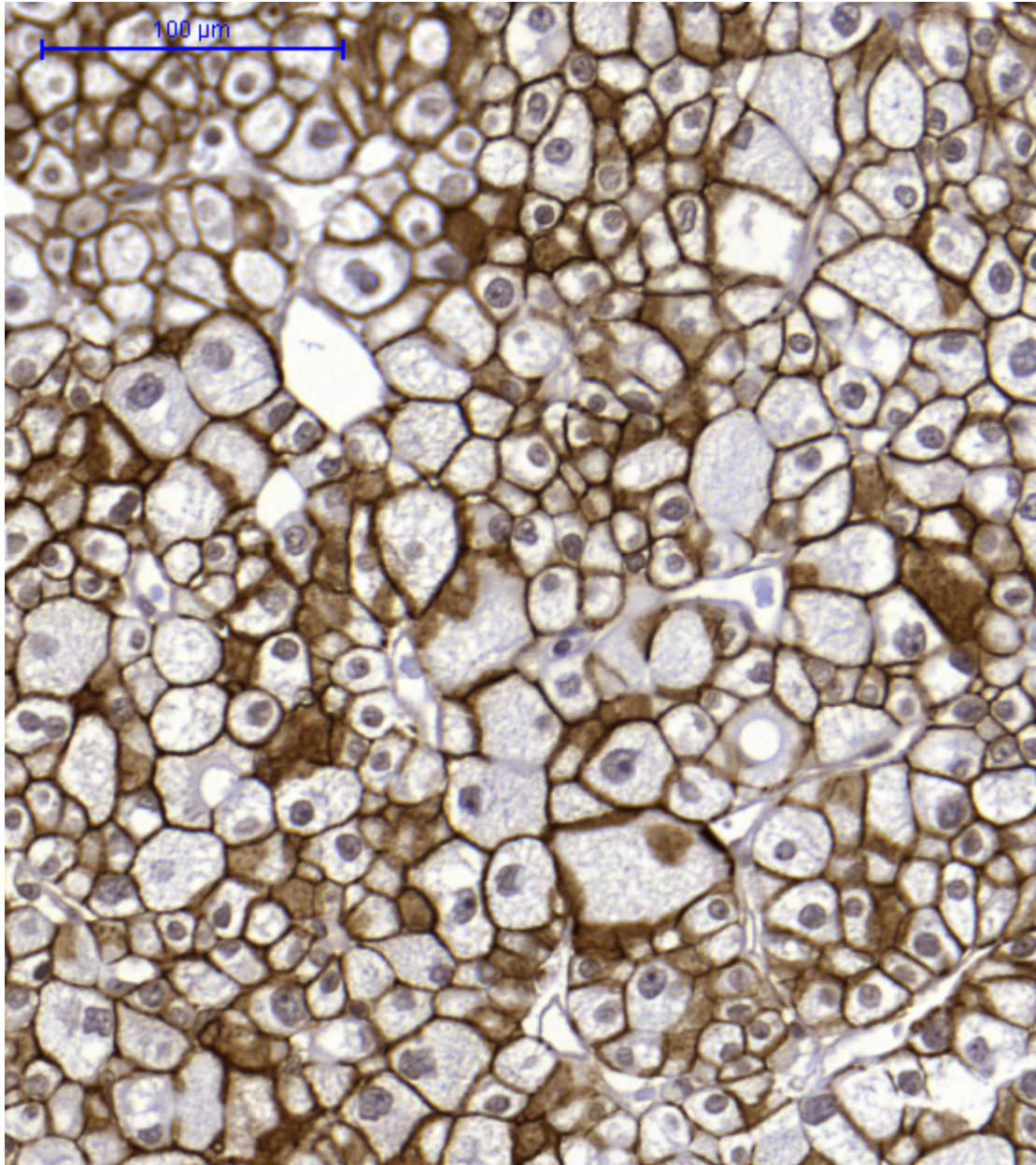


Abbildung 7: Chromophober Nierentumor

Starke membranöse Expression von Ksp-Cadherin mit teilweiser zytoplasmatischer Expression.

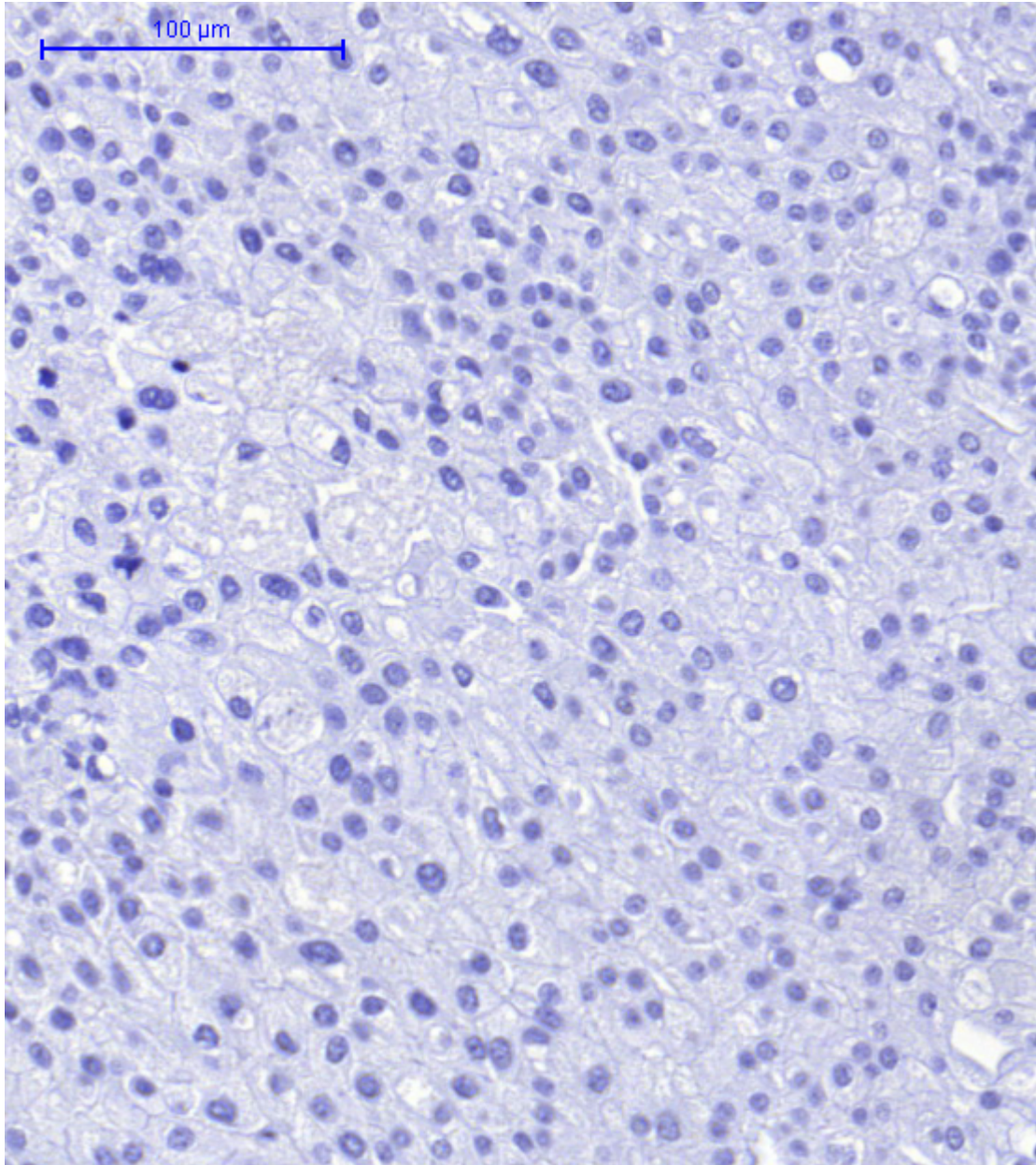


Abbildung 8: Chromophober Nierentumor
Negativ für Ksp-Cadherin.

3.2.4 Onkozytome

Es konnten von insgesamt 27 Patienten die Gewebeprobe(n) ausgewertet werden.

Der Median der membranösen Expression lag bei einem IRS von 3 (Min 0, Max 8,75). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 1 Gewebeprobe (3,7%) negativ, 20 Gewebeprobe(n) (74%) schwach, 4 (14,8%) mäßig und 2 (7,4%) stark an (vergl. Abb. 9 und 10).

Der Median der zytoplasmatischen Expression lag bei einem IRS von 2 (Min 0, max 3,5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 1 Gewebeprobe (3,7%) negativ, 25 Gewebeprobe(n) (92,6%) schwach und 1 Gewebeprobe (3,7%) mäßig stark an.

Die membranöse Expression von Ksp-Cadherin war signifikant höher als die zytoplasmatische Expression ($p < 0,05$) (vergl. Abb. 9 und 10).

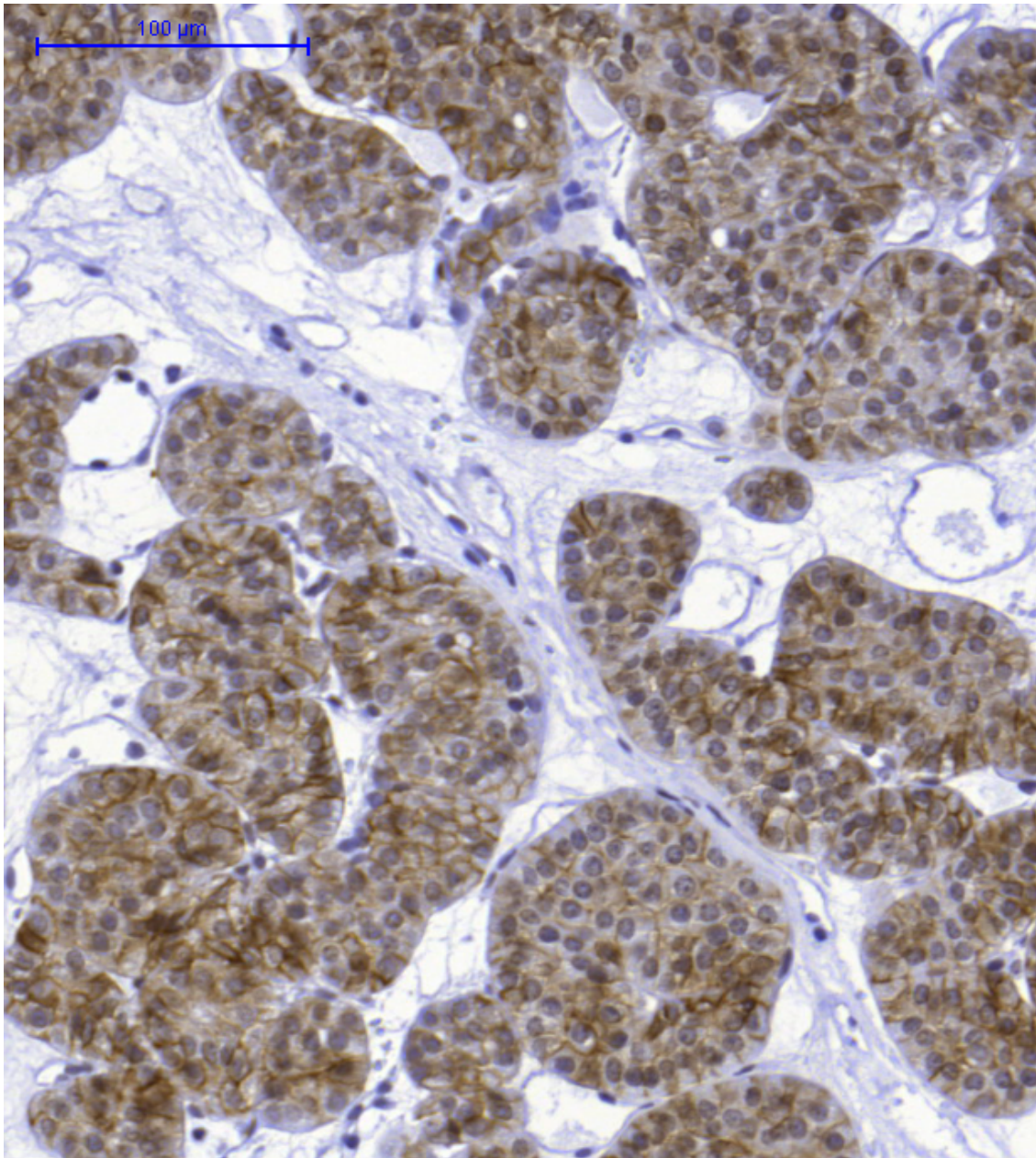


Abbildung 9: Onkozytom

Starke membranöse und zytoplasmatische Ksp-Cadherin-Expression.

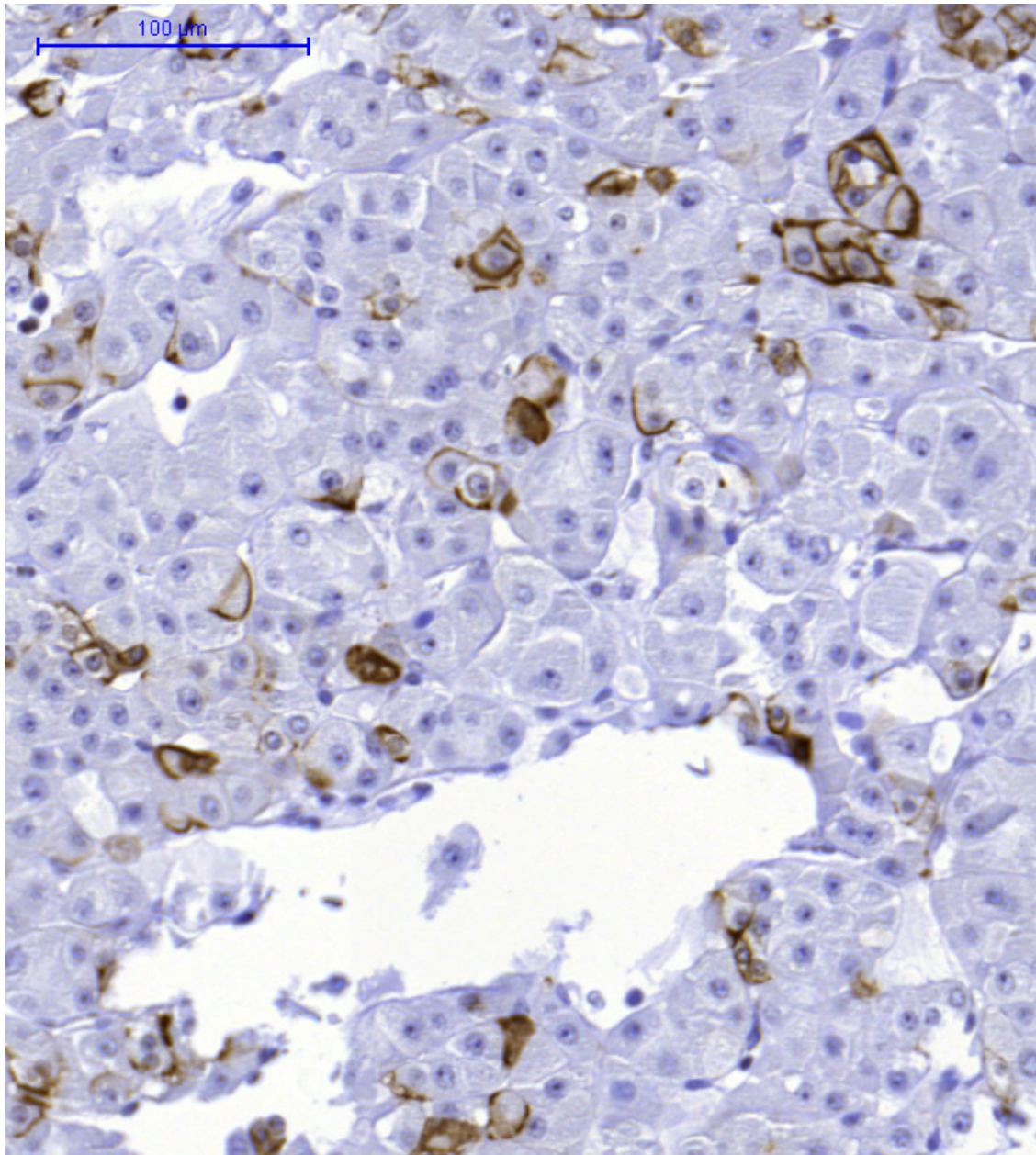


Abbildung 10: Onkozytom

Teilweise starke membranöse Ksp-Cadherin-Expression in einzelnen Zellen.

3.3 Statistische Auswertung der Ksp-Cadherin-Expression im normalen Nierenparenchym und den Tumorsubgruppen

3.3.1 Unterschiede der Ksp-Cadherin-Expression innerhalb des normalen Nierengewebes

Innerhalb des PT und DT war die membranöse Expression von Ksp-Cadherin signifikant höher als die zytoplasmatische Expression ($p < 0,05$).

Die membranöse Expression von Ksp-Cadherin war im DT signifikant höher als im PT ($p < 0,05$). Die zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin war im DT signifikant höher als im PT ($p < 0,05$) (vergl. Tab. 7).

Tabelle 7: Detaillierte Darstellung der statistisch signifikanten Unterschiede über die Expression von Ksp-Cadherin im normalen Nierenparenchym

Normale Niere			p-Wert
PT mem	vs.	PT zyt	<0,0001
PT mem	vs.	DT mem	<0,0001
DT mem	vs.	DT zyt	<0,0001
PT zyt	vs.	DT zyt	<0,0001

3.3.2 Unterschiede der Ksp-Cadherin-Expression zwischen dem normalen Nierengewebe und den Tumorsubgruppen

Die membranöse Expression von Ksp-Cadherin in CC NZK und Pap NT war signifikant niedriger als die membranöse Expression im PT und DT ($p < 0,05$). Die membranöse Expression von Ksp-Cadherin in den Chr NT und den Onkozytomen zeigte keinen signifikanten Unterschied zur membranösen Expression im PT ($p > 0,05$), war aber signifikant niedriger als die membranöse Expression im DT ($p < 0,05$).

Die zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin in CC NZK und Pap NT zeigte keinen signifikanten Unterschied gegenüber der zytoplasmatischen Expression von Ksp-Cadherin im PT ($p > 0,05$), war aber signifikant niedriger als die zytoplasmatische Expression im DT ($p < 0,05$). Die zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin in Chr NT und Onkozytomen war signifikant höher als die zytoplasmatische Expression im PT und signifikant niedriger als die zytoplasmatische Expression im DT ($p < 0,05$) (vergl. Tab. 8).

Tabelle 8: Detaillierte Darstellung der statistisch signifikanten Unterschiede über die Expression von Ksp-Cadherin im normalen Nierenparenchym und den Tumoren

Tumoren vs. normale Niere			p-Wert
CC NZK mem	vs.	PT mem	<0,0001
CC NZK mem	vs.	DT mem	<0,0001
CC NZK zyt	vs.	DT zyt	<0,0001
Pap NT mem	vs.	PT mem	<0,0001
Pap NT mem	vs.	DT mem	<0,0001
Pap NT zyt	vs.	DT zyt	<0,0001
Chr NT mem	vs.	DT mem	<0,0001
Chr NT zyt	vs.	PT zyt	0,0296
Chr NT zyt	vs.	DT zyt	<0,0001
Onkozytom mem	vs.	DT mem	<0,0001
Onkozytom zyt	vs.	PT zyt	0,0098
Onkozytom zyt	vs.	DT zyt	<0,0001

3.3.3 Unterschiede der Ksp-Cadherin-Expression zwischen den Tumorsubgruppen

Innerhalb der CC NZK und Pap NT fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen der membranösen und zytoplasmatischen Expression von Ksp-Cadherin ($p > 0,05$). Innerhalb der Chr NT und Onkozytomen war die membranöse Expression von Ksp-Cadherin jeweils signifikant höher als die zytoplasmatische Expression ($p < 0,05$).

Die membranöse Expression in den CC NZK unterschied sich nicht signifikant von der membranösen Expression in den Pap NT ($p > 0,05$). Die membranöse Expression von Chr NT und Onkozytomen unterschieden sich nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$). Die membranöse Expression der Chr NT und Onkozytomen war signifikant höher als die membranöse Expression innerhalb der CC NZK und Pap NT ($p < 0,05$).

Die zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin zeigte unter den Tumorsubgruppen keinen signifikanten Unterschied ($p > 0,05$) (vergl. Abb.11 und Tab.9).

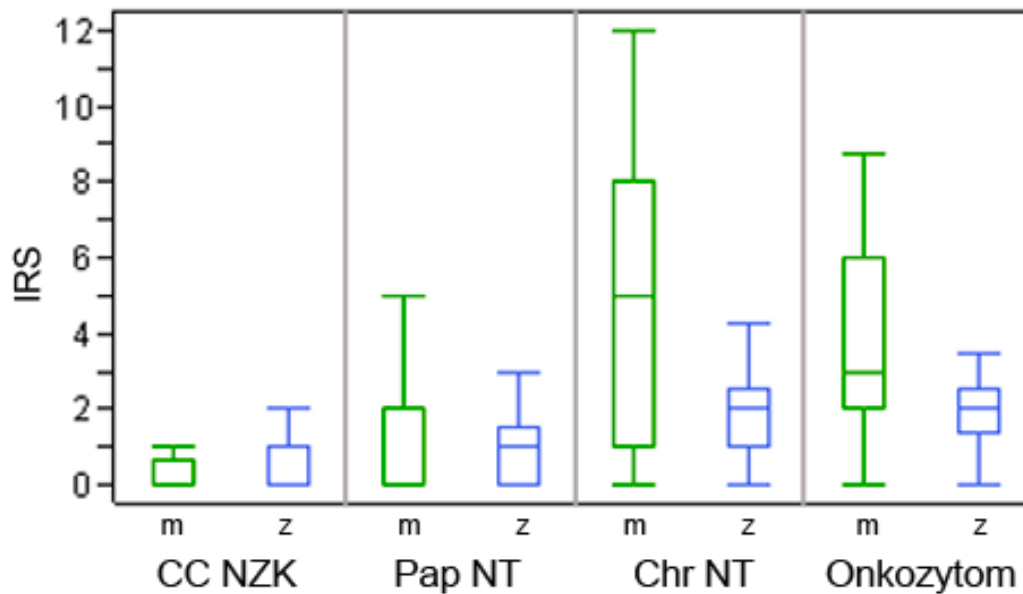


Abbildung 11: Box-Plot Diagramm der membranösen und zytoplasmatischen Expression von Ksp-Cadherin in den verschiedenen Tumorsubgruppen

Die klarzelligeren Nierenzellkarzinome und die papillären Nierentumore zeigen keinen signifikanten Unterschied in ihrer membranösen und zytoplasmatischen Expression von Ksp-Cadherin ($p > 0,05$).

Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zeigen sich zwischen folgenden Gruppen (vergl. Tab. 9):

Grün: membranöse Expression von Ksp-Cadherin; Blau: zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin

Tabelle 9: Detaillierte Darstellung der statistisch signifikanten Unterschiede über die Expression von Ksp-Cadherin in den Tumorsubgruppen in Ergänzung zur Abbildung 11

Tumoren		p-Wert	
CC NZK mem	vs.	Chr NT mem	<0,0001
CC NZK mem	vs.	Onkozytom mem	<0,0001
Pap NT mem	vs.	Chr NT mem	<0,0001
Pap NT mem	vs.	Onkozytom mem	0,0002
Chr NT mem	vs.	Chr NT zyt	<0,0001
Onkozytom mem	vs.	Onkozytom zyto	0,0176

3.4 Membranöse und zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin in den Tumorsubgruppen in Bezug auf das TNM- und G-Stadium sowie auf die Tumorgroße

3.4.1 Klarzellige Nierenzellkarzinome

Für jedes Stadium (TNM, G) sowie für die Unterscheidung der Tumorgroßen konnten die Gewebeproben von 40 Patienten ausgewertet werden.

3.4.1.1 T-Stadium

24 Patienten wiesen ein T1- und 16 ein T3-Stadium auf.

Der Median der membranösen Expression lag im T1-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 16 Gewebeproben (66,7%) negativ, 5 (20,8%) schwach und 3 (12,5%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im T1-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 13 Gewebeproben (54,2%) negativ und 11 (45,8%) schwach an.

Der Median der membranösen Expression lag im T3-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 3,5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 9 Gewebeproben (56,3%) negativ, 6 (37,5%) schwach und 1 (6,3%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im T3-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 1,5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 9 Gewebeproben (56,3%) negativ und 7 (43,7%) schwach an.

Im Vergleich zur membranösen und zytoplasmatischen Expression zeigte sich im T1- und T3-Stadium kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

3.4.1.2 N-Stadium

36 Patienten wiesen ein N0- und 4 ein N1-Stadium auf.

Der Median der membranösen Expression lag im N0-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 21 Gewebeproben (58,3%) negativ, 11 (30,6%) schwach und 4 (11,1%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im N0-Stadium bei einem IRS von 0,18 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen

färbten sich 18 Gewebeproben (50%) negativ und 18 (50%) schwach an. Der Median der membranösen und der zytoplasmatischen Expression lag im N1-Stadium jeweils bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 0). Alle Tumoren wiesen sowohl membranös als auch zytoplasmatisch keine Expression auf.

Im Vergleich zur membranösen und zytoplasmatischen Expression zeigte sich im N0- und N1-Stadium kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

3.4.1.3 M-Stadium

32 Patienten wiesen ein M0- und 8 ein M1-Stadium auf.

Der Median der membranösen Expression lag im M0-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 19 Gewebeproben (59,4%) negativ, 9 (28,1%) schwach und 4 (12,5%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im M0-Stadium bei einem IRS von 0,25 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 16 Gewebeproben (50%) negativ und 16 (50%) schwach an.

Der Median der membranösen Expression lag im M1-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 1). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 6 Gewebeproben (75%) negativ und 2 (25%) schwach an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im M1-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 0,5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 6 Gewebeproben (75%) negativ und 2 (25%) schwach an.

Im Vergleich zur membranösen und zytoplasmatischen Expression zeigte sich im M0- und M1-Stadium kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

3.4.1.4 G-Stadium

6 Patienten wiesen ein G1-, 27 ein G2- und 7 ein G3-Stadium auf.

Der Median der membranösen Expression lag im G1-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 2). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 5 Gewebeproben (83,3%) negativ und 1 (16,7%) schwach an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im G1-Stadium bei einem IRS von 0,5 (Min

0, Max 1). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 3 Gewebeproben (50%) negativ und 3 (50%) schwach an.

Der Median der membranösen Expression lag im G2-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 16 Gewebeproben (59,3%) negativ, 7 (25,9%) schwach und 4 (14,8%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im G2-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 15 Gewebeproben (55,6%) negativ und 12 (44,4%) schwach an.

Der Median der membranösen Expression lag im G3-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 1). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 4 Gewebeproben (57,1%) negativ und 3 (42,9%) schwach an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im G3-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max IRS 0,5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 4 Gewebeproben (57,1%) negativ und 3 (42,9%) schwach an.

Im Vergleich der membranösen und zytoplasmatischen Expression zeigte sich im G1- bis G3-Stadium kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

3.4.1.5 Tumorgröße

18 Patienten wiesen eine Tumorgröße ≤ 4 cm und 22 eine Tumorgröße > 4 cm auf.

Der Median der membranösen Expression bei den Tumoren ≤ 4 cm lag bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 12 (66,7%) negativ, 4 (22,2%) schwach und 2 (11,1%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression bei den Tumoren ≤ 4 cm lag bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 12 (66,7%) negativ und 6 (33,3%) schwach an.

Der Median der membranösen Expression bei Tumoren > 4 cm lag bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 4). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 13 (59,1%) negativ, 7 (31,8%) schwach und 2 (9,1%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression bei Tumoren > 4 cm lag bei einem

IRS von 4,3 (Min 0, Max 2). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 10 (45,5%) negativ und 12 (54,5%) schwach an.

Im Vergleich zur membranösen und zytoplasmatischen Expression zeigte sich in den Tumoren ≤ 4 cm und > 4 cm kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

3.4.2 Papilläre Nierentumore

Für jedes Stadium (TNM, G) sowie für die Unterscheidung der Tumorgrößen konnten die Gewebeproben von 25 Patienten ausgewertet werden.

3.4.2.1 T-Stadium

19 Patienten wiesen ein T1-, 1 ein T2- und 5 ein T3-Stadium auf.

Der Median der membranösen Expression lag im T1-Stadium bei einem IRS von 0,5 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 9 Gewebeproben (47,4%) negativ, 6 (31,6%) schwach und 4 (21%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im T1-Stadium bei einem IRS von 1 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 7 Gewebeproben (36,8%) negativ und 12 (63,2%) schwach an.

Im T2-Stadium färbte sich die Gewebeprobe mit einer membranösen Expression von IRS 0 und einer zytoplasmatischen Expression von IRS 1 an.

Der Median der membranösen Expression lag im T3-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 3 Gewebeproben (60%) negativ und 2 (40%) schwach an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im T3-Stadium bei einem IRS von 0,75 (Min 0, Max 2,5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (40%) negativ und 3 (60%) schwach an.

Im Vergleich zur membranösen und zytoplasmatischen Expression zeigte sich im T1- bis T3-Stadium kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

3.4.2.2 N-Stadium

22 Patienten wiesen ein N0- und 3 ein N1-Stadium auf.

Der Median der membranösen Expression lag im N0-Stadium bei einer IRS von 0,68 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 10 Gewebeproben (45,4%) negativ, 8 (36,4%) schwach und 4 (18,2%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im N0-Stadium bei einer IRS von 1 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 7 Gewebeproben (31,8%) negativ und 15 (68,2%) schwach an.

Der Median der membranösen Expression lag im N1-Stadium bei einer IRS von 0 (Min 0, Max 0). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 3 Gewebeproben (100%) negativ an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im N1-Stadium bei einer IRS von 0 (Min 0, Max 1,5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (66,7%) negativ und 1 (33,3%) schwach an.

Im Vergleich zur membranösen und zytoplasmatischen Expression zeigte sich im N0- und N1-Stadium kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

3.4.2.3 M-Stadium

21 Patienten wiesen ein M0- und 4 ein M1-Stadium auf.

Der Median der membranösen Expression lag im M0-Stadium bei einer IRS von 0,5 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 10 Gewebeproben (47,6%) negativ, 7 (33,3%) schwach und 4 (19,1%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im M0-Stadium bei einer IRS von 1,5 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 6 Gewebeproben (28,6%) negativ und 15 (71,4%) schwach an.

Der Median der membranösen Expression lag im M1-Stadium bei einer IRS von 1,5 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 3 Gewebeproben (75%) negativ und 1 (25%) schwach an.

Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im M1-Stadium bei einer IRS von 0,38 (Min 0, Max 0,75). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 3 Gewebeproben (75%) negativ und 1 (25%) schwach an.

Im Vergleich zur membranösen und zytoplasmatischen Expression zeigte sich im M0- und M1-Stadium kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

3.4.2.4 G-Stadium

4 Patienten wiesen ein G1-, 18 ein G2- und 3 ein G3-Stadium auf.

Der Median der membranösen Expression lag im G1-Stadium bei einem IRS von 0,25 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (50%) negativ, 1 (25%) schwach und 1 (25%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im G1-Stadium bei einem IRS von 1 (Min 0, Max 1,5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 3 Gewebeproben (75%) negativ und 2 (25%) schwach an.

Der Median der membranösen Expression lag im G2-Stadium bei einem IRS von 0,43 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 9 Gewebeproben (50%) negativ, 6 (33,3%) schwach und 3 (16,7%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im G2-Stadium bei einem IRS von 1,25 (Min 0 Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 6 Gewebeproben (33,3%) negativ und 12 (66,7%) schwach an.

Der Median der membranösen Expression lag im G3-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (66,7%) negativ und 1 (33,3%) schwach an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im G3-Stadium bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 0,75). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (66,7%) negativ und 1 (33,3%) schwach an.

Im Vergleich zur membranösen und zytoplasmatischen Expression zeigte sich im G1- bis G3-Stadium kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

3.4.2.5 Tumorgröße

16 Patienten wiesen eine Tumorgröße ≤ 4 cm und 9 eine Tumorgröße > 4 cm auf.

Der Median der membranösen Expression bei den Tumoren ≤ 4 cm lag bei einem IRS von 0 (Min 0, Max 6). Nach Einteilung in die Expressionsklassen

färbten sich 9 (56,2%) negativ, 3 (18,8%) schwach und 4 (25%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression bei den Tumoren ≤ 4 cm lag bei einem IRS von 0,5 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 7 (43,8%) negativ und 9 (56,2%) schwach an.

Der Median der membranösen Expression bei Tumoren > 4 cm lag bei einem IRS von 0,5 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 4 (44,4%) negativ und 5 (55,6%) schwach an. Der Median der zytoplasmatischen Expression bei Tumoren > 4 cm lag bei einem IRS von 1,5 (Min 0, Max 2,5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 (22,2%) negativ und 7 (77,8%) schwach an.

Im Vergleich zur membranösen und zytoplasmatischen Expression zeigte sich in den Tumoren ≤ 4 cm und > 4 cm kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

3.4.3 Chromophobe Nierentumoren

Für jedes Stadium (TNM, G) sowie für die Unterscheidung der Tumorgrößen konnten die Gewebeproben von 19 Patienten ausgewertet werden.

3.4.3.1 T-Stadium

14 Patienten wiesen ein T1- und 5 ein T3-Stadium auf.

Der Median der membranösen Expression lag im T1-Stadium bei einem IRS von 7 (Min 0, Max 12). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (14,3%) negativ, 2 (14,3%) schwach 3 (21,4%), mäßig und 7 (50%) stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im T1 Stadium bei einem IRS von 2 (Min 0, Max 4,3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (14,3%) negativ, 10 (71,4%) schwach und 2 (14,3%) mäßig stark an.

Der Median der membranösen Expression lag im T3-Stadium bei einem IRS von 1 (Min 1, Max 5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 3 Gewebeproben (60%) schwach und 2 (40%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im T3-Stadium bei einem IRS von 1 (Min 0,5,

Max 2). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 100 % schwach an.

Die membranöse Expression war im T1-Stadium signifikant höher als die zytoplasmatische Expression im T1-Stadium ($p < 0,05$). Die membranöse Expression im T1-Stadium war signifikant höher als die membranösen Expression im T3-Stadium ($p < 0,05$). Die membranöse Expression im T3-Stadium unterschied sich nicht signifikant von der zytoplasmatischen Expression im T3-Stadium ($p > 0,05$). Die zytoplasmatische Expression im T1-Stadium zeigte keinen signifikanten Unterschied zur zytoplasmatischen Expression im T3-Stadium ($p > 0,05$).

3.4.3.2 N-Stadium

17 Patienten wiesen ein N0- und 2 ein N1-Stadium auf.

Der Median der membranösen Expression lag im N0-Stadium bei einem IRS von 5,75 (Min 0, Max 12). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeprobe (11,8%) negativ, 4 (23,5%) schwach, 4 (23,5%) mäßig und 7 (41,2%) stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im N0-Stadium bei einem IRS von 2 (Min 0, Max 4,3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeprobe (11,8%) negativ, 13 (76,4%) schwach und 2 (11,8%) mäßig stark an.

Der Median der membranösen Expression lag im N1-Stadium bei einem IRS von 3 (Min 1, Max 5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbte sich 1 Gewebeprobe (50%) schwach und 1 (50%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im N1-Stadium bei einem IRS von 1,5 (Min 1, Max 2). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeprobe (100%) schwach an.

Die membranöse Expression war im N0-Stadium signifikant höher als die zytoplasmatische Expression ($p < 0,05$). Keinen signifikanten Unterschied fand sich zwischen der membranösen Expression im N0-Stadium und der membranösen Expression im N1-Stadium ($p > 0,05$). Auch die zytoplasmatische Expression im N0-Stadium unterschied sich nicht signifikant

von der zytoplasmatischen Expression im N1-Stadium ($p > 0,05$). Weiter fand sich innerhalb des N1-Stadiums kein signifikanter Unterschied in der Expression ($p > 0,05$).

3.4.3.3 M-Stadium

17 Patienten wiesen ein M0- und 2 ein M1-Stadium auf.

Der Median der membranösen Expression im M0-Stadium lag bei IRS 5,8 (Min 0, Max 12). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 19 Gewebeproben (59,4%) negativ, 10 (31,2%) schwach und 3 (9,4%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression im M0-Stadium lag bei IRS 2 (Min 0, Max 4,3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (11,8%) negativ, 13 (76,4%) schwach und 2 (11,8%) mäßig stark an.

Der Median der membranösen Expression lag im M1-Stadium bei einem IRS von 3 (Min 1, Max 5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbte sich 1 Gewebeprobe (50%) schwach und 1 (50%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im M1-Stadium bei einem IRS von 1,5 (Min 1, Max 2). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (100%) schwach an.

Die membranöse Expression war im M0-Stadium signifikant höher als die zytoplasmatische Expression ($p < 0,05$). Kein signifikanter Unterschied fand sich zwischen der membranösen Expression im M0-Stadium und der membranösen Expression im M1-Stadium ($p > 0,05$). Auch die zytoplasmatische Expression im M0-Stadium unterschied sich nicht signifikant von der zytoplasmatischen Expression im M1-Stadium ($p > 0,05$). Weiter fand sich innerhalb des M1-Stadium kein signifikanter Unterschied in der Expression von Ksp-Cadherin ($p > 0,05$).

3.4.3.4 G-Stadium

2 Patienten wiesen ein G1-, 16 ein G2- und 1 ein G3-Stadium auf.

Der Median der membranösen Expression lag im G1-Stadium bei einem IRS von 8 (Min 4, Max 12). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbte sich 1 Gewebeprobe (50%) schwach und 1 (50%) stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im G1-Stadium bei einem IRS von 2,75 (Min 1,5, Max 4). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (100%) schwach an.

Der Median der membranösen Expression lag im G2-Stadium bei einem IRS von 4,9 (Min 0, Max 10,7). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (12,5%) negativ, 4 (25%) schwach, 4 (25%) mäßig und 6 (37,5%) stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression lag im G2-Stadium bei einem IRS von 2 (Min 0, Max 4,3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 2 Gewebeproben (12,5%) negativ, 12 (75%) schwach und 2 (12,5%) mäßig stark an.

Der Tumor im G3-Stadium wies eine membranöse Expression mit einem ISR-Wert von 5 und eine zytoplasmatische Expression mit einem ISR-Wert von 2 auf.

Im Vergleich zur membranösen und zytoplasmatischen Expression zeigte sich im G1- bis G3-Stadium kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

3.4.3.5 Tumorgröße

9 Patienten wiesen eine Tumorgröße ≤ 4 cm und 10 eine Tumorgröße > 4 cm auf.

Der Median der membranösen Expression bei den Tumoren ≤ 4 cm lag bei einem IRS von 3,5 (Min 0, Max 12). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 1 (11,1%) negativ, 4 (44,4%) schwach, 1 (11,1%) mäßig und 3 (33,3%) stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression bei den Tumoren ≤ 4 cm lag bei einem IRS von 2 (Min 0, Max 4,3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 1 (11,1%) negativ, 6 (66,7%) schwach und 2 (22,2%) mäßig stark an.

Der Median der membranösen Expression bei Tumoren > 4 cm lag bei einem IRS von 5,5 (Min 0, Max 9). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 1 (10%) negativ, 1 (10%) schwach, 4 (40%) mäßig und 4 (40%) stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression bei Tumoren > 4 cm lag bei einem IRS von 2 (Min 0, Max 3,5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 1 (10%) negativ und 9 (90%) schwach positiv an.

Die membranöse Expression war bei Tumoren > 4 cm signifikant höher als die zytoplasmatische Expression ($p < 0,05$). Keinen signifikanten Unterschied fand sich zwischen der membranösen Expression bei Tumoren > 4 cm und der membranösen Expression bei Tumoren ≤ 4 cm ($p > 0,05$). Die zytoplasmatische Expression der Tumoren > 4 cm unterschied sich nicht signifikant von der zytoplasmatischen Expression der Tumoren ≤ 4 cm ($p > 0,05$).

3.4.4 Onkozytome

3.4.4.1 Tumorgröße

Von insgesamt 27 Patienten, deren Gewebeproben ausgewertet werden konnten, wiesen 22 Patienten eine Tumorgröße ≤ 4 cm und 5 eine Tumorgröße > 4 cm auf.

Der Median der membranösen Expression bei den Tumoren ≤ 4 cm lag bei einem IRS von 3 (Min 0, Max 8,75). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 1 (4,5%) negativ, 15 (68,2%) schwach, 4 (18,2%) mäßig und 2 (9,1%) stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression bei den Tumoren ≤ 4 cm lag bei einem IRS von 2 (Min 0, Max 3). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 1 (4,5%) negativ und 21 (95,5%) schwach positiv an.

Der Median der membranösen Expression bei Tumoren > 4 cm lag bei einem IRS von 3,75 (Min 1,5, Max 7,5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 3 (60%) schwach und 2 (40%) mäßig stark an. Der Median der zytoplasmatischen Expression bei Tumoren > 4 cm lag bei einem IRS von 1,5 (Min 1, Max 3,5). Nach Einteilung in die Expressionsklassen färbten sich 100% schwach an.

Die membranöse Expression war bei Tumoren ≤ 4 cm signifikant höher als die zytoplasmatische Expression ($p < 0,05$). Keinen signifikanten Unterschied fand sich zwischen der membranösen Expression bei Tumoren ≤ 4 cm und der membranösen Expression bei Tumoren > 4 cm ($p > 0,05$).

Bei den Tumoren > 4 cm unterschied sich die membranöse Expression nicht signifikant von der zytoplasmatischen Expression ($p > 0,05$).

Die zytoplasmatische Expression der Tumoren ≤ 4 cm unterschied sich nicht signifikant von der zytoplasmatischen Expression der Tumoren > 4 cm ($p > 0,05$).

3.4.5 Tendenz der Ksp-Cadherin-Expression in den Tumorsubgruppen und in den malignen Tumoren zusammengefasst im Hinblick auf die tumorbiologischen Eigenschaften

Obwohl die Ksp-Cadherin-Expression in den meisten Fällen keine statistisch nachweisbaren Zusammenhänge aufwies, konnte in jedem fortgeschrittenen Tumor-Stadium eine Tendenz der Ksp-Cadherin-Reduktion festgestellt werden. Diese Tendenz ließ sich durch das Zusammenfassen der malignen Tumorsubgruppen und das alleinige Betrachten der biologischen Eigenschaften bestätigen. Hierbei zeigte sich im T3-Stadium eine signifikant niedrigere membranöse Ksp-Cadherin-Expression als im T1-Stadium ($p < 0,05$).

4.Diskussion

Die perkutane Nierenbiopsie hat in jüngster Zeit immer mehr an Popularität gewonnen^{140,177}. Dies ist u. a. auf die Entwicklung neuer Biopsie-Techniken, neuer konservativer und minimalinvasiver Therapien sowie auf die zunehmende Untersuchung immunhistochemischer und molekularer Marker in der Tumordiagnostik zurückzuführen¹⁷⁷. Durch die Anwendung der Tissue Microarray Technik konnte die histopathologische Auswertung kleiner Tumorproben, wie sie z. B. bei einer Nierenbiopsie entstehen, nachgeahmt und validiert werden. Das nierenspezifische Membranprotein Ksp-Cadherin wurde bisher in einer Reihe von Studien bezüglich seiner Eignung zur Subgruppendifferenzierung renaler Tumoren untersucht^{2,92,112,152}. Es zeigte sich, dass die Ksp-Cadherin-Expression in Chr NT und Onkozytomen im Vergleich zu CC NZK und Pap NT höher ist.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, herauszufinden, ob anhand des Markers Ksp-Cadherin eine bessere Subgruppendifferenzierung der NT möglich ist. Zusätzlich wurde die Expression von Ksp-Cadherin in den Tumorsubgruppen und dem gesunden Nierenparenchym untersucht und analysiert, ob ein Zusammenhang der Ksp-Cadherin-Expression bezüglich des TNM- und G-Stadiums sowie der Tumorgröße besteht. Hierzu wurde die Expression von Ksp-Cadherin in dem gesunden Nierenparenchym sowie in den Tumorsubgruppen mit Hilfe des IRS objektiviert.

Die aktuelle Arbeit zeigte folgende Ergebnisse: Im gesunden Nierenparenchym fand sich im PT eine mäßig starke membranöse und keine zytoplasmatische Expression. Im DT zeigte sich sowohl eine starke membranöse als auch eine mäßig starke zytoplasmatische Expression. Diese Ergebnisse stimmen weitestgehend mit denen anderer Arbeitsgruppen überein (vergl. Tab. 10)^{2,92,112,152}. Nur die von uns im DT nachgewiesene mäßig starke zytoplasmatische Ksp-Cadherin-Expression wurde in der Literatur bisher nicht beschrieben.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützen die Annahme, dass Ksp-Cadherin u. a. ein Marker des DT ist^{152,165}.

Tabelle 10: Immunhistochemische Ergebnisse für die Ksp-Cadherin-Expression im gesunden Nierenparenchym

Studie	Immunhistochemische Expression	PT	DT	Glomeruli, Interstitium Blutgefäße, Entzündungszellen	Methode
Mazal et al., 2005	membranös	Tubuli im Allgemeinen +++		negativ	TMA und GF
Shen et al., 2005	membranös	+	+++	negativ	GF
Adley et al., 2006	membranös	+	+++	keine Angaben.	TMA und GF
Kuehn et al., 2007	membranös	+	+++	negativ	TMA und GF
Aktuelle Studie					TMA
membranös		++	+++	negativ	
zytoplasmatisch		negativ	++	negativ	

Zusammenfassung der bisherigen immunhistochemischen Färberegebnisse verschiedener Arbeitsgruppen und der jetzigen Studie für die Ksp-Cadherin-Expression im gesunden Nierenparenchym. Expression: +/+/+++ (schwach/mäßig stark/stark). GF – Großflächen Schnitt.

In den Tumorsubgruppen zeigte sich die stärkste Expression in den Chr NT, gefolgt von den Onkozytomen. Die CC NZK und Pap NT zeigten jeweils eine schwache Ksp-Cadherin-Expression. Diese Ergebnisse stimmen mit der Hypothese, dass Chr NT und Onkozytome ihren Ursprung im DT und CC NZK sowie Pap NT ihren Ursprung im PT haben, überein^{152,165}.

Wie auch andere Arbeitsgruppen konnten wir eine signifikant höhere membranöse Expression von Ksp-Cadherin in den Chr NT und Onkozytomen im Vergleich zu den CC NZK und Pap NT zeigen, wodurch die Hypothese bezüglich des Tumorursprungs weiter untermauert werden kann^{2,112,152}. Des Weiteren konnten wir, übereinstimmend mit anderen Arbeitsgruppen, in 89,5 % der Chr NT und in 96,3 % der Onkozytome einen mäßig starken (IRS 5) bzw. schwachen (IRS 3) Median der membranösen Ksp-Cadherin-Expression beobachten^{2,112,152}. In 37 % der CC NZK und in 48 % der Pap NT beobachteten wir jeweils einen schwachen (IRS 0) Median der membranöse Expression (vergl. Tabelle 11).

Im Jahre 2005 untersuchten Mazal et al.¹¹² die Ksp-Cadherin-Expression in 212 renalen Tumoren mit Hilfe der TMA-Methode. Sie untersuchten 102 CC NZK, 46 Pap NT, 30 Chr NT und 31 Onkozytome. Sie zeigten, dass in 97 % der Chr NT eine membranöse Expression von Ksp-Cadherin vorlag, wohingegen lediglich 6,5 % der Onkozytome, 2,2 % der Pap NT und 0 % der CC NZK eine membranöse Ksp-Cadherin-Expression aufwiesen. Aus diesen Ergebnissen schlussfolgerten Mazal et al. (2005)¹¹², dass Ksp-Cadherin ein wertvoller Marker zur Differenzierung von chromophoben Nierentumoren und Onkozytomen sein kann.

Shen et al. (2005)¹⁵² untersuchten im selben Jahr wie Mazal et al. (2005)¹¹² die Ksp-Cadherin-Expression in renalen Tumoren. Diese Arbeitsgruppe fand eine membranöse Expression von Ksp-Cadherin in 100 % der Chr NT und in 95 % der Onkozytome. Aufgrund dieser Ergebnisse schlussfolgerten sie, dass Ksp-Cadherin ein Marker für den DT ist und zudem als Marker zur Differenzierung von Chr NT und Onkozytomen ungeeignet sei, da beide Tumorsubgruppen ihren Ursprung im DT nehmen.

Die Ergebnisse von Adley et al. (2006)² unterstützten die Ergebnisse von Shen et al. (2005)¹⁵². Auch Sie fanden eine prozentual hohe membranöse Expression von Ksp-Cadherin in Chr NT (86%) und Onkozytomen (76%) und warnten vor dem Einsatz von Ksp-Cadherin als Marker zur Differenzierungsdiagnostik.

Kuehn et al. berichteten 2007⁹² erstmals neben der membranösen auch über eine zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin in renalen Tumoren. Des Weiteren unterstützen die Ergebnisse dieser Autoren am ehesten die von Shen et al. (2005) und Adley et al. (2006), welche ebenfalls eine prozentual hohe membranöse Ksp-Cadherin-Expression in Chr NT und Onkozytomen nachwiesen^{2,152} (vergl. Tabelle 11).

Die aktuelle Studie zeigte eine prozentual hohe membranöse und zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin in chromophoben Nierentumoren (89,5% und 89,5%) und Onkozytomen (96,3% und 96,3%). Diese Ergebnisse bekräftigen die Ergebnisse von Adley et al. (2006), Khuen et al. (2007) sowie Shen et al. (2005) und sprechen gegen die Ergebnisse von

Mazal et al. (2005), die in lediglich 6,5 % der Onkozytome eine membranöse Expression beobachteten^{2,92,112,152} (vergl. Tabelle 11).

Während die meisten Autoren^{2,112,152} keine zytoplasmatische Expression von Ksp-Cadherin beschrieben, konnten wir in allen renalen Subgruppen eine schwache zytoplasmatische Expression nachweisen (vergl. Tabelle 11). Ähnliche Beobachtungen wurden lediglich von Kuehn et al. (2007)⁹² beschrieben (vergl. Tabelle 11). Obwohl sich die zytoplasmatische Expression zwischen den Tumorsubgruppen nicht signifikant voneinander unterscheidet ($p > 0,05$), könnte sie einen Hinweis auf die Malignität eines Tumors geben. Es fällt auf, dass innerhalb der CC NZK (45%) die prozentual geringste zytoplasmatische Expression und in den benignen Onkozytomen (96,3%) die prozentual höchste zytoplasmatische Expression zu beobachten war. Papilläre NT wiesen in 64 % und Chr NT in 89,5 % der untersuchten Gewebeproben eine zytoplasmatische Expression auf. Es zeigt sich also, dass mit zunehmender Malignität die zytoplasmatische Ksp-Cadherin-Expression prozentual abnimmt, was ein Hinweis auf eine verminderte Produktion sein kann.

Obwohl Ksp-Cadherin ein membranständiges Protein ist, wird es innerhalb der Zelle produziert und anschließend mittels eines Transportmechanismus zur Zellmembran transportiert. Vergleicht man den prozentualen Anteil der zytoplasmatischen Expression mit dem prozentualen Anteil der membranösen Expression, so fällt Folgendes auf: Innerhalb der CC NZK und Pap NT gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen zytoplasmatischer und membranöser Expression ($p > 0,05$). Allerdings ist die zytoplasmatische Expression mit 45 % in CC NZK und 64 % in Pap NT prozentual höher als die membranöse Expression (37,5% in CC NZK und 48% in Pap NT). Dies könnte auf eine Mutation innerhalb des Gens für Ksp-Cadherin hinweisen. Eine solche Mutation könnte zu einer Störung des Transportmechanismus, der das Protein Ksp-Cadherin zur Zellmembran transportiert, führen, bzw. eine Einbaustörung in die Zellmembran verursachen. Weiter fällt auf, dass der prozentuale Anteil der Ksp-Cadherin-Expression in den benignen Onkozytomen sowohl membranös als auch zytoplasmatisch im Vergleich zu den anderen Tumorsubgruppen am höchsten ist und mit zunehmender Malignität der

Tumoren abnimmt (vergl. Tabelle 11). Höhergradige hirneigene Tumore (Gliome WHO III und IV) weisen gegenüber niedriggradigen Gliomen (WHO I und II) häufiger Mutationen auf³⁰. Übertragen auf die Nierentumoren könnte die Abnahme der membranösen und zytoplasmatischen Expression von Ksp-Cadherin auf ein häufigeres Vorkommen von Mutationen in den maligneren CC NZK und Pap NT gegenüber Chr NT und benignen Onkozytomen hinweisen.

Die bereits oben beschriebenen unterschiedlichen Ergebnisse der einzelnen Arbeitsgruppen zur Ksp-Cadherin-Expression im Hinblick auf die Tumorsubgruppen und das gesunde Nierenparenchym könnten durch folgende Faktoren zustande gekommen sein:

1. Verwendete Antikörper und Verdünnung:

Obwohl die meisten Autoren^{2,112,152} den gleichen Antikörper (Klone 4H6, Zymed) wie wir verwendet haben, könnten unterschiedliche Verdünnungen des Antikörpers zu verschiedenen Ergebnissen geführt haben. Wir verwendeten eine Verdünnung von 1:100. Mazal et al. (2005)¹¹² gaben eine Verdünnung von 1:2500 an, Shen et al. (2005)¹⁵² eine von 1:75 und Adley et al. (2006)² eine von 1:50. Kuehn et al. (2007)⁹² verwendeten als Einzige einen monoklonalen Antikörper von Invitrogen (San Francisco, CA) mit einer Verdünnung von 1:40. Auch die Verwendung unterschiedlicher Antikörper könnte die Diskrepanz in den Ergebnissen verursacht haben.

2. Verwendete Detektionssysteme:

Um die Bindung des Antikörpers auf dem untersuchten Gewebe sichtbar zu machen, können verschiedene Detektionssysteme eingesetzt werden. Mazal et al. (2005)¹¹² verwendeten das Supersensitive-Kit (BioGenex, San Ramon, CA) und Histofine-New-Fuchsin-Kit (Medac, Hamburg, Deutschland) zur Detektion. Kuehn et al. (2007)⁹² und Adley et al. (2006)² verwendeten das EnVision von Dako. Shen et al. (2005)¹⁵² verwendeten wie wir die Avidin-Biotin-Komplex-Methode. Es ist möglich, dass die unterschiedlichen Detektionsmethoden diese unterschiedlichen Expressionsergebnisse verursacht haben.

3. Auswertrichtlinien:

In der aktuellen Arbeit wurde selbst ein geringer Prozentsatz positiver Zellen sowie eine schwache Färbung als positiv anerkannt. Mazal et al. (2005)¹¹² hingegen werteten einen Schnitt nur dann als positiv, wenn > 10 % der Zellen eine Expression aufwiesen. Diese Unterschiede in der Auswertung können ebenfalls zu den hier dargestellten Ergebnissen geführt haben.

4. Unspezifische Färbung:

Die Möglichkeit der unspezifischen Färbung muss ebenfalls in Betracht gezogen werden. Diese Möglichkeit erscheint uns allerdings unwahrscheinlich, da die immunhistochemischen Färbungen inklusive Negativekontrolle öfters wiederholt wurden und die hier beschriebenen Ergebnisse bestätigten.

5. Fixierung:

Die primäre Einwirkzeit von Paraffin auf das zu untersuchende Gewebe kann eine entscheidende Rolle spielen. Bei einer zu starken Fixierung können manche Antikörper nicht gut bzw. gar nicht binden. Dies kann ein falsch negatives Ergebnis zur Folge haben.

6. Entparaffinierung:

Ein weiterer wichtiger Punkt ist die Entparaffinierung. Bei zu kurzer Entparaffinierung ist es möglich, dass der Antikörper nicht binden kann. Bei einer zu langen Entparaffinierung ist eine Zerstörung des Proteins möglich. Beide Formen können zu falschen Ergebnissen führen.

7. Ethnische Gruppen

Die unterschiedlichen Expressionsergebnisse könnten auch dadurch verursacht worden sein, dass die Patienten, denen Gewebe entnommen wurde, verschiedenen ethnischen Gruppen zugehörten.

Tabelle 11: Immunhistochemische Ergebnisse für die Ksp-Cadherin-Expression in verschiedenen Nierentumoren

Studie	Immunhistochemische Expression	CC NZK Nr (%)	Pap NT Nr (%)	Chr NT Nr (%)	Onkozytom Nr (%)	Methode
Mazal et al., 2005	membranös	0/102 (0) (102 GF)	1/46 (2) (44 TMA) (2 GF)	29/30 (97) (23 TMA) (7 GF)	2/31 (6,5) (28 TMA) (3 GF)	TMA und Großflächen- schnitt (GF)
Shen et al., 2005	membranös	6/42 (14)	4/30 (13)	13/13 (100)	19/20 (95)	GF
Adley et al., 2006	membranös	10/33 (30)	0/15 (0)	31/36 (86)	31/41 (76)	TMA
		—	—		5/6 (83)	GF
Kuehn et al., 2007	membranös und zytoplasmatisch	6/36 (17) (36 TMA)	5/17 (29) (17 TMA)	23/25 (92) (5 TMA) (20 GF)	15/20 (75) (11 TMA) (9 GF)	TMA und GF
Aktuelle Studie						TMA
membranös		15/40 (37,5)	12/25 (48)	17/19 (89,5)	26/27 (96,3)	
Median IRS		0	0	5	3	
zytoplasmatisch		18/40 (45)	16/25 (64)	17/19 (89,5)	26/27 (96,3)	
Median IRS		0	1	2	2	

Zusammenfassung der bisherigen immunhistochemischen Färberegebnisse verschiedener Arbeitsgruppen und der jetzigen Studie für die Ksp-Cadherin-Expression in renalen Tumorsubgruppen (CC NZK, Pap NT, Chr NT, Onkozytome). Angegeben ist die Anzahl der positiven Fälle zur Gesamtzahl der Fälle. Die Zahlenangabe in Klammer stellt den prozentualen Anteil an positiven Fällen dar.

Neben der Frage der Subgruppendifferenzierung untersuchten wir auch den Zusammenhang von Ksp-Cadherin und den TNM- und G-Stadien sowie der Tumorgröße. Soweit uns bekannt ist, wurde dies bisher nur von Rao et al. 2007 untersucht. Da das Paper von Rao et al. (2007)¹³⁸ in chinesischer Sprache verfasst ist, konnte hier lediglich der auf Englisch geschriebene Abstrakt herangezogen werden. Ihre Daten zeigten eine Korrelation zwischen dem Tumor-Stadium sowie G-Stadium und der Ksp-Cadherin-Expression innerhalb der CC NZK. Unklar ist, ob eine Korrelation der tumorbiologischen Eigenschaften sowie der Tumorgröße mit anderen malignen Tumorsubgruppen gemacht wurde.

Unsere Daten zeigten für CC NZK und Pap NT keine signifikante Korrelation hinsichtlich des TNM- und G-Stadiums sowie der Tumorgröße. Obwohl unsere Daten die Signifikanz-Kriterien nicht erfüllten, konnten wir bei CC NZK und bei Pap NT in fortgeschrittenen TNM- und G-Stadien sowie mit zunehmender Tumorgröße eine klare Tendenz zur Ksp-Cadherin-Reduktion feststellen. Diese Tendenz steht im Hinblick auf die CC NZK im Einklang mit den Ergebnissen von Rao et al. (2007)¹³⁸.

Bei den Chr NT zeigte sich im T1-Stadium eine signifikant höhere membranöse als zytoplasmatische Expression. Die membranöse Expression im T1-Stadium war ebenfalls signifikant höher als die membranöse Expression im T3-Stadium. Im N0- und M0-Stadium fand sich eine signifikant höhere membranöse als zytoplasmatische Expression. In den G-Stadien konnte keine signifikante Korrelation beobachtet werden. Bezüglich der Tumorgröße zeigte sich bei Tumoren > 4 cm eine signifikant höhere membranöse als zytoplasmatische Expression. Bei den Tumorgrößen ≤ 4 cm zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der membranösen und zytoplasmatischen Ksp-Cadherin-Expression. Innerhalb der Chr NT konnte ebenfalls, ohne dass in allen Tumorstadien die Signifikanz-Kriterien erfüllt wurden, in fortgeschrittenen TNM- und G-Stadien eine klare Tendenz zur Ksp-Cadherin-Reduktion beobachtet werden.

Durch das Zusammenfassen der malignen Tumorsubgruppen und das alleinige Betrachten der biologischen Eigenschaften, konnte, obwohl statistisch nicht

signifikant, eine Tendenz zur Ksp-Cadherin-Reduktion in fortgeschrittenen TNM- und G-Stadien nachgewiesen werden. Lediglich im T3-Stadium konnte eine signifikant niedrigere membranöse Expression von Ksp-Cadherin als im T1-Stadium nachgewiesen werden ($p < 0,05$). Soweit uns bekannt ist, sind wir die ersten, die eine solche Korrelation untersucht haben.

Bei den Onkozytomen zeigte sich bei Tumoren ≤ 4 cm eine signifikant höhere membranöse Expression. Gegenüber den Tumoren > 4 cm zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Ksp Expression.

Die höhere membranöse Expression von Ksp-Cadherin in Chr NT und Onkozytomen könnte ihre bessere klinische Prognose untermauern. So könnte der Verlust von Ksp-Cadherin eine schlechtere Prognose bedeuten. Des Weiteren hat der Verlust von Ksp-Cadherin in fortgeschritten TNM- und G-Stadien höchstwahrscheinlich mit seiner biologischen Rolle als Zell-Zell-Adhäsionsmolekül zu tun, welches im gesunden Gewebe u. a. für die Aufrechterhaltung eines bereits ausdifferenzierten Status quo sowie für den Erhalt der Gewebeintegrität zuständig ist.

4.1 Schlussfolgerung und Ausblick

Unsere Ergebnisse sprechen, wie auch die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen, gegen die Anwendung von Ksp-Cadherin zur Differenzierung von Chr NT und Onkozytomen^{2,92,152}. Beide Subgruppen weisen eine hohe Ksp-Cadherin-Expression auf. Unsere Ergebnisse, wie auch die Ergebnisse anderer Gruppen, deuten auf eine nahe histogenetische Beziehung zwischen diesen beiden Tumorsubgruppen hin^{2,92,168,170}. Weiter unterstützen die Ergebnisse der Ksp-Cadherin-Expression innerhalb des normalen Nierenparenchyms die Annahme, dass Ksp-Cadherin u. a. ein Marker des DT ist und dass Chr NT sowie Onkozytome ihren Ursprung im DT nehmen.

Ksp-Cadherin kann gegebenenfalls hilfreich sein, diese beiden Tumorsubgruppen von den klarzelligen Nierenzellkarzinomen und den papillären Nierentumoren präoperativ mit Hilfe einer Feinnadelbiopsie zu unterscheiden.

Die prozentual niedrigere zytoplasmatische Expression in CC NZK im Vergleich zum Onkozytom kann ein Hinweis auf eine verminderte Produktion von Ksp-Cadherin innerhalb maligneren Tumoren sein.

Eine prozentual höhere zytoplasmatische Expression in CC NZK und Pap NT im Vergleich zur membranösen Expression kann ein Hinweis auf eine Mutation innerhalb des Gens für Ksp-Cadherin mit der Folge einer fehlenden oder veränderten Synthese des Proteins in den mutierten Zellen sein. Letzteres könnte zu einer Störung des Transportmechanismus, der das Protein Ksp-Cadherin zur Zellmembran transportiert, führen, bzw. eine Einbaustörung in die Zellmembran verursachen.

Die höhere membranöse Expression im T1-, N0- und M0-Stadium innerhalb der Chr NT spricht für ihre bessere klinische Prognose. Auch die signifikant höhere membranöse Expression von Ksp-Cadherin bei Onkozytomen ≤ 4 cm untermauert das benigne Erscheinungsbild dieser Tumoren. Ein Verlust von Ksp-Cadherin könnte demnach mit einer aggressiveren Tumorsubgruppe und einem schlechteren Outcome assoziiert werden.

Nach wie vor gilt es, die mögliche biologische Rolle der Ksp-Cadherin-Reduktion in CC NZK und Pap NT näher zu erforschen. Des Weiteren sollte die von uns festgestellte Tendenz der Ksp-Cadherin-Reduktion in fortgeschrittenen Tumorstadien weiter untersucht werden.

Um weitere Klarheit bezüglich dieses Expressionsmusters zu erlangen, könnten zusätzliche Methoden zur Ksp-Cadherin-Bestimmung in den Tumorsubgruppen hilfreich sein. Zu diesen Methoden zählen u. a. die RNA-Messung mittels PCR und Real Time PCR, der Western Blott, sowie die Taq Man® Protein Assay Methode. Mit Hilfe dieser Methoden können Expressionen auf RNA- und Protein-Ebenen bestätigt oder ausgeschlossen werden.

5. Zusammenfassung

Die Subgruppendifferenzierung der Nierentumoren ist v. a. wegen ihrer unterschiedlichen klinischen Verläufe sowie Therapieformen wünschenswert. Dies gilt v. a. für die Unterscheidung maligner Nierentumore von dem benignen Onkozytom. Auf der Suche nach entsprechenden diagnostischen Verfahren hat die Nierenbiopsie in jüngster Zeit eine Renaissance erlebt.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu prüfen, ob anhand des immunhistochemischen Markers Ksp-Cadherin eine Subgruppendifferenzierung renaler Tumoren möglich ist. Des Weiteren wurde untersucht, ob sich seine Expression mit den biologischen Eigenschaften des Tumors wie dem TNM- und G-Stadium und der Tumorgroße verändert. Als Referenzgewebe diente gesundes Nierenparenchym.

Bei den Untersuchungen wurde die Tissue Microarray Technik, welche sich zur Simulation von Nierenbiopsien eignet, angewandt. Insgesamt wurden von 40 Patienten mit einem klarzelligem Nierenzellkarzinom (CC NZK), 25 Patienten mit einem papillären Nierentumor (Pap NT), 19 Patienten mit einem chromophoben Nierentumor (Chr NT) und 27 Patienten mit einem Onkozytom die Gewebeproben immunhistochemisch untersucht, über einen Färbescore bewertet und die Ergebnisse statistisch ausgewertet.

Dabei konnte beobachtet werden, dass die membranöse Expression von Ksp-Cadherin in Chr NT und Onkozytomen signifikant höher war als in CC NZK und Pap NT ($p < 0,05$). Des Weiteren konnten wir im Einklang mit der Literatur eine prozentual vergleichbare Expression von Ksp-Cadherin in Chr NT und Onkozytomen beobachten.

Im gesunden Nierenparenchym waren sowohl die membranöse wie auch zytoplasmatische Ksp-Cadherin-Expression im DT signifikant höher als die jeweilige Expression im PT ($p < 0,05$).

Im Bezug auf die biologischen Tumoreigenschaften konnten wir für alle Subgruppen eine klare Tendenz zur reduzierten Ksp-Cadherin-Expression in fortgeschrittenen Tumorstadien feststellen. Die deutlichsten Unterschiede wurden in den chromophoben Nierentumoren gefunden. Hier war die

membranöse Expression im T3-Stadium signifikant niedriger als im T1-Stadium ($p < 0,05$). Beim alleinigen Betrachten der tumorbiologischen Eigenschaften (ohne Subgruppendifferenzierung) konnte diese Tendenz bestätigt werden. Auch hier fand sich im T3-Stadium eine signifikant niedrigere membranöse Expression als im T1-Stadium ($p < 0,05$). Unserer Kenntnis nach sind wir die ersten die eine solche Untersuchung vorgenommen haben.

Die aktuelle Studie unterstützt die Hypothese, dass Chr NT und Onkozytome ihren Ursprung in den DT des Nierenparenchyms nehmen, und CC NZK sowie Pap NT ihren Ursprung in den PT haben. Weiter sprechen die vorliegenden Ergebnisse gegen die Anwendung von Ksp-Cadherin zur Differenzierung Chr NT von Onkozytomen. Bei einer Unterscheidung zwischen Chr NT bzw. Onkozytomen und den bösartigeren CC NZK bzw. Pap NT kann eine niedrigere membranöse Ksp-Cadherin-Expression als Hinweis auf ein CC NZK oder einen Pap NT dienen, ist jedoch nicht beweisend.

Um weitere Klarheit bei diesen Ergebnissen zu erlangen, sollte eine Folgestudie mit größerem Patientenkollektiv durchgeführt werden. Des Weiteren könnten zusätzliche Methoden, welche auf RNA- bzw. Protein-Ebene eine Ksp-Cadherin-Expression bestätigen oder ausschließen, angewandt werden. Hierzu zählen u. a. die RNA-Messung mittels PCR und Real Time PCR, der Western Blott, sowie die Taq Man® Protein Assay Methode.

6.Verzeichnisse

6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Nierentumoren – Schematische Darstellung.....	5
Abbildung 2: Gesundes Nierenparenchym.....	31
Abbildung 3: Klarzelliges Nierenzellkarzinom	33
Abbildung 4: Klarzelliges Nierenzellkarzinom	34
Abbildung 5: Papillärer Nierentumor	36
Abbildung 6: Papillärer Nierentumor	37
Abbildung 7: Chromophober Nierentumor.....	39
Abbildung 8: Chromophober Nierentumor.....	40
Abbildung 9: Onkozytom	42
Abbildung 10: Onkozytom	43
Abbildung 11: Box-Plot Diagramm der membranösen und zytoplasmatischen Expression von Ksp-Cadherin in den verschiedenen Tumorsubgruppen.....	46

6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: WHO-Klassifikation von Nierentumoren (Stand 2004)	2
Tabelle 2: TNM-Klassifikation des Nierenzellkarzinoms (Stand 2003).....	3
Tabelle 3: Empfohlene chirurgische Therapie-Strategien, übereinstimmend mit den klinischen Tumorstadien (Stand 2010).....	15
Tabelle 4: Patientendaten	21
Tabelle 5: Histologische Eigenschaften	21
Tabelle 6: Berechnung des IRS (Immunreaktiver Punktwert)	28
Tabelle 7: Detaillierte Darstellung der statistisch signifikanten Unterschiede über die Expression von Ksp-Cadherin im normalen Nierenparenchym.....	44
Tabelle 8: Detaillierte Darstellung der statistisch signifikanten Unterschiede über die Expression von Ksp-Cadherin im normalen Nierenparenchym und den Tumoren.....	45
Tabelle 9: Detaillierte Darstellung der statistisch signifikanten Unterschiede über die Expression von Ksp-Cadherin in den Tumorsubgruppen in Ergänzung zur Abbildung 11	46
Tabelle 10: Immunhistochemische Ergebnisse für die Ksp-Cadherin-Expression im gesunden Nierenparenchym	60
Tabelle 11: Immunhistochemische Ergebnisse für die Ksp-Cadherin-Expression in verschiedenen Nierentumoren	65
Tabelle 12: Verwendete Chemikalien.....	90
Tabelle 13: Verwendete Reagenziensets (Kits)	90
Tabelle 14: Verwendete Antikörper	91
Tabelle 15: Puffer und Lösungen	91
Tabelle 16: Verwendete Geräte	92
Tabelle 17: Sonstiges.....	92

6.3 Literaturverzeichnis

1. Aberle, H., Schwartz, H., & Kemler, R. (1996). Cadherin-Catenin complex: Protein interactions and their implications for cadherin function. *J Cell Biochem*, 61(4), 514-23.
2. Adley, B. P., Gupta, A., Lin, F., Luan, C., Teh, B. T., & Yang, X. J. (2006). Expression of kidney-specific cadherin in chromophobe renal cell carcinoma and renal oncocytoma. *Am J Clin Pathol*, 126(1), 79-85.
3. Akhtar, M. & Kott, E. (1979). Oncocytoma of kidney. *Urology*, 14(4), 397-400.
4. Akhtar, M., Kardar, H., Linjawi, T., McClintock, J., & Ali, M. A. (1995). Chromophobe cell carcinoma of the kidney: A clinicopathologic study of 21 cases. *Am J Surg Pathol*, 19(11), 1245-1256.
5. Ambos, M. A., Bosniak, M. A., Valensi, Q. J., Madayag, M. A., & Lefleur, R. S. (1978). Angiographic patterns in renal oncocytomas. *Radiology*, 129(3), 615-22.
6. Amin, M. B., Amin, M. B., Tamboli, P., Javidan, J., Stricker, H., de-Peralta Venturina, M., Deshpande, A., & Menon, M. (2002). Prognostic impact of histologic subtyping of adult renal epithelial neoplasms: An experience of 405 cases. *Am J Surg Pathol*, 26(3), 281-91.
7. Amin, M. B., Crotty, T. B., Tickoo, S. K., & Farrow, G. M. (1997). Renal oncocytoma: A reappraisal of morphologic features with clinicopathologic findings in 80 cases. *Am J Surg Pathol*, 21(1), 1-12.
8. Ball, D. S., Friedman, A. C., Hartman, D. S., Radecki, P. D., & Caroline, D. F. (1986). Scar sign of renal oncocytoma: Magnetic resonance imaging appearance and lack of specificity. *Urol Radiol*, 8(1), 46-8.
9. Baltarowich, O. H. & Kurtz, A. B. (1987). Sonographic evaluation of renal masses. *Urol Radiol*, 9(2), 79-87.
10. Bennington, J. L. (1973). Cancer of the kidney-etiology, epidemiology, and pathology. *Cancer*, 32(5).
11. Berndorff, D., Gessner, R., Kreft, B., Schnoy, N., Lajous-Petter, A. M., Loch, N., Reutter, W., Hortsch, M., & Tauber, R. (1994). Liver-Intestine cadherin: Molecular cloning and characterization of a novel ca(2+)-dependent cell adhesion molecule expressed in liver and intestine. *J Cell Biol*, 125(6), 1353-69.
12. Birchmeier, W. & Behrens, J. (1994). Cadherin expression in carcinomas: Role in the formation of cell junctions and the prevention of invasiveness. *Biochim Biophys Acta*, 1198(1), 11-26.

13. Birt, A. R., Hogg, G. R., & Dubé, W. J. (1977). Hereditary multiple fibrofolliculomas with trichodiscomas and acrochordons. [Abstract]*Arch Dermatol*, 113(12), 1674-7.
14. Bonsib, S. M. & Lager, D. J. (1990). Chromophobe cell carcinoma: Analysis of five cases. *Am J Surg Pathol*, 14(3), 260-7.
15. Bonsib, S. M., Bray, C., & Timmerman, T. G. (1993). Renal chromophobe cell carcinoma: Limitations of paraffin-embedded tissue. *Ultrastruct Pathol*, 17(5), 529-36.
16. Brierly, R., Thomas, P., Harrison, N., Fletcher, M., Nawrocki, J., & Ashton-key, M. (2000). Evaluation of fine-needle aspiration cytology for renal masses. *BJU Int*, 85(1), 14-18.
17. Buckley, C. D., Rainger, G. E., Bradfield, P. F., Nash, G. B., & Simmons, D. L. (1998). Cell adhesion: More than just glue (review). *Mol Membr Biol*, 15(4), 167-76.
18. Bugert, P., Gaul, C., Weber, K., Herbers, J., Akhtar, M., Ljungberg, B., & Kovacs, G. (1997). Specific genetic changes of diagnostic importance in chromophobe renal cell carcinomas. *Lab Invest*, 76(2), 203-8.
19. Carroll, P. R., Murty, V. V., Reuter, V., Jhanwar, S., Fair, W. R., Whitmore, W. F., & Chaganti, R. S. (1987). Abnormalities at chromosome region 3p12-14 characterize clear cell renal carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet*, 26(2), 253-9.
20. Chan, D. Y., Cadeddu, J. A., Jarrett, T. W., Marshall, F. F., & Kavoussi, L. R. (2001). Laparoscopic radical nephrectomy: Cancer control for renal cell carcinoma. *J Urol*, 166(6), 2095-9; discussion 2099-100.
21. Chao, D. H., Zisman, A., Pantuck, A. J., Freedland, S. J., Said, J. W., & Beldegrun, A. S. (2002). Changing concepts in the management of renal oncocytoma. *Urology*, 59(5), 635-42.
22. Chelidonis, G., Kavantzias, N., Patsouris, E., Pagaki, E., Athanasiadou, A. M., Agrogiannis, G., & Athanasiadou, P. (2009). DNA ploidy, e-cadherin, beta-catenin expression and their clinicopathologic significance in imprints of non-small cell lung cancer. [Abstract]*Anal Quant Cytol Histol*, 31(5), 332-9.
23. Cheville, J. C., Lohse, C. M., Zincke, H., Weaver, A. L., & Blute, M. L. (2003). Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 27(5), 612-24.
24. Choi, H., Almagro, U. A., McManus, J. T., Norback, D. H., & Jacobs, S. C. (1983). Renal oncocytoma. A clinicopathologic study. *Cancer*, 51(10), 1887-96.

25. Choueiri, T. K., Xie, W., Kollmannsberger, C., North, S., Knox, J. J., Lampard, J. G., McDermott, D. F., Rini, B. I., & Heng, D. Y. (2011). The impact of cytoreductive nephrectomy on survival of patients with metastatic renal cell carcinoma receiving vascular endothelial growth factor targeted therapy. *J Urol*, *185*(1), 60-6.
26. Chow, W. H., Gridley, G., Fraumeni, J. F., & Järnholm, B. (2000). Obesity, hypertension, and the risk of kidney cancer in men. *N Engl J Med*, *343*(18), 1305-11.
27. Christofori, G. & Semb, H. (1999). The role of the cell-adhesion molecule e-cadherin as a tumour-suppressor gene. *Trends Biochem Sci*, *24*(2), 73-6.
28. Cochand-Priollet, B., Rothschild, E., Chagnon, S., Nezelof, C., Debure, A., & Galian, A. (1988). Renal oncocytoma diagnosed by fine-needle aspiration cytology. *Br J Urol*, *61*(6), 534-5.
29. Cohen, H. T. & McGovern, F. J. (2005). Renal-Cell carcinoma. *N Engl J Med*, *353*(23), 2477-90.
30. Collins, V. P. (1998). Gliomas. [Abstract]*Cancer Surv*, *32*, 37-51.
31. Crotty, T. B., Farrow, G. M., & Lieber, M. M. (1995). Chromophobe cell renal carcinoma: Clinicopathological features of 50 cases. *J Urol*, *154*(3), 964-7.
32. Dal Cin, P., Gaeta, J., Huben, R., Li, F. P., Prout, G. R., & Sandberg, A. A. (1989). Renal cortical tumors. Cytogenetic characterization. *Am J Clin Pathol*, *92*(4), 408-14.
33. Davis, C. J., Sesterhenn, I. A., Mostofi, F. K., & Ho, C. K. (1991). Renal oncocytoma: Clinicopathological study of 166 patients. *J Urogenital Pathol*, *1*, 41-52.
34. Dechet, C. B., Bostwick, D. G., Blute, M. L., Bryant, S. C., & Zincke, H. (1999). Renal oncocytoma: Multifocality, bilateralism, metachronous tumor development and coexistent renal cell carcinoma. *J Urol*, *162*(1), 40-2.
35. Dechet, C. B., Zincke, H., Sebo, T. J., King, B. F., LeRoy, A. J., Farrow, G. M., & Blute, M. L. (2003). Prospective analysis of computerized tomography and needle biopsy with permanent sectioning to determine the nature of solid renal masses in adults. *J Urol*, *169*(1), 71-4.
36. Delahunt, B. & Eble, J. N. (1997). Papillary renal cell carcinoma: A clinicopathologic and immunohistochemical study of 105 tumors. *Mod Pathol*, *10*(6), 537-44.

37. Delahunt, B. & Eble, J. N. (2005). History of the development of the classification of renal cell neoplasia. *Clin Lab Med*, 25(2), 231-46.
38. Delahunt, B., Eble, J. N., McCredie, M. R., Bethwaite, P. B., Stewart, J. H., & Bilous, A. M. (2001). Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: Comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases. *Hum Pathol*, 32(6), 590-5.
39. Dhôte, R., Pellicer-Coeuret, M., Thiounn, N., Debré, B., & Vidal-Trecan, G. (2000). Risk factors for adult renal cell carcinoma: A systematic review and implications for prevention. *BJU Int*, 86(1), 20-7.
40. Dillenburger, W., Poulakis, V., Skriapas, K., de Vries, R., Ferakis, N., Witzsch, U., Melekos, M., & Becht, E. (2006). Retroperitoneoscopic versus open surgical radical nephrectomy for large renal cell carcinoma in clinical stage ct2 or ct3a: Quality of life, pain and reconvalescence. *Eur Urol*, 49(2), 314-22; discussion 322-3.
41. Deutsches Krebsforschungszentrum (2010) <http://www.dkfz.de/de/krebsatlas/gesamt/organ.html> [Stand: 20.06.2011]
42. Deutsches Krebsforschungszentrum (2010) http://www.dkfz.de/de/krebsatlas/organe/189_tab.html [Stand: 20.06.2011]
43. Dunn, M. D., Portis, A. J., Shalhav, A. L., Elbahnasy, A. M., Heidorn, C., McDougall, E. M., & Clayman, R. V. (2000). Laparoscopic versus open radical nephrectomy: A 9-year experience. *J Urol*, 164(4), 1153-9.
44. Dutcher, J. P., de Souza, P., McDermott, D., Figlin, R. A., Berkenblit, A., Thiele, A., Krygowski, M., Strahs, A., Feingold, J., & Hudes, G. (2009). Effect of temsirolimus versus interferon-alpha on outcome of patients with advanced renal cell carcinoma of different tumor histologies. *Med Oncol*, 26(2), 202-9.
45. Eble, J. N. & Hull, M. T. (1984). Morphologic features of renal oncocytopoma: A light and electron microscopic study. *Hum Pathol*, 15(11), 1054-61.
46. Eble, J. N., Sauter, G., Epstein, J. I., & Sesterhenn, I. A. (2004). *Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. WHO classification of tumours*. IARC Press, Lyon.
47. Ejeckam, G., Tolnai, G., Sarkar, K., & McCaughey, W. T. (1979). Renal oncocytopoma. Study of eight cases. *Urology*, 14(2), 186.
48. Engel, U., Horn, T., Nielsen, O. S., & Olsen, J. H. (1987). Renal oncocytopoma. [Abstract] *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand A*, 95(3), 107-11.

49. Flanigan, R. C., Salmon, S. E., Blumenstein, B. A., Bearman, S. I., Roy, V., McGrath, P. C., Caton, J. R., Munshi, N., & Crawford, E. D. (2001). Nephrectomy followed by interferon alfa-2b compared with interferon alfa-2b alone for metastatic renal-cell cancer. *N Engl J Med*, 345(23), 1655-9.
50. Fuhrman, S. A., Lasky, L. C., & Limas, C. (1982). Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 6(7), 655-63.
51. Garant, M., Bonaldi, V. M., Taourel, P., Pinsky, M. F., & Bret, P. M. (1998). Enhancement patterns of renal masses during multiphase helical CT acquisitions. *Abdom Imaging*, 23(4), 431-6.
52. Garin, J. M., Marco, I., Salva, A., Serrano, F., Bondia, J. M., & Pacheco, M. (2007). CT and MRI in fat-containing papillary renal cell carcinoma. *Br J Radiol*, 80(957), e193-5.
53. Gill, I. S., Matin, S. F., Desai, M. M., Kaouk, J. H., Steinberg, A., Mascha, E., Thornton, J., Sherief, M. H., Strzempkowski, B., & Novick, A. C. (2003). Comparative analysis of laparoscopic versus open partial nephrectomy for renal tumors in 200 patients. *J Urol*, 170(1), 64-8.
54. Goiney, R. C., Goldenberg, L., Cooperberg, P. L., Charboneau, J. W., Rosenfield, A. T., Russin, L. D., McCarthy, S., Zeman, R. K., Gordon, P. B., & Rowley, B. A. (1984). Renal oncocytoma: Sonographic analysis of 14 cases. *AJR Am J Roentgenol*, 143(5), 1001-4.
55. Golka, K., Goebell, P. J., & Rettenmeier, A. W. (2007). Ätiologie und prävention des harnblasenkarzinoms. *Dtsch Arztebl*, 104(11), 719-23.
56. Guinan, P., Sobin, L. H., Algaba, F., Badellino, F., Kameyama, S., MacLennan, G., & Novick, A. (1997). TNM staging of renal cell carcinoma: Workgroup no. 3. Union internationale contre le cancer (UICC) and the american joint committee on cancer (AJCC). *Cancer*, 80(5), 992-3.
57. Gumbiner, B. M. (1996). Cell adhesion: The molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell*, 84(3), 345-358.
58. Gunawan, B., von Heydebreck, A., Fritsch, T., Huber, W., Ringert, R. H., Jakse, G., & Füzesi, L. (2003). Cytogenetic and morphologic typing of 58 papillary renal cell carcinomas: Evidence for a cytogenetic evolution of type 2 from type 1 tumors. *Cancer Res*, 63(19), 6200-5.
59. Haferkamp, A., Rohde, D., Müller, S. C., Rübber, H., & Hohenfellner, M. (2006). Das Nierenzellkarzinom. *Urologe A*, 45, 74-84.
60. Hamperl, H. (1931). Onkocyten und geschwülste der speicheldrüsen. *Virchows Archiv*, 282(3), 724-736.

61. Hamperl, H. (1962). Benign and malignant oncocytoma. *Cancer*, 15(5), 1019-27.
62. Harmon, W. J., King, B. F., & Lieber, M. M. (1996). Renal oncocytoma: Magnetic resonance imaging characteristics. *J Urol*, 155(3), 863-7.
63. Hartwick, R. W., el-Naggar, A. K., Ro, J. Y., Srigley, J. R., McLemore, D. D., Jones, E. C., Grignon, D. J., Thomas, M. J., & Ayala, A. G. (1992). Renal oncocytoma and granular renal cell carcinoma. A comparative clinicopathologic and DNA flow cytometric study. *Am J Clin Pathol*, 98(6), 587-93.
64. Heidenreich, A. & Ravery, V. (2004). Preoperative imaging in renal cell cancer. *World J Urol*, 22(5), 307-15.
65. Heidenreich, A., Hegele, A., Varga, Z., von Knobloch, R., & Hofmann, R. (2002). Nephron-Sparing surgery for renal angiomyolipoma. *Eur Urol*, 41(3), 267-73.
66. Henn, W., Zwergel, T., Wullich, B., Thönnies, M., Zang, K. D., & Seitz, G. (1993). Bilateral multicentric papillary renal tumors with heteroclonal origin based on tissue-specific karyotype instability. *Cancer*, 72(4), 1315-8.
67. Hricak, H. & Williams, R. D. (1984). Magnetic resonance imaging and its application in urology. *Urology*, 23(5), 442.
68. Husmann, G., Kaatsch, P., Katalinic, A., Bertz, J., Haberland, J., Kraywinkel, K., & Wolf, U. (2010). *Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeiten und Trends* (7 ed.). Berlin: Robert Koch Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.
69. Hynes, R. O. (1999). Cell adhesion: Old and new questions. *Trends Cell Biol*, 9(12), M33-7.
70. Igarashi, P. (2003). Following the expression of a kidney-specific gene from early development to adulthood. *Nephron Exp Nephrol*, 94(1), e1-6.
71. Igarashi, P., Shashikant, C. S., Thomson, R. B., Whyte, D. A., Liu-Chen, S., Ruddle, F. H., & Aronson, P. S. (1999). Ksp-Cadherin gene promoter. II. Kidney-Specific activity in transgenic mice. *Am J Physiol*, 277(4 Pt 2), F599-610.
72. Ishikawa, I., Shikura, N., & Ozaki, M. (1993). Papillary renal cell carcinoma with numeric changes of chromosomes in a long-term hemodialysis patient: A karyotype analysis. *Am J Kidney Dis*, 21(5), 553-6.
73. Ivanyi, P., Winkler, T., Ganser, A., Reuter, C., & Grünwald, V. (2008). Neue therapien beim fortgeschrittenen nierenzellkarzinom. *Dtsch Arztebl*, 105(13), 232-7.

74. Jander, H. P. (1979). Renal oncocytoma: A nonentity. *Radiology*, 130(3), 815-7.
75. Jemal, A., Siegel, R., Xu, J., & Ward, E. (2010). Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*, 60(5), 277-300.
76. Jinzaki, M., Tanimoto, A., Narimatsu, Y., Ohkuma, K., Kurata, T., Shinmoto, H., Hiramatsu, K., Mukai, M., & Murai, M. (1997). Angiomyolipoma: Imaging findings in lesions with minimal fat. *Radiology*, 205(2), 497-502.
77. de Jong, B., Molenaar, I. M., Leeuw, J. A., Idenberg, V. J., & Oosterhuis, J. W. (1986). Cytogenetics of a renal adenocarcinoma in a 2-year-old child. *Cancer Genet Cytogenet*, 21(2), 165-9.
78. Juliano, R. L. (2002). Signal transduction by cell adhesion receptors and the cytoskeleton: Functions of integrins, cadherins, selectins, and immunoglobulin-superfamily members. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 42, 283-323.
79. Kato, M., Suzuki, T., Suzuki, Y., Terasawa, Y., Sasano, H., & Arai, Y. (2004). Natural history of small renal cell carcinoma: Evaluation of growth rate, histological grade, cell proliferation and apoptosis. *J Urol*, 172(3), 863-6.
80. Kearney, G. P., Klein, L. A., Simon, M. L., Babenco, G. O., & Schnitzer, L. E. (1975). B-Mode nephrosonography in renal masses. Its use and some limitations. *Urology*, 6(1), 125-9.
81. Kemler, R. (1992). Classical cadherins. *Semin Cell Biol*, 3(3), 149-55.
82. Kim, J. K., Park, S. Y., Shon, J. H., & Cho, K. S. (2004). Angiomyolipoma with minimal fat: Differentiation from renal cell carcinoma at biphasic helical CT. *Radiology*, 230(3), 677-84.
83. Klein, M. J. & Valensi, Q. J. (1976). Proximal tubular adenomas of kidney with so-called oncocytic features. A clinicopathologic study of 13 cases of a rarely reported neoplasm. *Cancer*, 38(2), 906-14.
84. Koensgen, D., Freitag, C., Klamann, I., Dahl, E., Mustea, A., Chekerov, R., Braicu, I., Lichtenegger, W., & Sehouli, J. (2010). Expression and localization of e-cadherin in epithelial ovarian cancer. *Anticancer Res*, 30(7), 2525-30.
85. Kondo, T., Nakazawa, H., Sakai, F., Kuwata, T., Onitsuka, S., Hashimoto, Y., & Toma, H. (2004). Spoke-Wheel-Like enhancement as an important imaging finding of chromophobe cell renal carcinoma: A retrospective analysis on computed tomography and magnetic resonance imaging studies. *Int J Urol*, 11(10), 817-24.

86. Kononen, J., Bubendorf, L., Kallioniemi, A., Bärland, M., Schraml, P., Leighton, S., Torhorst, J., Mihatsch, M. J., Sauter, G., & Kallioniemi, O. P. (1998). Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med*, 4(7), 844-7.
87. Kovacs, G. & Frisch, S. (1989). Clonal chromosome abnormalities in tumor cells from patients with sporadic renal cell carcinomas. *Cancer Res*, 49(3), 651-9.
88. Kovacs, G., Akhtar, M., Beckwith, B. J., Bugert, P., Cooper, C. S., Delahunt, B., Eble, J. N., Fleming, S., Ljungberg, B., Medeiros, L. J., et al. (1997). The heidelberg classification of renal cell tumours. *J Pathol*, 183(2), 131-3.
89. Kovacs, G., Erlandsson, R., Boldog, F., Ingvarsson, S., Müller-Brechlin, R., Klein, G., & Sümegi, J. (1988). Consistent chromosome 3p deletion and loss of heterozygosity in renal cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85(5), 1571-5.
90. Kreiger, N., Marrett, L. D., Dodds, L., Hilditch, S., & Darlington, G. A. (1993). Risk factors for renal cell carcinoma: Results of a population-based case-control study. *Cancer Causes Control*, 4(2), 101-10.
91. Kuefer, R., Hofer, M. D., Gschwend, J. E., & Rubin, M. A. (2004). [Tissue microarrays. High-Throughput procedures to verify potential biomarkers]. *Urologe A*, 43(6), 659-67.
92. Kuehn, A., Paner, G. P., Skinnider, B. F., Cohen, C., Datta, M. W., Young, A. N., Srigley, J. R., & Amin, M. B. (2007). Expression analysis of kidney-specific cadherin in a wide spectrum of traditional and newly recognized renal epithelial neoplasms: Diagnostic and histogenetic implications. *Am J Surg Pathol*, 31(10), 1528-33.
93. Lager, D. J., Huston, B. J., Timmerman, T. G., & Bonsib, S. M. (1995). Papillary renal tumors. Morphologic, cytochemical, and genotypic features. *Cancer*, 76(4), 669-73.
94. Laguna, M. P., Kümmerlin, I., Rioja, J., & de la Rosette, J. J. (2009). Biopsy of a renal mass: Where are we now? *Curr Opin Urol*, 19(5), 447-53.
95. Lane, B. R. & Kattan, M. W. (2005). Predicting outcomes in renal cell carcinoma. *Curr Opin Urol*, 15(5), 289-97.
96. Lane, B R (BR), Samplaski, M K (MK), Herts, B R (BR), Zhou, M (M), Novick, A C (AC), & Campbell, S C (SC) (2009). Renal mass biopsy-a renaissance? *J Urol*, 179(1), 20-27.
97. Leibovich, B. C., Blute, M. L., Cheville, J. C., Lohse, C. M., Weaver, A. L., & Zincke, H. (2004). Nephron sparing surgery for appropriately selected

renal cell carcinoma between 4 and 7 cm results in outcome similar to radical nephrectomy. *J Urol*, 171(3), 1066-70.

98. Leibovich, B. C., Pantuck, A. J., Bui, M. H., Ryu-Han, K., Zisman, A., Figlin, R., & Belldegrun, A. (2003). Current staging of renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am*, 30(3), 481-97, viii.
99. Lemaitre, L., Robert, Y., Dubrulle, F., Claudon, M., Duhamel, A., Danjou, P., & Mazeman, E. (1995). Renal angiomyolipoma: Growth followed up with CT and/or US. *Radiology*, 197(3), 598-602.
100. Levine, E. & Huntrakoon, M. (1983). Computed tomography of renal oncocytoma. *AJR Am J Roentgenol*, 141(4), 741-6.
101. Lewi, H. J., Alexander, C. A., & Fleming, S. (1986). Renal oncocytoma. [Abstract]*Br J Urol*, 58(1), 12-5.
102. Licht, M. R., Novick, A. C., Tubbs, R. R., Klein, E. A., Levin, H. S., & Stroom, S. B. (1993). Renal oncocytoma: Clinical and biological correlates. *J Urol*, 150(5 Pt 1), 1380-3.
103. Lieber, M. M. & Tsukamoto, T. (1986). Renal oncocytoma. In J. B. DeKernion & M. Pavone-Macaluso (Eds.), *Tumors of the kidney* (J. B. DeKernion & M. Pavone-Macaluso, Eds.). (pp. 306-19). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
104. Lieber, M. M., Tomera, K. M., & Farrow, G. M. (1981). Renal oncocytoma. *J Urol*, 125(4), 481-5.
105. Liu, J. & Fanning, C. V. (2001). Can renal oncocytomas be distinguished from renal cell carcinoma on fine-needle aspiration specimens? A study of conventional smears in conjunction with ancillary studies. *Cancer*, 93(6), 390-7.
106. Ljungberg, B., Alamdari, F. I., Stenling, R., & Roos, G. (1999). Prognostic significance of the heidelberg classification of renal cell carcinoma. *Eur Urol*, 36(6), 565-9.
107. Ljungberg, B., Cowan, N. C., Hanbury, D. C., Hora, M., Kuczyk, M. A., Merseburger, A. S., Patard, J. J., Mulders, P. F., & Sinescu, I. C. (2010). EAU guidelines on renal cell carcinoma: The 2010 update. *Eur Urol*, (58), 398-406.
108. <http://www.uroweb.org/gls/pdf/Renal%20Cell%20Carcinoma%202010.pdf> [Stand: 06.10.2010]
109. Ljungberg, B., Hanbury, D. C., Kuczyk, M. A., Merseburger, A. S., Mulders, P. F., Patard, J. J., Sinescu, I. C., & European Association of Urology Guideline Group for renal cell carcinoma (2007). Renal cell carcinoma guideline. *Eur Urol*, 51(6), 1502-10.

110. Maatman, T. J., Novick, A. C., Tancinco, B. F., Vesoulis, Z., Levin, H. S., Montie, J. E., & Montague, D. K. (1984). Renal oncocytoma: A diagnostic and therapeutic dilemma. *J Urol*, 132(5), 878-81.
111. Mayer, D. & Bannasch, P. (1988). Activity of glycogen synthase and phosphorylase and glucose 6-phosphate content in renal clear cell carcinomas. *J Cancer Res Clin Oncol*, 114(4), 369-72.
112. Mazal, P. R., Exner, M., Haitel, A., Krieger, S., Thomson, R. B., Aronson, P. S., & Susani, M. (2005). Expression of kidney-specific cadherin distinguishes chromophobe renal cell carcinoma from renal oncocytoma. *Hum Pathol*, 36(1), 22-8.
113. McCredie, M., Ford, J. M., & Stewart, J. H. (1988). Risk factors for cancer of the renal parenchyma. *Int J Cancer*, 42(1), 13-6.
114. McCredie, M., Pommer, W., McLaughlin, J. K., Stewart, J. H., Lindblad, P., Mandel, J. S., Mellemggaard, A., Schlehofer, B., & Niwa, S. (1995). International renal-cell cancer study. 11. Analgesics, znt. *J. Cancer*, 60, 345-349.
115. McKiernan, J., Yossepowitch, O., Kattan, M. W., Simmons, R., Motzer, R. J., Reuter, V. E., & Russo, P. (2002). Partial nephrectomy for renal cortical tumors: Pathologic findings and impact on outcome. *Urology*, 60(6), 1003-9.
116. Medeiros, L. J., Gelb, A. B., & Weiss, L. M. (1988). Renal cell carcinoma. Prognostic significance of morphologic parameters in 121 cases. *Cancer*, 61(8), 1639-51.
117. Mei, G. S., Rendler, S., Herskowitz, A., & Molnar, J. J. (1980). Renal oncocytoma. Report of five cases and review of literature. *Cancer*, 45(5), 1010-8.
118. Mellemggaard, A., Niwa, S., Mehl, E. S., Engholm, G., McLaughlin, J. K., & Olsen, J. H. (1994). Risk factors for renal cell carcinoma in denmark: Role of medication and medical history. *Int J Epidemiol*, 23(5), 923-30.
119. Merino, M. J. & Livolsi, V. A. (1982). Oncocytomas of the kidney. *Cancer*, 50(9), 1852-56.
120. Merseburger, A. S., Hennenlotter, J., Schilling, D., Sievert, K. D., Küfer, R., & Kuczyk, M. A. (2006). Anwendung von Tissue-Microarrays für die Diagnose, Prognose und Therapieentscheidung beim Nierenzellkarzinom. *Urologe A*, 45(3), 323-327.
121. Merseburger, A. S., Horstmann, M., Hennenlotter, J., Stenzl, A., & Kuczyk, M. (2003). Die Tissue Microarray-Technik als neues "high throughput-tool" für den Nachweis differentieller Proteinexpression. *J Urol Urogynaekol*, 3, 7-11.

122. Mickisch, G. H., Garin, A., van Poppel, H., de Prijck, L., Sylvester, R., & European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Genitourinary Group (2001). Radical nephrectomy plus interferon-alfa-based immunotherapy compared with interferon alfa alone in metastatic renal-cell carcinoma: A randomised trial. *Lancet*, 358(9286), 966-70.
123. Moch, H., Gasser, T., Amin, M. B., Torhorst, J., Sauter, G., & Mihatsch, M. J. (2000). Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM staging system of renal cell carcinoma: A swiss experience with 588 tumors. *Cancer*, 89(3), 604-14.
124. Morales, A., Wasan, S., & Bryniak, S. (1980). Renal oncocytomas: Clinical, radiological and histological features. *J Urol*, 123(2), 261-4.
125. Murase, S. & Schuman, E. M. (1999). The role of cell adhesion molecules in synaptic plasticity and memory. *Curr Opin Cell Biol*, 11(5), 549-53.
126. Newhouse, J. H. & Wagner, B. J. (1998). Renal oncocytomas. *Abdom Imaging*, 23(3), 249-255.
127. Nollet, F., Kools, P., & van Roy, F. (2000). Phylogenetic analysis of the cadherin superfamily allows identification of six major subfamilies besides several solitary members. *J Mol Biol*, 299(3), 551-72.
128. Nordenson, I., Ljungberg, B., & Roos, G. (1988). Chromosomes in renal carcinoma with reference to intratumor heterogeneity. *Cancer Genet Cytogenet*, 32(1), 35-41.
129. Oh, S. W., Yoon, Y. S., & Shin, S. A. (2005). Effects of excess weight on cancer incidences depending on cancer sites and histologic findings among men: Korea national health insurance corporation study. *J Clin Oncol*, 23(21), 4742-54.
130. Older, R. A., Cleeve, D. M., Fetter, B. F., & Jackson, D. A. (1978). "Spoke-Wheel" angiographic pattern in renal masses: Nonspecificity. *Radiology*, 128(3), 836.
131. Onishi, T., Ohishi, Y., Iizuka, N., Suzuki, Y., Suzuki, H., Hosobe, T., Nakajo, H., Aizawa, S., & Suzuki, M. (1996). [Clinicopathological study on patients with chromophobe cell renal carcinoma]. [Abstract]*Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*, 87(10), 1167-74.
132. Patard, J. J., Rodriguez, A., Rioux-Leclercq, N., Guillé, F., & Lobel, B. (2002). Prognostic significance of the mode of detection in renal tumours. *BJU Int*, 90(4), 358-63.
133. Perez-Ordóñez, B., Hamed, G., Campbell, S., Erlandson, R. A., Russo, P., Gaudin, P. B., & Reuter, V. E. (1997). Renal oncocytoma: A clinicopathologic study of 70 cases. *Am J Surg Pathol*, 21(8), 871-83.

134. Pischon, T., Lahmann, P. H., Boeing, H., Tjønneland, A., Halkjaer, J., Overvad, K., Klipstein-Grobusch, K., Linseisen, J., Becker, N., Trichopoulou, A., et al. (2006). Body size and risk of renal cell carcinoma in the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *Int J Cancer*, 118(3), 728-38.
135. Prasad, S. R., Humphrey, P. A., Catena, J. R., Narra, V. R., Srigley, J. R., Cortez, A. D., Dalrymple, N. C., & Chintapalli, K. N. (2006). Common and uncommon histologic subtypes of renal cell carcinoma: Imaging spectrum with pathologic correlation. *Radiographics*, 26(6), 1795-806; discussion 1806-10.
136. Presti, J. C., Rao, P. H., Chen, Q., Reuter, V. E., Li, F. P., Fair, W. R., & Jhanwar, S. C. (1991). Histopathological, cytogenetic, and molecular characterization of renal cortical tumors. *Cancer Res*, 51(5), 1544-52.
137. Psihramis, K. E., Dal Cin, P., Dretler, S. P., Prout, G. R., & Sandberg, A. A. (1988). Further evidence that renal oncocytoma has malignant potential. [Abstract]*J Urol*, 139(3), 585-7.
138. Rao, Q., Zhou, X. J., Shi, Q. L., Yin, H. L., Ma, H. H., Zhou, H. B., & Zhang, R. S. (2007). [Expression of ksp-cadherin in renal epithelial neoplasm and its clinicopathologic significance]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 36(1), 15-8.
139. Remmele, W. & Stegner, H. E. (1987). [Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]. *Pathologe*, 8(3), 138-40.
140. Remzi, M. & Marberger, M. (2009). Renal tumor biopsies for evaluation of small renal tumors: Why, in whom, and how? *Eur Urol*, 55(2), 359-67.
141. Renshaw, A. A. & Richie, J. P. (1999). Subtypes of renal cell carcinoma. Different onset and sites of metastatic disease. *Am J Clin Pathol*, 111(4), 539-43.
142. Renshaw, A. A., Henske, E. P., Loughlin, K. R., Shapiro, C., & Weinberg, D. S. (1996). Aggressive variants of chromophobe renal cell carcinoma. *Cancer*, 78(8), 1756-61.
143. Reuter, V. & Gaudin, P. B. (1999). Adult renal tumors. In S. S. Sternberg (Ed.), *Diagnostic surgical pathology* (S. S. Sternberg, Ed.). (3rd ed.). (pp. 1785-824). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
144. Reuter, V. E. (2006). The pathology of renal epithelial neoplasms. *Semin Oncol*, 33(5), 534-43.
145. Russo, P. (2010). Partial nephrectomy for renal cancer: Part I. *BJU Int*, 105(9), 1206-20.

146. Sanz Pérez, G., Arocena García-Tapia, J., Zudaire Bergera, J. J., Díez-Caballero, F., Martín-Marquina, A., Rodríguez-Rubio Cortadellas, F., Rosell-Costa, D., Robles, J. E., & Berían Polo, J. M. (1999). [Chromophobe carcinoma of the kidney]. *Actas Urol Esp*, 23(4), 323-6.
147. Schatz, S. M. & Lieber, M. M. (2003). Update on oncocytoma. *Curr Urol Rep*, 4(1), 30-5.
148. Scheinfeld, A. G., Hamed, G., Campbell, S., Gaudin, P., & Reuter, V. E. (1997). Papillary renal cell carcinoma: A clinicopathologic study of 83 tumors. [Abstract]*Mod Pathol*, 10, 89.
149. Schlehofer, B., Heuer, C., Blettner, M., Niehoff, D., & Wahrendorf, J. (1995). Occupation, smoking and demographic factors, and renal cell carcinoma in germany. *Int J Epidemiol*, 24(1), 51-7.
150. Schlehofer, B., Pommer, W., Mellempgaard, A., Stewart, J. H., McCredie, M., Niwa, S., Lindblad, P., Mandel, J. S., McLaughlin, J. K., & Wahrendorf, J. (1996). International renal-cell-cancer study. VI. The role of medical and family history. *Int J Cancer*, 66(6), 723-6.
151. Shannon, B. A., Cohen, R. J., de Bruto, H., & Davies, R. J. (2008). The value of preoperative needle core biopsy for diagnosing benign lesions among small, incidentally detected renal masses. *J Urol*, 180(4), 1257-61; discussion 1261.
152. Shen, S. S., Krishna, B., Chirala, R., Amato, R. J., & Truong, L. D. (2005). Kidney-Specific cadherin, a specific marker for the distal portion of the nephron and related renal neoplasms. *Mod Pathol*, 18(7), 933-40.
153. Shi, S. R., Key, M. E., & Kalra, K. L. (1991). Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: An enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem*, 39(6), 741-8.
154. Silver, D. A., Morash, C., Brenner, P., Campbell, S., & Russo, P. (1997). Pathologic findings at the time of nephrectomy for renal mass. *Ann Surg Oncol*, 4(7), 570-4.
155. Silverman, S. G., Gan, Y. U., Morteale, K. J., Tuncali, K., & Cibas, E. S. (2006). Renal masses in the adult patient: The role of percutaneous biopsy. *Radiology*, 240(1), 6-22.
156. Snyder, M. E., Bach, A., Kattan, M. W., Raj, G. V., Reuter, V. E., & Russo, P. (2006). Incidence of benign lesions for clinically localized renal masses smaller than 7 cm in radiological diameter: Influence of sex. *J Urol*, 176(6 Pt 1), 2391-5; discussion 2395-6.

157. Sohn, H. K., Kim, S. Y., & Seo, H. S. (1987). MR imaging of a renal oncocytoma. *J Comput Assist Tomogr*, 11(6), 1085-7.
158. Störkel, S., Eble, J. N., Adlakha, K., Amin, M., Blute, M. L., Bostwick, D. G., Darson, M., Delahunt, B., & Iczkowski, K. (1997). Classification of renal cell carcinoma: Workgroup no. 1. Union internationale contre le cancer (UICC) and the american joint committee on cancer (AJCC). *Cancer*, 80(5), 987.
159. Störkel, S., Steart, P. V., Drenckhahn, D., & Thoenes, W. (1989). The human chromophobe cell renal carcinoma: Its probable relation to intercalated cells of the collecting duct. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*, 56(4), 237-45.
160. Störkel, S., Thoenes, W., Rumpelt, H., Brecht, E., & Düber, C. (1985). Zur Morphologie und Klinik des Onkozytoms der Niere. *Verh Dtsch Ges Pathol*, 69, 615-619.
161. Taki, A., Nakatani, Y., Misugi, K., Yao, M., & Nagashima, Y. (1999). Chromophobe renal cell carcinoma: An immunohistochemical study of 21 Japanese cases. *Mod Pathol*, 12(3), 310-7.
162. Teysier, J. R. & Ferre, D. (1990). Chromosomal changes in renal cell carcinoma. No evidence for correlation with clinical stage. *Cancer Genet Cytogenet*, 45(2), 197-205.
163. Thedieck, C., Kuczyk, M., Klingel, K., Steiert, I., Müller, C. A., & Klein, G. (2005). Expression of ksp-cadherin during kidney development and in renal cell carcinoma. *Br J Cancer*, 92(11), 2010-7.
164. Thoenes, W., Baum, H. P., Störkel, S., & Müller, M. (1987). Cytoplasmic microvesicles in chromophobe cell renal carcinoma demonstrated by freeze fracture. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*, 54(2), 127-30.
165. Thoenes, W., Rumpelt, H. J., & Störkel, S. (1990). Klassifikation der Nierenzellkarzinome/Tumoren und ihre Beziehung zum Nephron-Sammelrohrsystem. [[Classification of renal cell carcinoma/tumors and their relationship to the nephron-collecting tubules system]] *Klin Wochenschr*, 68(22), 1102-11.
166. Thoenes, W., Störkel, S., & Rumpelt, H. J. (1985). Human chromophobe cell renal carcinoma. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*, 48(3), 207-17.
167. Thoenes, W., Störkel, S., Rumpelt, H. J., Moll, R., Baum, H. P., & Werner, S. (1988). Chromophobe cell renal carcinoma and its variants--a report on 32 cases. *J Pathol*, 155(4), 277-87.

168. Thomson, R. B. & Aronson, P. S. (1999). Immunolocalization of ksp-cadherin in the adult and developing rabbit kidney. *Am J Physiol*, 277(1 Pt 2), F146-56.
169. Thomson, R. B., Igarashi, P., Biemesderfer, D., Kim, R., Abu-Alfa, A., Soleimani, M., & Aronson, P. S. (1995). Isolation and cDNA cloning of ksp-cadherin, a novel kidney-specific member of the cadherin multigene family. *J Biol Chem*, 270(29), 17594-601.
170. Thomson, R. B., Ward, D. C., Quaggin, S. E., Igarashi, P., Muckler, Z. E., & Aronson, P. S. (1998). cDNA cloning and chromosomal localization of the human and mouse isoforms of ksp-cadherin. *Genomics*, 51(3), 445-51.
171. Tickoo, S. K. & Amin, M. B. (1998). Discriminant nuclear features of renal oncocytoma and chromophobe renal cell carcinoma. Analysis of their potential utility in the differential diagnosis. *Am J Clin Pathol*, 110(6), 782-7.
172. Tikkakoski, T., Päivänsalo, M., Alanen, A., Nurmi, M., Taavitsainen, M., Farin, P., & Apaja-Sarkkinen, M. (1991). Radiologic findings in renal oncocytoma. *Acta Radiol*, 32(5), 363-7.
173. Toro, J. R., Glenn, G., Duray, P., Darling, T., Weirich, G., Zbar, B., Linehan, M., & Turner, M. L. (1999). Birt-Hogg-Dubé syndrome: A novel marker of kidney neoplasia. *Arch Dermatol*, 135(10), 1195-202.
174. Tseng, S. Y. & Dustin, M. L. (2002). T-Cell activation: A multidimensional signaling network. *Curr Opin Cell Biol*, 14(5), 575-80.
175. van den Berg, E., van der Hout, A. H., Oosterhuis, J. W., Störkel, S., Dijkhuizen, T., Dam, A., Zweers, H. M., Mensink, H. J., Buys, C. H., & de Jong, B. (1993). Cytogenetic analysis of epithelial renal-cell tumors: Relationship with a new histopathological classification. *Int J Cancer*, 55(2), 223-7.
176. Velasquez, G., Glass, T. A., D'Souza, V. J., & Formanek, A. G. (1984). Multiple oncocytomas and renal carcinoma. *AJR Am J Roentgenol*, 142(1), 123-4.
177. Volpe, A. & Jewett, M. A. (2009). Current role, techniques and outcomes of percutaneous biopsy of renal tumors. [Abstract] *Expert Rev Anticancer Ther*, 9(6), 773-83.
178. Volpe, A., Mattar, K., Finelli, A., Kachura, J. R., Evans, A. J., Geddie, W. R., & Jewett, M. A. (2008). Contemporary results of percutaneous biopsy of 100 small renal masses: A single center experience. *J Urol*, 180(6), 2333-7.

179. Volpe, A., Terrone, C., & Scarpa, R. M. (2009). The current role of percutaneous needle biopsies of renal tumours. [Abstract]*Arch Ital Urol Androl*, 81(2), 107-12.
180. Walter, T. A., Berger, C. S., & Sandberg, A. A. (1989). The cytogenetics of renal tumors. Where do we stand, where do we go? *Cancer Genet Cytogenet*, 43(1), 15-34.
181. Weirich, G., Glenn, G., Junker, K., Merino, M., Störkel, S., Lubensky, I., Choyke, P., Pack, S., Amin, M., Walther, M. M., et al. (1998). Familial renal oncocytoma: Clinicopathological study of 5 families. *J Urol*, 160(2), 335-40.
182. Weiss, L. M., Gelb, A. B., & Medeiros, L. J. (1995). Adult renal epithelial neoplasms. *Am J Clin Pathol*, 103(5), 624-635.
183. Wenzel, M., Alles, J. U., Fischer, H. P., Kracht, J., Pascu, F., & Stambolis, C. (1986). Onkozytome der Niere - Fallberichte und Literaturübersicht. [Oncocytomas of the kidney. Case reports and a review of the literature] *Pathologe*, 7(2), 101-9.
184. Whyte, D. A., Li, C., Thomson, R. B., Nix, S. L., Zanjani, R., Karp, S. L., Aronson, P. S., & Igarashi, P. (1999). Ksp-Cadherin gene promoter. I. Characterization and renal epithelial cell-specific activity. *Am J Physiol*, 277(4 Pt 2), F587-98.
185. Wille, A. H., Roigas, J., Deger, S., Tüllmann, M., Türk, I., & Loening, S. A. (2004). Laparoscopic radical nephrectomy: Techniques, results and oncological outcome in 125 consecutive cases. *Eur Urol*, 45(4), 483-8; discussion 488-9.
186. Wittekind, C. & International, U. U. A. (2003). *Tnm-Klassifikation maligner Tumoren*. Berlin; Heidelberg; New York; Barcelona; Hongkong; London; Mailand; Paris; Tokio: Springer.
187. Yamamoto, S., Nakamura, K., Kawanami, S., Aoki, T., Watanabe, H., & Nakata, H. (2000). Renal angiomyolipoma: Evolutional changes of its internal structure on CT. *Abdom Imaging*, 25(6), 651-654.
188. Yoshimitsu, K., Irie, H., Tajima, T., Nishie, A., Asayama, Y., Hirakawa, M., Nakayama, T., Kakihara, D., & Honda, H. (2004). MR imaging of renal cell carcinoma: Its role in determining cell type. *Radiat Med*, 22(6), 371-6.
189. Zbar, B., Alvord, W. G., Glenn, G., Turner, M., Pavlovich, C. P., Schmidt, L., Walther, M., Choyke, P., Weirich, G., Hewitt, S. M., et al. (2002). Risk of renal and colonic neoplasms and spontaneous pneumothorax in the birt-hogg-dubé syndrome. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 11(4), 393-400.

190. Zigeuner, R. & Pummer, K. (2009). [Current surgical aspects of renal cell carcinoma]. *Wien Med Wochenschr*, 159(21-22), 535-42.
191. Zippel, L. (1941). Zur Kenntnis der Onkocyten. *Virchows Arch*, 308(2), 360-382.

Wesentliche Teile dieser Arbeit wurden in der Publikation:

Horstmann, M., Geiger, L. M., Vogel, U., Schmid, H., Hennenlotter, J., Kuehs, U., Merseburger, A. S., Kruck, S., Stenzl, A., & Bedke, J. Kidney-Specific cadherin correlates with the ontogenetic origin of renal cell carcinoma subtypes: An indicator of a malignant potential? *World J Urol*. 2011 Sep 18., Epub ahead of print

zusammengefasst.

7. Anhang

Tabelle 12: Verwendete Chemikalien

Produkt	Bezugsquelle
Ethanol	SAV LP, Flintsbach, Deutschland
Xylol	VWR International, Fontenay Sous Bois, Frankreich
H ₂ O ₂ 30 %	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
A. dest.	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Tween 20	Dako, Carpinterica, Kalifornien USA
Eukitt (Vedta Mount Permanent Mounting Medium)	Vector Laboratories Inc., Burlingame, Kalifornien USA
Tris Base (TRIZMA® Base)	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
32 % HCL	Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumchlorid	Merck, Darmstadt, Deutschland
Zitronensäure-Monohydrat	Merck, Darmstadt, Deutschland
Tri-Natrium-Dihydrat	Merck, Darmstadt, Deutschland
Hämatoxylin krist	Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumjodat	Merck, Darmstadt, Deutschland
Kalialaun	Merck, Darmstadt, Deutschland
Chloralhydrat	Merck, Darmstadt, Deutschland
Zitronensäure	Merck, Darmstadt, Deutschland

Tabelle 13: Verwendete Reagenziensets (Kits)

Produkt	Bezugsquelle
DAB SK 4100 (Fa Vector)	Linaris, Wertheim, Deutschland
Avidin-Biotin Block	Linaris, Wertheim, Deutschland
Avidin-Biotin-Komplex; Vectastain Elite PK6102	Linaris, Wertheim, Deutschland

Tabelle 14: Verwendete Antikörper

Antikörper	Bezugsquelle
Primärantikörper Mouse anti-Ksp-Cadherin (Isotyp: Mouse IgG1, Clone 4H6/F9)	Zymed Laboratories, Carlsbad, Kalifornien USA
Sekundärantikörper Mouse IgG	Mouse IgG (Vectastain ABC Kit Elite PK6102), Linaris, Wertheim, Deutschland

Tabelle 15: Puffer und Lösungen

Puffer	Bezugsquelle/Bestandteile
Dako S3022	Dako, Carpinterica, Kalifornien USA
Tris-Puffer pH7,6	121,14 g Tris Base in 1000 ml A. dest. Unter pH-Kontrolle 32 % HCL zugeben bis pH7,6 erreicht ist.
NaCl 3M	175,32g in 1000 ml A. dest. lösen.
TBS	50 ml Tris-Puffer pH7,6 50 ml NaCl 3M auf 1000 ml mit A. dest. auffüllen.
TBST	50 ml Tris-Puffer pH7,6 50 ml NaCl 3M 500 µl Tween 20 auf 1000 ml mit A. dest. auffüllen.
H ₂ O ₂ 30 %	290ml A. dest. 10 ml 30 % H ₂ O ₂
Citratpuffer	Stammlösung A 10,6 g Zitronensäure-Monohydrat in 500 ml A. dest. Stammlösung B 14,7 g Tri-Natrium-Dihydrat in 500 ml A. dest. Herstellung für Protokoll 4,5 ml Lsg. A 20,5 ml Lsg. B 225 ml A. dest.
Hämatoxylin	1 g Hämatoxylin in 250 ml A. dest. lösen Zugabe von 200 mg Natriumjodat 50 g Kalialaun 50 g Chloralhydrat 1 g Zitronensäure über Nacht stehen lassen; filtrieren; auf 1 Liter mit A. dest. auffüllen.

Tabelle 16: Verwendete Geräte

Produkt	Bezugsquelle
Bohrmaschine MB140/S	Proxxon, Niersdorf, Deutschland
Koordinatentisch K70	Proxxon, Niersdorf, Deutschland
pH-Meter (pH 315i 82362)	WTW, Weilheim, Deutschland
Mikrowelle	Moulinex Micro-Chef MO500
Vortex	Heidolph, Schwabach, Deutschland
Mikroskop	Zeiss 3CCD, Esslingen, Deutschland
Mikrotom (RM 2125 RT)	Leica, Nussloch, Deutschland
Wärmebad (Tissue Flotation Bath, Typ: TFB45)	Medite Medizintechnik, Burgdorf, Deutschland
Waage	Sartorius LA120S, Göttingen, Deutschland
Mirax-Scan	Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Deutschland
Wärmeplatte (Slide Drying Bench)	Barnstead Electrothermal, Dubuque, Iowa, USA
Einbettautomat (Shandon Hypercenter 2)	Fa. Shandon, Frankfurt, Deutschland
Gießstation (medite TBS 88)	medite. AG, Jena, Deutschland

Tabelle 17: Sonstiges

Produkt	Bezugsquelle
Objektträger (Super Frost® Plus)	R. Langenbrink, Teningen, Deutschland
Deckgläser	R. Langenbrink, Teningen, Deutschland
Pipetten	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Pipettenspitzen	Greiner Labor Technik, Nürtingen, Deutschland
Dako Pen	Dako, Glostrup, Dänemark
Zeiss, Mirax Viewer	Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Deutschland
ACDSee	ACD Systems International Inc., British Columbia

8. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die diese Dissertation möglich gemacht haben. Im Besonderen:

Herrn Prof. Dr. med. A. Stenzl (Ärztlicher Direktor der Urologischen Universitätsklinik Tübingen) für die Überlassung des interessanten Themas sowie für die Möglichkeit, diese Arbeit an der Urologischen Universitätsklinik Tübingen erstellen zu können.

Des Weiteren danke ich Herrn Dr. med. Marcus Horstmann für die freundliche und sehr gute Betreuung während der gesamten Zeit sowie für sein großes Engagement und Interesse an der Arbeit.

Herrn Dipl. Biologe Jörg Hennenlotter für sein Engagement und die gute Zusammenarbeit.

Für die gute Einarbeitung in die Immunhistochemie, die hilfreichen Ratschläge, sowie die freundschaftliche Unterstützung in jeglicher Hinsicht möchte ich mich ganz besonders bei Frau Ursula Kühs bedanken.

Für die Herstellung der TMAs sowie für die Hilfe bei deren Auswertung bedanke ich mich herzlich bei Herrn Dr. med. Ulrich Vogel (Pathologisches Institut der Universitätsklinik Tübingen).

Danke an Herrn Dr. Christoph Meisner für die Hilfe bei der statistischen Auswertung (Institut für Medizinische Biometrie der Universität Tübingen).

Danke an Karin Pfundstein für das gründliche Korrekturlesen.

Bei Frau PD Dr. rer. nat. Heide Schmid möchte ich mich für die Hilfsbereitschaft bei der Auswertung, die spannenden Diskussionen sowie die freundschaftlichen Gespräche bedanken.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. med. Susan Noell für die motivierenden, aufmunternden und freundschaftlichen Gespräche, die unglaubliche Ausdauer beim Korrekturlesen, die durchgemachten Nächte und die Freundschaft.

Ganz besonders bedanke ich mich bei Marius Elkan für die große Hilfsbereitschaft bei allen computertechnischen Problemen, das große Verständnis sowie für die Geduld.

Ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir dieses Studium ermöglicht haben. Vielen Dank für eure Unterstützung und euer Verständnis.