

**Die diagnostische und prognostische Bedeutung der AMACR-
Immunhistochemie beim Nierenzellkarzinom**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)
an der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

Wahid Ahmad Noori

aus

Kabul

2025

Betreuer:in / Gutachter:in der Dissertation: Prof. Dr. Guido Sauter

Gutachter:in der Dissertation: Prof. Dr. Roland Dahlem

Vorsitz der Prüfungskommission: Prof. Dr. Roland Dahlem

Mitglied der Prüfungskommission: Prof. Dr. Ronald Simon

Mitglied der Prüfungskommission: Prof. Dr. Jörg Heeren

Datum der mündlichen Prüfung: 28.10.2025

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	4
2. Material und Methoden	22
2.1 Tissue-Microarray-Technik	22
2.2 Nierenkarzinom-TMAs	24
2.3 Immunhistochemie	25
2.4 Statistik	27
3. Ergebnisse	28
3.1 Validierung der klinischen Daten	28
3.2 Auswertbarkeit	34
3.3 AMACR Expression und histologischer Typ	35
3.4 AMACR Expression und Tumorphänotyp	44
3.5 AMACR Immunhistochemie und Patientenprognose	48
3.6 Korrelation der Färbeergebnisse (Klon 8F4 vs Klon 13H4)	53
4. Diskussion	55
5. Zusammenfassung	62
6. English Summary	64
7. Abkürzungsverzeichnis	66
8. Literaturverzeichnis	67
9. Danksagung	83
10. Eigenanteilserklärung	84
11. Eidesstattliche Erklärung	85

1. Einleitung

Das Nierenkarzinom ist der 16. häufigste Tumor auf der Welt (Sung et al. 2021). In Deutschland erkranken jährlich ca. 14500 Patienten an einem Nierenzellkarzinom (Robert Koch-Institut). Eindeutige und klare Risikofaktoren für die Entstehung eines Nierenzellkarzinoms sind nicht bekannt. Es wird aber angenommen, dass Rauchen (Hunt et al. 2005), hoher Blutdruck (Chow et al. 2000; Vatten et al. 2007; Weikert et al. 2008) oder Adipositas (Renahan et al. 2008; Chow et al. 2000) das Erkrankungsrisiko erhöhen. Auch eine familiäre Häufung von Nierenzellkarzinomen kommt seltenerweise vor (Choyke et al. 2003; Clague et al. 2009; Gago-Dominguez et al. 2001; Gudbjartsson et al. 2002). Patienten mit chronischen Nierenkrankungen, speziell unter Dialysepflicht leiden auch unter einem erhöhten Tumorrisiko (Port et al. 1989; Stewart et al. 2003; Åkerlund et al. 2021).

Die Symptome des Nierenzellkarzinoms sind lange nur geringgradig ausgeprägt (Fischer 2023). Die früher in den Lehrbüchern diskutierte Trias aus palpablem Tumor, Flankenschmerz und Blut im Urin kommt in den meisten Fällen nicht mal vor (McPhee und Papadakis 2009; Federle et al. 2010). Die allermeisten Nierenzellkarzinome werden im Rahmen einer oft aus anderen Gründen vorgenommenen bildgebenden Untersuchung des Abdomens bzw. Retroperitoneums diagnostiziert (Fischer 2023). Der stärker werdende Trend inzidenteller Entdeckungen von Nierenzellkarzinomen hat häufig zur Folge, dass die Tumorgröße bei der Primärdiagnose stetig geringer wird, so dass beispielsweise die für ein klarzelligen Nierenzellkarzinom typischen Zeichen wie Cavazapfen, Metastasen oder auch Tumornekrosen immer häufiger fehlten (S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Nierenzellkarzinoms 2023).

Die Diagnostik des Nierenzellkarzinoms erfolgt prinzipiell durch Bildgebung (S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Nierenzellkarzinoms 2023). Wenn in der Niere ein Tumor zu finden ist, besteht im Wesentlichen eine Indikation zur operativen Therapie gegeben (S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Nierenzellkarzinoms 2023). Biopsien werden nur dann durchgeführt, wenn bezüglich der Dignität einer Raumforderung der Niere auch nach einer radiologischen Untersuchung Unklarheiten bestehen oder wenn eine Nierenmetastase differentialdiagnostisch im Raum steht (S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und

Nachsorge des Nierenzellkarzinoms 2023). Wenn der Nierentumor sich als Metastase einer anderen z.B. früher operierten Neoplasie erweist, ist eine operative Entfernung des Tumors oder der Niere in der Regel nicht angezeigt (Chandrasekar 2023).

Die Therapie eines Nierenzellkarzinoms besteht meist primär in der operativen Tumorentfernung (S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Nierenzellkarzinoms 2023). Dies wird häufig auch dann gemacht, wenn bereits einzelne kleinere Metastasen vorliegen (S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Nierenzellkarzinoms 2023). Es hat sich gezeigt, dass eine Verminderung des Tumor-Loads Einfluss auf das Gesamtüberleben hatte (Silagy et al. 2020; Flanigan et al. 2004). Das Ausmaß der operativen Maßnahme richtet sich nach der Tumogröße und der Lokalisation des Tumors (S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Nierenzellkarzinoms 2023). Abhängig davon wird eine Tumorektomie oder eine Nephrektomie durchgeführt (S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Nierenzellkarzinoms 2023).

Für die Einschätzung des weiteren Verlaufs ist die Aufarbeitung des entnommenen Tumormaterials bzw. der Niere von äußerster Bedeutung. Die histopathologische Aufarbeitung entscheidet über die postoperative Risikosituation und damit darüber, ob und welche adjuvante systemische Therapie durchgeführt wird (S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Nierenzellkarzinoms 2023). Die histologische Aufarbeitung beinhaltet die Bestimmung des histologischen Tumortyps, des pT Stadiums, des Differenzierungsgrades, des R-Status und, falls auch regionäre Lymphknoten entnommen wurden, über den N-Status.

Die Festlegung des histologischen Tumortyps wird mit der Entwicklung immer neuerer, spezifischer medikamentöser Tumortherapien immer wichtiger. Insbesondere bei Studien mit neuen, in Zulassung befindlichen Medikamenten wird häufig eine Zugehörigkeit des Tumors zu einem bestimmten histologischen Tumortyp gefordert. Die wesentlichsten histologischen Tumortypen beim Nierenzellkarzinom sind das klarzellige Karzinom, das papilläre Karzinom und das chromophobe Karzinom (Cairns 2010). Das Onkozytom ist der häufigste nicht maligne epitheliale Tumor und macht ca. 3%-7% (Kuroda et al. 2003; Ganzen et al. 1988; Choi et al. 1983; Bhatt et al. 2015) aller operierten Nierentumoren aus. Neben den genannten häufigeren Tumortypen gibt es eine Vielzahl seltener histologischer Subtypen des

Nierenzellkarzinoms. Die gängige Einteilung aller Nierentumoren nach der aktuellen WHO-Klassifikation ist in Abbildung 1 dargestellt.

Table 1. ICD-O coding of tumours of the kidney

ICD-O-	ICD-O label (subtypes are indicated in grey text, with the label indented)
3.2	
Renal cell tumours	
<i>Clear cell renal tumours</i>	
8310/3	Clear cell renal cell carcinoma
8316/1	Multilocular cystic renal neoplasm of low malignant potential
<i>Papillary renal tumours</i>	
8260/0	Papillary adenoma
8260/3	Papillary renal cell carcinoma ^a
<i>Oncocytic and chromophobe renal tumours</i>	
8290/0	Oncocytoma
8317/3	Chromophobe cell renal carcinoma
Other oncocytic tumours of the kidney	
<i>Collecting duct tumours</i>	
8319/3	Collecting duct carcinoma
<i>Other renal tumours</i>	
8323/1	Clear cell papillary renal cell tumour ^a
8480/3	Mucinous tubular and spindle cell carcinoma
8316/3	Tubulocystic renal cell carcinoma
8316/3	Acquired cystic disease-associated renal cell carcinoma
8311/3	Eosinophilic solid and cystic renal cell carcinoma
8312/3	Renal cell carcinoma, NOS

Molecularly defined renal carcinomas

- 8311/3 *TFE3*-rearranged renal cell carcinomas
- 8311/3 *TFEB*-altered renal cell carcinomas
- 8311/3 *ELOC* (formerly *TCEB1*)-mutated renal cell carcinoma
- 8311/3 Fumarate hydratase-deficient renal cell carcinoma
- 8311/3 Hereditary leiomyomatosis and renal cell carcinoma syndrome-associated renal cell carcinoma
- 8311/3 Succinate dehydrogenase-deficient renal cell carcinoma
- 8311/3 *ALK*-rearranged renal cell carcinomas
- 8510/3 Medullary carcinoma, NOS
- 8510/3 SMARCB1-deficient medullary-like renal cell carcinoma
- 8510/3 SMARCB1-deficient undifferentiated renal cell carcinoma, NOS
- 8510/3 SMARCB1-deficient dedifferentiated renal cell carcinomas of other specific subtypes

Metanephric tumours

- 8325/0 Metanephric adenoma
- 9013/0 Metanephric adenofibroma
- 8935/1 Metanephric stromal tumour

Mixed epithelial and stromal renal tumours

- 8959/0 Mixed epithelial and stromal tumour
- 8959/0 Adult cystic nephroma
- 8959/0 Paediatric cystic nephroma

Renal mesenchymal tumours

Adult renal mesenchymal tumours

- 8860/0 Angiomyolipoma
- 8860/0 Oncocytic angiomyolipoma
- 8860/0 Angiomyolipoma with epithelial cysts
- 8860/1 Angiomyolipoma, epithelioid
- 9161/1 Haemangioblastoma
- 8361/0 Juxtaglomerular tumour
- 8361/0 Functioning juxtaglomerular cell tumour
- 8361/0 Nonfunctioning juxtaglomerular cell tumour
- 8966/0 Renomedullary interstitial cell tumour

Paediatric renal mesenchymal tumours

- 8967/0 Ossifying renal tumour of infancy
- 8960/1 Mesoblastic nephroma
- 8960/1 Classic congenital mesoblastic nephroma
- 8960/1 Cellular congenital mesoblastic nephroma
- 8960/1 Mixed congenital mesoblastic nephroma
- 8963/3 Malignant rhabdoid tumour of the kidney
- 8964/3 Clear cell sarcoma of kidney

Embryonal neoplasms of the kidney

Nephroblastic tumours

Nephrogenic rests

Perilobar nephrogenic rests

Intralobar nephrogenic rests

Nephroblastomatosis

8959/1 Cystic partially differentiated nephroblastoma

8960/3 Nephroblastoma

Miscellaneous renal tumours

Germ cell tumours of the kidney

9084/0 Prepubertal-type teratoma

9084/3 Teratoma with carcinoid (neuroendocrine tumour)

9071/3 Yolk sac tumour, NOS

9085/3 Mixed teratoma–yolk sac tumour

Abbildung 1: Aktuelle WHO-Klassifikation der Nierentumoren. Quelle der Abbildung: (Moch et al. 2022)

Die wichtigsten Tumortypen unterscheiden sich meist histologisch recht deutlich. Das klarzellige Nierenzellkarzinom ist charakterisiert durch Zellen mit einem hohen Zytoplasmaanteil, wobei dieses auffallend klar ist ähnlich wie bei Pflanzenzellen und durch eine scharfe, gut erkennbare Zellmembran charakterisiert sind (Thoenes et al. 1986). Das klarzellige Nierenzellkarzinom ist meist einfach zu diagnostizieren. Es gibt aber Fälle, bei denen das Zytoplasma weniger klar und mehr eosinophil granulär wird (Thoenes et al. 1986), sodass gerade in Biopsien diagnostische Schwierigkeiten entstehen können. Repräsentative Beispiele von klarzelligen Nierenzellkarzinomen sind in Abbildung 2 bis 3 dargestellt.

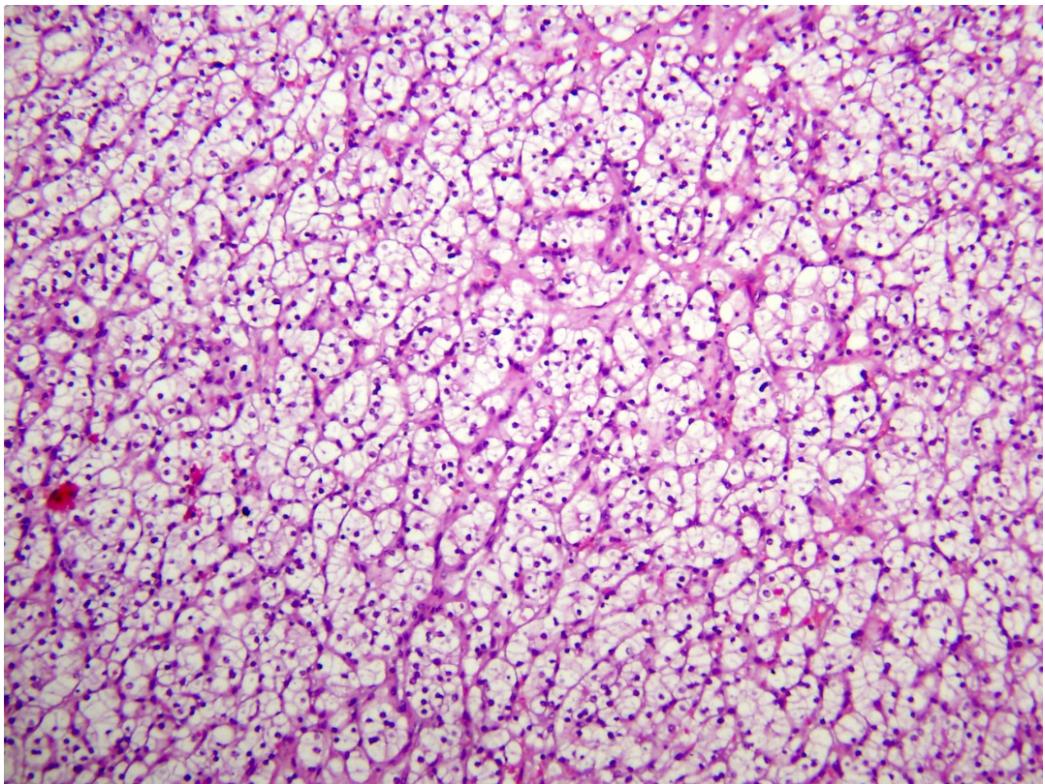


Abbildung 2: Klarzelliges Nierenzellkarzinom. Quelle: (Nezami und MacLennan 2023)

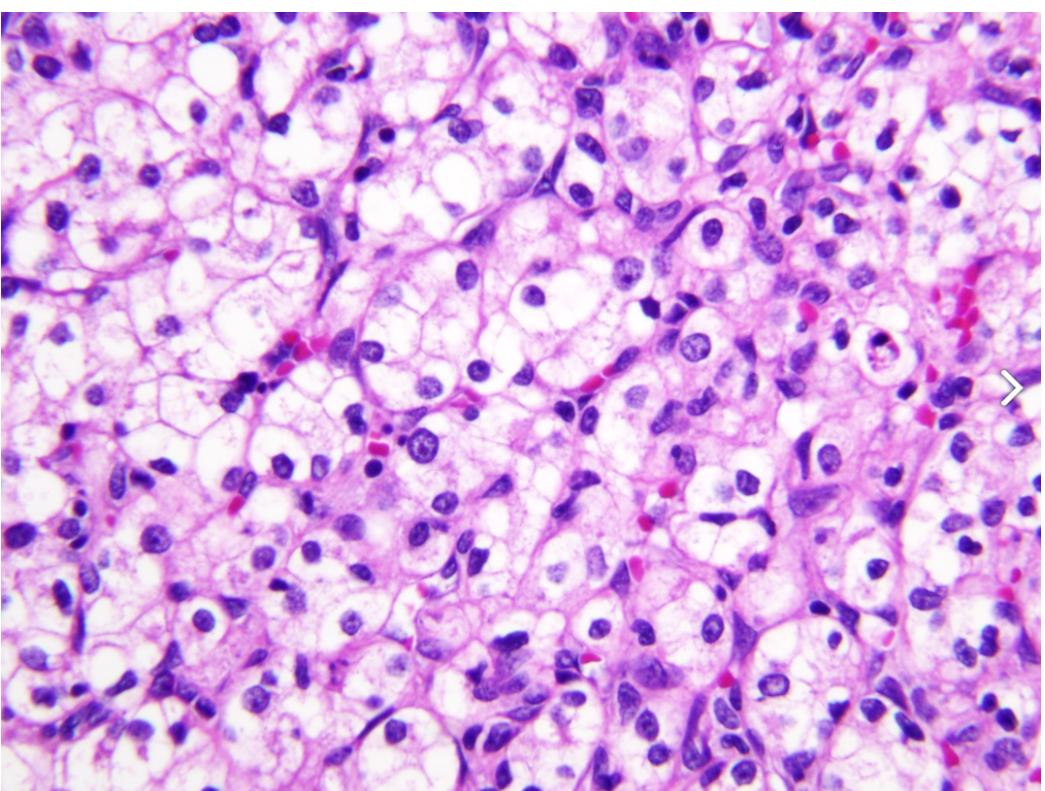


Abbildung 3: Klarzelliges Nierenzellkarzinom. (400x Vergrößerung) Quelle: (Nezami und MacLennan 2023)

Das papilläre Nierenzellkarzinom ist durch seinen meist klar erkennbaren papillären Aufbau, zytoplasmatische Hämosiderin-Ablagerungen und das Vorhandensein

von Schaumzellen charakterisiert (Granter et al. 1998; Flint und Cunningham 1987). Das Zytoplasma ist hinsichtlich der Anfärbung variabel (Amin et al. 1997). Die Zellgröße kann stark variieren und die Zytoplasma-Anfärbung reicht von kräftig eosinophil bis tief basophil (Amin et al. 1997). Repräsentative Beispiele von papillären Nierenzellkarzinomen sind in Abbildung 4 bis 5 dargestellt.

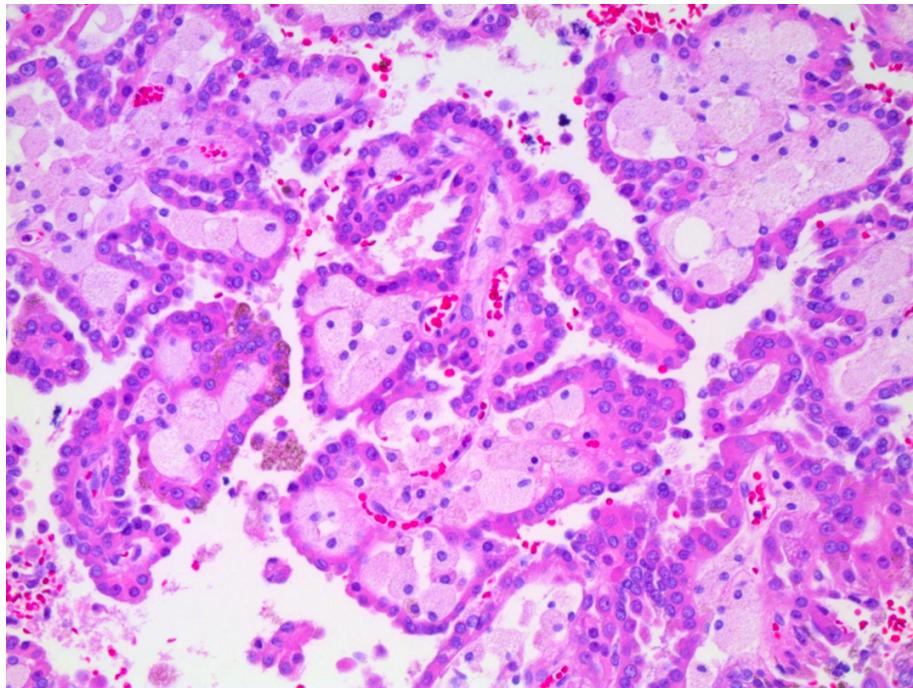


Abbildung 4: Papilläres Nierenzellkarzinom mit basophilem Zytoplasma. Quelle (Andeen und Tretiakova 2023).

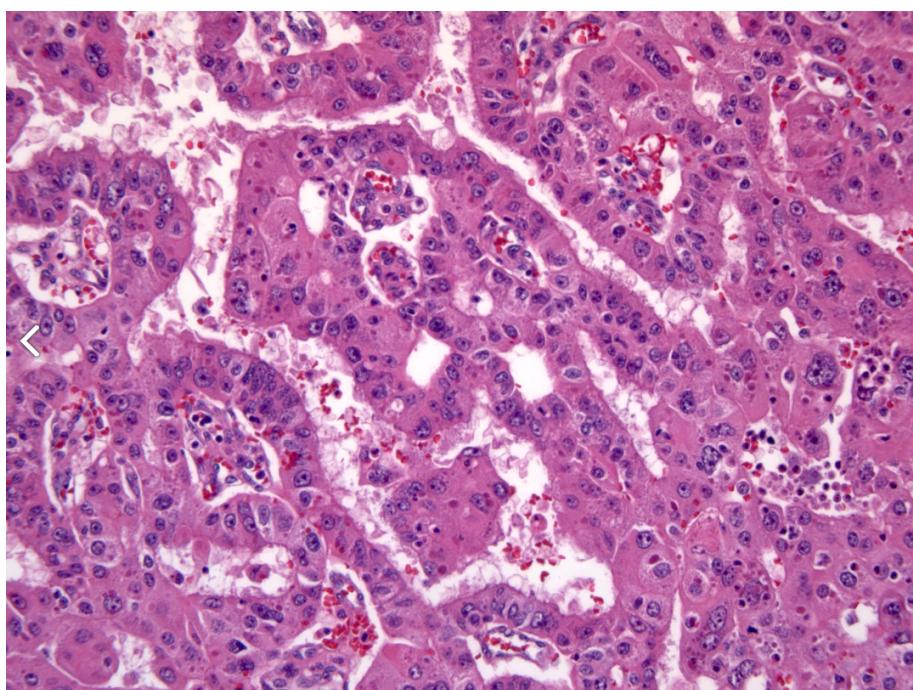


Abbildung 5: Papilläres Nierenzellkarzinom mit eosinophilem Zytoplasma. Quelle: (Andeen und Tretiakova 2023).

Das klarzellige und das papilläre Nierenzellkarzinom leiten sich histogenetisch vom proximalen Nierentubulus ab (Polascik et al. 2002; Prasad et al. 2007). Im Gegensatz dazu entstehen chromophobe Karzinome und auch Onkozytome aus Zellen des distalen Tubulus (Polascik et al. 2002).

Die chromophoben Nierenzellkarzinome wurden erstmals 1985 von Thoenes et al entdeckt (Thoenes et al. 1985). Eine Besonderheit dieses Tumors ist, dass dieser sehr heterogen in seinem Aufbau ist. So setzt sich das chromophobe Nierenzellkarzinom aus zwei verschiedenen Tumorzelltypen zusammen. Der erste Tumorzelltyp umfasst helle Zellen (Thoenes et al. 1985) mit einem retikulären (Amin et al. 2008) Zytoplasmamuster. Thoenes betont hier, dass diese zwar hell sein, aber nicht klar wie beim klarzelligen Nierenzellkarzinom (Thoenes et al. 1986). Der zweite Zelltyp beinhaltet polygonale, kleinere Zellen mit einem eosinophilen Zytoplasma, welches zum Teil granuliert ist (Thoenes et al. 1986; Thoenes et al. 1988). Das numerische Verhältnis dieser beiden Zelltypen zueinander in einem chromophoben Nierenzellkarzinom ist hierbei sehr variabel (Thoenes et al. 1988; Amin et al. 2008). Je nachdem, ob ein Zelltyp dominiert, spricht man entweder von einem eosinophilen oder gemischten oder auch von einem hellen chromophoben Nierenzellkarzinom (Thoenes et al. 1988). Abhängig von der Art des chromophoben Nierenzellkarzinoms weicht dann auch die Gewebeearchitektur ab (Amin et al. 2008). In Tumorbereichen bzw. in Tumoren allgemein, bei denen die helle Tumorzellpopulation dominiert, lässt sich die Architektur als alveolärartig beschreiben (Amin et al. 2008). Bei der eosinophilen Variante eines chromophoben Nierenzellkarzinoms ist die Gewebeearchitektur eher schachtelartig (Amin et al. 2008). Gemischte Varianten weisen hingegen sogenannte Tumorneste auf, bei denen sich zentral die eosinophile Subpopulation von Tumorzellen befinden und peripher von den hellen Tumorzellen umrandet werden (Amin et al. 2008). Insgesamt weisen chromophobe Nierenzellkarzinome sowohl zwischen verschiedenen Tumorgewebeschnitten als auch innerhalb eines Gewebeschnittes selbst ein hohes Maß an Heterogenität auf (Amin et al. 2008). Daher lässt sich ein chromophobes Karzinom rein histologisch nie mit letzter Sicherheit diagnostizieren, sodass eine immunhistochemische Zusatzuntersuchung bei der Erstdiagnose eines Nierenzellkarzinoms eine diagnostische Routine darstellt. Chromophobe Nierenzellkarzinome lassen sich beispielsweise durch den kombinierten immunhistochemischen Nachweis von CD117 (c-KIT) und Zytokeratin 7 darstellen (Memeo et al. 2007). Repräsentative

Bilder von chromophoben Nierenzellkarzinomen sind in Abbildungen 6 bis 7 dargestellt.

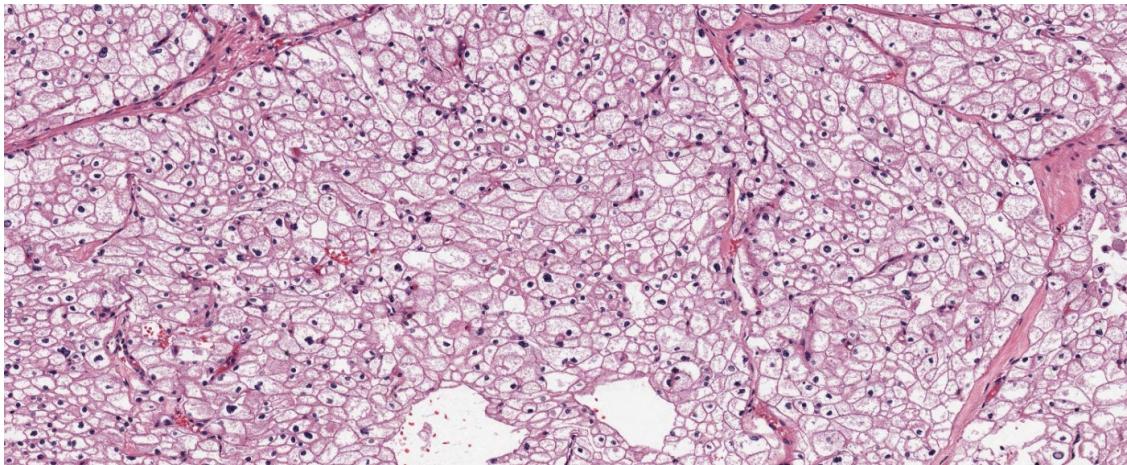


Abbildung 6: Chromophobes Nierenzellkarzinom. Quelle der Abbildung: (Tretiakova 2023)

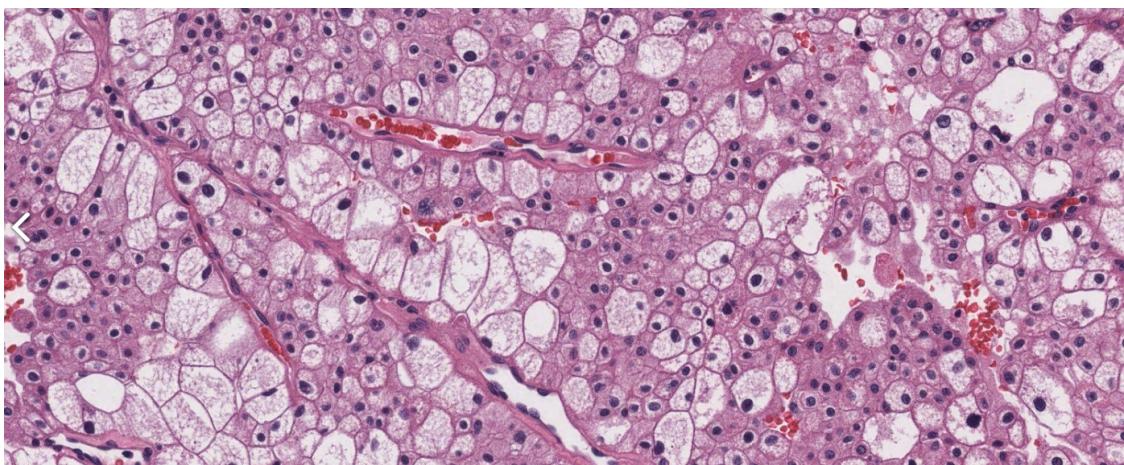


Abbildung 7: Chromophobes Nierenzellkarzinom mit einem hohen Anteil an eosinophilen Zellen. Quelle der Abbildung: (Tretiakova 2023)

Das Onkozytom gehört zu den häufigsten gutartigen Tumoren der Niere (Mittal und Sureka 2016). Histologisch zeigt das Onkozytom eine hochgradig charakteristische Morphologie. Runde bis polygonale Tumorzellen formieren sich zu einem einheitlichen Muster aus azinären bzw. nestartige Gewebeabschnitten, die inselartig im Tumorstroma eingebettet sind (Dvorakova et al. 2010). Die Tumorzellen zeichnen sich aus durch ein granuläres eosinophiles Zytoplasma (Akizuki et al. 1986). Die Zellkerne sind in der Regel rund und oval, können jedoch in manchen Fällen Kernatypien aufweisen (Trpkov et al. 2010). Diese fokalen Atypien der Zellkerne stellen jedoch die Diagnose eines Onkozytoms nicht in Frage (Hes et al. 2001). Immunhistochemisch lässt sich das Onkozytom durch die Kombination einer CD117(c-KIT) -Positivität bei gleichzeitiger Zytokeratin-7-Negativität bestätigen

(Memeo et al. 2007). Repräsentative Bilder von Onkozytomen sind in Abbildung 8 dargestellt.

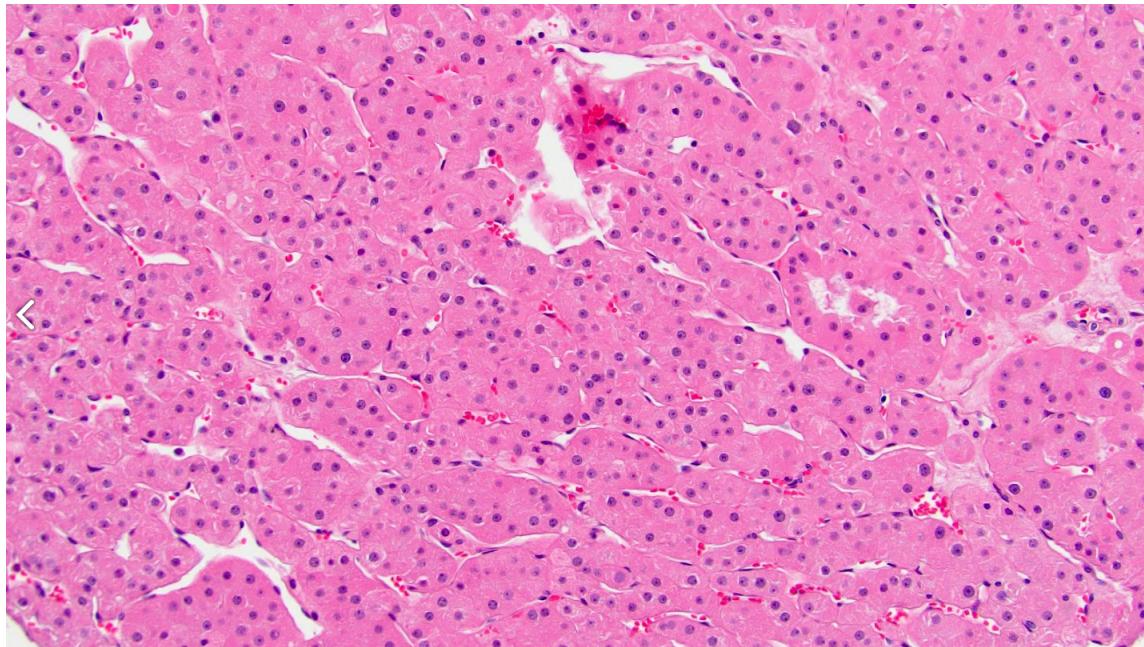


Abbildung 8: Onkozytom. Quelle der Abbildung: (Saleeb 2023), bereit gestellt von: Maria Tretiakova.

Das pT -Stadium richtet sich nach der Tumorausdehnung und der Beziehung zur Tumorumgebung. Die Kriterien für die Festlegung des pT-Stadiums sind in Abbildung 9 dargestellt.

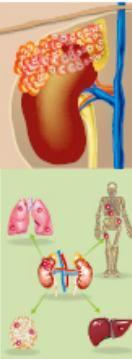
Stadium 1 (früh)		Der Tumor ist auf die Niere begrenzt und ist kleiner als 7 cm (T1). Die Lymphknoten sind nicht befallen (N0). Der Tumor hat keine Metastasen gebildet (M0).
Stadium 2 (lokal begrenzt)		Der Tumor ist größer als 7 cm, ist immer noch auf die Niere beschränkt (T2). Die Lymphknoten sind nicht befallen (N0) und es sind keine Metastasen vorhanden (M0).
Stadium 3 (lokal fortgeschritten)		Der Tumor hat das umliegende Weichgewebe befallen (T3), hat sich noch nicht in andere Organe ausgebreitet (M0). Lymphknoten sind nicht befallen (N0). oder T1, T2, T3-Tumoren mit Lymphknotenbefall (N1) und ohne Metastasen (M0).
Stadium 4 (metastasiert)		Der Tumor hat sich weit über die Niere hinaus ausgebreitet (T4), Lymphknoten sind befallen (N1) oder nicht befallen (N0), es sind keine Metastasen vorhanden (M0). oder Jeder Tumor (beliebiges T) bei dem zusätzlich die Lymphknoten oder andere Organe wie beispielsweise die Lungen, Leber, Knochen oder das Gehirn befallen sind (M1).

Abbildung 9: TMN-Klassifikation von Nierentumoren. Quelle der Abbildung: (Stadien nach UICC 2023)

Der Differenzierungsgrad beschreibt das Ausmaß der histologischen und zytologischen Atypien eines Tumors und wird auch als Malignitätsgrad benannt. Ein Grad 1 entspricht einem hochdifferenzierten, der physiologischen Form am ähnlichsten sehender Zustand. Grad 3 oder je nach Klassifikation Grad 4 beschreibt einen besonders entdifferenzierten Tumor. Für das Nierenzellkarzinom wurden in den letzten Jahren mehrere Klassifikation-Systeme vorgeschlagen, welche von den diagnostisch tätigen Pathologen bestimmt werden. Die wichtigsten und am meist verwendeten Gradierungssysteme sind diejenigen von Fuhrmann, Thoenes und der International society of urological pathology (ISUP). Die für die Festlegung der Differenzierungsgrade nach diesen Systemen geltenden Kriterien sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Verschiedene Gradingsysteme für Nierentumoren.

Grading System nach Fuhrmann (Histologie und Grading 2023)		
G1:	Gut differenziert	<i>Wachstum des malignen Gewebes unterscheidet sich nur geringfügig von gesundem Gewebe</i>
G2	Mäßig differenziert	<i>Wachstum des malignen Gewebes ist deutlich aggressiver als jenes vom gesunden Gewebe.</i>
G3	Schlecht differenziert	<i>Malignes Gewebe weist nahezu keine Gemeinsamkeit mit dem gesunden Gewebe mehr auf und wächst noch aggressiver.</i>
G4	undifferenziert	<i>Keine Gemeinsamkeit mit gesundem Gewebe mehr vorhanden. Sehr aggressives Wachstum mit Streuungsgefahr</i>
Grading System nach Thoenes (Thoenes et al. 1986)		
G1	<i>Runde, geringfügig vergrößerte Zellkerne; keine sichtbaren Mitosen</i>	
G2	<i>Vereinzelter Verlust der physiologischen Zellkernform; Variationen der Zellkerngröße observierbar; Zellkerne sind mittelgrading vergrößert; Mitosen sind vereinzelt sichtbar; verdichtetes Chromatin ist zum Teil vorhanden.</i>	
G3	<i>Zellkerne sind deutlich vergrößert bis hin zur Bildung von Riesenzellkernen; polymorphie, Zellkerne sind hyperchromatisch; irreguläre Zellkernformen sind observierbar; multiple Nukleoli; deutlich vergrößerte Mitosefrequenz; Vorhandensein von Riesentumorzellen ist möglich</i>	
Grading System nach ISUP/WHO (Delahunt et al. 2013)		
G1	<i>Nukleoli sind bei hoher Vergrößerung entweder kaum oder gar nicht zu sehen. Im Falle, dass sie zu sehen sind, sind sie unauffällig und basophil.</i>	
G2	<i>Nukleoli sind erst bei hoher Vergrößerung klar sichtbar und eosinophil. Sie sind ansonsten jedoch nicht sehr prominent.</i>	
G3	<i>Nukleoli sind selbst bei niedriger Vergrößerung klar sichtbar und sehr prominent</i>	
G4	<i>Riesige Tumorzellen mit oder ohne nukleären Pleomorphismus. Malignes Gewebe kann rhabdoider oder sarkomatoider differenziert sein.</i>	

Das Vorliegen von Lymphknotenmetastasen ist in besonderem Ausmaß mit einer ungünstigen Patientenprognose assoziiert. Falls im Rahmen der primären Tumoroperation Lymphknoten entnommen wurden, werden diese intensiv vom Pathologen nach Metastasen untersucht. Die Kriterien für die Festlegung des pN-Status sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Kriterien für die Festlegung des pN-Status. Quelle der Information: (Swami et al. 2019).

<i>N_x</i>	<i>Keine Beurteilung der Lymphknoten möglich.</i>
<i>N₀</i>	<i>Regionäre Lymphknoten sind nicht befallen.</i>
<i>N₁</i>	<i>Regionäre Lymphknoten sind befallen.</i>

Während noch vor wenigen Jahren die Therapie des Nierenzellkarzinoms mit der Durchführung einer Operation in den meisten Fällen abgeschlossen war, besteht heute eine zunehmende Tendenz zur adjuvanten Systemtherapie. Dies hängt damit zusammen, dass sich in den letzten Jahren die Optionen für eine Systemtherapie beim Nierenzellkarzinom deutlich verbessert haben. Die wesentlichsten Medikamente sind Sunitinib und Immuncheckpoint-Inhibitoren, aber auch andere Therapeutika wie Everolimus oder Axitinib kommen bei Patienten zum Einsatz (S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Nierenzellkarzinoms 2023).

Trotz des reichhaltigen Angebots an unterschiedlichen Therapeutika einschließlich verschiedener Immuncheckpoint-Inhibitoren gibt es beim Nierenzellkarzinom anders als bei vielen anderen Tumoren keine regelmäßig durchgeführten molekularen Untersuchungen, welche bei der Indikationsstellung zu einer der genannten Therapien helfen könnten. Möglicherweise wird sich dies in der näheren Zukunft ändern, denn Systemtherapien sind mit einem ausgeprägten Nebenwirkungsprofil verbunden und die meisten Richtlinien sehen diese nur bei sogenannten Hochrisikopatienten (S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Nierenzellkarzinoms 2023) vor. Die Risikofestlegung bzw. Prognosevoraussage ist beim Nierenzellkarzinom aber noch nicht mit ausreichender Präzision möglich, sodass viele Forschungsgruppen mit großem Aufwand nach molekularem Prognosefaktoren beim Nierenzellkarzinom suchen.

Molekulare/Immunhistochemische Zusatzuntersuchungen werden beim Nierenzellkarzinom überwiegend zur Klassifizierung der Tumoren durchgeführt. Insbesondere bei Tumorbiopsien, wo wenig Material vorliegt und die differentialdiagnostische Palette neben dem in Abbildung 1 dargestellten Nierentumortypen auch Metastasen beinhalten, kommt es häufig zu ausgedehnten immunhistochemischen Zusatzuntersuchungen. Das Protein Alpha-Methylacyl-CoA Racemase (AMACR) ist hierbei ein häufig untersuchtes Molekül (Allory et al. 2008; Molinié et al. 2006; Tretiakova et al. 2004; Eichelberg et al. 2013; Lin et al. 2004). AMACR spielt eine wesentliche Rolle im Fettstoffwechsel (Ferdinandusse et al. 2000). Diese unterstützt die zelluläre Energiegewinnung durch die Einflussnahme auf das Einschleusen von verzweigtkettigen Fettsäuren, die vor allem als Abbauprodukte aus Chlorophyl anfallen (Darley et al. 2009), in die Beta-Oxidation (Lloyd et al. 2008). Es katalysiert hierbei als Racemase die Konversion von R-Pristanoyl-CoA in dessen

S-Form (Lloyd et al. 2008). AMACR und sein Einfluss auf den Fettstoffwechsel scheint (Wilson et al. 2011; Zha et al. 2005; Luo et al. 2002; Koundouros und Poulogiannis 2020) in der Biologie von Tumoren eine nicht unwesentliche Rolle zu spielen, da es bei sehr vielen Tumorarten zu mindestens in einem Teil der Fälle zu einer vermehrten AMACR Expression kommt (Schneider 2020; Went et al. 2006). Zu den am häufigsten AMACR positiven Tumorarten gehört das Prostatakarzinom (National Cancer Institute 2023) (Abbildung 10), sodass der immunhistochemische Nachweis der AMACR Expression bei diesem Tumortyp zur diagnostischen Sicherheit beitragen kann.

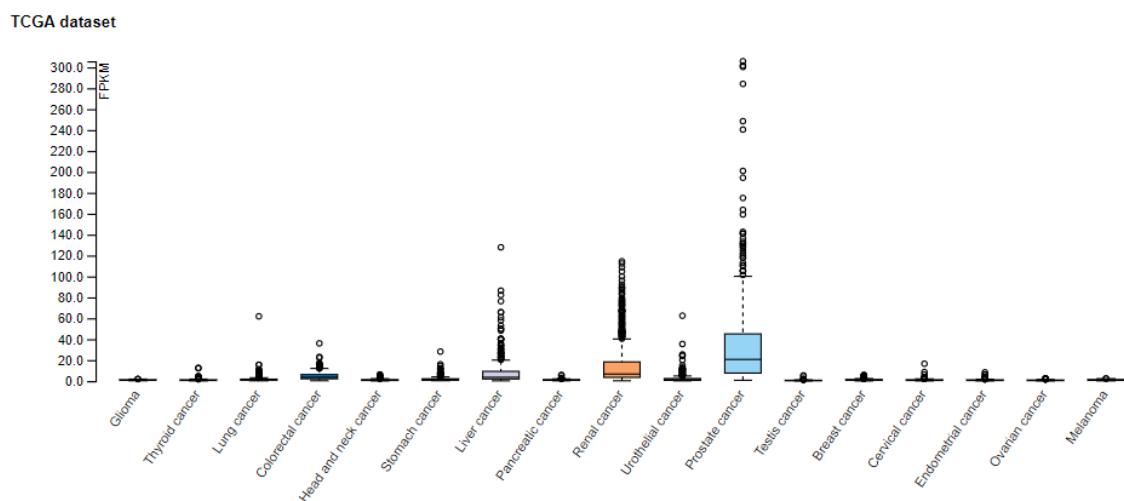


Abbildung 10: RNA-Expression von AMACR in Tumoren. Quelle der Abbildung ist der Human Protein Atlas (AMACR transcriptomics data - The Human Protein Atlas 2023). Die vom HPA verwendeten Daten entstammen vom TCGA Research Network (National Cancer Institute 2023).

Auch bei der Differentialdiagnostik der Nierentumoren wird der immunhistochemische Nachweis von AMACR immer wieder eingesetzt. Zahlreiche Studien haben eine deutlich höhere und häufigere AMACR Expression in papillären Nierenzellkarzinomen als bei klarzelligen Nierenzellkarzinomen beschrieben (Tretiakova et al. 2004; Griffin und Lin 2021; Alshenawy 2015; Wang et al. 2014). Gerade bei kleinen Biopsien die papillären Strukturen nicht immer eindeutig morphologisch gesichert werden können, so wenden viele Pathologen eine AMACR Immunhistochemie zur Differenzierung von Nierentumortypen am Biopsiematerial.

Insgesamt 29 Studien haben in der Vergangenheit die AMACR Expression in verschiedenen histologischen Typen von Nierentumoren untersucht. Die in diese

Studien ermittelten Häufigkeiten der AMACR Positivität sind in Abbildung 11 dargestellt. Die zugehörigen Literaturverweise sind in Tabelle 3 zu finden. Der Farbpunkt/code für die einzelnen Studien bezieht sich auf die Zahl der in eine Studie eingeschlossenen Fälle.

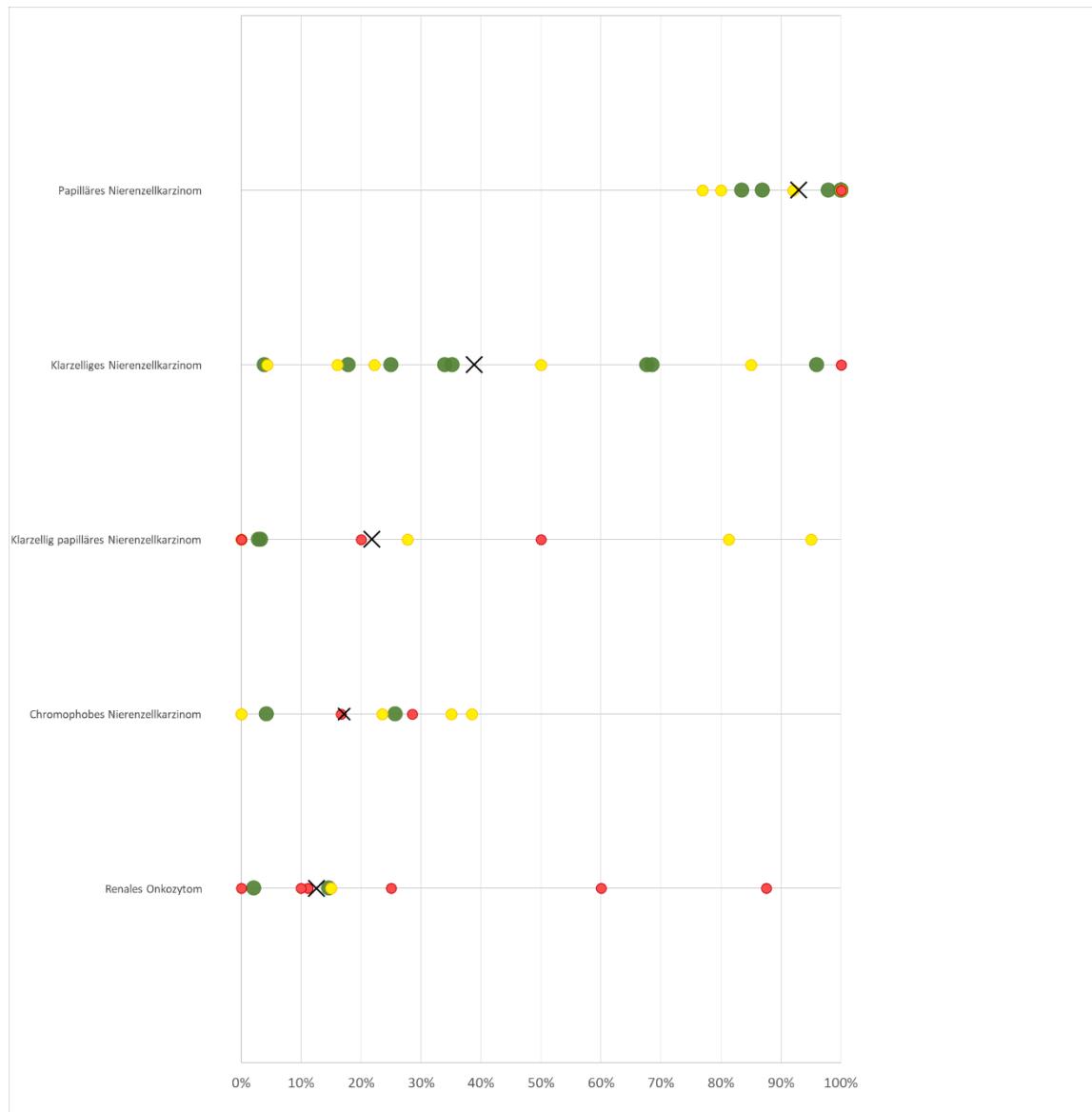


Abbildung 11 Grafische Darstellung der Studienlage zur AMACR-Expression in Tumoren. Rote Punkte: $n>10$; Gelbe Punkte: $26>n>11$; Grüne Punkte: $n>25$; x: durchschnittliche Positivitätsrate.

Tabelle 3: Übersicht über die Literaturverweise zu den einzelnen Datenpunkten aus Abbildung 11.

Klarzelliges Nierenzellkarzinom	(Al-Ahmadie et al. 2011; Allory et al. 2008; Alshenawy 2015; Bing et al. 2013; Griffin und Lin 2021; He et al. 2011; Kim et al. 2020a; Kourda et al. 2010; Lin et al. 2004; Molinié et al. 2006; Tretiakova et al. 2004; Wang et al. 2014; Williamson et al. 2020; Zhou et al. 2014; Eichelberg et al. 2013)
Papilläres Nierenzellkarzinom	(Al-Ahmadie et al. 2011; Allory et al. 2008; Al-Obaidy et al. 2019; Alshenawy 2015; Bing et al. 2013; Fadare et al. 2010; Griffin und Lin 2021; Kim et al. 2020a; Kim et al. 2020b; Kobayashi et al. 2008; Kourda et al. 2010; Lin et al. 2004; Molinié et al. 2006; Okada et al. 2009; Tretiakova et al. 2004; Wang et al. 2014; Zhang et al. 2016; Eichelberg et al. 2013)
Chromophobes Nierenzellkarzinom	(Al-Ahmadie et al. 2011; Allory et al. 2008; Kim et al. 2020a; Kourda et al. 2010; Lin et al. 2004; Molinié et al. 2006; Tretiakova et al. 2004; Bing et al. 2013; Eichelberg et al. 2013)
Renales Onkozytom	(Al-Ahmadie et al. 2011; Allory et al. 2008; Bing et al. 2013; Kim et al. 2020a; Kourda et al. 2010; Lin et al. 2004; Molinié et al. 2006; Tretiakova et al. 2004; Williamson et al. 2020; Eichelberg et al. 2013)
Klarzellig papilläres Nierenzellkarzinom	(Alshenawy 2015; Aydin et al. 2010; Dhakal et al. 2016; Gilani et al. 2012; Gobbo et al. 2008; Griffin und Lin 2021; Kim et al. 2020a; Lin 2017; Pramick et al. 2013; Rohan et al. 2011; Williamson et al. 2013; Yang et al. 2015; Zhou et al. 2014)

Wegen der großen Bedeutung des AMACR Nachweis bei der Prostatakarzinomdiagnostik wurde am Institut für Pathologie des UKE kürzlich ein neuer AMACR Antikörper (Klon 8F4) hergestellt (Schneider 2020). Der Antikörper erwies sich bei der initialen Validierung an einem kleinen Gewebeset bestehend aus Prostatakarzinomen, normalem Prostatagewebe, normalem Nierengewebe, Plazenta- und Kollonschleimhaut als potentiell hoch geeignet (Schneider 2020). Auch eine Inkubation in einer eigens angefertigten AMACR überexprimierenden Zelllinie suggerierte eine spezifische und kräftige AMACR-Bindung. Die nachher durchgeführte weitere Evaluierung des Antikörpers an mehr als 3000 Tumoren und mehr als 70 verschiedenen Normalgeweben hatte allerdings gezeigt, dass der Antikörper neben AMACR mindestens ein weiteres Protein färbt, denn es fand sich eine kräftige Anfärbung für Klon 8F4 im Stratum Granulosum der Haut, Spermien und in der Aortenwand (Schneider 2020). Die Untersuchung von jeweils 50 papillären, chromophoben und klarzelligen Nierenkarzinomen hatten in der Untersuchung von

Schneider nur geringe Unterschiede zwischen papillären und klarzelligen Nierenzellkarzinomen gezeigt, sodass die mögliche diagnostische Rolle von Klon 8F4 bei der Unterscheidung von Nierenkarzinomtypen unklar blieb (Schneider 2020). Die hier vorliegende Studie hatte das Ziel, die mögliche diagnostische, aber auch prognostische Rolle der AMACR Expression beim Nierenzellkarzinom besser einzuschätzen. Zum einen sollte man die praktische Bedeutung der AMACR Expression bei der Differentialdiagnose der verschiedenen Nierenzelltumortypen eruieren. Zum anderen sollte man explorieren, inwiefern die AMACR Expression beim Nierenzellkarzinom prognoserelevant ist. Für die Untersuchung stand ein Kollektiv bestehend von mehr als 1300 Nierenzellkarzinomen zur Verfügung. Mit der Verwendung von zwei verschiedenen Antikörpern und von unterschiedlichen Antikörpertkonzentrationen in den verwendeten Protokollen sollte zudem geklärt werden, ob eine Protokolloptimierung oder die Selektion besonders geeigneter Antikörper die diagnostische und prognostische Aussagekraft der AMACR Immunhistochemie verbessern kann.

2. Material und Methoden

2.1 Tissue-Microarray-Technik

Das 1998 erstmals publizierte TMA-Verfahren erlaubt eine massive Effizienzsteigerung bei der Untersuchung von Tumor und Normalgewebe durch *In situ* Verfahren (Kononen et al. 1998). Auf einem einzigen TMA können bis zu 600 verschiedene Gewebeproben mit einem jeweiligen Durchmesser von 0,6mm mit Methoden wie Immunhistochemie, Fluoreszenz *In situ* Hybridisierung oder RNA *In situ* Hybridisierung untersucht werden (Kononen et al. 1998). Dies führt zu einer deutlichen Geschwindigkeitssteigerung von molekularen Untersuchungen und auch zu erheblichen ökonomischen Vorteilen, denn die gleichzeitige Untersuchung von 600 Präparaten auf einem Schnitt ermöglicht auch eine 600-fache Reduzierung der benötigten Reagenzienmenge und eine massive Reduktion der für die Untersuchung nötigen Arbeitskraft. Bei der Herstellung von TMAs werden aus geeigneten Geweben, meistens Tumoren, an einer vorher definierten Stelle zylindrische Gewebsfragmente mit einer Hohlnadel entnommen. Der Durchmesser der Fragmente beträgt im Regelfall 0,6 mm. Die entnommenen Gewebezylinder werden danach in ein vorgefertigtes Loch an einer vorher exakt definierten Stelle (Koordinate) in einem leeren Paraffinblock (Empfängerblock) eingebracht. Die Zuordnung der einzelnen Proben zu histopathologischen oder klinischen Daten erfolgt über ein vorher definiertes Koordinatensystem. Ein im UKE üblicher Aufbau der TMAs ist in Abbildung 12 dargelegt. Der Standard TMA besteht aus 5-6 Quadranten, bezeichnet mit Großbuchstaben (A-E bzw. F). In jeden einzelnen Quadranten werden die Spalten mit Kleinbuchstaben und die Zeilen mit Zahlen definiert. Ein zugehöriger Datensatz mit klinischen Daten (Auszug) ist in Tabelle 4 dargestellt.

MTA5.2 C

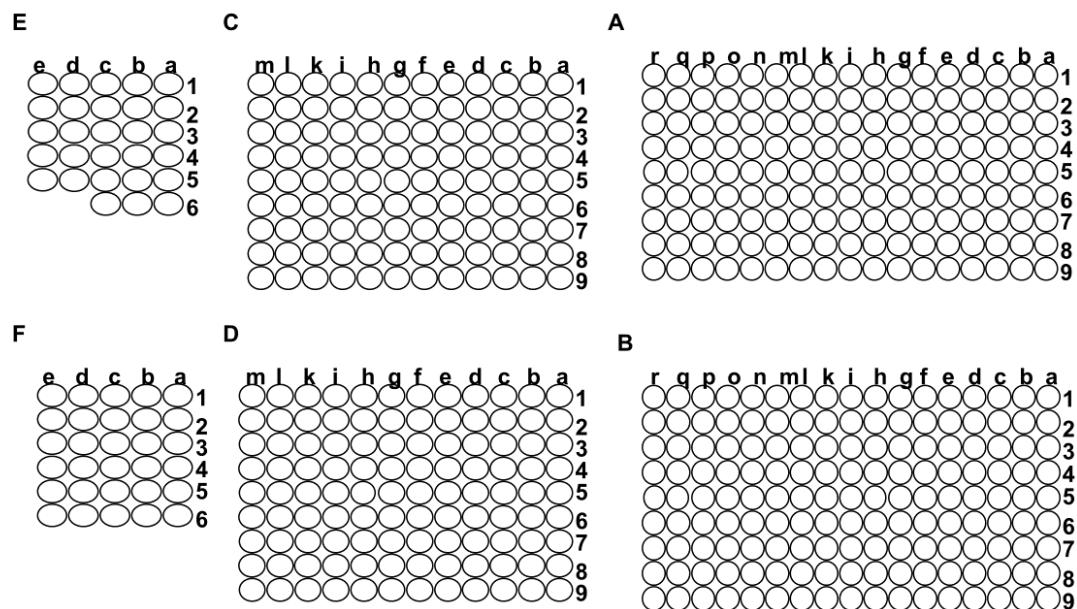


Abbildung 12: Typischer Aufbau eines im UKE verwendeten TMAs.

Tabelle 4: Komprimierter Auszug aus einem TMA-Datenfile mit bereits anonymisierten Patientendaten.

TMA „KID 7.1 A“								
Array-name	Koordinate	Entität	Alter bei Einführung	pT	pN	pM	R-Status	UICC
...
KID 7.2 A	C2a	NCC, Typ: klarzellig	35	1	0	0		1
KID 7.2 A	C2b	NCC, Typ: klarzellig	46	2	1	1	0	4
KID 7.2 A	C2c	NCC, Typ papillär	90	4	3	1	1	4
...

TMAs sind nicht nur hervorragende Forschungsinstrumente, sondern sind auch exzellent für die Pseudonymisierung und Anonymisierung geeignet. Nur während der Herstellungsprozesses eines TMAs sind die Biopsienummern der Pathologie für die Identifikation der geeigneten Proben erforderlich. Ist der TMA fertig gebaut, kann die

Spalte mit der Biopsienummer für die Forscher ausgeblendet (Pseudonymisierung) oder auch definitiv gelöscht werden (Anonymisierung).

2.2 Nierenkarzinom-TMAs

Der für die Studie verwendete Nierenkarzinom TMA beinhaltetet insgesamt 1318 Tumoren, welche auf 3 TMA-Blöcke verteilt waren. Der TMA setzte sich aus 808 klarzellige, 205 papilläre und 81 chromophobe Karzinome, 127 Onkozytome und 97 weitere Karzinome aus verschiedenen Kategorien von seltenen Nierentumoren. Ein makroskopisches Bild der 3 TMA-Blöcke ist in Abbildung 13 dargestellt, eine Übersichtsaufnahme von TMA-Schnitte dieser Blöcke in Abbildung 14. Die Zusammensetzung des TMAs ist in Tabelle 5 dargestellt.



Abbildung 13: Übersichtsaufnahme über verwendete TMA-Blöcke.



Abbildung 14: Übersichtsaufnahme über dazugehörige TMA-Schnitte nach AMACR Färbung.

Tabelle 5: Zusammensetzung der Nierentumor-TMAs.

Klarzellige Nierenzellkarzinome	808
Papilläre Nierenzellkarzinome	205
Chromophobe Nierenzellkarzinome	81
Onkozytome	127
Sonstige Nierentumoren	97
Gesamtanzahl n	1318

2.3 Immunhistochemie

Die immunhistochemische Untersuchung wurde an allen Tumoren dreimal durchgeführt, wobei die Verwendung des Klons 8F4 bei einer Verdünnung von 1:1350 und bei 1:12150 erfolgte. Zusätzlich wurde das in der diagnostischen Routine verwendete Protokoll für den Antikörper DAKO 13H4 angewendet.

Die Färbung mit Klon 8F4 erfolgte manuell. Zu diesem Zweck wurden nach Anfertigung der Schnitte die Objektträger 1h mit Xylol behandelt, bevor sie in einer absteigenden Alkoholreihe bis zu destilliertem Wasser rehydriert wurden. Dann erfolgte eine Vorbehandlung im Autoklaviergerät für 5 Minuten bei 121°C in einer Target-

Retrieval-9,0-Solution bei einem pH-Wert von 9. Die Schnitte wurden danach 2-mal mit Wasser sowie 1-mal mit TBST-Puffer gespült und in einer feuchten Kammer ausgelegt. Im nächsten Schritt behandelte man die Schnitte mit einer Peroxidase blockierenden Lösung für 10 Minuten und danach spülte man erneut zweimal mit TBST-Puffer. Anschließend konnte die Antikörperinkubation der Schnitte erfolgen. Der Klon 8F4 wurde auf 1:12150 bzw. 1:1350 verdünnt und die Schnitte wurden 60 Minuten bei 37°C mit Klon 8F4 inkubiert. Nach zweimaligem Spülen mit TBST-Puffer erfolgte die Sekundärantikörperinkubation ebenfalls bei 37°C mit „EnVision-rabbit/mouse“ für 30 Minuten. Abschließend wurde zweimalig mit TBST-Puffer gespült. Nun erfolgte in chronologische Reihenfolge die Hinzugabe von DAB-Chromogen (K5007) bei Raumtemperatur für 10 Minuten, das einmalige Spülen mit destilliertem Wasser, eine dreiminütige Gegenfärbung mit Haemalaum, das Bläuen im Leitungswasser für 5 Minuten und eine abschließende Dehydrierung der Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe. Die Schnitte wurden im finalen Schritt dann in Xylol getaucht und dann eingedeckt.

Die Färbung des DAKO Antikörpers Klon 13H4 (IR060) erfolgte im automatisiertem DAKO-Stainer mithilfe des DAKO EnVision Flex-Kits 8002. Der Antikörper wurde als „Ready-to-use“ verwendet und musste nicht zusätzlich verdünnt werden. Die darauf anschließende Visualisierung erfolgte nach einem ähnlichen Muster wie beim 8F4-Klon.

Alle Immunhistochemischen Färbungen wurden von einem Pathologen (Prof. Guido Sauter) beurteilt, wobei für jedes Präparat die Färbeintensität semiquantitativ in 4 Stufen (0, 1+, 2+, 3+) bestimmt wurde und der Anteil der angefärbten Tumorzellen in Prozent geschätzt wurde. Aus dem prozentualen Anteil der gefärbten Zellen und der Intensität der Färbung wurden die Tumoren in die Kategorien negative/negativ, weak/schwach positiv, moderate/ mäßig stark positiv und strong/stark positiv eingeteilt. Dazu wurde die in Tabelle 6 dargestellte Formel verwendet.

Tabelle 6: Zur Bewertung verwendeten Formeln.

<i>negative (negativ):</i>	<i>Keine Färbung</i>
<i>weak (schwach positiv):</i>	<i>1+ in <70% der Zellen oder 2+ in ≤30% der Zellen</i>
<i>moderate (mäßig positiv)</i>	<i>1+ in ≥70% der Zellen, 2+ in >30% aber <70% der Zellen oder 3+ in ≤ 30% der Zellen</i>
<i>strong (kräftig positiv)</i>	<i>2+ in ≥ 70% der Zellen oder 3+ in >30% der Zellen</i>

2.4 Statistik

Alle statistischen Berechnungen erfolgten mit der Software JMP (SAS Institut). Für die Untersuchungen von kategorischen Variablen wie Färbeintensität oder klinisch pathologischen Parametern wurden Mehrfeldertests bzw. Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Die Beziehung zwischen kategorischen Parametern und der Patientenprognose wurde durch die Herstellung von Kaplan Meier Kurven unterstützt, wobei statistische Unterschiede durch eine Cox-Regressionsanalyse quantifiziert wurden. Ein p-Wert von kleiner 0,05 wurde als statistisch signifikant erachtet.

3. Ergebnisse

3.1 Validierung der klinischen Daten

Die prognostische Bedeutung der etablierten Prognosemarker pT und pN ist für das Kollektiv aller Tumoren, die klarzelligen Karzinome und die papillären Karzinome für die Endpunkte „Gesamtüberleben“ und „rezidivfreies Überleben“ in den Abbildungen 15-26 dargestellt. Die Darstellungen zeigen einen hochsignifikanten Einfluss von pT und pN auf die Patientenprognose. Dies stellt eine indirekte Validierung der klinischen Daten von unserem Patientenkollektiv dar.

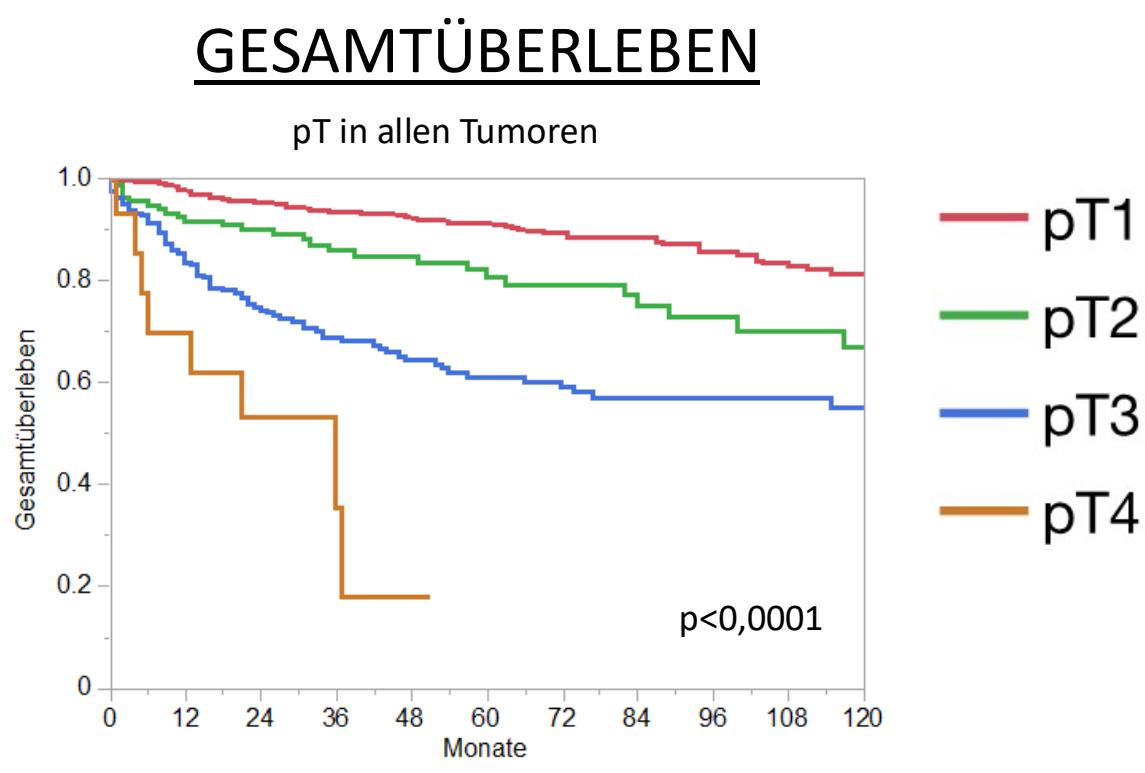


Abbildung 15: pT in allen Tumoren mit Gesamtüberleben als Endpunkt.

GESAMTÜBERLEBEN

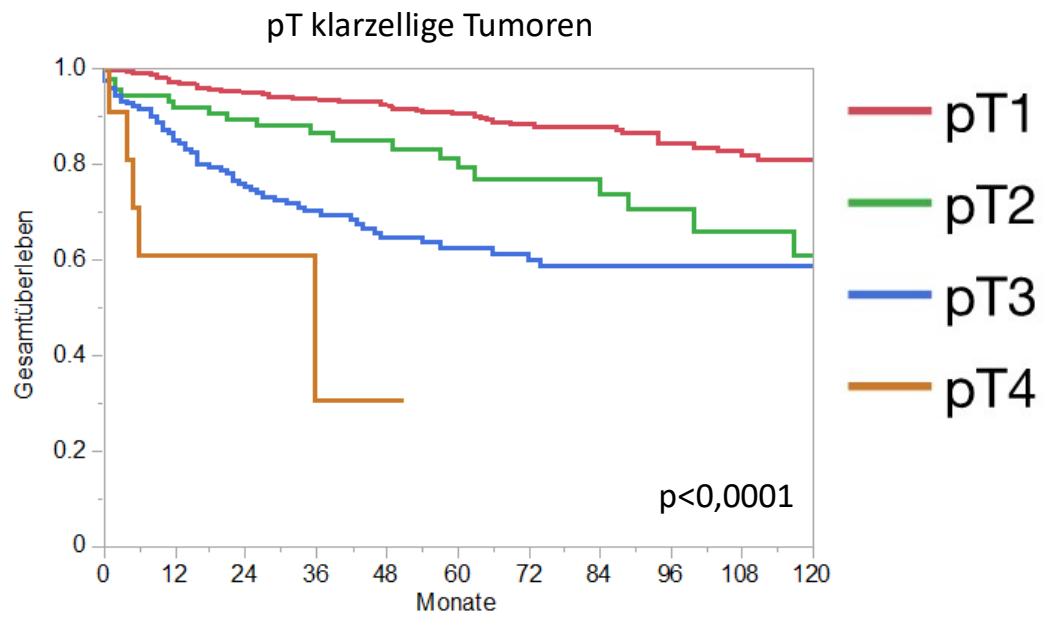


Abbildung 16: pT von klarzelligen Tumoren mit dem Endpunkt "Gesamtüberleben".

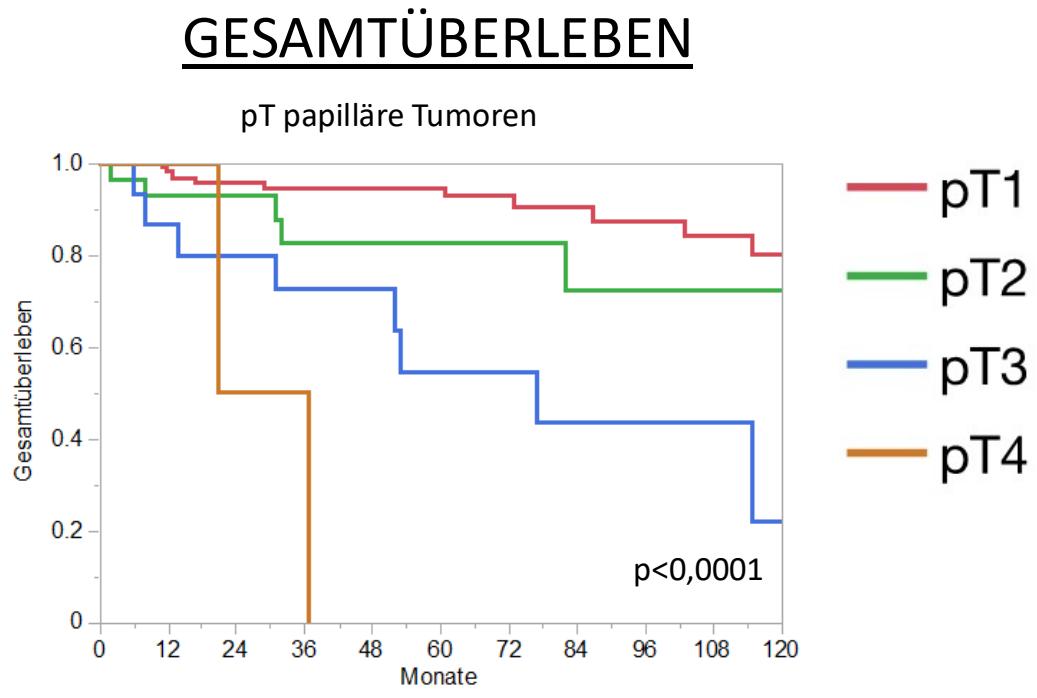


Abbildung 17: pT von papillären Tumoren mit dem Endpunkt "Gesamtüberleben".

REZIDIV-FREIES ÜBERLEBEN

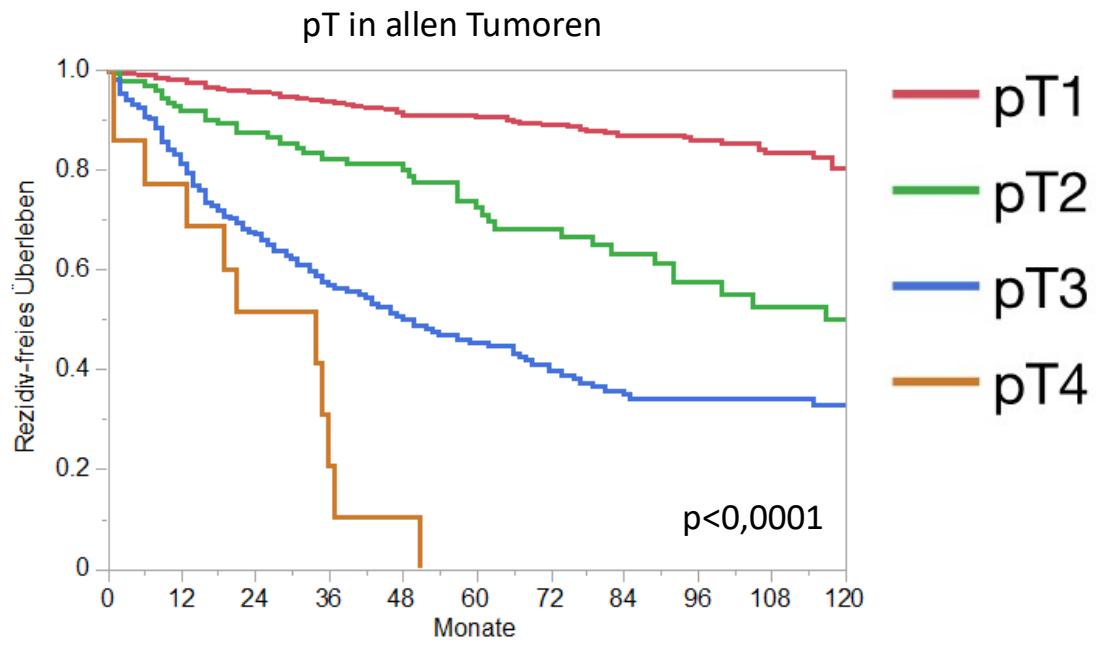


Abbildung 18: pT von allen Tumoren mit dem Endpunkt "rezidivfreies Überleben".

REZIDIV-FREIES ÜBERLEBEN

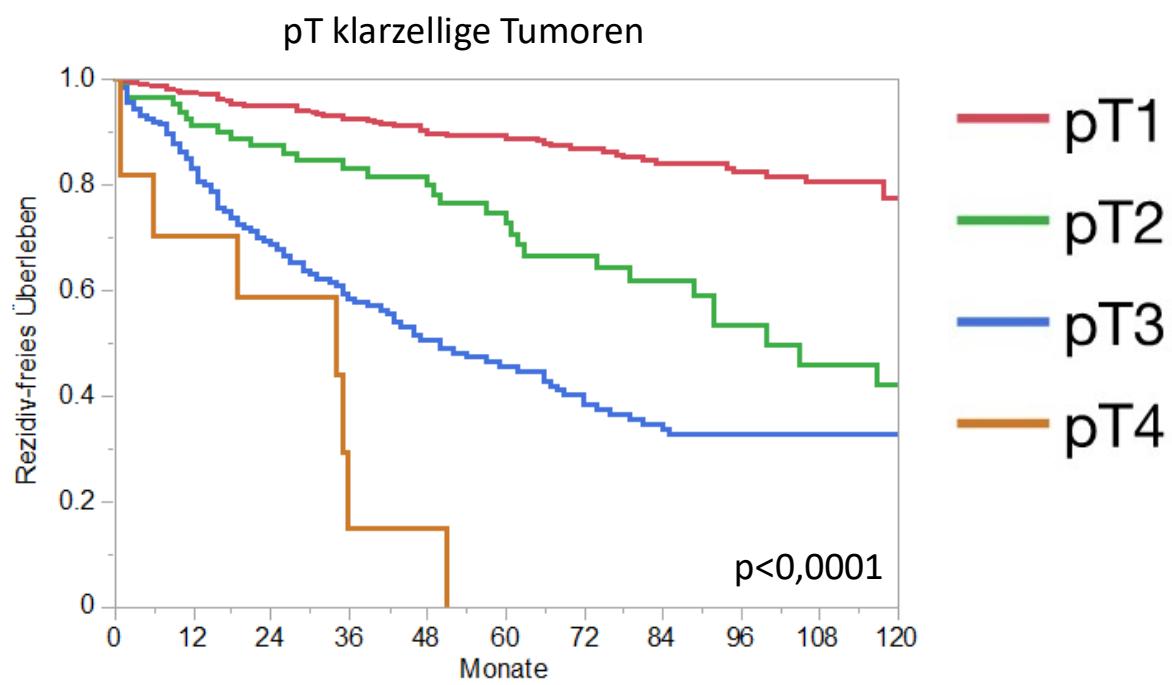


Abbildung 19: pT von klarzelligen Tumoren mit dem Endpunkt "rezidivfreies Überleben".

REZIDIV-FREIES ÜBERLEBEN

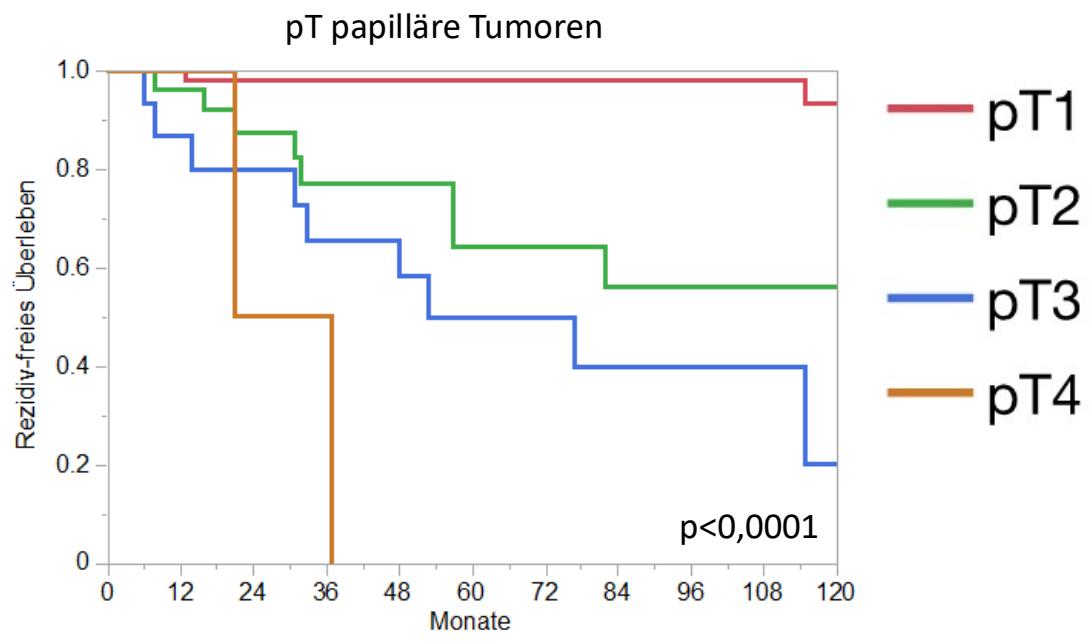


Abbildung 20: pT von papillären Tumoren mit dem Endpunkt "rezidivfreies Überleben".

GESAMTÜBERLEBEN

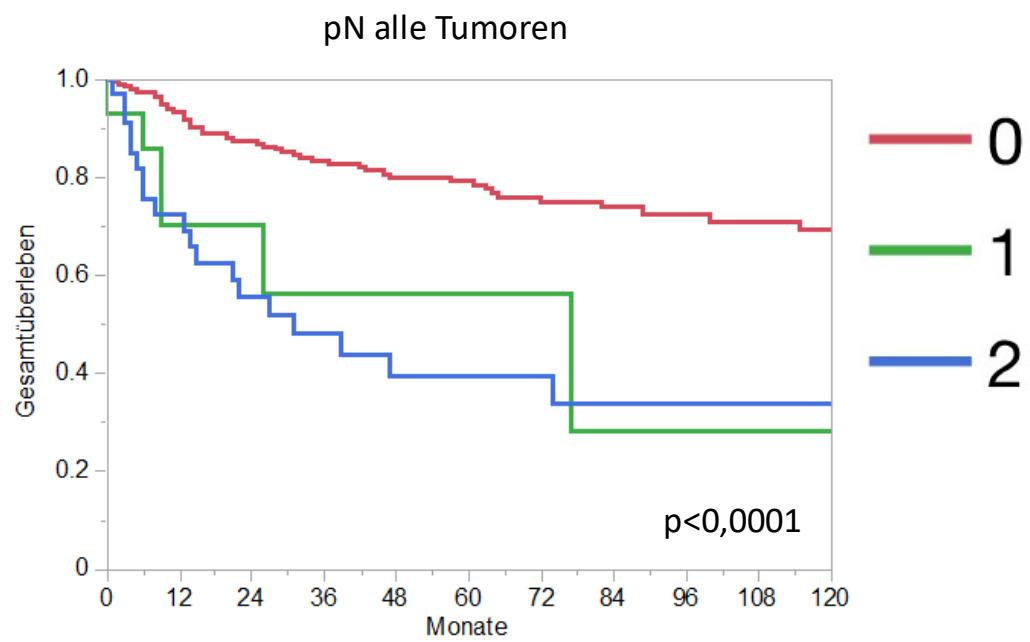


Abbildung 21: : pN von allen Tumoren mit dem Endpunkt "Gesamtüberleben".

GESAMTÜBERLEBEN

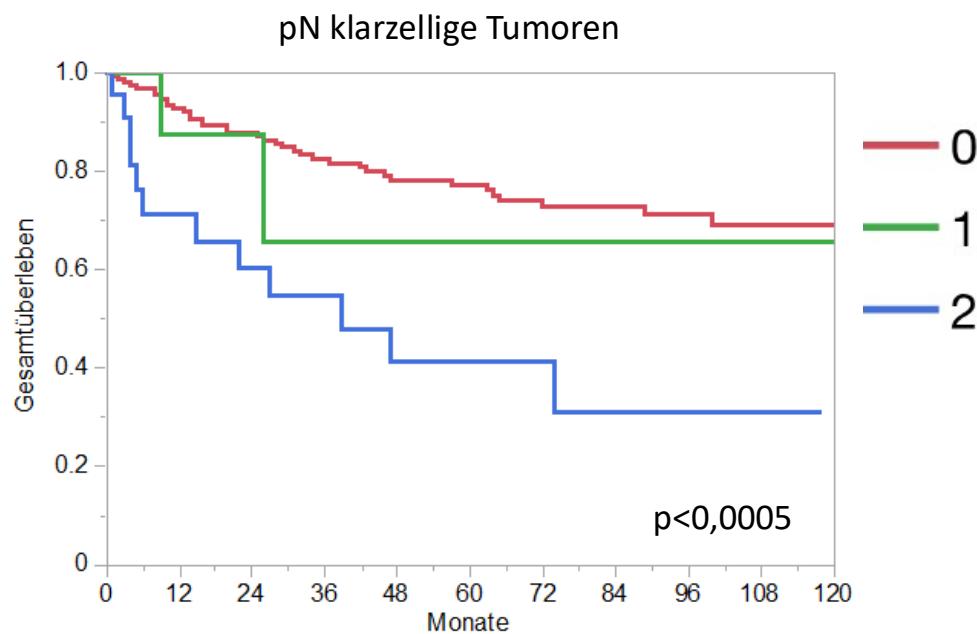


Abbildung 22: pN von klarzelligen Tumoren mit dem Endpunkt "Gesamtüberleben".

GESAMTÜBERLEBEN

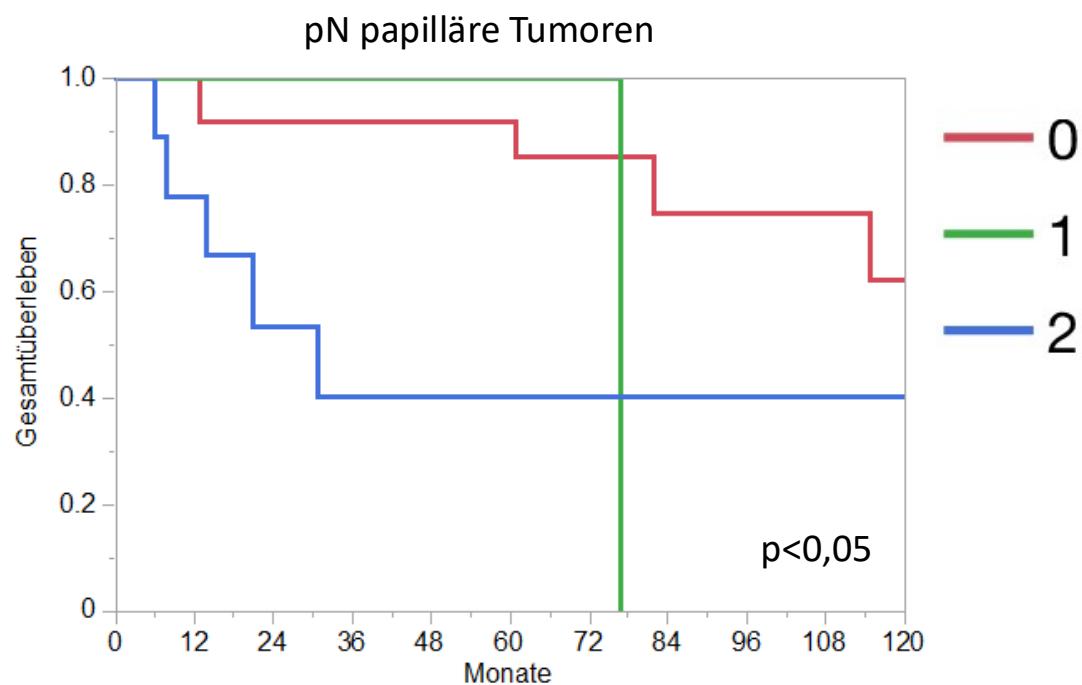


Abbildung 23: pN von papillären Tumoren mit dem Endpunkt "Gesamtüberleben".

REZIDIV-FREIES ÜBERLEBEN

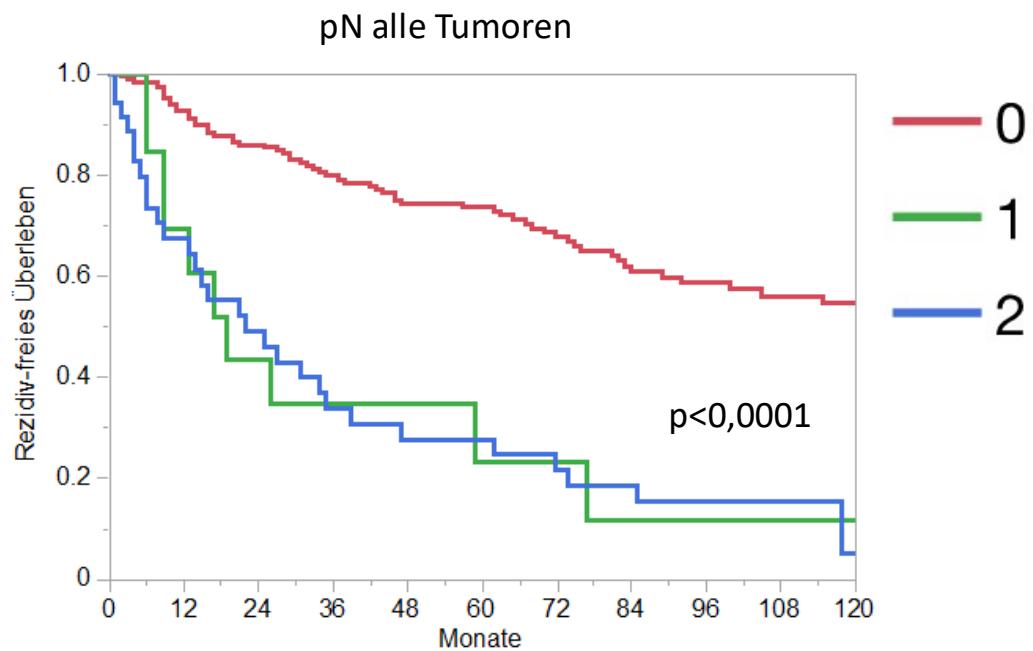


Abbildung 24: pN von allen Tumoren mit dem Endpunkt "rezidivfreies Überleben n".

REZIDIV-FREIES ÜBERLEBEN

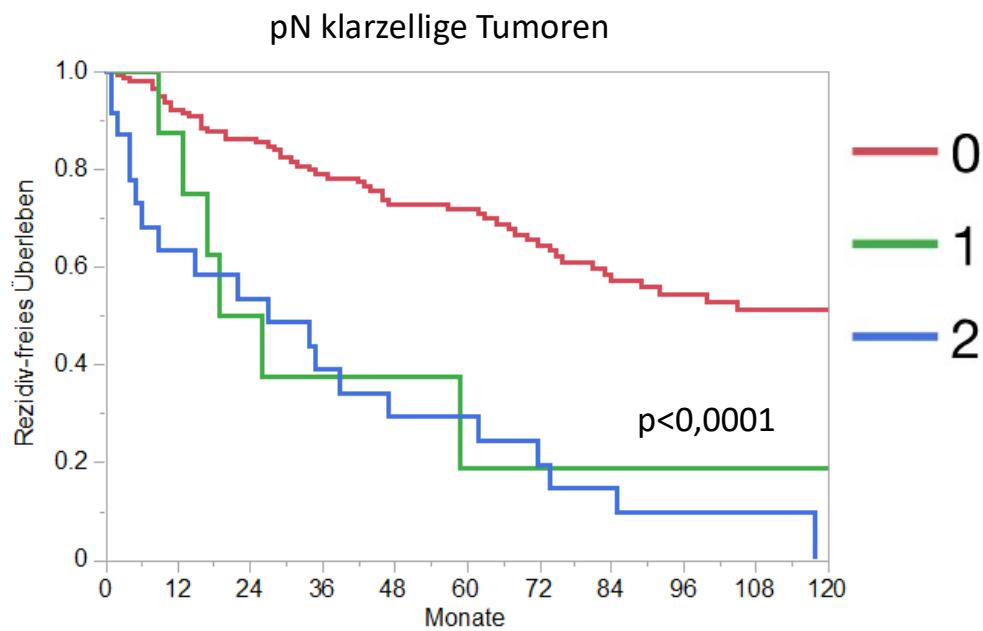


Abbildung 25: pN von papillären Tumoren mit dem Endpunkt "rezidivfreies Überleben".

REZIDIV-FREIES ÜBERLEBEN

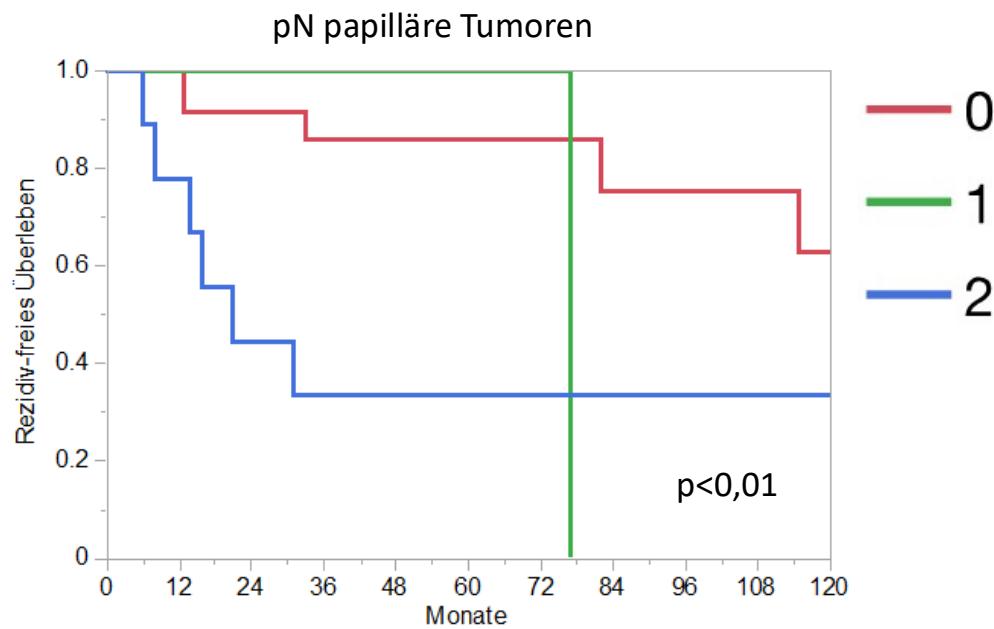


Abbildung 26: pN von klarzelligen Tumoren mit dem Endpunkt "rezidivfreies Überleben".

3.2 Auswertbarkeit

Nicht alle auf dem TMA platzierten Gewebeproben waren auswertbar. Die typischen Gründe für nicht Auswertbarkeit beinhalten das Fehlen von eindeutigen Tumorzellen auf einem Gewebespot oder aber das vollständige Fehlen von Gewebe an einer Koordinatenposition. Vollständig fehlende Gewebespots kommen bei praktisch jedem TMA-Experiment vor. Einerseits können einzelne Gewebefragmente im Rahmen der Untersuchung abschwimmen. Darüber hinaus sind nicht alle für die Herstellung eines TMAs verwendeten Tumorgewebsblöcke gleich dick, sodass die in einem TMA eingebrachten Gewebezylinder eine unterschiedliche Länge aufweisen. Die führt dazu, dass insbesondere auf den tieferen Schnitten durch einen TMA immer mehr Stanzen „aufgebraucht“ sind. Beim Herstellungsprozess der TMAs kann es auch vorkommen, dass ein Zylinder etwas zu tief in ein vorgefertigtes Loch eingebracht wird. In diesem Fall wird dieses Gewebefragment auf den ersten Schnitten durch einen TMA-Block nicht dargestellt werden können. Der Anteil der auswertbaren Proben war für DAKO-Klon 13H4 716 von 1318 (54,32%), für Klon 8F4 (1:1350) 716 von 1318 (54,32%) und für Klon 8F4 (1:12150) 702 von 1318 (53,26%).

3.3 AMACR Expression und histologischer Typ

Die Färbeergebnisse der 3 AMACR Inkubationen zeigten häufig ähnliche Befunde. In der Regel erschien die AMACR Färbung am stärksten für Klon 8F4 bei einer Verdünnung von 1:1350, ähnlich stark für den DAKO-Antikörper und deutlich weniger intensiv für Klon 8F4 bei einer Verdünnung von 1:12150.

Repräsentative Beispiele für mit allen 3 Färbeprotokollen gefärbten Tumoren sind für papilläre Tumoren in Abbildung 27-29, für klarzellige Karzinome in Abbildung 30-32, für chromophobe Karzinome in Abbildung 33-35 und für Onkozytome in Abbildung 36-38 dargestellt.



Abbildung 27: Papilläres NCC. Anfärbung mit Klon 8F4 in einer Verdünnung von 1:1350.

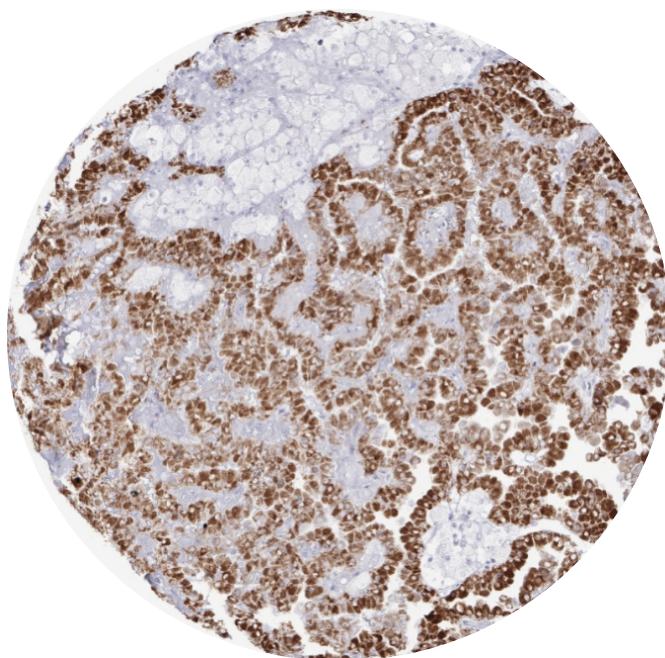


Abbildung 28: Papilläres NCC. Anfärbung mit Klon 8F4 in einer Verdünnung von 1:12150.

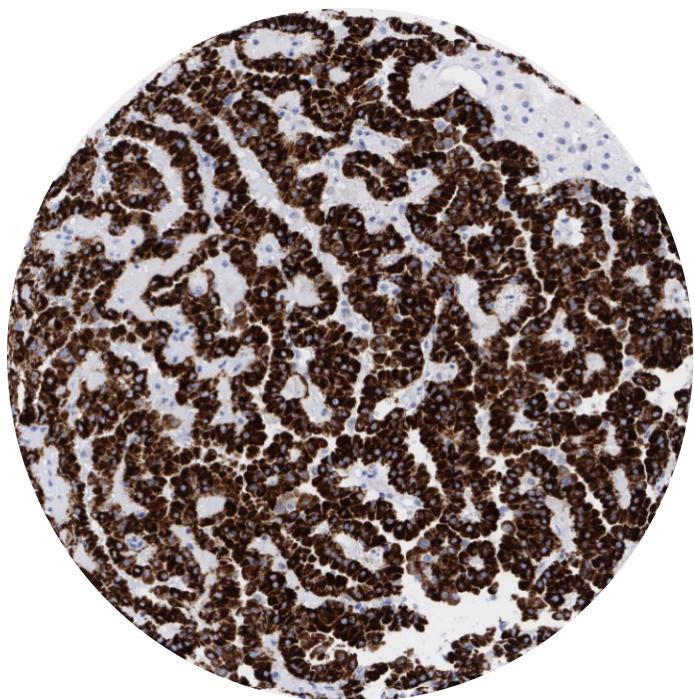


Abbildung 29: Papilläres NCC. Anfärbung mit dem DAKO-Klon 13H4.

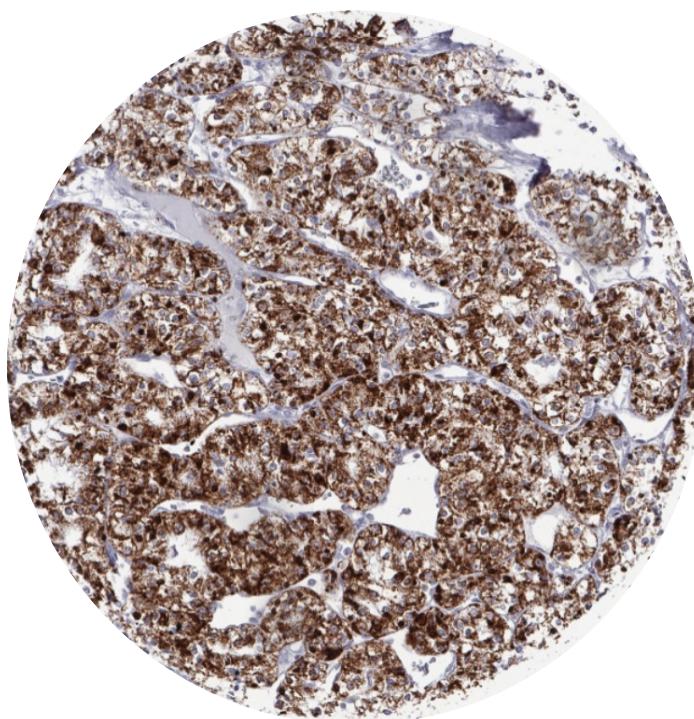


Abbildung 30: Klarzelliges NCC. Anfärbung mit Klon 8F4 in einer Verdünnung von 1:1350.

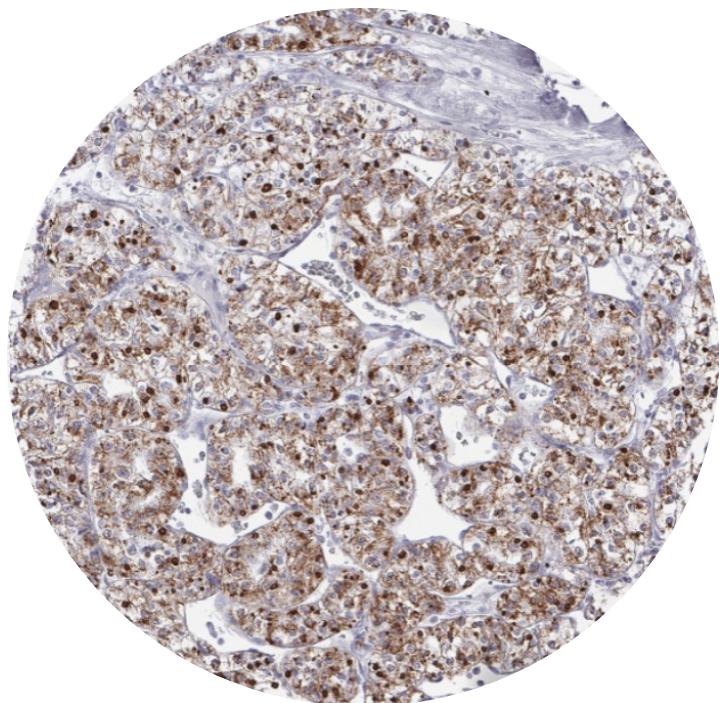


Abbildung 31: Klarzelliges NCC. Anfärbung mit Klon 8F4 in einer Verdünnung von 1:12150.

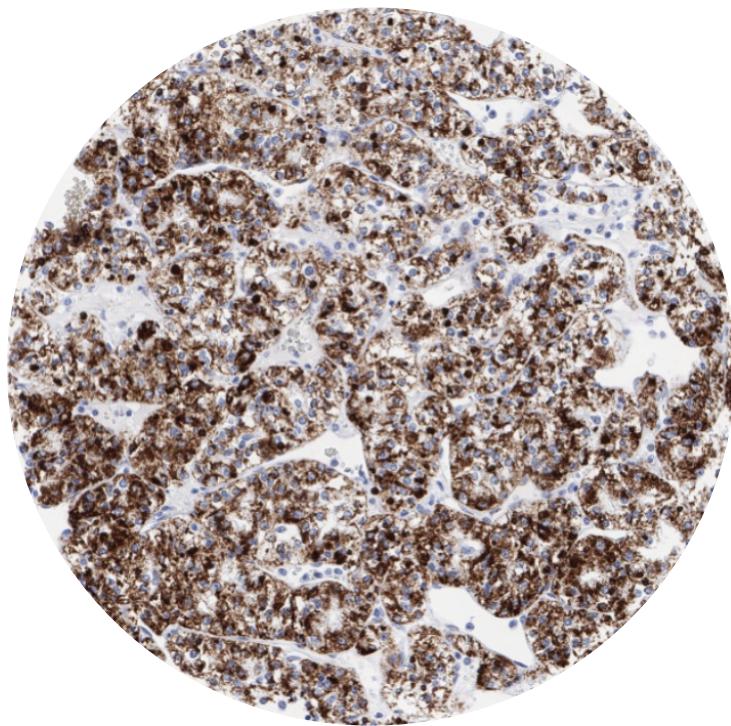


Abbildung 32: Klarzelliges NCC. Anfärbung mit dem DAKO-Klon 13H4.

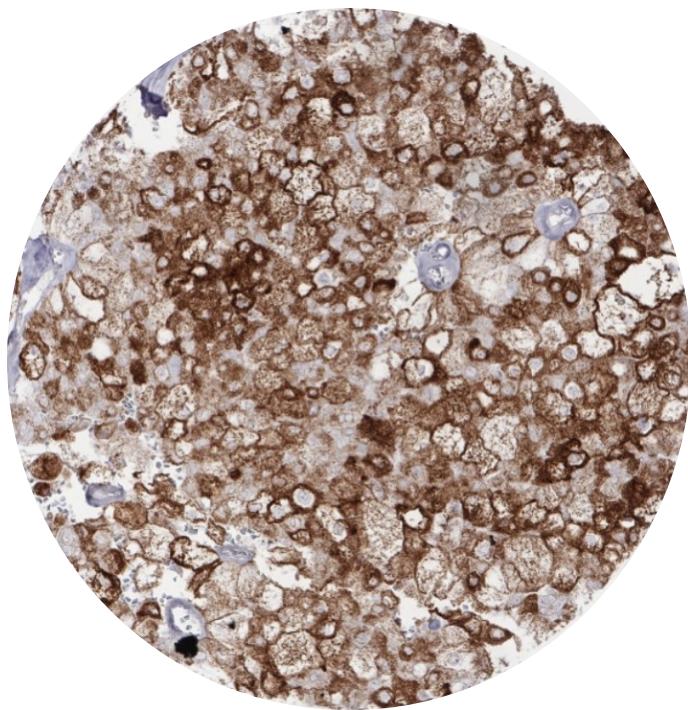


Abbildung 33: Chromophobes NCC. Anfärbung mit Klon 8F4 in einer Verdünnung von 1:1350.

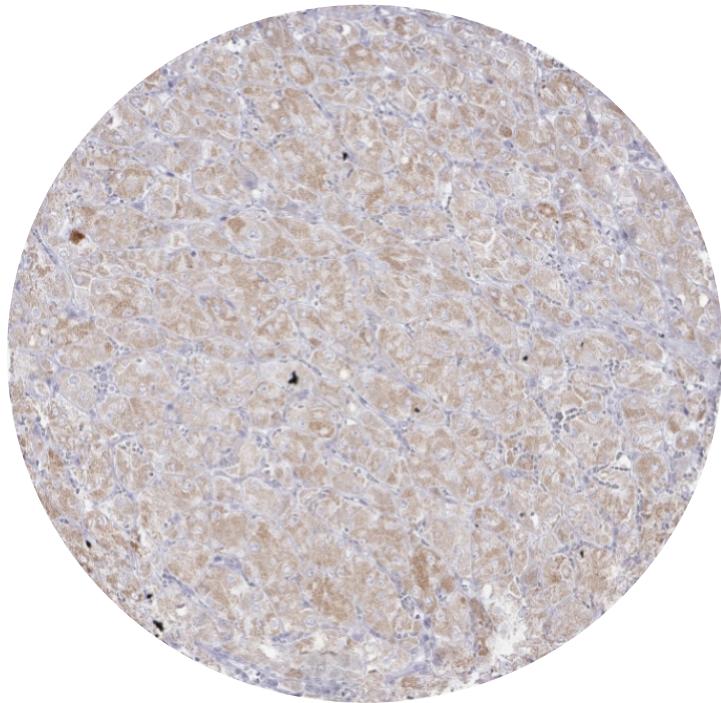


Abbildung 34: Chromophobes NCC. Anfärbung mit Klon 8F4 in einer Verdünnung von 1:12150.

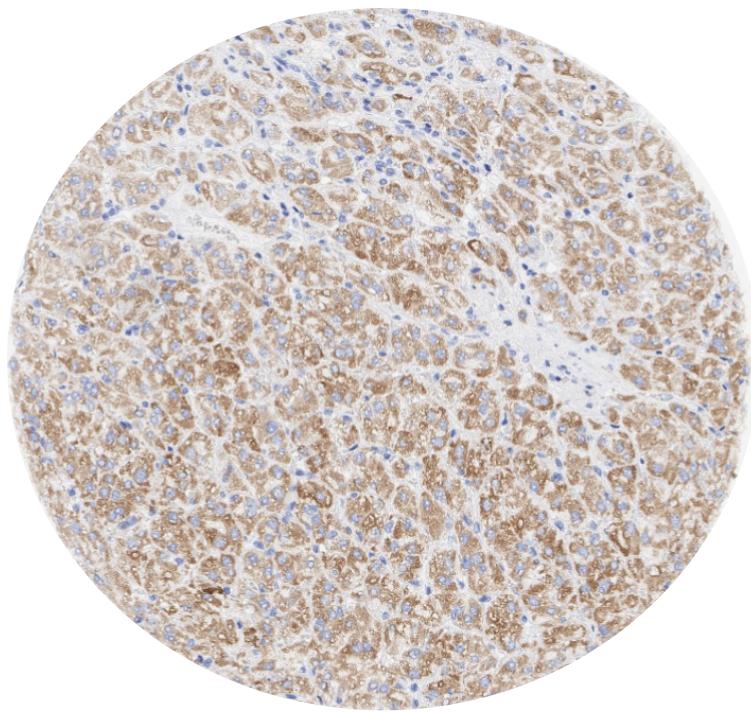


Abbildung 35: Chromophobes NCC. Anfärbung mit dem DAKO-Klon 13H4.

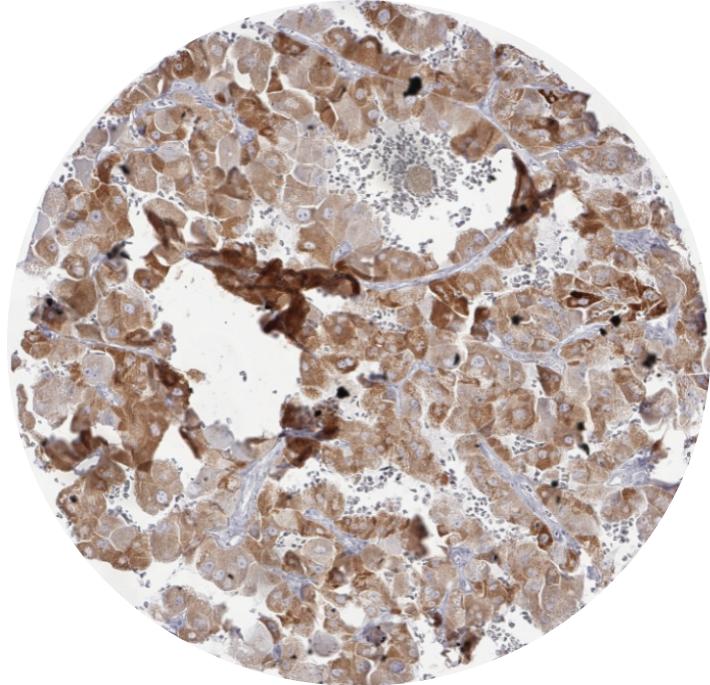


Abbildung 36: Onkozytom: Anfärbung mit dem Klon 8F4 in einer Verdünnung von 1:1350.

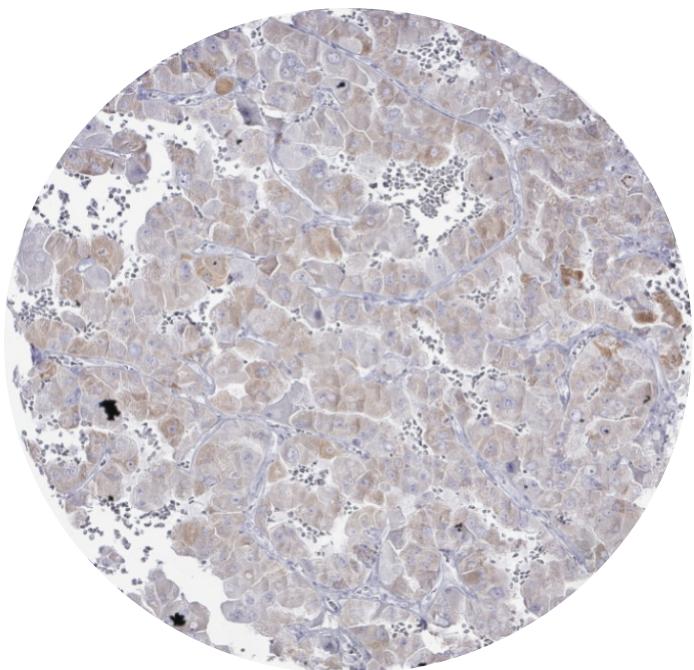


Abbildung 37: Onkozytom: Anfärbung mit dem Klon 8F4 in einer Verdünnung von 1:12150.

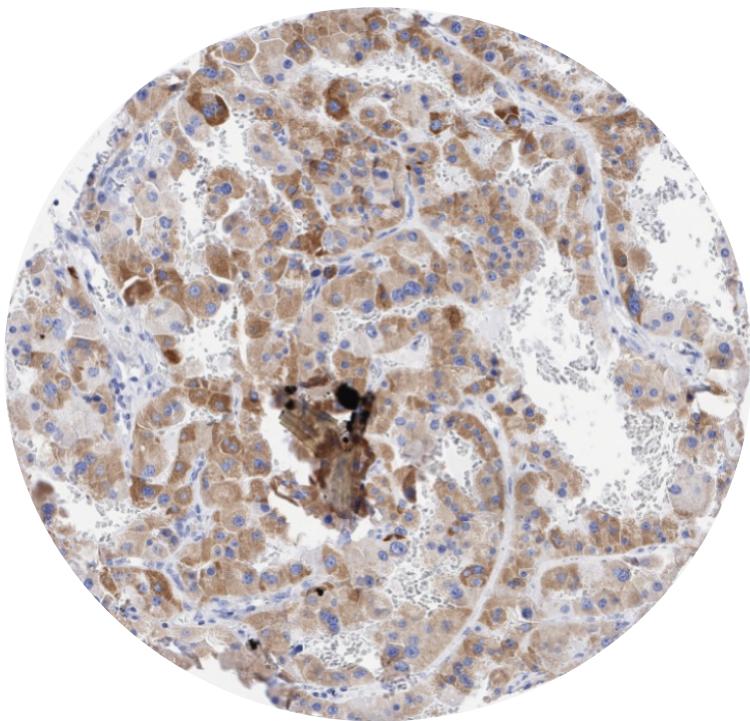


Abbildung 38: Onkozytom: Anfärbung mit dem DAKO-Klon 13H4.

Die Ergebnisse der histologischen Befunde sind bezogen auf den histologischen Tumortyp in den Tabellen 7 (Klon 8F4, 1:1350), Tabelle 8 (Klon 8F4, 1:12150) und Tabelle 9 (DAKO-Klon, 13H4) dargestellt.

Tabelle 7: IHC-Ergebnisse von AMACR-Klon 8F4, 1:1350.

Histologischer Typ	n	AMACR-Klon 8F4, 1:1350			
		negativ	schwach	mäßig	kräftig
Klarzelliges Karzinom	461	26.9	18.4	26.0	28.6
Papilläres Karzinom	109	0.9	0.0	0.0	99.1
Onkozytom	61	36.1	18.0	23.0	23.0
Chromophobes Karzinom	49	42.9	22.4	14.3	20.4
Klarzell- (tubulo) papilläres Karzinom	10	20.0	10.0	20.0	50.0
Xp11.2 transloziertes Karzinom	6	0.0	16.7	0.0	83.3
Sammelrohrkarzinom	2	0.0	50.0	0.0	50.0
Metanephrogenes Karzinom	1	100.0	0.0	0.0	0.0
Zystisches Nephrom / epithelialer Stroma Mischtumor	0	-	-	-	-
Medulläres Karzinom	1	0.0	0.0	0.0	100.0
Reninom	0	-	-	-	-
n.o.s. (nicht spezifiziert)	9	11.1	11.1	0.0	77.8

Tabelle 8: IHC-Ergebnisse von AMACR-Klon 8F4, 1:12150.

Histologischer Typ	n	AMACR-Klon 8F4, 1:12150			
		negativ	schwach	mäßig	kräftig
Klarzelliges Karzinom	445	49.2	17.5	18.7	14.6
Papilläres Karzinom	110	1.8	1.8	7.3	89.1
Onkozytom	58	70.7	20.7	6.9	1.7
Chromophobes Karzinom	47	59.6	19.1	12.8	8.5
Klarzell- (tubulo) papilläres Karzinom	10	20.0	40.0	20.0	20.0
Xp11.2 transloziertes Karzinom	6	16.7	0.0	16.7	66.7
Sammelrohrkarzinom	2	100.0	0.0	0.0	0.0
Metanephrogenes Karzinom	0	-	-	-	-
Zystisches Nephrom / epithelialer Stroma Mischtumor	1	100.0	0.0	0.0	0.0
Medulläres Karzinom	1	0.0	0.0	100.0	0.0
Reninom	1	100.0	0.0	0.0	0.0
n.o.s. (nicht spezifiziert)	11	27.3	27.3	9.1	36.4

Tabelle 9: IHC-Ergebnisse von AMACR-DAKO-Klon 13H4.

Histologischer Typ	n	AMACR Dako			
		negativ	schwach	mäßig	kräftig
Klarzelliges Karzinom	481	37.4	17.5	37.0	8.1
Papilläres Karzinom	30	3.3	0.0	43.3	53.3
Onkozytom	69	55.1	13.0	24.6	7.2
Chromophobes Karzinom	57	54.4	24.6	19.3	1.8
Klarzell- (tubulo) papilläres Karzinom	12	16.7	8.3	41.7	33.3
Xp11.2 transloziertes Karzinom	1	100.0	0.0	0.0	0.0
Sammelrohrkarzinom	2	50.0	0.0	50.0	0.0
Metanephrogenes Karzinom	3	100.0	0.0	0.0	0.0
Zystisches Nephrom / epithelialer Stroma Mischtumor	0	-	-	-	-
Medulläres Karzinom	0	-	-	-	-
Reninom	0	-	-	-	-
n.o.s. (nicht spezifiziert)	13	30.8	23.1	30.8	15.4

Für alle Färbungen fanden sich deutliche Unterschiede zwischen papillären und klarzelligen Karzinome. Die Unterschiede sind allerdings bei Verwendung von Klon 8F4 1:1350 am geringsten. Die hohe Antikörperkonzentration führte offensichtlich dazu, dass auch nicht-papilläre Karzinome in einem großen Teil der Fälle eine starke oder moderate immunhistochemische Färbung zeigten. Für Klon 8F4 (1:1350) fand sich eine starke Färbung in 99,1% der papillären Karzinome, während eine mäßig starke oder starke Färbung auch bei 54,6% der klarzelligen Nierenkarzinome diagnostiziert wurde. Die Verdünnung von Klon 8F4 auf 1:12150 zeigte nur in der Kategorie „starke Positivität“ bei papillären Karzinomen einen Rückgang um 10% (von 99,1% auf 89,1%). Die Zahl der mäßig stark positiven oder stark positiven Fälle reduzierte sich hier deutlicher. Auch beim DAKO-Antikörper waren die Unterschiede zwischen klarzelligen und papillären Karzinomen deutlicher als bei Klon 8F4 bei einer Verdünnung von 1:1350. 96,6% der papillären Karzinome sowie immerhin auch 45,1% der klarzelligen Karzinome wurden als stark positiv oder mäßig stark positiv gewertet. Für Klon 8F4 (1:1350) fand sich für chromophobe Karzinome eine Positivitätsrate von 57,1%. Davon waren 14,3% mäßig stark positiv, während 20,1% stark positiv waren. Bei einer Verdünnung auf 1:12150 ergab sich für den Klon 8F4 bei den chromophoben Karzinomen einen Anteil von 40,4%. Davon waren 21,3% entweder mäßig stark positiv oder stark positiv. Beim DAKO-Klon 13F4 hingegen waren 45,6% der chromophoben Karzinome positiv. Der Anteil der mäßig stark positiven bzw. stark positiven daran betrug 21,3%. Für Onkozytome ergaben sich Positivitätsraten von 44,9% für den DAKO-Klon 13F4, 63,9% für den Klon 8F4 bei einer Verdünnung von 1:1350 und 20,3% bei einer Verdünnung von 1:11250. Die in den Tabellen ebenfalls

aufgeführten seltenen Tumortypen sind von ihrer Anzahl her zu gering, um zuverlässige Aussagen über eine mögliche diagnostische Bedeutung von AMACR bei diesen Tumortypen zu treffen. Die beim für Klon 8F4 auffallend hohe Häufigkeit einer starken AMACR Expression in XP 11.2 translozierten Karzinomen ist bei einer Fallzahl von 6 wenig aussagekräftig. Für den DAKO-AMACR-Antikörper waren von der gleichen Tumorkategorie nur 1 Fall auswertbar, sodass aufgrund der absoluten Zahlmögliche Unterschied zwischen den beiden Antikörpern hier nicht ernsthaft postuliert werden kann.

3.4 AMACR Expression und Tumorphänotyp

Die Beziehung zwischen der AMACR Expression und dem Differenzierungsgrad (ISUP, Fuhrmann, Thoenes), pT, pN, pM sowie dem UICC-Stadium wurde angesichts der erheblichen Unterschiede in der AMACR Expression zwischen dem wichtigsten histologischen Subtypen für klarzellige Karzinome und papilläre Karzinome separat berechnet. Die Beziehungen zwischen der AMACR-Immunfärbung und dem Tumorphänotyp ist für klarzellige Karzinome in den Tabellen 10,11 und 12 dargestellt.

Tabelle 10: AMACR (8F4, 1:1350) und klarzelliges Nierenzellkarzinom.

AMACR-Klon 8F4 1:1350, klarzelliges RCC						
	n	negative	weak	moderate	strong	p
ISUP	1	139	20.9	21.6	35.3	22.3
	2	151	29.1	14.6	25.2	31.1
	3	141	26.2	19.9	19.9	34.0
	4	22	54.5	22.7	9.1	13.6
Fuhrmann	1	18	16.7	16.7	38.9	27.8
	2	267	25.8	18.7	28.8	26.6
	3	146	25.3	17.1	23.3	34.2
	4	30	50.0	23.3	6.7	20.0
Thoenes	1	154	18.8	21.4	34.4	25.3
	2	266	29.3	16.5	22.6	31.6
	3	41	41.5	19.5	17.1	22.0
UICC	1	198	24.2	13.6	31.8	30.3
	2	24	8.3	12.5	45.8	33.3
	3	55	14.5	29.1	9.1	47.3
	4	46	41.3	19.6	17.4	21.7
pT	1	264	25.8	16.7	29.5	28.0
	2	54	25.9	14.8	37.0	22.2
	3-4	140	29.3	22.9	15.0	32.9
pN	0	71	31.0	16.9	22.5	29.6
	≥1	10	30.0	30.0	10.0	30.0
pM	0	57	24.6	15.8	26.3	33.3
	≥1	49	38.8	22.4	16.3	22.4

Tabelle 11: AMACR (8F4, 1:12150) und klarzelliges Nierenzellkarzinom.

AMACR-Klon 8F4; 1:12150, klarzelliges RCC						
	n	negative	weak	moderate	strong	p
ISUP	1	136	53.7	16.9	22.1	7.4
	2	149	49.7	17.4	18.8	14.1
	3	136	42.6	18.4	16.2	22.8
	4	18	66.7	11.1	5.6	16.7
Fuhrmann	1	17	47.1	17.6	29.4	5.9
	2	260	52.3	16.9	19.6	11.2
	3	143	39.9	20.3	18.2	21.7
	4	25	72.0	8.0	4.0	16.0
Thoenes	1	148	50.7	18.2	22.3	8.8
	2	261	47.1	17.2	16.9	18.8
	3	36	58.3	16.7	16.7	8.3
UICC	1	190	43.2	18.9	23.7	14.2
	2	25	40.0	20.0	28.0	12.0
	3	53	41.5	17.0	18.9	22.6
	4	44	56.8	20.5	9.1	13.6
pT	1	253	46.6	17.8	21.7	13.8
	2	53	54.7	17.0	18.9	9.4
	3-4	136	50.7	17.6	13.2	18.4
pN	0	69	50.7	21.7	13.0	14.5
	≥1	8	50.0	25.0	12.5	12.5
pM	0	56	39.3	26.8	19.6	14.3
	≥1	45	57.8	20.0	8.9	13.3

Tabelle 12: AMACR (DAKO) und klarzelliges Nierenzellkarzinom.

AMACR DAKO-Klon, klarzelliges RCC							
	n	negative	weak	moderate	strong	p	
ISUP	1	161	28.6	18.6	49.1	3.7	0.0007
	2	155	40.6	14.8	35.5	9.0	
	3	133	39.1	18.8	30.1	12.0	
	4	24	58.3	25.0	12.5	4.2	
Fuhrmann	1	19	31.6	5.3	57.9	5.3	0.0199
	2	293	34.5	18.1	40.6	6.8	
	3	139	40.3	16.5	30.9	12.2	
	4	30	56.7	23.3	16.7	3.3	
Thoenes	1	173	28.3	17.9	49.1	4.6	0.0003
	2	263	41.4	16.0	31.9	10.6	
	3	45	48.9	24.4	20.0	6.7	
UICC	1	207	31.9	16.9	42.5	8.7	0.1884
	2	25	36.0	20.0	36.0	8.0	
	3	58	31.0	20.7	32.8	15.5	
	4	49	51.0	20.4	22.4	6.1	
pT	1	277	31.8	17.7	43.3	7.2	0.0214
	2	54	42.6	18.5	33.3	5.6	
	3-4	146	45.2	17.1	26.7	11.0	
pN	0	72	38.9	20.8	31.9	8.3	0.8227
	≥1	11	36.4	18.2	27.3	18.2	
pM	0	63	33.3	15.9	39.7	11.1	0.0992
	≥1	50	52.0	20.0	22.0	6.0	

Die Befunde waren bei allen Färbungen im Wesentlichen ähnlich. Es bestand eine Tendenz zu einer zunehmend starken Färbung mit zunehmendem Malignitätsgrad, wobei bei den seltenen Grad 4 Tumoren die Häufigkeit der stark positiven im Vergleich zu Grad 3 Tumoren etwas abnahm. Die stärkste statistische Signifikanz fand sich dabei für Klon 8F4 (1:1350) und den DAKO-Klon 13F4. Bei den papillären Karzinomen (Tabellen 13,14 und 15) war die Zahl der untersuchten Tumoren zu gering, um statistische Unterschiede zwischen den häufig stark positiven Tumoren und den seltenerweise schwach AMACR positiven Tumoren zu identifizieren.

Tabelle 13: AMACR (8F4, 1:1350) und papilläres Nierenzellkarzinom.

AMACR-Klon 8F4; 1:1350, papilläres RCC							
		n	negative	weak	moderate	strong	p
ISUP	1	20	0.0	0.0	0.0	100.0	0.7239
	2	56	1.8	0.0	0.0	98.2	
	3	31	0.0	0.0	0.0	100.0	
	4	1	0.0	0.0	0.0	100.0	
Fuhrmann	1	1	0.0	0.0	0.0	100.0	0.8524
	2	73	1.4	0.0	0.0	98.6	
	3	32	0.0	0.0	0.0	100.0	
	4	2	0.0	0.0	0.0	100.0	
Thoenes	1	28	0.0	0.0	0.0	100.0	0.7116
	2	77	1.3	0.0	0.0	98.7	
	3	3	0.0	0.0	0.0	100.0	
UICC	1	55	0.0	0.0	0.0	100.0	0.185
	2	8	0.0	0.0	0.0	100.0	
	3	3	0.0	0.0	0.0	100.0	
	4	7	14.3	0.0	0.0	85.7	
pT	1	74	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0805
	2	23	0.0	0.0	0.0	100.0	
	3-4	9	11.1	0.0	0.0	88.9	
pN	0	8	0.0	0.0	0.0	100.0	0.1525
	≥1	5	20.0	0.0	0.0	80.0	
pM	0	14	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0725
	≥1	4	25.0	0.0	0.0	75.0	

Tabelle 14: AMACR (8F4, 1:12150) und papilläres Nierenzellkarzinom.

AMACR-Klon 8F4; 1:12150, papilläres RCC							
		n	negative	weak	moderate	strong	p
ISUP	1	19	0.0	0.0	10.5	89.5	0.3567
	2	59	3.4	0.0	3.4	93.2	
	3	30	0.0	6.7	10.0	83.3	
	4	1	0.0	0.0	0.0	100.0	
Fuhrmann	1	1	0.0	0.0	0.0	100.0	0.2967
	2	74	2.7	0.0	4.1	93.2	
	3	32	0.0	6.3	9.4	84.4	
	4	2	0.0	0.0	50.0	50.0	
Thoenes	1	27	0.0	0.0	7.4	92.6	0.5752
	2	79	2.5	2.5	5.1	89.9	
	3	3	0.0	0.0	33.3	66.7	
UICC	1	56	0.0	0.0	5.4	94.6	0.2626
	2	8	0.0	0.0	12.5	87.5	
	3	3	0.0	0.0	33.3	66.7	
	4	7	14.3	0.0	14.3	71.4	
pT	1	75	0.0	0.0	5.3	94.7	0.0622
	2	23	4.3	4.3	8.7	82.6	
	3-4	9	11.1	11.1	11.1	66.7	
pN	0	8	0.0	0.0	0.0	100.0	0.109
	≥1	5	20.0	0.0	20.0	60.0	
pM	0	14	0.0	0.0	0.0	100.0	0.03
	≥1	4	25.0	0.0	25.0	50.0	

Tabelle 15: AMACR (DAKO) und papilläres Nierenzellkarzinom.

AMACR DAKO-Klon, papilläres RCC							
	n	negative	weak	moderate	strong	p	
ISUP	1	4	0.0	0.0	25.0	75.0	0.7152
	2	15	6.7	0.0	40.0	53.3	
	3	10	0.0	0.0	50.0	50.0	
	4	0	-	-	-	-	
Fuhrmann	1	0	-	-	-	-	0.6118
	2	19	5.3	0.0	36.8	57.9	
	3	9	0.0	0.0	55.6	44.4	
	4	1	0.0	0.0	0.0	100.0	
Thoenes	1	5	0.0	0.0	20.0	80.0	0.5228
	2	23	4.3	0.0	47.8	47.8	
	3	1	0.0	0.0	0.0	100.0	
UICC	1	13	0.0	0.0	38.5	61.5	0.2398
	2	3	0.0	0.0	66.7	33.3	
	3	1	0.0	0.0	0.0	100.0	
	4	2	50.0	0.0	0.0	50.0	
pT	1	16	0.0	0.0	31.3	68.8	0.1351
	2	10	0.0	0.0	60.0	40.0	
	3-4	3	33.3	0.0	33.3	33.3	
pN	0	3	0.0	0.0	33.3	66.7	0.2333
	≥1	2	50.0	0.0	0.0	50.0	
pM	0	4	0.0	0.0	50.0	50.0	0.1481
	≥1	2	50.0	0.0	0.0	50.0	

3.5 AMACR Immunhistochemie und Patientenprognose

Auch die Untersuchungen zur prognostischen Bedeutung der AMACR Färbung wurde nicht im Gesamtkollektiv aller Tumoren, sondern ausschließlich in den Subgruppen von klarzelligen und papillären Tumoren durchgeführt. Dabei ergab sich für die klarzelligen Karzinome (Abbildungen 39, 41 und 42) eine Tendenz zur günstigeren Prognose beim Nachweis einer mäßig starken oder starken AMACR Expression.

Prognose, Endpunkt Rezidiv, klarzelliges NCC

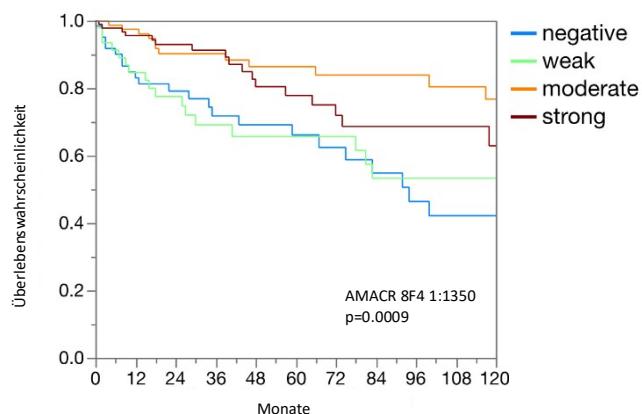


Abbildung 39: AMACR und rezidivfreies Überleben beim Antikörper 8F4 bei einer Verdünnung von 1:1350. p= 0,0009.

Prognose, Endpunkt Rezidiv, klarzelliges NCC

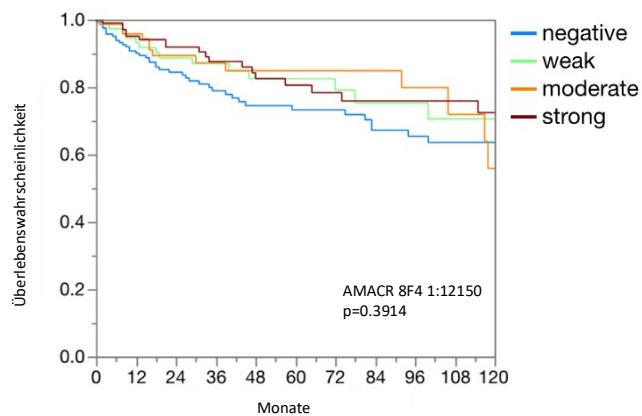


Abbildung 40: AMACR und rezidivfreies Überleben beim Antikörper 8F4 bei einer Verdünnung von 1:12150. p= 0,3914.

Prognose, Endpunkt Rezidiv, klarzelliges NCC

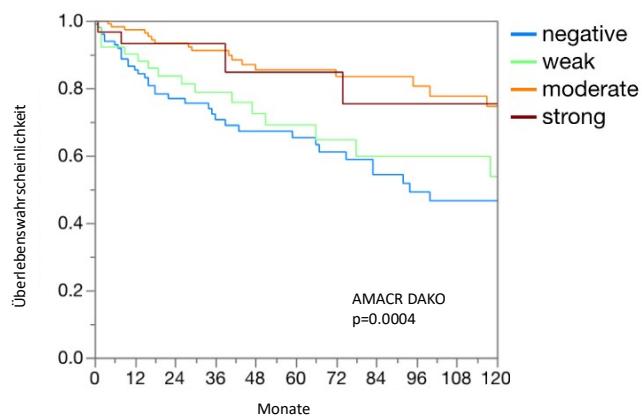


Abbildung 41: AMACR und rezidivfreies Überleben beim DAKO-Antikörper. p= 0,0004.

Diese Tendenz war insbesondere sichtbar bezüglich des Endpunktes Tumorrezipidiv und im Fall von Klon 8F4 auch bezüglich des Gesamtüberlebens (Abbildung 42, $p=0,0149$) bei einer Verdünnung von 1:1350.

Prognose, Endpunkt Gesamtüberleben, klarzelliges NCC

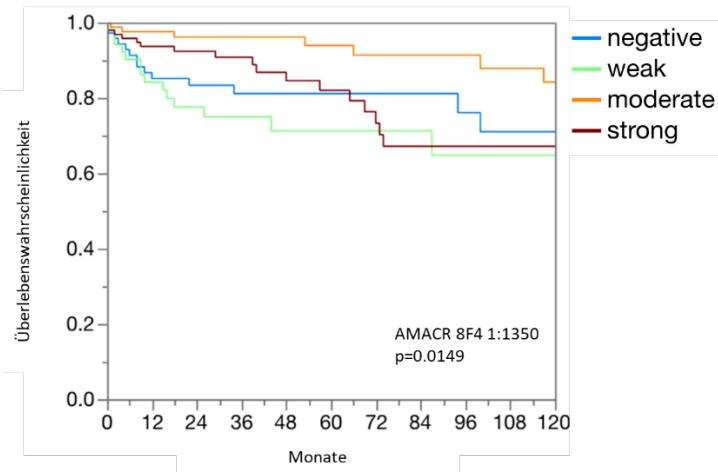


Abbildung 42: AMACR und der Endpunkt „Gesamtüberleben“ beim Antikörper 8F4 bei einer Verdünnung von 1:1350. $p=0,0149$.

Prognose, Endpunkt Gesamtüberleben, klarzelliges NCC

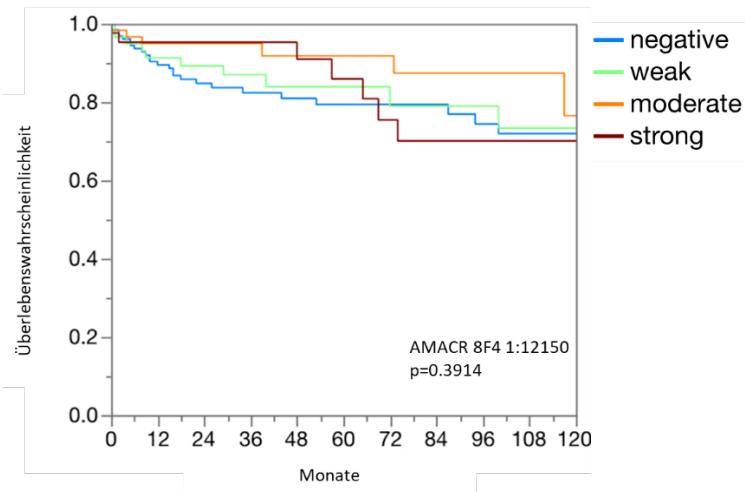


Abbildung 43: AMACR und der Endpunkt „Gesamtüberleben“ beim Antikörper 8F4 bei einer Verdünnung von 1:12150. $p=0,03914$.

Prognose, Endpunkt Gesamtüberleben, klarzelliges NCC

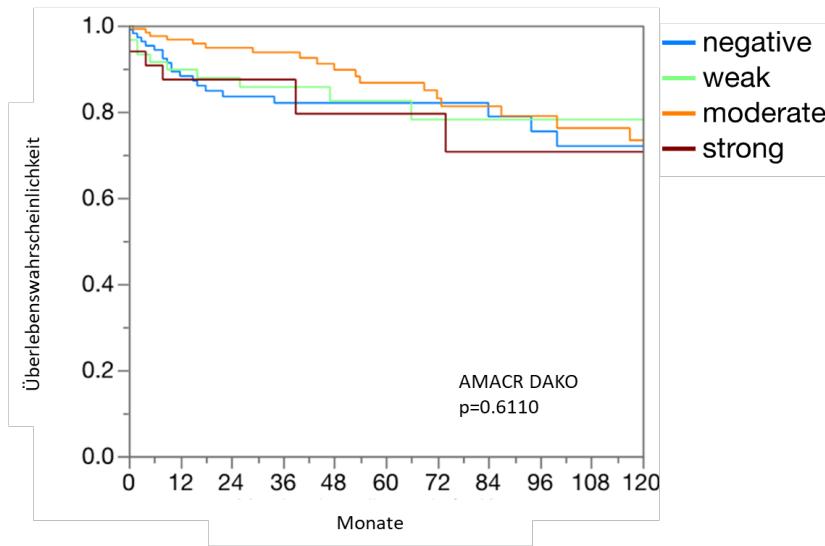


Abbildung 44: AMACR und der Endpunkt „Gesamtüberleben“ beim DAKO-Antikörper. $p=0,6110$.

Bei Verwendung des Endpunktes „tumorspezifisches Überleben“ (Abbildungen 45-47) war keine der untersuchten AMACR Färbungen mit der Prognose assoziiert.

Prognose, Endpunkt Tumor spezifisches Überleben, klarzelliges NCC

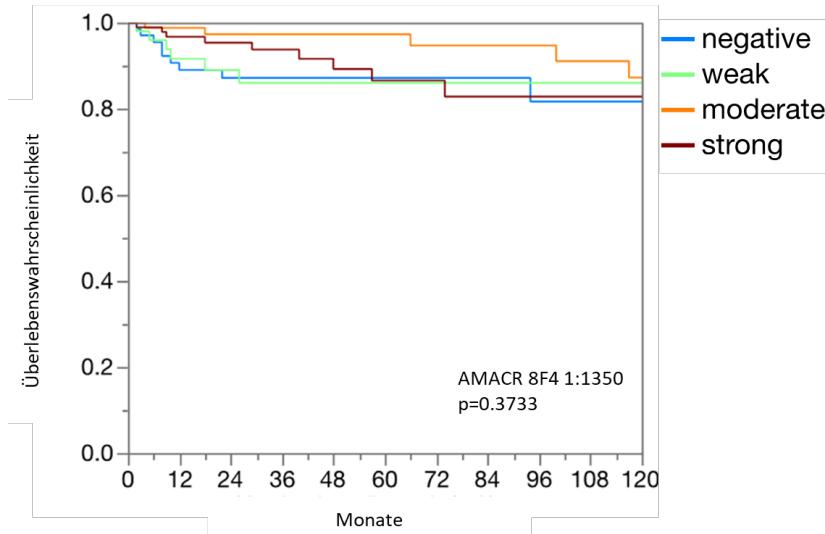


Abbildung 45: AMACR und der Endpunkt „Tumor spezifisches Überleben“ beim Antikörper 8F4 bei einer Verdünnung von 1:1350. $p=0,3733$.

Prognose, Endpunkt Tumor spezifisches Überleben,
klarzelliges NCC

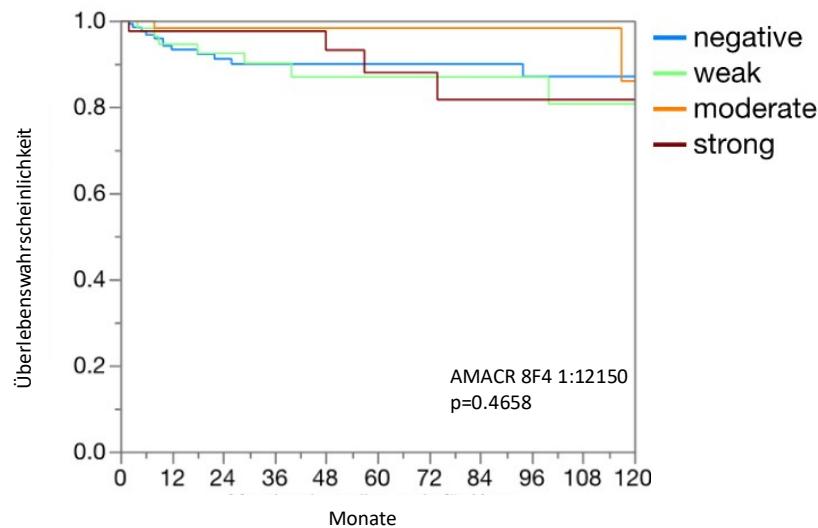


Abbildung 46: AMACR und der Endpunkt „Tumor spezifisches Überleben“ beim Antikörper 8F4 bei einer Verdünnung von 1:12150. p= 0,4658.

Prognose, Endpunkt Tumor spezifisches Überleben,
klarzelliges NCC

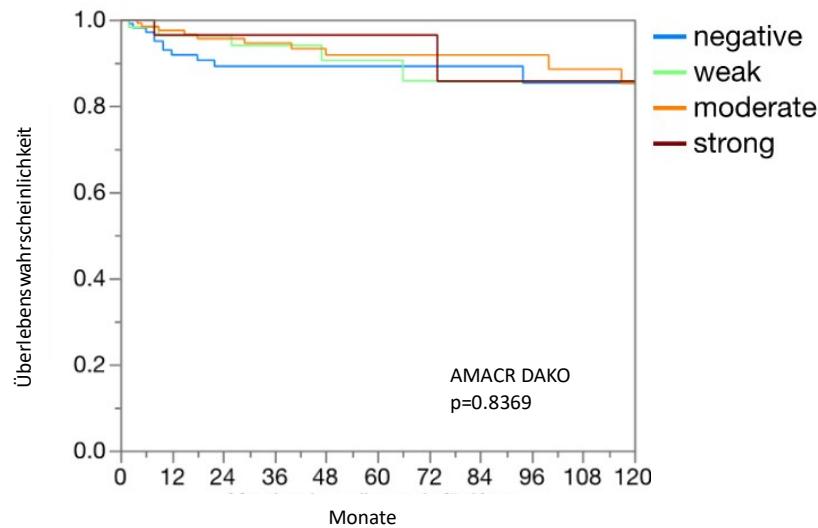


Abbildung 47: AMACR und der Endpunkt „Tumor spezifisches Überleben“ beim DAKO-Antikörper. p= 0,8369.

Für papilläre Karzinome war die Zahl der gering gradig AMACR exprimierenden Tumoren wiederum zu gering, um eine Prognose-Abschätzung der AMACR Expression innerhalb dieser Tumorkategorie durchzuführen. Dementsprechend sind die Daten in der Doktorarbeit nicht dargestellt.

3.6 Korrelation der Färbeergebnisse (Klon 8F4 vs Klon 13H4)

Die Beziehung zwischen den Ergebnissen der 3 durchgeführten immunhistochemischen AMACR Untersuchungen sind in den Abbildungen 48-50 dargestellt. Dabei zeigte sich eine enge Korrelation zwischen den Färbeergebnissen ($p<0.0001$).

AMACR 8F4, 1:1350 vs 1:12150, alle Tumoren

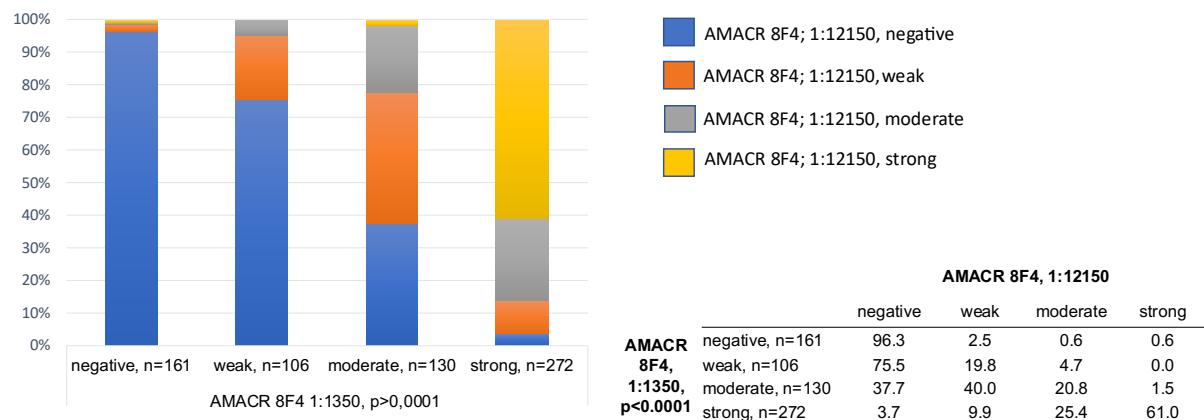


Abbildung 48: AMACR 8F4, 1:1350 vs 1:12150, alle Tumoren. $p<0.0001$.

AMACR 8F4, 1:12150 vs DAKO, alle Tumoren

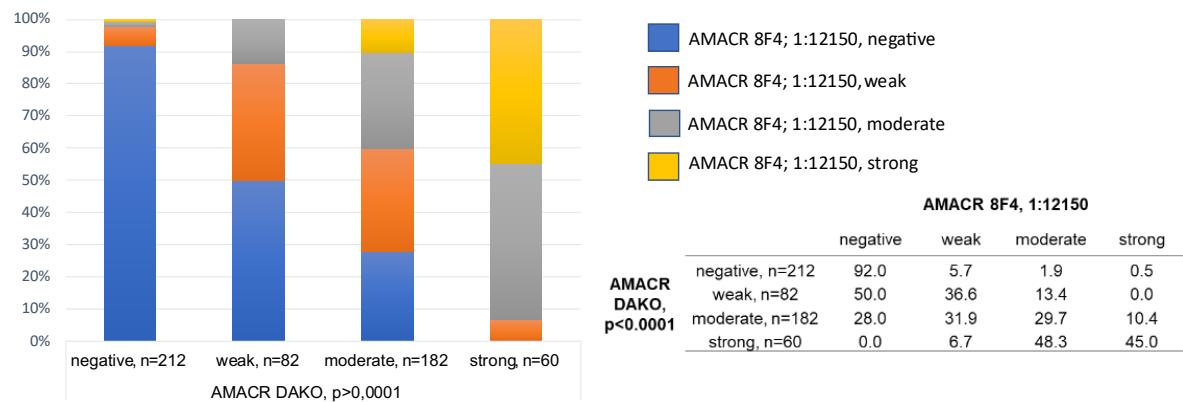


Abbildung 49: AMACR 8F4, 1:12150 vs DAKO, alle Tumoren.

AMACR 8F4, 1:1350 vs DAKO, alle Tumoren

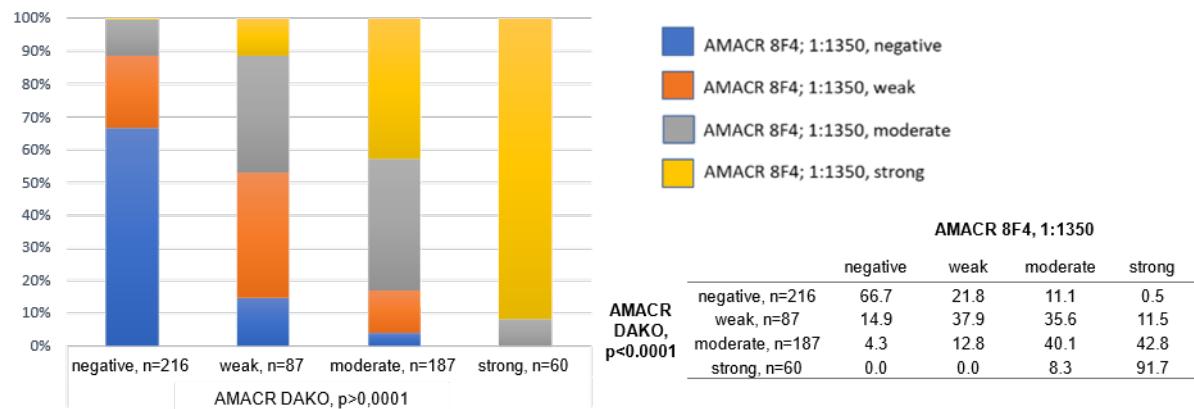


Abbildung 50: AMACR 8F4, 1:1350 vs DAKO, alle Tumoren.

4. Diskussion

Die Ergebnisse dieser Untersuchung bestätigen die aus der Literatur bekannte häufigere und höhere Expression von AMACR in papillären als in klarzelligen Nierenzellkarzinomen. Dieser Befund passt zu den bekannten erheblichen biologischen Unterschieden zwischen diesen beiden Tumortypen. Das klarzellige Nierenzellkarzinom ist auf der molekularen Ebene charakterisiert durch häufige Alterationen des Von-Hippel-Lindau Gens, wobei das VHL-Gen in 50-91% aller Fälle deletiert ist (The Cancer Genome Atlas Research Network 2013; Hakimi et al. 2014; Sato et al. 2013). 3p-Deletionen sind bei papillären Karzinomen seltener (Kovacs et al. 1991). Diese sind auf der zytogenetischer Ebene durch eine hohe Häufigkeit von den Trisomien 7, 12, 16 und 17 gekennzeichnet (Kovacs et al. 1991). Andere molekulare Parameter, bei denen Unterschiede zwischen papillären und klarzelligen Karzinomen gefunden wurden, beinhalteten Alterationen der Gene MET, BAP1 und PBMR1 (Manley und Hakimi 2016; Ho et al. 2015; Albiges et al. 2014; Chen et al. 2016). Da allerdings auch nach Anwendung verschiedener Antikörper und verschiedener Antikörperkonzentrationen einschließlich einer 10-fachen Verdünnung von Klon 8F4 immer noch eine relevante Fraktion von klarzelligen Karzinomen eine kräftige AMACR Färbung aufwies, dürfte die AMACR Immunhistochemie auch unter stark optimierten Bedingungen keine sichere Entscheidungsgrundlage für die Differenzierung von klarzelligen und papillären Karzinomen liefern.

Nur eine einzige Studie hatte bisher die prognostische Bedeutung der AMACR Expression beim Nierenzellkarzinom bzw. untersucht. Diese Untersuchung stammt ebenfalls aus dem Institut für Pathologie des UKE und wurde 2013 von Eichelberg et al publiziert (Eichelberg et al. 2013). Das in dieser Studie verwendete Tumorkollektiv war ein nicht überlappendes Kollektiv, welches aus dem Institut für Pathologie des Universitätsspitals Basel (Schweiz) stammte (Eichelberg et al. 2013). Interessanterweise hatte sich in dieser Studie ein leichter, aber insignifikanter Prognosevorteil einer AMACR-Positivität beim klarzelligen Nierenzellkarzinom gezeigt (Eichelberg et al. 2013). Dies passt zur auch in dieser Studie beobachtete Tendenz zur günstigeren Prognose von AMACR stark positivem klarzelligen Nierenzellkarzinomen im Vergleich zu negativen oder nur schwach AMACR positiven klarzelligen Nierenkarzinome. Insgesamt deuten diese Daten darauf hin, dass der Nachweis einer AMACR Expressio in diesen Tumorgruppen tatsächlich für eine etwas günstigere

Tumorprognose spricht, obwohl die beobachteten (geringen) Unterschiede kaum klinische Relevanz besitzen dürften (Eichelberg et al. 2013). Die in unserer Studie erzielten AMACR Ergebnisse sind in Abbildung 51 zusammen mit den Daten von früheren Studien dargestellt.

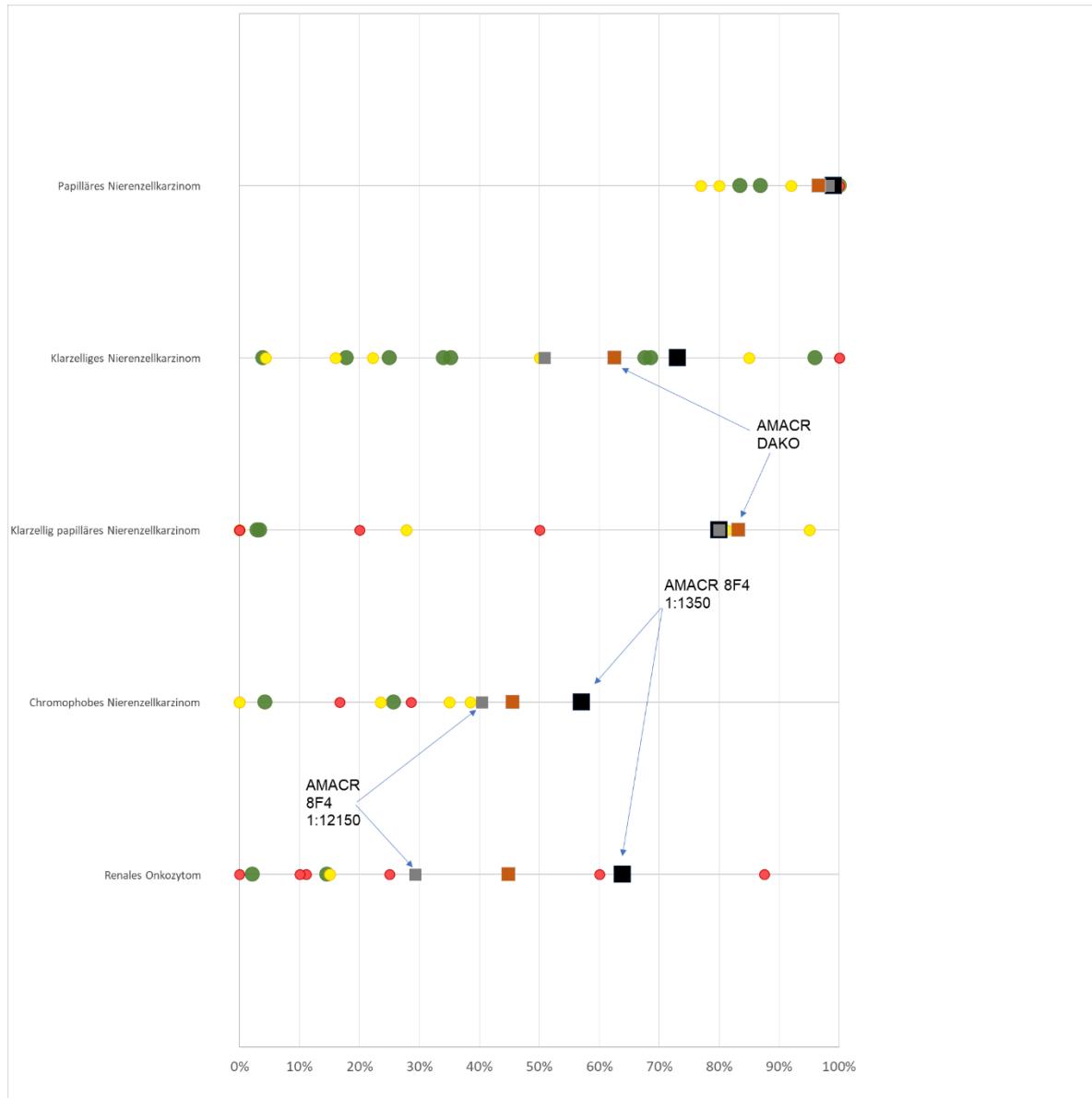


Abbildung 51: AMACR in RCC (eigene Daten vs Literaturdaten). Die Farbe der Punkte beschreibt die Fallzahl der Studien. Rote Punkte: $n>10$; Gelbe Punkte: $26>n>11$; Grüne Punkte: $n>25$, X: durchschnittliche Positivitätsrate. Schwarze Kästchen: Klon 8F4 (1:1350), graue Kästchen: AMACR-Klon 8F4 (1:12150), dunkelorange Kästchen: DAKO-Klon 13F4.

Dabei sind die eigenen Daten für die 3 verwendeten Antikörperkonzentrationen und Färbebedingungen dargestellt. Die Daten zeigen, dass die eigenen Positivitätsrate unter allen Bedingungen etwas höher war als in den meisten früheren Studien. Dies könnte auch damit zusammenhängen, dass in unserer Darstellung sehr schwach positive Tumoren als positiv gewertet wurden. Bei mehreren früheren Studien war der

Cut-off-Wert für die Klassifizierung von Tumoren als „AMACR positiv“ höher (Tretiakova et al. 2004; Griffin und Lin 2021; Alshenawy 2015).

Die im Rahmen dieser Doktorarbeit durchgeführte Studie ist die größte bisher durchgeführte Untersuchung zur klinischen Relevanz der immunhistochemischen AMACR Färbung beim Nierenzellkarzinom. Die große Studie wurde durch die Anwendung der TMA-Methode ermöglicht. Die TMA-Methode erlaubt die gleichzeitige Untersuchung von mehr als 600 Tumoren auf einen einzigen Gewebeschnitt, sodass die Studie unter Verwendung 3 verschiedenen Färbeprotokollen an insgesamt 9 Schnitten durchgeführt werden konnte. Die TMA-Methode bringt für ihre Anwender große ökonomische Vorteile, da die für eine derartige Studie nötige Manpower und Reagenzienmenge ungewöhnlich gering sind. Ein anderer, wesentlicher Vorteil der TMA-Technik ist die unerreichte Standardisierung der immunhistochemische Färbung (Simon et al. 2004). Für jedes der 3 verwendeten Färbeprotokolle wurden alle Schnitte gleichzeitig unter absolut identischen Bedingungen verarbeitet. Die Inkubationen erfolgten dabei nicht mit einem Färbeautomaten, sondern manuell. Da alle 3 Schnitte jeweils gleichzeitig für absolut identische Zeit in absolut identischen Lösungen bei absolut identischer Temperatur inkubiert worden waren, ist die Standardisierung der FärbePROCEDUR nicht übertreffbar. Hervorzuheben ist, dass auch die Schnittlagerungszeit für alle Tumorproben im vorliegenden Fall absolut identisch war. Die TMA-Schnitte wurden an einem Tag innerhalb von wenigen Minuten hergestellt, unter absolut identischen Bedingungen gelagert und dann gleichzeitig inkubiert. Die Schnittlagerungszeit, die Zeit von der Herstellung eines Schnittes, bis zur Immunfärbung beeinflusst die Immunhistochemische Färbequalität erheblich. Bereits nach 2 Wochen Schnittlagerungszeit wird für viele Antikörper eine deutliche Reduzierung der Färbeintensität beobachtet (Mirlacher et al. 2004).

Die klassische Anwendung der TMA-Methode ist die Evaluation der Beziehung zwischen molekularen Befunden und klinisch pathologischen Parametern wie klinischer Verlauf, Tumorstadium oder Ansprechen auf Therapie in großen Patientenkollektiven.

Die Limitierung der Untersuchung auf ein 0,6 mm im Durchmesser messendes Gewebestück pro Patienten wurde vielfach als möglicher Nachteil der TMA-Technik diskutiert. Es wäre intuitiv anzunehmen, dass die Kleinheit, der pro Patienten untersuchten Gewebeprobe wichtige molekulare Charakteristika eines Tumors ungenügend

repräsentiert. Allerdings haben viele Studien bewiesen, dass prinzipiell jeder etablierten molekularen Prognoseparameter auch an TMAs reproduziert werden konnte, zumindest wenn die TMAs eine ausreichend große Zahl von gut dokumentierten Tumoren beinhaltete (Nocito et al. 2001). Beispielsweise konnte bei Studien zu Mammakarzinomen die Prognoserelevanz der Expression von Östrogenrezeptoren, Progesteronrezeptoren (Ruiz et al. 2006) oder einer HER2 Amplifikation (Al-Kuraya et al. 2004) genauso dokumentiert werden wie die prognostische Bedeutung des Ki-67-labeling-Index (Ruiz et al. 2006). Beim Harnblasenkarzinom konnte die prognostische Bedeutung der p53 Immunfärbung (Wang et al. 2021) oder des Differenzierungsgrades (Nocito et al. 2001) gezeigt werden. Beim Prostatakarzinom haben insbesondere Studien aus dem UKE die in der Literatur gut dokumentierte prognostische Bedeutung der p53 Immunfärbung (Schlomm et al. 2008) oder der PTEN-Deletion (Krohn et al. 2012) validiert. Gerade beim Prostatakarzinom haben Forscher aus dem Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf anhand von TMAs in den letzten Jahren viele teils neue molekulare Prognosefaktoren beschrieben (Krohn et al. 2012; Schlomm et al. 2008; Schlomm et al. 2007; Köllermann et al. 2008; Fleischmann et al. 2008; Zellweger et al. 2009; Fleischmann et al. 2009; Erbersdobler et al. 2009; Erbersdobler et al. 2010).

Während die Limitierung der Untersuchung auf ein sehr kleines Gewebefragment pro Patient für die exakte Einordnung eines Tumors eines einzelnen Patienten problematisch sein dürfte, ist die Kleinheit des untersuchten Gewebes vor allem dann ein Vorteil, wenn verschiedene Reagenzien oder Färbeprotokolle miteinander verglichen werden sollen. Die Limitierung auf ein kleines Gewebefragment sichert nämlich die Einschränkung des Vergleichs auf eine Gewebefraktion mit absolut identischen Bedingungen für alle untersuchten Reagenzien oder Protokolle. Da alle Färbungen am konsekutiven Gewebeschnitten durchgeführt wurden, ist der räumliche Abstand zwischen den untersuchten Gewebefragmenten ca. 2,5 Mikrometer, was der normalen Dicke eines TMA-Schnittes entspricht. Auf diese Distanz ist weder eine relevante biologische Heterogenität noch ein relevanter Unterschied in der Fixationsqualität zu erwarten.

Der für diese Untersuchung verwendete neue AMACR Antikörper Klon 8F4 wurde vor kurzem an einem Kollektiv von ca. 3000 Normalgeweben und Tumoren erstmals im größeren Ausmaß charakterisiert (Schneider 2020). Die Untersuchung von Rafael

Schneider hatte gezeigt, das AMACR bei 73 von 83 verschiedenen Tumortypen zu- mindest in Einzelfällen schwach exprimiert wurde und bei 56 von 83 untersuchten Tumortypen mindestens in Einzelfällen eine starke AMACR-Färbung vorlag (Schneider 2020). Dieser Befund unterstreicht die Tatsache, dass der Fettstoffwechsel, in welchem AMACR eine wichtige Rolle spielt bei vielen verschiedenen Tumoren in unterschiedlichen Ausmaß und durch unterschiedliche Mechanismen alteriert sein kann (Schneider 2020). Die ausgedehnte Untersuchung von Schneider et al. hatte allerdings auch eine Kreuzreaktivität des Antikörpers mit einem oder mehreren Proteinen ergeben welche eine starke Anfärbung in Spermien, der Aortenwand und im Stratum Granulosum der Epidermis führten (Schneider 2020). Passend zu diesem Befunden hatte die AMACR Färbung mit Klon 8F4 im Vergleich zu dem auch in unserer Studie verwendeten DAKO-Klon 13H4 eine deutlich höhere Positivitätsrate bei verschiedenen Typen von Plattenepithelkarzinomen ergeben, wobei die für Klon 8F4 beobachteten Färbungen bei Plattenepithelkarzinomen typischerweise Arealen zuzuordnen waren mit verstärkter Ausdifferenzierung (Schneider 2020). Des Weiteren hatte sich in der Untersuchung von Schneider für Klon 8F4 in einer kleinen Zahl der Tumoren eine markante Stromafärbung gezeigt, welche mit dem DAKO-Klon nicht nachweisbar war (Schneider 2020). Schneider hat in seiner Doktorarbeit postuliert, dass diese Stromafärbung möglicherweise in Analogie zur markanten Aortenwandfärbung eine Färbung Elastoider Strukturen im Stroma darstellen könnte (Schneider 2020). Elastische Fasern wurden bei einzelnen Tumortypen, wie beispielsweise dem Pankreas- karzinom im Tumorstroma beschrieben (Schneider 2020). Auch in der vorliegenden Studie war einzelnen Fällen mit Klon 8F4 eine Stromafärbung nachweisbar, welche mit dem DAKO-Klon 13H4 nicht zur Darstellung kam. Höchstwahrscheinlich handelt es sich hier um das gleiche Phänomen der Stromafärbung wie von Schneider beschrieben. Ob es sich hierbei um Bildung von elastischen Fasern bzw. Elastin im Tu- morstroma handelt müssen weitere Untersuchungen klären (Schneider 2020).

Tatsächlich ergibt sich für den AMACR Klon 8F4 eine interessante Konstellation. Der Antikörper ist mit Sicherheit nicht spezifisch für den Nachweis von AMACR. Dies spricht per se gegen die Qualität des am UKE hergestellten Antikörpers. Auf der anderen Seite scheint die Färbung elastischer Fasern, Spermien und des Stratum Gra- nulosum der Haut die Performance des Antikörpers in seinen diagnostischen Anwen- dungen nicht zu stören. Klon 8F4 hat sich bezüglich des Nachweises von Prosta- takzinomen dem DAKO-Klon als ebenbürtig erwiesen (Schneider 2020). Auch bei

der Differentialdiagnose von Nierenzellkarzinomen ist Klon 8F4 mit Sicherheit nicht weniger nützlich als der Klon 13H4 von DAKO. Möglicherweise sind die Kreuzreaktionen des AMACR Klon 8F4 sogar von diagnostischem Nutzen. Der Nachweis von Spermien kann beispielsweise die Diagnose einer Spermatozele unterstützen. Bei dieser Diagnose findet sich histologisch ein relativ unspezifisch aussehendes kubisches Epithel, welches dann einer Spermatozele zugeordnet werden kann, wenn - was meist nur an vereinzelten Stellen nachweisbar ist- intraepithelial Spermienköpfe zu sehen sind (Ejeckam et al. 1984; Castelino-Prabhu und Ali 2010; Bedir et al. 2013; Mavrov et al. 1990). Auch die positive Anfärbung von Plattenepithelkarzinomen einer bestimmten Ausreifungsstufe (Analog Stratum Granulosum) könnte im besten Fall ein Vorteil sein und bei der Bestimmung des Differenzierungsgrades von Plattenepithelkarzinomen helfen. Da die AMACR Färbung bei Plattenepithelkarzinomen ohnehin keine klinische Anwendung findet, dürfte auch dieses Färbeartefakt „die reale Qualität des Antikörpers“ nicht mindern. Die Evaluierung eines neu hergestellten Antikörpers an tausenden von Tumoren und Normalgeweben, so wie er für AMACR Klon 8F4 durchgeführt wurde, war bis vor kurzem äußerst ungewöhnlich. Dementsprechend sind viele Antikörper auch deutlich weniger „gut“, als von ihren Anwendern angenommen wird. Die variable Qualität von Antikörpern und ihr häufig weit weniger spezifisches Färbeverhalten als von den Herstellern proklamiert wird zunehmend ein in der Welt der Wissenschaft wahrgenommenes Problem (Laflamme et al. 2019). In den letzten Jahren wurden zu diesem Thema spektakuläre Daten publiziert (Laflamme et al. 2019). Laflamme et al testeten 16 verschiedene kommerzielle erhältliche Antikörper für C9ORF72, ein Protein, welches bei der amyotrophe Lateralsklerose eine Rolle spielt (Laflamme et al. 2019). Nur einer von 16 getesteten Antikörpern erwies sich als spezifisch. Viele der „nicht spezifischen“ C9ORF72 Antikörper waren früher in Studien verwendet worden, welche in hochrangigen Wissenschaftsjournalen publiziert worden waren. Immunhistochemische Daten von mehreren Forschungsgruppen hatten suggeriert, dass der Erythropoetinrezeptor in Tumorzellen exprimiert wird und eine relevante Rolle spielen könnte (Acs et al. 2002; Acs et al. 2001; Arcasoy et al. 2005a; Arcasoy et al. 2005b). Diese Ergebnisse hatten eine ausgedehnte Forschung zu diesem Thema hervorgerufen. Später zeigte sich allerdings, dass nur einer von 4 häufig in Studien verwendeten EpoR Antikörper tatsächlich EpoR detektierte und dass keiner der verwendeten Antikörper EpoR immunhistochemisch darstellen konnte (Elliott et al. 2006). Nelson et al hatte kürzlich alle

verfügbaren Antikörper für Östrogenrezeptor-Beta evaluiert und festgestellt, dass nur einer dieser Antikörper tatsächlich das Target-Protein identifiziert (Nelson et al. 2017). Durch die Verwendung von nicht geeigneten Antikörpern hatte es in der Vergangenheit viele widersprüchliche Angaben bezüglich des Expressionslevel von Östrogenrezeptor-Beta und seiner Korrelation zu klinisch pathologischen Parametern gegeben (Nelson et al. 2017). Nelson et al fanden unter Verwendung des einzigen wirklich Östrogenrezeptor-Beta spezifischen Antikörpers sowohl bei den Mammakarzinen wie auch beim Prostatakrebs keine relevante Expression von Östrogenrezeptor-Beta (Nelson et al. 2017).

Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass eine Expression von AMACR beim Nierenzellkarzinom häufig vorkommt und das Expressionshäufigkeit und Intensität beim papillären Nierenzellkarzinom ausgeprägter ist als bei anderen Tumortypen. Da aber auch klarzellige Nierenzellkarzinome häufig reichlich AMACR exprimieren, ist der differentialdiagnostische Nutzen einer immunhistochemischen AMACR-Untersuchung beim Nierenzellkarzinom limitiert. Zusammen mit einer früheren Studie aus dem UKE (Eichelberg et al. 2013) deuten die erzielten Daten zwar daraufhin, das AMACR positive klarzellige Nierenzellkarzinome eine bessere Prognose haben könnten als AMACR negative Tumoren, doch ist dieser Unterschied für die klinische Praxis zu gering, um relevant zu sein. Zusammen mit der Parallelstudie von Schneider, der AMACR an verschiedenen Geweben aller Art untersucht hatte, demonstrieren die gesamten bisher erhobenen Befunde zu dem AMACR Klon 8F4, die große Bedeutung einer ausgedehnten Gewebevalidierung für die Klärung der diagnostischen Nützlichkeit eines Antikörpers.

5. Zusammenfassung

Alpha-MethylAcyl-CoA Racemase (AMACR) ist ein Protein mit wesentlicher Rolle im Fettstoffwechsel, welches bei verschiedenen Tumortypen im Vergleich zu Normalgewebe vermehrt exprimiert wird. Ein diagnostischer Nutzen der AMACR Expression wurde unter anderen bei der Differentialdiagnostik der Nierenzellkarzinome postuliert, wo papilläre Karzinome häufiger AMACR positiv sein sollen als klarzellige. In der vorliegenden Studie sollte die diagnostische Relevanz des immunhistochemischen Nachweises der AMACR Expression beim Nierenzellkarzinom evaluiert werden, unter Verwendung verschiedener Antikörper und Antikörperkonzentrationen. Verglichen wurden der am UKE kürzlich neu hergestellte monoklonale Mausantikörper Klon 8F4 bei einer Verdünnung 1:1350 und 1:12150 sowie der DAKO-Klon 13F4 unter den vom Hersteller vorgeschlagenen Protokollbedingungen. Untersucht wurden 1318 Nierenzellkarzinome in einem TMA-Format. Von diesen Tumoren waren auswertbar 716 (54,32%) für Klon 8F4 (1:1350), 702 (53,26%) für Klon 8F4 (1:12150) und 678 (51,44%) für den DAKO-Klon 13F4. Alle Antikörper und Protokolle zeigten hochsignifikant mehr AMACR Positivität bei papillären als bei klarzelligen Karzinomen. Für DAKO-Klon 13F4 waren 96,6% der papillären Karzinome mäßig oder stark AMACR positiv aber nur 45,1% der klarzelligen Karzinome ($p<0,0001$). Für AMACR-Klon 8F4 1:1350 waren 99,1% der papillären Karzinome stark oder mäßig stark positiv aber nur 54,6% der klarzelligen Karzinome ($p<0,0001$). Für AMACR Klon 8F4 1:12150 waren 96,4% der papillären mäßig stark oder stark AMACR positiv aber nur 33,3% der klarzelligen Karzinome ($p<0,0001$). Die Untersuchung der klinischen Relevanz der AMACR Expression bei klarzelligen Karzinomen ergab für alle Antikörper bzw. Antikörperverdünnungen eine Tendenz zu einer Zunahme einer starken AMACR-Positivität mit zunehmender Entdifferenzierung der Tumoren und mit zunehmendem pT Stadium. Gleichzeitig wurde eine Tendenz zu einer günstigeren Prognose bei stark oder mäßig stark AMACR positiven klarzelligen Nierenzellkarzinomen gefunden. Die Evaluation der klinischen Bedeutung der AMACR Expression bei papillären Karzinomen scheiterte an der geringen Zahl der untersuchten Patienten. Aus den Ergebnissen dieser Studie wird geschlossen, das AMACR bei papillären Tumoren häufiger und intensiver exprimiert wird als bei anderen histologischen Tumortypen, insbesondere als beim klarzelligen Karzinom. Da aber bei allen Färbeverfahren mindestens 10% der nicht-papillären Karzinome eine kräftige AMACR Expression aufweisen, ist der Nachweis einer kräftigen AMACR Färbung kein sicherer Anhaltspunkt für das Vorliegen

eines papillären Nierenzellkarzinoms. Unsere Ergebnisse ergeben auch keine Anhaltspunkte auf eine klinisch relevante prognostische Relevanz der AMACR Expression in Nierenzellkarzinomen.

6. English Summary

Alpha-MethylAcyl-CoA Racemase (AMACR) is a protein with an essential role in lipid metabolism and is expressed more frequently in various tumor types compared to normal tissue. A diagnostic benefit of AMACR expression has been postulated in the differential diagnosis of renal cell carcinoma, where papillary carcinomas are reported to be more frequently AMACR positive than clear cell carcinomas. The present study aimed to evaluate the diagnostic relevance of immunohistochemical detection of AMACR expression in renal cell carcinoma, using different antibodies and antibody concentrations. The mouse monoclonal antibody clone 8F4, recently produced at UKE, was compared at a dilution of 1:1350 and 1:12150 as well as the DAKO clone X under the protocol conditions suggested by the manufacturer. 1318 renal cell carcinomas were examined in a TMA format. Of these tumors, 716 (54,32%) were evaluable for clone 8F4 (1:1350), 702 (53,26%) for clone 8F4 (1:12150), and 678 (51,44%) for DAKO clone 13F4. All antibodies and protocols showed highly significant more AMACR positivity in papillary than in clear cell carcinoma. For DAKO clone 13F4, 96,6% of papillary carcinomas were moderately or strongly AMACR positive but only 45,1% of clear cell carcinomas ($p<0.0001$). For AMACR clone 8F4 1:1350, 99,1% of papillary carcinomas were strongly or moderately AMACR positive but only 54,6% of clear cell carcinomas ($p<0.0001$). For AMACR clone 8F4 1:12150, 96,4% of papillary carcinomas were moderately strong or strong AMACR positive but only 33,3% of clear cell carcinomas ($p<0.0001$).

Investigation of the clinical relevance of AMACR expression in clear cell carcinomas revealed a tendency for all antibodies or antibody dilutions to increase in strong positivity with increasing tumor dedifferentiation and with increasing pT stage. At the same time, a tendency towards a very favorable prognosis was found for strongly or moderately AMACR positive clear cell renal cell carcinomas. Evaluation of the clinical significance of AMACR expression in papillary carcinomas failed due to the small number of patients studied. From the results of this study, it is concluded that AMACR is more frequently and intensively expressed in papillary tumors than in other histological tumor types, especially clear cell carcinoma. However, because at least 10% of non-papillary carcinomas show vigorous AMACR expression in all staining methods, the detection of vigorous AMACR staining is not a reliable indication of the presence of papillary renal cell carcinoma. Our results also do not provide

evidence for a clinically relevant prognostic relevance of AMACR expression in renal cell carcinomas.

7. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
AMACR	α -Methylacyl-CoA-Racemase
BAP1	BRCA1 associated protein-1
c-KIT	Stammzellfaktor-Rezeptor
HER2	Humaner epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor
ISUP	International Society of Uropathology
KID	Kidney
MET	Mesenchymal-Epithelial-Transition
NCC	Nierenzellkarzinome
PBMR1	Polybrom-1
PTEN	Phosphatase and Tensin homolog
RNA	Ribonukleinsäure
TCGA	The Cancer Genome Atlas
TMA	Tissue-Micro-Array
UICC	Union internationale contre le cancer
UKE	Universitätsklinikum Eppendorf
VHL	Von Hippel-Lindau-Syndrom
WHO	World Health Organization

8. Literaturverzeichnis

- Acs, Geza; Acs, Peter; Beckwith, Susan M.; Pitts, Richard L.; Clements, Emily; Wong, Kondi; Verma, Ajay (2001): Erythropoietin and Erythropoietin Receptor Expression in Human Cancer. In: *Cancer Res* 61 (9), S. 3561–3565. Online verfügbar unter <https://aacrjournals.org/cancerres/article/61/9/3561/508731/Erythropoietin-and-Erythropoietin-Receptor>.
- Acs, Geza; Zhang, Paul J.; Rebbeck, Timothy R.; Acs, Peter; Verma, Ajay (2002): Immunohistochemical expression of erythropoietin and erythropoietin receptor in breast carcinoma. In: *Cancer* 95 (5), S. 969–981. DOI: 10.1002/cncr.10787.
- Åkerlund, John; Holmberg, Erik; Lindblad, Per; Stendahl, Maria; Ljungberg, Börje; Thorstenson, Andreas; Lundstam, Sven (2021): Increased risk for renal cell carcinoma in end stage renal disease - a population-based case-control study. In: *Scandinavian journal of urology* 55 (3), S. 209–214. DOI: 10.1080/21681805.2021.1900387.
- Akizuki, S.; Tanabe, K.; Setoguchi, M.; Yoshida, S.; Higuchi, Y.; Yamamoto, S. (1986): Renal oncocytoma. In: *Acta pathologica japonica* 36 (9), S. 1377–1382. DOI: 10.1111/j.1440-1827.1986.tb02858.x.
- Al-Ahmadie, Hikmat A.; Alden, Darym; Fine, Samson W.; Gopalan, Anuradha; Touijer, Karim A.; Russo, Paul et al. (2011): Role of immunohistochemistry in the evaluation of needle core biopsies in adult renal cortical tumors: an ex vivo study. In: *The American journal of surgical pathology* 35 (7), S. 949–961. DOI: 10.1097/PAS.0b013e31821e25cd.
- Albiges, Laurence; Guegan, Justine; Le Formal, Audrey; Verkarre, Virginie; Rioux-Leclercq, Nathalie; Sibony, Mathilde et al. (2014): MET is a potential target across all papillary renal cell carcinomas: result from a large molecular study of pRCC with CGH array and matching gene expression array. In: *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 20 (13), S. 3411–3421. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2173.
- Al-Kuraya, Khawla; Schraml, Peter; Torhorst, Joachim; Tapia, Coya; Zaharieva, Boiana; Novotny, Hedvika et al. (2004): Prognostic relevance of gene amplifications and coamplifications in breast cancer. In: *Cancer Res* 64 (23), S. 8534–8540. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1945.

Allory, Y.; Bazille, C.; Vieillefond, A.; Molinié, V.; Cochand-Priollet, B.; Cussenot, O. et al. (2008): Profiling and classification tree applied to renal epithelial tumours. In: *Histopathology* 52 (2), S. 158–166. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2007.02900.x.

Al-Obaidy, Khaleel I.; Eble, John N.; Cheng, Liang; Williamson, Sean R.; Sakr, Wael A.; Gupta, Nilesh et al. (2019): Papillary Renal Neoplasm With Reverse Polarity: A Morphologic, Immunohistochemical, and Molecular Study. In: *The American journal of surgical pathology* 43 (8), S. 1099–1111. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001288.

Alshenawy, Hanan AlSaeid (2015): Immunohistochemical Panel for Differentiating Renal Cell Carcinoma with Clear and Papillary Features. In: *Pathology oncology research : POR* 21 (4), S. 893–899. DOI: 10.1007/s12253-015-9898-7.

AMACR transcriptomics data - The Human Protein Atlas (2023). Online verfügbar unter <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000242110-AMACR/summary/rna>, zuletzt aktualisiert am 26.02.2023, zuletzt geprüft am 26.02.2023.

Amin, M. B.; Corless, C. L.; Renshaw, A. A.; Tickoo, S. K.; Kubus, J.; Schultz, D. S. (1997): Papillary (chromophil) renal cell carcinoma: histomorphologic characteristics and evaluation of conventional pathologic prognostic parameters in 62 cases. In: *The American journal of surgical pathology* 21 (6), S. 621–635. DOI: 10.1097/00000478-199706000-00001.

Amin, Mahul B.; Paner, Gladell P.; Alvarado-Cabrero, Isabel; Young, Andrew N.; Stricker, Hans J.; Lyles, Robert H.; Moch, Holger (2008): Chromophobe renal cell carcinoma: histomorphologic characteristics and evaluation of conventional pathologic prognostic parameters in 145 cases. In: *The American journal of surgical pathology* 32 (12), S. 1822–1834. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181831e68.

Andeen, Nicole K.; Tretiakova, Maria (2023): Papillary renal cell carcinoma. Online verfügbar unter <https://www.pathologyoutlines.com/topic/kidneytumormalignantrccpap.html>, zuletzt aktualisiert am 02.07.2023, zuletzt geprüft am 02.07.2023.

Arcasoy, Murat O.; Amin, Khalid; Chou, Shu-Chuan; Haroon, Zishan A.; Varia, M. A.; Raleigh, James A. (2005a): Erythropoietin and Erythropoietin Receptor Expression in Head and Neck Cancer: Relationship to Tumor Hypoxia. In: *Clinical Cancer Research* 11 (1), S. 20–27. DOI: 10.1158/1078-0432.20.11.1.

Arcasoy, Murat O.; Amin, Khalid; Vollmer, Robin T.; Jiang, Xiaohong; Demark-Wahnefried, Wendy; Haroon, Zishan A. (2005b): Erythropoietin and erythropoietin

receptor expression in human prostate cancer. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 18 (3), S. 421–430. DOI: 10.1038/modpathol.3800288.

Aydin, Hakan; Chen, Longwen; Cheng, Liang; Vaziri, Susan; He, Huiying; Ganapathi, Ram et al. (2010): Clear cell tubulopapillary renal cell carcinoma: a study of 36 distinctive low-grade epithelial tumors of the kidney. In: *The American journal of surgical pathology* 34 (11), S. 1608–1621. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181f2ee0b.

Bedir, Recep; Şehitoğlu, İbrahim; Uzun, Hakkı; Yurdakul, Cüneyt (2013): Inflammatory pseudotumor of the epididymis: a case report and review of the literature. In: *Turkish journal of urology* 39 (4), S. 281–284. DOI: 10.5152/tud.2013.068.

Bhatt, Nikita R.; Davis, Niall F.; Flynn, Robert; McDermott, Ted; Thornhill, J. A.; Maneksha, Rustom P. (2015): Dilemmas in diagnosis and natural history of renal oncocytoma and implications for management. In: *Canadian Urological Association Journal* 9 (9-10), E709-12. DOI: 10.5489/cuaj.3144.

Bing, Zhanyong; Lal, Priti; Lu, Song; Ziobor, Amy; Tomaszewski, John E. (2013): Role of carbonic anhydrase IX, α -methylacyl coenzyme a racemase, cytokeratin 7, and galectin-3 in the evaluation of renal neoplasms: a tissue microarray immunohistochemical study. In: *Annals of diagnostic pathology* 17 (1), S. 58–62. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2012.07.002.

Cairns, Paul (2010): Renal cell carcinoma. In: *Cancer biomarkers : section A of Disease markers* 9 (1-6), S. 461–473. DOI: 10.3233/CBM-2011-0176.

Castelino-Prabhu, Shobha; Ali, Syed Z. (2010): Spermiophages in a giant spermatocele. In: *Diagnostic cytopathology* 38 (11), S. 816–817. DOI: 10.1002/dc.21272.

Chandrasekar, Thenappan (2023): Metastasen der Nieren - Urogenitaltrakt - MSD Manual Profi-Ausgabe. Online verfügbar unter <https://www.msdmanuals.com/de-de/profi/urogenitaltrakt/tumoren-des-urogenitaltrakts/metastasen-der-nieren>, zuletzt aktualisiert am 24.01.2023, zuletzt geprüft am 24.01.2023.

Chen, Fengju; Zhang, Yiqun; Şenbabaoğlu, Yasin; Ciriello, Giovanni; Yang, Lixing; Reznik, Ed et al. (2016): Multilevel Genomics-Based Taxonomy of Renal Cell Carcinoma. In: *Cell reports* 14 (10), S. 2476–2489. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.02.024.

Choi, Hongyung; Almagro, Urias A.; McManus, John T.; Norback, Diane H.; Jacobs, Stephen C. (1983): Renal oncocytoma. A clinicopathologic study. In: *Cancer* 51 (10), S. 1887–1896. DOI: 10.1002/1097-0142(19830515)51:10<1887::AID-CNCR2820511022>3.0.CO;2-B.

Chow, W. H.; Gridley, G.; Fraumeni, J. F.; Järvholt, B. (2000): Obesity, hypertension, and the risk of kidney cancer in men. In: *The New England journal of medicine* 343 (18), S. 1305–1311. DOI: 10.1056/NEJM200011023431804.

Choyke, Peter L.; Glenn, Gladys M.; Walther, McClellan M.; Zbar, Berton; Linehan, W. Marston (2003): Hereditary renal cancers. In: *Radiology* 226 (1), S. 33–46. DOI: 10.1148/radiol.2261011296.

Clague, Jessica; Lin, Jie; Cassidy, Adrian; Matin, Surena; Tannir, Nizar M.; Tamboli, Pheroze et al. (2009): Family history and risk of renal cell carcinoma: results from a case-control study and systematic meta-analysis. In: *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 18 (3), S. 801–807. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0601.

Darley, Daniel J.; Butler, Danica S.; Prideaux, Samuel J.; Thornton, Thomas W.; Wilson, Abigail D.; Woodman, Timothy J. et al. (2009): Synthesis and use of isotope-labelled substrates for a mechanistic study on human alpha-methylacyl-CoA racemase 1A (AMACR; P504S). In: *Organic & biomolecular chemistry* 7 (3), S. 543–552. DOI: 10.1039/b815396e.

Delahunt, Brett; Cheville, John C.; Martignoni, Guido; Humphrey, Peter A.; Magi-Galuzzi, Cristina; McKenney, Jesse et al. (2013): The International Society of Urological Pathology (ISUP) grading system for renal cell carcinoma and other prognostic parameters. In: *The American journal of surgical pathology* 37 (10), S. 1490–1504. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318299f0fb.

Dhakal, Hari P.; McKenney, Jesse K.; Khor, Li Yan; Reynolds, Jordan P.; Magi-Galuzzi, Cristina; Przybycin, Christopher G. (2016): Renal Neoplasms With Overlapping Features of Clear Cell Renal Cell Carcinoma and Clear Cell Papillary Renal Cell Carcinoma: A Clinicopathologic Study of 37 Cases From a Single Institution. In: *The American journal of surgical pathology* 40 (2), S. 141–154. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000583.

- Dvorakova, Marie; Dhir, Rajiv; Bastacky, Sheldon I.; Cieply, Kathleen M.; Acquafondato, Marie B.; Sherer, Carol R. et al. (2010): Renal oncocytoma: a comparative clinicopathologic study and fluorescent in-situ hybridization analysis of 73 cases with long-term follow-up. In: *Diagn Pathol* 5 (1), S. 32. DOI: 10.1186/1746-1596-5-32.
- Eichelberg, Christian; Minner, Sarah; Isbarn, Hendrik; Burandt, Eike; Terracciano, Luigi; Moch, Holger et al. (2013): Prognostic value of alpha-methyl CoA racemase (AMACR) expression in renal cell carcinoma. In: *World journal of urology* 31 (4), S. 847–853. DOI: 10.1007/s00345-011-0783-z.
- Ejeckam, G. C.; Govatsos, S.; Lewis, A. S. (1984): Cyst of seminal vesicle associated with ipsilateral renal agenesis. In: *Urology* 24 (4), S. 372–374. DOI: 10.1016/0090-4295(84)90216-4.
- Elliott, Steve; Busse, Leigh; Bass, Michael B.; Lu, Hsieng; Sarosi, Ildiko; Sinclair, Angus M. et al. (2006): Anti-Epo receptor antibodies do not predict Epo receptor expression. In: *Blood* 107 (5), S. 1892–1895. DOI: 10.1182/blood-2005-10-4066.
- Erbersdobler, Andreas; Isbarn, Hendrik; Dix, Kira; Steiner, Isabel; Schlomm, Thorsten; Mirlacher, Martina et al. (2010): Prognostic value of microvessel density in prostate cancer: a tissue microarray study. In: *World journal of urology* 28 (6), S. 687–692. DOI: 10.1007/s00345-009-0471-4.
- Erbersdobler, Andreas; Isbarn, Hendrik; Steiner, Isabel; Schlomm, Thorsten; Chun, Felix; Mirlacher, Martina; Sauter, Guido (2009): Predictive value of prostate-specific antigen expression in prostate cancer: a tissue microarray study. In: *Urology* 74 (5), S. 1169–1173. DOI: 10.1016/j.urology.2009.02.061.
- Fadare, Oluwole; Lam, Suzanne; Rubin, Christopher; Renshaw, Idris L.; Nerby, Craig L. (2010): Papillary renal cell carcinoma with diffuse clear cells and thyroid-like macrofollicular areas. In: *Annals of diagnostic pathology* 14 (4), S. 284–291. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2009.09.008.
- Federle, Michael P.; Jeffrey, R. Brooke; Borhani, Amir; Woodward, Paula J. (2010): Diagnostic imaging. Abdomen. 2. ed. Salt Lake City, Utah: Amirsyst. Online verfügbar unter <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&NEWS=n&CSC=Y&PAGE=book-text&D=books&SC=01694388>.
- Ferdinandusse, Sacha; Denis, Simone; IJlst, Lodewijk; Dacremont, Georges; Waterham, Hans R.; Wanders, Ronald J.A. (2000): Subcellular localization and

physiological role of α -methylacyl-CoA racemase. In: *Journal of Lipid Research* 41 (11), S. 1890–1896. DOI: 10.1016/S0022-2275(20)31983-0.

Fischer, Claus (2023): Nierenkrebs rechtzeitig erkennen | DKG. Online verfügbar unter <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/krebsarten/nierenkrebs/frueherkennung.html>, zuletzt aktualisiert am 24.01.2023, zuletzt geprüft am 24.01.2023.

Flanigan, Robert C.; Mickisch, G.; Sylvester, Richard; Tangen, Cathy; van Poppel, H.; Crawford, E. David (2004): Cytoreductive nephrectomy in patients with metastatic renal cancer: a combined analysis. In: *The Journal of urology* 171 (3), S. 1071–1076. DOI: 10.1097/01.ju.0000110610.61545.ae.

Fleischmann, Achim; Schlomm, Thorsten; Huland, Hartwig; Köllermann, Jens; Simon, Philipp; Mirlacher, Martina et al. (2008): Distinct subcellular expression patterns of neutral endopeptidase (CD10) in prostate cancer predict diverging clinical courses in surgically treated patients. In: *Clinical Cancer Research* 14 (23), S. 7838–7842. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1432.

Fleischmann, Achim; Schlomm, Thorsten; Köllermann, Jens; Sekulic, Nikolina; Huland, Hartwig; Mirlacher, Martina et al. (2009): Immunological microenvironment in prostate cancer: high mast cell densities are associated with favorable tumor characteristics and good prognosis. In: *The Prostate* 69 (9), S. 976–981. DOI: 10.1002/pros.20948.

Flint, A.; Cunningham, C. (1987): Cytologic diagnosis of the papillary variant of renal-cell carcinoma. In: *Acta cytologica* 31 (3), S. 325–329.

Gago-Dominguez, M.; Yuan, J. M.; Castelao, J. E.; Ross, R. K.; Yu, M. C. (2001): Family history and risk of renal cell carcinoma. In: *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, co-sponsored by the American Society of Preventive Oncology* 10 (9), S. 1001–1004.

Ganzen, T. N.; Aliaev, Iu G.; Iargin, S. V. (1988): Onkotsitomy pochek. In: *Arkhiv patologii* 50 (10), S. 13–20.

Gilani, S. M.; Tashjian, R.; Qu, H. (2012): Clear cell papillary renal cell carcinoma with characteristic morphology and immunohistochemical staining pattern. In: *Pathologica* 104 (3), S. 101–104.

Gobbo, Stefano; Eble, John N.; Grignon, David J.; Martignoni, Guido; MacLennan, Gregory T.; Shah, Rajal B. et al. (2008): Clear cell papillary renal cell carcinoma: a distinct histopathologic and molecular genetic entity. In: *The American journal of surgical pathology* 32 (8), S. 1239–1245. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318164bcbb.

Granter, Scott R.; Perez-Atayde, Antonio R.; Renshaw, Andrew A. (1998): Cytologic analysis of papillary renal cell carcinoma. In: *Cancer* 84 (5), S. 303–308. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19981025)84:5<303::AID-CNCR6>3.0.CO;2-7.

Griffin, Brannan B.; Lin, Xiaoqi (2021): Cytomorphologic analysis of clear cell papillary renal cell carcinoma: Distinguishing diagnostic features. In: *Cancer cytopathology* 129 (3), S. 192–203. DOI: 10.1002/cncy.22355.

Gudbjartsson, Tómas; Jónasdóttir, Thora J.; Thoroddsen, Asgeir; Einarsson, Gudmundur V.; Jónsdóttir, Guðrún M.; Kristjánsson, Kristleifur et al. (2002): A population-based familial aggregation analysis indicates genetic contribution in a majority of renal cell carcinomas. In: *International journal of cancer* 100 (4), S. 476–479. DOI: 10.1002/ijc.10513.

Hakimi, A. Ari; Mano, Roy; Ciriello, Giovanni; Gonen, Mithat; Mikkilineni, Nina; Sfakianos, John P. et al. (2014): Impact of recurrent copy number alterations and cancer gene mutations on the predictive accuracy of prognostic models in clear cell renal cell carcinoma. In: *The Journal of urology* 192 (1), S. 24–29. DOI: 10.1016/j.juro.2014.01.088.

He, Huiying; Zhou, Grace X.; Zhou, Ming; Chen, Longwen (2011): The distinction of clear cell carcinoma of the female genital tract, clear cell renal cell carcinoma, and translocation-associated renal cell carcinoma: an immunohistochemical study using tissue microarray. In: *International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists* 30 (5), S. 425–430. DOI: 10.1097/PGP.0b013e318214dd4f.

Hes, O.; Michal, M.; Sulc, M.; Podhola, M.; Zámečník, M.; Curík, R. et al. (2001): Onkocytom ledviny--morphologická variabilita 102 prípadů. In: *Ceskoslovenska patologie* 37 (2), S. 51–56.

Histologie und Grading (2023). Online verfügbar unter <https://www.nierenkrebs-netzwerk.de/nierenkrebs/erkrankungsstadien/histologie-und-grading>, zuletzt aktualisiert am 26.02.2023, zuletzt geprüft am 26.02.2023.

Ho, Thai H.; Kapur, Payal; Joseph, Richard W.; Serie, Daniel J.; Eckel-Passow, Jeanette E.; Parasramka, Mansi et al. (2015): Loss of PBRM1 and BAP1 expression is less common in non-clear cell renal cell carcinoma than in clear cell renal cell carcinoma. In: *Urologic oncology* 33 (1), 23.e9-23.e14. DOI: 10.1016/j.urolonc.2014.10.014.

Hunt, Jay D.; van der Hel, Olga L.; McMillan, Garnett P.; Boffetta, Paolo; Brennan, Paul (2005): Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: meta-analysis of 24 studies. In: *International journal of cancer* 114 (1), S. 101–108. DOI: 10.1002/ijc.20618.

Kim, Moonsik; Joo, Jin Woo; Lee, Seok Joo; Cho, Yoon Ah; Park, Cheol Keun; Cho, Nam Hoon (2020a): Comprehensive Immunoprofiles of Renal Cell Carcinoma Subtypes. In: *Cancers* 12 (3). DOI: 10.3390/cancers12030602.

Kim, Sung Sun; Cho, Yong Mee; Kim, Gi Hwan; Kee, Keun Hong; Kim, Hun-Soo; Kim, Kyoung Min et al. (2020b): Recurrent KRAS mutations identified in papillary renal neoplasm with reverse polarity-a comparative study with papillary renal cell carcinoma. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 33 (4), S. 690–699. DOI: 10.1038/s41379-019-0420-8.

Kobayashi, Naohito; Matsuzaki, Osamu; Shirai, Sumiko; Aoki, Ichiro; Yao, Masahiro; Nagashima, Yoji (2008): Collecting duct carcinoma of the kidney: an immunohistochemical evaluation of the use of antibodies for differential diagnosis. In: *Human pathology* 39 (9), S. 1350–1359. DOI: 10.1016/j.humpath.2007.11.020.

Köllermann, Jens; Schlomm, Thorsten; Bang, Holger; Schwall, Gerhard P.; Eichel-Streiber, Christoph von; Simon, Ronald et al. (2008): Expression and prognostic relevance of annexin A3 in prostate cancer. In: *European Urology* 54 (6), S. 1314–1323. DOI: 10.1016/j.eururo.2008.01.001.

Kononen, J.; Bubendorf, L.; Kallioniemi, A.; Bärlund, M.; Schraml, P.; Leighton, S. et al. (1998): Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. In: *Nature medicine* 4 (7), S. 844–847. DOI: 10.1038/nm0798-844.

Koundouros, Nikos; Poulogiannis, George (2020): Reprogramming of fatty acid metabolism in cancer. In: *Br J Cancer* 122 (1), S. 4–22. DOI: 10.1038/s41416-019-0650-z.

Kourda, Nadia; Mlika, Mona; Derouiche, Amine; Zidi-Moaffak, Yosra; Chebil, Mohamed; Zermani, Rachida; Jilani, Sara Ben (2010): The utility of alpha-methyl CoA racemase (P504S) expression as a marker of renal cell carcinomas. In: *La Tunisie medicale* 88 (9), S. 651–654.

Kovacs, G.; Fuzesi, L.; Emanual, A.; Kung, H. F. (1991): Cytogenetics of papillary renal cell tumors. In: *Genes, chromosomes & cancer* 3 (4), S. 249–255. DOI: 10.1002/gcc.2870030403.

Krohn, Antje; Diedler, Tobias; Burkhardt, Lia; Mayer, Pascale-Sophie; Silva, Colin de; Meyer-Kornblum, Marie et al. (2012): Genomic deletion of PTEN is associated with tumor progression and early PSA recurrence in ERG fusion-positive and fusion-negative prostate cancer. In: *The American journal of pathology* 181 (2), S. 401–412. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.04.026.

Kuroda, N.; Toi, M.; Hiroi, M.; Shuin, T.; Enzan, H. (2003): Review of renal oncocytoma with focus on clinical and pathobiological aspects. In: *Histology and histopathology* 18 (3), S. 935–942. DOI: 10.14670/HH-18.935.

Laflamme, Carl; McKeever, Paul M.; Kumar, Rahul; Schwartz, Julie; Kolahdouzan, Mahshad; Chen, Carol X. et al. (2019): Implementation of an antibody characterization procedure and application to the major ALS/FTD disease gene C9ORF72. In: *eLife* 8. DOI: 10.7554/eLife.48363.

Lin, Fan; Brown, Robert E.; Shen, Ting; Yang, Ximing J.; Schuerch, Conrad (2004): Immunohistochemical detection of P504S in primary and metastatic renal cell carcinomas. In: *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM* 12 (2), S. 153–159. DOI: 10.1097/00129039-200406000-00010.

Lin, Xiaoqi (2017): Cytomorphology of clear cell papillary renal cell carcinoma. In: *Cancer cytopathology* 125 (1), S. 48–54. DOI: 10.1002/cncy.21779.

Lloyd, Matthew D.; Darley, Daniel J.; Wierzbicki, Anthony S.; Threadgill, Michael D. (2008): Alpha-methylacyl-CoA racemase--an 'obscure' metabolic enzyme takes centre stage. In: *The FEBS journal* 275 (6), S. 1089–1102. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2008.06290.x.

Luo, Jun; Zha, Shan; Gage, Wesley R.; Dunn, Thomas A.; Hicks, Jessica L.; Bennett, Christina J. et al. (2002): Alpha-methylacyl-CoA racemase: a new molecular marker for prostate cancer. In: *Cancer Res* 62 (8), S. 2220–2226.

Manley, Brandon J.; Hakimi, Abraham Ari (2016): Molecular profiling of renal cell carcinoma: building a bridge toward clinical impact. In: *Current opinion in urology* 26 (5), S. 383–387. DOI: 10.1097/MOU.0000000000000307.

Mavrov, Kh; Takov, R.; Tsvetkov, D. (1990): Kliniko-morfologichni prouchvaniia na kisti na epididima. In: *Khirurgiia* 43 (5), S. 56–61.

McPhee, Stephen J.; Papadakis, Maxine A. (2009): Lange 2009 current medical diagnosis & treatment. New York, London: McGraw-Hill Medical.

Memeo, Lorenzo; Jhang, Jeffrey; Assaad, Adel M.; McKiernan, James M.; Murty, Vundavalli V. V. S.; Hibshoosh, Hanina et al. (2007): Immunohistochemical analysis for cytokeratin 7, KIT, and PAX2: value in the differential diagnosis of chromophobe cell carcinoma. In: *American journal of clinical pathology* 127 (2), S. 225–229. DOI: 10.1309/9KWEA4W9Y94D1AEE.

Mirlacher, Martina; Kasper, Marlis; Storz, Martina; Knecht, Yvonne; Dürmüller, Ursula; Simon, Ronald et al. (2004): Influence of slide aging on results of translational research studies using immunohistochemistry. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 17 (11), S. 1414–1420. DOI: 10.1038/modpathol.3800208.

Mittal, Mahesh Kumar; Sureka, Binit (2016): Solid renal masses in adults. In: *The Indian journal of radiology & imaging* 26 (4), S. 429–442. DOI: 10.4103/0971-3026.195773.

Moch, Holger; Amin, Mahul B.; Berney, Daniel M.; Compérat, Eva M.; Gill, Anthony J.; Hartmann, Arndt et al. (2022): The 2022 World Health Organization Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. In: *European Urology* 82 (5), S. 458–468. DOI: 10.1016/j.euro.2022.06.016.

Molinié, Vincent; Balaton, André; Rotman, Samuel; Mansouri, Douha; Pinieux, Isabelle de; Homsi, Toufik; Guillou, Louis (2006): Alpha-methyl CoA racemase expression in renal cell carcinomas. In: *Human pathology* 37 (6), S. 698–703. DOI: 10.1016/j.humpath.2006.01.012.

National Cancer Institute (2023): The Cancer Genome Atlas Program. Online verfügbar unter <https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>, zuletzt aktualisiert am 25.02.2023, zuletzt geprüft am 26.02.2023.

Nelson, Adam W.; Groen, Arnoud J.; Miller, Jodi L.; Warren, Anne Y.; Holmes, Kelly A.; Tarulli, Gerard A. et al. (2017): Comprehensive assessment of estrogen receptor beta antibodies in cancer cell line models and tissue reveals critical limitations in reagent specificity. In: *Molecular and cellular endocrinology* 440, S. 138–150. DOI: 10.1016/j.mce.2016.11.016.

Nezami, Behtash G.; MacLennan, Gregory (2023): Adult clear cell renal cell carcinoma. Online verfügbar unter <https://www.pathologyoutlines.com/topic/kidneytumormalignantrcclear.html>, zuletzt aktualisiert am 02.07.2023, zuletzt geprüft am 02.07.2023.

Nocito, Antonio; Bubendorf, Lukas; Tinner, Eva Maria; Süess, Katrin; Wagner, Urs; Forster, Thomas et al. (2001): Microarrays of bladder cancer tissue are highly representative of proliferation index and histological grade. In: *J. Pathol.* 194 (3), S. 349–357. DOI: 10.1002/1096-9896(200107)194:3<349::AID-PATH887>3.0.CO;2-D.

Okada, Atsushi; Sasaki, Shoichi; Fujiyoshi, Yukio; Niimi, Kazuhiro; Kurokawa, Satoshi; Umemoto, Yukihiko; Kohri, Kenjiro (2009): A case of oncocytic papillary renal cell carcinoma. In: *International journal of urology : official journal of the Japanese Urological Association* 16 (9), S. 765–767. DOI: 10.1111/j.1442-2042.2009.02336.x.

Polascik, Thomas J.; Bostwick, David G.; Cairns, Paul (2002): Molecular genetics and histopathologic features of adult distal nephron tumors. In: *Urology* 60 (6), S. 941–946. DOI: 10.1016/s0090-4295(02)01825-3.

Port, F. K.; Ragheb, N. E.; Schwartz, A. G.; Hawthorne, V. M. (1989): Neoplasms in dialysis patients: a population-based study. In: *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 14 (2), S. 119–123. DOI: 10.1016/s0272-6386(89)80187-8.

Pramick, Michelle; Ziobor, Amy; Bing, Zhanyong (2013): Useful immunohistochemical panel for differentiating clear cell papillary renal cell carcinoma from its mimics. In: *Annals of diagnostic pathology* 17 (5), S. 437–440. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2013.05.004.

Prasad, S. R.; Narra, V. R.; Shah, R.; Humphrey, P. A.; Jagirdar, J.; Catena, J. R. et al. (2007): Segmental disorders of the nephron: histopathological and imaging perspective. In: *The British journal of radiology* 80 (956), S. 593–602. DOI: 10.1259/bjr/20129205.

Renehan, Andrew G.; Tyson, Margaret; Egger, Matthias; Heller, Richard F.; Zwahlen, Marcel (2008): Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. In: *Lancet (London, England)* 371 (9612), S. 569–578. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60269-X.

Robert Koch-Institut: Krebs in Deutschland für 2017/2018. Online verfügbar unter https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2021/krebs_in_deutschland_2021.pdf?__blob=publicationFile.

Rohan, Stephen M.; Xiao, Yonghong; Liang, Yupu; Dudas, Maria E.; Al-Ahmadie, Hikmat A.; Fine, Samson W. et al. (2011): Clear-cell papillary renal cell carcinoma: molecular and immunohistochemical analysis with emphasis on the von Hippel-Lindau gene and hypoxia-inducible factor pathway-related proteins. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 24 (9), S. 1207–1220. DOI: 10.1038/modpathol.2011.80.

Ruiz, Christian; Seibt, Silvia; Al Kuraya, Khawla; Siraj, Abdul K.; Mirlacher, Martina; Schraml, Peter et al. (2006): Tissue microarrays for comparing molecular features with proliferation activity in breast cancer. In: *International journal of cancer* 118 (9), S. 2190–2194. DOI: 10.1002/ijc.21581.

S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Nierenzellkarzinoms (2023). Online verfügbar unter <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/nierenzellkarzinom/>, zuletzt aktualisiert am 22.01.2023, zuletzt geprüft am 22.01.2023.

Saleeb, Rola (2023): Oncocytoma. Online verfügbar unter <https://www.pathologyoutlines.com/topic/kidneytumoroncocytoma.html>, zuletzt aktualisiert am 02.07.2023, zuletzt geprüft am 02.07.2023.

Sato, Yusuke; Yoshizato, Tetsuichi; Shiraishi, Yuichi; Maekawa, Shigekatsu; Okuno, Yusuke; Kamura, Takumi et al. (2013): Integrated molecular analysis of clear-cell renal cell carcinoma. In: *Nature genetics* 45 (8), S. 860–867. DOI: 10.1038/ng.2699.

Schlomm, Thorsten; Iwers, Liv; Kirstein, Patrick; Jessen, Birte; Köllermann, Jens; Minner, Sarah et al. (2008): Clinical significance of p53 alterations in surgically treated prostate cancers. In: *Mod Pathol* 21 (11), S. 1371–1378. DOI: 10.1038/modpathol.2008.104.

Schlomm, Thorsten; Kirstein, Patrick; Iwers, Liv; Daniel, Birte; Steuber, Thomas; Walz, Jochen et al. (2007): Clinical significance of epidermal growth factor receptor

protein overexpression and gene copy number gains in prostate cancer. In: *Clinical Cancer Research* 13 (22 Pt 1), S. 6579–6584. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1257.

Schneider, Rafael (2020): AMACR Klon 8F4 - Untersuchung eines AMACR Antikörpers.

Silagy, Andrew W.; Duzgol, Cihan; Marcon, Julian; DiNatale, Renzo G.; Mano, Roy; Blum, Kyle A. et al. (2020): An evaluation of the role of tumor load in cytoreductive nephrectomy. In: *Canadian Urological Association Journal* 14 (12), E625-30. DOI: 10.5489/cuaj.6350.

Simon, Ronald; Mirlacher, Martina; Sauter, Guido (2004): Tissue microarrays. In: *Bio-Techniques* 36 (1), S. 98–105. DOI: 10.2144/04361RV01.

Stadien nach UICC (2023). Online verfügbar unter <https://www.nierenkrebs-netzwerk.de/nierenkrebs/erkrankungsstadien/stadien-nach-uicc>, zuletzt aktualisiert am 26.02.2023, zuletzt geprüft am 26.02.2023.

Stewart, John H.; Buccianti, Gherardo; Agodoa, Lawrence; Gellert, Ryszard; McCredie, Margaret R. E.; Lowenfels, Albert B. et al. (2003): Cancers of the kidney and urinary tract in patients on dialysis for end-stage renal disease: analysis of data from the United States, Europe, and Australia and New Zealand. In: *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 14 (1), S. 197–207. DOI: 10.1097/01.asn.0000039608.81046.81.

Sung, Hyuna; Ferlay, Jacques; Siegel, Rebecca L.; Laversanne, Mathieu; Soerjomataram, Isabelle; Jemal, Ahmedin; Bray, Freddie (2021): Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. In: *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 71 (3), S. 209–249. DOI: 10.3322/caac.21660.

Swami, Umang; Nussenzveig, Roberto H.; Haaland, Benjamin; Agarwal, Neeraj (2019): Revisiting AJCC TNM staging for renal cell carcinoma: quest for improvement. In: *Annals of translational medicine* 7 (Suppl 1), S18. DOI: 10.21037/atm.2019.01.50.

The Cancer Genome Atlas Research Network (2013): Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma. In: *Nature* 499 (7456), S. 43–49. DOI: 10.1038/nature12222.

Thoenes, W.; Störkel, S.; Rumpelt, H. J. (1985): Human chromophobe cell renal carcinoma. In: *Virchows Archiv. B, Cell pathology including molecular pathology* 48 (3), S. 207–217. DOI: 10.1007/BF02890129.

Thoenes, W.; Störkel, S.; Rumpelt, H. J. (1986): Histopathology and classification of renal cell tumors (adenomas, oncocytomas and carcinomas). The basic cytological and histopathological elements and their use for diagnostics. In: *Pathology, research and practice* 181 (2), S. 125–143. DOI: 10.1016/S0344-0338(86)80001-2.

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. In: *The Journal of pathology* 155 (4), S. 277–287. DOI: 10.1002/path.1711550402.

Tretiakova, Maria (2023): Chromophobe renal cell carcinoma. Online verfügbar unter <https://www.pathologyoutlines.com/topic/kidneytumormalignantrccchromo.html>, zuletzt aktualisiert am 02.07.2023, zuletzt geprüft am 02.07.2023.

Tretiakova, Maria S.; Sahoo, Sunati; Takahashi, Masayuki; Turkyilmaz, Muge; Vogelzang, Nicholas J.; Lin, Fan et al. (2004): Expression of alpha-methylacyl-CoA racemase in papillary renal cell carcinoma. In: *The American journal of surgical pathology* 28 (1), S. 69–76. DOI: 10.1097/00000478-200401000-00007.

Trpkov, Kiril; Yilmaz, Asli; Uzer, Dina; Dishongh, Kristin M.; Quick, Charles M.; Bismar, Tarek A.; Gokden, Neriman (2010): Renal oncocytoma revisited: a clinicopathological study of 109 cases with emphasis on problematic diagnostic features. In: *Histopathology* 57 (6), S. 893–906. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2010.03726.x.

Vatten, L. J.; Trichopoulos, D.; Holmen, J.; Nilsen, T. I. L. (2007): Blood pressure and renal cancer risk: the HUNT Study in Norway. In: *British journal of cancer* 97 (1), S. 112–114. DOI: 10.1038/sj.bjc.6603823.

Wang, Gang; Black, Peter C.; Goebell, Peter J.; Ji, Lingyun; Cordon-Cardo, Carlos; Schmitz-Dräger, Bernd et al. (2021): Prognostic markers in pT3 bladder cancer: A study from the international bladder cancer tissue microarray project. In: *Urologic oncology* 39 (5), 301.e17-301.e28. DOI: 10.1016/j.urolonc.2021.01.021.

Wang, Lisha; Williamson, Sean R.; Wang, Mingsheng; Davidson, Darrell D.; Zhang, Shaobo; Baldridge, Lee Ann et al. (2014): Molecular subtyping of metastatic renal cell carcinoma: implications for targeted therapy. In: *Molecular cancer* 13, S. 39. DOI: 10.1186/1476-4598-13-39.

Weikert, Steffen; Boeing, Heiner; Pischon, Tobias; Weikert, Cornelia; Olsen, Anja; Tjønneland, Anne et al. (2008): Blood pressure and risk of renal cell carcinoma in the European prospective investigation into cancer and nutrition. In: *American journal of epidemiology* 167 (4), S. 438–446. DOI: 10.1093/aje/kwm321.

Went, Philip T.; Sauter, Guido; Oberholzer, M.; Bubendorf, Lukas (2006): Abundant expression of AMACR in many distinct tumour types. In: *Pathology* 38 (5), S. 426–432. DOI: 10.1080/00313020600922470.

Williamson, Sean R.; Cheng, Liang; Gadde, Ramya; Giannico, Giovanna A.; Wasco, Matthew J.; Taylor Smith, Paul J. et al. (2020): Renal cell tumors with an entrapped papillary component: a collision with predilection for oncocytic tumors. In: *Virchows Archiv : an international journal of pathology* 476 (3), S. 399–407. DOI: 10.1007/s00428-019-02648-z.

Williamson, Sean R.; Eble, John N.; Cheng, Liang; Grignon, David J. (2013): Clear cell papillary renal cell carcinoma: differential diagnosis and extended immunohistochemical profile. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 26 (5), S. 697–708. DOI: 10.1038/modpathol.2012.204.

Wilson, Brice A. P.; Wang, Haofan; Nacev, Benjamin A.; Mease, Ronnie C.; Liu, Jun O.; Pomper, Martin G.; Isaacs, William B. (2011): High-throughput screen identifies novel inhibitors of cancer biomarker α -methylacyl coenzyme A racemase (AMACR/P504S). In: *Molecular cancer therapeutics* 10 (5), S. 825–838. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0902.

Yang, Xiaoqun; Miao, Na; Gan, Hualei; Wang, Lei; Wang, Chaofu (2015): Clear cell papillary renal cell carcinoma: a distinct low-grade renal tumour. In: *Zhonghua bing li xue za zhi = Chinese journal of pathology* 44 (6), S. 372–376.

Zellweger, Tobias; Günther, Sarah; Zlobec, Inti; Savic, Spasenija; Sauter, Guido; Moch, Holger et al. (2009): Tumour growth fraction measured by immunohistochemical staining of Ki67 is an independent prognostic factor in preoperative prostate biopsies with small-volume or low-grade prostate cancer. In: *International journal of cancer* 124 (9), S. 2116–2123. DOI: 10.1002/ijc.24174.

Zha, Shan; Ferdinandusse, Sacha; Hicks, Jessica L.; Denis, Simone; Dunn, Thomas A.; Wanders, Ronald J. et al. (2005): Peroxisomal branched chain fatty acid beta-

oxidation pathway is upregulated in prostate cancer. In: *The Prostate* 63 (4), S. 316–323. DOI: 10.1002/pros.20177.

Zhang, W.; Yu, W. J.; Chen, Y. Q.; Kang, E. H.; Liu, Y.; Zhuang, J. et al. (2016): Diagnostic utility of immunohistochemistry in differential diagnosis of renal tumors with oncocytic features. In: *Zhonghua bing li xue za zhi = Chinese journal of pathology* 45 (10), S. 692–697. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2016.10.005.

Zhou, Haijun; Zheng, Shaojiang; Truong, Luan D.; Ro, Jae Y.; Ayala, Alberto G.; Shen, Steven S. (2014): Clear cell papillary renal cell carcinoma is the fourth most common histologic type of renal cell carcinoma in 290 consecutive nephrectomies for renal cell carcinoma. In: *Human pathology* 45 (1), S. 59–64. DOI: 10.1016/j.hum-path.2013.08.004.

9. Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei Herrn Professor Guido Sauter dafür bedanken, dass er mir diese Promotion an seinem Institut ermöglichte. Ich konnte nicht nur Einblicke in die Arbeit eines der größten pathologischen Institute Europas gewinnen, sondern hatte die Ehre bei dieser Arbeit aktiv mitzuwirken und Teil eines großen Ganzen zu werden. Außerdem möchte ich mich auch für die gute Betreuung und Unterstützung bedanken. Neben Prof. Sauter möchte ich in meiner Danksagung besonders Frau Dr. Martina Kluth hervorheben, die ich mich jeglicher Hinsicht unterstützt hat. Zusätzlich möchte ich auch Melanie Witt und Ingeborg Brandt erwähnen und ihnen meinen Dank ausdrücken.

Ferner danke ich meiner Familie und meinen Freunden, die stets an meiner Seite waren.

Abschließend möchte ich meinen Dank auch an meinen Schöpfer richten, dessen Wärme und Barmherzigkeit mich stets durch das Leben begleitete, aus denen ich Stärke schöpfen konnte.

10. Eigenanteilserklärung

Dieses Forschungsprojekt wurde am Institut für Pathologie des UKE realisiert. Mein Beitrag bestand in einer ausführlichen Analyse der AMACR-Expression in sowohl gesundem als auch malignem Gewebe im TMA-Format sowie in der aktiven Beteiligung an der Planung, Herstellung und Auswertung von TMAs.

Um geeignete Tumorproben auszuwählen, analysierte ich das Pathologieinformationsystem des UKE und stellte eine Vorauswahl zusammen. Die identifizierten Gewebeproben wurden anschließend den MTAs zur Prüfung ihrer Eignung vorgelegt.

Die Entscheidung über den passenden Antikörper sowie die optimale Verdünnung wurde in Absprache mit meinem Betreuer getroffen. Zur Validierung dieser Parameter wurden verschiedene Testfärbungen durchgeführt, um die optimalen Bedingungen für die Untersuchungen festzulegen.

Darüber hinaus war ich für die Sammlung und Strukturierung anonymisierter Patientendaten verantwortlich. Ich erfasste histopathologische Parameter der als geeignet eingestuften Gewebeproben in einer Excel-Datenbank, um mögliche Korrelationen zwischen den Färbungsergebnissen und prognostischen Faktoren herauszuarbeiten.

Ich war zudem für die Erfassung Ergebnisse der immunhistochemischen Färbungen in einer Excel-Tabelle, und die Aufbereitung dieser Daten für die anschliessende statistische Analyse verantwortlich. Die Färbungen selbst und die Beurteilung der Färbungen erfolgten durch technisches Personal und eine erfahrene Pathologin des Instituts für Pathologie.

Die statistische Analyse wurde in Kooperation mit Herrn Professor Simon vom Institut für Pathologie des UKE durchgeführt, um wissenschaftlich fundierte Schlussfolgerungen zu ermöglichen.

Das vorliegende Manuskript wurde eigenhändig und ohne fremde Hilfe verfasst

11. Eidestattliche Erklärung

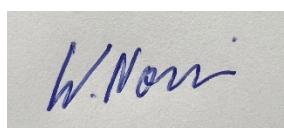
Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe, insbesondere ohne entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten, verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe. Das gilt insbesondere auch für alle Informationen aus Internetquellen.

Soweit beim Verfassen der Dissertation KI-basierte Tools („Chatbots“) verwendet wurden, versichere ich ausdrücklich, den daraus generierten Anteil deutlich kenntlich gemacht zu haben. Die „Stellungnahme des Präsidiums der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zum Einfluss generativer Modelle für die Text- und Bilderstellung auf die Wissenschaften und das Förderhandeln der DFG“ aus September 2023 wurde dabei beachtet.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "W. Nonn", is placed within a rectangular gray box.