

Universitätsklinik und Poliklinik für Urologie
(Direktor: Prof. Dr. P. Fornara)
Institut für Medizinische Immunologie
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. J. Langner)
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

**Untersuchungen zur Assoziation und dem klinischen Verlauf
des Nierenzellkarzinoms mit Merkmalen des
Haupthistokompatibilitätskomplexes des Menschen**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Joachim Felix Hillig
geboren am 02. Januar 1967 in Halle/Saale

Gutachter:

1. Prof. Dr. P. Fornara
2. Prof. Dr. med. habil. Langner
3. Prof. Dr. med. Jocham

verteidigt am 11.12.2001

urn:nbn:de:gbv:3-000002838

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000002838>]

Referat und bibliographische Beschreibung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Identifikation von Merkmalen zur Erfassung individueller Risikoprofile bei Nierenzellkarzinompatienten nach Tumornephrektomie. Aufgrund der Immunogenität des Nierenzellkarzinoms untersuchten wir Merkmale des humanen MHC-Komplexes. Dazu wurde die Verteilung der HLA-Klasse I- und Klasse II-Merkmale unter Nierenzellkarzinompatienten (n = 100) sowie unter 24 im Verlauf metastasierten Patienten mittels serologischer und molekulargenetischer (PCR-SSP) Methoden untersucht und mit der Normalverteilung von gesunden Blutspendern (n = 157) der gleichen Region verglichen.

Die Analyse der HLA-Phänotypfrequenzen ergab, dass die Merkmale HLA-DRB1*01 und HLA-DQB1*05 (Haplotyp HLA-DRB1*01:DQB1*05) statistisch signifikant häufiger unter Patienten mit Nierenzellkarzinom vorkommen. Nach Tumornephrektomie entwickeln die Patienten mit den Merkmalen HLA-DRB1*01, -DRB1*15 und -DQB1*06 signifikant seltener Metastasen. Bei Vorliegen der Merkmale HLA-A*31, -B*35, -Cw*04 und -DQB1*05 (Haplotyp HLA-B*35:Cw*04:DQB1*05) kommt es hingegen häufiger zur Metastasierung. Die Ergebnisse aus den Einzelmerkmalen wurden durch die zusätzlichen Untersuchungen der Frequenzen von Kombinationen zweier bzw. dreier Merkmale unterstützt.

Die Merkmale HLA-A*31, -B*35, -Cw*04, -DRB1*01, -DRB1*15, -DQB1*05 und -DQB1*06 können zur Erstellung von individuellen Risikoprofilen nach Tumornephrektomie eingesetzt werden.

Hillig, Felix: Untersuchungen zur Assoziation und dem klinischen Verlauf
des Nierenzellkarzinoms mit Merkmalen des
Haupthistokompatibilitätskomplexes des Menschen
Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 78 Seiten, 2001

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Raumforderungen der Niere	2
1.1.1. Maligne Tumoren	2
1.1.2. Benigne Tumoren	4
1.2. Die Inzidenzentwicklung des Nierenzellkarzinoms	5
1.3. Prognose und prognostische Parameter von Nierenzellkarzinomen	6
1.4. Der Histokompatibilitätskomplex	8
1.4.1. Der menschliche HLA-Genkomplex	9
1.4.2. Aufbau und Funktion der HLA-Klasse-I- und Klasse-II-Moleküle	11
1.4.3. HLA-Polymorphismus und Kopplungsgleichgewicht	12
1.4.4. Die Nomenklatur des HLA-Systems	13
1.5. Nierenzellkarzinom und HLA-Assoziationen	15
2. Problemstellung und Zielsetzung	16
3. Material und Methoden	17
3.1. Die Gruppen der NZK-Patienten und der Kontrollpersonen	17
3.2. Diagnostik des Nierenzellkarzinomes durch bildgebende Verfahren	19
3.3. Die radikale Tumornephrektomie	19
3.4. Die Nachsorgeuntersuchung nach Tumornephrektomie	20
3.5. Die Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms	20
3.5.1. Die operative Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms	20
3.5.2. Die Immuntherapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms	21
3.6. Die serologische HLA-Typisierung	22
3.6.1. Die Gewinnung der peripheren mononukleären Blutzellen	22
3.6.2. Die Typisierung der HLA-Klasse-I-Antigene	23
3.6.3. Die Auswertung der serologischen HLA-Typisierung	24
3.7. Die molekulargenetische HLA-Typisierung	25
3.7.1. Die DNA-Extraktion	25
3.7.2. Die PCR-Amplifikation	26
3.7.3. Die PCR-Amplifikation mit SSP-Produkten	27
3.7.4. Die Detektion der PCR-Produkte durch Agarose-Gelelektrophorese	28
3.7.5. Typisierte HLA-Merkmale und Qualitätskontrollen	28
3.8. Statistische Auswertung	29

	Seite
4. Ergebnisse	32
4.1. Die Kontrollgruppe	32
4.2. Die Gesamtgruppe der Nierenzellkarzinompatienten	32
4.2.1. Die Altersverteilung der NZK-Patienten	32
4.2.2. Die Verteilung der TNM-Stadien bei NZK-Patienten	33
4.3. Die Gruppe der metastasierten NZK-Patienten	35
4.3.1. Die Altersverteilung der metastasierten NZK-Patienten	36
4.3.2. Die pathohistologischen T-Stadien der metastasierten NZK-Patienten	37
4.3.3. Die pathohistologischen G-Stadien der metastasierten NZK-Patienten	37
4.3.4. Die gekoppelten T- und G-Stadien der metastasierten NZK-Patienten	37
4.4. HLA-Klasse-I-Merkmale (A, B, Cw) bei NZK-Patienten	38
4.5. HLA-Klasse-I-Merkmale (A, B, Cw) bei metastasierten NZK-Patienten	41
4.6. HLA-Klasse-II-Merkmale (DRB1 und DQB1) bei NZK-Patienten	43
4.7. HLA-Klasse-II-Merkmale (DRB1 und DQB1) bei metastasierten NZK-Patienten	45
4.8. HLA-Merkmalkombinationen (Haplotypen) zweier Merkmale	46
4.8.1. HLA-Merkmalkombinationen zweier Merkmale bei NZK-Patienten	47
4.8.2. HLA-Merkmalkombinationen zweier Merkmale bei metastasierten NZK-Patienten	48
4.9. HLA-Merkmalkombinationen (Haplotypen) dreier Merkmale	49
4.9.1. HLA-Merkmalkombinationen dreier Merkmale bei NZK-Patienten	49
4.9.2. HLA-Merkmalkombinationen dreier Merkmale bei metastasierten NZK-Patienten	51
5. Diskussion	53
6. Zusammenfassung	64
7. Literatur	68
8. Thesen	77

Verzeichnis verwendeter Abkürzungen

Abb.	Abbildung
CT	Computertomographie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphat
gf	Genfrequenz
h	Stunde
hf	Haplotypfrequenz
IFN-2 α	Interferon-2 α
IL-2	Interleukin-2
HLA	humanes Leukozytenantigen (engl.: human leucocyte antigen)
kD	Kilodalton
KOF	Körperoberfläche
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex (engl.: major histocompatibility complex)
min.	Minute
MLCT	Mikrolymphozytotoxtest
n.s.	nicht signifikant
NZK	Nierenzellkarzinom
p	Signifikanz
pc	Signifikanz korrigiert
PCR	Polymerasekettenreaktion (engl.: polymerase chain reaction)
PCR-SSP	Polymerasekettenreaktion mit sequenzspezifischen Primern (engl.: polymerase chain reaction- sequence specific primer)
pf	Phänotypfrequenz
p _{Fi}	Signifikanz des Fisher's-exact test
p _y	Signifikanz des χ^2 -Test korrigiert nach Yates
RR	Relatives Risiko
SD	Standardabweichung
sek.	Sekunde
χ^2	Chi-Quadrat:Ergebnis des Chi-Tests
5-FU	5-Fluorouracil

1. Einleitung

Die Aufgaben des menschlichen Immunsystems bestehen im Schutz und Erhalt der Integrität des menschlichen Organismus durch Abwehr körperfremder sowie pathogener körpereigener Einflüsse. Voraussetzung dafür ist einerseits die Erkennung und Unterscheidung von „Körpereigenem“ (ICH) und „Körperfremdem“ (NICHT/ MEHR/ ICH) sowie andererseits das Vorhandensein effektiver Abwehrmechanismen, wie mechanische Barrieren (z. B. Haut und Schleimhäute), eine Vielzahl an Resistenzmechanismen (z. B. Komplementaktivitäten, Phagozytose), die spezifische, adaptive zelluläre (T-Zellen-Rezeptorspezifitäten) und humorale Immunität (Antikörperspezifitäten). Diese verschiedenen Einzelmechanismen wirken bei der Aufgabe einer Abwehr eng zusammen. Es gibt Vor- und Nachteile der spezifischen und unspezifischen Abwehrmechanismen. Der wesentliche Vorteil der spezifischen Abwehrmechanismen liegt in ihrer hohen Effektivität durch die Fähigkeit zur adaptiven Antwort (bedarfsspezifische Regulation) sowie in ihrer immunologischen Gedächtnisfunktion.

Das HLA-System (HLA: engl. human leucocyte antigen) stellt den Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC: engl. major histocompatibility complex) des Menschen dar. Wie der Name ausdrückt, stellt es ein wichtiges System zur Unterscheidung zwischen „Körpereigenem“ und „Körperfremdem“ dar. Es enthält die Voraussetzungen für eine Aktivierung sowie Prägung der zellulären und humoralen Immunität. Weiterhin ist es an jeder neuen Auseinandersetzung mit pathogenen Molekülen beteiligt. Die mit Hilfe des HLA-Systems vordergründig aktivierten Abwehrsysteme bilden spezifisch humorale Immunglobuline oder rezeptorspezifische Effektorzellen. Grundlage der Vermittlung der Spezifität für ein Immunglobulin oder einen T-Zellrezeptor sind durch die HLA-Klasse I- und HLA-Klasse II-Antigene vermittelten Erkennungs- und Präsentationsvorgänge. Nur wenige zelluläre Abwehrmechanismen können auf eine vorherige Präsentation vorselektierter Peptide prozessierter Antigene durch HLA-Klasse-Antigene (Ausnahme z. B. NK-Zellen) verzichten. Die Tumorimmunologie basiert auf der Erkenntnis, dass in Tumoren oder ihren Metastasen unterschiedlich viele infiltrierende Lymphozyten nachzuweisen sind. Bei sogenannten „immunogenen“ Tumoren wie dem Nierenzellkarzinom und dem malignen Melanom sind ausgeprägte Lymphozyteninfiltrationen in den Tumoren besonders häufig beschrieben. Andererseits beweisen die Effektivität immuntherapeutischer Behandlungen metastasierter Patienten die Bedeutung des Immunsystems bei der Abwehr maligner Zellen.

1.1. Raumforderungen der Niere

Tumore des Nierenparenchyms sind grundsätzlich von den Nierenbeckentumoren (Urothelkarzinomen) abzugrenzen. In diesem Zusammenhang sind bisher verschiedene Klassifikationen vorgeschlagen worden, ohne dass ein System allgemeine Anerkennung erlangt hätte. Klinisch bedeutsam ist die Unterscheidung zwischen benignen und malignen Tumoren.

Tabelle 1: Einteilung von Nierentumoren nach Lakey 1975 (53)

Gutartige Nierentumoren:	Bösartige Tumoren:
Angiomyolipom	Nierenzellkarzinom
Fibrom	Sarkom
Lipom	- Fibrosarkom
Leiomyom	- Liposarkom
Angiom	- Leiomyosarkom
Rhabdomyom	- Osteogenes Sarkom
Neurofibrom	Lymphoblastom
Dermoid	- Lymphom
Endometriose	- Myelom
Adenom	Nephroblastom (Wilms-Tumor)
	Sekundäre maligne Tumoren

1.1.1. Maligne Tumoren

Die primär malignen Tumoren des Nierenparenchyms werden von den Nierenzellkarzinomen (Synonyme: Adenokarzinom, Hypernephrom, Gravit-Tumor) zu mehr als 80 % dominiert. Es ist der dritthäufigste urologische Tumor. Männer erkranken ungefähr doppelt so häufig wie Frauen (9). Der Tumor tritt am häufigsten in der 5. und 6. Lebensdekade auf (81). Eine Zunahme der Inzidenz von Nierentumoren wurde vor allem in den Industrienationen beobachtet. WHITMORE (121) vermutete aufgrund der steigenden Inzidenz in industrialisierten Ländern im Vergleich zu der niedrigen Inzidenz in Dritte-Welt-Ländern, dass Umwelteinflüsse bei der Entstehung des Nierenzellkarzinoms kritische Faktoren darstellen. Das seltene familiäre Nierenzellkarzinom tritt sowohl in Verbindung mit als auch ohne Morbus von HIPPEL-LINDAU auf (84). Bei den erkrankten Familienmitgliedern wurden in fast allen Fällen Chromosomen-Aberrationen am Chromosom 3 festgestellt.

Diese chromosomalen Veränderungen konnten nachträglich auch bei dem nicht familiären Nierenzellkarzinom gefunden werden (22). Weiterhin ist ein signifikant gehäuftes Auftreten des Nierenzellkarzinoms bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz (17) festzustellen.

Die Nierenzellkarzinome werden pathohistologisch hinsichtlich ihres Zelltyps und ihrer Wachstumsform unterschieden (Tabelle 2).

Tabelle 2: Einteilung von Nierenzellkarzinomen (112)

Zelltyp	Klarzellig
	Chromophil
	Chromophob
	Spindel-/ polymorphzellig
Wachstumsform	Kompakt
	Tubulo-papillär
	Zystisch

Ca. 80 bis 85 % der Nierenzellkarzinome sind dem „klassischen hellzelligem Nierenzellkarzinom“ mit kompakter Wachstumsform zuzuordnen.

Bei Kindern und Jugendlichen sind maligne Nierentumoren in der Mehrzahl Nephroblastome (Synonym: Wilms-Tumor). Diese Tumoren enthalten embryonales Mischgewebe. Die Prognose von Wilms-Tumoren ist vor allem bei frühzeitiger Diagnose und Therapie sehr günstig (insgesamt 80 % Langzeitremissionen). Die Gruppe der Nierensarkome umfasst maligne mesenchymale Tumoren, die in einem Prozentsatz von weniger als 5 % unter den Raumforderungen der Niere zu verzeichnen sind. Die Sarkome werden eingeteilt in Fibrosarkome, Liposarkome, Leiomyosarkome und osteogene Sarkome. Prognostisch gilt für alle Nierensarkome eine sehr frühzeitige Metastasierung in alle Organsysteme.

Als seltene Sonderform des Nierenzellkarzinoms wurde das Duct-Bellini-Karzinom erfasst (110). Diese Sonderform tritt in weniger als 1 % der Nierenzellkarzinome auf. Das Duct-Bellini-Karzinom geht vom distalen Tubulusapparat aus. Prognostisch bedeutsam ist die frühzeitige Metastasierung in alle Organsysteme. Ein gesichertes therapeutisches Konzept zur Behandlung des metastasierten Ductus-Bellini-Karzinoms existiert bisher nicht.

1.1.2. Benigne Tumoren

Angiomyolipom

Angiomyolipome der Niere können als eigenständige Erkrankung vorkommen, werden aber auch gehäuft bei Patienten mit tuburöser Sklerose beobachtet. Angiomyolipome oder Hamartome treten bei diesen Patienten auch in Hirn, Auge, Herz, Lunge und Knochen auf (5). Aus diesem Grunde gehört zur Untersuchung von Patienten mit tuburöser Sklerose obligat eine Untersuchung der Nieren mit bildgebenden Verfahren. Angiomyolipome treten häufig bilateral und multifokal auf, jedoch wurden Fernmetastasen nicht beobachtet (11). Mit großer Sicherheit erlaubt der hohe Fettgehalt der Tumoren in der Computertomographie als auch Sonographie eine präoperative Artdiagnose. Eine operative Therapie ist nur im Falle eines progredienten Wachstums bzw. einer Größe von mehr als 4 cm notwendig.

Fibrom

Fibrome der Niere können von Parenchym, Nierenkapsel und perirenalem Fettgewebe ausgehen. Diese seltenen Tumoren sind grundsätzlich gutartig, jedoch ist gelegentlich in der Schnellschnittuntersuchung eine differentialdiagnostische Abgrenzung vom hochdifferenzierten Fibrosarkom problematisch. Wegen der unklaren Artdiagnose besteht die Behandlung in einer radikalen Nephrektomie.

Lipom

Reine Lipome der Niere sind außerordentlich selten. Ihr Ursprung ist unklar, doch könnten sie aus Fettzellen in Kapsel oder Parenchym hervorgehen. Lipome treten überwiegend bei Frauen in der 4. oder 5. Lebensdekade auf und haben oft eine erstaunliche Größe (28). Lipome werden von einigen Autoren auch als Variante des Angiomyolipoms eingestuft. Die Behandlung besteht in ihrer vollständigen Resektion. Dabei ist aufgrund der Größe der Tumoren in vielen Fällen eine Nephrektomie erforderlich. Gelegentlich ist auch hier im Schnellschnitt eine Abgrenzung zum hochdifferenzierten Liposarkom nicht möglich. Ein radikales operatives Vorgehen wie beim Liposarkom ist dann zwingend erforderlich.

1.2. Die Inzidenzentwicklung des Nierenzellkarzinoms

Das Nierenzellkarzinom (NZK) ist mit einem Anteil von 85 Prozent der häufigste maligne Tumor der Niere (71). Bis zum Ende der 80-er Jahre ist vor allem in den Industrienationen geschlechterunabhängig eine Zunahme der Inzidenz von Nierenzellkarzinomen beobachtet worden (121). Männer erkranken ungefähr doppelt so häufig wie Frauen (81). Der Tumor tritt am häufigsten in der 5. und 6. Lebensdekade auf (9).

Im bundesdeutschen Krebsregister zeigt jedoch neben der Inzidenz auch die Mortalität des Nierenzellkarzinoms eine steigende Tendenz. Dieser Trend ist bei beiden Geschlechtern zu beobachten (102).

Auch die MNUC-Studie der Universitäten Halle und Jena (87) zeigte bis 1994 einen Anstieg der Inzidenz für das Nierenzellkarzinom in beiden Ballungsgebieten und für beide Geschlechter.

Bis in die 80-er Jahre wurde das NZK aufgrund fehlender Frühsymptome nur selten in seinem Frühstadium diagnostiziert (71, 92). Schmerzen, Hämaturie und palpabler Flankentumor gelten zwar als die klassische Symptomtrias, jedoch wird sie lediglich bei 5-32% aller Patienten beobachtet (83).

Sonographie und Computertomographie können heute in ca. 95% der Fälle die Dignität einer renalen Raumforderung korrekt bestimmen (4, 67). Diese technischen Methoden sind in der ambulanten und stationären Betreuung von Patienten zunehmend Routine.

Seit Mitte der 80-er Jahre werden zunehmend Patienten mit sonographischem Zufallsbefund einer Raumforderung der Niere durch einen Hausarzt oder Internisten primärbefundet.

In gleicher Weise diagnostizieren ambulante Urologen viele Raumforderungen der Niere bei Vorsorgeuntersuchungen von Männern über 50 Jahren. So kommt es, dass zur Tumornephrektomie mehr Patienten mit einem lokal begrenzt wachsenden NZK eingewiesen werden (87, 96).

Die radikale Tumornephrektomie ist die derzeit einzige anerkannte Therapieform mit kurativer Intention und gilt daher als die Therapie der Wahl beim lokal begrenzten Tumor (59). In Abhängigkeit vom Tumorstadium bewegen sich die 5-Jahresüberlebensraten nach radikaler Tumornephrektomie zwischen 0 und 90 Prozent (3, 40, 75). Für Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom beträgt die 5-Jahresüberlebensrate unverändert weniger als 10 Prozent (44).

Weder Radiotherapie noch Chemotherapie (116) konnten die in sie gesetzten Hoffnungen bei der Behandlung analog anderer Tumore erfüllen. Als Grundlage mehrerer Fallkontrollstudien wurden verschiedene chemische Substanzen hinsichtlich eines ursächlichen Zusammenhanges mit der Entstehung von Nierenzellkarzinomen untersucht. Zwischen Kadmium, aromatischen Kohlenwasserstoffverbindungen, Blei, Asbest, Sexualhormonen sowie Nikotin und der Erkrankung konnten keine klaren Korrelationen aufgestellt werden (81, 87).

Dennoch muss aufgrund der deutlich höheren Inzidenz in den Industrieländern im Vergleich zu den Ländern der „Dritten Welt“ angenommen werden, dass Umwelteinflüsse im Sinne eines multifaktoriellen Geschehens als kritische Faktoren zur Entstehung der NZK beitragen. Konkret ursächliche Faktoren für die Entstehung des Nierenzellkarzinoms sind derzeit weiterhin noch ungeklärt.

1.3. Prognose und prognostische Parameter von Nierenzellkarzinomen

Die Erfassung des Tumorstadiums (Staging) zum Zeitpunkt der Operation als Parameter der Prognoseabschätzung ist in der Onkologie weltweit anerkannt und für das Nierenzellkarzinom durch das Protokoll von ROBSON et al. (97) und die TNM-Klassifikation der UICC repräsentiert. Das Staging-Protokoll von ROBSON et al. (97) erfuhr bisher die breiteste Anwendung, was durch die Publikationen von SKINNER et al. (106), FUSELIER et al. (37), BAISH et al. (3), GOLIMBU et al. (40) und MEDEIROS et al. (60, 61) belegt werden kann. Durch den Einsatz des TNM-Stagings wurden 4 Prognosestadien erwartet, jedoch sind in der Praxis nur 3 Prognosestadien zu erfassen.

Die Trennschärfe zwischen den Stadien 1 und 2 bleibt, wie bei HERMANEK und SCHROTT (44) bereits 1990 gezeigt und trotz der Revision von 1997, mittels TNM-Staging unzureichend. Die Überlebenskurven z. B. publiziert von STÖRKEL et al. (110) zeigen im Vergleich von ROBSON- und TNM-Klassifikation übereinstimmende Verläufe bezogen auf die Stadien 2 und 3 einschließlich des Überlappens der Kurven nach 5 Jahren (37, 47, 110). Die Literatur belegte durch POSSINGER et al. (91) und LJUNGBERG et al. (54), dass dem Faktor Veneneinbruch keine große prognostische Bedeutung zukommt.

Wichtig scheint hingegen der Nachweis einer Infiltration des perirenenalen Fett- und Bindegewebes (54, 91), wobei dem Durchbruch der peritumorösen Bindegewebskapsel das größte Gewicht zukommt (54, 91, 104).

Das Grading ist ein weiterer wesentlicher Parameter zur Prognoseabschätzung. In der Literatur gibt es eine Fülle von Vorschlägen, wovon die von THOENES et al. (112), HERMANEK et al. (45) und FUHRMAN et al. (36) erwähnt werden sollen. Kombinierte makroskopische/histologische/zytologische Gradingssysteme wie z. B. von HERMANEK et al. (45) konnten sich aufgrund nicht sicher reproduzierbarer Kriterien (110) nicht durchsetzen. Der wichtigste Vorteil der dreistufigen Klassifikation von THOENES et al. (112) gegenüber der vierstufigen von FUHRMAN et al. (36) ist die klare Abgrenzbarkeit aller drei Gruppen. Die subjektive Gradingeinteilung von THOENES et al. (112) konnte durch morphometrische Untersuchungen wie z. B. Kernflächenbestimmungen durch KAGAWA et al. (48) und TOSI et al. (114) sowie durch die Erfassung der Kernchromasie mittels Durchflusszytometrie (85, 109) objektiviert und bestätigt werden. In gleicher Weise ist die Detektion des Proliferationsmarkers Ki-67 oder die Beurteilung der Aneuploidie einzustufen, da die Ergebnisse von BAISH et al. (3) und LOY et al. (55) letztlich das Kerngrading bestätigten.

Der Wert der histologischen und zytologischen Merkmale, insbesondere die Bedeutung der verschiedenen Zelltypen, wird in der Literatur kontrovers diskutiert (36, 37). STÖRKEL et al. (110) weist auf den nicht zu vernachlässigenden Unterschied zwischen klarzelligen und chromophilen Nierenzellkarzinomen hin, jedoch wird stärker auf die schlechte Prognose des Duct-Bellini-Karzinoms und des spindelzellig/polymorphen Nierenzellkarzinoms hingewiesen. Auch immunologische Marker, wie ICAM-Expression von PORTRATZ et al. (90) publiziert, konnten sich für die Prognosebeurteilung nicht etablieren.

Der Mainzer-Prognose-Score (110, siehe Abb. 1/ Seite 8) ist der bisher umfassendste Ansatz zur Prognoseabschätzung bei Patienten mit Nierenzellkarzinom.

Abb. 1: Mainzer-Prognose-Score (110)

Berechnung		Punkte
Anatomische Ausbreitung	UICC pT1-2 N0M0	1
	UICC pT3a N0M0	2
	UICC pT3bc und/oder pN1-3	4
	UICC pT4 und/oder M1	6
Grading (THOENES)	G1	1
	G2	3
	G3	5
Zelltyp	Klarzellig	2
	Chromophil	1
	Chromophob	1
	Spindel-/polymorphzellig	2
Wachstumsform	Kompakt	2
	Tubulo-papillär	1
	Zystisch	1
Alter, Jahre	<=30	1
	31-40	2
	41-50	1
	51-70	2
	>70	1
Prognosegruppen	Gut	Gesamt 5-9
	Intermediär	Gesamt 10-14
	Schlecht	Gesamt 15-17

1.4. Der Haupthistokompatibilitätskomplex

Bei der experimentellen Untersuchung zur allogenen Gewebetransplantation bei Mäusen (41, 107) kam es zur Entdeckung der murinen Haupthistokompatibilitätsantigene. Zwischen Spender und Empfänger wurde das Allo-Transplantat bei Diskrepanz dieser starken Transplantationsantigene abgestoßen. Die genetische Kodierung letzterer erfolgt durch Gene des gleichnamigen Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC).

Erst in den 50-er Jahren folgte die Beschreibung des ersten menschlichen Leukozytenantigens Mac (später HL-A2 genannt) durch Dausset (24, 25), van Rood (117) und Payne (86). Seit der Entdeckung des MHC wurden und werden umfangreiche Erkenntnisse über die Funktion und Regulation des Immunsystems gewonnen, durch die sich wiederum weitere notwendige Erklärungen für Pathomechanismen in der Humanmedizin ergeben.

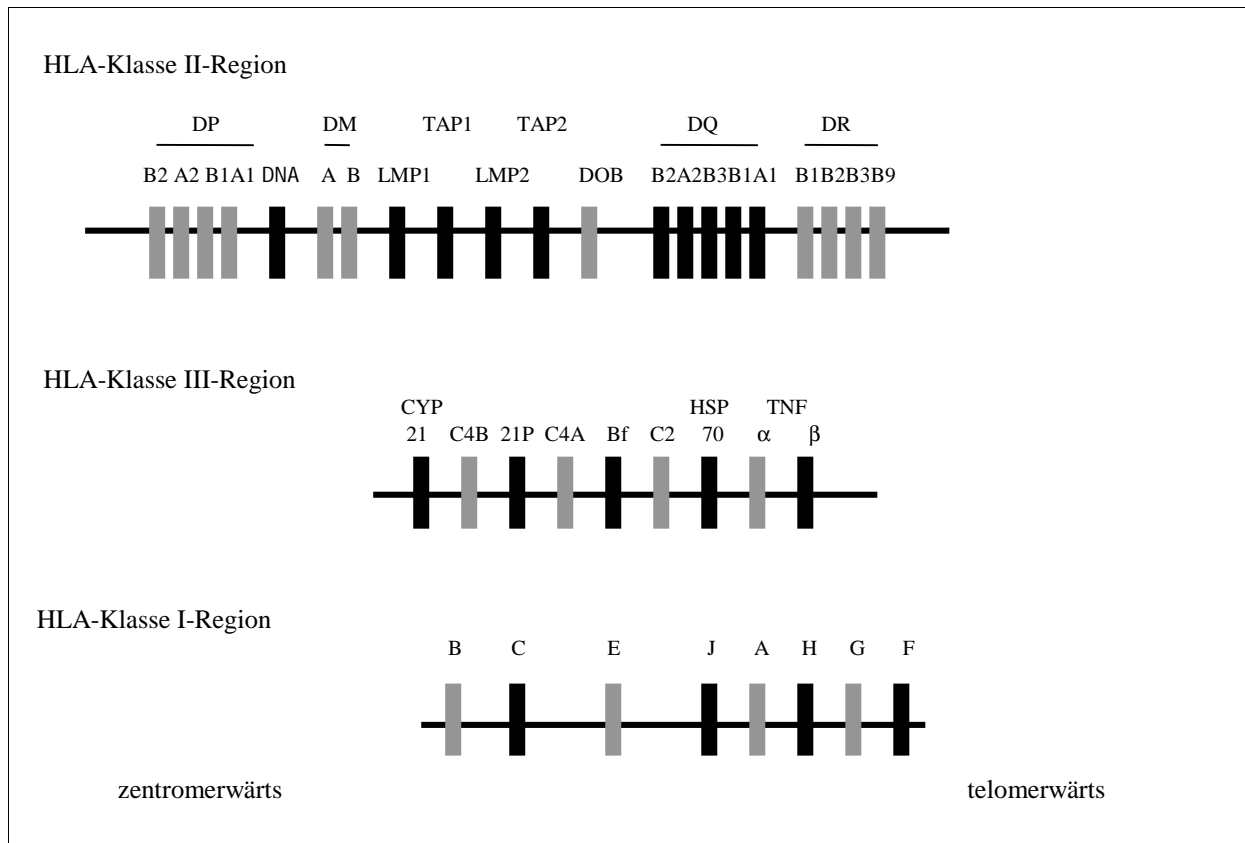
MHC-Moleküle sind entscheidend an der Prägung des Immunsystems, der Aktivierung spezifischer Abwehrmechanismen und somit an der Auseinandersetzung mit Proteinantigenen körperfremden (allogener, xenogener) sowie körpereigenen Ursprunges beteiligt. Um eine antigenspezifische Immunantwort auszulösen, ist die Aktivierung von spezifischen T-Lymphozyten aus ihrem Ruhezustand notwendig. Die Erkennung eines Peptidantigenes erfolgt jedoch erst nach Prozessierung und Bindung als Proteinbruchstücke (Peptide) an die Zelloberfläche antigenpräsentierender Zellen. Die unterschiedlichen MHC-Moleküle sind in der Lage, ein Repertoire an differenten Peptiden zu binden. Damit bestimmt die Bindungsfähigkeit der MHC-Moleküle die Zahl der möglichen Peptide, die präsentiert werden könnten. Durch einen ternären Komplex aus MHC-Molekül, dem prozessierten und daran gebundenen Peptidantigen sowie dem spezifisch antigenerkennenden T-Lymphozyten-Rezeptor kommt es zur gezielten Aktivierung von präformierten T-Lymphozytenpopulationen. Dieses Phänomen wird als MHC-Restriktion bezeichnet.

1.4.1. Der menschliche HLA-Genkomplex

Bezogen auf den Menschen wird der Major Histocompatibility Complex als HLA-Genkomplex bezeichnet (engl.: human leucocyte antigen). Der HLA-Genkomplex ist auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 lokalisiert. Er besteht aus ca. 3.500 Kilobasenpaaren. Der Komplex umfasst verschiedene Untergruppen. Hierzu gehören die HLA-Genloci im engeren Sinne für die HLA-Klasse I und Klasse II und die Loci der als Klasse III bezeichneten heterogenen Gruppe von Genen (Abb. 2 / Seite 10). Die Gruppe der Klasse III-Gene enthält einerseits Gene, deren Produkte Funktionen im Rahmen der körpereigenen Abwehr übernehmen (z. B. Komplementfaktoren C2, C4A, C4B, Bf, Tumornekrosefaktoren TNF- α und - β , Hitzeschockproteine HSP70-1/2) als auch Gene, deren Genprodukte nicht direkt an immunologischen Abläufen beteiligt sind (z. B. Steroid-21-Hydroxylasen CYP21A/B, Valyl-tRNA-Synthetase). Ein weiterer Teil der Gene kodiert für derzeit noch nicht bekannten Genprodukte oder ist ohne Funktion (21, 121).

Abb. 2: Der Haupthistokompatibilitätskomplex des Menschen

Schema der Anordnung der HLA-Klasse I, II und III-Genregion nach (21, 119)



Vom Zentromer ausgehend reihen sich nacheinander die Regionen der HLA-Klasse II-Gene, denen sich die Klasse III-Region und weiter telomerwärts die Region der HLA-Klasse I-Gene anschließt, auf. Die HLA-Klasse I-Region umfasst die Genloci für die α -Ketten der klassischen HLA-Klasse I-Merkmale (HLA-A, -B, -C). Dazwischen liegen Genorte, die entweder wie z. B. HLA-H- und HLA-J-Pseudogene sind, oder die funktionelle Produkte kodieren wie z. B. HLA-E, HLA-F oder HLA-G. Diese sind aber nicht in allen Geweben nachweisbar (12).

Die HLA-Klasse II-Region ist aus Subregionen aufgebaut. Die hier wesentlichste Region ist die der Gene für die HLA-DR, -DQ und -DP-Merkmale. Andere Subregionen kodieren für Produkte, wie z. B. HLA-DM, die eine Bindung des Peptides an das MHC-Molekül vermitteln. Wieder andere kodieren für solche Moleküle, die an der Antigenprozessierung beteiligt sind, wie z. B. die Genorte für Transporterproteine (engl. Transporter associated with antigen processing) sowie Gene für Proteosomen (engl. Large multifunctional protease) (21).

1.4.2. Aufbau und Funktion der HLA Klasse I- und Klasse II-Moleküle

Äußerlich bestehen Ähnlichkeiten zwischen den HLA-Klasse I- und Klasse II-Molekülen, jedoch überwiegen die Unterschiede. Die Differenzen liegen sowohl in ihrem Aufbau, in ihrer Gewebeverteilung als auch in ihrer Funktion (119).

Klasse I-Moleküle sind Heterodimere. Sie bestehen aus zwei Ketten. Die schwere α -Kette, ein glycosiliertes Protein von 44 kD, ist transmembranär und polymorph. Die leichte Kette, das β 2-Mikroglobulin von 11,5 kD, liegt extrazellulär und ist nicht polymorph. Der Genort für das β 2-Mikroglobulin liegt außerhalb des MHC auf Chromosom 15. Der extrazelluläre Teil der α -Kette besteht aus den 3 Domänen α 1, α 2 und α 3. Auf den Domänen α 1 und α 2 befinden sich die hypervariablen Regionen.

Die Klasse II-Moleküle sind glycosilierte transmembranäre Proteine. Die von ihnen gebildeten Dimere bestehen aus zwei Polypeptidketten. Die α - und die β -Kette sind beide in der MHC-Region genetisch kodiert. Das Molekulargewicht der α -Kette beträgt 28 kD und das der β -Kette 33 kD. Jede der beiden Polypeptidketten besteht jeweils aus zwei extrazellulär gelegenen Domänen. Diese α 1- und α 2-Domänen weisen hypervariable Regionen auf.

Bei den Klasse I- wie bei den Klasse II-Molekülen sind die hypervariablen Regionen die Grundlage für deren Polymorphismus und das jeweilige Repertoire des Peptidbindungsortes.

Aus der unterschiedlichen Gewebeverteilung der Klasse I- und Klasse II-Moleküle könnte man auf eine unterschiedliche Funktion schlussfolgern.

Auf allen kernhaltigen Zellen und Thrombozyten sind in mehr oder weniger starkem Ausmaß Klasse I-Moleküle exprimiert. Eine Ausnahme bilden die Trophoblasten der Plazenta, Spermien und neuronalen Zellen. Durch die Klasse I-Moleküle werden Peptide mit einer Länge von 8 bis 9, in seltenen Fällen bis 13 Aminosäuren an die CD8+ zytotoxischen bzw. suppressorischen T-Lymphozyten präsentiert. Im endoplasmatischen Retikulum werden die Peptide an die MHC-Moleküle gebunden. Diese Peptide stammen aus der Zelle selbst. Sie stammen von zytoplasmatischen Proteinen der Zelle ab, wie z. B. Auto-Peptide und von intrazellulär synthetisierten Fremdproteinen, z. B. viralen Genprodukten. Somit kommt es bei der Aktivierung der zellulären Immunität mit zytotoxischen T-Lymphozyten als Effektorzellen zur Klasse I-Restriktion.

Auf unterschiedlichen Geweben werden HLA-Klasse II-Moleküle eingeschränkt oder gar nicht exprimiert. Primär treten sie auf B-Lymphozyten auf. Andererseits sind sie auf den T-Lymphozyten nur nach Aktivierung zu finden. Auch antigenpräsentierende Zellen, wie z. B. dendritische Zellen, Langerhanszellen der Haut und Alveolarmakrophagen werden im Zuge der Aktivierung zur HLA-Klasse II-Expression angeregt (119). Durch HLA-Klasse II-Moleküle werden Peptide mit einer größeren Länge zwischen 12 und 26 Aminosäuren an CD4⁺-T-Helfer-Lymphozyten präsentiert.

Peptide, die aus dem Abbau (Processing) von in den Intrazellularraum durch Phagozytose eingebrachte Fremdproteine stammen, werden in den späten Endosomen bzw. frühen Lysosomen an die MHC-Moleküle gebunden und an der Zelloberfläche präsentiert. Unter HLA-Klasse II-Restriktion kommt es dadurch zur Aktivierung von T-Helfer-Lymphozyten, die unerlässlich für die Generation von Plasmazellen und damit der humoralen Immunität sind. Die Präsentation von Peptiden bzw. Antigenen durch die verschiedenen HLA-Molekül-Klassen hat unterschiedliche Effektormechanismen zur Folge.

1.4.3. HLA-Polymorphismus und Kopplungsungleichgewicht

Der Großteil der DNA-Sequenzen sowie die daraus resultierenden Proteinsequenzen des MHC-Komplexes weisen ausgeprägte Homologien auf. Funktionell steht dem eine außerordentlich hohe Variabilität gegenüber. Die Variabilität ist im Wesentlichen durch den genetischen Polymorphismus für die hypervariablen Regionen bedingt. Hinzu kommen die kodominante Vererbung als auch Expression sowie die Lokalisierung in den verschiedenen Genloci. Wenn man die Allelausstattung von jeweils einem Chromosom an den verschiedenen Genorten für das MHC-System eines Menschen zusammenfasst, dann erhält man den entsprechenden HLA-Haplotyp. Da im Bereich des HLA-Komplexes Rekombinationen selten zu beobachten sind (< 3%), werden einzelne Haplotypen normalerweise als Einheit vererbt.

Das Gen für die β 2-Mikroglobulinkette der Klasse I-Merkmale weist keine polymorphen Regionen auf. Der Bereich der α -Kettengene der HLA-Klasse I-Merkmale (HLA-A, -B und -C) besitzt jeweils einen polymorphen Abschnitt, der das Allel spezifiziert. Die Klasse II-Region gliedert sich in die Subregionen HLA-DR, -DQ und -DP, von denen jede eigene α -Ketten und β -Kettengloci besitzt.

Die α -Kette der DR-Region, DRA-Kette genannt, und entsprechend das α -Ketten-Gen aus der HLA-Klasse II-Genregion ist bei allen DR-Merkmalen gleich bzw. nichtpolymorph. Die β -Genkettenregion besitzt mehrere polymorphe Kettengene (DRB1-DRB9). Aktuell ist bei DRB2 und DRB6-9 von Pseudogenen auszugehen. Das DRB1-Gen kodiert für die phänotypischen Merkmale DR1 bis 18, das DRB3-Gen für die DR52-Gruppe, das DRB4-Gen für die DR53-Gruppe und das DRB5-Gen für die DR51-Gruppe.

Die Subregion HLA-DQ enthält 5 Genorte, von denen DQA1 und DQB1 exprimiert werden, jedoch DQA2, DQB2 sowie DQB3 Pseudogene darstellen. In gleicher Weise sind in der DP-Region 4 Genorte, von denen DPA1 und DPB1 exprimiert werden und DPA2 wie DPB2 Pseudogenen entsprechen.

Das Kopplungsungleichgewicht (engl.: linkage disequilibrium) ist ein wesentliches Merkmal des HLA-Genkomplexes. Dies bedeutet eine Kopplung von Allelen räumlich und funktionell verschiedener Genorte. So werden typischerweise Allele der HLA-Klasse I mit HLA-Klasse II als Einheit (en bloc) vererbt. Statistisch betrachtet wird jedoch eine Frequenz von gemeinsam vererbten Merkmalen beobachtet, die vom Erwartungswert abweicht. Der Erwartungswert ist das Produkt der Allelfrequenzen ($g_1;g_2$) der miteinander gefundenen Allele. Die Differenz zwischen Beobachtungs- und Erwartungswert wird Delta (Δ) genannt und ist ein Maß für das Kopplungsungleichgewicht [$\Delta = g(1+2) - g(1) \times g(2)$].

1.4.4. Die Nomenklatur des HLA-Systems

Die sich im Verlauf der Zeit immer mehr entwickelnde HLA-Typisierungstechnik ist in gleicher Weise in der Nomenklatur zu erkennen. Historisch war es nur möglich, die HLA-Antigene als Zelloberflächenantigene von vitalen Zellen durch serologische Techniken zu erfassen. Heute stehen molekularbiologische Techniken zur genotypischen Erfassung der Merkmale und Allele im Vordergrund.

Bei den serologischen Bestimmungsmethoden können mit spezifischen Antikörpern Merkmale nachgewiesen werden, die in Haupt- und Feinmerkmale (Splits) gegliedert werden können. Werden einander ähnliche Antigenstrukturen aufgrund einer gemeinsamen „public“ Antigenstruktur von einem Antikörper erkannt, so entspricht dies dem Hauptmerkmal.

Ein Teil der gemeinsam erkannten Hauptmerkmale (z. B. A9) kann zusätzlich eine „private“ Antigenstruktur bzw. Feinstruktur besitzen, die durch einen spezifischen Antikörper als „Split“ definiert werden kann (z. B. A9=A23 oder A24).

In der Gruppe der HLA-B-Merkmale gibt es zudem einen dritten antigenen Bereich, der als „supertypische Determinante“ in Form des Bw4 oder Bw6 ermittelt wird.

Die HLA-DRB1-Merkmale (DR1 bis DR18) sind mit bestimmten DR-Supertypen assoziiert (DR51-DR53 bzw. DRB3-DRB5), die jedoch ein eigenes Molekül bilden. DRB1- und DRB3/4/5-Merkmale sind durch die gemeinsame genetisch determinierte DRA-Kette assoziiert und unterscheiden sich durch die Ausprägung weiterer Moleküle, deren DRB-Ketten auch durch getrennt voneinander auf dem Chromosom liegende Nachbarregionen determiniert werden.

Das WHO-Nomenklaturkomitee für Faktoren des HLA-Systems, das die Benennung neuer Gene, Allele und serologischer Spezifitäten festlegt, unterschied im Jahr 1997 serologisch 28 HLA-A-, 61 HLA-B-, 10 HLA-Cw-, 21 HLA-DR- und 9 HLA-DQ-Spezifitäten (12). Die Merkmale DR51, DR52 und DR53 bilden mit HLA-DR assoziierte supertypische Determinanten.

Seit dem Einsatz molekulargenetischer Techniken ist die Typisierung unabhängig von der Vitalität des Zellmaterials. Die Reproduzierbarkeit und Genauigkeit ist größer und ermöglicht eine weiterführende Differenzierung bekannter Antigene und Splits durch die Beschreibung neuer Allele.

Im Bereich der Nukleotidsequenzen waren im Jahre 2000 209 HLA-A, 414 HLA-B, 101 HLA-C, 273 HLA-DRB1, 30 HLA-DRB3, 10 HLA-DRB4, 15 HLA-DRB5, 45 HLA-DQB1, definiert worden (57).

Die Nomenklatur der klassischen serologisch definierten HLA-Merkmale sieht vor: Name des Genortes (HLA-A, -B, -Bw, -C, -DR, -DQ) und nachgestellt die Nummer des Merkmals (z. B. HLA-A9). Die Angabe der Nummer eines Splits erfolgt vor dem in Klammern angegebenen Hauptmerkmal, wie z. B. HLA-A25(10), oder ohne Angabe des Hauptmerkmals (z. B. HLA-A25).

Entsprechend der Nomenklatur für ein Allel werden in der Reihenfolge angegeben: Name des Genortes und Allelnummer, die beide durch ein *getrennt werden. Die ersten beiden Ziffern der Allelnummer geben die Hauptgruppe, die nachfolgenden beiden Ziffern die Nebengruppe des Merkmals an (DQB1*0301).

1.5. Nierenzellkarzinom und HLA-Assoziationen

Mit der Entwicklung der Transplantationsimmunologie ist die HLA-Typisierung primär serologisch sehr schnell bis auf die Bestimmung von Splits von HLA-Klasse I- und HLA-Klasse II-Antigenen möglich geworden.

Nachdem man Assoziationen bestimmter Erkrankungen, darunter auch maligne Erkrankungen wie M. HODGKIN, nachweisen konnte, kam es zu einer Vielzahl von diesbezüglichen Studien. Darunter waren auch Studien, die eine Beteiligung des HLA-Komplexes an der Entstehung maligner Tumore, darunter auch Nierenzellkarzinome, untersuchten. Jedoch wurde eine direkte Beteiligung an der Pathogenese des NKZ bzw. eine indirekte Beteiligung aufgrund unterschiedlicher Patientengruppen kontrovers diskutiert.

1983 beschreiben KANTOR et al. (49) die Verteilung der serologischen HLA-Antigene für Patienten mit Nierenzellkarzinom. Die analysierte Gruppe enthält nur Patienten mit einem „early onset“ unter 45 Jahren. Die Auswertung ergab nur eine signifikante Verringerung für HLA-DR1 (entspricht DRB1*01) sowie HLA-DR8 (entspricht DRB1*08). Hinsichtlich des Merkmals HLA-DR8 ist festzustellen, dass dieses serologisch nur in weniger als 10 % der Normalpopulation sicher nachzuweisen ist.

1996 veröffentlichte ONISHI et al. (78) die Ergebnisse der HLA-Verteilung von 93 immuntherapierten Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom. Für die Gruppe von Patienten mit einem Ansprechen auf Interferon waren B60 (entspricht Split von B*40), DR6 (entspricht DRB1*13+14) und DR8 (entspricht DRB1*08) erhöht. Unter den Patienten ohne Ansprechen waren B35 (entspricht B*35), Bw48 (entspricht B*48), Bw60 (entspricht Split zu B*40), DRw6 (entspricht DRB1*13+14), DRw8 (entspricht DRB1*08) und DR9 (entspricht DRB1*09) vermindert. Kombinationen, Kopplungen oder Kopplungsungleichgewichte wurden nicht ausgewertet.

Durch die Entwicklung molekulargenetischer Analyse-Techniken wurde die HLA-Typisierung zuverlässiger, und es wurden für nahezu alle serologischen Merkmale verschiedene Genotypen (Allele) verifiziert. Unterschiedliche Ansätze gehen von einer unterschiedlich genauen Aufschlüsselung der HLA-Merkmale aus: eine „low-resolution“ entspricht dem Antigen, während eine „high-resolution“ dem Allel entspricht.

1997 publizierte OZDEMIR et al. (80) die Ergebnisse einer PCR-RFLP-Analyse des HLA-DRB1-Locus bei 96 japanischen NZK-Patienten. Im Ergebnis konnten für HLA-DRB1*0101 und HLA-DRB1*0405 eine signifikant niedrigere Allel-Frequenz bestimmt werden. OZDEMIR et al. postulierten die protektive Wirkung dieser beiden Allele.

BAIN et al. analysierten 1997 (2) unter 79 NZK-Patienten die Verteilung der Allel-Frequenzen für HLA-Klasse I und HLA-Klasse II. Alle Patienten wurden wegen eines metastasierten Nierenzellkarzinoms mit Interferon- α immuntherapiert. Als wesentliches Ergebnis stellten BAIN et al. die erhöhte Frequenz für HLA-A*03 und HLA-A*32 unter Patienten mit Ansprechen auf die Therapie heraus. Für die Gesamtgruppe wurden keine signifikanten Allel-Frequenzabweichungen angegeben.

2. Problemstellung und Zielsetzung

Das Nierenzellkarzinom ist der häufigste maligne Tumor der Niere. Weder ursächliche Faktoren bei der Entstehung von Nierenzellkarzinomen noch spezifische Kriterien zur Erstellung individueller Risikoprofile nach Tumornephrektomie konnten bisher sicher identifiziert werden. Das Nierenzellkarzinom gilt aufgrund der typischerweise histologisch nachweisbaren tumorinfiltrierenden Lymphozyten als immunogen.

Das bisherige Prinzip in der Urologie im Zuge von Diagnostik und Therapie des Nierenparenchymkarzinoms führt über die präoperative Diagnostik (Laboruntersuchungen und Harnanalyse, Sonographie, Urographie, Computertomographie und Magnetresonanztomographie) und die histopathologische Diagnostik zur Einteilung in die klinischen Stadien unter ausschließlicher Zuhilfenahme des pathologischen T-, N- und M-Stadiums. Der Mainzer-Prognose-Score (110) erfasste zusätzlich zytomorphologische Kriterien der Tumorzellen (G-Stadium), ihre Wachstumsform sowie das Alter bei Therapie des Patienten. Daraus resultiert eine Aussage zu drei Gruppen (Abb. 1 / Seite 8), jedoch ist ein individuelles Risikoprofil weiterhin nicht abzuleiten.

Die in der Literatur veröffentlichten Assoziationen zwischen HLA-Merkmalen und der Erkrankung an einem Nierenzellkarzinom beziehen sich auf Kollektive von Patienten nach Tumornephrektomie in Japan und in Frankreich aufgrund einer Metastasierung unter Immuntherapie.

Entsprechend sollte von der Gesamtgruppe der Patienten mit Nierenzellkarzinom aus dem Einzugsbereich der Halleschen Universitätskliniken die Gruppe mit Metastasen im Verlauf nach Tumornephrektomie hinsichtlich ihrer Assoziationen zu HLA-Merkmalen separat untersucht werden.

Aufgrund der in der Literatur vorliegenden differenten Assoziationen in den verschiedenen Patientengruppen ist anhand der vorliegenden Daten der eigenen Patientengruppe der Frage nachgegangen worden, ob die für andere Populationen in Japan und Frankreich beschriebenen verschiedenen HLA-Assoziationen unter NZK-Patienten aus dem Raum Sachsen-Anhalt gleichermaßen zu finden sind.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand deshalb darin, individuelle Risikoprofile für NZK-Patienten aus dem Raum Sachsen-Anhalt zu erstellen. Dazu wurde in einer größeren lokalen Gruppe von NZK-Patienten die Verteilung der HLA-Klasse I- und -Klasse II-Merkmale mittels serologischer und molekulargenetischer Methoden untersucht und mit der Verteilung bei gesunden Probanden (Gelegenheitsblutspender) ohne Nierenzellkarzinom verglichen. Dabei wurde erstmalig für eine Gruppe deutscher Patienten mit Nierenzellkarzinom eine komplette Typisierung der HLA-Klasse I- (A, B, C) und -Klasse II (DRB1/3/4/5, DQB1)-Merkmale durchgeführt. Die Untersuchung hinsichtlich der Assoziationen von Kombinationen der HLA-Merkmale mit der Erkrankung wurde benutzt, um individuelle Prognoseprofile bei NKZ-Patienten aufzustellen. Das Auftreten von Nierenzellkarzinomen und die Metastasierung im Verlauf nach Tumornephrektomie wurden hinsichtlich ihrer Korrelation mit den HLA-Kombinationen erfasst und statistisch analysiert.

3. Material und Methoden

3.1. Die Gruppen der NZK-Patienten und Kontrollpersonen

Im Zeitraum 1. Januar 1992 bis 31. Dezember 1997 wurden 356 Patienten in der Universitätsklinik und Poliklinik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg transperitoneal tumornephrektomiert.

100 Patienten wurden zufällig ausgewählt. Das erste Kriterium der Auswahl war ein histologisch gesichertes Nierenzellkarzinom. Ein weiteres Kriterium war der Zustand nach transperitonealer Tumornephrektomie.

Hinsichtlich des Alters oder des Geschlechtes wurde nicht eingegrenzt. Die histologischen Sonderformen eines Onkozytoms, eines Angiomyolipoms und eines Ductus-Bellini-Karzinoms wurden ausgeschlossen.

Alle HLA-typisierten Patienten wurden ambulant in der Nierentumor-Dispensaire-Sprechstunde der Universitätsklinik und Poliklinik für Urologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg nachgesorgt. Die Nachsorge erfolgte bei planmäßiger Abfolge von klinischen, paraklinischen und bildgebenden Untersuchungen.

Bei Auftreten von Metastasen des Nierenzellkarzinoms wurde eine operative Sanierung der Tumorerkrankung angestrebt. Eine operative Therapie wurde in 15 Fällen der 24 Patienten mit Metastasen durchgeführt.

Wenn eine operative Therapie nicht indiziert war oder Rest-Nierenzellkarzinom nach operativer Metastasentherapie verblieb, dann erfolgte eine Immun-Chemotherapie mit Interleukin-2, Interferon-2 α und 5-Fluorouracil.

Von den 100 Patienten, die nach transperitonealer Tumornephrektomie HLA-typisiert wurden, entwickelten 24 Patienten im Verlauf Fernmetastasen, wovon wiederum bei einem Patienten zusätzlich ein Lokalrezidiv gesichert wurde.

12 der 24 Patienten waren bereits zum Zeitpunkt der Tumornephrektomie metastasiert (synchron). 12 weitere Patienten entwickelten die metachronen Metastasen im Median nach 10 Monaten (Range 3 – 52 Monate).

Die Gruppe der HLA-typisierten NKZ-Patienten setzt sich aus 34 weiblichen und 66 männlichen erfassten Personen zusammen.

84 der 100 betrachteten NKZ-Patienten wurden zu einem früheren Zeitpunkt serologisch HLA-A, -B und -C typisiert. Aktuell erfolgte zur Sicherung der serologischen Befunde sowie zur Erweiterung der Patientengruppe bei allen 100 Patienten die HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5, -DQB1 Typisierung mittels „low-resolution“ PCR-SSP-Methode.

Zum Vergleich wurde eine Kontrollgruppe von 157 gesunden Gelegenheitsblutspendern aus Sachsen-Anhalt herangezogen, die als Testblutspender des interdisziplinären HLA-Labors im gleichen Zeitraum molekulargenetisch HLA-typisiert wurden.

3.2. Diagnostik des Nierenzellkarzinoms durch bildgebende Verfahren

Seit Mitte der 80-er Jahre kommen zunehmend Patienten mit sonographischem Zufallsbefund eines NZK primärbefundet durch einen Hausarzt oder Internisten zur operativen Therapie. Weiterhin werden Patienten bei der urologischen Vorsorgruntersuchung sonographiert, wodurch weitere renale Raumforderungen im Sinne eines Zufallsbefundes detektiert werden (96).

Sonographisch ist stets dann von einem suspekten Befund auszugehen, wenn im Bereich des Nierenparenchyms echoinhomogene Strukturen abzugrenzen sind. Im Vordergrund stehen echoangehobene, inhomogene Areale. Solitäre Zysten im Sinne echofreier Areale mit Schallverstärkung im dorsalen Anteil können gut abgegrenzt werden. Dahingegen sollten Zysten mit Inhomogenitäten der Binnenstruktur stets durch weitere bildgebende Verfahren abgeklärt werden. Der Verdacht eines Angiomyolipoms ist bei typischem Muster eines „Schneegestöbers“ gegeben und kann durch CT und MRT mittels Nachweis der Fett-Anteile gesichert werden.

Mittels Sonographie und Computertomographie kann heute in ca. 95% der Fälle die Dignität einer renalen Raumforderung korrekt bestimmt werden (4, 67). Alle sonographisch suspekten Raumforderungen der Niere sollten durch konventionelle Computertomographie oder Spiral-Computertomographie nativ und nach Kontrastmittelgabe abgeklärt werden. Die Kontrastmittelanreicherung in der abzuklärenden Raumforderung ist das wichtigste Malignitätskriterium. Zur Klärung weiterhin nicht sicher maligner Raumforderungen der Niere sollte die selektive Nierenangiographie erfolgen, wobei die Hypervaskularisation des suspekten Areals und pathologische Gefäßmuster als Malignitätskriterium zu bewerten sind.

Im Falle des Verdachtes eines Tumorzapfens in der Vena renalis und/oder der Vena cava sollte eine Ausdehnungsdiagnostik im Gefäßsystem mittels Dopplersonographie und/oder Cavographie erfolgen (88).

3.3. Die radikale Tumornephrektomie

Die radikale Tumornephrektomie erfolgte durch einen transperitonealen und im weiteren mediocolischen oder laterocolischen Zugang zum Retroperitoneum. Die arteriellen und venösen Gefäße wurden separat unterbunden und versorgt. Nach Unterbindung und Absetzen des Ureters wurde die Niere mit der Fettkapsel in toto entfernt.

Die Adrenalektomie erfolgte nur bei unmittelbarer Lagebeziehung zum Tumor. Die regionäre Lymphadenektomie wurde bei rechtsseitigen Tumoren paracaval und bei linksseitigen interaortocaval und präaortal durchgeführt.

3.4. Die Nachsorgeuntersuchung nach Tumornephrektomie

5 Jahre nach Tumornephrektomie erhielten die Patienten zum Re-Staging halbjährlich eine klinische Untersuchung, Laborwertkontrollen und eine Oberbauchsonographie. Jährlich erfolgte ein konventioneller Röntgen-Thorax in 2 Ebenen, eine Computertomographie des Abdomens und eine Knochenszintigraphie. Bei Befunden mit Hinweis auf Metastasen erfolgte die entsprechende weiterführende bildgebende und paraklinische Diagnostik. Ab 5 Jahren nach Tumornephrektomie wurden die Patienten jährlich weiter einmal klinisch untersucht, und es erfolgten eine Oberbauchsonographie, Laborwertkontrollen sowie ein Röntgen-Thorax in zwei Ebenen.

3.5 Die Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms

3.5.1. Die operative Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms

Bei Auftreten von Metastasen des Nierenzellkarzinoms wurde eine operative Sanierung der Tumorerkrankung angestrebt. Nach entsprechender Indikationsstellung auf Grundlage der bildgebenden Diagnostik konnte eine operative Therapie in 15 Fällen der 24 Patienten mit Metastasen durchgeführt werden. Die häufigste Lokalisation für Metastasen eines Nierenzellkarzinoms ist die Pulmo. Solitäre oder maximal 6 pulmonale Metastasen einseitig wurden bei 8 Patienten thoraxchirurgisch durch Thorakotomie und atypische Keilresektion mit bzw. ohne Lymphadenektomie entfernt.

Die zweithäufigste Indikation der operativen Therapie stellten Metastasen des Skelettsystems, bevorzugt der Wirbelsäule dar. Die Indikationsstellung zur operativen Therapie ossärer Metastasen war in jedem Falle palliativ und wurde nur unter der Voraussetzung einer prognostischen Lebenserwartung von mehr als 3 Monaten gestellt. Bei 7 Patienten wurden ossäre Metastasen orthopädisch-chirurgisch stabilisiert.

In einem Fall der untersuchten 100 NZK-Patienten wurde ein Lokalrezidiv im Sinne der inkompletten Entfernung aus dem Musculus psoas durch Rezidiv-Laparotomie therapiert.

3.5.2. Die Immuntherapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms

Im Falle, dass eine operative Therapie nicht indiziert war oder dass ein Rest-Nierenzellkarzinom nach operativer Metastasentherapie verblieb, erfolgte eine Immun-Chemotherapie mit Interleukin-2, Interferon-2 α und 5-Fluorouracil.

Die Patienten erhielten 8 Wochen lang rekombinantes Interferon-2 α (IFN-2 α). Während der ersten vier Wochen wurde zusätzlich Interleukin-2 (IL-2) verabreicht, gefolgt von einer Chemotherapie während der zweiten vier Wochen. IFN-2 α wurde jeweils am Tag 1 der Wochen 1 und 4 und an den Tagen 1, 3 und 5 der Wochen 2 und 3 in einer Dosis von 5 Mio.IE/m² KOF (Millionen Internationaler Einheiten pro m² Körperoberfläche) und an den Tagen 1, 3 und 5 der Wochen 5 bis 8 in einer Dosis von 10 Mio.IE/m² KOF einmal täglich subkutan gegeben.

IL-2 wurde an den Tagen 3 bis 5 der Wochen 1 und 4 zweimal täglich in einer Dosis von 10 Mio. IE/m² KOF und an den Tagen 1, 3 und 5 der Wochen 2 und 3 einmal täglich in einer Dosis von 5 Mio. IE/m² KOF subkutan verabreicht. Als Chemotherapie wurde am Tag 1 in den Wochen 5 bis 8 des Behandlungszyklus 5-Fluorouracil (5-FU) in einer Dosis von 1000 mg/m² KOF per infusionem über 60 min. intravenös appliziert.

Tabelle 3: Dosierungs- und Zeitplan

Woche 1 und 4 Präparat	Dosis	Tag 1	3	5
IFN-2 α s.c.	5 Mio. IE/m ² KOF	16:00		
IL-2 s.c.	10 Mio. IE/m ² KOF		8:00	8:00
			18:00	18:00
Woche 2 und 3 Präparat	Dosis	Tag 1	3	5
IFN-2 α s.c.	5 Mio. IE/m ² KOF	16:00	16:00	16:00
IL-2 s.c.	5 Mio. IE/m ² KOF	18:00	18:00	18:00
Woche 5 bis 8 Präparat	Dosis	Tag 1	3	5
IFN-2 α s.c.	10 Mio. IE/m ² KOF	8:00	16:00	16:00
5-FU i.v.	1000 mg/m ² KOF	12:00		

3.6. Die serologische HLA-Typisierung

Die serologische Typisierung der HLA-Antigene erfolgt im Mikrolymphozytotoxizitätstest (MLCT, nach dem Standardprotokoll des National Institute of Health, NIH Bethesda USA), der 1964 von TERASAKI und McCLELLAND erstmals beschrieben worden ist (111). Der Test beruht auf dem Einsatz spezifischer zytotoxischer Antikörper, die durch die Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen an der Oberfläche der Lymphozyten bei Zugabe von Komplement zu dessen Aktivierung führen und die Zellen durch Perforierung ihrer Oberflächenmembranen lysieren. Ein gemischter Fluoreszenzfarbstoff aus Acridinorange und Ethidiumbromid wird eingesetzt, wobei Acridinorange als Lebendfarbstoff aktiv nur von vitalen Zellen per Pinozytose in ihrem Zytoplasma angereichert wird und Ethidiumbromid als DNA-Farbstoff passiv nur in die lysierten Zellen eindringen und deren Zellkerne färben kann. Dann können vitale von toten Zellen optisch unterschieden werden.

Für die Bestimmung der HLA-Klasse I-Merkmale werden vitale Gesamt-Lymphozyten-suspensionen aus dem peripheren Blut mit T- (70%) und B- (20%) Lymphozyten eingesetzt.

3.6.1. Die Gewinnung der peripheren mononukleären Blutzellen

Die für den Einsatz im MLCT benötigten Zellen werden durch Dichtegradientenzentrifugation in der Methode nach BØYUM (15) gewonnen.

Hierbei erfolgt die Separation der peripheren Blutzellen entsprechend ihrer Größe und Dichte. Aufgrund ihrer spezifischen Dichte werden mononukleäre Zellen in der Interphase zwischen Plasma und Gradientenmedium angereichert, deren Hauptanteil (ca. 95%) Lymphozyten + Monozyten bilden. Die Monozyten sind ebenfalls in der Interphase als geringfügige nicht störende Beimischung unter den Lymphozyten zu finden. Erythrozyten und Granulozyten kommen unterhalb des Gradientenmediums zu liegen und Thrombozyten befinden sich im Plasmaüberstand.

3 ml Citratblut wurden mit 7ml isotonischer Pufferlösung (Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung, PBS, Sifin, Berlin) verdünnt. In zwei 15-ml-Glaszentrifugenröhrchen wurden 4 ml Ficoll (Dichte 1,076 g/cm³, pH 7,1 – 7,2) vorgelegt, mit 5 ml der Blut-Puffer-Suspension überschichtet und 20 min. bei 1050 x g zentrifugiert (Hettich-Tischzentrifuge, Tuttlingen).

Der an der Interphase entstandene Zellring wurde mit einer Pasteurpipette abgesaugt und in PBS resuspendiert. Nach erneuter Zentrifugation über 10 min. bei 125 x g und Dekantieren des thrombozytenreichen Überstandes wurde das Zellsediment in 50 µl PBS resuspendiert. Nach der Einstellung der Zellzahl auf $2-3 \times 10^3$ Zellen/µl wurde diese Zellsuspension nach Vitalitätskontrolle mit einer Mindestvitalität von 90% zur HLA-Klasse I-Typisierung eingesetzt.

3.6.2. Die Typisierung der HLA-Klasse I-Antigene

Die Typisierung der HLA-Klasse I-Merkmale HLA-A, -B, -Bw und -C erfolgt unter Verwendung kommerziell erhältlicher Anti-HLA-Antiserumsets. Diese sind auf Mikrottestplatten („Terasaki“-Platten) eingefroren (-24°C) unter eine Deckölschicht vorgetropft und können bis zur Verwendung über längere Zeit gelagert werden. Es wurden die HLA-Klasse I-Typisierungsplatten Histotype ABC 144 (BAG, Lich), Italia 144 (Biotest, Dreieich) und BmT-C (One Lambda, Krefeld) eingesetzt. Jedes der verwendeten Typisierungssets besteht aus 18-142 Seren unterschiedlicher genau definierter Anti-HLA-Spezifität, einem nichtzytotoxischen humanen AB-Serum (Negativkontrolle) und einem polyspezifischen Anti-Lymphozytenserum mit 100% Panelzytotoxizität (Positivkontrolle). Das Auftauen der Testplatten erfolgt kurz vor Testbeginn bei Raumtemperatur.

Je Kavität wurden 1 µl der zu typisierenden Zellsuspension ($2-3 \times 10^3$ Zellen) mittels Mikrodispensers (PBO-600 50 µl, Soft Drop Model, Robbins, Sunnyvale) zugegeben.

Nach 30 min. Inkubation bei 22° im Brutschrank (WTB Binder, Tuttlingen) erfolgte die Zugabe von 5 µl Komplement pro Kavität (liegt dem Testset bei) mittels eines Mehrkanaldispensers (Multiple Syringe Dispenser 250 µl, Robbins).

Nach weiteren 60 min. Inkubation im Brutschrank bei $+22^{\circ}\text{C}$ wurden je Kavität 2 µl einer Acridinorange-Ethidiumbromid-10%-EDTA-PBS-Färbelösung sowie nach weiteren 15 min. Inkubation im Dunkeln je 1 µl eines Kontrastmittels (Hämopath, Pharma Dessau) zur Elimination der beim Ablesen störenden Hintergrundfluoreszenz zugegeben.

3.6.3. Die Auswertung der serologischen HLA-Typisierung

Die Reaktionsstärken wurden nach dem in Tabelle 1 dargestellten Schema bewertet. Das Ablesen der Reaktionen des Lymphozytentoxizitätstests erfolgte halbautomatisch an der sogenannten OneLambdakette unter Fluoreszenzanregung ($\lambda = 510 \text{ nm}$) im inversen Fluoreszenzmikroskop (IMT-2/Lambda Scan TM Plus II, BmT Krefeld) im Auflicht (Okular CWHK 10x-T/18L, Objektiv S Plan 10 Pl, 0,30). Die typisierten Zellen erscheinen hierbei durch den Kernfarbstoff Ethidiumbromid rot (positive Reaktion), nichtlysierte Zellen durch den Lebendfarbstoff Acridinorange grün (negative Reaktion). Die Negativkontrolle diente als Orientierung für die Qualität der eingesetzten Zellen nach dem Test. Der mit ihr ermittelte Anteil toter Zellen wurde in der Beurteilung der Einzellerreaktionen als Hintergrundwert berücksichtigt. Eine Reaktion wurde als positiv bewertet, wenn der abgeschätzte Prozentsatz an lysierten Zellen höher als in der Negativkontrolle lag, deren Lyserate unter optimalen Testbedingungen maximal 10% beträgt. Mit der mitgeführten Positivkontrolle konnte die Komplementaktivität beurteilt werden. In der Positivkontrolle sollte die Lyserate 80 bis 100% betragen.

Die serologische HLA-Typisierung erlaubte die Unterscheidung von 19 HLA-A-, 42 HLA-B-, und 8 HLA-Cw-Merkmalen (Tabelle 5).

Tabelle 4: Bewertungsschema der Reaktionsstärken im Lymphozytentoxizitätstest

Anteil lysierter Zellen (%)	Score	Bedeutung der Reaktion*
0 – 10	1	negativ
> 10 – 20	2	schwach positiv
> 20 – 40	4	schwach positiv
> 40 – 75	6	positiv
> 75 – 100	8	stark positiv
nicht ablesbar	0	nicht ablesbar

*unter Berücksichtigung der Positiv- und Negativkontrollen

Tabelle 5: Darstellung der serologisch typisierten HLA-Klasse I-und II-Antigene.

HLA-A		HLA-B				HLA-Cw
A1	A30(19)	B51(5)	B77(15)	B27	B59	Cw1
A2	A31(19)	B52(5)	B38(16)	B35	B64+65(14)	Cw2
A3	A32(19)	B7	B39(16)	B37	B67	Cw3
A23(9)	A33(19)	B8	B57(17)	B60+61(40)	B71(15)	Cw4
A24(9)	A74(19)	B44(12)	B58(17)	B41	B72(15)	Cw5
A25(10)	A68+69(28)	B45(12)	B18	B42	B73	Cw6
A26(10)	A36	B13	B49(21)	B46	B78	Cw7
A34(10)	A80	B62(15)	B50(21)	B47	Bw4	Cw8
A66(10)		B63(15)	B54(22)	B48	Bw6	
A11		B75(15)	B55(22)	B53		
A29(19)		B76(15)	B56(22)			

Den Splitmerkmalen sind die zugehörigen Hauptmerkmale in Klammern nachgestellt.

3.7. Die molekulargenetische HLA-Typisierung

3.7.1. Die DNA-Extraktion

Der Einsatz molekulargenetischer Methoden ermöglicht mittlerweile die Differenzierung der einzelnen HLA-Merkmale auf DNA-Ebene. Routinemäßig werden verschiedene PCR-Techniken eingesetzt. Voraussetzung für die Durchführung der PCR ist die Isolierung chromosomaler DNA. Für die vorliegende Arbeit erfolgte die DNA-Präparation im Salzausfällungsverfahren nach MILLER 1988 (63). Dabei wird die DNA nach Lyse der Zellen durch Proteinase-Verdau von Proteinen gereinigt, welche anschließend durch eine gesättigte Salzlösung präzipitiert werden. Die im Überstand verbleibende DNA wird anschließend durch Wasserentzug mittels Isopropanolfällung extrahiert und in Aqua destilata gelöst. Diese DNA-Lösung kann bei Kühlschranktemperatur ($< + 7 \text{ }^{\circ}\text{C}$) aufbewahrt bzw. tiefgefroren bei $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ über einen längeren Zeitraum gelagert werden.

Die DNA wurde aus 10 ml Citratblut oder aus der leukozytenreichen Gradientenflüssigkeit gewonnen. Bei der Präparation aus Citratblut wurde nach dem Zentrifugieren der Probe (5 min., 4000Upm) der Plasmaüberstand verworfen. Die Erythrozyten wurden in 2 bis 3 Waschschritten lysiert.

Die kernhaltigen Zellen sedimentieren bei der Zentrifugation (jeweils 10 min., 4000 Upm). Nach Überführung des Zellpellets in ein Eppendorf-Cap (Eppendorf, Hamburg), Resuspension mit 1 ml RCLB, einminütigem Zentrifugieren in einer Eppendorfszentrifuge (14.000 Upm) und Absaugen des Überstandes erfolgte der Zellverdau durch Zusatz von 200 µl 0,5 x RCLB, 50 µl Proteinnase K Lösung (Boehringer, Mannheim) und 30 µl SDS-Lösung (10%, Serva Feinbiochemica GmbH, Heidelberg) (Inkubation 60 min., 60 °C im Eppendorf-Thermomixer). Die Proteinanteile wurden mit gesättigter Kochsalzlösung ausgefällt (100 µl, 30 min. Inkubation, 4 °C). Nach erneutem Anzentrifugieren (1 min., 14.000 Upm) wurde die im Überstand gelöste DNA in 750 µl Isopropanol (Laborchemie Apolda GmbH) überführt und ausgefällt. Das erhaltene DNA-Pellet wurde nach hochtourigem Zentrifugieren (3 min., 14000 Upm) und Dekantieren des Überstandes in 200 µl Aqua destilata wieder in Lösung gebracht (Inkubation 30 min., 37 °C). Bis zum Gebrauch wurden die DNA-Proben bei -80 °C gelagert. Die spektrophotometrische Bestimmung des DNA-Gehalts der Proben erfolgte am Pharmacia-UV/VIS-Spektrometer (Pharmacia) bei einer Wellenlänge von 260 nm. Unter den gegebenen Bedingungen (Schichtdicke 0,5 cm, Verdünnungsfaktor 20) entsprach eine Extinktion von 1,0 einer DNA-Konzentration der Originallösung von 1000 ng/µl.

Die Qualität der erhaltenen DNA-Präparation wurde durch Bestimmung des Verhältnisses der optischen Dichte bei 260 nm (DNA) zur optischen Dichte bei 280 nm (Proteinverunreinigung) beurteilt. Ein Quotient $> 1,8$ zeigte einen ausreichenden Reinheitsgrad der DNA an. Die DNA-Konzentration wurde durch entsprechende Verdünnung auf 50 ng/µl eingestellt.

3.7.2. Die PCR-Amplifikation

Der genotypischen HLA-Typisierung liegt das Prinzip der von MULLIS 1986 entwickelten Polymerasekettenreaktion (PCR) zugrunde. Dieses Verfahren erlaubt die exponentielle Vermehrung (Amplifikation) eines definierten DNA-Abschnittes in einem sich wiederholenden Dreischrittprozess, der wie folgt abläuft. Durch Temperaturerhöhung auf 94 °C wird die DNA in ihre Einzelstränge geschmolzen (Denaturierung).

Bei der nachfolgenden Abkühlung auf etwa 55 °C lagern sich Primer (einsträngige Oligonukleotide) allelspezifisch an die entsprechenden komplementären Sequenzen der Matrizen-DNA an (Annealing). Im dritten Schritt erfolgt durch die DNA-Polymerase I bei 72 °C die Synthese eines komplementären DNA-Stranges unter Verwendung von zum Reaktionsgemisch zugesetzten Nukleotiden.

Durch n-fache Wiederholung dieses Reaktionszyklus ($n = 30-35$) wird der als Matrize dienende DNA-Abschnitt 2^n -fach vervielfältigt. Die Verwendung einer hitzestabilen DNA-Polymerase, der sogenannten Taq-Polymerase, ermöglicht die Wiederholung der Zyklen ohne Unterbrechung.

Zur HLA-Typisierung wurde ein PCR-abhängiges Verfahren eingesetzt, PCR-SSP (sequence specific primer). Die PCR-SSP beruht auf dem Einsatz sequenzspezifischer Primer, wobei es nur bei vollständiger Komplementarität zwischen Primer und Ziel-DNA bei genau definierten Temperaturen zur Amplifikation kommt. Die Unterscheidung zwischen den einzelnen Merkmalen findet während der PCR-Amplifikation unter exakt kontrollierten Bedingungen für Temperatur und Zeit automatisiert im Thermocycler (PE 9600, Weiterstadt) statt. Der Nachweis der Amplifikate erfolgt mittels Agarose-Gelelektrophorese (wie unter 3.7.4. beschrieben).

Für die genotypische HLA-Klasse I- und -Klasse II-Typisierung wurden kommerziell erworbene Primer-Kits verschiedener Firmen im PCR-SSP-Verfahren eingesetzt: die HLA-Primer-Kits für HLA-A, -B, -C der Firmen Deutsche Dynal (Hamburg) und CTS (Universität Heidelberg), die HLA-Primer-Kits für HLA-DRB/DQB1 der Firmen BAG (Lich) und One Lambda (Conaga Park/CA, USA) sowie die HLA-Primer-Kits HLA-DRB1, -DRB3, -DRB4, -DRB5 und -DQB1 der Firma Deutsche Dynal. Die Durchführung erfolgte entsprechend der den Primer-Kits beiliegenden Arbeitsvorschriften und wird am Beispiel des Dynal-Testkits beschrieben.

3.7.3. Die PCR-Amplifikation mit SSP-Produkten

Zur Durchführung der PCR-SSP-Typisierung sind die gereinigte DNA, die Dynal SSP-Primer-Lösung verschiedener HLA-Spezifitäten., PCR-Lösung und die Taq-Polymerase (Ampli Taq, AGS, Heidelberg) notwendig. Für alle PCR-Reaktionen, die für die Typisierung einer Probe vorgesehen waren, stellt man eine Mastermatrix aus PCR-Lösung, Proben-DNA und Taq-Polymerase her.

Dieser setzte sich pro PCR-Reaktionen aus 3 µl PCR-Lösung, 2 µl DNA-Probe (Konzentration 50 ng/µl) und 0,1 µl Taq-Polymerase (0,4 Units Ampli Taq) zusammen. Entsprechend der im SSP-Typisierungsset enthaltenen Zahl an Primer-Mischungen wurde der PCR-Mastermix zuzüglich eines Sicherheitszuschlages berechnet. 5 µl Primermix einer entsprechenden HLA-Spezifität aus dem SSP-Set und jeweils 5 µl des PCR-Mastermix wurden in dünnwandige Einzel-PCR-Reaktionsgefäße pipettiert.

Die Gefäße platziert man nun im Thermocycler (Gen-Amp 9600, Perkin-Elmer, Weiterbach) und die PCR-Amplifikation startet. Im 1. Schritt erfolgte die einleitende Denaturierung für 2 min. bei einer Temperatur von 94 °C. Diesem schlossen sich 10 Zyklen aus jeweils 10 s bei 94 °C und 60 s bei 65 °C an. In einem 3. Schritt folgten 20 weitere Zyklen aus jeweils 10 s bei 94 °C, 50 s bei 61 °C und 30 s bei 72 °C.

3.7.4. Die Detektion der PCR-Produkte durch Agarose-Gelelektrophorese

DNA-Fragmente wandern im Puffersystem von pH = 7,2 aufgrund ihrer negativen Ladung im elektrischen Feld in Richtung Katode. Ihr Wanderungsverhalten wird hauptsächlich vom Molekulargewicht der Moleküle bestimmt. Die Agarose-Gelelektrophorese ermöglicht die Trennung der DNA-Fragmente nach ihrer Größe und die Unterscheidung zwischen unspezifischen Amplifikationen und richtig positiven Amplifikaten. Durch Anfärbung mit Ethidiumbromid (DNA-Farbstoff) können die DNA-Fragmente unter UV-Licht-Anregung sichtbar gemacht werden.

3g Agarose (Agarose N, Pharmacia, Uppsala) wurden in 100 ml 1 x TBE-Puffer gelöst und im Mikrowellenschrank bis zum Siedepunkt erhitzt. Nach Abkühlen auf ca. 60 °C wurden 30 µl Ethidiumbromid (10 mg/ml, Merck, Darmstadt) je 100 ml Gel-Lösung zugegeben und dieses Gemisch in Gelträger gegossen. Durch das Stecken entsprechender Kämmen wurden je 24 Vertiefungen für die Aufnahme der Proben im Gel geschaffen. Nach dem Abkühlen wurden die Gele in die mit Puffer gefüllte Gelelektrophoresekammer (Pharmacia Biotech, Biometra, Berlin) überführt. Die fertigen PCR-Produkte wurden mit je 2 µl Blue- Ethidiumbromid-Marker vermischt und direkt in die Auftragsstellen im Gel pipettiert. Die Elektrophorese erfolgte bei einer Spannung von ca. 100 Volt und einer Laufzeit von 15 min. Die Gele wurden unter UV-Licht (GelPrint 1000i+ Transilluminator, MWG Biotech, Ebersberg) ausgewertet.

3.7.5. Typisierte HLA-Merkmale und Qualitätskontrollen

Die „low-resolution“-DNA-Typisierung der HLA-Klasse I-Merkmale führte zur Unterscheidung von 15 HLA-A-, 25 HLA-B- und 14 HLA-Cw-Merkmalen. Die eingesetzten Methoden für die HLA-Klasse II-Typisierung erlaubten die Unterscheidung von 11 DRB1- in der „low-resolution“ und 7 DQB1-Merkmalen in der „medium-resolution“.

Tabelle 6: Molekulargenetisch typisierte HLA-Merkmale

HLA-A	HLA-B	HLA-Cw	HLA-DRB1	HLA-DRB3/4/5
A*01	B*07	B*45 Cw*01	DRB1*01	DRB3*(DR52)
A*02	B*08	B*47 Cw*02	DRB1*03	DRB4*(DR53)
A*03	B*13	B*49 Cw*03	DRB1*04	DRB5*(DR51)
A*11	B*14(64+64)	B*50 Cw*04	DRB1*07	
A*23	B*15	B*51 Cw*05	DRB1*09	
A*24	B*18	B*52 Cw*06	DRB1*11(DR5)	
A*25	B*27	B*53 Cw*07	DRB1*12(DR5)	HLA-DQB1
A*26	B*35	B*55 Cw*08	DRB1*13(DR6)	DQB1*05
A*29	B*37	B*57 Cw*12	DRB1*14(DR6)	DQB1*06
A*30	B*38	B*58 Cw*13	DRB1*15(DR2)	DQB1*02
A*31	B*39	Cw*14	DRB1*16(DR2)	DQB1*0301(DQ7)
A*32	B*40(60+61)	Cw*15		DQB1*0302(DQ8)
A*33	B*41	Cw*16		DQB1*0303(DQ9)
A*66	B*42	Cw*17		DQB1*04
A*68+69	B*44	Cw*18		

Die eingesetzte HLA-Typisierungsmethode ist im Interdisziplinären HLA-Labor der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg routinemäßig etabliert. Das Labor hat im Untersuchungszeitraum regelmäßig an den Ringversuchen des Instituts für Standardisierung und Dokumentationen in medizinischen Laboratorien e.V. Düsseldorf (Instand e.V.), den Eurotransplant Tissue Typing Quality Control Exercises sowie am internationalen HLA-DNA-Austausch des Tissue Typing DNA Laboratory der University of California, Los Angeles (UCLA, USA) teilgenommen und wurde zertifiziert.

3.8. Statistische Auswertung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Verteilung der HLA-Merkmale in der Gruppe der Nierenzellkarzinom-Patienten mit der in einer Kontrollgruppe verglichen.

Grundlage der statistischen Auswertung war die 2 x 2-Felder-Tafel (Tabelle 7). Diese enthält die Anzahl von Probanden, die für das jeweilige Merkmal positiv oder negativ typisiert wurden.

Im Falle von nur einem typisierten Merkmal pro Genlocus wurde das Vorliegen einer Homozygotie angenommen, das Merkmal aber nur einmal gezählt.

Die Phänotypfrequenz (pf) eines Antigens oder Merkmals wurde nach der Formel [1] errechnet.

$$[1] \quad pf_{\text{Vergleichsgruppe}} = a / U \times 100 \quad \text{bzw.} \quad pf_{\text{Kontrollen}} = c / V \times 100$$

und wurde somit durch Zählung der für ein Antigen oder Merkmal positiven Probanden (n) erhalten und in Prozent der Gesamtzahl der untersuchten Probanden einer Gruppe angegeben. Die Genotypfrequenz (gf) wurde in Annahme der Gültigkeit des Hardy-Weinberg-Gesetzes (58) nach Formel [2] berechnet.

$$[2] \quad gf_{\text{Vergleichsgruppe}} = 1 - \sqrt{1 - pf_{\text{Vergleichsgruppe}}} \quad \text{bzw.} \quad gf_{\text{Kontrollen}} = 1 - \sqrt{1 - pf_{\text{Kontrollen}}}$$

Unter gleicher Annahme konnte die erwartete Homozygotenfrequenz für ein Merkmal (Antigen oder Merkmal) aus der beobachteten Genfrequenz Formel [3] berechnet werden.

$$[3] \quad gf_{\text{Homozygotie erwartet}} = (gf_{\text{Merkmal}})^2$$

Die Stärke der Assoziation eines HLA-Merkmales mit einer Krankheit wird durch das Relative Risiko (RR) ausgedrückt und nach der Formel [4] von Woolf oder nach der von Haldane (113) modifizierten Formel [5] berechnet.

$$[4] \quad RR = \frac{a \times c}{b \times d} \quad \text{oder} \quad [5] \quad (\text{wenn } a = 0 \text{ oder } b = 0) \quad RR = \frac{(2a + 1) \times (2c + 1)}{(2b + 1) \times (2d + 1)}$$

Die Testung der statistischen Signifikanz einer Assoziation erfolgte mittels des χ^2 -Testes mit Yates Korrektur Formel [6].

$$[6] \quad \chi^2 = \frac{(|ad - bc| - 1/2N)^2}{Y \times Z \times U \times V} N$$

Tabelle 7: 2x2 Felder-Tafel. a, b, c, d = Anzahl der für das Merkmal positiven/negativen Probanden ohne Berücksichtigung einer Homozygotie.

	Merkmal-positiv	Merkmal-negativ	Σ
Vergleichsgruppe:			
 Patienten	a	b	U
 Kontrollgruppe	c	d	V
Σ	Y	Z	N (= a + b + c + d)

Wenn eine der Variablen der 2x2 Felder-Tafel (a, b, c, d) einen Wert < 5 annahm, wurde p durch den Fisher's-exact test (113) berechnet. Alle Fälle, in denen eine Variable der 2x2 Felder-Tafel (a, b, c, d) 0 war, wurden als nicht auswertbar behandelt. Eine Assoziation mit einem p-Wert $< 0,05$ wurde als signifikant erachtet (113).

Bei dem Vergleich der Probandengruppen hinsichtlich mehrerer Merkmale können zufällig signifikante Assoziationen auftreten (113). Daher wurden die p-Werte jener Merkmale, für die bisher keine Assoziation mit einem Nierenzellkarzinom bekannt war, mit der Zahl der insgesamt untersuchten Merkmale des jeweiligen Genlocus bzw. der kombinierten Genloci multipliziert (Korrektur für multiple Vergleiche).

Da in dieser Studie keine Typisierung von Familienmitgliedern der untersuchten Probanden erfolgte, war keine Analyse der Haplotypenfrequenzen möglich. Um eine Aussage über die Häufigkeit bestimmter Antigen- oder Merkmal-Kombinationen zu erhalten, erfolgte die Analyse dieser Kombinationen mittels der Formeln zur Haplotypanalyse. Im Weiteren wird daher der Begriff Haplotyp synonym für Kombinationen von Antigenen oder Merkmalen verwendet, wenn diese zu verschiedenen Loci gehören.

Die Berechnung der Haplotypenfrequenz (hf) erfolgte nach der Methode von MITTAL (66).

Die Ermittlung der statistischen Signifikanz eines beobachteten Kopplungsungleichgewichtes erfolgte mittels χ^2 -Test.

4. Ergebnisse

4.1. Die Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe bestand aus 157 Gelegenheitsblutspendern aus Sachsen-Anhalt, die als Testblutspender des Interdisziplinären HLA-Labors genauso wie auch die Nierenzellkarzinompatienten (NZK-Patienten) serologisch und molekulargenetisch HLA-typisiert wurden. Die 63 Männer und 94 Frauen dieser Kontrollgruppe waren zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Untersuchung unauffällig. Das Durchschnittsalter betrug 29 Jahre (Standardabweichung SD 10 Jahre), unter Männern 31 Jahre (SD 11 Jahre) und unter Frauen 28 Jahre (SD 9 Jahre).

4.2. Die Gesamtgruppe der NZK-Patienten

Die Probanden der Gruppe mit NZK wurden aus den Patienten, die an der Universitätsklinik für Urologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg transperitoneal tumor-nephrektomiert wurden, zufällig ausgewählt. Alle 100 Patienten kamen aus Sachsen-Anhalt. Insgesamt wurden 100 Patienten mit histologisch nachgewiesenem NZK HLA-typisiert.

4.2.1 Die Altersverteilung der NZK-Patienten

Von den 100 HLA-typisierten NZK-Patienten waren 34 weiblich (34 %) und 76 (76 %) männlich. Dies entspricht einer Geschlechterverteilung von 2,2 : 1,0, welche den allgemeinen Angaben in der Literatur von 2 : 1 entspricht. Das Alter der NZK-Patienten betrug im Median 64,7 Jahre (Standardabweichung SD 10,3 Jahre). Für die NZK-Patienten war das Alter zum Zeitpunkt der Operation im Median 61,1 Jahre (SD 8,0 Jahre). Das Auftreten eines Nierenzellkarzinoms wurde vorrangig in der fünften und sechsten Lebensdekade festgestellt.

Tabelle 8: Altersverteilung der NZK-Patienten

NZK-Patienten	Durchschnitts- Alter	Medianes Alter	Standardabweichung des Alters	Range des Alters
Frauen	61,8	64,7	10,3	27,5 - 80,2
Männer	47,6	61,1	8,0	41,1 - 79,7

4.2.2. Die Verteilung der TNM-Stadien bei NZK-Patienten

Die Verteilung der pathohistologischen T-Stadien bei NZK-Patienten

Jeder der 100 NZK-Patienten wurde tumornephrektomiert und das entsprechende Präparat pathohistologisch untersucht. Das pathohistologische T-Stadium (UICC) beschreibt die lokale Ausdehnung des Tumors in Bezug auf das Organ. Bis zum Stadium pT2 durchbricht ein Nierenzellkarzinom nicht die Grenzen des Parenchyms und wird entsprechend klinisch als lokal begrenzt wachsender Tumor bezeichnet.

Die Anzahl der Patienten in den Gruppen der T-Stadien zum Zeitpunkt der transperitonealen Tumornephrektomie sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Verteilung der pathohistologischen T-Stadien bei NZK-Patienten

	pT1	pT2	pT3a	pT3b	pT4
n von 100 NZK	12	45	21	18	4

57 Patienten befanden sich im Stadium pT1 und pT2, einem lokal wachsenden Tumor entsprechend. Bei 39 Patienten wurde ein Stadium pT3 diagnostiziert mit entsprechendem Einbruch in das Nierenbecken oder in das Gefäßsystem bzw. mit einem Durchbruch der Nierenkapsel. 4 der 100 NZK-Patienten befanden sich bereits im Stadium pT4. Es lag eine Gleichverteilung von lokal begrenzt wachsenden zu lokal fortgeschritten wachsenden Nierenzellkarzinomen vor.

Die Verteilung der pathohistologischen G-Stadien bei NZK-Patienten

Die Angabe des pathohistologischen G-Stadiums nach THOENES erfasst den Umfang von karyologischen Malignitätskriterien der Malignomzellen hinsichtlich ihrer Kerngröße, der Kernchromasie und der Mitoserate (106). Die Zuordnung der 100 NZK-Patienten zu den 3 G-Stadien wurde in Tabelle 10 dargestellt. Die Mehrzahl der Patienten wurde den Stadien G2 und G3 pathohistologisch zugeordnet.

Tabelle 10: Verteilung der pathohistologischen G-Stadien

	G1	G2	G3
n von 100 NZK	18	49	33

Bezug der pathohistologischen T-Stadien zur Metastasierung bei NZK-Patienten

Bei der Untersuchung des Zusammenhanges von pathohistologischem T-Stadium und der entsprechenden Häufigkeit einer Metastasierung ergab sich eine direkte Korrelation. Im Falle eines lokal begrenzt wachsenden Nierenzellkarzinoms kam es in nur 4 Fällen zu einer späteren Metastasierung. Ab dem Stadium T3a wurde bei mehr als bei jedem dritten tumornephrektomierten Patienten eine Metastasierung syn- oder metachron diagnostiziert.

Tabelle 11: Bezug von T-Stadium zur Metastasierung

T (zum Zeitpunkt der Nephrektomie) M (syn- und metachron)	T1M1	T2M1	T3aM1	T3bM1	T4M1
n von 100 NZK	0	4	8	9	3
% von Patienten mit dem jeweiligen T-Stadium	0%	8,9%	38,1%	52,9%	100,0%

Bezug der pathohistologischen G-Stadien zur Metastasierung bei NZK-Patienten

Auch bei einer Analyse der Häufigkeit auftretender Metastasen konnte im Verlauf nach Tumornephrektomie in Bezug auf das pathohistologische G-Stadium zum Zeitpunkt der Tumornephrektomie eine direkte Korrelation definiert werden.

Die Häufigkeit der Metastasen in den einzelnen G-Stadien ist in der nachfolgenden Tabelle 12 dargestellt.

Tabelle 12: Bezug von G-Stadium zur Metastasierung

	G1M1	G2M1	G3M1
N von 100 NZK	1	9	14
% von Patienten mit dem jeweiligen G-Stadium	5,5%	18,4%	42,4%

4.3. Die Gruppe der metastasierten NZK-Patienten

Im Verlauf nach transperitonealer Tumornephrektomie entwickelten von den 100 HLA-typisierten NZK-Patienten 24 Patienten Metastasen. Die Nachbeobachtungszeit für alle NZK-Patienten betrug im Median 60,2 Monate (SD 25,5; Range 3 bis 104 Monate).

Tabelle13: Nachbeobachtungszeit

<u>Für 100 NZK-Patienten</u>			
Durchschnitt (in Monaten)	Median (in Monaten)	Standardabweichung (in Monaten)	Range (in Monaten)
63,0	60,2	25,5	3 – 104

Es wurden 12 Patienten mit Metastasen zum Zeitpunkt der Tumornephrektomie (synchron) erfasst. Bei weiteren 12 Patienten haben sich im Verlauf nach Tumornephrektomie (metachron) Metastasen entwickelt. Bei 7 der 12 metachron metastasierten NZK-Patienten wurden die metastatischen Absiedlungen während der ersten 15 Monate bildgebend diagnostiziert.

Aus klinischer Sicht bedeutet dies, dass mehr als zwei Drittel der metastasierenden Patienten (19/24 79,2 %) innerhalb weniger als 1,5 Jahren die Metastasen bildgebend nachweisbar entwickeln. Der Umfang der radiologischen Nachsorge könnte somit früher als erst nach 5 Jahren hinsichtlich einer Reduktion überdacht werden. Bei weiteren 5 Patienten wurden die metachronen Metastasen 28 bis 52 Monate nach Tumornephrektomie diagnostiziert. Aus klinischer Sicht ist davon abzuleiten, dass ungefähr jede fünfte diagnostizierte Metastasierung als späte Metastasierung zu erwarten ist. Insgesamt sind es nur 5 von 100 Patienten, die auch ohne routinemäßige jährliche Computertomographien durch intensive klinische und paraklinische Untersuchungen erfassbar sein sollten.

Tabelle 14: Auftreten der Metastasen

24 Patienten mit Metastasen		
12 x synchron (50%)	12 x metachron (50%)	
	Diagnose nach Tumornephrektomie	
	< 18 Monate	> 18 Monate
	7	5
	58,3% (29,2 %)	41,7% (20,8%)

4.3.1. Die Altersverteilung der metastasierten NZK-Patienten

Die Altersverteilung der metastasierten NZK-Patienten entsprach der Altersverteilung der Gesamtgruppe von 100 NZK-Patienten mit einem medianen Alter von 60,2 Jahren (SD 6,6 Jahre; Range 41,6 bis 72,2 Jahre).

Tabelle 15: Altersverteilung der metastasierten NZK-Patienten

NZK-Patienten mit Metastasen	Durchschnitts-Alter	Medianes Alter	Standardabweichung des Alters	Range des Alters
Gesamt	60,6	60,2	6,6	41,6 - 72,2

Das Verhältnis von Männern zu Frauen unter den Patienten, die eine Metastase nach Tumornephrektomie entwickelten, entsprach etwa dem Verhältnis von 2 : 1. Entsprechend kann von keiner geschlechtsspezifischen Entwicklung von Metastasen ausgegangen werden.

Tabelle 16: Verhältnis Frauen und Männer unter den metastasierten NZK-Patienten

NZK-Patienten mit Metastasen	n (absolut)	% von 24 M+ Patienten	% von Frauen bzw. Männern von 100 NZK-Patienten	Verhältnis Männer : Frauen
Männer	15	62,5	19,7	1,7
Frauen	9	37,5	26,5	1

4.3.2. Die pathohistologischen T-Stadien der metastasierten NZK-Patienten

Von den 24 Patienten, die eine Metastase im Verlauf entwickelten, war kein Patient dem pathohistologischen T1-Stadium zugeordnet. Nur 4 Patienten (16,7 %) waren primär als lokal begrenzt wachsender Tumor (pT1 + pT2) diagnostiziert worden.

Entsprechend waren mehr als 80 % der metastasierten Patienten bereits primär einem lokal fortgeschrittenen Stadium pathohistologisch zuzuordnen.

Tabelle 17: Verteilung der pathohistologischen T-Stadien

	pT1	pT2	pT3a	pT3b	pT4
n von 24 metastasierten NZK	0	4	8	9	3
% von 24 metastasierten NZK	0	16,7%	33,3%	37,5%	12,5%

4.3.3. Die pathohistologischen G-Stadien der metastasierten NZK-Patienten

In der Gruppe der metastasierten NZK-Patienten liegt die direkte Korrelation zwischen dem G-Stadium und der Häufigkeit von Metastasen vor.

Die Absolut- und Prozentzahlen für die entsprechenden Gruppen sind in der nachfolgenden Tabelle 18 aufgeführt.

Tabelle 18: Verteilung der pathohistologischen G-Stadien

	G1	G2	G3
N von 24 metastasierten NZK	1	9	14
% von 24 metastasierten NZK	4,16%	37,5%	58,3%

4.3.4. Die gekoppelten T- und G-Stadien der metastasierten NZK-Patienten

Für die Verteilung der pathohistologischen T- und G-Stadien konnten einzeln direkte Korrelationen zur Häufigkeit des Auftretens von Metastasen nach Tumornephrektomie ermittelt werden.

Unter der Verknüpfung der Argumente von pathohistologischem T- und G-Stadium war eine direkte Korrelation zur Häufigkeit der Metastasierung nachzuweisen, und es konnten das pathohistologische T- sowie das G-Stadium als selbständige prognostische Faktoren bestätigt werden.

Tabelle 19: Verteilung der verknüpften T- und G-Stadien der metastasierten Nierenkarzinompatienten (n von 24)

	T1	T2	T3a	T3b	T4
G1	0	1	0	0	0
G2	0	2	3	3	1
G3	0	1	5	6	2

4.4. HLA-Klasse I-Merkmale (A, B, Cw) bei NZK-Patienten

Im Vergleich zur Kontrollgruppe ist die Verteilung der HLA-Klasse I-Merkmale für HLA-A*, -B*, und -Cw* unter den Patienten mit Nierenzellkarzinom (n = 100) in Tabelle 20 dargestellt. Bei der Beschreibung der Ergebnisse im Text werden für den Vergleich eines Merkmals die Phänotypfrequenz (pf in %), der χ^2 -Wert sowie der nach Yates korrigierte p-Wert (p_y) angegeben.

Beim Vergleich der 100 NZK-Patienten mit den 157 Kontrollprobanden konnte für keines der HLA-A*-Merkmale weder eine tendenzielle noch eine statistisch signifikante Erhöhung oder Verringerung ermittelt werden.

Von den HLA-B*-Merkmalen ließ sich eine verminderte Häufigkeit von HLA-B*37 (2,0 % vs. 5,7 %; RR 0,4; $p_y = \text{n.s.}$) sowie für HLA-B*B15 (8,0 % vs. 15,3 %; RR 0,5; $p_y = \text{n.s.}$) ermitteln. Die Verringerung war in beiden Fällen nicht signifikant.

Für die HLA-Cw*-Merkmale konnten unter den NZK-Patienten keine erwähnenswerten Erhöhungen oder Verringerungen von Phänotypfrequenzen festgestellt werden.

Zwischen NZK-Patienten und den Kontrollprobanden ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der HLA-Klasse I-Merkmale.

Tabelle 20: HLA-Klasse I-Merkmale bei NZK-Patienten

HLA	NZK-gesamt (n=100)		Kontrollprobanden (n=157)		RR	χ^2	p _y
	n	pf	n	pf			
HLA-A*							
01	32	32,0%	50	31,8%	1,0	0,001	---
02	52	52,0%	76	48,4%	1,1	0,315	---
03	24	24,0%	40	25,5%	0,9	0,071	---
11	11	11,0%	13	08,3%	1,3	0,534	---
23	03	03,0%	07	04,5%	0,7	0,348	---
24	21	21,0%	30	19,1%	1,1	0,137	---
25	07	07,0%	09	05,7%	1,2	0,168	---
26	07	07,0%	17	10,8%	0,6	1,057	---
68+69(28)	07	07,0%	18	11,5%	0,6	1,387	---
29	04	04,0%	08	05,1%	0,8	0,165	---
30	06	06,0%	07	04,5%	1,3	0,302	---
31	07	07,0%	06	03,8%	1,8	1,285	---
32	07	07,0%	09	05,7%	1,2	0,168	---
33	00	00,0%	02	01,3%	---	---	---
66	01	01,0%	00	00,0%	---	---	---
HLA-B*							
07	20	20,0%	33	21,0%	1,0	0,039	---
08	19	19,0%	34	21,7%	0,9	0,263	---
13	08	08,0%	15	09,6%	0,8	0,181	---
14	02	02,0%	08	05,1%	0,5	1,565	---
15	08	09,0%	24	15,3%	0,6	2,975	n.s.
18	11	11,0%	12	07,6%	1,4	0,845	---
27	13	13,0%	12	07,6%	1,7	1,996	---
35	21	21,0%	29	18,5%	1,1	0,249	---
37	02	02,0%	09	05,7%	0,4	2,077	n.s.
38	06	06,0%	12	07,6%	0,8	0,253	---
39	06	06,0%	09	05,7%	1,0	0,008	---
40	16	16,0%	20	12,8%	1,25	0,142	---

HLA	NZK-gesamt (n=100)		Kontrollprobanden (n=157)		RR	χ^2	p _Y
	HLA-B*	n	pf	n			
41	02	02,0%	01	0,6%	2,6	0,984	---
42	01	01,0%	00	0,0%	4,7	1,576	---
44	21	21,0%	25	15,9%	1,3	1,071	---
45	01	01,0%	03	01,9%	0,7	0,331	---
47	01	01,0%	02	01,3%	0,9	0,040	---
49(B21)	03	03,0%	03	01,9%	1,6	0,318	---
50(B21)	02	02,9%	03	01,9%	1,1	0,003	---
51	12	12,0%	18	11,5%	1,0	0,017	---
52	01	01,0%	01	0,6%	1,6	0,104	---
53	01	01,0%	01	0,6%	1,6	0,104	---
55	05	05,0%	05	03,2%	1,6	0,538	---
57	07	07,0%	12	07,6%	0,9	0,037	---
58	02	02,0%	03	01,9%	1,1	0,003	---
HLA-Cw*							
01	08	08,0%	14	08,9%	0,9	0,066	---
02	13	13,0%	13	08,3%	1,6	1,497	---
03	26	26,0%	40	25,5%	1,0	0,009	---
04	29	29,0%	35	22,3%	1,3	1,469	---
05	12	12,0%	14	08,9%	1,3	0,638	---
06	19	19,0%	37	23,6%	0,8	0,748	---
07	52	52,0%	78	49,7%	1,0	0,131	---
08	02	02,0%	08	05,1%	0,5	1,565	---
12	17	17,0%	19	12,1%	1,4	1,217	---
13	0	0,0%	01	00,6%	0,5	0,639	---
14	01	01,0%	00	00,0%	4,7	1,576	---
15	05	05,0%	11	07,0%	0,7	0,421	---
16	03	03,0%	08	05,1%	0,6	0,655	---
17	01	01,0%	01	00,6%	1,6	0,104	---

4.5. HLA-Klasse I-Merkmale (A, B, Cw) bei metastasierten NZK-Patienten

Im Gegensatz zur Gesamtgruppe der NZK-Patienten lassen sich in der Gruppe der metastasierten NZK-Patienten statistisch signifikante sowie nicht signifikante, aber erfassbare Veränderungen von Phänotypfrequenzen der einzelnen Merkmale abgrenzen.

Innerhalb der HLA-A-Merkmale war für die Gruppe der metastasierten NZK-Patienten eine Erhöhung für die nahe verwandten HLA-A*30 (8,3 % vs. 4,5 %; RR = 2,1; p_y = n.s.) und für HLA-A*31 (16,7 % vs. 3,8 %; RR = 4,5; p_y = 0,042) zu ermitteln.

Die Erhöhung war für HLA-A*31 hingegen nicht für HLA-A*30 statistisch signifikant.

Auch innerhalb der HLA-B*-Merkmale konnte eine Phänotyp-Erhöhung für ein einzelnes Merkmal abgegrenzt werden. So wurde eine Phänotypfrequenzerhöhung für HLA-B*35 (33,3 % vs. 18,5 %; RR = 1,8, p_y n.s.) ermittelt. Diese Erhöhung war jedoch statistisch nicht signifikant. Für das Merkmal HLA-Cw*04 wurde eine signifikante Phänotypfrequenzerhöhung (41,7 % vs. 22,3 %; RR = 1,9; p_y = 0,041) gesichert. HLA-B*35 und HLA-Cw*04 sind miteinander gekoppelte Merkmale und verhalten sich im Falle einer Erhöhung oder Verringerung dementsprechend gleichsinnig.

Tabelle 21: HLA-Klasse I-Merkmale bei Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom

HLA	NZK mit Metastasen (n=24)		Kontrollprobanden (n=157)		RR	χ^2	p_y
	n	pf	n	pf			
HLA-A*							
01	10	41,7%	50	31,8%	1,3	0,906	---
02	14	58,3%	76	48,4%	1,2	0,820	---
03	06	25,0%	40	25,5%	1,0	0,003	---
11	02	08,3%	13	08,3%	1,2	0,000	---
23	01	04,2%	07	04,5%	1,3	0,004	---
24	04	16,7%	30	19,1%	0,9	0,081	---
25	01	04,2%	09	05,7%	1,0	0,098	---
26	01	04,2%	17	10,8%	0,6	1,031	---
68+69(28)	01	04,2%	18	11,5%	0,5	1,180	---
29	00	00,0%	08	05,1%	0,4	1,279	---

HLA	NZK mit Metastasen (n=24)		Kontrollprobanden (n=157)		RR	χ^2	Py
	n	pf	n	pf			
HLA-A*							
30	02	08,3%	07	04,5%	2,1	0,661	---
31	04	16,7%	06	03,8%	4,5	6,581	0,042
32	00	00,0%	09	05,7%	0,3	1,448	---
33	00	00,0%	02	1,3%	---	---	---
66	00	00,0%	00	00,0%	1,0	0,000	---
HLA-B*							
07	05	20,8%	33	21,0%	1,0	0,000	---
08	04	16,7%	34	21,7%	0,8	0,312	---
13	02	08,3%	15	09,6%	1,0	0,036	---
14	00	00,0%	08	05,1%	0,4	1,279	---
15	03	12,5%	24	15,3%	0,8	0,001	---
18	03	12,5%	12	07,6%	1,8	0,646	---
27	03	12,5%	12	07,6%	1,8	0,646	---
35	08	33,3%	29	18,5%	1,8	2,827	n.s.
37	01	04,2%	09	05,7%	1,0	0,098	---
38	01	04,2%	12	07,6%	0,8	0,377	---
39	01	04,2%	09	05,7%	1,0	0,098	---
40	01	04,2%	20	12,8%	0,5	1,334	---
41	00	00,0%	01	00,6%	2,1	0,154	---
42	00	00,0%	00	00,0%	1,0	0,000	---
44	06	25,0%	25	15,9%	1,6	1,208	---
45	00	00,0%	03	01,9%	0,9	0,466	---
47	00	00,0%	02	01,3%	1,3	0,309	---
49(B21)	01	01,0%	03	01,9%	2,8	0,490	---
50(B21)	01	01,0%	03	01,9%	2,8	0,490	---
51	01	04,2%	18	11,5%	0,5	1,180	---
52	00	00,0%	01	00,6%	2,1	0,154	---
53	00	00,0%	01	00,6%	2,1	0,154	---
55	02	08,3%	05	03,2%	2,9	1,484	---

HLA	NZK mit Metastasen (n=24)		Kontrollprobanden (n=157)		RR	χ^2	Py
	n	pf	n	pf			
57	02	08,3%	12	07,6%	1,3	0,014	---
58	00	00,0%	03	01,9%	0,9	0,466	---
Cw*							
01	00	00,0%	14	08,9%	0,2	2,320	---
02	04	16,7%	13	08,3%	2,1	1,720	---
03	06	25,0%	40	25,5%	1,0	0,003	
04	10	41,7%	35	22,3%	1,9	4,183	0,041
05	03	12,5%	14	08,9%	1,6	0,314	---
06	06	25,0%	37	23,6%	1,1	0,024	---
07	13	54,2%	78	49,7%	1,1	0,168	---
08	00	00,0%	08	05,1%	0,4	1,279	---
12	01	04,2%	19	12,1%	0,5	1,334	---
13	00	00,0%	01	00,6%	2,1	0,154	---
14	00	00,0%	00	00,0%	1,0	0,000	---
15	01	04,2%	11	07,0%	0,8	0,271	---
16	00	00,0%	08	05,1%	0,4	1,279	---
17	00	00,0%	01	00,6%	2,1	0,154	---

Im Vergleich zur Gesamtgruppe der NZK-Patienten konnten unter den Merkmalen der HLA-Klasse I zusätzliche statistisch signifikante Phänotypfrequenzveränderungen für HLA-A*31 und HLA-Cw*04 (bei Kopplungsungleichgewicht mit HLA-B*35) gesichert werden.

4.6. HLA-Klasse II-Merkmale (DRB1 und DQB1) bei NZK-Patienten

Die Verteilung der typisierten Klasse II-Merkmale für HLA-DRB1* und HLA-DQB1* werden in Tabelle 22 wiedergegeben.

In der Gruppe der HLA-Klasse II-Merkmale stellten sich teils tendenzielle, teils statistisch signifikante Veränderungen der Phänotypfrequenzen einzelner Merkmale dar.

Tabelle 22: HLA-Klasse II-Merkmale (DRB1 und DQB1) bei NZK-Patienten

HLA	NZK-gesamt (n=100)		Kontrollprobanden (n=157)		RR	χ^2	p _y
	n	pf	n	pf			
HLA-DRB1*							
01	32	32,0%	31	19,7%	1,6	4,958	0,028
15	20	20,0%	28	17,8%	1,1	0,189	---
16	08	08,0%	06	03,8%	2,1	2,071	n.s.
03	23	23,0%	39	24,8%	0,9	0,113	---
04	14	14,0%	36	22,9%	0,6	3,109	n.s.
11	26	26,0%	38	24,2%	1,1	0,105	---
12	02	02,0%	07	04,5%	0,5	1,093	---
13	26	26,0%	47	29,9%	0,9	0,465	---
14	06	06,0%	00	---	---	9,645	---
07	28	28,0%	44	28,0%	1,0	0,000	---
08	03	03,0%	15	09,6%	0,4	4,029	0,044
09	01	01,0%	01	0,6%	1,6	0,104	---
HLA-DQB1*							
05	45	45,0%	44	28,0%	1,6	7,776	0,006
06	40	40,0%	69	43,9%	0,9	0,390	---
02	43	43,0%	65	41,4%	1,0	0,064	---
0301	36	36,0%	65	41,4%	0,9	0,747	---
0302	08	08,0%	25	15,9%	0,5	3,427	n.s.
0303	11	11,0%	13	08,3%	1,3	0,534	---
04	02	02,0%	14	08,9%	0,3	5,007	0,026

Unter den NZK-Patienten wurde eine erhöhte Phänotypfrequenz für DRB1*01 (32,0 % vs. 19,7 %; RR 1,6; p_y = 0,028), für DRB1*16 (8,0 % vs. 3,8 %; RR 2,1; p_y = n.s.) und für DQB1*05 (45,0 % vs. 28,0 %; RR 1,6; p_y = 0,006) gefunden.

Hervorzuheben waren die signifikanten Erhöhungen für DRB1*01 und DQB1*05.

Verminderte Frequenzen unter den NZK-Patienten konnten weiterhin für DRB1*04 (14,0 % vs. 22,9 %; RR 0,6; $p_y = \text{n.s.}$), für DRB1*08 (3,0 % vs. 9,6 %; RR 0,4; $p_y = 0,044$), für DQB1*0302 (8,0 % vs. 15,9 %; RR 0,5; $p_y = \text{n.s.}$) und für DQB1*04 (2,0 % vs. 8,9 %; RR 0,3; $p_y = 0,026$) ermittelt werden.

Die signifikanten Verringerungen von DRB1*08 und DQB1*04 sind dabei hervorzuheben. Beim Vergleich der HLA-Merkmal-Phänotypfrequenzen zwischen NZK-Patienten und Kontrollprobanden waren nur unter einzelnen HLA-Klasse II-Merkmalen statistisch signifikante Erhöhungen (DRB1*01, DQB1*05) und Verringerungen (DRB1*08, DQB1*04) festzustellen.

4.7. HLA-Klasse II-Merkmale (DRB1 und DQB1) bei metastasierten NZK-Patienten

Die Phänotypfrequenzerhöhung des Merkmals HLA-DRB1*01 in der Gesamtgruppe der 100 NZK-Patienten konnte unter den metastasierten NZK-Patienten nicht mehr nachgewiesen werden. Die verminderte Phänotypfrequenz für HLA-DRB1*15 (4,2 % vs. 17,8 %; RR = 0,3; $p_y \text{ n.s.}$) und für HLA-DRB1*03 (8,3 % vs. 24,8 %; RR = 0,4; $p_y \text{ n.s.}$) war nicht signifikant.

Die bereits für die Gesamt-NZK-Patientengruppe beschriebene Erhöhung von HLA-DQB1*05 konnte auch für die Gruppe der metastasierten NZK-Patienten mit noch deutlicherem Unterschied abgegrenzt werden (54,2 % vs. 28,0 %; RR = 1,9; $p_y = 0,014$). Dieses Ergebnis ist als statistisch signifikant hervorzuheben.

Für HLA-DQB1*06 (25,0 % vs. 43,9 %; RR = 0,6; $p_y \text{ n.s.}$) und für HLA-DQB1*0302 (0 % vs. 15,9 %; RR und p_y nicht bestimmbar) ist eine deutliche Phänotypfrequenzverminderung nachzuvollziehen. Statistisch kann dies jedoch nicht als signifikant bestätigt werden.

Für die Merkmale der HLA-Klasse II-Antigene kann nur eine Phänotypfrequenzerhöhung für HLA-DQB1*05 als signifikant bestimmt werden. Die für die Gesamt-NZK-Patientengruppe bestimmte Phänotypfrequenzerhöhung für HLA-DRB1*01 tritt bei der Gruppe der metastasierten NZK-Patienten nicht mehr auf.

Tabelle 23: HLA-Klasse II-Merkmale bei metastasierten NZK-Patienten

HLA	NZK mit Metastasen		Kontrollprobanden		RR	x ²	p _y
	(n = 24)		(n = 157)				
HLA-DRB1*	n	pf	n	pf			
01	05	20,8%	31	19,7%	1,1	0,015	---
15	01	04,2%	28	17,8%	0,3	2,890	n.s.
16	01	04,2%	06	03,8%	1,5	0,007	---
03	02	08,3%	39	24,8%	0,4	3,238	n.s.
04	03	12,5%	36	22,9%	0,6	1,340	---
11	03	12,5%	38	24,2%	0,6	1,628	---
12	00	00,0%	07	04,5%	0,4	1,113	---
13	00	00,0%	47	29,9%	0,1	9,705	---
14	02	08,3%	00	00,0%	32,1	---	---
07	04	16,7%	44	28,0%	0,7	1,378	---
08	02	08,3%	15	09,6%	1,0	0,036	---
09	00	00,0%	01	00,6%	2,1	0,154	---
HLA-DQB1*							
05	13	54,2%	44	28,0%	1,9	6,594	0,014
06	06	25,0%	69	43,9%	0,6	3,080	n.s.
02	13	54,2%	65	41,4%	1,3	1,383	---
0301	12	50,0%	65	41,4%	1,2	0,630	---
0302	00	00,0%	25	15,9%	0,1	4,434	---
0303	00	00,0%	13	08,3%	0,2	2,141	n.s.
04	01	04,2%	14	08,9%	0,7	0,618	---

4.8. HLA-Merkmal-Kombinationen (Haplotypen) zweier Merkmale

Wie im Kapitel HLA-Polymorphismus und Kopplungsungleichgewicht beschrieben wurde, werden die Allele der 6 Genloci nicht losgelöst voneinander vererbt. Statistisch ergeben sich typische Merkmal/Allel-Kombinationen, die in einer Familie vererbt werden.

Diese jeweils fixen Kombinationen eines Chromosoms werden als Haplotyp bezeichnet. Um einen Haplotyp von Patienten zu definieren, sind normalerweise, wenn möglich, umfangreiche Familienuntersuchungen notwendig. Für die NZK-Patienten waren solche Familienuntersuchungen aus logistischen Gründen nicht möglich, so dass auf die rein vom Phänotyp abgeleiteten Kombinationen zurückgegriffen wurde.

Wenn man die 74 Merkmale kombiniert (14 HLA-A*-Merkmale; 27 HLA-B*-Merkmale; 14 HLA-Cw*-Merkmale; 12 HLA-DRB1*-Merkmale; 7 HLA-DQB1*-Merkmale), so erhält man 2034 Kombinationen. Die NZK-Patienten wurden hinsichtlich des Vorliegens dieser Kombinationen analysiert.

4.8.1. HLA-Merkmal-Kombinationen zweier Merkmale bei NZK-Patienten

Für nur 9 der insgesamt 2034 möglichen Kombinationen waren statistisch nachvollziehbare Veränderungen der Häufigkeit unter NZK-Patienten gegenüber den Kontrollprobanden zu ermitteln.

Tabelle 24: Frequenzvergleich der Merkmal-Kombinationen zweier Merkmale bei 100-NZK-Patienten und bei Kontrollprobanden

HLA	NZK-gesamt (n=100)		Kontrollprobanden (n=157)		RR	χ^2	p _y	p _{Fi}
	n	pf	n	pf				
	χ^2 signifikant		(wenn beide n>5)					
DRB1*01:DQB1*05	32	32,0%	31	19,7%	01,6	4,958	0,028	---
Cw*03:DQB1*05	14	14,0%	10	06,4%	02,2	4,201	0,047	---
A*01:DRB1*01	12	12,0%	06	03,8%	03,1	6,273	0,016	---
	Fisher's-exact test signifikant		(wenn eines der n<5)					
Cw*02:DQB1*05	08	08,0%	03	01,9%	04,2	5,529	---	0,022
B*13:Cw*07	05	05,0%	01	00,6%	07,9	5,100	---	0,034
DRB1*08:DQB1*04	02	02,0%	14	08,9%	00,3	5,007	---	0,019
Cw*02:DRB1*01	06	06,0%	02	01,3%	04,7	4,524	---	0,041
A*11:Cw*07	07	07,0%	03	01,9%	03,7	4,231	---	0,044
Cw*12:DQB1*05	08	08,0%	04	02,5%	03,1	4,080	---	0,045

Es wurden 3 Kombinationen ermittelt, die im χ^2 -Test signifikant gesichert wurden. Die Erhöhungen stellten sich für HLA-DRB1*01:DQB1*05 (32,0 % vs. 19,7 %; RR = 1,6; $p_y = 0,028$), HLA-Cw*03:DQB1*05 (14,0 % vs. 6,4 %; RR = 2,2; $p_y = 0,047$) und für HLA-A*01:DRB1*01 (12,0 % vs. 3,8 %; RR = 3,1; $p_y = 0,016$) dar.

Weitere 5 Kombinationen wiesen eine Erhöhung auf, die jedoch aufgrund der kleinen Anzahl durch den Fisher's-exact test als signifikant gesichert werden mussten.

Diese Erhöhungen wurden für HLA-Cw*02:DQB1*05 (8,1 % vs. 1,9 %; RR = 4,2; $p_{Fi} = 0,022$), HLA-B*13:Cw*07 (5,0 % vs. 0,6 %; RR = 7,9; $p_{Fi} = 0,034$), für HLA-Cw*02:DRB1*01 (6,0 % vs. 1,3 %; RR = 4,7; $p_{Fi} = 0,041$), für HLA-A*11:Cw*07 (7,0 % vs. 1,9 %; RR = 3,7; $p_{Fi} = 0,044$) sowie für HLA-Cw*12:DQB1*0,5 (8,0 % vs. 2,5 %; RR = 3,1; $p_{Fi} = 0,045$) bestimmt.

Nur für HLA-DRB1*08:DQB1*04 (2,0 % vs. 8,9 %; RR = 0,3; $p_{Fi} = 0,019$) wurde ein signifikant vermindertes Auftreten im Fisher's-exact test bei ebenfalls geringer Fallzahl festgestellt.

4.8.2. HLA-Merkmal-Kombinationen zweier Merkmale bei metastasierten NZK-Patienten

Auch in der Gruppe der metastasierten NZK-Patienten war nur für eine geringe Anzahl von Merkmalkombinationen eine statistisch signifikante Erhöhung für ihr Auftreten nachzuweisen. Die Kombinationen, für die eine signifikante Erhöhung festgestellt wurde, waren im Vergleich zur Gruppe der NZK-Patienten vollständig different. Es gab keine signifikant seltener vorkommende Kombination.

Mit entsprechend hohen Fallzahlen konnten signifikante Erhöhungen für 4 Kombinationen im χ^2 -Test bestimmt werden. Unter diesen Kombinationen waren HLA-A*01:DQB1*05 (29,2 % vs. 8,3 %; RR = 3,5; $p_y = 0,0073$), HLA-A*01:Cw*04 (25,0 % vs. 6,4 %; RR = 3,9; $p_y = 0,010$), HLA-Cw*07:DQB1*05 (33,3 % vs. 12,7 %; RR = 2,6; $p_y = 0,019$) und HLA-A*01:B*35 (20,8 % vs. 6,4 %; RR = 3,3; $p_y = 0,0445$).

Zwei weitere Erhöhungen konnten durch den Fisher's-exact test als signifikant bewertet werden. Die beiden Kombinationen waren HLA-A*31:B*35 (12,5 % vs. 1,3 %; RR = 9,0; $p_{Fi} = 0,0173$) und HLA-A*31:Cw*04 (12,5 % vs. 1,3 %; RR = 9,0; $p_{Fi} = 0,0173$).

Tabelle 25: Frequenzvergleich der Merkmal-Kombinationen zweier Merkmale bei 24-NZK-Patienten mit Metastasen und bei Kontrollprobanden

HLA	NZK-Patienten mit Metastasen (n=24)		Kontrollprobanden (n=157)		RR	χ^2	p _y	p _{Fi}
	n	pf	n	pf				
	χ^2 signifikant		(wenn beide n>5)					
Cw*07:DQB1*05	8	33,33	20	12,74	2,62	6,75	0,0186	---
A*01:DQB1*05	7	29,17	13	8,28	3,52	9,24	0,0073	---
A*01:Cw*04	6	25,00	10	6,37	3,93	8,97	0,0101	---
A*01:B*35	5	20,83	10	6,37	3,27	5,73	0,0445	---
A*03:DQB1*05	5	20,83	12	7,64	2,73	4,26	n.s.	---
B*44:Cw*07	5	20,83	12	7,64	2,73	4,26	n.s.	---
	Fisher's-exact test signifikant		(wenn eines der n<5)					
A*31:B*35	3	12,50	2	1,27	9,00	9,77	---	0,0173
A*31:Cw*04	3	12,50	2	1,27	9,00	9,77	---	0,0173

4.9. HLA-Merkmal-Kombinationen (Haplotypen) dreier Merkmale

Die Möglichkeiten der Kombinatorik werfen die Frage auf, ob bei der Kombination von 3 Merkmalen stärkere Differenzen ermittelt werden können, um eventuelle Haplotypen oder sich in den Kombinationen mehrfach wiederholende Merkmale eingrenzen zu können. Es wurden kombinatorisch 27.422 Verknüpfungen dreier Merkmale für die Gruppen der NZK-Patienten, der NZK-Patienten mit Metastasen sowie für die Kontrollprobanden analysiert.

4.9.1. HLA-Merkmal-Kombinationen dreier Merkmale bei NZK-Patienten

Nur eine Kombination von 3 Merkmalen mit signifikanter Erhöhung erreichte eine Fallzahl > 5 in den zu vergleichenden Gruppen und konnte somit im χ^2 -Test bestätigt werden.

Diese Kombination war HLA-A*24:Cw*06:DQB1*06 (17,0 % vs. 3,2 %; RR = 5,3; p_y = 0,0002).

Tabelle 26: Frequenzvergleich der Merkmal-Kombinationen dreier Merkmale bei 100-NZK-Patienten und bei Kontrollprobanden

HLA	NZK- gesamt (n = 100)		Kontroll- probanden (n = 157)		RR	χ^2	p _y	p _{Fi}	
	n	pf	n	pf					
χ^2 signifikant		(wenn beide n > 5)							
A*24:Cw*06:DQB1*06	17	17,0%	5	3,18%	05,3	14,896	0,0002	---	
Fisher's-exact test signifikant		(wenn eines der n < 5)							
Cw*06:DRB1*08:DQB1*06	09	09,0%	1	0,64%	14,1	11,425	---	0,0011	
A*03:B*14:DRB1*15	07	07,0%	1	0,64%	11,0	08,201	---	0,0064	
A*25:Cw*07:DRB1*15	07	07,0%	1	0,64%	11,0	08,201	---	0,0064	
A*25:Cw*13:DRB1*15	07	07,0%	1	0,64%	11,0	08,201	---	0,0064	
B*40:Cw*06:DRB1*03	07	07,0%	1	0,64%	11,0	08,201	---	0,0064	
B*47:Cw*07:DRB1*03	07	07,0%	1	0,64%	11,0	08,201	---	0,0064	
B*27:Cw*02:DRB1*16	07	07,0%	1	0,64%	11,0	08,201	---	0,0064	
B*14:Cw*04:DQB1*06	07	07,0%	1	0,64%	11,0	08,201	---	0,0064	
B*14:Cw*04:DQB1*05	08	08,0%	2	1,27%	06,3	07,390	---	0,0089	
B*27:Cw*06:DRB1*15	06	06,0%	1	0,64%	09,4	06,632	---	0,0150	
B*58:DRB1*03:DQB1*02	06	06,0%	1	0,64%	09,4	06,632	---	0,0150	
A*24:Cw*08:DQB1*05	06	06,0%	2	1,27%	04,7	04,524	---	0,0409	
Cw*08:DRB1*11:DQB1*05	06	06,0%	2	1,27%	04,7	04,524	---	0,0409	

Trotz geringer Fallzahl konnten weitere Erhöhungen durch den Fisher's-exact test als signifikant verifiziert werden. Dazu gehören HLA-Cw*06:DRB1*08:DQB1*06 (9,0 % vs. 0,6 %; RR = 14,1; p_{Fi} = 0,0011), HLA-A*03:B*14:DRB1*15 (7,0 % vs. 0,6 %; RR = 11,0; p_{Fi} = 0,0064), HLA-A*25:Cw*07:DRB1*15 (7,0 % vs. 0,6%; RR = 11,0; p_{Fi} = 0,0064), HLA-A*25: Cw*13:DRB1*15 (7,0% vs. 0,6%; RR = 11,0; p_{Fi} = 0,0064), HLA-B*40:Cw*06:DRB1*03 (7,0% vs. 0,6%; RR = 11,0; p_{Fi} = 0,0064), HLA-B*47:Cw*07:DRB1*03 (7,0% vs. 0,6%; RR = 11,0; p_{Fi} = 0,0064), HLA-B*27: Cw*02:DRB1*16 (7,0% vs. 0,6%; RR = 11,0; p_{Fi} = 0,0064), HLA-B*14:Cw*04:DQB1*06 (7,0% vs. 0,6%; RR = 11,0; p_{Fi} = 0,0014),

HLA-B*14:Cw*04:DQB1*05 (8,0 % vs. 1,3 %; RR = 6,3; p_{Fi} = 0,0089), HLA-B*27:Cw*06:DRB1*15 (6,0 % vs. 0,6 %; RR = 9,4; p_{Fi} = 0,015), HLA-B*58:DRB1*03:DQB1*02 (6,0 % vs. 0,6 %; RR = 9,4; p_{Fi} = 0,015), HLA-A*24:Cw*08:DQB1*05 (6,0 % vs. 1,3 %; RR = 4,5; p_{Fi} = 0,041) und HLA-Cw*08:DRB1*11:DQB1*05 (6,0 % vs. 1,3 %; RR = 4,7; p_{Fi} = 0,041).

In Zusammenfassung kann festgestellt werden, dass insgesamt in jeweils 4 signifikant erhöhten Kombinationen HLA-DRB1*15 oder HLA-Cw*06 vertreten waren. In je 3 signifikant erhöhten Kombinationen fanden sich HLA-DQB1*05, HLA-DQB1*06 und HLA-DRB1*03.

4.9.2. HLA-Merkmal-Kombinationen dreier Merkmale bei metastasierten NZK-Patienten

In der Teilgruppe der metastasierten NZK-Patienten konnte für keine der Kombinationen von 3 Merkmalen eine Fallzahl erreicht werden, die bei Vorliegen einer veränderten Häufigkeit für eine Bestätigung im χ^2 -Test herangezogen werden konnte. Für 18 Kombinationen konnte im Fisher's-exact test das erhöhte Vorkommen gesichert werden.

In der Tabelle 27 wurden die 18 signifikant erhöhten Kombinationen dreier Merkmale dargestellt.

Es fiel auf, dass HLA-DQB1*05 in 9 signifikant erhöhten Kombinationen enthalten war.

HLA-DQB1*06 war in weiteren 6 signifikant erhöhten Kombinationen nachzuweisen.

In je 4 signifikant erhöhten Kombinationen waren HLA-DRB1*03, HLA-DRB1*15, HLA-B*07, HLA-Cw*05, HLA-Cw*02 sowie HLA-Cw*01 enthalten.

Tabelle 27: Frequenzvergleich der Merkmal-Kombinationen dreier Merkmale bei 24 NZK-Patienten mit Metastasen und bei Kontrollprobanden

HLA	NZK-Patienten mit Metastasen (n=24)		Kontroll- probanden (n=157)		RR	χ^2	Py	pFi
	n	pf	n	pf				
	Fisher's-exact test signifikant				(wenn eines der n < 5)			
Cw*2:DRB1*15:DQB1*06	4	16,7%	2	1,3%	11,57	15,390	---	0,0030
A*1:Cw*2:DRB1*15	3	12,5%	1	0,6%	15,00	13,557	---	0,0076
B*8:Cw*5:DQB1*06	3	12,5%	1	0,6%	15,00	13,557	---	0,0076
B*18:DRB1*15:DQB1*06	3	12,5%	1	0,6%	15,00	13,557	---	0,0076
A*11:Cw*5:DRB1*01	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
A*1:Cw*5:DQB1*05	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
A*11:Cw* 3:DQB1*06	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
B*7:Cw*4:DRB1* 03	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
B*7:Cw*1:DQB1*05	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
B*7:Cw*4:DQB1*05	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
B*53:Cw*4:DQB1*05	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
B*18:Cw*1:DQB1*06	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
B*7:DRB1* 03:DQB1*05	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
Cw*1:DRB1* 03:DQB1*05	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
Cw*2:DRB1* 03:DQB1*05	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
Cw*1:DRB1*15:DQB1*05	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
Cw*2:DRB1*16:DQB1*05	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467
Cw*5:DRB1*01:DQB1*06	2	08,3%	1	0,6%	10,71	7,565	---	0,0467

5. Diskussion

Kontrollgruppe und Methodik

Die Kontrollgruppe von 157 Blutspendern aus Sachsen-Anhalt wurde im gleichen Zeitraum wie die NZK-Patienten serologisch und molekulargenetisch HLA-typisiert. Es ist hervorzuheben, dass eine komplette molekulargenetische HLA-Typisierung erst für wenige deutsche Normalpopulationen mit zum Teil kleinen Probandenzahlen oder dem Fehlen einzelner Genloci erstellt wurde. Mit 157 Probanden wurde so eine ausreichende und aus statistischer Sicht vergleichbar große Kontrollgruppe geschaffen.

Die eingesetzten serologischen und molekulargenetischen Methoden der HLA-Typisierung sind im interdisziplinären HLA-Labor der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg als Eurotransplant-Labor routinemäßig etabliert und werden ständig mittels Qualitätskontrollen abgesichert. Die Untersuchungsmethoden entsprachen damit dem aktuellen Stand und ermöglichten zuverlässige sowie reproduzierbare Ergebnisse. Eine hoch auflösende PCR war aufgrund der Datenlage in der Literatur nicht notwendig. Die zu erwartenden Ergebnisse infolge einer hochauflösenden PCR würden wiederum nur sehr kleine Patientengruppen erfassen, die für die klinische Routine ohne Relevanz wären.

Die vorliegende Untersuchung wurde an einer Gruppe von 100 Patienten durchgeführt, die aus 356 tumornephrektomierten Patienten zufällig ausgewählt worden war. Das Nierenzellkarzinom wurde für alle Patienten pathohistologisch gesichert. Die HLA-Typisierung erfolgte molekulargenetisch, um insbesondere die Genloci HLA-CW, HLA-DRB1* und HLADQB1* zu erfassen. Mit 100 Probanden ist die Gruppe der Patienten zur statistischen Analyse hinreichend groß. Mit dem Vorgehen der zufälligen Auswahl ist das Gesamtpatientenkollektiv repräsentativ wiedergespiegelt.

Die Altersverteilung unter den NZK-Patienten

Die ermittelte Altersverteilung unter den 100 HLA-typisierten NZK-Patienten, im Median von 64,7 Jahren (SD 10,3 Jahre), stimmt mit der von anderen Untersuchungen unter NZK-Patienten überein (13, 40, 50). Das besonders häufige Auftreten eines Nierenzellkarzinoms in der zweiten Lebenshälfte unterstützt so die Annahme, dass ein multifaktorielles Geschehen zur Entstehung der Nierenzellkarzinome führt.

Auch die Geschlechterverteilung von 2,2 Männern zu 1,0 Frauen entsprach den Angaben in internationalen Veröffentlichungen (13, 40, 44, 46, 50 und 87). Die stärkste kritische Noxe der Studien zu urologischen Tumoren stellt das Rauchen dar (87, 121). Der Nikotinkonsum ist wiederum mehr als doppelt so häufig unter Männern als unter Frauen. Somit könnte der Nikotinkonsum als eine häufige Noxe in den Industrienationen eine wesentliche Ursache für die Entstehung von Nierenzellkarzinomen darstellen.

Die Alters- und Geschlechterverteilung entsprach den internationalen Angaben und bestätigte die Vergleichbarkeit der gewonnenen Daten.

Vergleich der pathohistologischen T-Stadien

Die umfangreichste Angabe über die Verteilung der pathohistologischen T-Stadien ist 1996 durch das National Institute of Health (NHI) nach retrospektiver Analyse von 11424 Nierentumoren publiziert worden. In der nachfolgenden Gegenüberstellung ist zu erkennen, dass die Verteilung der T-Stadien in beiden Gruppen näherungsweise einander entspricht.

Die vorliegenden Ergebnisse sind hinsichtlich der Verteilung der pathohistologischen T-Stadien vergleichbar und werden zugleich durch die Angaben in der internationalen Literatur bestätigt.

Tabelle 28: Vergleich der T-Stadien unter NZK-Patienten in Sachsen-Anhalt und des NHI

T-Stadium	Sachsen-Anhalt	NHI
PT1	12 %	5,8 %
PT2	45 %	53,6 %
PT3	39 %	37,2 %
PT4	3 %	3,4 %

Pathohistologische G-Stadien

Für die Klassifikation der G-Stadien muss vorangestellt werden, dass es mehrere, international nicht einheitliche Klassifikationen gibt. Die Klassifikation nach THOENES (112) ist die Zusammenfassung von lichtmikroskopisch erfassbaren zytomorphologischen Parametern. Das Ergebnis ist insbesondere von der Erfahrung des jeweiligen Pathologen abhängig. Mittels Weiterentwicklung ist versucht worden, diese Parameter zu objektivieren. Jedoch muss dabei der Heterogenität eines Tumors durch multiple Messungen entsprochen werden. Eine Verbesserung der prognostischen Wertigkeit konnte dadurch noch nicht gesichert werden.

Die vorliegenden Ergebnisse enthalten ein G-Stadium entsprechend der Klassifikation nach THOENES, die mit Literaturangaben, in denen ebenfalls die G-Klassifikation nach THOENES verwendetet wurde (44, 68, 87), verglichen wurden.

Im Vergleich zur Literatur ist das G1-Stadium in der vorliegenden Untersuchung mit 18 % deutlich unterrepräsentiert (24-28 %) und das G3-Stadium mit 33 % (12-18 %) deutlich überrepräsentiert.

Ein Vergleich der vorliegenden Daten ist möglich, solange die Beachtung des G-Stadiums erfolgt.

Häufigkeit des Auftretens von Metastasen in Bezug auf T- und G-Stadium

Die vorliegende Untersuchung hat gezeigt, dass die Häufigkeit des Auftretens von Metastasen direkt mit dem T-Stadium als auch mit dem G-Stadium im Zusammenhang steht. Kein Patient mit einem pT1-Tumor wies im Verlauf eine Metastasierung auf. Hingegen war bei mehr als einem Drittel der Patienten im primären Tumorstadium pT3a eine Metastasierung nachzuweisen. Unter G1-Tumoren kam es nur in einem einzigen Fall im Verlauf zur Metastasierung, jedoch bei 14 Patienten mit einem primären G3-Tumor kam es T-stadien-unabhängig zur Metastasierung.

Grundsätzlich ist der Zeitpunkt des Auftretens (Frühzeitigkeit) von Metastasen beim Nierenzellkarzinom prognostisch relevant. 12 (50%) der 24 metastasierten NZK-Patienten wiesen zur Tumornephrektomie bereits Fernmetastasen auf (synchron). 12 weitere Patienten entwickelten im Verlauf nach Tumornephrektomie Fernmetastasen (metachron).

Die Mehrzahl der metachronen Metastasen wurde in einem Zeitraum von weniger als 15 Monaten nach Tumornephrektomie diagnostiziert. Insgesamt waren mehr als drei Viertel aller Metastasen (79,2% synchron und metachron; 19/24) bis 15 Monate nach Tumornephrektomie diagnostiziert. Der Umfang der radiologischen Nachsorge könnte somit früher als erst nach 5 Jahren hinsichtlich einer Reduktion überdacht werden. Computertomographien des Abdomens sollten 3 Jahre nach Tumornephrektomie, z. B. nur im Falle sonographischer Auffälligkeiten oder bei abdominellen Beschwerden erfolgen. Dabei sollte aber nicht auf die jährliche konventionelle Röntgen-Thorax-Aufnahme verzichtet werden, da mehr als die Hälfte der Spätmetastasen von Nierenzellkarzinomen pulmonale Metastasen sind. Aus klinischer Sicht ist ungefähr jede fünfte diagnostizierte Metastasierung als späte Metastasierung zu erwarten. Insgesamt sind es nur 5 von 100 Patienten, die in der späteren Nachsorge erfasst werden müssen. Dies sollte durch intensive klinische und paraklinische Untersuchungen, jährliche konventionelle Röntgen-Thorax-Aufnahme und regelmäßige abdominelle Ultraschalluntersuchungen erfassbar sein.

Das Verhältnis der synchronen zu den metachronen Metastasen ist in der vorliegenden Untersuchung mit 50 % (12/24) hinsichtlich der synchronen Metastasierung überrepräsentiert, jedoch ist der Anteil von metastasierten Patienten am Gesamtpatientenkollektiv mit den Ergebnissen der internationalen Literatur vergleichbar (13, 40, 46, 64, 79). Die dort gefundenen Angaben zum Auftreten von Metastasen werden ebenfalls durch die eigenen Ergebnisse bestätigt.

HLA-Klasse I-Merkmale bei NZK-Patienten und bei metastasierten NZK-Patienten

Für die Gesamtgruppe der NZK-Patienten konnte keine statistisch signifikante Erhöhung oder Verringerung für die einzelnen Merkmale der HLA-Klasse I bestimmt werden. Dieses Ergebnis entspricht der Erwartung aus immunologischer Sicht, da die MHC-Klasse I-Merkmale das „Körpereigene“ darstellen.

Unter den 24 metastasierten NZK-Patienten trat eine Erhöhung für HLA-A*30, HLA-A*31, HLA-B*35, HLA-Cw*04 auf. Die statistisch signifikante Erhöhung für HLA-A*31 und HLA-Cw*04 ist hervorzuheben. HLA-B*35 ist infolge der Kopplung als Haplotyp mit HLA - Cw*04 ebenfalls erhöht.

BAIN beschreibt 1997 (2) eine Erhöhung für die Merkmale HLA-A3 und HLA-A32 unter Patienten mit Ansprechen auf eine Immuntherapie. Diese Merkmale waren unter den eigenen NZK- Patienten im Vergleich zu den Kontrollprobanden unauffällig. Bei den NZK-Patienten mit dem Merkmal HLA-A*32 traten keine (0 von 7), mit dem Merkmal HLA-A*03 durchschnittlich häufige Metastasen (6 von 24) auf. Die prognostisch günstige Aussage von BAIN für HLA-A*32 kann damit durch die eigenen Ergebnisse unterstützt werden. Statistisch kann das Ergebnis der vorliegenden Arbeit jedoch aufgrund der geringen Zahl nicht gesichert werden.

Für die HLA-B*-Merkmale beschreibt ONISHI T. 1996 (78), dass die Immuntherapie bei Patienten mit HLA-B35(entspricht B*35), B48 (entspricht B*48) und DR9 (entspricht DRB1*09) deutlich häufiger ansprach. In einer Gruppe von 93 unselektierten Patienten vor Immuntherapie (vergleichbar mit der Gruppe der metastasierten NZK-Patienten) wurden B35 (entspricht B*35), B48 (entspricht B*48), B60 (entspricht Split von B*40), DR6 (entspricht DRB1*13+14), DR8 (entspricht DRB1*08) und DR9 (entspricht DRB1*09) in verringerter Frequenz nachgewiesen. HLA-B48 ist ein Merkmal, welches nur in der asiatischen Weltbevölkerung auftritt. Dies spiegelt sich entsprechend im Fehlen unter den Kontrollprobanden und den NZK-Patienten in der vorliegenden Arbeit wider. In der vorliegenden Untersuchung entsprach die Häufigkeit unter den NZK-Patienten für HLA-B*35 und HLA-B*40 denen der Kontrollgruppe. Auffällig hingegen war, dass 8 der 21 Patienten mit HLA-B*35 und nur einer von 13 Patienten mit B*40 eine Metastase entwickelten. Diese Veränderungen bestätigen den günstigen prognostischen Aussagewert, der von ONISHI für HLA-B60 angenommen wurde. Hinsichtlich von HLA-B*35 konnte das Ergebnis jedoch die Feststellung von ONISHI nicht stützen.

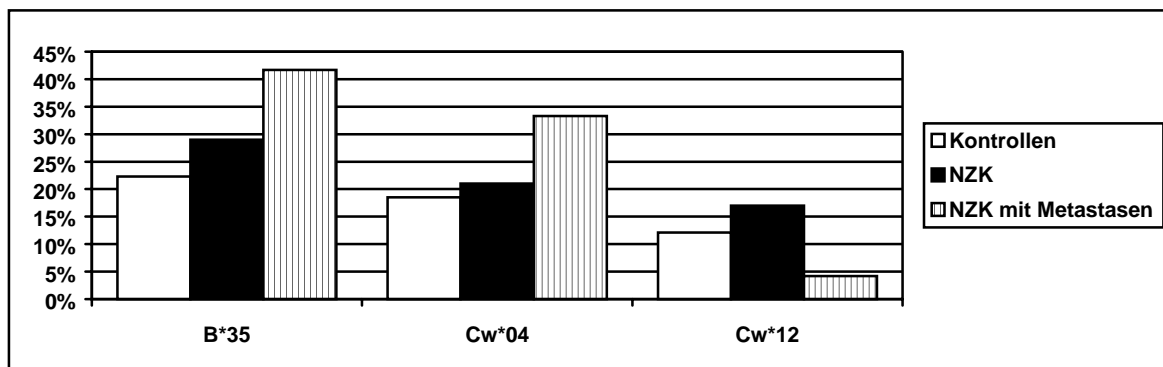
Für die HLA-B*-Merkmale B*40 und B*35 konnte ein prognostischer, aber nicht signifikanter Aussagewert nach Tumornephrektomie ermittelt werden.

Aus immunologischer Sicht kann angenommen werden, dass HLA-B*35 und -B*40 erst im Zusammenhang mit weiteren Merkmalen (Kopplung) entsprechende prognostische Bedeutung erlangen können.

In der vorliegenden Untersuchung wurde für das Merkmal HLA-Cw*04 eine signifikante Erhöhung der Phänotypfrequenz unter metastasierten NZK-Patienten nachgewiesen. In der Literatur gibt es keine Angaben über veränderte Frequenzen von HLA-Cw*-Merkmalen.

Aufgrund der Kenntnis typischer Kopplungsungleichgewichte von HLA-Cw*-Merkmalen mit dem HLA-B-Locus und den HLA-Klasse II-Merkmalen ist davon auszugehen, dass die Erhöhung von HLA-Cw*04 aus einer Kopplung mit einem weiteren prognostisch wichtigen HLA-Merkmal hervorgeht. Das Klasse I-Merkmal HLA-B*35 und weitere auffällige HLA-Klasse II-Merkmale werden entsprechend in der weiteren Diskussion näher betrachtet. Aus klinischer Sicht war zusätzlich das verringerte Auftreten von Cw*12 unter metastasierten Patienten auffällig, auch wenn keine statistische Signifikanz erreicht wurde. In der Literatur (2, 18, 31) wurde gezeigt, dass Natürliche Killerzellen (NK) ohne Präsentation von prozessierten Peptiden, aber vermittelt durch Determinanten von Cw*-Merkmalen, ihre zytotoxische Wirkung entfalten. So könnte eine erhöhte Meastasierungshäufigkeit Folge minderer Bindung oder eine verminderte Metastasierungshäufigkeit Folge einer erhöhten Bindung solcher „NK“-Determinanten sein. BABA et al. (1) zeigt die Möglichkeit einer Interferenz durch Peptide mit der Folge der Inaktivierung dieser NK-Rezeptoren. So könnte die seltene, aber dennoch auftretende Metastasierung bei dem Merkmal HLA-Cw*12 als Umgehung der immunologischen Abwehr durch Stoffwechselprodukte z. B. des Tumors erklärt werden.

Abb. 3: Die Verteilung der Merkmale HLA-B*35, -Cw*04 und -Cw*12 in der Kontrollgruppe, der Gruppe der NZK-Patienten und der metastasierten NZK-Patienten



HLA-Klasse II-Merkmale bei NZK-Patienten und metastasierten NZK-Patienten

Aus den vorliegenden Daten kann geschlossen werden, dass mit dem Merkmal DRB1*01 ein Nierenzellkarzinom häufiger entsteht, jedoch besteht für den Patienten mit DRB1*01 nach Tumornephrektomie ein vermindertes Metastasierungsrisiko (nur 5 von 32 Patienten/ 15,6%), d. h. HLA-DRB1*01 spricht für eine günstige Prognose nach Tumornephrektomie.

Bereits 1983 beschrieb KANTOR (49) eine verringerte Frequenz des Antigens HLA-DR1 (entspricht DRB1*01) für Patienten mit einem „early onset“ (unter 45 Jahren), einem bilateralen NZK oder einer familiären Häufung des NZK. Gerade das familiär gehäufte NZK kommt unter Patienten mit Morbus von HIPPEL-LINDAU vor und weist eine niedrigere Metastasenhäufigkeit auf. Das von KANTOR (49) vorgestellte Ergebnis eines verminderten Auftretens von HLA-DR1 steht zwar im Widerspruch zu den eigenen Daten, könnte aber durch die ungleichen Patientengruppen mit typisch verringerter HLA-DR1-Frequenz erklärt werden. Die Einbeziehung von Familien ist gerade bei populationsgenetischen Untersuchungen ungeeignet, da so das Hardy-Weinberg-Gesetz nicht mehr gültig ist und statistische Vergleiche mit einer Normalpopulation hinfällig werden. Es ist die Auffälligkeit des Merkmals HLA-DRB1*01 als bemerkenswert hervorzuheben.

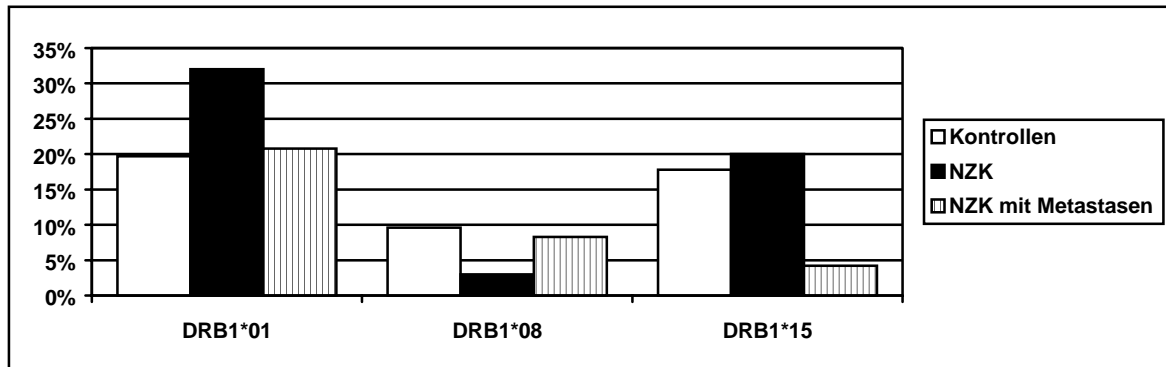
Auch die zuvor unter 100 NZK-Patienten bestimmte verringerte Frequenz von DRB1*08 konnte unter den metastasierten NZK-Patienten nicht mehr nachvollzogen werden. 2 der 3 Patienten mit DRB1*08 wiesen eine Metastasierung im Verlauf nach Tumornephrektomie auf. Das Ergebnis unterstützt zumindest den negativen prognostischen Wert von DR8 (41). Zu berücksichtigen ist, dass das Merkmal HLA-DR8 in der Normalpopulation selten vorkommt (< 10 %). Eine größere Bedeutung für die Analyse der Gesamtpopulation von Nierenzellkarzinomen ist schon deswegen nicht zu erwarten.

Die Merkmale HLA-DR1 und DR8 waren 1983 nur relativ unsicher mittels der vorhandenen Antikörpersets zu bestimmen. Die publizierten Arbeiten mit Ergebnissen der molekulargenetischen HLA-Bestimmung erfassen die Merkmale HLA-DRB1*01 und -DRB1*08 nicht.

Das Merkmal HLA-DRB1*15 wurde in gleicher Häufigkeit wie in der Kontrollgruppe gefunden, jedoch nur einer der 20 NZK-Patienten mit diesem Merkmal entwickelte eine Metastase im Verlauf.

Damit kann dem Merkmal HLA-DRB1*15 ein prognostisch günstiger Aussagewert zugeordnet werden.

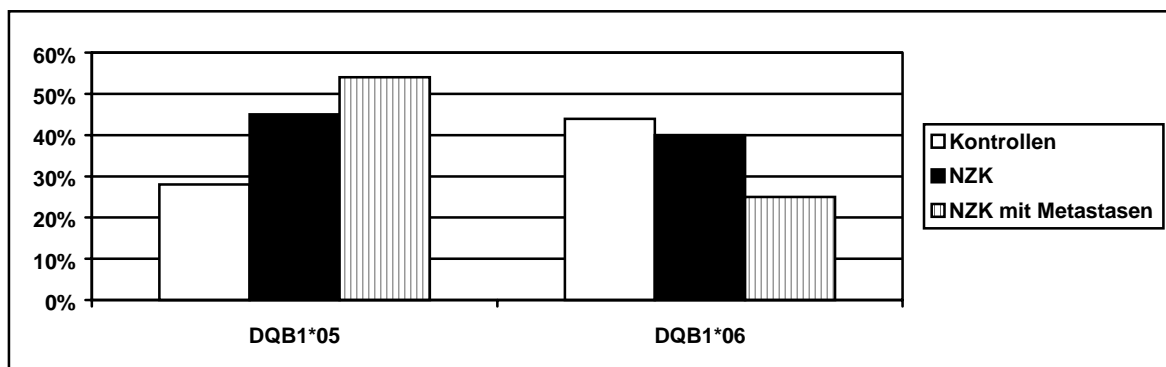
Abb. 4: Die Verteilung von HLA-DRB1*01 und -DRB1*08 in der Kontrollgruppe, der Gruppe der NZK-Patienten und der metastasierten NZK-Patienten



Für die HLA-DQB1*-Merkmale ist unter den 100 NZK-Patienten sowie unter den 24 im Verlauf metastasierten NZK-Patienten eine Erhöhung für DQB1*05 festzustellen. Eine entsprechende Mitteilung gibt es in der Literatur bisher nicht. Es ist festzustellen, dass Menschen mit diesem Merkmal signifikant häufiger an einem Nierenzellkarzinom erkranken und dass das Risiko nach Tumornephrektomie hinsichtlich der Entwicklung einer Fernmetastasierung erhöht ist. Immunologisch könnte dieses Ergebnis so erklärt werden, dass durch DQB1*05 als regulatives Merkmal (HLA-Klasse II-Genlocus) eine schlechtere Antigenerkennung bzw. Präsentation vermittelt werden könnte.

HLA-DRB1*01 und -DQB1*05 stellen eine fixe Kopplung für -DRB1*01 dar. Für diese Kombination sind die Frequenzen analog der von HLA-DRB1*01. Prognostisch ist HLA-DRB1*01 das führende Merkmal. Eine mögliche Erklärung wäre, dass ein sehr effektives HLA-Klasse II-Merkmal für die Antigenerkennung bzw. Präsentation ausreichend ist.

Abb. 5: Die Verteilung von HLA-DQB1*05 und -DQB1*06 in der Kontrollgruppe, der Gruppe der NZK-Patienten und der metastasierten NZK-Patienten



Aufgrund der Komplexität des Zusammenwirkens von HLA-Klasse I und HLA-Klasse II-Merkmalen bei den immunologischen Abläufen ist anzunehmen, dass vorrangig Kombinationen bzw. Kopplungen von Merkmalen prognostische Bedeutung beim Nierenzellkarzinom haben könnten.

Zusammenhang zwischen der Kopplung zweier HLA-Merkmale und dem Auftreten von Nierenzellkarzinomen bzw. des Auftretens von Metastasen im Verlauf nach Tumornephrektomie

Da umfangreiche zusätzliche Familienuntersuchungen nicht möglich waren, wurden mathematische Kombinationen bestimmt. Nur 9 der 2034 Kombinationen wiesen unter den NZK-Patienten eine veränderte Merkmal-Häufigkeit gegenüber Kontrollprobanden auf. Die drei Merkmal-Kombinationen HLA-DRB1*01:DQB1*05, HLA-Cw*03:DQB1*05 und HLA-A*01:DRB1*01 sind aufgrund ihrer Signifikanz im χ^2 -Test besonders hervorzuheben. Dabei ist auffällig, dass in allen drei Kombinationen mindestens eines der beiden Merkmale HLA-DRB1*01 oder -DQB1*05 vorkommt. Wie bereits erwähnt, liegt eine 100%-ige Kopplung zwischen HLA-DRB1*01 und -DQB1*05 vor. Diese Kombination kann aufgrund der bekannten Kopplung als Haplotyp bezeichnet werden.

Bei der Analyse der signifikant veränderten Kombinationen unter den 24 metastasierten NZK-Patienten ist in drei von sechs signifikant erhöhten Kombinationen HLA-DQB1*05 vertreten. Für das Merkmal HLA-DQB1*05 sowohl als Einzelmerkmal als auch in der Kombination gilt, dass Personen mit diesem Merkmal häufiger Nierentumore entwickeln und diese Tumore häufiger metastasieren (13/45 – nahezu jeder dritte Patient mit Nierenzellkarzinom und DQB1*05 entwickelte Metastasen).

So wie unter den Einzel-Merkmalen, lässt DRB1*01 auch unter den NZK-Patienten für die Merkmal-Kombinationen eine Erhöhung erkennen. Es kann demzufolge angenommen werden, dass HLA-DRB1*01 ein Merkmal für Personen ist, die häufiger ein Nierenzellkarzinom entwickeln. Die Prognose nach Tumornephrektomie ist dabei jedoch als günstiger zu beurteilen, da nur jeder 6. bis 7. Patient eine Metastase im Verlauf entwickelte. In der Kombination mit HLA-DQB1*05 ist HLA-DRB1*01 weiter prognosebestimmend.

Die Kombinationen zweier Merkmale unter metastasierten NZK-Patienten (HLA-Cw*07:DQB1*05, HLA-A*01:DQB1*05, HLA-A*01:Cw*04, HLA-A*01:B*35, HLA-A*03:DQB1*05 und HLA-B*44:Cw*07) enthalten die weiteren Merkmale HLA-A*01, -A*03, -B*35, -B*44, -Cw*04 und -Cw*07.

Zieht man die Ergebnisse aus der Berechnung des Fisher's-exact tests hinzu, ist weiterhin HLA-A*31 zu erwähnen (A*31:B*35, A*31:Cw*04). Die Wiederholung der Merkmale HLA-A*01, -B*35, -Cw*04, -Cw*07 und -DQB1*05 in ihren Kombinationen verstärkt die Aussagen zur Bedeutung der Einzel-Merkmale HLA-A*31, -B*35, -Cw*04 und -DQB1*05. HLA-A*01 und -Cw*07 sind infolge der Kopplung unter den metastasierten Patienten erhöht, jedoch ihre alleinige Frequenz verändert sich nicht gegenüber der Normalpopulation.

Wie bereits von BAIN 1996 (2) beschrieben, kann auch in der vorliegenden Analyse eine Erhöhung für HLA-A*31 in Kombination mit -B*35 und -Cw*04 unter Patienten mit Metastasen im Verlauf nach Tumornephrektomie festgestellt werden. Vier der sieben NZK-Patienten entwickelten im Verlauf eine Metastase. Damit ist eine deutlich höhere Metastasierungshäufigkeit nach Tumornephrektomie im Vergleich zur Gesamtgruppe bei Vorliegen von A*31 festzustellen. In der Arbeit von BAIN (2) wurden die Merkmale grundsätzlich ohne Erfassung der Kopplungen oder Kombinationen analysiert. Die Gesamtgruppe der immuntherapierten NZK-Patienten in der Analyse von BAIN (2) enthält primär bereits einen überdurchschnittlich hohen Anteil an Patienten mit dem Merkmal HLA-A*31 (13,3 %).

Entsprechend könnten weitere prognostische Faktoren in Bezug auf die Immuntherapie selektiert worden sein mit dem Ergebnis einer erhöhten Ansprechrate auf Interferon-2 α .

Das wiederholte Auftreten von HLA-A*31 mit -B*35 und -Cw*04 ist als Bestätigung des Ergebnisses zu betrachten, da populationsgenetisch eine strenge Kopplung zwischen HLA-Cw*04 und -B*35 besteht. Hinsichtlich des Auftretens von Metastasen nach Tumornephrektomie ist somit HLA-A*31 als prognostisch negativ einzustufen.

Für die Merkmal-Kombinationen zweier Merkmale bei NZK-Patienten und bei metastasierten NZK-Patienten ist festzustellen, dass Personen mit HLA-DRB1*01 und -DQB1*05 häufiger ein Nierenzellkarzinom entwickeln. Nach Tumornephrektomie ist HLA-DRB1*01 protektiv und HLA-DQB1*05, -A*31, -B*35 und -Cw*04 prognostisch ungünstig hinsichtlich der Entwicklung von Fernmetastasen.

Zusammenhang zwischen HLA-Merkmal-Kombinationen dreier Merkmale und dem Auftreten von Nierenzellkarzinomen sowie der Metastasierung im Verlauf nach Tumornephrektomie

Aus statistischer Sicht ergeben sich bei NZK-Patienten signifikante Abweichungen für 15 Kombinationen dreier Merkmale sowie für 18 Kombinationen aus drei Merkmalen unter den 24 metastasierten NZK-Patienten. Wie bereits in den Ergebnissen formuliert, können einzelne Merkmale mehrfach in den Kombinationen dreier Merkmale erfasst werden.

HLA-DRB1*15 konnte unter den NZK-Patienten und bei den metastasierten NZK-Patienten in 4 signifikant erhöhten Merkmal-Kombinationen dreier Merkmale erfasst werden.

Als Einzelmerkmal hatte HLA-DRB1*15 eine protektive Bedeutung unter den NZK-Patienten. Dieser protektive Effekt wird von den Wiederholungen in den Kombinationen bestätigt.

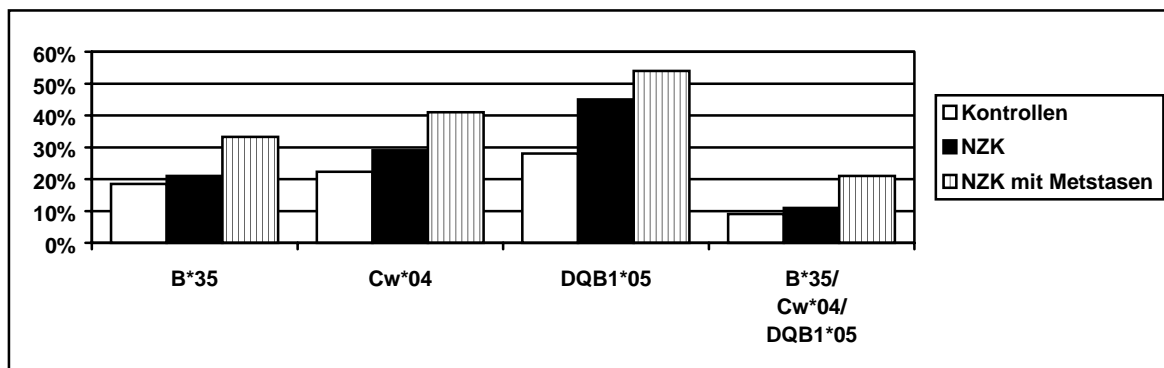
In vier signifikant erhöhten Kombinationen bei NZK-Patienten wie bei metastasierten NZK-Patienten ist das Merkmal HLA-DQB1*06 enthalten. Nur sechs der primär vierzig HLA-DQB1*06-tragenden NZK-Patienten wiesen im Verlauf eine Metastase auf (nur jeder 6. bis 7. NZK-Patient mit HLA-DQB1*06 entwickelte Metastasen).

Für das Merkmal HLA-DRB1*15 besteht ein Linkage mit HLA-DQB1*06. Der protektive Wert für die Kombination ist gleich dem von HLA-DRB1*15 (nur ein Patient von 20 NZK-Patienten mit HLA-DRB1*15:DQB1*06 entwickelte Metastasen).

Weitere Merkmale (HLA-DRB1*03, HLA-B*07, HLA-Cw*01, HLA-Cw*02, HLA-Cw*05) wurden in je vier signifikant erhöhten Kombinationen von metastasierten NZK-Patienten gefunden. Bei der Überprüfung der Plausibilität für die Einzelmerkmale konnten weder unter NZK-Patienten noch unter den metastasierten NZK-Patienten prognostische Wertigkeiten erfasst werden. Damit wird der Umfang an Merkmalen, die Einfluss auf die Prognose des Nierenzellkarzinoms nach Tumornephrektomie nehmen, nicht erweitert.

Die Ergebnisse der Kombinationen dreier Merkmale bei NZK-Patienten und metastasierten NZK-Patienten führen zu der Aussage, dass nach Tumornephrektomie die Merkmale HLA-DQB1*05, -B*35, -Cw*04 metastasenfördernd, HLA-DRB1*15 und -DQB1*06 protektiv sind.

Abb. 6: Die Verteilung von HLA-B*35, -Cw*04 und -DQB1*05 sowie der Kombination HLA-Cw*04: B*35: DQB1*05 in der Kontrollgruppe, der Gruppe der NZK-Patienten und der metastasierten NZK-Patienten



Die konkreten Kombinationen dreier Allele sind zwar statistisch signifikant abgrenzbar, jedoch für die klinische Beurteilung aufgrund der geringen Fallzahl nicht als relevant zu bewerten. Nimmt man nur die beiden häufigsten Kombinationen dreier Merkmale unter NZK-Patienten (HLA-B*14:Cw*04:DRB1*15, HLA-Cw*06:DRB1*08:DQB1*06 und HLA-A*03: B*14:DRB1*15), so werden nur 28 von 100 Patienten prognostisch beurteilbar. Durch die Analyse der Einzel-Merkmale HLA-B*35, -Cw*04, -DRB1*15, -DQB1*05 und -DQB1*06 steigt der Anteil prognostisch beurteilbarer NZK-Patienten auf über 60 %. Aus klinischer Sicht steht so die Erfassung der Einzelmerkmale im Vordergrund.

6. Zusammenfassung

Das Nierenzellkarzinom stellt die häufigste Form (mehr als 85 %) renaler Raumforderungen dar. Besonders in den Industrienationen kam es in den 80-er Jahren zu einer deutlichen Zunahme der Inzidenz. Mit der Entwicklung der Oberbauchsonographie zu einer der häufigsten Routineuntersuchungen werden zunehmend Zufallsbefunde diagnostiziert, die wiederum deutlich häufiger Tumoren im Frühstadium entsprechen.

Die radikale Tumornephrektomie ist derzeit weiterhin die einzige anerkannte Therapieform mit kurativem Ansatz. Die Kuration ist wiederum nur bei lokal begrenzt wachsenden Tumoren möglich.

Die wesentliche Frage nach Tumornephrektomie besteht in der Beurteilung des individuellen Risikos eines Patienten bezüglich der Entwicklung von Fernmetastasen.

Die Beurteilung der individuellen Prognose erfolgt derzeit weiterhin durch die Erfassung der klinischen Stadien, die sich aus den pathohistologischen T-, N- und M-Stadien ergeben.

In der vorliegenden Arbeit war es das Ziel, erstmals Merkmale zu erfassen, um individuelle Risikoprofile zu erstellen. Es wurden 100 NZK-Patienten aus dem Raum Halle hinsichtlich der Verteilung der HLA-Klasse I- und -Klasse II-Merkmale mittels zum Teil serologischer (Klasse I) und molekulargenetischer Methoden (Klasse I und II) untersucht und mit gesunden Gelegenheitsblutspendern verglichen.

In gleicher Weise wie mit dem Auftreten des Nierenzellkarzinoms wurden Einzelmerkmale und Kombinationen unter der klinischen Fragestellung des Auftretens von Metastasen analysiert.

Die Kontrollgruppe von 157 Blutspendern aus Sachsen-Anhalt wurde im gleichen Zeitraum serologisch und molekulargenetisch HLA-typisiert.

Aus 356 tumornephrektomierten Patienten wurden 100 Patienten zufällig ausgewählt und unter Benutzung serologischer in Kombination mit molekulargenetischer Methodik HLA-typisiert. Die molekulargenetische HLA-Typisierung erfolgte mittels niedrig-auflösender PCR-SSP-Methode.

Durch die molekulargenetische HLA-Typisierung wurden alle serologisch erstellten Befunde geprüft und erweitert. Dank der PCR-SSP wurden RCC-Patienten erstmals auf alle HLA-Cw* und HLA-DQB1*-Merkmale komplett untersucht.

Das Alter der NZK-Patienten war zum Zeitpunkt der Tumornephrektomie im Median bei Männern 61,1 Jahre bzw. bei Frauen 64,7 Jahre.

57 NZK-Patienten befanden sich in einem lokal begrenzt wachsenden Stadium (pT1:pT2). 39 NZK-Patienten wurden im Stadium pT3 sowie 4 NZK-Patienten im Stadium pT4 diagnostiziert. Unter den 100 NZK-Patienten wurde bei 18 Patienten pathohistologisch ein G1-Stadium, bei 49 Patienten ein G2-Stadium und bei 33 Patienten ein G3-Stadium diagnostiziert.

Die pT-Stadien und G-Stadien wiesen eine direkte Korrelation zur Häufigkeit des Auftretens von Metastasen auf. Ab dem Stadium pT3a kam es in mehr als einem Drittel der Fälle im Verlauf zur Metastasierung, und in über 40 % aller G3-Tumoren wurde eine Metastasierung diagnostiziert.

Mittels statistischer Analysen (χ^2 -Test, Fisher's-exact test) wurden für die HLA-Klasse I-Merkmale unter NZK-Patienten im Vergleich zu den 157 gesunden Kontrollprobanden keine statistisch signifikanten Unterschiede ermittelt.

Im Gegensatz dazu konnten bei den NZK-Patienten statistisch signifikante Erhöhungen der Frequenzen von HLA-DRB1*01 und -DQB1*05 (Haplotyp HLA-DRB1*01:DQB1*05) nachgewiesen werden. Zusätzlich wurde in der Gesamtgruppe eine signifikante Verminderung für HLA-DRB1*08 beobachtet.

Bei 24 der 100 NZK-Patienten traten Metastasierungen im Verlauf nach Tumornephrektomie auf. In dieser Teilgruppe konnten statistisch signifikante Erhöhungen für die HLA-Klasse I-Merkmale HLA-A*31 und -Cw*04 gesichert werden. Eine Phänotypfrequenzerhöhung für HLA-B*35 war auffällig, jedoch nicht statistisch signifikant. Die Erhöhung von HLA-B*35 könnte als Folge der Kopplung mit -Cw*04 zu werten sein.

Auch in der Gruppe der metastasierten NZK-Patienten wurden signifikante Veränderungen der Phänotypfrequenzen von HLA-Klasse II-Merkmalen statistisch gesichert. Die zuvor unter 100 NZK-Patienten besonders auffällige Erhöhung von HLA-DRB1*01 war bei den metastasierten NZK-Patienten nicht mehr nachweisbar.

Die nachgewiesene Erhöhung von HLA-DQB1*05 war für die metastasierten NZK-Patienten in noch deutlicherem Maße als in der Gesamtgruppe der NZK-Patienten feststellbar. Die Kombination von HLA-DRB1*01 mit DQB1*05 als Kopplung auf einem Chromosom besitzt eine dem Einzelmerkmal -DRB1*01 gleiche prognostische Bedeutung. Als signifikante Verringerung unter den Merkmalen konnte HLA-DRB1*15 unter den metastasierten NZK-Patienten bestimmt werden. Das damit gekoppelte Merkmal HLA-DQB1*06 (Haplotyp HLA-DRB1*15:DQB1*06) war nicht statistisch signifikant verringert, doch besitzt es wie HLA-DRB1*15 einen protektiven Wert in Bezug auf eine Metastasierung nach Tumornephrektomie.

Durch die Erfassung und statistische Analyse der Kombination zweier Merkmale bei den 100 NZK-Patienten sowie den 24 metastasierten und 76 nicht metastasierten NZK-Patienten konnte gezeigt werden, dass mit dem Merkmal HLA-DRB1*01 eine häufigere Entstehung von Nierenzellkarzinomen verbunden ist. Im Verlauf nach Tumornephrektomie ist dieses Merkmal jedoch prognostisch protektiv zu bewerten.

Auch mit dem Merkmal HLA-DQB1*05 treten vermehrt Nierenzellkarzinome auf, und nach Tumornephrektomie kommt es häufiger zur Metastasierung. In gleicher Weise kann für die miteinander gekoppelten Merkmale HLA-Cw*04 und HLA-B*35 festgestellt werden, dass bei deren Auftreten nach Tumornephrektomie verstärkt mit Metastasen zu rechnen ist.

Probanden mit den Merkmalen HLA-DRB1*15 und HLA-DQB1*06 entwickeln entsprechend dem Mittel der Population Nierenzellkarzinome, jedoch nach Tumornephrektomie kommt diesen Merkmalen eine protektive Bedeutung zu.

Mit der Analyse der Kombination von zwei und drei Merkmalen wurden die Ergebnisse aus den Betrachtungen der Einzel-Merkmale überprüft und zusätzliche Merkmale mit prognostischer Bedeutung (konkrete Merkmal-Kombinationen) erfasst.

Die Merkmale HLA-A*31, -B*35, -Cw*04, -DRB1*01, -DRB1*15, -DQB1*05 und -DQB1*06 sind als Risikofaktoren beim Nierenzellkarzinom einzustufen und können zur Erstellung eines individuellen Risikoprofils verwendet werden.

Aus der Analyse von 100 NZK-Patienten und 24 Patienten mit Metastasierung im Verlauf nach Tumornephrektomie sind folgende Schlussfolgerungen abzuleiten:

1. Mit den Merkmalen HLA-DRB1*01 und HLA-DQB1*05 ist ein deutlich häufigeres Auftreten von Nierenzellkarzinomen verbunden.
2. Bei Vorliegen des Merkmals HLA-DRB1*01 kommt es seltener zur Fernmetastasierung.
3. Nach einer Tumornephrektomie ist bei Vorliegen des Merkmals HLA-DQB1*05 deutlich häufiger mit einer Fernmetastasierung zu rechnen.
4. Die Prognose des Haplotyps HLA-DRB1*01:DQB1*05 ist gleich der für -DRB1*01.
5. Bei der Kombination der Merkmale HLA-A*31, -B*35 und HLA-Cw*04 tritt nach Tumornephrektomie eine häufigere Metastasierung auf.
6. Die Merkmale HLA-Cw*12, HLA-DRB1*15 und HLA-DQB1*06 sind bei Patienten nach Tumornephrektomie metastasenprotektiv.

7. Literatur

- 1 Baba E, Erskine R, Boyson JE, Cohen GB, Davis DM, Malik P, Mandelboim O, Reyburn HAT, Strominger JL: N-linked carbohydrate on human leucocyte antigen-C and recognition by natural killer cell inhibitory receptors. *Him Immunol* 61 (2000) 1202-1218
- 2 Bain C, Merrouche Y, Puisieux I, Blay JY, Negrier S, Bonadona V, Lasset C, Lanier F, Duc A, Gebuhrer L, Philip T, Favrot MC: Correlation between clinical response to interleukin 2 and HLA phenotypes in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Br J Cancer* 75 (1997) 283-286
- 3 Baish H, Otto U, König K, Klöppel G, Köllermann M, Linden WA: DNA in relation to histological grading. *Brit J Cancer* 45 (1982) 878-886
- 4 Balfe DM, Mc Clennan BL, Stanley RJ, Weymann PJ, Sagel SS: Evaluation of renal masses considered indeterminate on computed tomography. *Radiology* 142 (1982) 421-428
- 5 Basile JJ, McCullough DL, Harrison LH, Dyer RB: End stage renal disease associated with acquired cystic disease and neoplasia. *J Urol* 140 (1988) 938-943
- 6 Bassil B, Dosoretz DE, Prout GR jr.: Validation of the tumor, nodes and metastasis classification of renal cell carcinoma. *Urol* 134 (1985) 450-454
- 7 Beldegrun A, Muul LM, Rosenberg SA: Interleukin 2 expanded tumor-infiltrating lymphocytes in human renal cell cancer: isolation, characterization, and antitumor activity. *Cancer Res* 48 (1988) 206-214
- 8 Beldegrun A, Shavarts O, Figilin RA: Expanding the indications for surgery and adjuvant interleukin-2-based immunotherapy in patients with advanced renal cell carcinoma. 6-Suppl. (2000) 88-92
- 9 Bennington JL, Laubscher FA: Epidemiologic studies on carcinoma of the kidney. Association of renal adenocarcinoma with smoking. *Cancer* 21 (1968) 1069-1071
- 10 Blay JY, Negrier S, Combaret V, Attali S, Goillot E, Merrouche Y, Mercatello A, Ravault A, Tourani JM, Moskovtchenko JF, et al.: Serum level of interleukin 6 as a prognosis factor in metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Res* 52 (1992) 3317-3322
- 11 Bloom DA, Scardino PT, Ehrlich EM, Waisman J: Significance of lymph nodal involvement in renal angiomyolipoma. *J Urol* 128 (1982) 1292-1295
- 12 Bodmer JG, Marsh SGE, Albert ED, Bodmer W, Bontrop RE, Charron D, Dupont B, Erlich H, Fauchet R, Mach B, Mayr WR, Parham P, Sasazuki T, Schreuder T, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI: Nomenclature for factors of the HLA system. *Tissue Antigens* 49 (1997) 297-321

- 13 Bostwick DG, Eble JN, Murphy GP: Conference summary. Diagnosis and prognosis of renal cell carcinoma. *Cancer* 80 (1997) 975-976
- 14 Bostwick DG, Murphy GP: Diagnosis and prognosis of renal cell carcinoma- highlights from an international consensus workshop. *Sem Urol Oncol* 16 (1998) 46-52
- 15 Bøyum A: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand J Clin Lab* 21 (1968) 77-89
- 16 Braun WE, Strinmlan CV, Negron AG, Straffon RA, Zachary AA, Bart SL, Grecek DR: The association of W17 with familial renal cell carcinoma. *Tissue Antigens* 6 (1975) 101-104
- 17 Bretan PN, Bush MP, Hricak H: Chronic renal failure: A significant risk factor in the development of acquired renal cyst and renal cell carcinoma. *Cancer* 57 (1986) 1871-1879
- 18 Brooks AG, Boyington JC, Sun PD: Natural killer cell recognition of HLA-class I molecules. *Rev Immunogenet* 2 (2000) 433-448
- 19 Brown MA: Tumor suppressor genes and human cancer. *Advances in Genetics*. 36 (1997) 45-135
- 20 Bukowski RM: Natural history and therapy of metastatic renal cell carcinoma-The role of interleukin-2. *Cancer* 80 (1998) 1198-1220
- 21 Campbell RD, Cooper MD: Map of the human MHC. *Immunol Today* 14 (1993) 349-352
- 22 Carroll PR, Murty VV, Reuter V, Jhanwar S, Fair WR, Whitmore WF, Chaganti RS: Abnormalities at chromosome region 3p12-14 characterize clear cell carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 26 (1987)
- 23 Citterio G, Bertuzzi A, Tresoldi M, Galli L, Di-Lucca G, Scaglietti U, Rugarli C: Prognostic factors for survival in metastatic renal cell carcinoma-retrospective analysis from 109 consecutive patients. *Eur Urol* 31 (1997) 286-291
- 24 Dausset J: Iso-leuco-anticorps. *Acta Haemat* 20 (1958) 156-166
- 25 Dausset J: Leuco-agglutinins IV. Leuco-agglutinins and blood transfusion. *Vox Sang* 4 (1954) 190-198
- 26 De Wolf WC, Lange PH, Shepherd R, Martin-Alosco S, Yunis EJ: Association of HLA and renal cell carcinoma. *Hum Immunol* 2 (1981) 41-44
- 27 Dellon AL, Rogentine GN jr, Chretien PB : Prolonged survival in bronchogenic carcinoma associated with HL-A antigens W-19 and HL-A5 – a preliminary report. *J Natl Cancer Inst* 54 (1975)
- 28 Dineen MK, Venable DD, Misra RP: Pure intrarenal lipoma. Report of a case and review of the literature. *Ann Meet Southern Section of the AUA* (1983)

- 29 Ebert T, Ackermann R, Bander NH: Biological markers in renal cell carcinoma. *Urologe A* 29 (1990) 65-70
- 30 Falk J, Osoba D: HL-A antigens and survival in Hodgkin's disease. *Lancet* 7734 (1971) 1118-1120
- 31 Fan QR, Long EO, Wiley DC: A disulfide-linked natural killer cell receptor dimer has higher affinity for HLA-C than wild-type monomer. *Eur J Immunol* 30 (2000) 2692-2697
- 32 Feil G, Mittermuller B, Bichler KH, Wunderer A, Wechsel HW, Nelde HJ, St.Krause F: DNA cytomorphometry in renal cell carcinoma – a significant prognostic factor? *Anticancer Res* 19 (1999) 1483-1486
- 33 Fellous M, Kamoun M Gresser I, Bono R: Enhanced expression of HLA antigens and beta-2-microglobulin on interferon-treated human lymphoid cells. *Eur J Immunol* 9 (1979) 446-49
- 34 Figlin R, Gitlitz B, Franklin J, Dorey F, Moldawer N, Rausch J, De-Kernion J, Belldegrun A: Interleukin-2-based immunotherapy for the treatment of metastatic renal cell carcinoma – An analysis of 203 consecutively treated patients. *Cancer Jurnal from Scientific American* 3-Suppl (1997) 92-97
- 35 Francois C, Decaestecker C, De-Lathouwer O, Moreno C, Peltier A, Roumequere T, Danguy A, Pasteels JL, Wespes E, Salmon I, van-Velthoven R, Kiss R: Improving the prognostic value of histopathological grading and clinical staging in renal cell carcinomas by means of computer-assisted microscopy. *J Pathol* 187 (1999)
- 36 Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C,: Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma: *Am J Surg Path* 6 (1982) 655-663
- 37 Fuselier HA, Guice SL, Brannan W, Ochsner MG, Sangisetty KV, Beckman EN, Barnes CA: Renal cell carcinoma: the Oxner medical institution experience(1945-1978). *J Urol* 130 (1983) 445-448
- 38 Gelb AB: Renal cell carcinoma – Current prognostic factors.*Cancer* 80 (1986) 981-986
- 39 Gilbert C, Oneto F, Martorana G, Rovida S, Carmignani G: Radical nephrectomy for renal cell carcinoma – long-term results and prognostic factors on a series of 328 cases. *Eur Urol* 31 (1997) 40-48
- 40 Golimbu M, Joshi P, Sperber A, Tessler A, Al-Askari S, Morales P: Renal cell carcinoma – survival and prognostic factors. *Urology* 27 (1986) 291-301
- 41 Gorer PA: The detection of antigenic differences in mouse erythrocytes by the employment of immune sera. *Br J Exp Pathol* 17 (1936) 42-50

- 42 Guinan P, Saffrin R, Stuhldreher D, Frank W, Rubenstein M: Renal cell carcinoma – comparison of the TNM and Robson stage groupings. *Journal of surgical oncology* 59 (1995) 186-189
- 43 Helpab B: Grading and prognostic significance of urologic carcinomas. *Urol Int* 48 (1992) 245-257
- 44 Hermanek P, Schrott KM: Evaluation os the new tumor, nodes and metastases classification of renal cell carcinoma. *J Urol* 144 (1990) 238-242
- 45 Hermanek P, Siegel A, Chlepas S: Combined staging and grading of renal cell carcinoma. *Z Krebsforsch* 87 (1976) 193-196
- 46 Investigator's Handbook. A manual for paticipants in clinical trials of investigational agents sponsored by Division of Cancer Treatmant National Cancer Institute (1993)
- 47 Jonas D, Thoma B, Beckert H, Weber W: The value of morphological prognostic criteria in the assessment of renal cell carcinoma. *Urol Int* 40 (1985) 148-154
- 48 Kagawa S, Takigawa H, Kurokawa K, Akagi G: The correlation between the grading and nuclear size of renal cell carcinoma. *Tokuishima J Exp Med* 32 (1985) 45-48
- 49 Kantor AF, McLaughlin JK, Blattner WA, Bach FH, Blot WJ, Schuma LM, Fraumeni JF jr: HLA antigenes in renal cell carcinoma. *Cancer Res* 43 (1983) 2330-2333
- 50 Katz DL, Zehnt T, Holkford TR, Flannery J: Time trends in the incidence of renal carcinoma: analysis of Conneticut Tumor Registry data, 1935-1989. *Int J Cancer* 58 (1994) 57-63
- 51 Ke-Hung Tsui, Shvarts O, Smith RB, Figlin RA, de-Kernion J, Belldegrun A: Prognostic indicators for renal cell carcinoma – a multivariat analysis of 643 patients using the revised 1997 TNM staging criteria. *J Urol* 163 (2000) 1090-1095
- 52 Kuntz BM, Schmidt GD, Scholz S, Albert ED: HLA-antigens and hypernephroma. *Tissue Antigens* 12 (1978) 407-408
- 53 Lakey WH: Tumors of the kidney. In: Karafin L, Kendall AR (ed): *Urology*. Harper & Row, New York 1975, S.134-148
- 54 Ljungberg B, Forsslund G, Stenling R, Zetterberg A: Prognostic significance of the DNA content in renal cell carcinoma. *J Urol* 135 (1986) 422-426
- 55 Loy V, Koch B, Krech R, Düe W, Bauer H, Stein H: Vergleich verschiedener Gradingsysteme mit der Wachstumsfraktion beim Nierenzellkarzinom. *Verh Dtsch Ges Path* 71 (1987) 564
- 56 Marincola FM, Shamamian P, Rivoltini L, Salgaller M, Cormier J, Restifo NP, Simonis TB, Venzon D, White DE, Parkinson DR: HLA associations in the antitumor response against malignant melanoma. *J Immunother Emphasis Tumor Immunol* 18 (1995) 242-252

- 57 Marsh SGE, Bodmer JG, Ekkehard ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Ehrlich HA, Hansen JA, Mach B, Mayr WR, Perham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GMT, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI: Nomenclature for factors of the HLA system, 2000. *European Journal of Immunogenetics* 28 (2001) 377-424
- 58 Mattiuz PL, Ihde D, Piazza A, Ceppellini R, Bodmer WF: New approaches to the population genetic and segregation analysis of the HL-A system. In: Terasaki PI (ed): *Histocompatibility Testing*. Munksgaard, Copenhagen, 1970, S. 193-205
- 59 McDonald MW: Current therapy for renal cell carcinoma. *J Urol* 127 (1982) 211-217
- 60 Medeiros LJ, Gelb AB, Weiss LM: Low grade renal cell carcinoma: a clinicopathologic study of fifty-three cases. *Am J Surg Pathol* 11 (1987) 633-642
- 61 Medeiros LJ, Michie SA, Johnson DE, Warnke RA, Weiss LM: An immunoperoxidase study of renal cell carcinomas: correlation with nuclear grade, cell type, and histologic pattern. *Hum Pathol* 19 (1988) 980-987
- 62 Meuer SC, Hussey RE, Hodgdon JC, Hercend T, Schlossman SF, Reinherz EL: Surface structures involved in target recognition by human cytotoxic T-lymphocytes. *Science* 218 (1982) 471-473
- 63 Miller SA, Dykes DD, Polesky HF: A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16 (1988) 1215-1219
- 64 Minervini R, Minervini A, Fontana N, Traversi C, Cristofani R: Evaluation of the 1997 tumor, nodes and metastases classification of renal cell carcinoma: experience in 172 patients. *Br J Urol Int* 86 (2000) 199-202
- 65 Mitchell MS, Harel W, Groshen S: Association of HLA phenotype with response to active specific immunotherapy of melanoma. *J Clin Oncol* 10 (1992) 1158-1164
- 66 Mittal KK: The HLA polymorphism and susceptibility to disease. *Vox Sang* 73 (1976) 161-173
- 67 Mittelstaedt CA: *Abdominal Ultrasound*. Churchill Livingstone, New York, 1987, S.356-381
- 68 Moch H, Gasser T, Amin MB, Torhorst J, Sauter G, Mihatsch MJ: Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM staging, system of renal cell carcinoma: a Swiss experience with 588 tumors. *Cancer* 89 (2000) 604-614
- 69 Montie JE, Stewart HB, Straffon RA, Banowsky LHW, Hewitt CB, Montague DK: The role of adjunctive nephrectomy in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Urol* 117 (1977) 272-275

- 70 Montrioni R, Santinelli A, Pomant R, Mazzucchelli R, Colanzi P, Filho AL, Scarpelli M: Morphometric index of adult renal cell carcinoma: Comparison with the Fuhrman grading system. *Virchows Arch* 437 (2000) 82-89
- 71 Mostofi FK, Davis CJ jr.: Pathology of tumors of the kidney. In: Javadpour N (Ed): *Cancer of the kidney*. Thieme Stratton Inc, New York, 1984, S. 15-31
- 72 Motzer RJ, Bander NH, Nanus DM: Renal-cell carcinoma. *New Engl J Med* 335 (1996) 865-875
- 73 Nagata M: Expression on major histocompatibility complex antigen an effect of IFN-alpha on renal cell carcinoma. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 84 (1993) 814-821
- 74 Negrier S, Philip T, Stoter G, Fossa SD, Janssen S, Iacone A, Cleton FS, Eremin O, Israel L, Jasmin C: Interleukin-2 with or without LAK cells in metastatic renal cell carcinoma: a report of a European multicentre study. *Eur J Cancer Clin Oncol* 25 Suppl 3 (1989) 21-28
- 75 Nurmi MJ: Prognostic factors in renal cell carcinoma. An evaluation of operativ findings. *Br J Urol* 56 (1984) 270-275
- 76 Olerup O, Smith CIE, Hammarström L: Different amino acids at position 57 of the HLA-DQBeta chain associated with susceptability and resistance to IgA defenciency. *Nature* 347 (1990) 289-290
- 77 Oliver RT, Pillai A, Klouda PT, Lawler SD:HLA linked resistance factors and survival in acute myelogenous leukemia. *Cancer* 39 (1977) 2337-2341
- 78 Onishi T, Ohishi Y, Iizuka N, Imagawa K: Phenotype frequency of human leukocyte antigens in Japane patients with renal cell carcinoma who responded to interferon-alpha treatment. *Int J Urol* 3 (1996) 435-440
- 79 Onodera Y, Matsud N, Ohta M, Goto R, Fujii N, Yamada Y, Ikeuchi T, Kai Y: Prognostic significance of tumor grade for renal cell carcinoma. *Int J Urol* 7 (2000) 4-9
- 80 Ozdemir E, Kakehi Y, Nakamura E, Kinoshita H, Terachi T, Okada Y, Yoshida O: HLA-DRB1*0101 and *0405 as protective alleles in Japanese patients with renal cell carcinoma. *Cancer Res* 57 (1997) 742-746
- 81 Paganini-Hill A, Ross RK, Henderson BE:Epidemiology of kidney cancer. In: Skinner DG (Ed): *Urological cancer*. Grune&Stratton, New York, 1983, S.383-407
- 82 Papadopoulos I, Weichert-Jacobsen K, Wacker HH, Spreng E: Correlation between DNA ploidy, proliferation marker Ki-67 and early tumor progression in renal cell carcinoma. A prospective study. *Eur Urol* 31 (1997) 49-53
- 83 Patel NP, Lavengood RW: Renal cell carcinoma: natural history and results of treatment. *J Urol* 119 (1978) 722-726

- 84 Pathak S, Stron LC, Ferrell RE, Tindade A: Familial renal cell carcinoma with a 3; 11 chromosome translocation limited to tumor cells. *Science* 217 (1982) 939-941
- 85 Paulson DF: Prognostic factors predicting treatment response. *World J Urol* 2 (1984) 99-102
- 86 Payne R, Rolfs MR: Fetomaternal leukocyte incompatibility. *J Clin Invest* 37 (1958) 1756-1763
- 87 Pesch B, Haerting J, Ranft U, Klimpel A, Oelschlagel B, Schill W: Occupational risk factors for urothelial carcinoma: agent specific results from a case-control study in Germany. MURC Study Group. Multicenter Urothelial and Renal Cancer. *Int J Epidemiol* 29 (2000) 238-247
- 88 Piechota HJ, Wörtler K, van Ahlen H, Roth St, Soeparwata R, Hertle L: Rationelle Diagnostik und operative Therapie des Nierenzellkarzinoms mit Tumorthrombus in der Vena cava. *UrologeA* 36 (1997) 54-63
- 89 Pollack MS, Livingston PO: Brief communication: HLA antigen frequencies in renal cell carcinoma. *Hum Immunol* 11 (1984) 151-153
- 90 Portratz D, Brake-Portratz B, Störkel S, Thoenes W: Zur Bedeutung des Zell-Adhäsionsmoleküls ICAM-1 bei humanen epithelialen Nierentumoren. *Verh Dtsch Ges Path* 73 (1989) 650
- 91 Possinger K, Wagner H, Beck R, Staebler A, Schmid L, Vollmann B, Willmanns W: Prognosefaktoren beim Adenokarzinom der Niere. *Fortschr Med* 105 (1987) 204-208
- 92 Rabes HM, Carl P, Meister P, Rattenhuber U: Analysis of proliferative compartments in human tumors. I. Renal adenocarcinoma. *Cancer* 44 (1979) 799-813
- 93 Ravitz GA, Watne AL, Milam DF: Autoantibodies to human renal cell carcinoma. *Surg Forum* 22 (1971) 516-517
- 94 Reinherz EL, Schlossman SF: The differentiation and function of human T lymphocytes. *Cell* 19 (1980) 821-827
- 95 Renshaw AA, Richie JP: Subtypes of renal cell carcinoma. Different onset and sites of metastatic disease. *Am j Clin Pathol* 111 (1999) 539-543
- 96 Reuss J: Der Nierentumor als sonographischer Zufallsbefund. *Ultraschall Med* 15 (1994) 163-167
- 97 Robson CJ, Churchill BM, Anderson W: The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. *J Urol* 101 (1969) 297-301

- 98 Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, Chan AE, Avis FP, Leitman S, Linehan WM, Robertson CN, Lee RE, Rubin JT, Seipp CA, Simpson CG, White DE: A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high dose interleukin-2 alone. *New Engl J Med* 316 (1987) 889-897
- 99 Rubin JT, Day R, Duquesnoy R, Simonis B, Adams S, Lee J, Lotze MT: HLA-DQ1 is associated with clinical response and survival of patients with melanoma who are treated with interleukin-2. *Ther Immunol* 2 (1995) 1-6
- 100 Saito T, Tomita Y, Kimura M, Nishiyama T, Sato S: Expression of HLA class II antigen-associated invariant chain on renal cell cancer. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 84 (1993) 1036-1040
- 101 Scheibenbogen C, Keilholz U, Mytilineos J, Suciú S, Manasterski M, Hunstein W: HLA class I alleles and responsiveness of melanoma to immunotherapy with interferon-alpha (IFN-alpha) and interleukin-2 (IL-2). *Melanoma Res* 4 (1994) 191-194
- 102 Schön D, Bertz J, Hoffmeister H: Bevölkerungsbezogene Krebsregister in der Bundesrepublik Deutschland (Band 2), BGA-Schrift 4/89, MMV, München, 1989
- 103 Seliger B, Rongcun Y, Atkins D, Hammers S, Huber C, Storkel S, Kiessling R: HER-2/neu is expressed in human renal cell carcinoma at heterogeneous levels independently of tumor grading and staging and can be recognized by HLA-A2.1-restricted cytotoxic T lymphocytes. *Int J Cancer* 87 (2000) 349-359
- 104 Siminovitch JPM, Montie JE, Straffon RA: Prognostic indicators in renal cell carcinoma. *J Urol* 130 (1983) 20-23
- 105 Sirgley JR, Hutter RVP, Gelb AB, Henson DE, Kenney G, King BF, Raziuddin S, Pisansky TM: Current prognostic factors-Renal cell carcinoma-Workgroup no 4. *Cancer* 80 (1997) 994-996
- 106 Skinner DG, Colvin RB, Vermillion CD, Pfeister RC, Leadbetter WF: The diagnosis and management of renal cell carcinoma: a clinical and pathologic study of 309 cases. *Cancer* 28 (1971) 1165-1177
- 107 Snell G: Histocompatibility genes of the mouse. II Production and analysis of isogenic resistance lines. *J Natl Cancer Inst* 21 (1958) 843-877
- 108 Stamey TA: The role of prostate-specific antigen in the diagnosis and treatment of prostatic adenocarcinoma. *Urologe A* 29 (1990) 52-64
- 109 Stöckle M, Störkel S, Mielke R, Steinbach F, Galler E, Riedmiller H, Hohenfellner R: Charakterisierung konservativ operierter Nierentumoren mit der automatisierten DNS-Bildzytometrie. *Akt Urol* 21 (1990) 175-180
- 110 Störkel S: Karzinome und Onkozytome der Niere, Fischer, Stuttgart Jena New York, 1993

- 111 Terasaki PI, McClelland JD: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* 204 (1964) 998-1000
- 112 Thoenes W, Störkel S, Rumpelt HJ: Histopathology and classification of renal cell tumors(adenomas, oncocytomas and carcinomas). The basic cytological and histopathological elements and their use for diagnostics. *Path Res Pract* 181 (1986) 125-143
- 113 Tiwari JL, Terasaki PI: HLA and disease associations. Springer-Verlag, New York, 1985
- 114 Tosi P, Luzzi P, Baak JPA, Miracco C, Santopietro R, Vindigni C, Mattei FM, Acconoca A, Massai MR: Nuclear morphometry as an important prognostic factor in stage I renal cell carcinoma. *Cancer* 58 (1986) 2512-2518
- 115 Uzzo RG, Clark PE, Raymann P, Bloom T, Rybicki L, Novick AC, Bukowski RM, Finke JH: Alterations in NFkappaB activation in T lymphocytes of patients with renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 91 (1999) 718-721
- 116 Van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van den Eynde B, Knuth A, Boon T: A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 254 (1991) 1643-1647
- 117 Van Rood JJ, Eernisse JG, Van Leeuwen A: Leukocyte antibodies in sera from pregnant woman. *Nature* 181 (1958) 1735-1736
- 118 Vartdal F, Gaudernack G, Funderlud S, Bratlie A, Lea T, Ugelstad J, Thorsby E: HLA class I and II typing using cells positively selected from blood by immunomagnetic isolation - a fast and reliable technique. *Tissue Antigens* 28 (1986) 301-306
- 119 Waßmuth R: Einführung in das HLA System. ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg, 1995
- 120 Weiss LM, Gelb AB, Medeiros LJ: Adult renal epithelial neoplasms. *Am J Clin Pathol* 103 (1995) 624-635
- 121 Whitemore Wf. jr.: Renal cell carcinoma: Overview. *Semin Urol* 7 (1989) 271-273
- 122 Wiman K, Curman B, Forsum U, Klareskog L, Malmnas-Tjernlund U, Rask L, Tragardh L, Peterson PA: Occurrence of Ia antigens on tissues of non-lymphoid origin. *Nature* 276 (1978) 711-713
- 123 Yasuda N: Estimation of haplotype frequency and linkage disequilibrium parameter in the HLA system. *Tissue Antigens* 12 (1978) 315-322
- 124 Yoshida MA, Ohyshiki K, Ochi H, Gibas Z, Prout GR jr., Pontes EJ, Huben R, Sandberg AA: Rearrangement of chromosome 3 in renal cell carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 19 (1986) 351-354
- 125 Zbar B, Brauch H, Talmadge C: Loss of alleles of loci on the short arm of chromosome 3 in renal cell carcinoma. *Nature* 327 (1987) 721-727

8. Thesen

1. Mit einem Anteil von etwa 3 % aller bösartigen Geschwülste gehört das Nierenzellkarzinom zu den selteneren Karzinomen. Das Nierenzellkarzinom ist mit mehr als 85 % der häufigste primäre Tumor des Nierenparenchyms. Umwelteinflüsse werden heute bei der Entstehung des Nierenzellkarzinoms als kritische Faktoren angenommen. Die radikale Tumornephrektomie ist die einzige Therapieform mit kurativem Ansatz. Die Frage nach Tumornephrektomie besteht in der Beurteilung des Metastasierungsrisikos.
2. Die Beurteilung der Prognose nach Tumornephrektomie erfolgt durch die Erfassung der klinischen Stadien, die sich aus den pathohistologischen T-, N-, M- und G-Stadien ergeben. Der Wert von Tumormarkern wie ICAM-1 und Ki-67 setzte sich aufgrund der Heterogenität der Tumoren in der klinischen Praxis nicht durch.
3. Ausgeprägte Infiltrate zytotoxischer T-Lymphozyten in den Nierenzellkarzinomen und ihren Metastasen sowie die klinische Wirksamkeit immunologischer Therapieformen beim metastasierten Nierenzellkarzinom weisen diesen malignen Tumor als immunogen aus. MHC-Moleküle sind entscheidend an der Prägung des Immunsystems und der Aktivierung spezifischer Abwehrmechanismen beteiligt.
4. In den Studien von KANTOR et al., ONISHI et al. und BAIN et al. wurde eine Assoziation der HLA-Merkmale mit der Entstehung und Metastasierung von Nierenzellkarzinomen gezeigt und die Hypothese aufgestellt, dass Gene oder Genprodukte der MHC-Region an der Pathogenese beteiligt sind. Die Analyse erfolgte bisher an kleinen oder stark selektierten Patientengruppen.
5. Mit der vorliegenden Arbeit wurde die Verteilung der HLA-Klasse I und –Klasse II-Merkmale in einer relativ großen und unselektierten Gruppe von Nierenzellkarzinompatienten aus dem Raum Sachsen-Anhalt mittels molekulargenetischer Methoden untersucht. Die HLA-Typisierung erfolgte bei 100 histologisch gesicherten Nierenzellkarzinompatienten im Vergleich zu 157 gesunden Blutspendern als Kontrollgruppe.

6. Die Nachbeobachtung der tumornephrektomierten Patienten erfolgte im Median über 60,2 Monate und ist somit repräsentativ hinsichtlich der Erfassung von Metastasen im Verlauf. Die Altersverteilung mit einem Median von 62,3 Jahren und die Geschlechtsverteilung von 2:1 wie Männer zu Frauen entspricht den Angaben in der Literatur.
7. Der jeweils direkte Zusammenhang zwischen der Zunahme der T- oder G-Stadien sowie der Zunahme der Metastasierungshäufigkeit konnte nachvollzogen werden.
8. Die Merkmale HLA-DRB1*01 und HLA-DQB1*05 waren mit einem häufigeren Auftreten von Nierenzellkarzinomen verbunden.
9. Bei Vorliegen des Merkmals HLA-DRB1*01 kommt es nach Tumornephrektomie seltener zur Fernmetastasierung.
10. Nach einer Tumornephrektomie ist bei Vorliegen des Merkmals HLA-DQB1*05 häufiger mit einer Fernmetastasierung zu rechnen
11. Bei Vorliegen der gekoppelten Merkmale HLA- A*31, HLA-B*35 und HLA-Cw*04 tritt nach Tumornephrektomie eine häufigere Metastasierung auf.
12. Die Merkmale HLA-DRB1*15 und HLA-DQB1*06 waren bei Patienten nach Tumornephrektomie metastasenprotektiv.
13. Die Merkmale HLA-A*31, -B*35, -Cw*04, -DRB1*01, -DRB1*15, -DQB1*05 und -DQB1*06 sind zur Erstellung von individuellen Risikoprofilen nach Tumornephrektomie geeignet.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Hillig
Vorname: Felix
Wohnort: Zwinglistr. 6, 06110 Halle
Geburtsdatum: 02.01.1967, Halle
Familienstand: geschieden
(verheiratet vom 3.4.1987 bis 11.01.2000)
Kind: Julia Hillig
Geburtsdatum des Kindes: 09.06.1987, Halle

Schulbildung

Polytechnische Oberschule (mittlere Reife): Prädikat: „Sehr gut“
09/1973 - 08/1983
Erweiterte Oberschule (12.Klasse) Abitur: „Ausgezeichnet“
09/1983 - 08/1985
Vorpraktikum zum Medizinstudium Bezirkskrankenhaus Halle-Dörlau
09/1985 - 10/1985 Station Anästhesie-ITS
Grundwehrdienst: Entlassung im Dienstgrad eines Soldaten
11/1985 - 04/1987

Vorpraktikum zum Medizinstudium Bezirkskrankenhaus Halle-Dörlau
05/1987 - 08/1987 Station Anästhesie-ITS

Hochschulstudium

Studium bis zum Staatsexamen Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
09/1987 - 09/1992
Chirurgische Pflichtassistenz St. Barbara Krankenhaus Halle
10/1992 - 01/1993 Abteilung für Kinderchirurgie
Pflichtassistenz des Wahlfaches Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
01/1993 - 04/1993 Universitätsklinik und Poliklinik für Urologie
Pflichtassistenz der Inneren Medizin St. Elisabeth Krankenhaus Halle
05/1993 - 08/1993 Nephrologie und Dialyse
Arzt im Praktikum Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
10/1993 - 03/1995 Universitätsklinik und Poliklinik für Urologie
Assistenzarzt Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Ausbildung zum Facharzt für Urologie Universitätsklinik und Poliklinik für Urologie
seit dem 01.04.1995
10/1996 bis 5/1998 Stationsarzt Station des Nierentransplantationszentrums

01.06.1998 - 31.05.1999 Kreiskrankenhaus Tirschenreuth/ Bayern
Absolvierung des chirurgischen Jahres zur Abteilung für Chirurgie
Ausbildung zum Facharzt für Urologie

11/1999 bis 4/2001 Stationsarzt Staion 3 der Universitätsklinik und Poliklinik
für Urologie an der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg

Publikationen und Vorträge

European Association of Urology
-Congress September 1996 Paris

Poster zum Thema:
Urological - orthopedic management
of bone metastases of renal cell carcinoma

Deutsche Gesellschaft für Urologie
-Kongreß September 1997 Wiesbaden

Poster zum Thema:
HLA und Prognose des Nierenzellkarzinoms
Urologe(A) Supl. 1996

Mitteldeutscher Urologenkongreß
März 1996 Halle

Vortrag zum Thema:
Ergebnisse der Immun-Chemotherapie beim
metastasierten Nierenzellkarzinom

Kongreß der
Türkischen Gesellschaft für Urologie
Oktober 1996

Vortrag zum Thema:
Results of immun-chemotherapy of
metastatic renal cell carcinoma

Mitteldeutscher Urologenkongreß
März 1997 Plauen

Vortrag zum Thema:
Bedeutung der IL-2-Inhalation bei der
Therapie des pulmonal metastasierten
Nierenzellkarzinoms

Symposium
„1000. Nierentransplantation in Halle/Saale“
März 1998 in Halle

Transplantatspezifische HLA-Antikörper und
Transplantatprognose

European Federation for Immunogenetics
- 14th conference April 2000 Montpellier

HLA- A, -B, -C, -DRB1/3/4/5, -DQB1 and
renal cell carcinoma

Mitteldeutscher Urologenkongreß
Mai 2000 Kassel

HLA- A, -B, -C, -DRB1 und -DQB1-
Merkmale bei Patienten mit fortgeschrittenem
Nierenzellkarzinom und Prognose der
Metastasierung

Die Herzmetastase als seltene Lokalisation
beim Nierenzellkarzinom

European Association of Urology
-Congress April 2001 in Geneva

HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5 and -DQB1-
allels and haplotyps in patients of advanced
renal cell carcinoma.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, Felix Hillig, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel und Literatur angefertigt habe.

Weiterhin erkläre ich, dass ich diesen Antrag auf Eröffnung des Promotionsverfahrens der vorliegenden Arbeit erstmalig beim Dekan des Wissenschaftlichen Rates der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg stelle und in der Vergangenheit auch an keiner anderen Universität gestellt habe.

Teile der vorliegenden Arbeit wurden in folgender Form bereits veröffentlicht:

- Machulla, H K G, Schaaf, A, Krüger, J, Langner, J, Hillig, F, Schabel, J, Heynemann, H:
HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5, -DQB1 and renal cell carcinoma.

Posterbeitrag zum 14. European Congress of Histocompatibility in Montpellier, April 2000

Supplement to Human Immunology 61 (2000) S.78

- Hillig, F, Machulla, H K G, Fornara, P: HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5 and -DQB1-allels and Haplotyps in patients of advanced renal cell carcinoma.

Posterbeitrag zum 24. Congress European Association of Urology April 2000 Geneva

Halle/Saale

Danksagung

Hiermit danke ich allen, die zum Gelingen der vorliegenden Arbeit beitrugen:

Herrn Prof. Dr. P. Fornara danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und für die fördernde Betreuung meiner Arbeit.

Herrn Dr.rer.nat. H. K. G. Machulla, dem Leiter des Interdisziplinären HLA-Labors, danke ich für die engagierte Betreuung und die vielen Ratschläge während der gesamten Erstellung dieser Arbeit.

Ganz besonders möchte ich mich bei Frau A. Schaaf für die hilfreiche Unterstützung bedanken sowie bei allen unter ihrer Leitung im Interdisziplinären HLA-Labor arbeitenden MTLA.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Prof.Dr.med. H. Heynemann, OA Dr.med. R. Smiszek und Herrn Th. Schneider für die gemeinsame ambulante Nachsorge der Patienten in der Nierenzellkarzinom-Dispensaire-Sprechstunde der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg bedanken.

Stellvertretend für alle Mitarbeiterinnen der urologischen Poliklinik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg möchte ich der leitenden Schwester K. Milewski für ihre engagierte Mitarbeit bei der Betreuung aller Patienten danken.

Ich möchte allen Blutspendern und Patienten danken, die diese Untersuchungen durch ihre Teilnahme erst ermöglichten.