

AUS DEM INSTITUT DER PATHOLOGIE ROSTOCK  
DIREKTOR: PROF. DR. MED. ANDREAS ERBERSDOBLER

**IDENTIFIZIERUNG DES TRANSLOKATIONSKARZINOMS DER NIERE  
UNTER ANWENDUNG MORPHOLOGISCHER KRITERIEN SOWIE  
IMMUNHISTOCHEMISCHER UND MOLEKULARER UNTERSUCHUNGEN**

INAUGURALDISSERTATION  
ZUR  
ERLANGUNG DES AKADEMISCHEN GRADES  
DOKTOR DER ZAHNMEDIZIN  
DER UNIVERSITÄTSMEDIZIN ROSTOCK

VORGELEGT VON  
WOLF HAGEN BARTHEL | GEB. AM 06.10.1984 IN GOSLAR  
AUS GROSS SCHENKENBERG  
ROSTOCK | OKTOBER 2016

urn:nbn:de:gbv:28-diss2017-0036-2

DEKAN: PROF. DR. MED. E. C. REISINGER

ERSTGUTACHTER: PROF. DR. MED. A. ERBERSDOBLER

DIREKTOR DES INSTITUTS FÜR PATHOLOGIE DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT  
ROSTOCK

ZWEITGUTACHTER: PROF. DR. MED. O. HAKENBERG

DIREKTOR DER UROLOGISCHEN KLINIK UND POLIKLINIK DER  
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT ROSTOCK

DRITTGUTACHTER: PD DR. MED. S. MINNER

FACHÄRZTIN FÜR PATHOLOGIE UND OBERÄRZTIN AM INSTITUT FÜR  
PATHOLOGIE DES UNIVERSITÄTSKLINIKUMS HAMBURG-EPPENDORF

DATUM DER EINREICHUNG: 07.10.2016

DATUM DER VERTEIDIGUNG: 28.02.2017

**INHALTSVERZEICHNIS**

---

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1	DAS TRANSLOKATIONSASSOZIIERTE KARZINOM DER NIERE, EIN SUBTYP DES NIERENZELLKARZINOMS .....	2
1.1.1	EPIDEMIOLOGIE .....	2
1.1.2	ÄTIOLOGIE .....	3
1.1.3	GENETIK .....	4
1.1.4	MAKROSKOPIE .....	5
1.1.5	HISTOLOGIE .....	6
1.1.6	KLINIK UND STAGING .....	8
1.1.7	THERAPIE .....	11
1.1.8	PROGNOSE .....	13
1.2	ZIEL DER ARBEIT UND VORGEHEN .....	13
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>14</b>
2.1	NIERENTUMORDATENBANK.....	14
2.2	HERSTELLUNG DES TISSUE-MICROARRAYS .....	14
2.2.1	VERWENDETES MATERIAL ZUR HERSTELLUNG DER TISSUE-MICROARRAYS.....	16
2.2.2	ÜBERSICHT DER TISSUE-MICROARRAYS .....	17
2.2.3	MORPHOLOGISCHE AUSWERTUNG.....	19
2.3	IMMUNHISTOCHEMIE .....	19
2.3.1	THEORIE DER IMMUNHISTOCHEMIE .....	19
2.3.2	TECHNIK DER IMMUNHISTOCHEMIE .....	20
2.3.3	IMMUNHISTOCHEMIE AM GEWEBEARRAY .....	20
2.3.4	AUSWERTUNGSMODI DER IMMUNHISTOCHEMIE.....	22
2.4	FLUORESZENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG .....	23
2.4.1	THEORIE DER FLUORESZENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG .....	23
2.4.2	TECHNIK DER FLUORESZENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG.....	23
2.4.3	AUSWERTUNGSMODUS DER FLUORESZENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG.....	25
2.5	STATISTISCHE AUSWERTUNG .....	26
<b>3</b>	<b>RESULTATE .....</b>	<b>27</b>
3.1	PATIENTEN UND MATERIAL.....	27
3.2	AUSWERTUNG DER TISSUE-MICROARRAYS 1 – 14, 17, 15 – 16, 18 .....	28
3.2.1	MORPHOLOGISCHE AUSWERTUNG: TISSUE-MICROARRAY 1 – 14.....	28
3.2.2	TISSUE-MICROARRAY 1 – 14: AUSWERTUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE UND KORRELATIONSANALYSEN.....	29

---

3.2.2.1	TFE3-EXPRESSION .....	29
3.2.2.2	CATHEPSINK-EXPRESSION .....	30
3.2.2.3	ALK-EXPRESSION .....	32
3.2.3	WEITERE WICHTIGE MARKER IN DER DIFFERENTIALDIAGNOSE .....	33
3.2.3.1	HMB45-EXPRESSION .....	33
3.2.3.2	MELANA-EXPRESSION .....	33
3.2.3.3	NAPSINA-EXPRESSION .....	33
3.2.3.4	PAX8-EXPRESSION .....	34
3.2.4	ZUSAMMENFASSUNG DES EXPRESSIONSVERHALTENS .....	35
3.2.5	TISSUE-MICROARRAY 17: TFE3- UND ALK-EXPRESSION .....	36
3.3	AUSWERTUNG DER FLUORESCENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG .....	37
3.3.1	TFE3-TRANSLOKATION.....	37
3.3.2	ALK-TRANSLOKATION.....	39
3.4	CHARAKTERISIERUNG DER TRANSLOKATIONSKARZINOME .....	39
3.4.1	GROSSFLÄCHENSCHNITTE: HE-MORPHOLOGIE UND KOSSA-KALKNACHWEIS DER XP11.2-TRANSLOKATIONSKARZINOME .....	39
3.4.2	KLINISCH-PATHOLOGISCHE CHARAKTERISTIKEN .....	41
3.4.3	ZUSAMMENFASSUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE DER TRANSLOKATIONSKARZINOME .....	45
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>48</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>56</b>
	LITERATURVERZEICHNIS .....	58
	ANHANG .....	63
	EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG.....	65
	DANKSAGUNG.....	66

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

---

<b>ABB. 1:</b> PROZENTUALER ANTEIL DER HÄUFIGSTEN TUMORLOKALISATIONEN AN ALLEN KREBSNEUERKRANKUNGEN (OHNE NICHT-MELANOTISCHEN HAUTKREBS) IN DEUTSCHLAND 2010 (ROBERT KOCH-INSTITUT 2013) .....	2
<b>ABB. 2:</b> KREBS BEI KINDERN (ERMITTELT AUS DEN JAHREN 2003–2012) (ROBERT KOCH-INSTITUT 2013) .....	3
<b>ABB. 3:</b> ASPL-TFE3-CA MIT T(X;17)(P11.2;Q25) (ARGANI UND LADANYI 2005) .....	6
<b>ABB. 4:</b> PRCC-TFE3-CA MIT T(X;1)(P11.2;Q21) (ARGANI UND LADANYI 2005) .....	7
<b>ABB. 5:</b> ALPHA-TFEB-CA MIT T(6;11)(P11.2;Q21) (ARGANI UND LADANYI 2005).....	7
<b>ABB. 6:</b> HISTOLOGIE EINES ALK-POSITIVEN RENALEN TUMORS (SUGAWARA ET AL. 2012) .....	8
<b>ABB. 7:</b> THERAPIEALGORITHMUS FÜR DAS NIERENZELLKARZINOM (FISCHER C, OBERNEDER R. 2002).....	12
<b>ABB. 8:</b> HERSTELLUNG DES TISSUE-MICROARRAY (KONONEN ET AL. 1998).....	15
<b>ABB. 9:</b> PRINZIP DER TISSUE-MICROARRAY-ANALYSE (KALLIONIEMI ET AL. 2001) .....	16
<b>ABB. 10:</b> PRÄZISIONSSTANZGERÄT.....	17
<b>ABB. 11:</b> EIN OBJEKTRÄGER DES TMA 17 .....	19
<b>ABB. 12:</b> ÜBERSICHT ÜBER DIE TECHNIK DER FLUORESCENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG (SCHRÖCK ET AL. 2008) .....	24
<b>ABB. 13:</b> VERWENDETES FLUORESCENZMIKROSKOP <i>SYSTEM MICROSCOPE BX53</i> VON OLYMPUS .....	24
<b>ABB. 14:</b> TMA 18:.....	25
<b>ABB. 15:</b> PATIENTENFALL 1 DER XP11.2-TRANSLOKATIONSKARZINOME. TFE3-POSITIVES FÄRBEMUSTER.....	30
<b>ABB. 16:</b> PATIENTENFALL 1 DER T(6,11)-TRANSLOKATIONSKARZINOME. CATHEPSINK-POSITIVES FÄRBEMUSTER.....	31
<b>ABB. 17:</b> POSITIVE FÄRBUNG FÜR ALK (PATIENTENFALL AUF TMA 12) .....	32
<b>ABB. 18:</b> PATIENTENFALL 1: 16-JÄHRIGER PATIENT MIT BESTÄTIGTER TRANSLOKATION .....	37
<b>ABB. 19:</b> PATIENTENFALL 8: 71-JÄHRIGER PATIENT MIT BESTÄTIGTER TRANSLOKATION .....	38
<b>ABB. 20:</b> PATIENTENFALL 1: KOSSA-KALKNACHWEIS BEIM TRANSLOKATIONSKARZINOM .....	39
<b>ABB. 21:</b> HE-SCHNITT DES PATIENTENFALLS 1 DES TFE3-TRANSLOKATIONSKARZINOMS .....	40
<b>ABB. 22:</b> GESAMTÜBERLEBENSWAHRSCHEINLICHKEIT IN ABHÄNGIGKEIT VOM HISTOLOGISCHEN SUBTYP (N = 421) .....	43
<b>ABB. 23:</b> ASPL-TFE3-VERMITTELTE MET-AKTIVIERUNG UND NACHFOLGENDE EFFEKTE IN ASPL-TFE3 BEINHALTENDEN KREBSARTEN (TSUDA ET AL. 2007).....	54

**TABELLENVERZEICHNIS**

---

<b>TAB. 1:</b>	MÖGLICHE BINDUNGSPARTNER DES TFE3 (NACH GAILLOT-DURAND ET AL. 2013) .....	5
<b>TAB. 2:</b>	MÖGLICHE BINDUNGSPARTNER DER ANAPLASTIC LYMPHOMA KINASE .....	5
<b>TAB. 3:</b>	EINTEILUNG DES NIERENKARZINOMS IM TNM-SYSTEM (WITTEKIND 2010).....	9
<b>TAB. 4:</b>	UICC-STADIENEINTEILUNG DES NIERENKARZINOMS (WITTEKIND 2010).....	10
<b>TAB. 5:</b>	GRADING (NENNSTIEL 2009) .....	10
<b>TAB. 6:</b>	FUHRMAN-GRADE (FUHRMAN ET AL. 1982).....	11
<b>TAB. 7:</b>	VORHANDENE TISSUE-MICROARRAYS DES INSTITUTS DER PATHOLOGIE ROSTOCK ...	18
<b>TAB. 8:</b>	NEUKONZIPIERTE TISSUE-MICROARRAYS .....	18
<b>TAB. 9:</b>	VERWENDETE ANTIKÖRPER UND DEREN ANWENDUNG.....	21
<b>TAB. 10:</b>	EXPRESSION UND AUSWERTUNGSMODUS DER VERWENDETEN MARKER .....	22
<b>TAB. 11:</b>	KLINISCH-PATHOLOGISCHE BEFUNDE DES ROSTOCKER NIERENTUMORKOLLEKTIVS 1998 – 2013.....	28
<b>TAB. 12:</b>	ANZAHL UND FRÜHERE DIAGNOSE DER T(6;11)-TRANSLOKATIONS-KARZINOME DER NIERE.....	31
<b>TAB. 13:</b>	DIE IMMUNHISTOCHEMIE DES ROSTOCKER NIERENTUMORKOLLEKTIVS IN DER ÜBERSICHT .....	36
<b>TAB. 14:</b>	ANZAHL UND FRÜHERE DIAGNOSE DER XP11.2-TRANSLOKATIONS-KARZINOME UND ANZAHL DER DURCH TFE3-FISH BESTÄTIGTEN FÄLLE .....	38
<b>TAB. 15:</b>	KLINISCHE DATEN DER BESTÄTIGTEN TFE3-TRANSLOKATIONS-KARZINOME .....	41
<b>TAB. 16:</b>	KLINISCHE DATEN DER TFEB-TRANSLOKATIONS-KARZINOME .....	42
<b>TAB. 17:</b>	LOG-RANG-TEST DER ÜBERLEBENSWAHRSCHEINLICHKEITEN DES GESAMTÜBERLE- BENS IN ABHÄNGIGKEIT VOM HISTOLOGISCHEN SUBTYP (PAARWEISE VERGLEICHE)...	44
<b>TAB. 18:</b>	DIE IMMUNHISTOCHEMIE DER NACHGEWIESENEN TRANSLOKATIONS-KARZINOME IN DER ÜBERSICHT .....	45
<b>TAB. 19:</b>	LITERATURWERTE FÜR DIE EXPRESSION VERSCHIEDENER IMMUNMARKER FÜR DAS XP11.2-TRANSLOKATIONS-KARZINOM.....	50
<b>TAB. 20:</b>	LITERATURWERTE IMMUNHISTOLOGISCHER MARKER IN NIERENZELLKARZINOMEN (GOYAL ET AL. 2013).....	63
<b>TAB. 21:</b>	LITERATURWERTE IMMUNHISTOCHEMISCHER MARKER FÜR DIE EINZELNEN ALK-TRANSLOKATIONS-KARZINOME (SUGAWARA ET AL. 2012) .....	64

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

---

Fremdsprachliche Begriffe sind kursiv gedruckt.

Abb.	Abbildung
abs.	absolut
ALK	<i>anaplastic lymphoma kinase</i>
AMACR	$\alpha$ -Methyl-Acyl-CoA-Racemase
ASPSCR1	<i>alveolar soft part sarcoma chromosome region 1</i>
bzw.	beziehungsweise
Ca	<i>Carcinoma</i>
CA9	<i>carbonic-anhydrase IX</i>
CD	<i>cluster of differentiation</i>
CLTC	<i>clathrin heavy chain</i>
CK7 / CK9	Cytokeratin 7 / Cytokeratin 9
Ckhw	<i>high molecular weight cytokeratin</i>
ccRCC	klarzelliges Nierenzellkarzinom
cpRCC	chromophobes Nierenzellkarzinom
DAB	3,3' – Diaminobenzidin
DNA	<i>desoxyribo nucleic acid</i>
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EMA	<i>epithelial membran antigen</i>
EML4	<i>echinoderm microtubule-associated protein like 4</i>
F	Fuhrman-Grad
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
FLCN	Folliculin
H	<i>high pH 9</i>
HE	Hämatoxylin-Eosin
HGF	<i>hepatocyte growth factor</i>

ICD	<i>International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems</i>
IHC	Immunhistochemie
inv	Inversion
ISUP	<i>International Society of Urologic Pathology</i>
k. A.	keine Angabe
L	<i>low</i> pH 6
M	Fernmetastasierung
m	männlich
MiTF	<i>microphthalmia-associated transcription factor</i>
MTSCC	<i>mucinous, tubular and spindle cell carcinoma</i>
mTOR	<i>mechanistic target of rapamycin</i>
n	Anzahl
N	Lymphknotenbefall
Nr.	Nummer
NP	nicht publiziert
NonO	<i>non-POU domain containing octamer binding</i>
NOS	<i>not otherwise specified</i>
OP	Operation
PAX8	<i>paired-box-protein 8</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
PEComas	<i>perivascular epitheloid cell neoplasms</i>
PFS	<i>progression free survival</i> (progressionsfreies Überleben)
pRCC	<i>papillary renal cell carcinoma</i>
PSF	<i>tract-binding protein-associated splicing factor</i>
R	Resektionsstatus
RCC	<i>renal cell carcinoma</i>
RO	renales Onkozytom
RTU	<i>ready to use</i>
SFPQ	<i>polypyrimidine tract binding protein associated splicing factor</i>

---

SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
T	Primärtumorausdehnung
Tab.	Tabelle
TFE3	<i>transcription factor E3</i>
TFEB	<i>transcription factor EB</i>
TMA	Tissue-Microarray(s)
TNM	<i>tumour node metastasis</i>
TPM3	Tropomyosin 3
TxRCC	Translokationskarzinom
UICC	<i>Union internationale contre le cancer</i>
UV	ultraviolett
V	variabel
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
VCL	Vinculin
vgl.	vergleiche
VHL	von-Hippel-Lindau-Tumorsuppressorgen
w	weiblich
WHO	<i>World Health Organization</i>
z. B.	zum Beispiel
µm	Mikrometer
°C	Grad Celsius

Das Karzinom der Niere ist eine seltene Tumorerkrankung mit etwa 271.000 diagnostizierten Fällen weltweit im Jahr 2008. Es macht etwa drei Prozent aller soliden malignen Tumoren aus. Das Nierenzellkarzinom (RCC, *renal cell carcinoma*) tritt in zwei bis drei Prozent der Fälle familiär gehäuft auf (Ljungberg et al. 2011).

Ein Subtyp des RCC ist das durch Xp11.2-Translokation verursachte Nierenzellkarzinom. Es ist in seiner klinikopathologischen Entität zuerst 1986 (Jong et al. 1986) und 1991 (Tomlinson et al. 1991) beschrieben worden. 2004 wurde dieses translokationsassoziierte Karzinom neben dem t(6;11)(p21;12) in die WHO-Klassifikation der Nierentumore aufgenommen (Eble 2004). Das ALK-Translokationskarzinom (ALK, *anaplastic lymphoma kinase*) wurde bisher in der Literatur wenig beschrieben. 2013 hat die *International Society of Urologic Pathology* (ISUP) das ALK-RCC als neue Entität diskutiert (Srigley et al. 2013). Für Epidemiologie, Prognose und Therapie ist eine korrekte Klassifikation der Tumore entscheidend.

Die Xp11.2-Translokationskarzinome betreffen überwiegend jugendliche und weibliche Patienten und machen wahrscheinlich circa ein Drittel kindlicher Nierenzellkarzinome aus. Unbehandelt ist der Tumor sehr aggressiv und geht vor allem beim Erwachsenen mit einer schlechten Prognose einher, daher ist eine frühe Diagnose notwendig. Die Diagnose wird mittels immunhistologischer Färbung und Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) gesichert (Bambury et al. 2013). Derzeit ist die einzige kurative Behandlungsmöglichkeit die chirurgische Resektion (Hung et al. 2011).

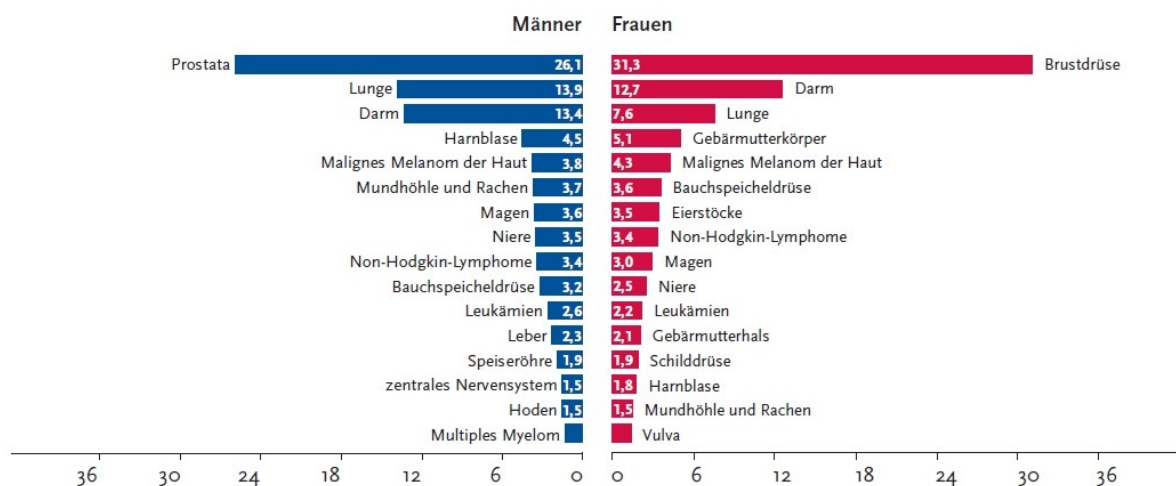
Bisher ist das Translokationskarzinom der Niere unterdiagnostiziert. In Rostock wurde diese Tumorentität bisher in der Routinediagnostik nicht erfasst, denn eine geeignete Methode lag nicht vor. Aus diesem Grund befasste sich die vorliegende Arbeit mit der Diagnostik des Translokationskarzinoms im Rostocker Nierentumorkollektiv. Dabei wurden retrospektiv 523 Fälle von Nierentumoren analysiert, die in den Jahren 1998 – 2013 im Institut der Pathologie der Universität Rostock untersucht wurden. Unter Verwendung der Tissue-Microarray-Technik wurden die TFE3-, CathepsinK- und ALK-Expression der Tumore immunhistochemisch dargestellt, um mögliche Translokationen auffindig zu machen. TFE3- und ALK-positive Fälle wurden mittels der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung molekular untersucht, um eine Translokation nachzuweisen. Anschließend konnten die klinischen Follow-up-Daten der Patienten betrachtet und verglichen werden, die morphologischen Merkmale der einzelnen Fälle neu evaluiert und ein immunhistochemisches Markerpanel gefunden werden, um eine Diagnose zukünftig zu erleichtern.

## 1.1 DAS TRANSLOKATIONSASSOZIIERTE KARZINOM DER NIERE, EIN SUBTYP DES NIERENZELLKARZINOMS

### 1.1.1 EPIDEMIOLOGIE

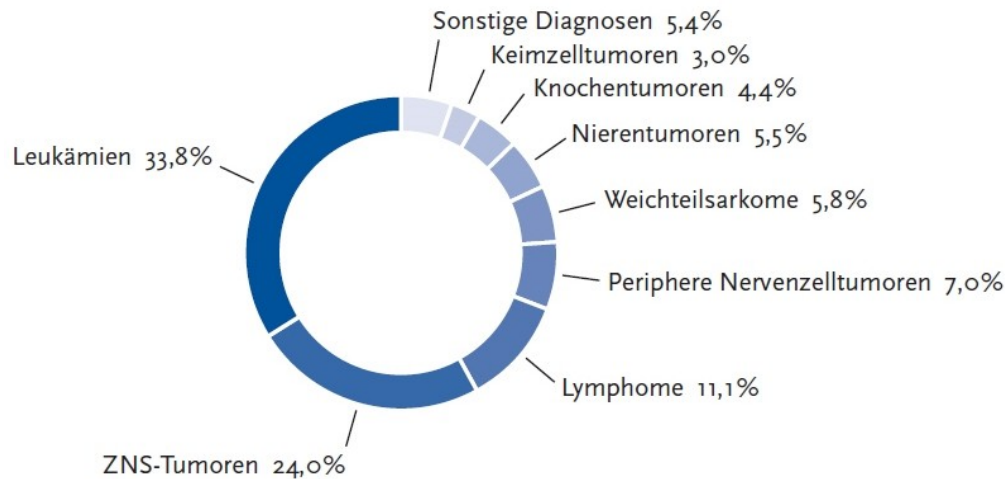
Der Nierentumor war in Deutschland im Jahr 2010 der achthäufigste Tumor bei Männern und der zehnthäufigste bei Frauen (siehe Abb. 1); es sind in diesem Jahr 8.950 Neuerkrankungen bei Männern und 5.570 Neuerkrankungen bei Frauen diagnostiziert worden. In Mecklenburg-Vorpommern traten für die Jahre 2007 / 2008 im Durchschnitt bei den Männern 247,5 Fälle von Nierentumoren auf (speziell für Rostock 38,5), bei den Frauen 152,5 Fälle (speziell für Rostock 15,5) (Gemeinsames Krebsregister Berlin 2012).

Unter allen Nierentumoren ist das Nierenzellkarzinom mit 90 % das häufigste. Es ist zwar in der Gesamtheit aller Tumorerkrankungen relativ selten, aber nach dem Prostata- und dem Blasenkarzinom dritthäufigster urologischer maligner Tumor (Robert Koch-Institut 2013). Die relative 5-Jahres-Überlebensrate beträgt bei Männern 75 % und bei Frauen 77 % (Robert Koch-Institut 2013). Die Prognose ist vor allem bei einer Diagnose in einem frühen Stadium gut (Robert Koch-Institut 2013). Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 68 Jahren für Männer und bei 71 Jahren für Frauen (Robert Koch-Institut 2013).



**ABBILDUNG 1:** PROZENTUALER ANTEIL DER HÄUFIGSTEN TUMORLOKALISATIONEN AN ALLEN KREBSNEUERKRANKUNGEN (OHNE NICHT-MELANOTISCHEN HAUTKREBS) IN DEUTSCHLAND 2010 (ROBERT KOCH-INSTITUT 2013)

Die Inzidenz bei Kindern unter 15 Jahren, eine Krebserkrankung zu erleiden, liegt bei 16 pro 100.000 Kindern, also bei einer Wahrscheinlichkeit von etwa 0,2 %. Nierentumore machen 5,5 % aller Tumore bei 0 – 15-Jährigen aus (siehe Abb. 2) (Robert Koch-Institut 2013).



**ABBILDUNG 2:** KREBS BEI KINDERN (ERMITTELT AUS DEN JAHREN 2003 – 2012) (ROBERT KOCH-INSTITUT 2013)

Das Nephroblastom ist bei diesen der häufigste Tumor. In 4 % der Fälle handelt es sich um ein Nierenzellkarzinom (Bruder et al. 2004).

Eine bevölkerungsbezogene, retrospektive Studie im Zeitraum 1980 – 2005 für Deutschland ergab, dass 22 % der diagnostizierten Nierenzellkarzinome bei Kindern unter 16 Jahren translokationsassoziiert sind (Selle et al. 2006). Die Angaben zur Inzidenz sind in der Literatur aber sehr unterschiedlich und liegen zwischen 20 % und 75 % (Chian-Garcia CA 2003; Bruder et al. 2004; Altinok G 2004; Renshaw et al. 1999).

Die Inzidenz bei Erwachsenen liegt gemäß einer japanischen Studie für den Zeitraum 1995 bis 2006 bei 1,5 % der RCC (Komai et al. 2009). Allerdings ist anzunehmen, dass das Translokationskarzinom häufig nicht erkannt und diagnostiziert wird, denn die Morphologie überschneidet sich mit den gewöhnlicheren RCC-Subtypen (klarzellig und papillär) (Armah und Parwani 2010). Außerdem wird die zytogenetische Analyse nicht für alle renalen Tumore – im Gegensatz zu den Tumoren bei Kindern – routinemäßig durchgeführt (Choueiri et al. 2010).

### 1.1.2 ÄTIOLOGIE

---

Ein konventionelles klarzelliges RCC entsteht durch eine Inaktivierung des von-Hippel-Lindau-Tumorsuppressorgens (VHL). Dadurch kommt es zu einer Dysregulation der *Hypoxia*

---

*Response*-Gene und einer Überproduktion des *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Dieser fördert die Proliferation der Zellen und das Tumorwachstum (Choueiri et al. 2010).

Das translokationsassoziierte Karzinom entsteht durch Mutationen, die die ALK-, TFEB- oder TFE3-Gene betreffen, wie im folgenden Abschnitt weiter ausgeführt.

Neben der genetischen Disposition scheint, insbesondere bei Kindern, ein Zusammenhang zwischen erhaltener Chemotherapie und MiTF/TFE-Translokation zu bestehen (Argani et al. 2006). In der wachsenden Niere proliferieren Zellen, die deshalb gegenüber mutagenen Effekten sehr empfindlich sind. Chemotherapeutika wie Topoisomerase-II-Inhibitoren und Cyclophosphamide sind bekannt dafür, Brüche in der DNA hervorzurufen und das Risiko maligner Erkrankungen zu erhöhen (Argani et al. 2006). Auch eine renale Insuffizienz, die mit einer Proliferation von Tubuluszellen assoziiert ist, kann das Risiko der Ausbildung eines Translokationskarzinoms erhöhen (Argani et al. 2006).

Die Sichelzellenanämie ist mit verschiedenen Neuropathien vergesellschaftet. Es wird angenommen, dass diese Grunderkrankung bei jungen Patienten zu einer Entstehung eines VCL-ALK-Translokationskarzinoms beiträgt (Smith et al. 2014).

### 1.1.3 GENETIK

---

Die Konsensus-Konferenz der *International Society of Urologic Pathology* (ISUP) hat 2013 gemäß der Vancouver-Klassifikation die translokationsassoziierten Tumore der Niere in der Kategorie der „*MiTF/TFE family translocation carcinomas*“ zusammengefasst (Srigley et al. 2013).

Die Xp11.2-Translokationskarzinome sind durch verschiedene Translokationen gekennzeichnet, die Gene betreffen, die für den Transkriptionsfaktor E3 (TFE3) kodieren. Diese sind auf dem Chromosom Xp11.2 lokalisiert. Die Translokation hat eine Fusion zwischen TFE3 und 5 möglichen Bindungspartnern zur Folge (siehe Tab. 1) (Gaillot-Durand et al. 2013).

GENE	TRANSLOKATION	ABKÜRZUNGEN	
<b>ASPL-TFE3 oder ASPSCR1-TFE3</b>	t(X;17)(p11.2;q25)	ASPL oder ASPSCR1	<i>alveolar soft part sarcoma chromosome region 1</i>
<b>PRCC-TFE3</b>	t(X;1)(p11.2;q21)	PRCC	<i>papillary renal cell carcinoma</i>
<b>SFPQ-TFE3 oder PSF-TFE3</b>	t(X;1)(p11.2;p34)	SFPQ oder PSF	<i>polypyrimidine tract binding protein associated splicing factor</i>
<b>NonO-TFE3</b>	Inv(X)(p11.2;q12)	NonO	<i>non-POU domain-containing octamer-binding</i>
<b>CLTC-TFE3</b>	t(X;17)(p11.2;q23)	CLTC	<i>clathrin heavy chain</i>
<b>Unknown</b>	t(X;3)(p11;q23)		

**TABELLE 1:** MÖGLICHE BINDUNGSPARTNER DES TFE3 (NACH GAILLOT-DURAND ET AL. 2013)

1996 wurde eine weitere Translokation der MiTF-Familie entdeckt, das t(6;11)(p21;q12)-Nierenkarzinom (Dijkhuizen et al.), das mit seinen klinisch-pathologischen Merkmalen 2001 das erste Mal beschrieben wurde (Argani et al. 2001b).

Bei dieser Translokation fusioniert das Alpha-Gen an 11q12 mit dem Transkriptionsfaktor an 6p21 (TFEB).

Eine andere Translokation betrifft die Gene, die für die *anaplastic lymphoma kinase* (ALK) kodieren an 2p23. Es sind drei mögliche Fusionspartner bekannt (siehe Tab. 2) (Sugawara et al. 2012). Diese ALK-Translokationskarzinome werden laut ISUP als Subgruppe der distalen Nephron-assoziierten Nierenzellkarzinome diskutiert (Skakkebaek et al. 2015).

GENE	FUSIONSPARTNER DER ALK	QUELLE
<b>VLC-ALK</b>	Vinculin	Debelenko et al. 2011
<b>TPM3-ALK</b>	Tropomyosin 3	Sugawara et al. 2012
<b>EML4-ALK</b>	Echinoderm microtubule-associated protein like 4	Sugawara et al. 2012

**TABELLE 2:** MÖGLICHE BINDUNGSPARTNER DER ANAPLASTIC LYMPHOMA KINASE

#### 1.1.4 MAKROSKOPIE

Das Xp11.2-Translokationskarzinom sieht makroskopisch gelbbraun aus und weist Einblutungen und Nekrosen auf. Diese Merkmale entsprechen dem eines konventionellen klarzelligen RCC (Argani und Ladanyi 2005).

Von den TFEB- und dem ALK-Translokationskarzinom sind nur wenige Fälle in der Literatur beschrieben.

Das t(6;11)(p21;q12)-Translokationskarzinom hat ein gelblich braunes und noduläres Aussehen und weist keine Nekrosen oder Einblutungen auf (Argani et al. 2001b).

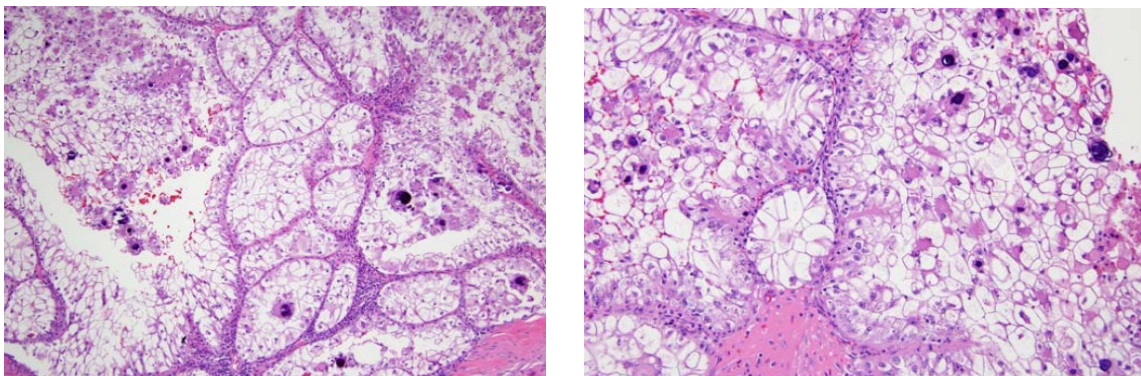
2012 wurde ein VLC-ALK-Translokationskarzinom als ein solider, brauner Tumor beschrieben, lokalisiert in der Medulla. Das TPM3-ALK-Ca hingegen als irregulär geformter, solider und das EML4-ALK-Translokationskarzinom als ein solider, gelber Tumor des Cortex (Sugawara et al. 2012).

### 1.1.5 HISTOLOGIE

---

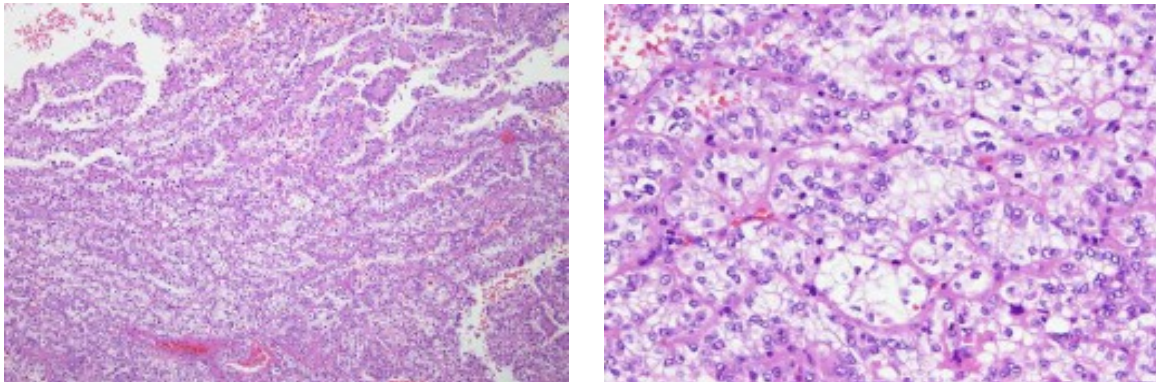
Die Morphologie ist sehr unterschiedlich und abhängig von der Lokalisation der Translokation auf dem Chromosom.

Das ASPL-TFE3-Ca hat eine pseudopapilläre und alveoläre Architektur und weist Psammomkörper auf. Zudem sind hyaline Knoten sichtbar. Es sind Zellen mit voluminösem, klarem Zytoplasma vorhanden sowie klare Zellgrenzen. Ferner besitzt diese Variante vesikuläres, nukleäres Chromatin und prominente Nukleoli (siehe Abb. 3) (Argani und Ladanyi 2005).



**ABBILDUNG 3:** ASPL-TFE3-CA MIT T(X;17)(P11.2;Q25) (ARGANI UND LADANYI 2005):  
LINKS: SCHWACHE VERGRÖßERUNG – RECHTS: STARKE VERGRÖßERUNG (K. A. ZUM FAKTOR)

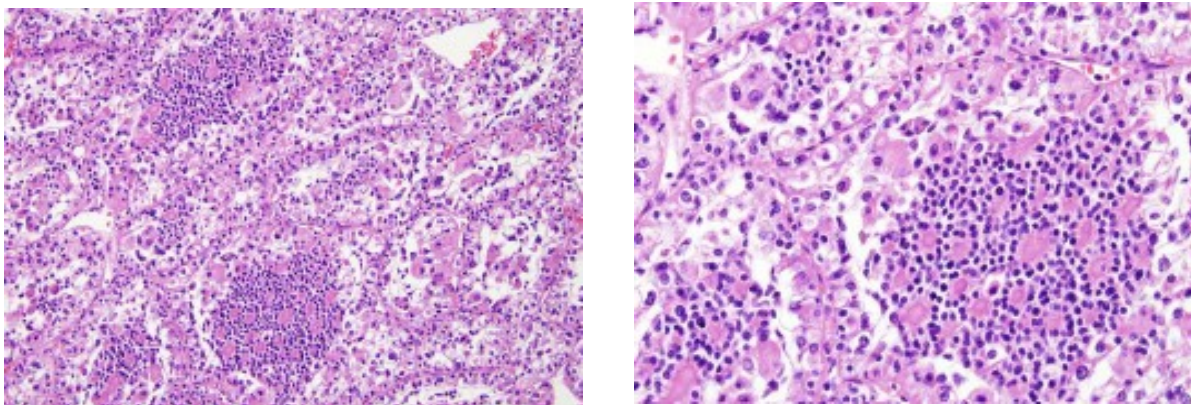
Das PRCC-TFE3-Ca zeigt reichlich Zytoplasma, weniger Psammomkörper, weniger hyaline Knoten und eine kompaktere Architektur. Der Tumor ist außerdem oft von einer kalzifizierten fibrösen Pseudokapsel umgeben (siehe Abb. 4) (Argani und Ladanyi 2005).



**ABBILDUNG 4:** PRCC-TFE3-Ca MIT T(X;1)(P11.2;Q21) (ARGANI UND LADANYI 2005):  
LINKS: SCHWACHE VERGRÖßERUNG – RECHTS: STARKE VERGRÖßERUNG (K. A. ZUM FAKTOR)

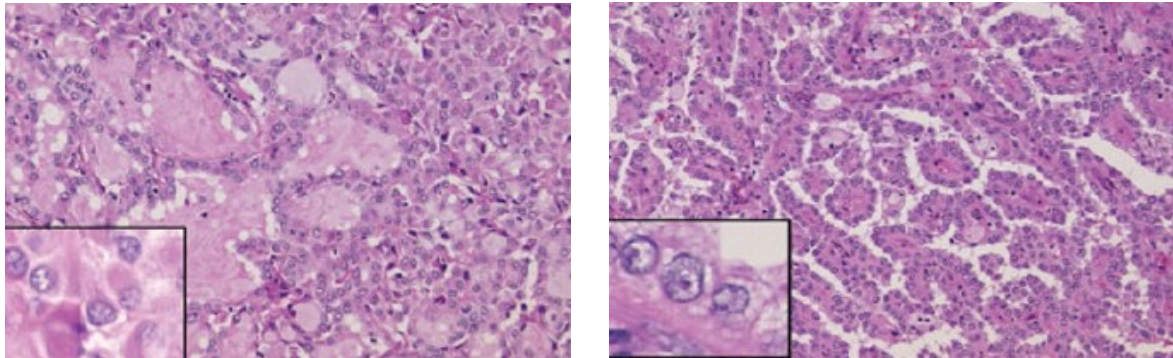
Die Varianten PSF-TFE3-Ca, NonO-TFE3-Ca und CLTC-TFE3-Ca sind in der Literatur zu wenig beschrieben, daher leider nicht klar definierbar (Argani und Ladanyi 2005).

Das Alpha-TFEB-Ca zeigt Nester und Tubuli mit polygonalen Epithelzellen, die durch dünne Kapillaren separiert sind. Papilläre Architektur ist ungewöhnlich. Die meisten Tumorzellen haben reichlich klares bis granuläres, eosinophiles Zytoplasma, gut abgegrenzte Zellgrenzen und runde Nuklei mit kleinen Nukleoli. Kleine Epitheloidzellen sind charakteristisch und um hyaline Knoten angesiedelt (siehe Abb. 5) (Argani und Ladanyi 2005).



**ABBILDUNG 5:** ALPHA-TFEB-Ca MIT T(6;11)(P11.2;Q21) (ARGANI UND LADANYI 2005):  
LINKS: SCHWACHE VERGRÖßERUNG – RECHTS: STARKE VERGRÖßERUNG (K. A. ZUM FAKTOR)

Bei den ALK-Translokationen sind bisher nur einzelne Fälle beschrieben. Das TPM3-ALK-RCC besitzt papilläre, tubuläre und cribriforme Wachstumsmuster. Das EML4-ALK-RCC zeigt sowohl eine papilläre als auch eine klarzellige Morphologie (siehe Abb. 6) (Sugawara et al. 2012). Das VLC-ALK-Ca ist durch runde, ovale und polygonale Tumorzellen gekennzeichnet sowie eosinophiles Zytoplasma und ist ebenfalls mäßig polymorph (Debelenko et al. 2011).



**ABBILDUNG 6:** HISTOLOGIE EINES ALK-POSITIVEN RENALEN TUMORS (SUGAWARA ET AL. 2012):  
*LINKS:* GLANDULÄRE STRUKTUR MIT REICHLICH MUCIN – *RECHTS:* PAPILLÄRE STRUKTUR MIT KUBOIDALEN ZELLEN MIT EOSINOPHILEM ZYTOPLASMA UND KLEINEN, UNIFORMEN RUNDEN BIS OVALEN NUKLEI.

### 1.1.6 KLINIK UND STAGING

---

Klinische Symptome eines Nierenkarzinoms treten erst in einem sehr späten Stadium auf und äußern sich als Flankenschmerz, Hämaturie, als tastbarer abdomineller Tumor oder als paraneoplastisches Syndrom. Vorliegende Knochenmetastasen gehen mit großen Schmerzen einher (Ljungberg et al. 2010).

Wichtige Laborparameter sind das Serum Kreatinin, das C-reaktive Protein, die glomeruläre Filtrationsrate, Hämoglobin, die Blutkörperchengeschwindigkeit, die alkalische Phosphatase und das Serumkalzium (Ljungberg et al. 2010).

Die malignen Tumore werden nach dem TNM-System klassifiziert (siehe Tab. 3) und anschließend verschiedenen Stadien zugeordnet (siehe Tab. 4). Entscheidend für die Klassifikation sind die Tumorausdehnung (T1 – 4), der Lymphknotenbefall (N1 – 2) und das Vorhandensein von Fernmetastasen (M0 – 1).

Die aktuelle TNM-Klassifikation wurde von der *Union internationale contre le cancer* (UICC) 2010 festgelegt (Wittekind 2010).

NIERENZELLKARZINOM	
TNM-Klassifikation	
Stadium	Tumorwachstum
<b>Tx</b>	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
<b>T0</b>	kein Anhalt für Primärtumor
<b>T1</b>	≤ 7 cm oder weniger in größter Ausdehnung, auf die Niere begrenzt
<b>T1a</b>	≤ 4 cm oder weniger in größter Ausdehnung
<b>T1b</b>	> 4 cm, aber nicht < 7cm in größter Ausdehnung
<b>T2a</b>	7 – 10 cm in größter Ausdehnung, auf die Niere begrenzt
<b>T2b</b>	> 10 cm in größter Ausdehnung, auf die Niere begrenzt
<b>T3</b>	Invasion in größere Venen oder Infiltration des perirenenalen Fettgewebes, jedoch nicht in ipsilaterale Nebenniere und nicht über die Gerota-Faszie hinaus
<b>T3a</b>	makroskopische Ausbreitung in die Nierenvene oder ihre segmentalen Äste (mit muskulärer Wand) oder mit Infiltration des perirenenalen und/oder peripelvinen Fettgewebes, aber nicht über die Gerota-Faszie hinaus
<b>T3b</b>	makroskopische Ausbreitung in V. cava inferior unterhalb des Zwerchfells
<b>T3c</b>	makroskopische Ausbreitung in die V. cava oberhalb des Zwerchfells oder mit Infiltration der Wand der Vena cava
<b>T4</b>	jenseits der Gerota-Faszie (eingeschlossen die kontinuierliche Ausbreitung in die ipsilaterale Nebenniere)
<b>Nx</b>	regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
<b>N0</b>	keine Lymphknotenmetastasen
<b>N1</b>	Metastasen in einem regionären Lymphknoten
<b>N2</b>	Metastasen in mehr als einem Lymphknoten
<b>Mx</b>	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
<b>M0</b>	keine Fernmetastasen
<b>M1</b>	Fernmetastasen

**TABELLE 3:** EINTEILUNG DES NIERENKARZINOMS IM TNM-SYSTEM (WITTEKIND 2010)  
 (T = AUSDEHNUNG DES PRIMÄRTUMORS; N = NODUS: VORHANDENSEIN VON REGIONÄREN LYMPHKNOTENMETASTASEN)

<b>Stadium I</b>	T1	N0	M0
<b>Stadium II</b>	T2	N0	M0
<b>Stadium III</b>	T3 N0 M0	N0	M0
	T1, T2, T3	N1	M0
<b>Stadium IV</b>	T4	N0, N1	M0
	jedes T	N2	M0
	jedes T	jedes N	M1

**TABELLE 4:** UICC-STADIENEINTEILUNG DES NIERENKARZINOMS (WITTEKIND 2010)

Beim Grading (G1 – G4) wird der Tumor nach seinem Differenzierungsgrad beurteilt (siehe Tab. 5). Dabei wird das Tumorgewebe mit dem Normalgewebe verglichen. Wenn das Tumorgewebe gut differenziert ist und viele Gemeinsamkeiten mit dem Ursprungsgewebe aufweist, ist die Prognose gut (*low grade*). Umso undifferenzierter das Gewebe ist, desto ungünstiger ist die Prognose (*high grade*) (Nennstiel 2009).

GRADING	
<b>Gx</b>	Differenzierungsgrad nicht bestimmbar
<b>G1</b>	gute Differenzierung (hoch differenziert)
<b>G2</b>	mittelgradig differenziert
<b>G3</b>	wenig differenziert
<b>G4</b>	undifferenziert (anaplastisch)

**TABELLE 5:** GRADING (NENNSTIEL 2009)

Die Malignität eines Nierenzellkarzinoms kann anhand des Fuhrman-Grades beurteilt werden (siehe Tab. 6). Hier wird der Tumor anhand seiner Zellkernmorphologie eingeteilt (Fuhrman et al. 1982).

GRAD	MORPHOLOGIE
1	kleine (10 µm) runde, uniforme Zellkerne mit unauffälligen oder fehlenden Nukleoli
2	größere Zellkerne (15 µm) mit leicht irregulärer Begrenzung und kleinen Nukleoli
3	größere Zellkerne (20 µm) mit stark irregulärer Begrenzung und auffälligen Nukleoli
4	Grad 3 mit zusätzlich pleomorphen, bizarren Zellkernen

TABELLE 6: FUHRMAN-GRADE (FUHRMAN ET AL. 1982)

### 1.1.7 THERAPIE

---

Die wirksamsten Therapieverfahren zur Behandlung eines Nierenzellkarzinoms sind die Operation und die Systemtherapie, wobei die einzig kurative Behandlung die Operation ist. Das Gesamtbehandlungskonzept wird bei der ersten therapeutischen Maßnahme festgelegt. Ein Therapie-Algorithmus ist in Abbildung 7 dargestellt (Fischer C, Oberneder R. 2002).

Im Falle eines Xp11.2-Translokationskarzinoms ist die Resektion des Primärtumors die einzige kurative Therapiemöglichkeit. Unbehandelt führt dieser aggressive Tumor zur Metastasierung (Hung et al. 2011).

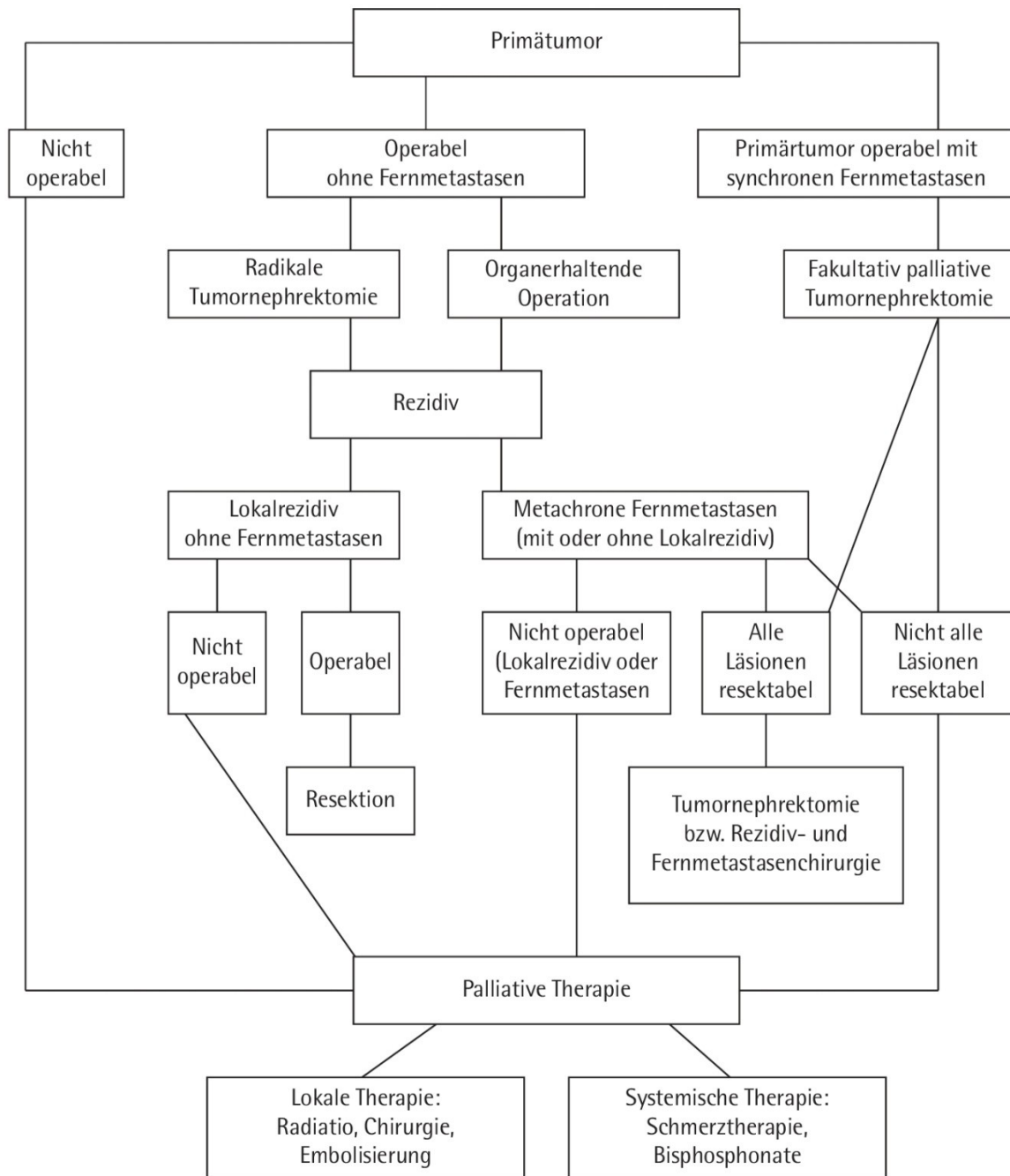
Nach der OP wird der Residualstatus beurteilt. Bei dem Befund R0 liegt ein tumorfreier Präparatrand vor. Der Status R1 gibt an, dass sich mikroskopisch Tumorreste nachweisen lassen. R2 hingegen bedeutet, dass makroskopisch Tumorreste zu erkennen sind.

Eine optimale, effektive und etablierte systemische Therapie, insbesondere des metastasierten Xp11.2-Translokationskarzinoms, gibt es bisher nicht. In der Literatur sind diesbezüglich zwei retrospektive Studien zu finden (Choueiri et al. 2010; Malouf et al. 2010), allerdings fehlen bisher die prospektiven Studien, um die retrospektiven Beobachtungen zu bestätigen.

Eine mögliche systemische Therapieoption bei Patienten mit fortgeschrittenem RCC ist die Behandlung mit VEGF-Inhibitoren, vor allem durch Sunitinib, Sorafenib, Pazopanib und Bevacizumab.

Auch im Falle eines translokationsassoziierten, metastasierten Karzinoms kann die VEGF-*targeted therapy* für die Patienten einen Gewinn bringen. Der Mechanismus der Effektivität dieser Therapie ist allerdings noch weitgehend unbekannt (Choueiri et al. 2010).

Sollte eine Stabilisierung oder Therapieresistenz der Erkrankung im Zuge der VEGF-*targeted therapy* eintreten, kann eine Umstellung auf eine Behandlung mit mTOR-Inhibitoren sinnvoll sein (Malouf et al. 2010).



**ABBILDUNG 7:** THERAPIEALGORITHMUS FÜR DAS NIERENZELLKARZINOM (FISCHER C, OBERNEDER R. 2002)

Sunitinib zeigt positive Effekte beim *alveolar soft part sarcoma* (ASPS), das dem Genexpressionsprofil der Xp11.2-Translokationskarzinome nahe ist. Dieser Tumor ist gegenüber einer Chemotherapie resistenter als ein klarzelliges RCC (Malouf et al. 2010). Dies gibt einen Hinweis auf die Problematik der Chemotherapie dieser Tumorentität.

### 1.1.8 PROGNOSE

---

Das Xp11.2-Translokationskarzinom ist mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium assoziiert und hat bei Erwachsenen eine schlechte Prognose. Studien haben gezeigt, dass über die Hälfte der untersuchten Patienten Metastasierungen aufweisen und letztendlich an einem fortgeschrittenen RCC versterben (Klatte et al. 2012). Jugendliche Patienten, selbst mit Lymphknotenbefall, haben auch nach alleiniger chirurgischer Resektion eine günstige Prognose (Geller et al. 2008).

### 1.2 ZIEL DER ARBEIT UND VORGEHEN

---

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Identifizierung des Translokationskarzinoms der Niere im Rostocker Nierentumorkollektiv der Jahrgänge 1998 bis Ende 2013 unter Anwendung morphologischer Kriterien sowie immunhistochemischer und molekularer Untersuchungen.

Auf der Grundlage der Datenbank mit Nierentumorerkrankungen des Instituts für Pathologie des Universitätsklinikums Rostock wurde für diese Studie folgendes Vorgehen gewählt.

1. Immunhistochemische Untersuchungen wurden mittels Tissue-Microarrays (TMA) an 523 Nierentumoren durchgeführt. Folgende immunhistochemische Marker sind verwendet worden: Surrogatmarker für Translokationskarzinome der Niere: TFE3, CathepsinK, ALK. Zusätzlich: EMA, Vimentin, CK7, CK19, CD10, CD117, AMACR, PAX8, hochmolekulare Zytokeratine (Ckhw), HMB45, BerEP4, MelanA, NapsinA.
2. Anschließend wurden neue TMA konzipiert, einer davon mit jungen Patienten im Alter von 16 bis 45 Jahren. Für die nachfolgende Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung-(FISH-)Untersuchung wurden auf 3 weiteren TMA alle Fälle dokumentiert, die in der IHC positiv für TFE3 bzw. ALK waren.
3. Schließlich wurden diese in der Immunhistochemie (IHC) auffälligen Tumore mittels FISH molekular untersucht und dafür jeweils eine TFE3- und eine ALK-Break-apart-Sonde verwendet. Die CathepsinK-immunreaktiven Fälle wurden nicht auf eine Translokation t(6;11)(p21q12) untersucht.
4. Von den positiven Fällen wurden Großflächenschnitte hergestellt, um die immunhistologischen (TFE3 und ALK) und FISH-Ergebnisse (TFE3 und EML4-ALK), die von den TMAs generiert wurden, nochmals zu quantifizieren und zusätzlich die Morphologie der jeweiligen Translokationskarzinome zu dokumentieren.
5. Die klinisch-pathologischen Daten der Translokationskarzinome der Rostocker Nierentumordatenbank wurden zusammengestellt und mit der Literatur verglichen.

## 2 MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 NIERENTUMORDATENBANK

---

Die Nierentumordatenbank umfasst 523 Nierentumore, die in der Zeit von 1998 bis 2013 in Rostock operiert und in der Pathologie der Universität Rostock diagnostiziert wurden. Die folgenden Informationen sind in der Datenbank erfasst:

- Klinische Angaben (Alter, Geschlecht)
- OP-Art: Nephrektomie oder Tumorexzision
- OP-Seite: links oder rechts
- Diagnosedatum
- Progressionsfreies Überleben (PFS)
- Ereignis (ggf. Rezidiv, Metastase)
- Histopathologische Diagnose: klarzelliges (cc), chromophobes (cp), papilläres (p), muzinös-tubulär-spindelzelliges Nierenzellkarzinom (MTSCC), Onkozytom (RO), Translokationskarzinom (TxRCC) oder nicht weiter spezifiziertes Nierenzellkarzinom (RCC NOS)
- Tumorgröße in mm
- Tumorgrading (nach WHO)
- Fuhrman-Grad
- TNM-Staging
- Resektionsstatus: R0, R1, R2

Die Auswertung erfolgte mit der Software *IBM SPSS Statistics 20*.

### 2.2 HERSTELLUNG DES TISSUE-MICROARRAYS

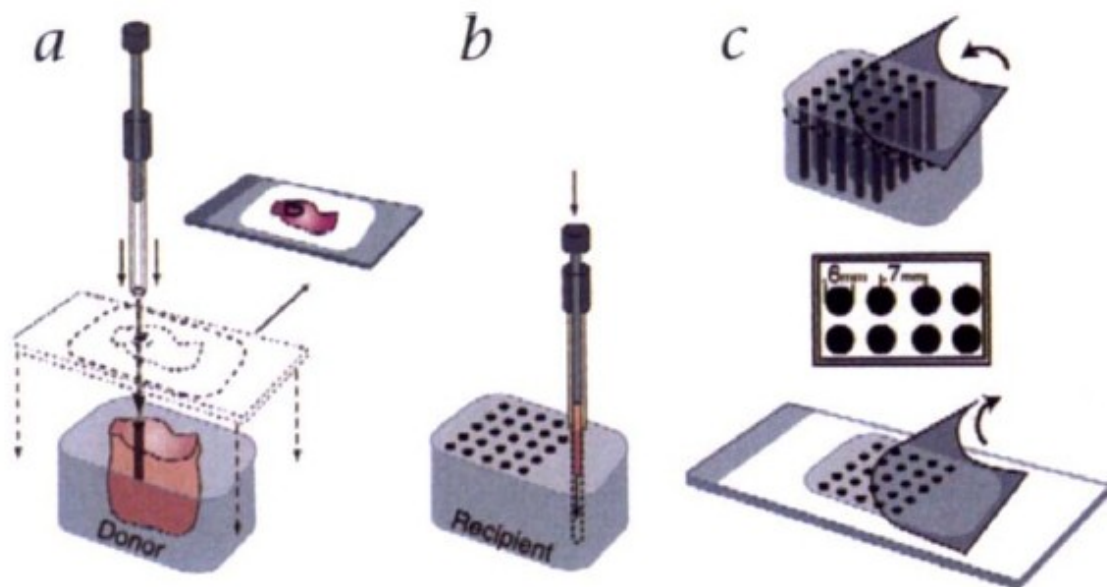
---

Das Tissue-Microarray (TMA) ist ein Untersuchungssystem, bei dem mittels Immunhistochemie oder molekularer Methoden (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung) ein Gewebekollektiv untersucht wird.

Zunächst wurden potentiell verwendbare Fälle aus der Datenbank des Instituts für Pathologie der Universität Rostock bestimmt und anschließend entsprechende Schnitte und Gewebeparaffinblöcke aus dem Archiv herausgesucht. Die Objektträger dieser entsprechenden Schnitte waren mit Hematoxylin-Eosin gefärbt und dienten dazu, repräsentative Anteile des Gewebes zu identifizieren und zu markieren. Anschließend folgte die Konzipierung des TMA. Daten über die Gewebe wurden aus der Datenbank gesammelt (TNM-Klassifikation) und zusammen mit der Lokalisation und den Koordinaten auf dem Array dokumentiert.

---

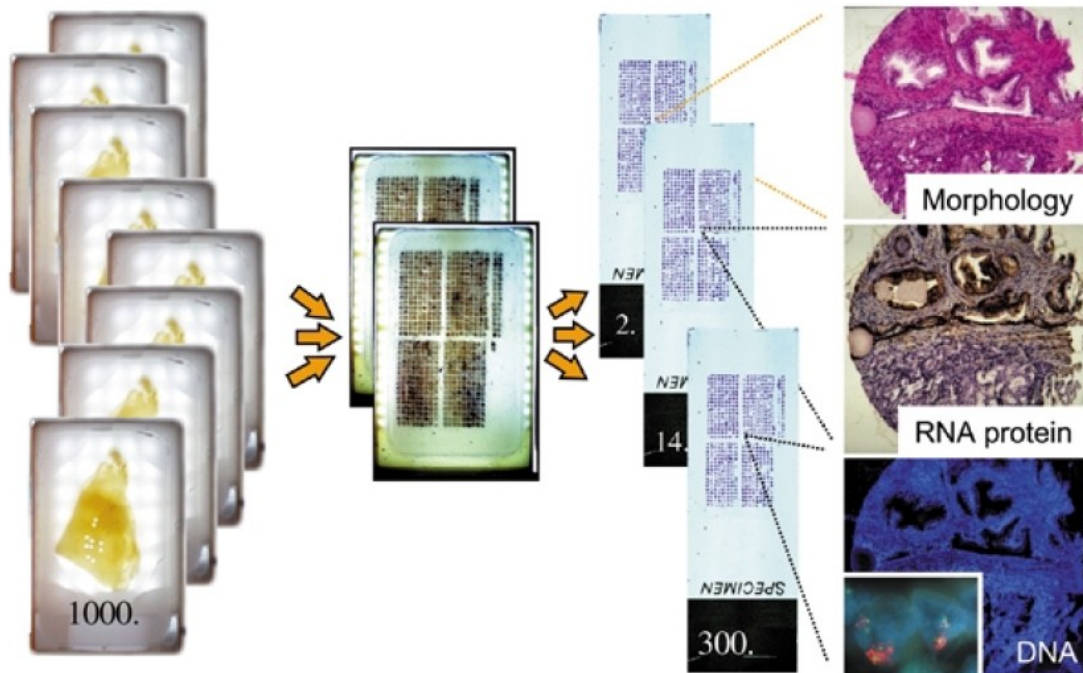
Darauf begann der Herstellungsprozess (siehe Abb. 8): Das Stanzen des TMA, bei dem Gewebszylinder aus den repräsentativen Bereichen der Gewebeparaffinblöcke (Donorblock) mittels einer Hohlzylinder entnommen und in vorgefertigte Löcher in den Empfängerblöcken eingebracht wurden (Bubendorf et al. 2001).



**ABBILDUNG 8:** HERSTELLUNG DES Tissue-Microarray (KONONEN ET AL. 1998):

A. ENTNAHME DES GEWEBES VOM DONORBLOCK MITTELS EINER HOHLNADEL. DER HE-SCHNITT GIBT ÜBER REPRÄSENTATIVE GEWEBEABSCHNITTE AUSKUNFT – B. PLATZIERUNG DES GEWEBES IM PRÄPARIERTEN EMPFÄNGERBLOCK – C. HERSTELLUNG DER SCHNITTE UND PLATZIERUNG AUF EINEM OBJEKTTRÄGER MITTELS EINER FOLIE

Aus jedem Donorblock lassen sich bis zu 300 Schnitte gewinnen, die für eine Vielzahl von morphologischen, immunhistochemischen oder molekularen Analysen verwendet werden können (Kallioniemi et al. 2001) (siehe Abb. 9).



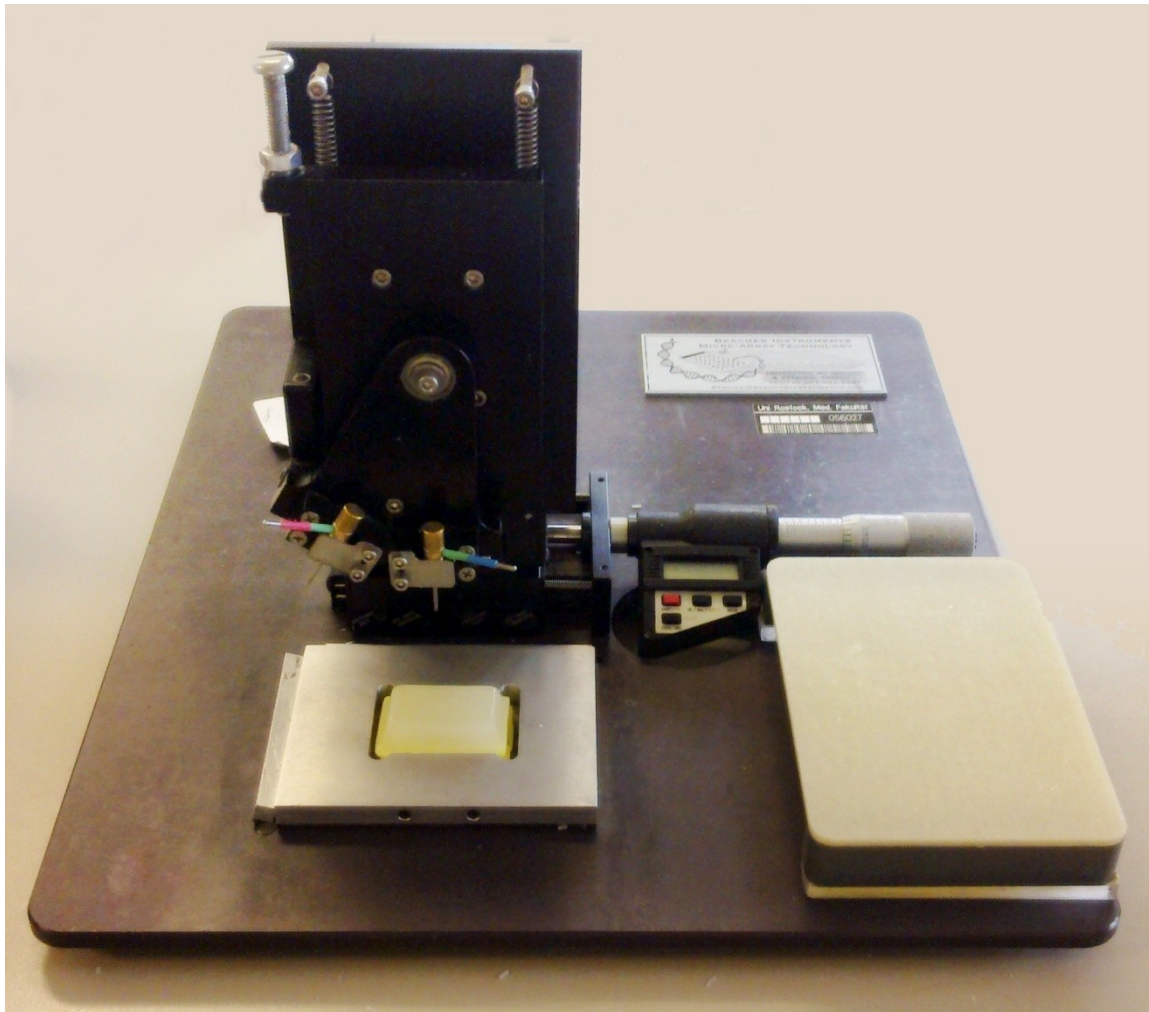
**ABBILDUNG 9:** PRINZIP DER TISSUE-MICROARRAY-ANALYSE (KALLIONIEMI ET AL. 2001):  
MORPHOLOGISCHE, IMMUNHISTOLOGISCHE ODER MOLEKULARE CHARAKTERISIERUNG DER GEWEBE

## 2.2.1 VERWENDETES MATERIAL ZUR HERSTELLUNG DER TISSUE-MICROARRAYS

---

Folgende Materialien wurden zur Herstellung der TMA und der TMA-Schnitte verwendet:

- *Paraffin sectioning aid system*: Haftfolien, beschichtete Objektträger, TPC-Lösung (Hersteller: Instrumedics Inc., Hackensack, New Jersey, USA).
- Präzisionsstanzgerät (Hersteller: Beecher Instruments, Silver Springs, MD, USA) (siehe Abb. 10)



**ABBILDUNG 10:** PRÄZISIONSSTANZGERÄT

### **2.2.2 ÜBERSICHT DER TISSUE-MICROARRAYS**

---

Folgende Gewebearrays lagen vor (siehe Tab. 7). Jedes TMA umfasst in etwa eine Tumorentität. Gelegentlich sind einige Fälle histologisch unklar.

Diese TMA waren die Grundlage für die immunhistochemischen Untersuchungen.

ARRAY-NUMMER	TUMORTYP	ANZAHL DER FÄLLE N
<b>N-TMA 1</b>	Onkozytome	38
<b>N-TMA 2</b>	überwiegend chromophobe Nierenzellkarzinome	38
<b>N-TMA 3</b>	überwiegend klarzellige Nierenzellkarzinome	34
<b>N-TMA 4</b>	klarzellige Nierenzellkarzinome	41
<b>N-TMA 5</b>	klarzellige, papilläre, chromophobe und unklassifizierbare Nierenzellkarzinome	41
<b>N-TMA 6</b>	klarzellige Nierenzellkarzinome	37
<b>N-TMA7</b>	überwiegend klarzellige Nierenzellkarzinome	39
<b>N-TMA8</b>	papilläre Nierenzellkarzinome	35
<b>N-TMA9</b>	papilläre Nierenzellkarzinome	34
<b>N-TMA10</b>	papilläre Nierenzellkarzinome	31
<b>N-TMA11</b>	klarzellige Nierenzellkarzinome	41
<b>N-TMA12</b>	klarzellige Nierenzellkarzinome	41
<b>N-TMA13</b>	klarzellige Nierenzellkarzinome	41
<b>N-TMA14</b>	klarzellige Nierenzellkarzinome	32
	<b>Gesamt</b>	<b>523</b>

**TABELLE 7:** VORHANDENE TISSUE-MICROARRAYS DES INSTITUTS DER PATHOLOGIE ROSTOCK

Folgende TMA wurden anschließend konzipiert und hergestellt:

ARRAY-NUMMER	TUMORTYP	ANZAHL DER FÄLLE N
<b>N-TMA 15</b>	Tumore, die für TFE3 positiv exprimierten	14
<b>N-TMA16</b>	Tumore, die für TFE3 positiv exprimierten	14
<b>N-TMA 17</b>	jugendliche Patienten im Alter von 16 bis 45 Jahren	29
<b>N-TMA 18</b>	Tumore, die für ALK positiv exprimierten	6

**TABELLE 8:** NEUKONZIPIERTE TISSUE-MICROARRAYS



**ABBILDUNG 11:** EIN OBJEKTRÄGER DES TMA 17. PRO TUMOR SIND 4 STANZEN ZU SEHEN (3 MAL WURDE TUMOR- UND 1 MAL NORMALGEWEBE GESTANZT). ALLE FÄLLE SIND IN 2 SPALTEN ANGEORDNET. DER STANZENDURCHMESSER DER TMA 1 – 14 WAR 0,6 MM, DER DER TMA 16 – 18 WAR 1 MM.

### 2.2.3 MORPHOLOGISCHE AUSWERTUNG

---

Die morphologische Auswertung wurde mittels HE- und Kossa-gefärbten Schnitten durchgeführt.

Bei den HE-gefärbten Tissue-Microarrays galt: Wenn > 10 % Tumorgewebe vorhanden, war der Fall evaluierbar.

Bei den Großflächenschnitten der Translokationskarzinome wurde mittels HE-Färbung die Morphologie bewertet und mit der Kossa-Färbung der Kalk bestätigt, der für die Xp11.2-Translokationskarzinome charakteristisch ist. Mit der Von-Kossa-Silberfärbung wird die Phosphorsäure im Kalk nachgewiesen. Bei Anwesenheit von phosphorsaurem Kalk bildet sich Silberphosphat, dessen gelbliche Farbe infolge der Anwesenheit von organischen Substanzen in eine tiefschwarze Farbe übergeht (Freudenthal et al. 1932).

## 2.3 IMMUNHISTOCHEMIE

### 2.3.1 THEORIE DER IMMUNHISTOCHEMIE

---

Die Immunhistochemie dient dazu, definierte, in Zellen und Geweben vorhandene Makromoleküle für das Lichtmikroskop sichtbar zu machen (Büttner et al. 2003). Dazu binden speziell erzeugte Antikörper an antigene Epitope der Makromoleküle (Gewebeantigene) und markieren diese.

Die Antikörper sind in Antiseren enthalten, die von immunisierten Tieren stammen. In einem Antiserum können mehrere Antikörper enthalten sein, die gegen unterschiedliche Epitope des Gewebeantigens gerichtet sind (polyklonale Antikörper). Monoklonale Antikörper hingegen haben eine exakt definierte Spezifität. Diese Antikörper werden in Kulturen gezüchteter Plasmazelltumoren gewonnen.

---

Anhand der immunhistochemischen Untersuchung lässt sich der Tumor- und Zelltyp bestimmen. Man unterscheidet unter anderem:

- Epitheliale Marker (z. B. EMA, BerEP4, CK7)
- Mesenchymale Marker (z. B. Vimentin)
- Lymphozytenmarker (= Zelloberflächenmarker, z. B. CD117)
- Spezielle Marker (z. B. HMB45 für das maligne Melanom)

### 2.3.2 TECHNIK DER IMMUNHISTOCHEMIE

---

Das Grundprinzip der immunhistochemischen Diagnostik ist eine Antikörper-Antigen-Reaktion, deren Ergebnis durch eine Farbreaktion sichtbar gemacht wird.

Im ersten Schritt verbindet sich ein bekannter Antikörper mit einem gesuchten Antigen. Im zweiten Schritt wird der primär gebundene Antikörper mit einem Farbstoff markiert und sichtbar gemacht.

Der „Marker“ ist das Antigen. Die Markierung erfolgt entweder durch einen Fluoreszenzfarbstoff, der unter UV-Licht zu erkennen ist oder durch einen Antikörper mit einem Chromogen, das durch eine chemische Reaktion mit einem Farbstoff aktiviert wird (Bankl 2002).

Die zuletzt genannte Methode erlaubt eine Betrachtung unter dem Lichtmikroskop. Die Immunfärbung wird mit einer Gegenfärbung (z. B. Hämatoxylin) ergänzt.

### 2.3.3 IMMUNHISTOCHEMIE AM GEWEBEARRAY

---

Die Expression 16 verschiedener Antigene wurde an dem Tumorkollektiv untersucht:

Diagnostische Marker: AMACR, BerEP4, CD10, CD117, CK7, CK19, Ckhw, EMA, HMB45, MelanA, NapsinA, PAX8, Vimentin

„Translokationskarzinom“-Marker: TFE3, CathepsinK, ALK

Von dem formalinfixierten und paraffineingebetteten Material wurden Schnitte mit einer Dicke von 3 µm angefertigt. Diese wurden getrocknet und anschließend vorbehandelt. Die Vorbehandlung umfasste das Entparaffinieren, Rehydrieren sowie eine hitzeinduzierte Epitopdemaskierung. Hier wurde das *EnVision™ FLEX, High pH-Kit* verwendet. Anschließend wurden die Gewebeschnitte mit den genannten, vorbehandelten und verdünnten primären Antikörpern inkubiert (siehe Tab. 9).

Als Probenvorbereitungsgerät wurde der *Autostainer Link 48* von DAKO verwendet.

Das Endprodukt wurde mit *EnVision™ FLEX DAB + Chromogen*, einer konzentrierten Diaminobenzidinlösung, dargestellt. Dies führte zu einem kontrastreichen, braunen Endprodukt am Ort des Zielantigens. Zur Gegenfärbung wurde *EnVision™ FLEX Hematotoxylin* verwendet.

ANTIKÖRPER	ANTI-KÖRPERTYP	KLON / FIRMA	VORBEHANDLUNG	VERDÜNNUNG	INKUBATIONSZEIT	ENTWICKLUNG / GEGENFÄRBUNG
<b>ALK</b>	m (Maus)	ALK1 / DAKO Germany GmbH	L	1:150 + Linker	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>AMACR</b>	p (Hase)	Diagnostic BioSystems	H	1:50	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>BerEP4</b>	m (Maus)	BerEP/ DAKO Germany GmbH	L	1:20	20 min / 97 °C	DAB/HE
<b>CathepsinK</b>	m (Maus)	3F9 / Medac GmbH	H	RTU	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>CD10</b>	m (Maus)	56C6 / DAKO Germany GmbH	H	RTU	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>CD117</b>	p (Hase)	DAKO Germany GmbH	H	1:500	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>CK7</b>	m (Maus)	Ks7.18 / Progen Biotechnik GmbH	H	1:100	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>CK19</b>	m (Maus)	RCK108 / DAKO Germany GmbH	H	RTU	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>Ckhw</b>	m (Maus)	34βE12 / DAKO Germany GmbH	H	1:100	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>EMA</b>	m (Maus)	GP1.4 / Thermo Fisher Scientific Inc.	H	1:100	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>HMB45</b>	m (Maus)	M634 / DAKO Germany GmbH	H	1:50	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>MelanA</b>	m (Maus)	A103 / DAKO Germany GmbH	H	1:50	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>NapsinA</b>	m (Maus)	KCG1.1 / Diagnostic BioSystems	H	1:100	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>PAX8</b>	p (Hase)	Zytomed Systems	H	1:50	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>TFE3</b>	m (Hase)	Cell Marque Corporation	H	RTU + Linker	20 min / 97 °C	DAB / HE
<b>Vimentin</b>	m (Maus)	V0 / DAKO Germany GmbH	H	1:500	20 min / 97 °C	DAB / HE

**TABELLE 9:** VERWENDETE ANTIKÖRPER UND DEREN ANWENDUNG  
(M = MONOKLONAL; P = POLYKLONAL; H = HIGH PH9; L = LOW PH6; RTU = READY TO USE)

## 2.3.4 AUSWERTUNGSMODI DER IMMUNHISTOCHEMIE

MARKER	EXPRESSION	AUSWERTUNGSMODUS
<b>ALK</b>	zytoplasmatisch / nukleär	negativ = 0 positiv = 1 (> 10 %)
<b>AMACR</b>	zytoplasmatisch	negativ = 0 schwach positiv = 1 stark positiv = 2
<b>BerEP4</b>	zytoplasmatisch und membranös	negativ = 0 schwach positiv = 1 – 4 mäßig positiv = 6 – 8 stark positiv = 9 – 12
<b>CathepsinK</b>	zytoplasmatisch	negativ = 0 schwach positiv = 1 (< 10 %) stark positiv = 1 (> 10 %)
<b>CD10</b>	membranös	negativ = 0 schwach positiv = 1 stark positiv = 2
<b>CD117</b>	membranös	negativ = 0 schwach positiv = 1 – 4 mäßig positiv = 6 – 8 stark positiv = 9 – 12
<b>CK7</b>	zytoplasmatisch und membranös	negativ = 0 schwach positiv = 1 ( $\leq$ 30 %) moderat positiv = 2 (> 30 %)
<b>CK19</b>	zytoplasmatisch	negativ = 0 schwach positiv = 1 ( $\leq$ 30 %) moderat positiv = 2 (> 30 %)
<b>Ckhw</b>	zytoplasmatisch	negativ = 0 schwach positiv = 1 ( $\leq$ 30 %) moderat positiv = 2 (> 30 %)
<b>EMA</b>	zytoplasmatisch und membranös	negativ = 0 schwach positiv = 1 (< 5 %) moderat positiv = 2 ( $\geq$ 5 %)
<b>HMB45</b>	zytoplasmatisch	negativ = 0 schwach positiv = 1 (> 5 %) stark positiv = 2 (< 5 %)
<b>MelanA</b>	zytoplasmatisch	negativ = 0 schwach positiv = 1 (> 5 %) stark positiv = 2 (< 5 %)
<b>Napsin A</b>	zytoplasmatisch	negativ = 0 positiv = 1 (> 10 %)
<b>PAX8</b>	nukleär	negativ = 0 positiv = 1 (> 10 %)
<b>TFE3</b>	nukleär	negativ = 0 schwach positiv = 1 ( $\leq$ 5 %) stark positiv = 2 (> 5 %)
<b>Vimentin</b>	zytoplasmatisch	negativ = 0 schwach positiv = 1 ( $\leq$ 5%) stark positiv = 2 (> 5 %)

TABELLE 10: EXPRESSION UND AUSWERTUNGSMODUS DER VERWENDETEN MARKER

In Tabelle 10 sind die Färbemuster der verwendeten immunhistochemischen Marker sowie deren Bewertung dargestellt.

## **2.4 FLUORESZENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG**

### **2.4.1 THEORIE DER FLUORESZENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG**

---

Mittels der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) ist es möglich, bestimmte Nukleinsäuresequenzen in Zellen oder Geweben mit Hilfe markierter DNA-Sonden durch In-situ-Hybridisierung nachzuweisen. Die Hybridisierung bewirkt eine Duplexbildung der entsprechenden Sequenzen und der DNA-Sonde, die mit Fluoreszenz-Markierungen versehen ist und unter Verwendung eines Fluoreszenzmikroskops mit verschiedenen Filtersätzen nachgewiesen werden kann (zum Prinzip siehe Abb. 12).

### **2.4.2 TECHNIK DER FLUORESZENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG**

---

Die FISH wurde mit dem *ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit* an den neu entstandenen TMA (15,16 und 18) durchgeführt. Es wurde wie folgt angewendet:

Von den TMA wurden 5 µm dicke Schnitte hergestellt. Erst folgte die Entparaffinierung. Die Schnitte wurden wärmebehandelt sowie mit Xylol und einer absteigenden Ethanolreihe inkubiert. Anschließend wurde die DNS des Präparats und der Sonde durch Proteasen und Hitze denaturiert. Dadurch öffnete sich der DNS-Doppelstrang und ermöglichte eine Anlagerung der Sonde. Darauf wurde der Schnitt mit dem Sonden-Puffer-Gemisch hybridisiert. Überschüssige Proben sind nach der Hybridisierung in einem Waschschrift entfernt worden (Savic und Bubendorf 2007). Das Untersuchungsmaterial wurde anschließend mit einem Deckglas versiegelt.

Folgende Sonden wurden verwendet:

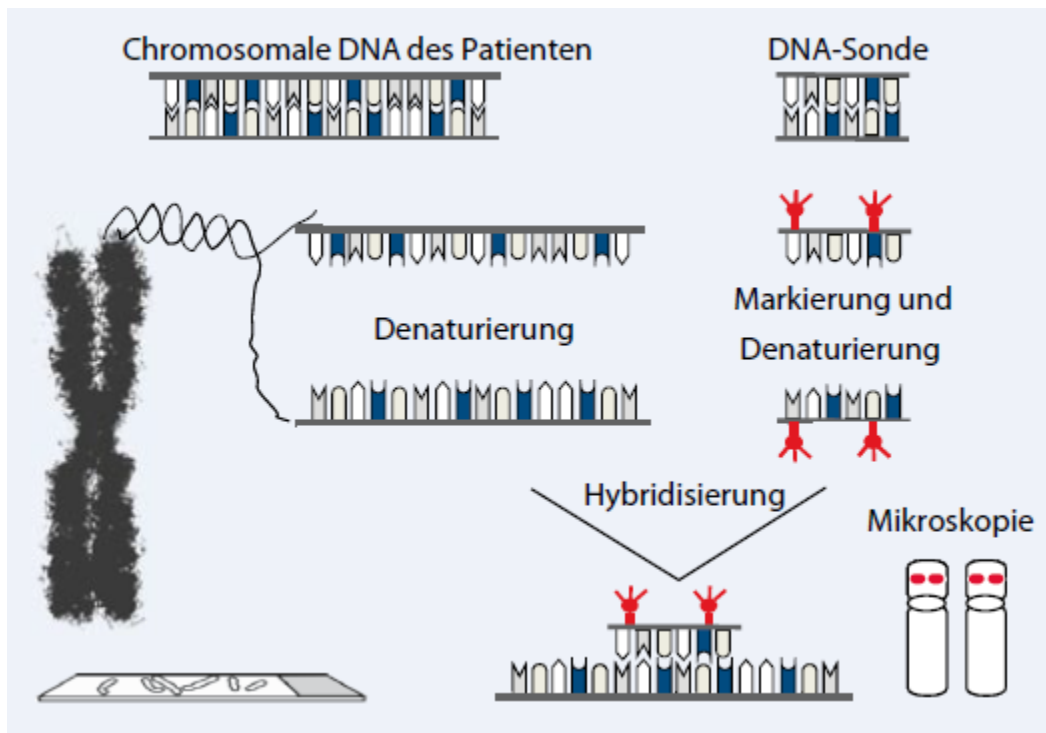
- ZytoLight® SPEC TFE3 Dual Color Break Apart Probe
- ZytoLight® SPEC ALK Dual Color Break Apart Probe

Nach der Hybridisierung (Behandlung mit Waschpuffer, aufsteigender Ethanolreihe, DAPI / Antifade-Solution) konnte das Untersuchungsmaterial ausgewertet werden.

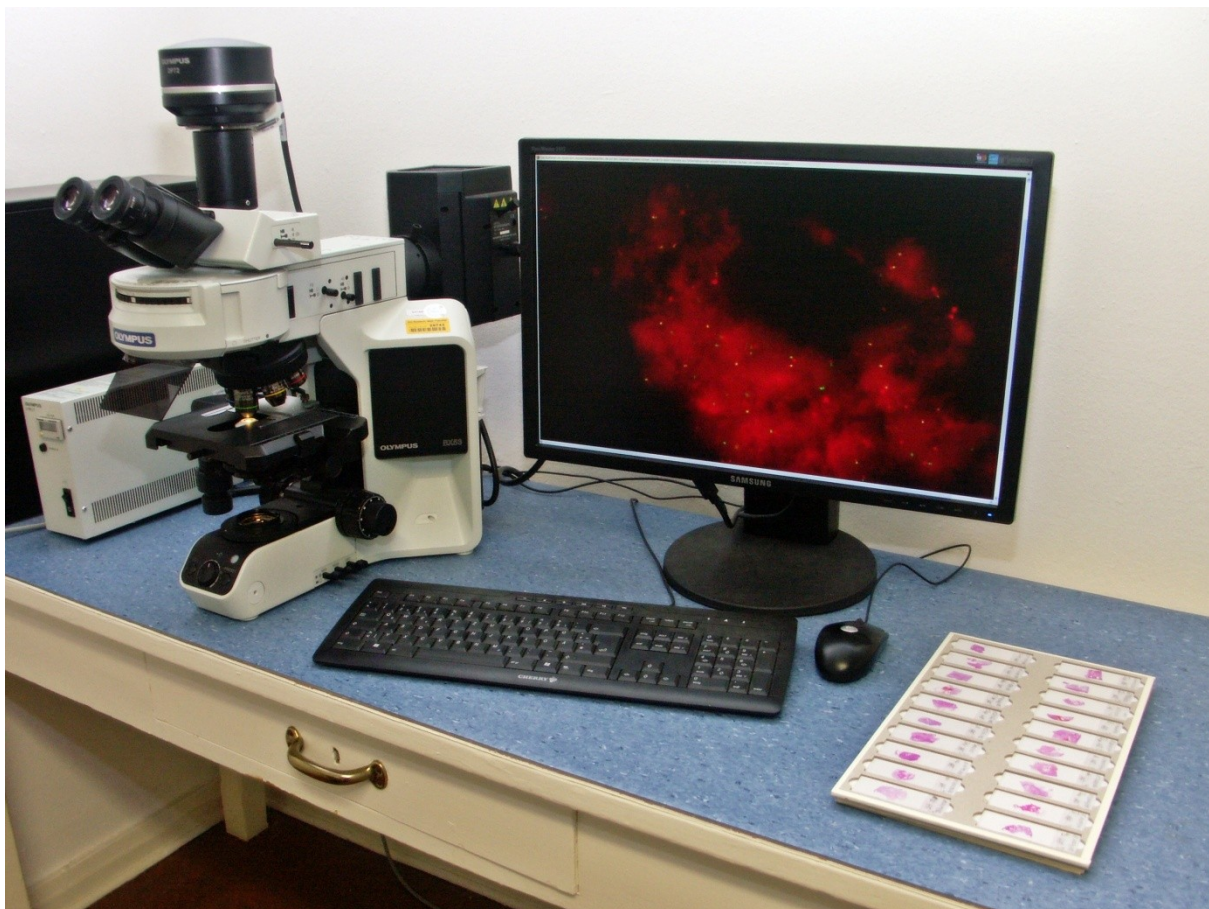
Abschließend erfolgte die Auswertung unter dem Fluoreszenzmikroskop *System Microscope BX53* von Olympus (siehe Abb. 13).

Die Bilder wurden mit der Software *Cell Sens Dimension 1.5* erstellt.

---



**ABBILDUNG 12:** ÜBERSICHT ÜBER DIE TECHNIK DER FLUORESCENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG (SCHRÖCK ET AL. 2008)



**ABBILDUNG 13:** VERWENDETES Fluoreszenzmikroskop SYSTEM MICROSCOPE BX53 VON OLYMPUS

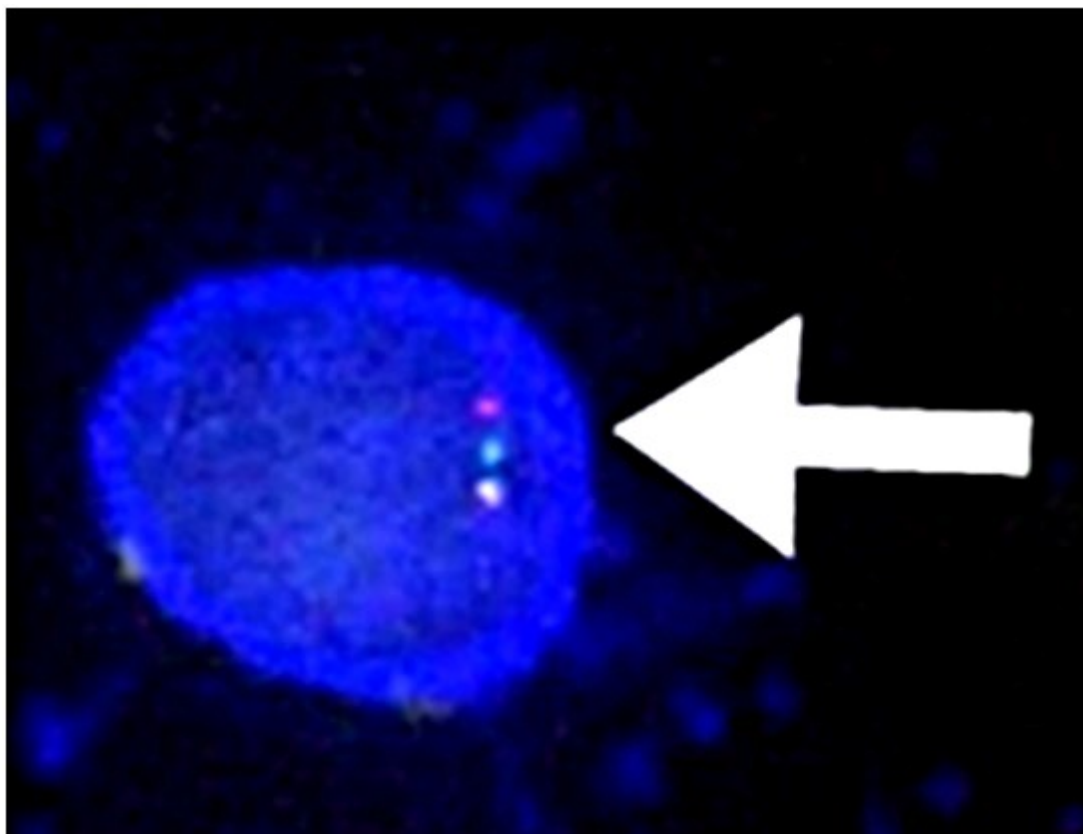
### 2.4.3 AUSWERTUNGSMODUS DER FLUORESCENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG

---

Bei einer intakten Zelle sind bei der Verwendung geeigneter Filteransätze in der Inter- oder Metaphase zwei eng beieinander liegende rote und grüne Signale pro Allel zu erkennen. Es ist auch möglich, dass sich die Signale überlagern. Dann erscheinen sie gelb.

Im Falle einer Translokation sind die roten und grünen Signale voneinander getrennt. Der Abstand zwischen den beiden Signalen sollte mindestens zwei Signaldurchmesser betragen. Wenn ein Teil deletiert ist, kann ein Signal auch fehlen.

In dieser Studie wurde ein Fall positiv gewertet, wenn mehr als 15 % der Nuklei des Tumors deutlich getrennte Signale aufwiesen und somit ein Anzeichen für eine Translokation lieferten. Ein Vergleich zwischen den Tissue-Microarrays und Großflächenschnitten führte zu einem optimalen Cut-off-Level von 15 %.



**ABBILDUNG 14:** TMA 18: ES IST EINE EINZELNE ZELLE ZU ERKENNEN. SIE WEIST 2 ALLELE AUF. DER WEIßE PFEIL ZEIGT DAS ALLEL, BEI DEM DAS ROTE UND GRÜNE SIGNAL DEUTLICH GETRENNT IST.

## **2.5 STATISTISCHE AUSWERTUNG**

---

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Statistiksoftware *IBM SPSS Statistics 20.0*. Aussagen, die mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  behaftet sind, wurden als signifikant gewertet (Krentz 2002).

### **3 RESULTATE**

#### **3.1 PATIENTEN UND MATERIAL**

---

Es wurden insgesamt 523 Nierentumore auf 14 Tissue-Microarrays untersucht.

Das Patientenkollektiv bestand aus 346 männlichen (66,2 %) und 177 weiblichen (33,8 %) Patienten. Der jüngste Patient war zum Zeitpunkt der Diagnose 16 Jahre, der älteste 89 Jahre alt. Das mittlere Alter lag bei 63,97 Jahren.

Die initialen Diagnosen lauteten bei den 523 Tumoren wie folgt: 322 Tumore sind als klarzellige Nierenzellkarzinome (61,6 %) deklariert worden. Bei 110 Fällen handelte es sich um papilläre Nierenzellkarzinome (21,3 %), bei 47 Fällen lag ein chromophobes Karzinom vor (8,9 %) und bei 38 Fällen ein Onkozytom (7,3 %). 5 Tumore waren als RCC NOS (unklassifizierbar) (1 %) und 1 Tumor als ein muzinös-tubulär-spindelzelliges Nierenkarzinom (0,2 %) diagnostiziert worden.

Nach vorliegenden Untersuchungen sind retrospektiv 18 Tumore Xp11.2- (3,4 %) und 2 Tumore TFEB-Translokationskarzinome (0,4 %).

Die klinisch-pathologischen Befunde sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

	ccRCC	PRCC	cPRCC	RCC NOS	MTSCC	ONKOZYTOM	GESAMT
<b>Fälle</b>	322	110	47	5	1	38	523
<b>Weiblich</b>	113	27	19	1	1	17	177
<b>Männlich</b>	209	83	28	4	0	21	346
<b>g1 - g2</b>	180	60	12	0	0	35	287
<b>g3 - g4</b>	142	50	35	5	1	3	236
<b>pT1</b>	185	81	24	0	1	k. A.	291
<b>pT2</b>	15	12	2	0	0	k. A.	29
<b>pT3</b>	105	17	19	2	0	k. A.	143
<b>pT4</b>	14	0	0	3	0	k. A.	17
<b>N0</b>	118	23	24	2	k. A.	k. A.	167
<b>N1</b>	5	1	1	0	k. A.	k. A.	7
<b>N2</b>	11	5	0	1	k. A.	k. A.	17
<b>M0</b>	6	4	1	0	k. A.	k. A.	11
<b>M1</b>	29	3	1	2	k. A.	k. A.	35
<b>R0</b>	288	107	42	4	1	k. A.	442
<b>R1</b>	18	1	2	0	0	k. A.	21
<b>R2</b>	1	0	0	1	0	k. A.	2

**TABELLE 11:** KLINISCH-PATHOLOGISCHE BEFUNDE DES ROSTOCKER NIERENTUMORKOLLEKTIVS 1998 – 2013  
(K. A. = KEINE ANGABE; ccRCC = KLARZELLIGES NIERENZELLKARZINOM; PRCC = PAPILLÄRES NIERENZELL  
KARZINOM; cPRCC = CHROMOPHOBES NIERENZELLKARZINOM; RCC NOS = UNKLASSIFIZIERBARES NIERENZELL  
KARZINOM; MTSCC = MUZINÖSES, TUBULÄRES, SPINDELZELLIGES NIERENKARZINOM)

### 3.2 AUSWERTUNG DER TISSUE-MICROARRAYS 1 – 14, 17, 15 – 16, 18

#### 3.2.1 MORPHOLOGISCHE AUSWERTUNG: TISSUE-MICROARRAY 1 – 14

Die morphologische Auswertung erfolgte an mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Gewebeschnitten der Tissue-Microarrays. Pro Patientenfall waren auf den Tissue-Microarrays 1 – 14 je 4 Tumorstanzen sowie eine Stanze mit Normalgewebe vorhanden. Insgesamt wurden also 2.615 Stanzen evaluiert. Wenn weniger als 10 % des gestanzten Gewebes vorhanden war,

wurde dieser Fall als „nicht auswertbar“ angesehen. Von den insgesamt 523 Fällen konnten 513 (98,1 %) ausgewertet werden, 10 Patientenfälle (1,9 %) waren nicht auswertbar.

### **3.2.2 TISSUE-MICROARRAY 1 – 14: AUSWERTUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE UND KORRELATIONSANALYSEN**

#### **3.2.2.1 TFE3-EXPRESSION**

---

Von den 523 Patientenfällen wurden 504 (96,4 %) für TFE3 als auswertbar angesehen, 19 Fälle waren nicht auswertbar (3,6 %).

Von den klarzelligen Tumoren zeigten 216 (67,9 %) kein, 78 (24,5 %) gering bis mäßiges und 24 (7,5 %) starkes Färbeverhalten.

85 (85,9 %) der papillären Karzinome waren negativ, 12 (12,1 %) mäßig positiv und 2 Fälle stark positiv (2 %) für TFE3.

Bei den chromophoben Karzinomen konnten 37 (88,1 %) als negativ und 4 (9,5 %) als geringgradig positiv und 1 Fall (2,4 %) als stark positiv gewertet werden.

Von den RCC NOS waren 2 (33,3 %) negativ, 3 (50 %) schwach und 1 Fall (16,7 %) stark positiv für TFE3.

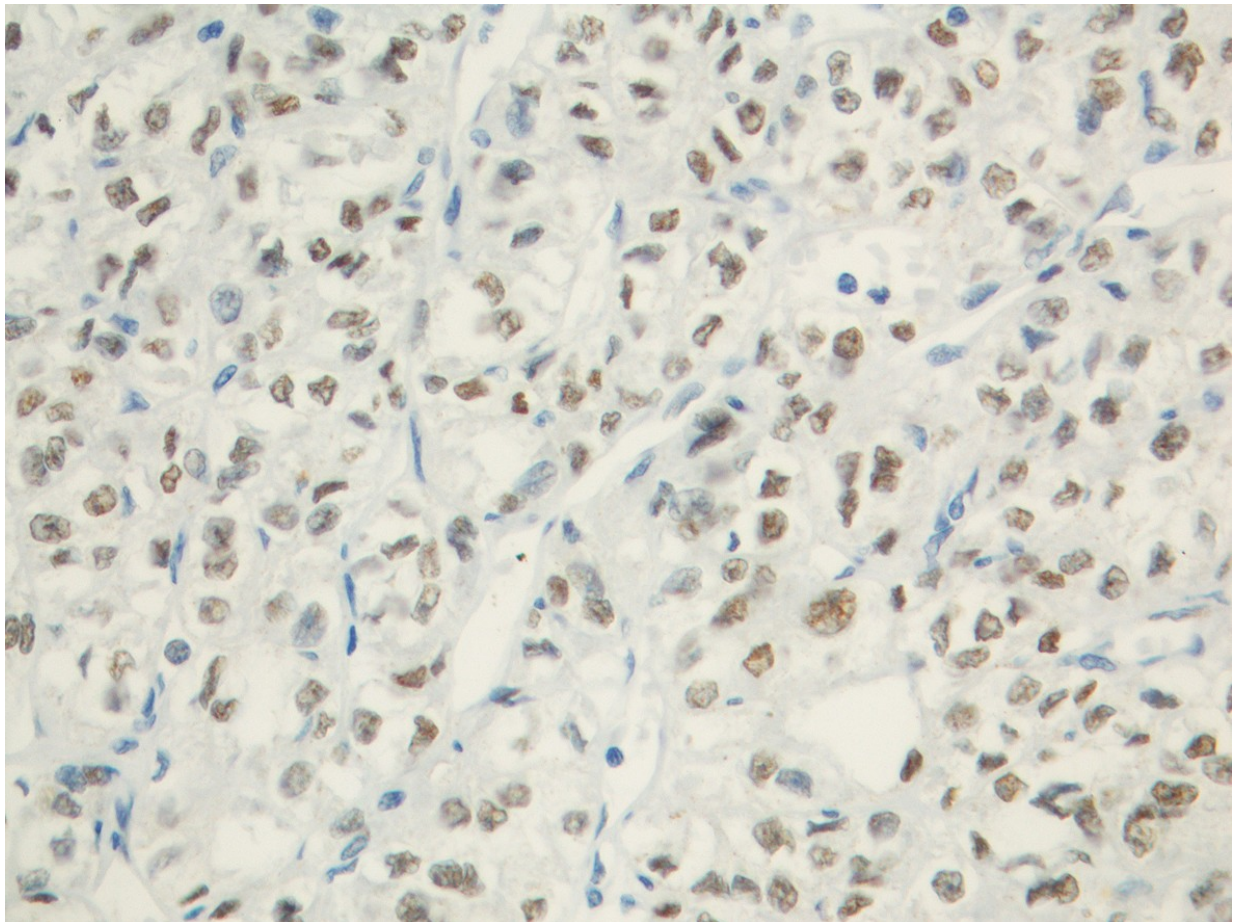
Alle 18 durch nachfolgende FISH-Untersuchung bestätigten Xp11.2-Translokationskarzinome wiesen ein stark positives Färbemuster auf (100 %) (siehe Abschnitt 3.3, Tab. 14).

Das muzinös-tubulär-spindelzellige Karzinom (1 / 00 %) zeigte ein negatives Färbeverhalten.

Die Onkozytome waren alle negativ (38 / 100 %).

Im Chi-Test ergab sich ein  $p < 0,001$ , womit die Unterschiede zwischen den histologischen Subtypen in Bezug auf die TFE3-Färbung statistisch signifikant sind.

Die Spearman-Korrelation beträgt 0,224. Dies deutet auf eine geringe Korrelation zwischen den histologischen Subtypen und der TFE3-Färbung hin.



**ABBILDUNG 15:** PATIENTENFALL 1 DER XP11.2-TRANSLOKATIONSKARZINOME.  
TFE3-POSITIVES FÄRBEMUSTER (40 X VERGRÖßERUNG)

### 3.2.2.2 CATHEPSINK-EXPRESSION

---

494 Fälle (94,5 %) waren für CathepsinK auswertbar, 29 Fälle (5,5 %) waren nicht auswertbar.

Von den klarzelligeren Nierenzellkarzinomen zeigten 299 (99 %) keine Farbreaktion, 1 Fall (0,3 %) war schwach und 2 Fälle (0,7 %) stark positiv.

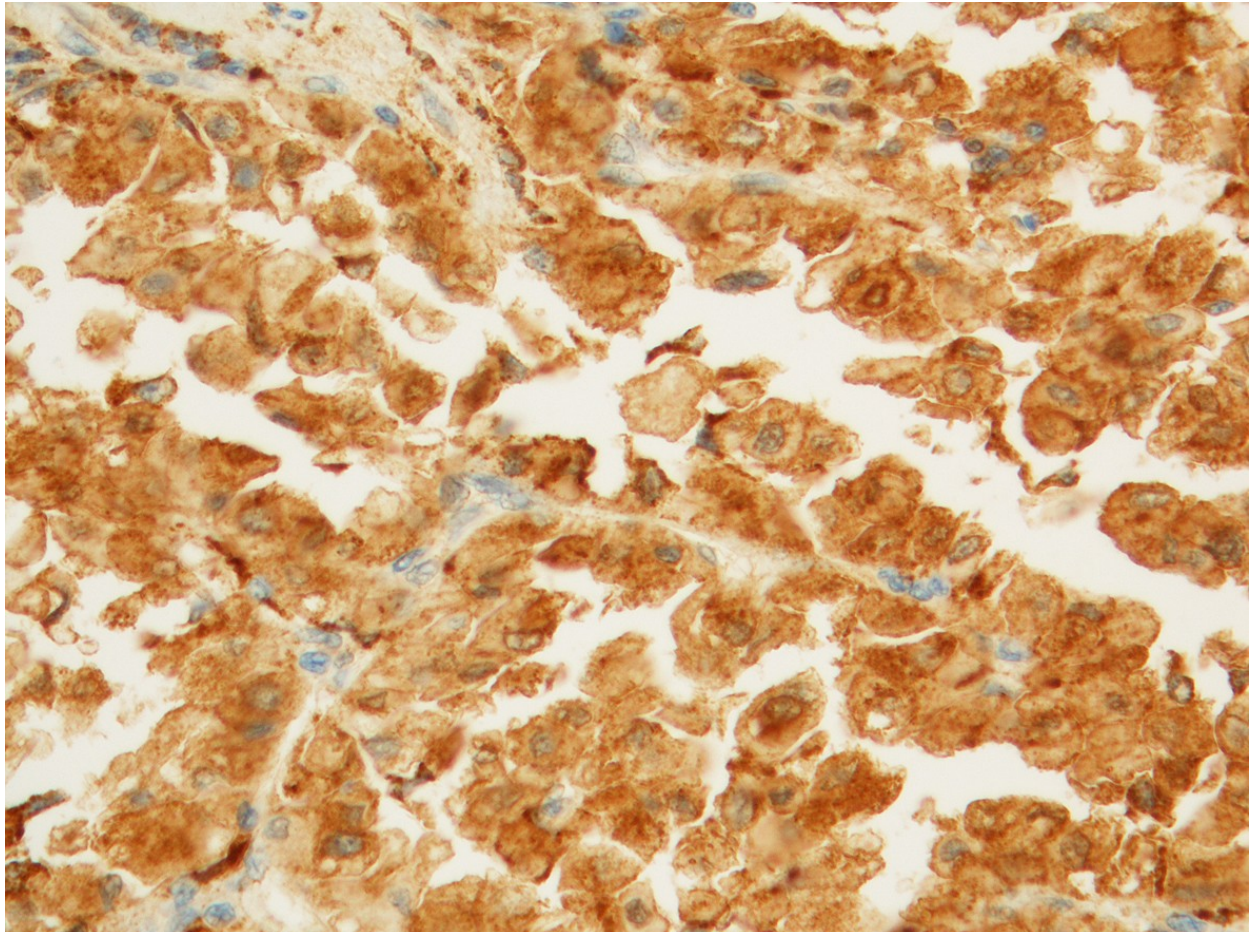
Von den papillären Karzinomen waren 105 (99,1 %) negativ und 1 Fall (0,9 %) schwach positiv.

40 (93 %) der chromophoben Karzinome hatten ein negatives, 1 Fall (2,3 %) ein schwaches und 2 Fälle (4,6 %) ein stark positives Färbeverhalten.

Die RCC NOS (5 / 100 %) und das muzinös-tubulär-spindelzellige Karzinom (1 / 100 %) sowie alle Onkozytome (38 / 100 %) demonstrierten kein Färbemuster.

Der Chi-Test ergab einen p-Wert von  $> 0,05$ , womit die Unterschiede unter den histologischen Subtypen als statistisch nicht signifikant anzusehen sind.

Der Wert der Spearman-Korrelation beträgt 0,051. Damit besteht keine Korrelation zwischen den Variablen histologischer Subtyp und CathepsinK-Expression.



**ABBILDUNG 16:** PATIENTENFALL 1 DER T(6,11)-TRANSLOKATIONS-KARZINOME.  
CATHEPSINK-POSITIVES FÄRBEMUSTER (40 X VERGRÖßERUNG)

ANZAHL CATHEPSINK STARK POSITIVER FÄLLE	PRIMÄRE DIAGNOSE
1	klarzelliges Nierenzellkarzinom (ccRCC)
0	papilläres Nierenzellkarzinom (pRCC)
1	chromophobes Nierenzellkarzinom (cpRCC)
0	unklassifizierbares Nierenzellkarzinom (RCC NOS)
0	muzinöses, tubuläres, spindelzelliges Nierenkarzinom (MTSCC)
0	Onkozytome (RO)

**TABELLE 12:** ANZAHL UND FRÜHERE DIAGNOSE DER T(6;11)-TRANSLOKATIONS-KARZINOME DER NIERE

### 3.2.2.3 ALK-EXPRESSION

---

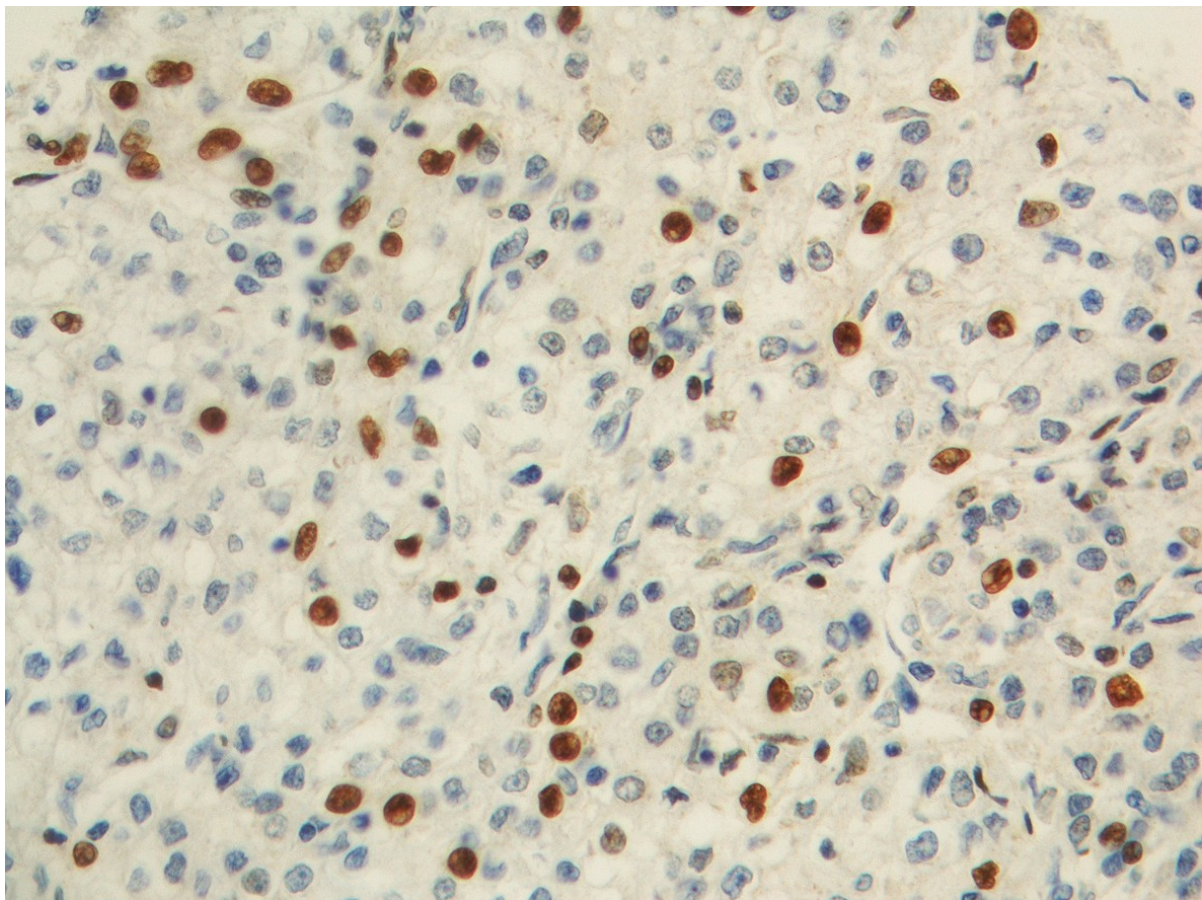
Insgesamt waren 480 Fälle (91,8 %) für ALK auswertbar, 43 fehlten oder konnten nicht ausgewertet werden (8,2 %).

291 (98,0 %) der klarzelligeren Nierenzellkarzinome exprimierten für ALK negativ, 6 Fälle (2,0 %) positiv. Von den papillären Karzinomen konnten 94 Fälle (97,9 %) als negativ und 2 Fälle (2,1 %) als positiv angesehen werden.

Alle chromophoben Karzinome (42 / 100 %) sowie alle RCC NOS (6 / 100 %) zeigten ein negatives Färbeverhalten. Auch die Onkozytome (38 / 100 %) und das muzinös-tubulär-spindelzellige Nierenkarzinom (1 / 100 %) waren für ALK negativ.

Im Chi-Test ergab sich ein  $p > 0,05$ , womit die Unterschiede in den histologischen Subtypen in Bezug auf die ALK-Expression statistisch nicht signifikant sind.

Auch der Spearman-Korrelationskoeffizient beträgt 0,046. Somit ist keine Korrelation der histologischen Subtypen in Bezug auf die ALK-Expression vorhanden.



**ABBILDUNG 17:** POSITIVE FÄRBUNG FÜR ALK (PATIENTENFALL AUF TMA 12 - 40 X VERGRÖßERUNG)

### **3.2.3 WEITERE WICHTIGE MARKER IN DER DIFFERENTIALDIAGNOSE**

#### **3.2.3.1 HMB45-EXPRESSION**

---

516 (98,7%) Fälle konnten ausgewertet, 7 (1,3 %) konnten nicht ausgewertet werden.

Alle 314 klarzelligigen Karzinome, sowie 47 chromophobe Karzinome, 6 RCC NOS, 38 Onkozytome und das eine muzinös-tubulär-spindelzellige Nierenkarzinom waren negativ.

Auch von den papillären Karzinomen waren 109 (99,1 %) negativ und lediglich 1 Fall (0,9 %) positiv.

Der Chi-Test ergab einen p-Wert von  $> 0,05$ . Die Unterschiede sind nicht signifikant.

Der Wert der Spearman-Korrelation betrug 0,038. Das ist ein Zeichen für eine geringe Korrelation.

#### **3.2.3.2 MELANA-EXPRESSION**

---

520 (99,4 %) der mit MelanA gefärbten Tumore waren auswertbar, 3 (0,6 %) waren nicht auswertbar.

Sowohl die klarzelligen Nierenzellkarzinome (318 / 100 %), als auch alle RCC NOS (6 / 100 %) waren negativ. Das muzinös-tubulär-spindelzellige Nierenkarzinom (1 / 100 %) und alle Onkozytome (38 / 100 %) zeigten keine Farbreaktion.

Von den papillären Karzinomen waren 108 (98,2%) negativ und 2 (1,8 %) schwach positiv.

46 (97,9 %) der chromophoben Karzinome waren negativ, 1 Fall (2,1 %) stark positiv.

Der Chi-Test ergab einen Wert  $> 0,05$ . Die Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

Der Spearman-Korrelationswert war 0,081. Ein Zeichen für eine sehr geringe Korrelation.

#### **3.2.3.3 NAPSINA-EXPRESSION**

---

513 (98,1 %) Fälle waren auswertbar, 10 (1,9 %) waren nicht auswertbar.

Für NapsinA exprimierten 276 (88,2 %) der klarzelligen Nierenzellkarzinome nicht, 37 (11,8 %) waren positiv.

Von den papillären Karzinomen zeigten 43 (39,4 %) kein Farbmuster, 66 (60,5 %) waren positiv.

---

44 (95,6 %) der chromophoben Karzinome wurden als negativ, 2 (4,3 %) als positiv gewertet.

Die RCC NOS (6 / 100 %), die Onkozytome (38 / 100%) sowie das muzinös-tubulär-spindelzellige Nierenkarzinom (1 / 100%) waren negativ für NapsinA.

Der Chi-Test ergab einen p-Wert von  $< 0,001$ . Die Unterschiede in den histologischen Subtypen im Bezug auf die Expression von NapsinA sind somit statistisch signifikant.

Der Wert der Spearman-Korrelation betrug 0,150. Dies spricht für eine sehr geringe Korrelation.

#### **3.2.3.4 PAX8-EXPRESSION**

---

Insgesamt waren für PAX8 520 Fälle (99,4 %) auswertbar, 3 Patientenfälle (0,6 %) waren nicht auswertbar.

155 (48,6 %) der klarzelligen Tumore exprimierten für PAX8, 164 (51,4 %) waren negativ.

Von den papillären Karzinomen zeigten 31 (28,2 %) ein negatives und 79 (71,8 %) ein positives Färbeverhalten.

22 (46,8%) der chromophoben Karzinome waren negativ, 24 (52,1%) positiv für PAX8.

Bei 2 RCC NOS konnte ein negatives (33,3 %), bei 4 (66,7 %) ein positives Färbemuster nachgewiesen werden.

Das muszinös-tubulär-spindelzellige Nierenkarzinom (1 / 100 %) exprimierte positiv für PAX8. 21 (55,3 %) der Onkozytome waren negativ und 17 (44,7 %) positiv.

Der p-Wert betrug beim Chi-Test  $< 0,001$ , somit ist die statistische Aussage hoch signifikant.

Der Wert der Spearman-Korrelation beträgt 0,095. Dies deutet auf eine sehr geringe Korrelation zwischen der PAX8-Färbung und den histologischen Subtypen hin.

**3.2.4 ZUSAMMENFASSUNG DES EXPRESSIONSVERHALTENS**

<b>IMMUN-MARKER</b>		<b>ccRCC % (ABS)</b>	<b>PRCC % (ABS)</b>	<b>cpRCC % (ABS)</b>	<b>RCC NOS % (ABS)</b>	<b>MTSCC % (ABS)</b>	<b>ONKOZYTOM % (ABS)</b>
<b>TFE3</b>	<b>negativ</b>	67,9 % (216)	85,9 % (85)	88,1 % (37)	33,3 % (2)	100 % (1)	100 % (38)
	<b>positiv</b>	32,1 % (102)	14,1 % (14)	11,9 % (5)	66,7 % (4)	- (0)	- (0)
<b>ALK</b>	<b>negativ</b>	98 % (291)	97,9 % (94)	100 % (42)	100 % (6)	100 % (1)	100 % (38)
	<b>positiv</b>	2 % (6)	2,1 % (2)	- (0)	- (0)	- (0)	- (0)
<b>CathepsinK</b>	<b>negativ</b>	98,9 % (299)	99,1 % (105)	93 % (40)	100 % (5)	100 % (1)	100 % (38)
	<b>positiv</b>	1 % (3)	0,9 % (1)	7 % (3)	- (0)	- (0)	- (0)
<b>PAX8</b>	<b>negativ</b>	51,4 % (164)	28,2 % (31)	47,8 % (22)	33,3 % (2)	- (0)	55,3 % (21)
	<b>positiv</b>	48,6 % (155)	71,8 % (79)	52,2 % (24)	66,7 % (4)	100 % (1)	44,7 % (17)
<b>EMA</b>	<b>negativ</b>	2,9 % (9)	5,5 % (6)	4,3 % (2)	- (0)	- (0)	2,6 % (1)
	<b>positiv</b>	97,1 % (303)	94,4 % (102)	94,7 % (45)	100 % (6)	100 % (1)	97,4 % (37)
<b>Vimentin</b>	<b>negativ</b>	1,6 % (5)	12,7 % (14)	63 % (29)	- (0)	(0)	86,8 % (33)
	<b>positiv</b>	98,4 % (309)	87,3 % (96)	37 % (17)	100 % (6)	100 % (1)	13,2 % (5)
<b>CD10</b>	<b>negativ</b>	30,2 % (95)	89,1 % (98)	71,1 % (32)	33,3 % (2)	100 % (1)	100 % (38)
	<b>positiv</b>	69,8 % (220)	10,9 % (12)	28,9 % (13)	66,7 % (4)	- (0)	- (0)
<b>CD117</b>	<b>negativ</b>	98,7 % (311)	96,3 % (105)	19,1 % (9)	100 (6)	100 % (1)	15,8 (6)
	<b>positiv</b>	1,3 % (4)	3,7 % (4)	80,8 % (38)	- (0)	- (0)	84,2 % (32)
<b>BerEP4</b>	<b>negativ</b>	86,3 % (272)	38,2 % (42)	50 % (23)	83,3 % (5)	- (0)	84,2 % (32)
	<b>positiv</b>	13,6 % (43)	61,8 % (68)	50 % (23)	16,7 % (1)	100 % (1)	15,8 % (6)
<b>AMACR</b>	<b>negativ</b>	16,7 % (52)	1,8 % (2)	13 % (6)	33,3 % (2)	- (0)	2,6 % (1)
	<b>positiv</b>	83,3 % (260)	98,2 % (108)	87 % (40)	66,7 % (4)	100 % (1)	97,4 % (38)
<b>CK7</b>	<b>negativ</b>	96,1 % (300)	31,5 % (34)	89,4 % (42)	83,3 % (5)	- (0)	89,5 % (34)
	<b>positiv</b>	3,8 % (12)	68,5 % (74)	10,6 % (5)	16,7 % (1)	100 % (1)	10,5 % (4)

Immun-Marker		ccRCC % (abs)	pRCC % (abs)	cpRCC % (abs)	RCC NOS % (abs)	MTSCC % (abs)	Onkozytom % (abs)
<b>CK19</b>	<b>negativ</b>	82,6 % (261)	30 % (33)	80,8 % (38)	66,7 % (4)	100 % (1)	78,9 % (30)
	<b>positiv</b>	17,4 % (55)	70 % (77)	19,1 % (9)	33,3 % (2)	- (0)	21 % (8)
<b>Ckhmw</b>	<b>negativ</b>	99,7 % (314)	76,4 % (84)	100 % (47)	83,3 % (5)	- (0)	100 % (38)
	<b>positiv</b>	0,3 % (1)	23,6 % (26)	- (0)	16,7 % (1)	100 % (1)	- (0)
<b>HMB45</b>	<b>negativ</b>	100 % (314)	99,1 % (109)	100 % (47)	100 % (6)	100 % (1)	100 % (38)
	<b>positiv</b>	- (0)	0,9 % (1)	- (0)	- (0)	- (0)	- (0)
<b>MelanA</b>	<b>negativ</b>	100 % (318)	98,2 % (108)	97,9 % (46)	100 % (6)	100 % (1)	100 % (38)
	<b>positiv</b>	- (0)	1,8 % (2)	2,1 % (1)	- (0)	- (0)	- (0)
<b>NapsinA</b>	<b>negativ</b>	88,2 % (276)	39,4 % (43)	95,6 % (44)	100 % (6)	100 % (1)	100 % (38)
	<b>positiv</b>	11,8 % (37)	60,5 % (66)	4,3 % (2)	- (0)	- (0)	- (0)

**TABELLE 13:** DIE IMMUNHISTOCHEMIE DES ROSTOCKER NIERENTUMORKOLLEKTIVS IN DER ÜBERSICHT  
(ccRCC = KLARZELLIGES NIERENZELLENKARZINOM; pRCC = PAPILLÄRES NIERENZELLENKARZINOM;  
cpRCC = CHROMOPHOBES NIERENZELLENKARZINOM; RCC NOS = UNKLASSIFIZIERBARES NIERENZELLENKARZINOM;  
MTSCC = MUZINÖSES, TUBULÄRES, SPINDELZELLIGES NIERENKARZINOM)

### 3.2.5 TISSUE-MICROARRAY 17: TFE3- UND ALK-EXPRESSION

Das TMA 17 umfasste 29 Patientenfälle im Alter von 16 bis 45 Jahren. Der Median lag bei 39 Jahren. 24 % der Patienten waren weiblich und 76 % männlich.

Alle Fälle konnten immunhistochemisch für TFE3, CathepsinK und ALK ausgewertet werden.

Für TFE3 waren 18 Fälle (62,1 %) negativ, 8 (27,6 %) schwach und 3 (10,3 %) stark positiv. Zwei der stark positiven Fälle konnten in der FISH-Untersuchung als Translokationskarzinome bestätigt werden.

Für CathepsinK exprimierten 25 (86,2 %) nicht, 1 Fall (3,4 %) schwach und 1 Fall (3,4 %) stark positiv. Der stark positive Fall zeigte auch für TFE3 eine stark positive Reaktion und gehört zu den oben genannten bestätigten Translokationskarzinomen. Somit enthielt dieses Tumorkollektiv keine t(6;11)-Translokationskarzinome der Niere.

Für ALK zeigten 25 Fälle (86,2 %) keine Farbreaktion, 2 Fälle waren positiv (6,9 %). Diese beiden Fälle konnten in der nachfolgenden FISH nicht als Translokationskarzinome bestätigt werden.

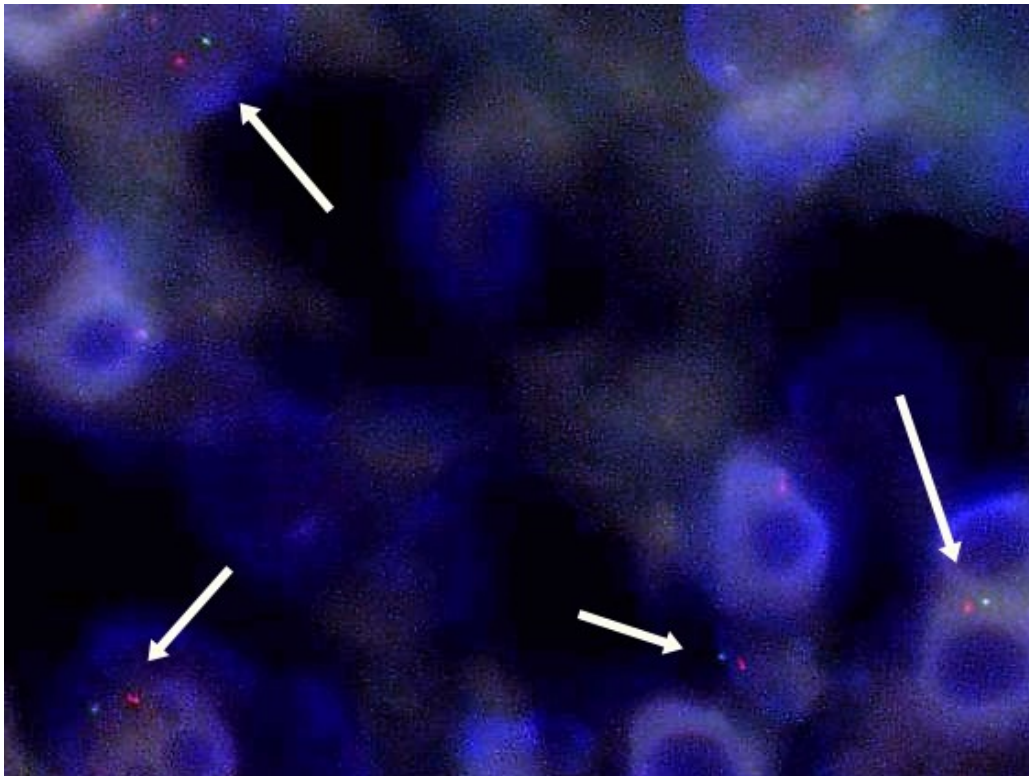
### 3.3 AUSWERTUNG DER FLUORESZENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG

#### 3.3.1 TFE3-TRANSLOKATION

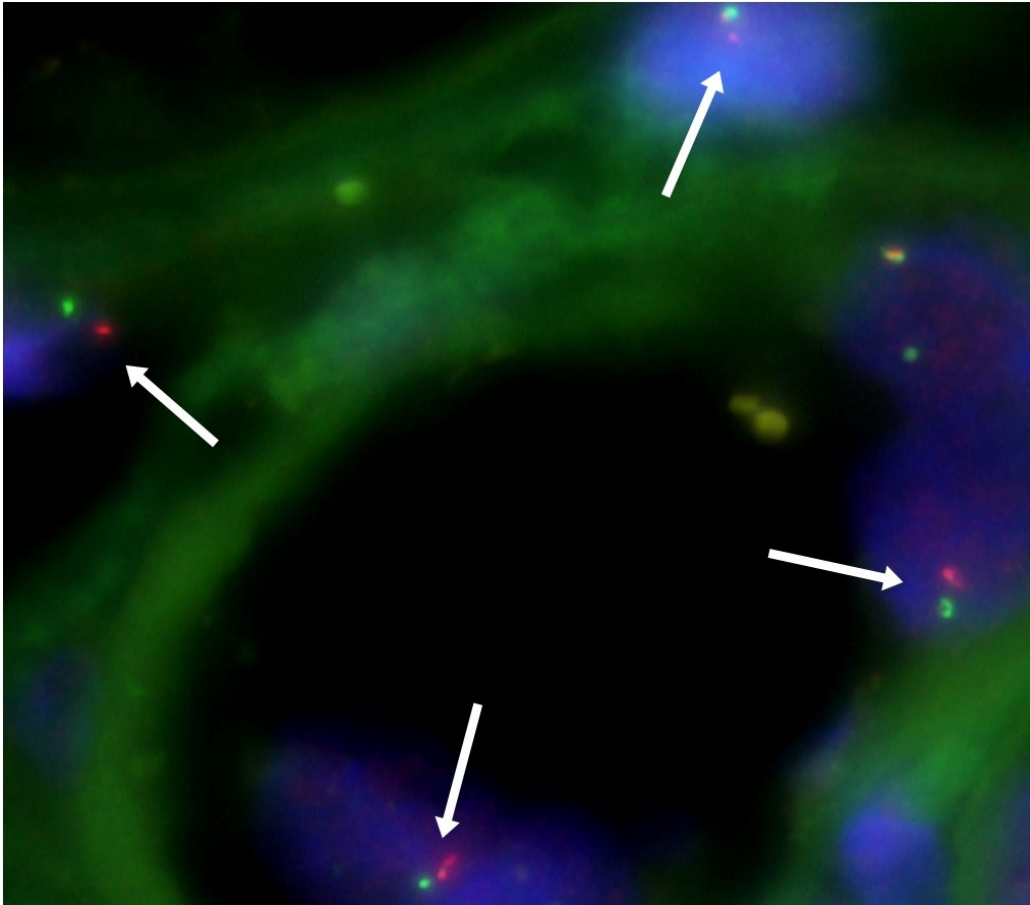
---

Die Tissue-Microarrays 15 und 16 umfassten die Patientenfälle, die für TFE3 stark positiv exprimierten. Insgesamt waren es 28 Patientenfälle. 18 (64,3 %) konnten in der FISH-Untersuchung als Translokationskarzinome bestätigt werden.

Die Abbildungen 18 und 19 zeigen 2 Patientenfälle mit bestätigter Translokation. Die weißen Pfeile deuten auf die positiven Signale.



**ABBILDUNG 18:** PATIENTENFALL 1: 16-JÄHRIGER PATIENT MIT BESTÄTIGTER TRANSLOKATION



**ABBILDUNG 19:** PATIENTENFALL 8: 71-JÄHRIGER PATIENT MIT BESTÄTIGTER TRANSLOKATION

TFE3 IMMUNHISTOCHEMIE: ANZAHL STARK POSITIVER FÄLLE	PRIMÄRE DIAGNOSE	TFE3-FISH: ANZAHL POSITIVER FÄLLE
24	klarzelliges Nierenzellkarzinom (ccRCC)	16
2	papilläres Nierenzellkarzinom (pRCC)	1
1	chromophobes Nierenzellkarzinom (cpRCC)	1
1	unklassifizierbares Nierenzellkarzinom (RCC NOS)	-
0	muzinöses, tubuläres, spindelzelliges Nierenkarzinom (MTSCC)	-
0	Onkozytom (RO)	-

**TABELLE 14:** ANZAHL UND FRÜHERE DIAGNOSE DER Xp11.2-TRANSLOKATIONS-KARZINOME UND ANZAHL DER DURCH TFE3-FISH BESTÄTIGTEN FÄLLE

### 3.3.2 ALK-TRANSLOKATION

---

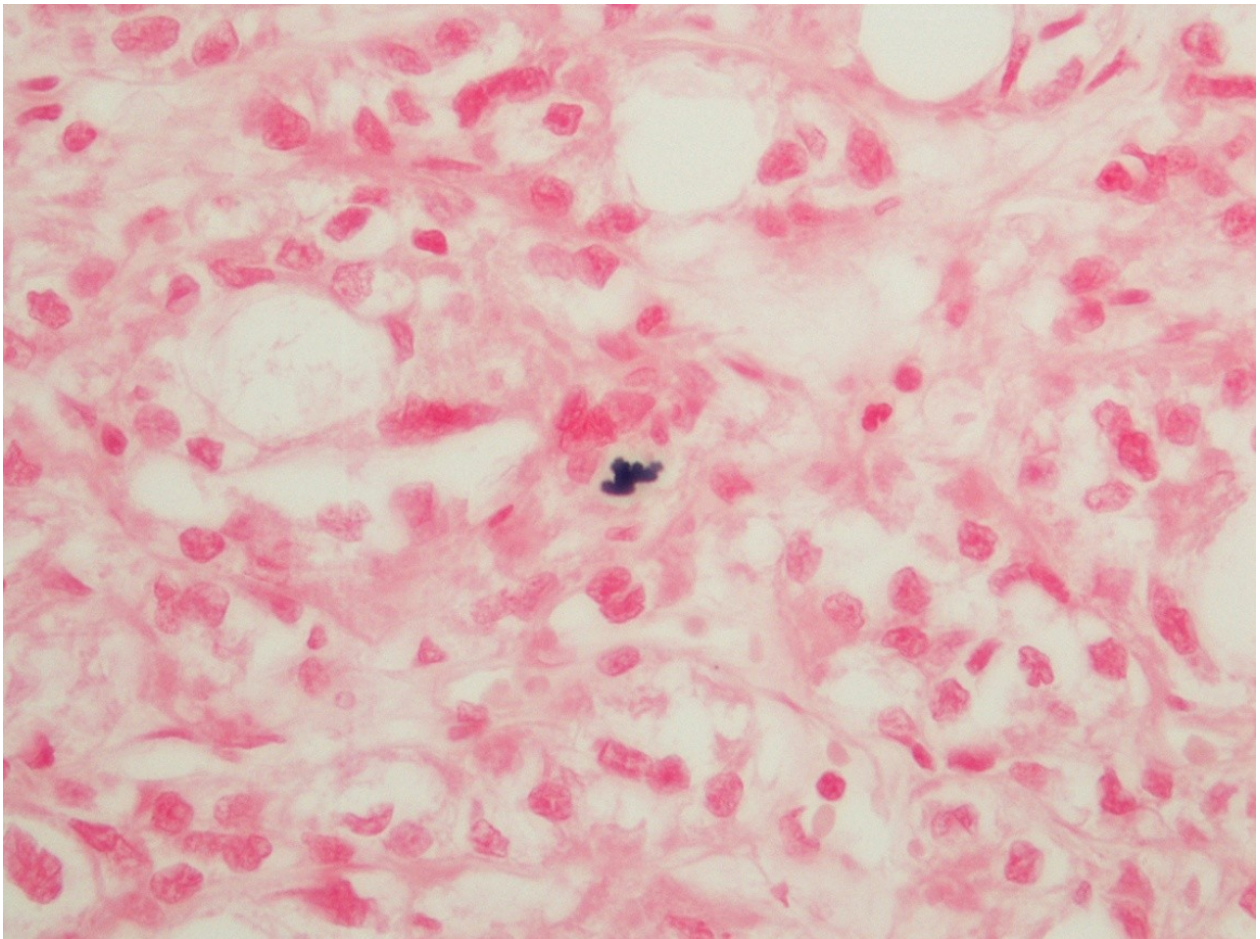
Das Tissue-Microarray 18 umfasste 6 Patientenfälle, die ALK-positiv waren. In der folgenden molekularzytogenetischen Untersuchung konnte keine Translokation nachgewiesen werden. 2 Fälle, die immunhistochemisch für ALK positiv waren, konnten wegen des Fehlens des Materials nicht mittels FISH untersucht werden

### 3.4 CHARAKTERISIERUNG DER TRANSLOKATIONSKARZINOME

#### 3.4.1 GROSSFLÄCHENSCHNITTE: HE-MORPHOLOGIE UND KOSSA-KALKNACHWEIS DER XP11.2-TRANSLOKATIONSKARZINOME

---

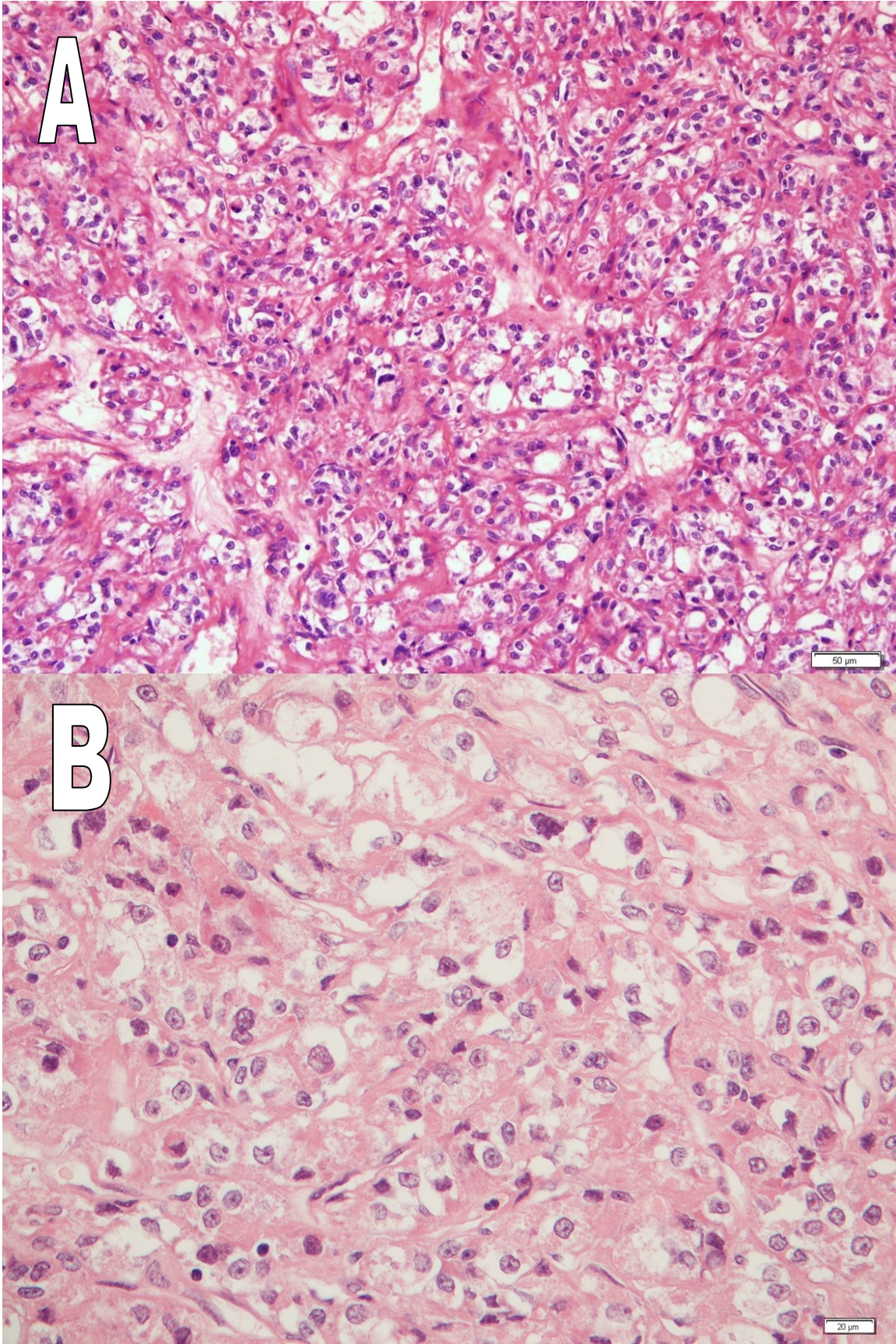
Von den TFE3-Translokationskarzinomen wurden Großflächenschnitte hergestellt und mit Kossa gefärbt. 10 der Tumore (55,6 %) zeigten eine positive Kossa-Färbung.



**ABBILDUNG 20:** PATIENTENFALL 1: KOSSA-KALKNACHWEIS BEIM TRANSLOKATIONSKARZINOM –  
SIEHE TIEFSCHWARZE FÄRBUNG

Im HE-Schnitt ähneln die Translokationskarzinome klarzelligem Karzinomen, weisen aber teilweise eine papilläre Architektur auf. Das Zytoplasma ist teilweise voluminös (siehe Abb. 21).

---



**ABBILDUNG 21:** HE-SCHNITT DES PATIENTENFALLS 1 DES TFE3-TRANSLOKATIONSKARZINOMS:  
A: 20 x VERGRÖßERUNG – B: 40 x VERGRÖßERUNG – AUFFALLEND IST DAS VOLUMINÖSE ZYTOPLASMA.

**3.4.2 KLINISCH-PATHOLOGISCHE CHARAKTERISTIKEN**

Mit Hilfe des klinischen Krebsregisters Rostock konnten Daten zum klinischen Verlauf der Patientenfälle erhoben werden. In 2 Fällen lagen keine Informationen vor.

In Tabelle 15 sind die Verlaufsdaten der TFE3-Translokationskarzinome und in Tabelle 16 die Daten der TFEB-Translokationskarzinome dargestellt.

FALL	GEN-DER	AL-TER	ÜBER-LEBEN (MO-NATE)	LETALI-TÄT	GRADING	TUMOR-GRÖßE IN MM	pT	PN	PM	FUHR-MAN-GRAD	OP-ART	R
1	w	16	31	tot	high grade	60	1b			3	Nephrek-tomie	0
2	m	74	10	lebend	high grade	100	3a			4	Nephrek-tomie	0
3	w	74	70	tot	high grade	135	3a			4	Nephrek-tomie	0
4	m	83			high grade	70	3a			4	Tumor-exzision	0
5	m	78	21	tot	high grade	50	3a			3	Nephrek-tomie	0
6	w	77	1	lebend	high grade	95	4	2		4	Nephrek-tomie	1
7	m	48	12	tot	high grade	60	1b			3	Tumor-exzision	0
8	m	71	69	lebend	high grade	25	1a			3	Nephrek-tomie	0
9	w	64	94	tot	high grade	50	3a	0		4	Nephrek-tomie	0
10	w	78	3	lebend	high grade	50	3b	1	1	4	Nephrek-tomie	1
11	w	65			low grade	33	1a			1	Tumor-exzision	0
12	m	65	40	lebend	high grade	50	3a	0	1	3	Nephrek-tomie	
13	m	69	60	lebend	high grade	40	3a			3	Nephrek-tomie	0
14	w	39	63	lebend	high grade	60	1a			3	Tumor-exzision	
15	m	60	63	tot	low grade	46	1b			2	Nephrek-tomie	0
16	m	63	65	tot	high grade	70	3a	0		3	Nephrek-tomie	0
17	m	72	82	tot	high grade	57	1b			3	Nephrek-tomie	0
18	m	73	27	lebend	high grade	45	1b	2		3	Nephrek-tomie	1

**TABELLE 15:** KLINISCHE DATEN DER BESTÄTIGTEN TFE3-TRANSLOKATIONS-KARZINOME.

FALL	GEN- DER	AL- TER	ÜBER- LEBEN (MO- NATE)	LETA- LITÄT	GRADING	TUMOR- GRÖßE IN MM	PT	PN	PM	FUHR- MAN- GRAD	OP-ART	R
1	w	66	23	tot	high grade	93	3b	1		3	Nephrek- tomie	0
2	m	54	3	tot	high grade	100	3a		1	4	Nephrek- tomie	

**TABELLE 16:** KLINISCHE DATEN DER TFEB-TRANSLOKATIONSKARZINOME

Von den insgesamt 20 bestätigten Fällen sind 12 männlich (60 %) und 8 Patienten weiblich (40 %). Der jüngste Patient war 16 Jahre und der älteste Patient 83 Jahre alt. Der Median liegt bei 66 Jahren.

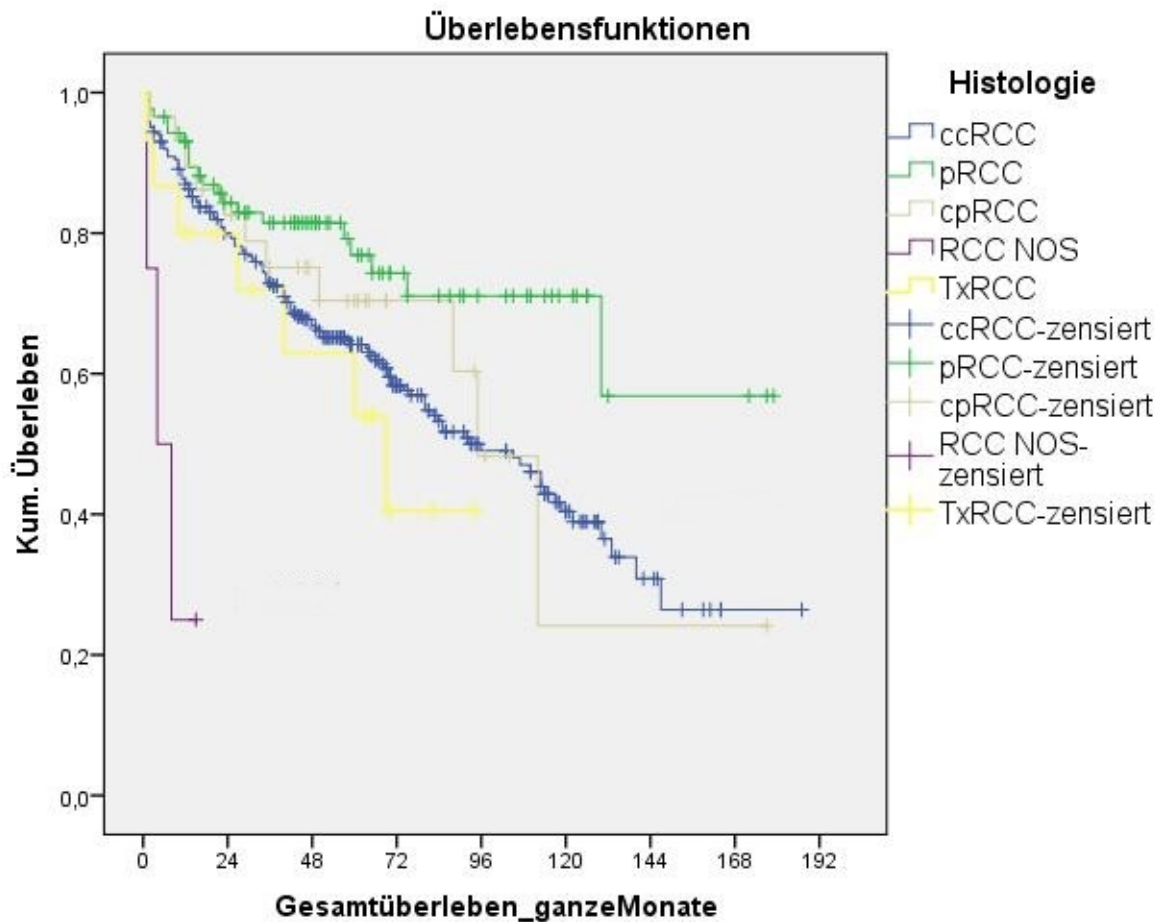
Die Tumorgößen reichten von 25 mm bis 135 mm. Der Mittelwert liegt bei 64,45 mm und der Median bei 57 mm. Es fällt auf, dass es sich bei 90 % (18 Fälle) um High-grade-Tumore handelt. 1 Tumor (5 %) wies einen Fuhrman-Grad 1 auf, 1 Tumor (5 %) zeigte einen Grad 2, 11 Tumore (55 %) einen Grad 3 und 7 Tumore (35 %) einen Fuhrman-Grad 4. 16 Patienten (80 %) wurden mit einer Nephrektomie und 4 Patienten (20 %) mit einer Tumorexzision therapiert. In 13 Fällen (65 %) waren die rechte Seite und in 7 Fällen (35 %) die linke Seite der Patienten von der OP betroffen. Bei 14 Patienten (70 %) lag der Resektionstatus R0 und bei 3 Patienten (15 %) R1 vor. Bei 3 Krankheitsfällen (15 %) fehlten die Angaben. 3 Tumore (15 %) zeigten das Tumorstadium T1a, 5 Karzinome (25 %) T1b, 9 Tumore (45 %) T3a, 2 Tumore (10 %) T3b und 1 Karzinom (5 %) das Stadium 4. An Lymphknotenbefall litten 4 Patienten (20 %). 15 % der Translokationskarzinome, bei denen die klinischen Follow-up-Daten vorlagen, wiesen Metastasen auf. Bei den klarzelligen RCC waren es 24,3 %.

Die Ergebnisse zeigen ein Übermaß an Tumoren im fortgeschrittenen Stadium und mit hohem Tumorgrad.

10 Patienten (55,5 %) sind verstorben, 8 Patienten leben (44,5 %). In 2 Fällen liegen keine Daten vor.

Die Überlebenswahrscheinlichkeit wurde für das gesamte Kollektiv in Abhängigkeit vom histologischen Subtyp nach der Kaplan-Meier-Methode berechnet und bezieht sich auf das Gesamtüberleben.

Abbildung 22 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven für die jeweilige Tumorentität. Die Gruppe der TxRCC umfasst die TFE3-Translokationskarzinome.



**Abbildung 22:** GESAMTÜBERLEBENSWAHRSCHEINLICHKEIT IN ABHÄNGIGKEIT VOM HISTOLOGISCHEN SUBTYP (N = 421)  
 (ccRCC = KLARZELLES NIERENZELLSKARZINOM; pRCC = PAPILLÄRES NIERENZELLSKARZINOM;  
 cpRCC = CHROMOPHOBES NIERENZELLSKARZINOM; RCC NOS = UNKLASSIFIZIERBARES NIERENZELLSKARZINOM;  
 TxRCC = XP11.2-TRANSLOKATIONSKARZINOM. – AUFFALLEND: DIE ÜBERLEBENSRATE DER TFE3-  
 TRANSLOKATIONSKARZINOME ERSCHEINT IM KURVENVERLAUF SCHLECHTER GEGENÜBER pRCC UND cpRCC)

Bei einem p-Wert > 0,05 im Log-Rang-Test bestehen zwischen dem histologischen Subtyp und der Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit keine statistische Signifikanz. Lediglich die RCC NOS wiesen im Vergleich einen p-Wert von < 0,001 und die ccRCC gegenüber dem pRCC einen p-Wert von < 0,01 auf, was für eine hohe Signifikanz spricht (siehe Tab. 17).

	DIAGNOSE	ccRCC	pRCC	cpRCC	RCC NOS
		p	p	p	p
<b>Log-Rang (Mantel-Cox)</b>	pRCC	0,005			
	cpRCC	0,653	0,185		
	RCC NOS	0,001	0,001	0,001	
	TxRCC	0,409	0,050	0,228	0,024

**Tabelle 17:** LOG-RANG-TEST DER ÜBERLEBENSWAHRSCHEINLICHKEITEN DES GESAMTÜBERLEBENS IN ABHÄNGIGKEIT VOM HISTOLOGISCHEN SUBTYP (PAARWEISE VERGLEICHE)  
(ccRCC = KLARZELLIGES NIERENZELLKARZINOM; pRCC = PAPILLÄRES NIERENZELLKARZINOM; cpRCC = CHROMOPHOBE NIERENZELLKARZINOM; RCC NOS = UNKLASSIFIZIERBARES NIERENZELLKARZINOM)

Die Überlebenskurve der ccRCC und der TxRCC verlaufen ähnlich. Das Verhältnis der Ereignisse ist annähernd gleich. Bei den ccRCC traten bei 286 Fällen 131 Ereignisse auf (155 Fälle wurden zensiert). Bei den TxRCC sind bei 7 von insgesamt 15 Fällen Ereignisse aufgetreten (8 Fälle wurden zensiert).

**3.4.3 ZUSAMMENFASSUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE DER TRANSLOKATIONSKARZINOME**

IMMUN-MARKER		TFE3-TRANSLOKATIONS-KARZINOM % (ABS)	TFEB-TRANSLOKATIONS-KARZINOM % (ABS)
TFE3	negativ	- (0)	100 % (2)
	positiv	100 % (18**)	- (0)
ALK	negativ	94,1 % (16)	100 % (2)
	positiv	5,9 % (1)	- (0)
CathepsinK	negativ	94,4 % (17)	- (0)
	positiv	5,6 % (1**)	100 % (2**)
PAX8	negativ	16,7 % (3)	50 % (1)
	positiv	83,3 % (15)	50 % (1)
EMA	negativ	5,6 % (1)	50 % (1)
	positiv	94,5 % (17**)	50 % (1**)
Vimentin	negativ	5,6 % (1)	- (0)
	positiv	94,5 % (2*/15**)	100 % (1*/1**)
CD10	negativ	44,4 % (8)	50 % (1)
	positiv	55,6 % (10)	50 % (1)
CD117	negativ	94,5 % (17)	50 % (1)
	positiv	5,6 % (1)	50 % (1)
BerEP4	negativ	77,8 % (14)	100 % (2)
	positiv	22,2 % (4)	- (0)
AMACR	negativ	11,1 % (2)	- (0)
	positiv	88,9 % (3*/9**/4***)	100 % (1*/1**)
CK7	negativ	94,4 % (17)	100 % (2)
	positiv	5,6 % (1)	- (0)
CK19	negativ	44,4 % (8)	100 % (2)
	positiv	55,6 % (9*/1**)	- (0)
Ckhw	negativ	94,4 % (17)	100 % (2)
	positiv	5,6 % (1)	- (0)
HMB45	negativ	100 % (18)	100 % (2)
	positiv	- (0)	- (0)

IMMUN-MARKER		TFE3-TRANSLOKATIONS-KARZINOM % (ABS)	TFEB-TRANSLOKATIONS-KARZINOM % (ABS)
<b>MelanA</b>	<b>negativ</b>	100 % (0)	50 % (1)
	<b>positiv</b>	- (0)	50 % (1)
<b>NapsinA</b>	<b>negativ</b>	76,5 % (13)	100 % (2)
	<b>positiv</b>	23,5 % (4)	- (0)

**TABELLE 18:** DIE IMMUNHISTOCHEMIE DER NACHGEWIESENEN TRANSLOKATIONSKARZINOME IN DER ÜBERSICHT  
 (\*SCHWACH POSITIV / \*\*MÄßIG POSITIV / \*\*\*STARK POSITIV)

In Tabelle 18 sind die Ergebnisse der Immunhistochemie in einer Übersicht dargestellt.

#### 4 DISKUSSION

---

In dieser Arbeit wurden 523 Fälle von Nierenkarzinomen in Bezug auf Immunhistochemie und Morphologie evaluiert und potentielle Translokationskarzinome molekularzytogenetisch nachgewiesen. Zusätzlich wurden korrespondierende Großflächenschnitte dieser Translokationskarzinome als Vergleichsmaterial herangezogen. Die Tumor-Arrays 1 – 14 enthielten 2615 Gewebestanden, die alle histologischen Subtypen des Nierenkarzinoms umfassten. Auf den TMA 15 – 18 waren 65 Tumore und 260 Stenzen. Durch diese Technik war es möglich, vergleichende Analysen sowohl morphologisch, immunhistologisch und auch mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung auf je einem Objektträger vorzunehmen. Ziel der vorliegenden Studie war die Identifizierung der Translokationskarzinome in dem Rostocker Nierentumorkollektiv.

Bei der vorliegenden TMA-basierten Studie liegt die Frage auf der Hand, ob mit dem gewählten Verfahren die Translokationskarzinome detektiert werden konnten. TMA-assoziierte Probleme sind das Stanzen außerhalb des Tumors und von bindegewebigen oder nekrotischen Anteilen. Pro Patientenfall wurde daher bei den TMA 1 – 14 viermal Tumorgewebe gestanzt und zusätzlich einmal Normalgewebe, bei den TMA 15 – 18 dreimal Tumorgewebe und einmal Normalgewebe. Dies war aus Platzgründen nötig, da bei den TMA 15 – 18 der Durchmesser der Stenzen 1 mm betrug im Gegensatz zu 0,6 mm bei den TMA 1 – 14. Durch die hohe Anzahl der Tumorgewebestanden wurde einerseits die Repräsentativität der TMA erhöht, da die Wahrscheinlichkeit eines Ausfalls von 4 Stenzen bzw. 3 Stenzen pro Patientenfall gering ist. Andererseits konnte die Expression am Normalgewebe direkt mit dem pathologischen Gewebe verglichen werden. Insgesamt konnten 10 Fälle (1,9 %) der TMA 1 – 14 und 1 Fall der TMA 15 – 18 (1,5 %) für HE nicht ausgewertet werden. Die Kontrolle der Immunhistochemie konnte über den Vergleich unter den einzelnen histologischen Subtypen erfolgen.

Auf epitheliale Marker reagieren nur etwa 50 % aller Nierenzellkarzinome mit einer Xp11.2-Translokation (Algaba et al. 2011). Die Angaben in der Literatur zur Expression von Immunmarkern waren sehr unterschiedlich (siehe Tab. 20 im Anhang). Vimentin und CD10 sind sowohl bei diesem als auch beim konventionellen Nierenzellkarzinom positiv. Das charakteristische immunhistochemische Merkmal der Xp11.2-Translokationskarzinome ist eine Immunreaktion mit dem TFE3-Protein (Algaba et al. 2011).

Alpha-TFEB-Translokationskarzinome sind, wie auch TFE3-Translokationskarzinome, laut Literaturangaben für epitheliale Marker (Cytokeratin, EMA) überwiegend negativ. Beide

Translokationskarzinome überexprimieren für MiTF/TFE-Transkriptionsfaktoren (Argani und Ladanyi 2005). TFEB-Translokationskarzinome lassen sich durch CathepsinK von den TFE3-Translokationskarzinomen abgrenzen (Peckova et al. 2014).

Von den ALK-Translokationskarzinomen der Niere sind nur wenige Fälle publiziert. Gemäß den Literaturangaben können diese unter anderem für ALK, TFE3, EMA, Vimentin AMACR, PAX8 und CK7 positiv sein. Für CD10 und HMB45 färben die Tumore nicht (Sugawara et al. 2012) (vgl. Tab. 21 im Anhang).

Tabelle 19 zeigt die in der Literatur beschriebenen Expressionen für das Xp11.2-Translokationskarzinom.

Tumore der MiTF-Familie sind gemäß Literaturangaben für die Melanoma Marker HMB45 und MelanA meist positiv (Martignoni et al. 2009), denn unter physiologischen Umständen ist das MiTF ein Schlüsselregulator in der Melanozytenentwicklung. Eine fehlerhafte Funktion dieser Gene ist mit verschiedenen Tumorentitäten assoziiert, wie zum Beispiel das maligne Melanom, das klarzellige Sarkom und eine Untergruppe des perivaskulären, epitheloidzelligen Neoplasma (PEComas) (Argani et al. 2010a). In dieser Studie hingegen waren alle TxRCC der TFE/MiTF-Familie sowohl für MelanA als auch für HMB45 überwiegend negativ. Nur ein TFEB-Translokationskarzinom zeigte eine positive Färbung für MelanA.

Die in der Literatur charakteristische Sensitivität der Translokationskarzinome der TFE/MiTF-Familie für PAX8 kann bestätigt werden. In dieser Arbeit lag sie für die Xp11.2-TxRCC bei 83,3 %. Die Spezifität gegenüber dem ccRCC lag bei 53,3 % (entgegen den Angaben in Tabelle 13 sind bei allen Werten zur Sensitivität und Spezifität die bestätigten Xp11.2-TxRCC bei der Berechnung der Prozentwerte herausgenommen).

In einer Studie von 2010 mit unter anderem 21 Xp11.2-Translokationskarzinomen waren 76 % für PAX8 positiv (Argani et al. 2010b). In einer Studie von 2014 sogar 89 % der untersuchten Xp11.2-Translokationskarzinome (siehe Tab. 19) (Hayes et al. 2014).

Die Sensitivität des klarzelligen Karzinoms für CD 10 beträgt in dieser Studie 70,3 %. Die Spezifität gegenüber dem papillären Karzinom berechnet sich auf 89 %. Zwar soll gemäß den Literaturangaben die Expression bei den Xp11.2-Translokationskarzinomen positiv sein, allerdings war das Ergebnis dieser Färbung im Rostocker Nierentumorkollektiv sehr variabel (Sensitivität: 55,6 %).

**LITERATURWERTE FÜR DIE EXPRESSION VON TFE3, CD117, CD10, VIMENTIN, AMACR, CATHEPSINK, HMB45, CK7, PAX8, EMA, MELANA, NAPSINA FÜR DAS XP11.2-TRANSLOKATIONSKARZINOM**

QUELLE	TFE3		CD117		CD 10		VIMENTIN		AMACR		CATHEPSINK		HMB45		CK7		PAX8		EMA		MELANA		NAPSINA	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Hayes et al. 2014	2/9	22	-	-	8/9	89	7/9	78	7/9	78	2/9	22	0/9	0	2/9	22	8/9	89	-	-	-	-	-	-
Camparo et al. 2008	27/29	93	-	-	26/26	100	17/27	63	-	-	-	-	11/26	42	4/28	14	-	-	8/29	28	23/26	88	-	-
Argani et al. 2010b	-	-	0/21	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16/21	76	-	-	-	-	9/21	43
Rao et al. 2011	19/19	100	0/19	0	19/19	100	8/19	42	19/19	100	-	-	10/19	53	5/19	26	-	-	6/19	32	-	-	-	-
Argani et al. 2003	8/8	100	-	-	-	-	3/6	50	-	-	-	-	-	-	2/3	67	-	-	3/8	33	-	-	-	-

**TABELLE 19:** LITERATURWERTE FÜR DIE EXPRESSION VERSCHIEDENER IMMUNMARKER FÜR DAS XP11.2-TRANSLOKATIONSKARZINOM

In der Literatur wird die Färbung für CD117 für TxRCC als negativ angegeben (Argani et al. 2010b). Das Ergebnis kann diese Arbeit bestätigen, da nur ein Fall der TxRCC schwach positiv war (5,6 %).

Entgegen der Literatur sind die Xp11.2-Translokationskarzinome im Rostocker Tumorkollektiv für den epithelialen Marker EMA zum großen Teil positiv (94,5 %). Für die Cytokeratine aber, der Literatur entsprechend, überwiegend negativ. CK7 weist eine Sensitivität für Translokationskarzinome von 94,4 % und CK19 von 44,4 % auf. Die Spezifität gegenüber den pRCC liegt für CK7 bei 68,2 % und für CK19 69,7 %.

NapsinA war für 23,5 % der Xp11.2-TxRCC, für 11 % der ccRCC sowie für 61,1 % der pRCC positiv. In der Literatur sind folgende Angaben zu finden: TxRCC 43 %, ccRCC 43 %, pRCC 83 % (Argani et al. 2010b).

Vimentin ist sowohl beim ccRCC als auch bei der TFE/MiTF-Familie positiv und zur Abgrenzung gegenüber dem cpRCC geeignet. Die Sensitivität für das ccRCC beträgt 98,3 % und für das Xp11.2-TxRCC 94,5 %, die Spezifität für das cpRCC 62,2 %.

TFE3 ist ein Immunmarker für das TFE3-Translokationskarzinom und zu dessen Diagnose geeignet. Im Rostocker Kollektiv betrug die Sensitivität 100 % und die Spezifität gegenüber dem klarzelligen Karzinom 71 % und gegenüber dem papillären Karzinom 86,7 %. Voraussetzung für eine wegweisende Diagnose ist das Vorliegen einer starken Kernfärbung des TFE3, nicht einer zytoplasmatischen Färbung (Argani et al. 2003).

55,6 % der Translokationskarzinome wiesen morphologisch die für den Xp11.2-Translokationstumor charakteristischen Psammomkörperchen auf, die mit der Kossa-Färbung nachgewiesen wurden. Dies liefert einen weiteren Hinweis zur Diagnose eines Translokationskarzinoms, dennoch ist das histologische Erscheinungsbild dieser Tumore anscheinend vielfältig. Dies spricht für die Heterogenität des Tumors und deutet auf eine mögliche Überlappung des Immunphänotyps mit anderen Tumoren hin.

Als Schlussfolgerung kann bestätigt werden, dass nach der Beurteilung der Morphologie ein negatives Expressionsverhalten für Cytokeratine ein Indiz sein kann, das eine Färbung mit TFE3 rechtfertigt, um ein potentielles Xp11.2-Translokationskarzinom zu identifizieren. Auch PAX8 ist zur Abgrenzung von ccRCC geeignet, wie auch Vimentin zur Abgrenzung von cpRCC und CD10 zur Abgrenzung von pRCC.

TFE3-positive Tumore sind trotz fehlenden Nachweises in der FISH-Untersuchung auffällige und aggressive Tumore (Klatte et al. 2012). Auf den TMA 15 und 16 (TFE3-positive Fälle) wiesen von 19 Fällen, bei denen klinische Follow-up-Daten bezüglich eines Ereignisses vor-

lagen, 5 Fälle (26,3 %) ein solches Ereignis (Rekurrenz oder Metastase) auf. Somit ist eine positive TFE3-Färbung, auch ohne nachfolgende molekularzytogenetische Untersuchung, als prognostischer Marker geeignet.

Für CathepsinK waren von den Xp11.2-Translokationskarzinomen 2 (11,1 %) positiv und 16 (88,9 %) negativ. 2 Fälle (11,1 %) des gesamten Patientenkollektivs waren stark positiv für CathepsinK und gleichzeitig negativ für TFE3 und lassen daher ein TFEB-Translokationskarzinom vermuten. Eine Studie von 2009 hat gezeigt, dass alle Tumore, bei denen die Translokation t(6;11) vorlag, für CathepsinK stark positiv waren (Martignoni et al. 2009). Von den TxRCC, die für TFE3 exprimierten, waren es in dieser Studie von 2009 t(X;1)(p11;q21) PRCC-Karzinome, die auch für CathepsinK exprimierten. t(X;3)(p11;q23), t(X;17)(p11;q25) und t(X;1)(p11;q34) scheinen nur für TFE3 und nicht für CathepsinK eine Färbereaktion zu demonstrieren. Gegenüber den anderen histologischen Subtypen war CathepsinK negativ (Martignoni et al. 2009). Dies lässt vermuten, dass es sich im Rostocker Patientenkollektiv bei dem Tumor des Patientenfalls 1, bei dem in der FISH-Untersuchung ein Xp11.2-TxRCC nachgewiesen wurde, um die Translokation t(X;1)(p11;q21) handelt, da dieser Tumor sowohl für TFE3 als auch für CathepsinK stark färbt. TFEB scheint ein Transkriptionsfaktor zu sein, der die Expression von CathepsinK stark beeinflusst. Der andere für CathepsinK und TFE3 positive Tumor wurde nicht durch die FISH-Untersuchung bestätigt. Die Translokationen, die das Chromosom Xp11.2 betreffen, bewirken anscheinend unterschiedliche Expressionsniveaus oder Strukturen des Produktes, das aus der Fusion des TFE3 mit seinem jeweiligen Bindungspartner hervorgeht, was erklären könnte, dass nicht alle TFE3-positiven Karzinome auch für CathepsinK exprimieren (Martignoni et al. 2009).

CathepsinK scheint folglich als Immunmarker zur Abgrenzung der einzelnen Translokationsarten geeignet zu sein.

Ein Übergewicht an weiblichen erkrankten Patienten des Xp11.2-Translokationskarzinoms lag im Rostocker Nierentumorkollektiv nicht vor. Der Großteil der an Xp11.2-Translokationskarzinomen leidenden Patienten war männlich (61,1 %).

Bemerkenswert ist aber, dass die beiden jugendlichen Patienten (< 45 Jahre), die anscheinend an einem Xp11.2-Translokationskarzinom leiden, weiblich sind.

Die TFE3- und ALK-positiven Fälle wurden auf neue TMA (Nr. 15, 16 und 18) gestanzt und mittels FISH-Untersuchung überprüft. Eine Bestimmung der Genauigkeit der FISH am TMA erfolgte durch erneute Evaluierung am Großflächenschnitt.

Kritisch ist an der FISH-Untersuchung anzumerken, dass sie zwar in 95 % der Fälle funktioniert, allerdings die Hybridisierbarkeit der zytologischen Präparate mit zunehmender Archivierungszeit abnimmt (Bubendorf et al. 2001).

Von anfangs 22 positiv gewerteten Patientenfällen bei den TFE3-Translokationskarzinomen (Cut-off: 15 % positive Zellen) konnten im Rahmen der FISH-Untersuchung an den TMA 15 und 16 im Großflächenschnitt 18 Fälle bestätigt werden, also 81,8 %.

Auf dem TMA 18 wurden 4 Fälle, die für den Immunmarker ALK positiv waren, in der FISH-Untersuchung positiv gewertet. Am Großflächenschnitt bei der anschließenden Evaluierung konnte allerdings dies Ergebnis nicht bestätigt und kein Fall positiv gewertet werden.

Die Signale in der FISH treten lokalisiert auf. Dies spricht für eine Heterogenität der TxRCC und zeigt eine Schwäche der TMA-Technik im Rahmen der FISH-Untersuchung. Die Betrachtung einzelner Stenzen scheint zur Diagnostik nicht ausreichend.

Anzumerken ist, dass sich TFEB-Translokationskarzinome nicht über eine TFE3-Break-apart-Sonde nachweisen lassen. Die CathepsinK-Expression lieferte den indirekten Hinweis auf diese Tumorentität (Peckova et al. 2014). Hier müsste der endgültige Beleg entweder über eine entsprechende Sonde mit der FISH oder über PCR erfolgen. So wie TFE3 kann auch ALK viele unterschiedliche Bindungspartner aufweisen. Bisher sind EML4, VCL oder TPM3 beschrieben worden (Sugawara et al. 2012). Sowohl die verwendete Break-apart-Sonde als auch der Marker dienen zur Diagnostik des EML4-ALK-Translokationskarzinoms der Lunge. Es ist möglich, dass die beiden anderen Translokationsarten TPM3 und VCL nicht erfasst werden. Hier wären weitere Untersuchungen nötig.

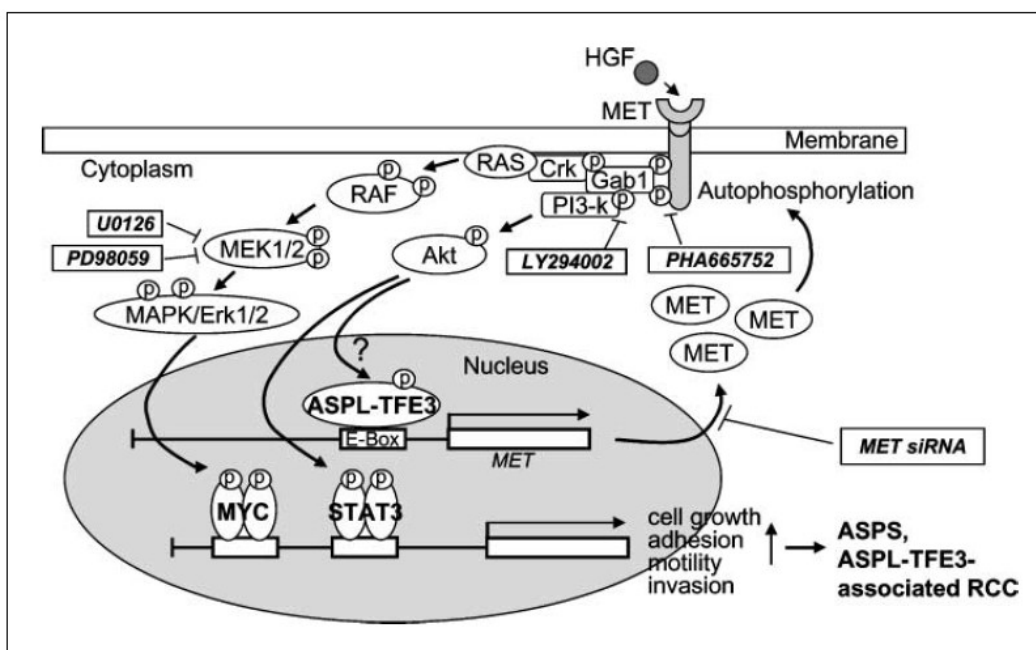
Therapeutische Ansätze könnte die Identifizierung der ALK-Translokationskarzinome bieten. ALK ist, wie oben genannt, bereits als prädiktiver Immunmarker bei Lungenkarzinomen bekannt. Die Mutationen werden anschließend mittels molekulargenetischer (PCR) oder molekularzytogenetischer (FISH) Untersuchungen nachgewiesen und sind die Voraussetzung für die Therapie mit ALK-Inhibitoren (Petersen 2013). Hier wäre ein Ansatz für prospektive Studien möglich.

Eine mögliche Therapieoption bei den TFE3-Fusionstumoren könnte der Einsatz von MET-Inhibitoren sein (Tsuda et al. 2007).

Das t(X;17)(p11.2;q25) bzw. TFE3-ASPL-TxRCC und das *alveolar soft part sarcoma* (ASPS) beinhalten das identische TFE3-ASPL-Transkript. Aber die t(X;17)-Translokation beim Xp11.2-TxRCC liegt im Gegensatz zum ASPS in einer balancierten Form vor. Die

Translokation im ASPS ist unbalanciert (Argani et al. 2001a). Gegenüber Chemotherapeutika ist das ASPS resistenter als das ccRCC (Malouf et al. 2010).

Im ASPS ist das MET-Rezeptor-Tyrosinkinasegen signifikant erhöht. ASPL-TFE3 bindet an die MET-Promoterregion und aktiviert sie. PSF-TFE3 und NonO-TFE3 binden zwar auch an diese Region, aber die ASPL-TFE3-Bindung führt zu einer starken MET-Autophosphorylierung, einer Aktivierung der nachgeschalteten Signalwege und einer Präsenz des *hepatocyte growth factors* (HGF). In Zelllinien, die TFE3-Bindungspartner enthielten und bei denen MET durch RNA-Beeinflussung oder durch Inhibitoren unterdrückt wurde, war ein geringeres Zellwachstum und ein Verlust des HGF-abhängigen Phänotyps die Folge (Tsuda et al. 2007).



**ABBILDUNG 23:** ASPL-TFE3-VERMITTELTE MET-AKTIVIERUNG UND NACHFOLGENDE EFFEKTE IN ASPL-TFE3 BEIHALTENDEN KREBSARTEN (TSUDA ET AL. 2007). ES WIRD VERMUTET, DASS SICH DIESES MODELL AUF ALLE TUMORE MIT TFE3-FUSIONSPROTEINEN ÜBERTRAGEN LÄSST

TFE3 liefert immunhistochemisch einen starken Hinweis. TFE3 ist ein Mitglied der Helix-Loop-Helix-Transkriptionsfaktoren und kann mit verschiedenen Partnern fusionieren. Die Bindungspartner PSF und NonO sind Faktoren für das Splicing. PRCC und ASPL haben eine bisher unbekannt Funktion. CLTC ist für die Bildung von Clathrin, dem Hauptprotein, das die Hülle zytoplasmatischer Organellen umgibt, verantwortlich. Alle diese TFE3-Fusionsproteine behalten das C-terminale Ende, einschließlich der Leucin-Zipper-Dimerisationsdomäne und der DNA-Bindungsdomäne (Argani und Ladanyi 2005). Der Antikörper TFE3 bindet an den C-terminalen Anteil des TFE3-Fusionsproteins. Natives TFE3 wird zwar exprimiert und ist ubiquitär vorhanden, aber daher nicht im normalen Gewebe nachweisbar. Deshalb ist anzunehmen, dass alle TFE3-Genfusionen zu einer Überexpression des TFE3 in

der IHC führen (Argani et al. 2003). Folglich ist die TFE3-Expression bei den RCC nicht auf das Xp11.2-Translokationskarzinom beschränkt. Eine Xp11.2-Translokation ist nicht immer nachweisbar.

TFE3 wird über eine Inaktivierung des Tumorsuppressorgens Folliculin (FLCN) exprimiert. FLCN-Keimbahnmutationen sind die genetische Ursache für das Birt-Hogg-Dube-Syndrom, das durch eine Entwicklung von Tumoren der Haarfollikel, Lungenzysten und Nierenzellkarzinomen gekennzeichnet ist (Hong et al. 2010). Verschiedene Mechanismen können wahrscheinlich einen Anstieg des TFE3-Proteins im RCC bewirken (TFE3-Translokation, Amplifikation und FLCN-Aktivierung).

Zudem haben onkogenetische TFE3-Fusionsproteine *in vitro* gezeigt, dass sie die MET-Transkription aktivieren (siehe oben) (Macher-Goeppinger et al. 2012).

2009 ist außerdem ein Tumor einer jungen Erwachsenen beschrieben worden, der eine starke TFE3-Färbung aufwies und bei dem eine bisher unbekannte t(X;19)(p11.2;q13.1)-Translokation vorlag (Armah et al. 2009). Dies zeigt, wie die TFE3-IHC einen Hinweis auf eine Vielfalt von unterschiedlichen Translokationen liefern kann.

Bezogen auf das gesamte Rostocker Patientenkollektiv machten die bestätigten Xp11.2-Translokationskarzinome 3,4 % aus. Im Vergleich zu Angaben in der Literatur von 1,5 % der RCC bei Erwachsenen (Komai et al. 2009) scheint das Ergebnis zwar hoch, doch es bleibt anzunehmen, dass diese Tumorentität unterdiagnostiziert ist. Die Jugendlichen (< 45 Jahre) machen im Rostocker Kollektiv 6,1 % aus (32 Patienten). Hier konnte bei 2 Patienten (6,2 % der jungen Erwachsenen) die Diagnose Translokationskarzinom bestätigt werden, wobei dieser Anteil im Vergleich mit den Werten in der Literatur niedrig erscheint. Der Anteil von sonstigen Tumoren (ausgenommen ccRCC, pRCC und cpRCC) wird bei einer Studie des *University Medical Center* (Cao et al. 2005), die 112 Patientenfälle im Alter von 18 bis 45 Jahren für den Zeitraum 1986 – 2004 betrachtete, mit 26 % angegeben gegenüber 4 % bei älteren Patienten in diesem Zeitraum. Die histologischen Subtypen umfassten bei den Patienten im Alter von 16 bis 45 Jahren im Rostocker Kollektiv 16 ccRCC (50 %), 12 pRCC (37,5 %), 1 cpRCC (3,1 %), 1 unklares RCC NOS (3,1 %) und 2 Translokationskarzinome (6,2 %). Ferner wiesen die beiden jungen Patienten mit einem TxRCC ein Tumorstadium von 1a und 1b auf, was bestätigt, dass junge Erwachsene meist an niedrigeren Stadien leiden (Komai et al. 2009). Dies scheint auch die Einschätzung der besseren Prognose in dieser Patientengruppe zu erklären (Geller et al. 2008). So wiesen bei den jungen Erwachsenen 27 Patienten (84,4 %) ein Tumorstadium pT1, 2 Patienten (6,2 %) ein Stadium pT2 und 3 Patienten (9,4 %) ein Stadium pT3 auf.

Die Überlebenskurven zeigten, dass die Prognose bei den Xp11.2-Translokationskarzinomen schlechter ist, als bei den anderen histologischen Subtypen. 55,5 % dieser Tumore hatten ein Stadium > T3 sowie 88,9 % einen Fuhrman-Grad > 3. 11,1 % der Tumore haben metastasiert. Dies bestätigt die in der Literatur beschriebene Aggressivität des Tumors (Zhong et al. 2012) und verdeutlicht zum Ersten die Notwendigkeit eines engmaschigen Follow-ups des Patienten nach der Stellung der Diagnose und zum Zweiten die Wichtigkeit einer additiven Therapie.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

---

Hintergrund dieser Arbeit war, dass die *World Health Organization* (WHO) 2004 die translokationsassoziierten Nierenzellkarzinome Xp11.2 und t(6;11)(p21;12), die vorwiegend junge Patienten erleiden, als eine eigene Entität klassifiziert hat. Inzwischen sind diese Tumore auch vermehrt bei älteren Patienten gefunden worden. Die durch Mutation betroffenen Gene kodieren bei Xp11.2-Translokationskarzinomen für TFE3 und bei den t(6;11)(p21;12)-Tumoren für TFEB. Da sich ihre histologische Morphologie mit anderen Entitäten der Nierenzellkarzinome überschneidet, scheint diese Tumorentität unterdiagnostiziert zu sein. Über den klinischen Verlauf dieser Tumore bei Erwachsenen ist wenig bekannt. Zudem wurde in der Literatur eine Translokation beschrieben, die die Gene betrifft, die für die *anaplastic lymphoma kinase* (ALK) kodieren. 2013 hat die *International Society of Urologic Pathology* (ISUP) das ALK-Translokationskarzinom der Niere als eigene Entität diskutiert.

Diese Arbeit beschäftigt sich daher mit der retrospektiven Identifizierung der translokationsassoziierten Nierenzellkarzinome mit TFE3-, TFEB- oder ALK-Bindungspartnern im Nierentumorkollektiv des Instituts der Pathologie am Universitätsklinikum Rostock (Patientenfälle der Jahre 1998 – 2013) und beschreibt die klinisch-pathologischen Charakteristika.

Als Methode fand die Tissue-Microarray-Technik Anwendung. 523 Nierentumore wurden mittels der Tissue-Microarrays evaluiert. Das Patientenkollektiv umfasste 322 klarzellige, 110 papilläre, 47 chromophobe Nierenkarzinome, 38 Onkozytome und 1 muzinös-tubulärspindelzelliges Nierenzellkarzinom. 5 Nierentumore waren unklassifizierbar. Es wurden immunhistochemische Untersuchungen mit TFE3, CathepsinK und ALK durchgeführt, um potentielle translokationsassoziierte Nierenzellkarzinome zu identifizieren. Nur eine deutlich moderate bis starke nukleäre oder zytoplasmatische Färbung bei mehr als 10 % der Tumorzellen wurde als positiv gewertet. Eine positive Immunhistochemie für CathepsinK wurde, der Literatur entsprechend, als t(6;11)- oder TFEB-Translokationskarzinom gewertet. Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) wurde für 28 Fälle durchgeführt, die für TFE3 positiv exprimierten, und für 6 Fälle, die für ALK ein positives Färbemuster in der Immunhistochemie zeigten. Für eine Bestätigung der Xp11.2- oder der ALK-Translokation wurden mindestens 2 Signaldurchmesser Abstand zwischen den einzelnen Signalen der Allele angesehen. Der Cut-off-Level betrug 15 %. Anschließend wurden die klinisch-pathologischen Charakteristika der identifizierten Tumore betrachtet.

Als Ergebnisse konnte eine starke nukleäre Färbung für TFE3 bei 24 klarzelligen, bei 2 papillären, bei 1 chromophoben und bei 1 unklassifizierten Nierenzellkarzinom beobachtet werden. Alle 18 (3,4%) TFE3-Translokationskarzinome, die in der FISH-Untersuchung bestä-

tigt wurden, zeigten eine starke TFE3-Immunreaktivität. 1 klarzelliges und 1 chromophobes Nierenzellkarzinom waren für CathepsinK stark positiv, aber negativ für TFE3. Beide Fälle wurden als t(6;11)-Translokationskarzinom (0,4%) klassifiziert. 6 Fälle mit einer heterogenen ALK-Expression waren in der FISH-Untersuchung negativ.

In der klinisch-pathologische Analyse fiel auf, dass 18 von 20 Tumoren bezüglich der Morphologie *high grade* waren und ein hohes pT-Stadium (12 von 20) aufwiesen. 12 Tumore wurden bei männlichen und 8 Tumore bei weiblichen Patienten diagnostiziert. Das Alter der Patienten reichte von 16 bis 83 Jahren. Der Median lag bei 64 Jahren.

Schlussfolgernd kann festgehalten werden, dass bei 20 (3,8 %) Nierenkarzinomen eine Änderung der Klassifizierung notwendig war. Der Großteil dieser Fälle waren High-grade-Tumore und wiesen ein hohes Tumorstadium auf. Kein einziges ALK-Translokationskarzinom konnte nach Evaluierung und unter Anwendung der strikten Kriterien in der FISH-Analyse bestätigt werden.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Algaba, Ferran; Akaza, Hideyuki; López-Beltrán, Antonio; Martignoni, Guido; Moch, Holger; Montironi, Rodolfo; Reuter, Victor (2011): Current pathology keys of renal cell carcinoma. In: *European urology* 60 (4), S. 634–643. DOI: 10.1016/j.eururo.2011.06.047.

Altinok G (2004): Papillary renal cell carcinoma with t(X;1) and clinicopathologic associations. In: *Modern Pathology* (17), S. 265.

Argani, P.; Antonescu, C. R.; Illei, P. B.; Lui, M. Y.; Timmons, C. F.; Newbury, R. et al. (2001a): Primary renal neoplasms with the ASPL-*TFE3* gene fusion of alveolar soft part sarcoma: a distinctive tumor entity previously included among renal cell carcinomas of children and adolescents. In: *The American journal of pathology* 159 (1), S. 179–192. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)61684-7.

Argani, P.; Hawkins, A.; Griffin, C. A.; Goldstein, J. D.; Haas, M.; Beckwith, J. B. et al. (2001b): A distinctive pediatric renal neoplasm characterized by epithelioid morphology, basement membrane production, focal HMB45 immunoreactivity, and t(6;11)(p21.1;q12) chromosome translocation. In: *The American journal of pathology* 158 (6), S. 2089–2096. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64680-9.

Argani, Pedram; Aulmann, Sebastian; Illei, Peter B.; Netto, George J.; Ro, Jae; Cho, Hyun-yeet et al. (2010a): A distinctive subset of PEComas harbors *TFE3* gene fusions. In: *The American journal of surgical pathology* 34 (10), S. 1395–1406. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181f17ac0.

Argani, Pedram; Hicks, Jessica; De Marzo, Angelo M; Albadine, Roula; Illei, Peter B.; Ladanyi, Marc et al. (2010b): Xp11 translocation renal cell carcinoma (RCC): extended immunohistochemical profile emphasizing novel RCC markers. In: *The American journal of surgical pathology* 34 (9), S. 1295–1303. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181e8ce5b.

Argani, Pedram; Ladanyi, Marc (2005): Translocation carcinomas of the kidney. In: *Clin. Lab. Med.* 25 (2), S. 363–378. DOI: 10.1016/j.cll.2005.01.008.

Argani, Pedram; Laé, Marick; Ballard, Edgar T.; Amin, Mahul; Manivel, Carlos; Hutchinson, Brian et al. (2006): Translocation carcinomas of the kidney after chemotherapy in childhood. In: *J. Clin. Oncol.* 24 (10), S. 1529–1534. DOI: 10.1200/JCO.2005.04.4693.

Argani, Pedram; Lal, Priti; Hutchinson, Brian; Lui, Man Yee; Reuter, Victor E.; Ladanyi, Marc (2003): Aberrant nuclear immunoreactivity for *TFE3* in neoplasms with *TFE3* gene fusions: a sensitive and specific immunohistochemical assay. In: *The American journal of surgical pathology* 27 (6), S. 750–761.

Armah, Henry B.; Parwani, Anil V. (2010): Xp11.2 translocation renal cell carcinoma. In: *Archives of pathology & laboratory medicine* 134 (1), S. 124–129. DOI: 10.1043/2008-0391-RSR.1.

Armah, Henry B.; Parwani, Anil V.; Surti, Urvashi; Bastacky, Sheldon I. (2009): Xp11.2 translocation renal cell carcinoma occurring during pregnancy with a novel translocation involving chromosome 19: a case report with review of the literature. In: *Diagnostic pathology* 4, S. 15. DOI: 10.1186/1746-1596-4-15.

Bambury, Richard M.; Battley, Jodie E.; McCarthy, Aoife; Brady, Claire; O'Reilly, Seamus; Kelly, Paul J. et al. (2013): Translocation renal cell carcinomas: an evolving entity and a member of the microphthalmia transcription factor-associated family of tumors. In: *Clin Genitourin Cancer* 11 (3), S. 357–361. DOI: 10.1016/j.clgc.2012.12.006.

Bankl, Hans (2002): Arbeitsbuch Pathologie. Wien: Facultas-Univ.-Verl. (Facultas-Studienbücher : Medizin, 11).

- Bruder, Elisabeth; Passera, Oliver; Harms, Dieter; Leuschner, Ivo; Ladanyi, Marc; Argani, Pedram et al. (2004): Morphologic and molecular characterization of renal cell carcinoma in children and young adults. In: *The American journal of surgical pathology* 28 (9), S. 1117–1132.
- Bubendorf, L.; Nocito, A.; Moch, H.; Sauter, G. (2001): Tissue microarray (TMA) technology: miniaturized pathology archives for high-throughput in situ studies. In: *J. Pathol.* 195 (1), S. 72–79. DOI: 10.1002/path.893.
- Büttner, Reinhard; Fend, F.; Thomas, Carlos (2003): Allgemeine Pathologie. Mit 15 Tabellen. 3., erw. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Schattauer (Pathologie / hrsg. von C. Thomas, A). S. 11
- Camparo, Philippe; Vasiliu, Viorel; Molinie, Vincent; Couturier, Jerome; Dykema, Karl J.; Petillo, David et al. (2008): Renal translocation carcinomas: clinicopathologic, immunohistochemical, and gene expression profiling analysis of 31 cases with a review of the literature. In: *The American journal of surgical pathology* 32 (5), S. 656–670. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181609914.
- Cao, Ying; Paner, Gladell P.; Perry, Kent T.; Flanigan, Robert C.; Campbell, Steven C.; Picken, Maria M. (2005): Renal neoplasms in younger adults: analysis of 112 tumors from a single institution according to the new 2004 World Health Organization classification and 2002 American Joint Committee on Cancer Staging System. In: *Archives of pathology & laboratory medicine* 129 (4), S. 487–491. DOI: 10.1043/1543-2165(2005)129<487:RNIYAA>2.0.CO;2.
- Chian-Garcia CA (2003): Renal cell carcinoma in children and young adults: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 14 cases. In: *Modern Pathology* (16), S. 245.
- Choueiri, Toni K.; Lim, Zita Dubauskas; Hirsch, Michelle S.; Tamboli, Pheroze; Jonasch, Eric; McDermott, David F. et al. (2010): Vascular endothelial growth factor-targeted therapy for the treatment of adult metastatic Xp11.2 translocation renal cell carcinoma. In: *Cancer* 116 (22), S. 5219–5225. DOI: 10.1002/cncr.25512.
- Debelenko, Larisa V.; Raimondi, Susana C.; Daw, Najat; Shivakumar, Bangalore R.; Huang, Dali; Nelson, Marilu; Bridge, Julia A. (2011): Renal cell carcinoma with novel VCL-ALK fusion: new representative of ALK-associated tumor spectrum. In: *Modern Pathology* 24 (3), S. 430–442. DOI: 10.1038/modpathol.2010.213.
- Dijkhuizen T, van den Berg E, Storkel S, et al.: Two cases of renal cell carcinoma, clear cell type, revealing at(6;11)(p21;q13). In: *Cancer Genet Cytogenet* 1996 (91), S. 141.
- Eble, John N. (2004): Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon, Oxford: IARC Press; Oxford University Press (distributor) (World Health Organization classification of tumours, 6).
- Fischer C, Oberneder R. (2002): Kurzgefasste Interdisziplinäre Leitlinien. Nierenzellkarzinom. 3. Auflage: Zuckerschwerdt Verlag 2002, zuletzt geprüft am 02.11.2014.
- Freudenthal W, Gans O, Königstein H, Naegeli O, Polland R, Riehl G (1932): Allgemeine Pathologische Anatomie Diagnostik · Fremdkörper Degeneration der Haut. Vienna: Springer Vienna. S.474
- Fuhrman, S. A.; Lasky, L. C.; Limas, C. (1982): Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. In: *The American journal of surgical pathology* 6 (7), S. 655–663.
- Gaillot-Durand, L.; Chevallier, M.; Colombel, M.; Couturier, J.; Pierron, G.; Scoazec, J. Y.; Mege-Lechevallier, F. (2013): Diagnosis of Xp11 translocation renal cell carcinomas in adult patients under 50 years: interest and pitfalls of automated immunohistochemical detection of TFE3 protein. In: *Pathol. Res. Pract.* 209 (2), S. 83–89. DOI: 10.1016/j.prp.2012.10.013.
-

Geller, James I.; Argani, Pedram; Adeniran, Adebowale; Hampton, Edith; Marzo, Angelo de; Hicks, Jessica; Collins, Margaret H. (2008): Translocation renal cell carcinoma: lack of negative impact due to lymph node spread. In: *Cancer* 112 (7), S. 1607–1616. DOI: 10.1002/cncr.23331.

Gemeinsames Krebsregister (Hrsg.) (Hg.) (2012): Krebsinzidenz und Krebsmortalität 2007-2008 (Jahresbericht). Berlin. Online verfügbar unter <http://www.krebsregister.berlin.de>.

Goyal, Rajen; Gersbach, Elizabeth; Yang, Ximing J.; Rohan, Stephen M. (2013): Differential diagnosis of renal tumors with clear cytoplasm: clinical relevance of renal tumor subclassification in the era of targeted therapies and personalized medicine. In: *Arch. Pathol. Lab. Med.* 137 (4), S. 467–480. DOI: 10.5858/arpa.2012-0085-RA.

Hayes, Malcolm; Peckova, Kvetoslava; Martinek, Petr; Hora, Milan; Kalusova, Kristyna; Straka, Lubomir et al. (2014): Molecular-genetic analysis is essential for accurate classification of renal carcinoma resembling Xp11.2 translocation carcinoma. In: *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. DOI: 10.1007/s00428-014-1702-7.

Hong, Seung-Beom; Oh, HyoungBin; Valera, Vladimir A.; Baba, Masaya; Schmidt, Laura S.; Linehan, W. Marston (2010): Inactivation of the FLCN tumor suppressor gene induces TFE3 transcriptional activity by increasing its nuclear localization. In: *PLoS one* 5 (12), S. e15793. DOI: 10.1371/journal.pone.0015793.

Hung, Chia-Chen; Pan, Chin-Chen; Lin, Chih-Chieh; Lin, Alex T L; Chen, Kuang-Kuo; Chang, Yen-Hwa (2011): XP11.2 translocation renal cell carcinoma: clinical experience of Taipei Veterans General Hospital. In: *J Chin Med Assoc* 74 (11), S. 500–504. DOI: 10.1016/j.jcma.2011.09.005.

Jong, B. de; Molenaar, I. M.; Leeuw, J. A.; Idenberg, V. J.; Oosterhuis, J. W. (1986): Cytogenetics of a renal adenocarcinoma in a 2-year-old child. In: *Cancer Genet. Cytogenet.* 21 (2), S. 165–169.

Kallioniemi, O. P.; Wagner, U.; Kononen, J.; Sauter, G. (2001): Tissue microarray technology for high-throughput molecular profiling of cancer. In: *Hum. Mol. Genet.* 10 (7), S. 657–662.

Klatte, Tobias; Streubel, Berthold; Wrba, Friedrich; Remzi, Mesut; Krammer, Barbara; Martino, Michela de et al. (2012): Renal cell carcinoma associated with transcription factor E3 expression and Xp11.2 translocation: incidence, characteristics, and prognosis. In: *Am. J. Clin. Pathol.* 137 (5), S. 761–768. DOI: 10.1309/AJCPQ6LLFMC4OXGC.

Komai, Yoshinobu; Fujiwara, Mutsunori; Fujii, Yasuhisa; Mukai, Hiroyuki; Yonese, Junji; Kawakami, Satoru et al. (2009): Adult Xp11 translocation renal cell carcinoma diagnosed by cytogenetics and immunohistochemistry. In: *Clin. Cancer Res.* 15 (4), S. 1170–1176. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1183.

Kononen, J.; Bubendorf, L.; Kallioniemi, A.; Bärnlund, M.; Schraml, P.; Leighton, S. et al. (1998): Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. In: *Nat. Med.* 4 (7), S. 844–847.

Krentz, Helga (2002): Statistische Analysen und Datenverwaltung mit SPSS in der Medizin. Aachen: Shaker (Berichte aus der medizinischen Informatik und Bioinformatik).

Ljungberg, Börje; Campbell, Steven C.; Choi, Han Yong; Cho, Han Yong; Jacqmin, Didier; Lee, Jung Eun et al. (2011): The epidemiology of renal cell carcinoma. In: *Eur. Urol.* 60 (4), S. 615–621. DOI: 10.1016/j.eururo.2011.06.049.

Ljungberg, Börje; Cowan, Nigel C.; Hanbury, Damian C.; Hora, Milan; Kuczyk, Markus A.; Merseburger, Axel S. et al. (2010): EAU guidelines on renal cell carcinoma: the 2010 update. In: *Eur. Urol.* 58 (3), S. 398–406. DOI: 10.1016/j.eururo.2010.06.032.

Macher-Goeppinger, Stephan; Roth, Wilfried; Wagener, Nina; Hohenfellner, Markus; Penzel, Roland; Haferkamp, Axel et al. (2012): Molecular heterogeneity of TFE3 activation in renal

cell carcinomas. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 25 (2), S. 308–315. DOI: 10.1038/modpathol.2011.169.

Malouf, G. G.; Camparo, P.; Oudard, S.; Schleiermacher, G.; Theodore, C.; Rustine, A. et al. (2010): Targeted agents in metastatic Xp11 translocation/TFE3 gene fusion renal cell carcinoma (RCC): a report from the Juvenile RCC Network. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 21 (9), S. 1834–1838. DOI: 10.1093/annonc/mdq029.

Martignoni, G.; Pea, M.; Gobbo, S.; Brunelli, M.; Bonetti, F.; Segala, D. et al. (2009): Cathepsin-K immunoreactivity distinguishes MITF/TFE family renal translocation carcinomas from other renal carcinomas. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 22 (8), S. 1016–1022. DOI: 10.1038/modpathol.2009.58.

Nennstiel, Simon (2009): Basics allgemeine Pathologie. 1. Aufl. München, Jena: Elsevier, Urban & Fischer (Basics). S. 95

Peckova, Kvetoslava; Vanecek, Tomas; Martinek, Petr; Spagnolo, Dominic; Kuroda, Naoto; Brunelli, Matteo et al. (2014): Aggressive and nonaggressive translocation t(6;11) renal cell carcinoma: comparative study of 6 cases and review of the literature. In: *Annals of diagnostic pathology* 18 (6), S. 351–357. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2014.10.002.

Petersen, I. (2013): Adenokarzinome der Lunge--die neue Klassifikation. In: *Zentralblatt für Chirurgie* 138 Suppl 1, S. S16-24. DOI: 10.1055/s-0033-1350878.

Qiu Rao; Bing Guan; Zhou, Xiao-jun (2010): Xp11.2 Translocation renal cell carcinomas have a poorer prognosis than non-Xp11.2 translocation carcinomas in children and young adults: a meta-analysis. In: *International journal of surgical pathology* 18 (6), S. 458–464. DOI: 10.1177/1066896910375565.

Renshaw, A. A.; Granter, S. R.; Fletcher, J. A.; Kozakewich, H. P.; Corless, C. L.; Perez-Atayde, A. R. (1999): Renal cell carcinomas in children and young adults: increased incidence of papillary architecture and unique subtypes. In: *The American journal of surgical pathology* 23 (7), S. 795–802.

Robert Koch-Institut (2013): Krebs in Deutschland 2009/2010. Hg. v. Robert Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. Berlin. Online verfügbar unter [www.rki.de/krebs](http://www.rki.de/krebs).

Savic, S.; Bubendorf, L. (2007): Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung. Eine neue diagnostische Dimension in der Zytologie. In: *Der Pathologe* 28 (5), S. 384–392. DOI: 10.1007/s00292-007-0930-x.

Schröck, E.; Frensel, A.; Gerlach, E.; Stadler, A.; Hackmann, K.; Tinschert, S.; Werner, W. (2008): Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung in der humangenetischen Diagnostik. In: *medgen* 20 (4), S. 361–366. DOI: 10.1007/s11825-008-0130-y.

Selle, Barbara; Furtwängler, Rhoikos; Graf, Norbert; Kaatsch, Peter; Bruder, Elisabeth; Leuschner, Ivo (2006): Population-based study of renal cell carcinoma in children in Germany, 1980-2005: more frequently localized tumors and underlying disorders compared with adult counterparts. In: *Cancer* 107 (12), S. 2906–2914. DOI: 10.1002/cncr.22346.

Skakkebaek N., Looijenga L., Tickoo S., Amin M., Reuter V., Dyrskjot L., Humphrey P., Srigley J., Moch H. (2015): WHO-Symposium. Recent Advances in Pathology and Genetics of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs. World Health Organization. Hörsaal NORD 1, University Hospital Zurich, Frauenklinikstrasse 10, 8091 Zürich, 14.03.2015.

Smith, Nathaniel E.; Deyrup, Andrea T.; Mariño-Enriquez, Adrian; Fletcher, Jonathan A.; Bridge, Julia A.; Illei, Peter B. et al. (2014): VCL-ALK renal cell carcinoma in children with

sickle-cell trait: the eighth sickle-cell nephropathy? In: *The American journal of surgical pathology* 38 (6), S. 858–863. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000179.

Srigley, John R.; Delahunt, Brett; Eble, John N.; Egevad, Lars; Epstein, Jonathan I.; Grignon, David et al. (2013): The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver Classification of Renal Neoplasia. In: *The American journal of surgical pathology* 37 (10), S. 1469–1489. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318299f2d1.

Sugawara, Emiko; Togashi, Yuki; Kuroda, Naoto; Sakata, Seiji; Hatano, Satoko; Asaka, Reimi et al. (2012): Identification of anaplastic lymphoma kinase fusions in renal cancer: large-scale immunohistochemical screening by the intercalated antibody-enhanced polymer method. In: *Cancer* 118 (18), S. 4427–4436. DOI: 10.1002/cncr.27391.

Tomlinson, G. E.; Nisen, P. D.; Timmons, C. F.; Schneider, N. R. (1991): Cytogenetics of a renal cell carcinoma in a 17-month-old child. Evidence for Xp11.2 as a recurring breakpoint. In: *Cancer Genet. Cytogenet.* 57 (1), S. 11–17.

Tsuda, Masumi; Davis, Ian J.; Argani, Pedram; Shukla, Neerav; McGill, Gael G.; Nagai, Makoto et al. (2007): TFE3 fusions activate MET signaling by transcriptional up-regulation, defining another class of tumors as candidates for therapeutic MET inhibition. In: *Cancer research* 67 (3), S. 919–929. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2855.

Wittekind, Christian (2010): TNM-Klassifikation maligner Tumoren. 7. Aufl. Berlin: Springer.

Zhong, Minghao; Angelo, Patricia de; Osborne, Lisa; Keane-Tarchichi, Megan; Goldfischer, Michael; Edelmann, Lisa et al. (2010): Dual-color, break-apart FISH assay on paraffin-embedded tissues as an adjunct to diagnosis of Xp11 translocation renal cell carcinoma and alveolar soft part sarcoma. In: *The American journal of surgical pathology* 34 (6), S. 757–766. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181dd577e.

Zhong, Minghao; Angelo, Patricia de; Osborne, Lisa; Paniz-Mondolfi, Alberto E.; Geller, Matthew; Yang, Youfeng et al. (2012): Translocation renal cell carcinomas in adults: a single-institution experience. In: *The American journal of surgical pathology* 36 (5), S. 654–662. DOI: 10.1097/PAS.0b013e31824f24a6.

MARKER	KLARZELLIGES RCC	PAPILLÄRES RCC	TFE/MITF TxRCC
CA9	+	V	V
AMACR	-	+	+
CD117	-	-	-
CD10	+	+	V
PAX8	+	+	+
CK7	-	V	-
34□478	-	-	+
TFE3	-	-	V
TFEB	-	-	V
EMA	+	+	-
HMB-45	NP	NP	V
MelanA	-	NP	+
SMA	-	-	-
CathepsinK	-	-	+
Synaptophysin	-	-	-
Inhibin	-	-	-

**TABELLE 20:** LITERATURWERTE IMMUNHISTOLOGISCHER MARKER IN NIERENZELLKARZINOMEN (GOYAL ET AL. 2013) (NP: NICHT PUBLIZIERT; V: VARIABEL).

MARKER	VCL-ALK	TPM3-ALK	EML4-ALK
<b>AE1/AE3</b>	+	+	+
<b>CAM5.2</b>	+	+	+
<b>CK7</b>	+	+	+
<b>EMA</b>	+	+	+
<b>INI1</b>	+	NP	NP
<b>TFE3</b>	+	NP	NP
<b>CD10</b>	-	NP	-
<b>S100</b>	-	NP	NP
<b>HMB45</b>	-	NP	NP
<b>WT1</b>	-	NP	NP
<b>Vimentin</b>	NP	+	+
<b>ALK</b>	NP	+	+
<b>34βE12</b>	NP	+	+
<b>AMACR</b>	NP	+ (focal)	+
<b>PAX2 &amp; PAX8</b>	NP	+ (focal)	+ (focal)
<b>RCC Ma</b>	NP	-	-
<b>TTF1</b>	NP	-	-

TABELLE

**21:** LITERATURWERTE IMMUNHISTOCHEMISCHER MARKER FÜR DIE EINZELNEN ALK-TRANSLOKATIONSKARZINOME (SUGAWARA ET AL. 2012) (NP: NICHT PUBLIZIERT).

## EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

---

Ich versichere eidesstattlich durch eigenhändige Unterschrift, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Veröffentlichungen entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit ist noch nicht veröffentlicht und ist in gleicher oder ähnlicher Weise noch nicht als Studienleistung zur Anerkennung oder Bewertung vorgelegt worden. Ich weiß, dass bei Abgabe einer falschen Versicherung die Prüfung als nicht bestanden zu gelten hat.

Rostock

07.10.2016

Wolf Hagen Barthel

---

(Abgabedatum)

---

(Vollständige Unterschrift)

## DANKSAGUNG

---

Mein Dank gilt allen Mitarbeitern des Instituts der Pathologie am Universitätsklinikum Rostock, die mit Rat und Tat zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

An erster Stelle danke ich Herrn Prof. Dr. med. Andreas Erbersdobler für die Vergabe des Themas und seine ständige und hilfsbereite Unterstützung.

Besonders bedanke ich mich bei Frau Dr. med. Annette Zimpfer für die allzeit gute Betreuung und die zahlreichen Tipps und Hilfestellungen, die mir bei der Bearbeitung des Themas zugutekamen. Ihr unermüdlicher Einsatz hat einen großen Anteil an der Fertigstellung dieser Arbeit.

Ich möchte dem molekularpathologischen Labor, insbesondere Dr. phil. nat. Björn Schneider und Dr. rer. nat. Maja Hühns, meinen Dank aussprechen, die die FISH-Untersuchung möglich gemacht haben.

Ferner gilt mein Dank den Mitarbeitern des Labors, vor allem Frau Kerstin Grodno, für die Hilfsbereitschaft, die Herstellung der Gewebeschnitte und die etlichen immunhistochemischen Färbungen.

# TRANSLOKATIONSKARZINOME DER NIERE

MORPHOLOGISCHE KRITERIEN, IMMUNHISTOCHEMISCHE UND MOLEKULARE UNTERSUCHUNGEN

## THESEN DER DISSERTATION

1. Die translokationsassoziierten Karzinome machen circa 1,5 % der Nierenzellkarzinome aus. Die Translokationen  $t(X;17)(q11.2;q25)$  und  $t(6;11)(p21;12)$  sind 2004 als neue Entität in die Klassifikation der Nierentumore der *World Health Organization* (WHO) aufgenommen worden. Die Xp11.2-Translokation wurde das erste Mal 1986 beschrieben. Mittlerweile sind viele unterschiedliche Translokationsarten bekannt. Von den TFEB- (bzw.  $t(6;11)(p21q12)$ ) und den ALK-Translokationskarzinomen sind in der Literatur einzelne Fälle beschrieben worden.
  2. Die translokationsassoziierten Karzinome betreffen gemäß den Literaturangaben vorwiegend jugendliche und meist weibliche Patienten.
  3. Die Patientengruppe der jugendlichen Patienten weist größtenteils ein niedrigeres Tumorstadium auf und hat somit eine günstigere Prognose. Bei älteren Patienten ist die Prognose im Vergleich zu den anderen histologischen Subtypen schlechter. Diese Tumorentitäten scheinen unterdiagnostiziert zu sein. 2013 hat die *International Society of Urologic Pathology* (ISUP) die ALK-Translokation als neue Tumorentität diskutiert. Als diagnostische Marker werden in der Literatur folgende beschrieben: TFE3 für die Identifizierung der Xp11.2-Translokationskarzinome, CathepsinK für die Erkennung der TFEB-Translokationskarzinome und ALK für ALK-Translokationskarzinome.
  4. In dieser Arbeit wurde retrospektiv das Rostocker Nierentumorkollektiv (Patientenfälle der Jahre 2005 bis 2013) analysiert und nach Translokationskarzinomen gesucht und molekularzytogenetisch nachgewiesen. Diese Tumorentitäten wurden bislang in Rostock in der Routinediagnostik nicht diagnostiziert, da eine Methode nicht vorlag. Eine korrekte Klassifikation der Tumore ist sowohl für die Epidemiologie als auch die Prognose und eventuell für eine Therapie entscheidend.
  5. Neben dem Alter kann die Berücksichtigung der Morphologie Anzeichen für eine Translokation liefern. Xp11.2-Translokationskarzinome erscheinen histologisch pseudopapillär und weisen Verkalkungen auf, die mit einer Kossa-Färbung nachgewiesen werden können.
-

# TRANSLOKATIONSKARZINOME DER NIERE

MORPHOLOGISCHE KRITERIEN, IMMUNHISTOCHEMISCHE UND MOLEKULARE UNTERSUCHUNGEN

## THESEN DER DISSERTATION

6. Die Patientenfälle, die für TFE3 stark positiv exprimieren, haben grundsätzlich eine schlechtere Prognose und sind mit einem hohen Tumorstadium vergesellschaftet, dennoch lässt sich nicht in allen Fällen eine Xp11.2-Translokation nachweisen.
  7. CathepsinK-Färbung scheint eine sinnvolle Ergänzung zu sein, Translokationsarten abzugrenzen. Die Kombination von TFE3 und CathepsinK lassen Rückschlüsse auf betroffene Gene ziehen. Negatives Färbeverhalten von Cytokeratinen kann einen Hinweis auf mögliche Translokationskarzinome liefern. PAX8, Vimentin und CD10 sind geeignet, die einzelnen histologischen Subtypen von den Xp11.2-Translokationskarzinomen abzugrenzen.
  8. MET-Inhibitoren könnten eine Therapieoption für TFE3-Fusionstumore sein. Die Identifizierung dieser heterogenen Tumorentität kann neue Forschungsansätze liefern.
-