

Journal für
Urologie und Urogynäkologie

Zeitschrift für Urologie und Urogynäkologie in Klinik und Praxis

**DNA-Analyse beim
Nierenzellkarzinom: Bedeutung als
Selektionsfaktor für die adjuvante
Immuntherapie mit Interferon Alpha**

Corvin S, Basting RF, Hinke A

Händel D, Schmidt D

Journal für Urologie und

*Urogynäkologie 1999; 6 (2) (Ausgabe
für Österreich), 20-24*

Homepage:

www.kup.at/urologie

Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche

Indexed in Scopus

Member of the



www.kup.at/urologie

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

P. b. b. 022031116M, Verlagspostamt: 3002 Purkersdorf, Erscheinungsort: 3003 Gablitz

DNA-ANALYSE BEIM NIERENZELLKARZINOM: BEDEUTUNG ALS SELEKTIONSFAKTOR FÜR DIE ADJUVANTE IMMUNTHERAPIE MIT INTERFERON ALPHA

Summary

Adjuvant therapy with interferon alpha in non-metastatic renal cell carcinoma is still controversially discussed. No significant benefit was found in unselected patients' collectives. It was the aim of the present study to find appropriate selection factors for an isolation of patients profiting from this treatment. Survival data of 119 patients undergoing tumornephrectomy because of a renal cell carcinoma were documented completely. T-stage and grading as well as DNA-ploidy were evaluated in all tumors. 33 patients received an adjuvant therapy with interferon alpha for one year. Ploidy was measured by means of DNA-cytophotometry. 56 (47 %)

showed a diploid and 63 (53 %) an aneuploid DNA-distribution. T-stage and ploidy were seen to be good prognostic parameters with a significant better survival in patients with diploid vs. aneuploid and T2 vs. T3/4 tumors. Interferon alpha showed no significant benefit in the unselected collective, however provided a marginal but not significant better survival in diploid tumors. T-stage and grading were no appropriate selection factors for the interferon treatment. These results demonstrate, that interferon alpha might provide a prognostic benefit in patients with diploid renal cell carcinoma. However additional investigations are necessary to give a general recommendation for this therapy.

sen einen marginalen Überlebensvorteil gegenüber aneuploiden durch die adjuvante Immuntherapie auf. T-Stadium und Grading erwiesen sich dagegen als ungeeignete Selektionsfaktoren. Die Ergebnisse zeigen, daß eine adjuvante Therapie mit Interferon alpha beim nicht-metastasierten Nierenzellkarzinom das Überleben bei Patienten mit den prognostisch günstigeren diploiden Tumoren verbessern könnte. Es sind jedoch weitere Untersuchungen nötig, um eine generelle Empfehlung für diese Therapie zu geben.

ZUSAMMENFASSUNG

Die adjuvante Therapie des nicht-metastasierten Nierenzellkarzinoms mit Interferon alpha wird weiterhin kontrovers diskutiert. In unselektierten Patientenkollektiven konnte bislang kein signifikanter Überlebensvorteil nachgewiesen werden. In der vorliegenden Untersuchung sollte geprüft werden, ob die DNA-Analyse eine Selektion von Patienten erlaubt, die von einer adjuvanten Interferon Therapie profitieren. Die Überlebensdaten von 119 Patienten, die wegen eines nicht-metastasierten Nierenzellkarzinoms nephrektomiert wurden, konnten vollständig dokumentiert werden. Neben

T-Stadium und Grading wurde auch die DNA-Ploidie dieser Tumoren mittels DNA-Zytophotometrie analysiert. 33 dieser Patienten erhielten eine adjuvante Therapie mit Interferon alpha für die Dauer eines Jahres. Die Ploidie konnte bei allen Tumoren bestimmt werden. 56 (47 %) Tumoren zeigten ein diploides und 63 (53 %) ein aneuploides DNA-Verteilungsmuster. T-Stadium und Ploidie erwiesen sich als geeignete prognostische Parameter für das Gesamtüberleben mit einem signifikanten Vorteil für T2- gegenüber T3/4- und diploiden gegenüber aneuploiden Tumoren. Im unselektierten Patientenkollektiv konnte kein Überlebensvorteil durch die adjuvante Interferon Therapie nachgewiesen werden. Diploide Tumoren wie-

EINLEITUNG

Die Immuntherapie mit Interferon alpha hat sich als palliativer Therapieansatz beim metastasierten Nierenzellkarzinom fest etabliert. Interferon wird hier entweder als Monotherapie oder in Kombination mit diversen Zytostatika bzw. Interleukin 2 appliziert [1, 2]. Die adjuvante Therapie beim nicht-metastasierten Tumor wird jedoch weiterhin kontrovers diskutiert. Bislang konnte kein signifikanter Überlebensvorteil in unselektierten Patientenkollektiven nachgewiesen werden [3]. Es wurde deshalb versucht, geeignete Faktoren für eine Selektion von Patienten zu finden, die von einer adjuvanten Interferon-Therapie profitieren. Neben den klassischen pathologischen Tumorklassifikationen wie das TNM- oder Robson-System bzw. das Tumorigradung werden mittlerweile auch molekularbiologische Faktoren zur Beurtei-

lung der Prognose herangezogen. Vor allem die DNA-Ploidie erwies sich speziell beim Nierenzellkarzinom als guter prognostischer Faktor [4, 5]. Untersuchungen zeigen, daß Tumoren mit diploidem DNA-Gehalt eine signifikant bessere Prognose besitzen als aneuploide Karzinome [6, 7]. Die DNA-Ploidie ist sowohl durch Einzelbildanalyse als auch mittels Durchfluß-Zytometrie quantifizierbar. In der vorliegenden Untersuchung erhielten Patienten mit einem nicht-metastasierten Nierenzellkarzinom eine adjuvante Therapie mit Interferon alpha. Es war Ziel dieser Studie, zu klären, ob Faktoren wie T-Stadium, Grading oder DNA-Ploidie eine Selektion von Patienten für eine adjuvante Immuntherapie ermöglichen.

PATIENTEN UND METHODEN

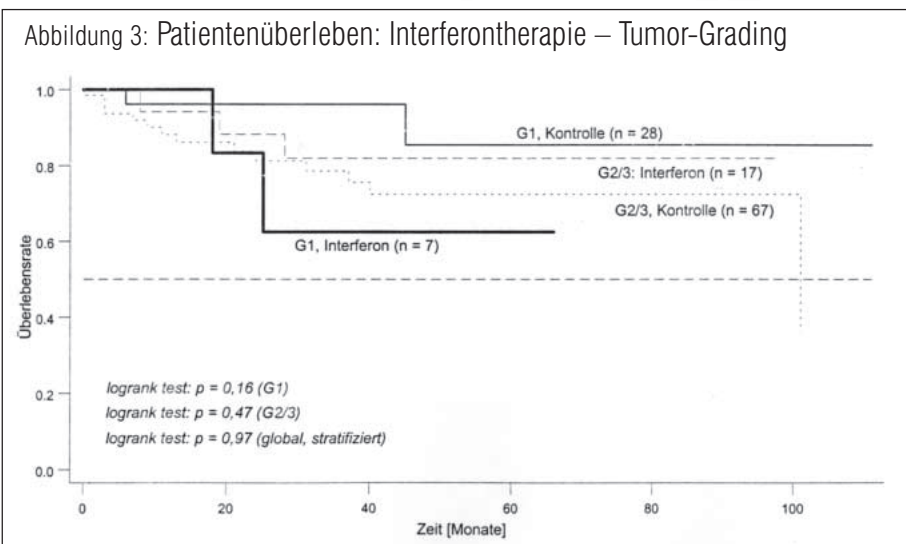
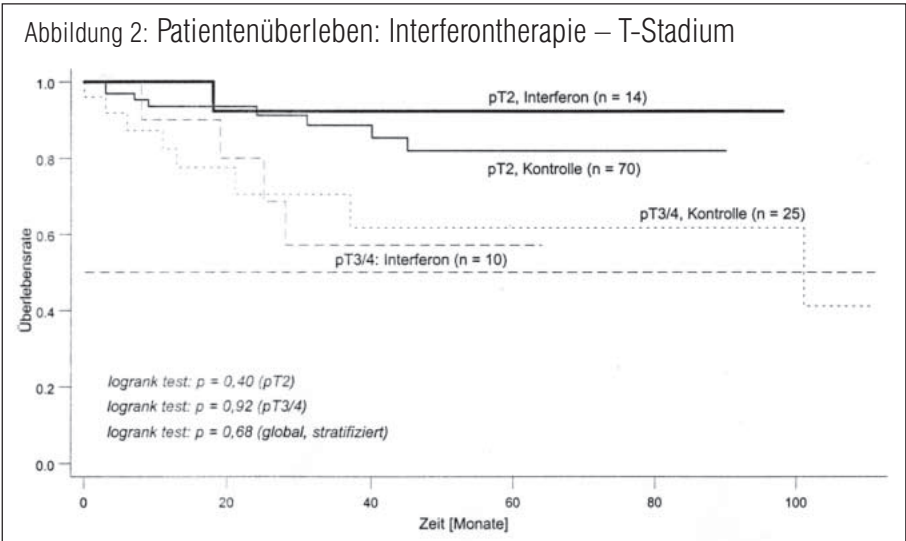
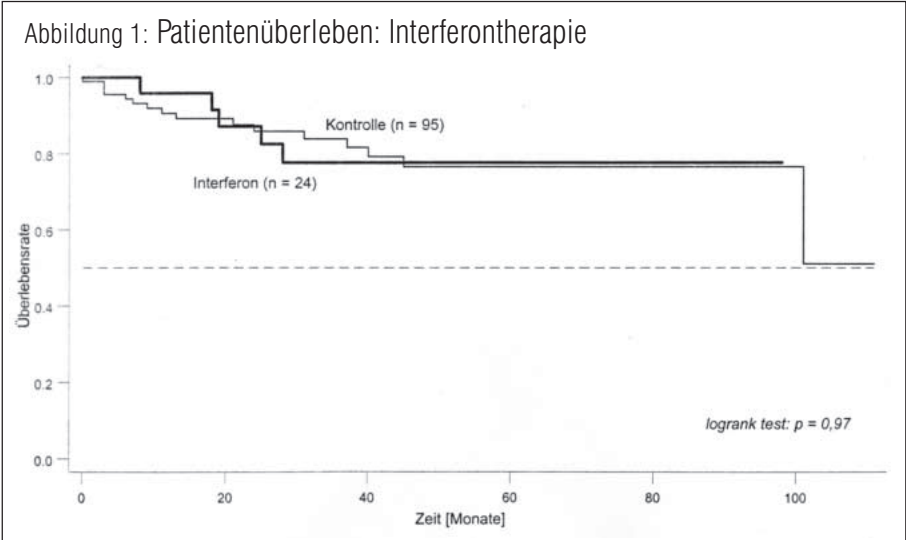
Zwischen 1987 und 1996 wurden 119 Patienten mit einem nicht-metastasierten Nierenzellkarzinom an unserer Abteilung tumornephrektomiert. Es wurden ausschließlich Patienten berücksichtigt, die keine zusätzlichen adjuvanten Therapien erhielten. Die Überlebensdaten wurden mittels telefonischer Befragung in regelmäßigen Abständen evaluiert. Die Tumoren wurden mittels TNM-System (TNM-Klassifikation von 1992) und Tumor-Grading klassifiziert. Patienten mit pT1-Tumoren wurden ausgeschlossen, da in dieser Gruppe kein einziges Rezidiv auftrat. 24 dieser 119 Patienten (20 %) erhielten Interferon alpha 2A (Hofmann La Roche, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) in einer täglichen

Dosis von 1,5 Mio. IE über einen Zeitraum von 10 Tagen. Dieses Therapieschema wurde viermalig in Abständen von 3 Monaten wiederholt. Die Bestimmung der DNA-Ploidie erfolgte mittels Einzelbildanalyse. Es wurden dazu mehrere Proben randomisiert aus jedem Tumor entnommen und mittels Feulgenscher Kernmethode gefärbt. Der DNA-Gehalt von 200 Zellkernen wurde standardisiert mit dem ACAS-System (Dr. O. Ahrens Meßtechnik, Bargteheide, Deutschland) bestimmt. Als diploide Referenzprobe dienten 200 Glia-Zellen, die derselben Messung unterzogen wurden. Es wurde für jeden Tumor ein DNA-Histogramm erstellt und ein Ploidie-Faktor mittels Computer-Analyse ermittelt. Tumoren mit einem Ploidie-Faktor $< 2,3$ wurden als diploid, solche mit einem Faktor zwischen $3,7$ und $4,3$ als tetraploid definiert. Ein Faktor $> 4,3$ wurde als aneuploid angesehen. Im Bereich zwischen $2,3$ und $3,7$ wurden die Tumoren abhängig von der Form des DNA-Histogramms klassifiziert. Die Ergebnisse von T-Stadium, Tumor-Grading und DNA-Zytophotometrie wurden mit dem Patienten-Überleben korreliert. Die Nachbeobachtungszeiten variierten zwischen 2 und 11 Jahren. Die statistische Auswertung wurde nach der Kaplan-Meier-Methode mit Logrank-Test durchgeführt.

ERGEBNISSE

Abgesehen von passageren subfebrilen Temperaturerhöhungen bei wenigen Patienten wurden keine wesentlichen Neben-

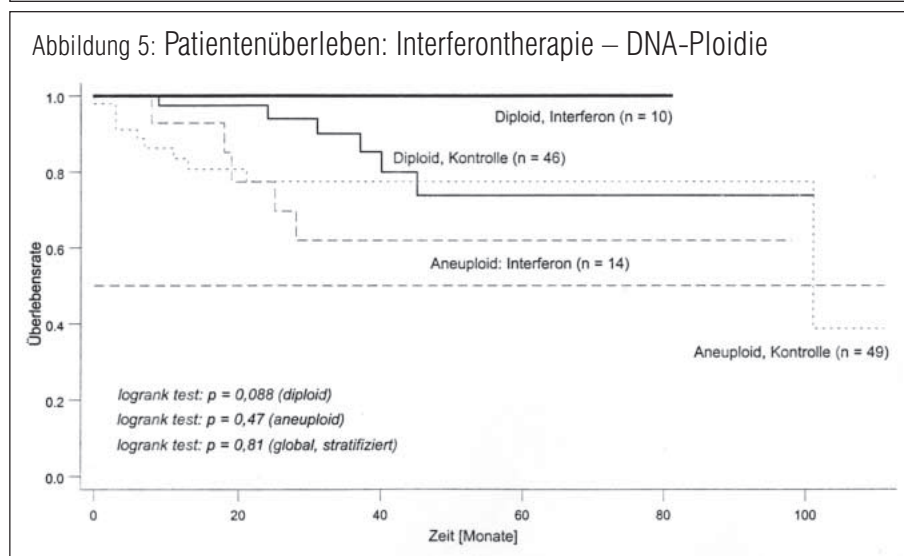
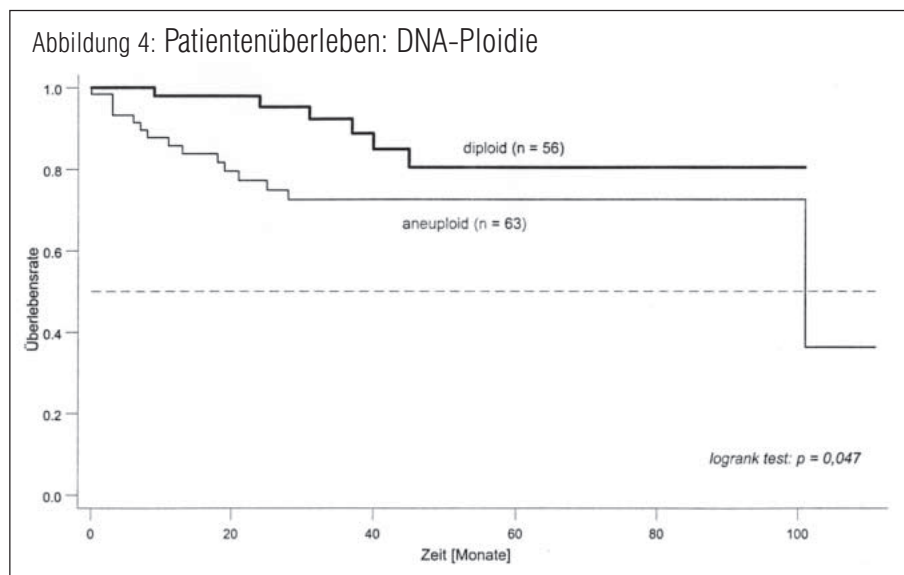
wirkungen festgestellt, so daß die Therapie bei allen Patienten nach dem geplanten Schema durchgeführt werden konnte. Die Überlebensdaten konnten mittels telefonischer Befragung bei allen Patienten lückenlos dokumentiert werden. Eine Gesamtanalyse im unselektierten Patientengut zeigte keinen Überlebensvorteil für die adjuvante Therapie mit Interferon alpha (Abb. 1). 84 Patienten (71 %) wiesen einen pT2-, 34 (28 %) einen pT3- und 1 (1 %) einen pT4-Tumor auf. Aufgrund dieser Verteilung wurden pT3- und pT4-Tumoren in eine Gruppe zusammengefaßt. Ein Vergleich beider Gruppen zeigte einen signifikanten Überlebensvorteil für die pT2-Karzinome. Allerdings profitierten weder die Patienten mit pT2- noch solche mit pT3/4-Tumoren von der Interferon-Therapie (Abb. 2). Das Tumor-Grading zeigte 35 (29 %) G1- sowie 84 (71 %) G2/3-Tumoren. Das Grading erlaubte keine prognostische Abschätzung bzgl. des Patienten-Überlebens. Wie das T-Stadium, so erwies sich auch das Tumor-Grading als ungeeigneter Selektionsfaktor für die Interferon-Therapie (Abb. 3). Mit Hilfe der DNA-Einzelbildanalyse konnte die Ploidie bei allen Tumoren gut bestimmt werden. Die Messungen demonstrierten eine diploide DNA-Verteilung bei 56 (47 %) sowie eine aneuploide bei 63 (53 %) Tumoren. Karzinome mit überwiegend tetraploidem DNA-Gehalt konnten in unserem Patientengut nicht nachgewiesen werden. Eine positive Korrelation zwischen Ploidie und Überleben nach Tumornephrektomie konnte gezeigt werden. Patienten mit einem diploiden Nierenzellkarzinom hatten eine signifikant ($p = 0,047$) bessere Prognose als



solche mit aneuploiden Tumoren (Abb. 4). Ein Vergleich beider Therapiegruppen demonstrierte einen marginalen jedoch nicht signifikanten ($p < 0,088$) Überlebensvorteil für die Interferontherapie in der Gruppe der diploiden Tumoren (Abb. 5). In dieser Gruppe starb kein Patient aufgrund eines Rezidivs oder von Metastasen. Bei den aneuploiden Tumoren konnte kein prognostischer Vorteil durch die Immuntherapie erzielt werden.

DISKUSSION

Verschiedene Parameter wurden bisher zur prognostischen Abschätzung beim Nierenzellkarzinom untersucht. Als gebräuchlichster Prognosefaktor hat sich dabei die TNM-Klassifikation etabliert. Diese Klassifikation ermöglicht eine gute Abschätzung des Rezidivrisikos nach Tumornephrektomie. Um eine noch bessere Einschätzung zu erreichen, werden mittlerweile auch DNA-Analyseverfahren verwendet. DNA-Messungen beim Nierenzellkarzinom werden bereits seit mehr als einem Jahrzehnt durchgeführt [4, 8]. Als einer der wichtigsten Faktoren konnte die DNA-Ploidie der Tumoren isoliert werden. Die Tumoren werden bei Vorliegen eines normalen DNA-Gehalts als diploid bei davon abweichenden Meßwerten als aneuploid eingestuft. Häufig kann im DNA-Histogramm als physiologische Normvariante noch eine tetraploide Bande nachgewiesen werden, die vermutlich die G2- bzw. M-Phase der Zellen reprä-



sentiert. Es wurde gezeigt, daß diploide Tumoren eine bessere Prognose besitzen als solche mit aneuploidem Verteilungsmuster [9, 10]. Die Ploidie kann mittels DNA-Zytophotometrie bestimmt werden. Im Gegensatz zur häufiger verwendeten, etwas weniger aufwendigen DNA-Durchflußzytometrie können Artefaktbildungen beispielsweise durch Verunreinigungen mit anderen zellulären Komponenten weitgehend vermieden werden. Vergleichende Untersuchungen demon-

strieren z. T. identische Ergebnisse bei beiden Methoden [11], z. T. wird jedoch eine etwas bessere Sensitivität bei der Zytophotometrie [12, 13] beschrieben.

Die Immuntherapie mit Interferon alpha wurde bislang fast ausschließlich unter palliativer Zielsetzung beim metastasierten Nierenzellkarzinom verwendet. In vielen Studien wurde Interferon alpha dabei als Monotherapie oder in Kombination mit anderen Immuntherapeutika wie

Interleukin 2 appliziert [1, 2]. Es konnte gezeigt werden, daß auch mit relativ niedrigen Dosen gute Ansprechraten erzielt werden können [14]. Aus diesem Grund wurde auch in der vorliegenden Studie mit 1,5 Mio. IE. tgl. im Hinblick auf mögliche Nebenwirkungen eine vergleichsweise niedrige Dosis gewählt. Beim metastasierten Karzinom wurden Ansprechraten zwischen 15 und 30 % beobachtet [15–17]. Nur wenige Untersuchungen existieren dagegen zur adjuvanten Therapie mit Interferon alpha beim nicht-metastasierten Karzinom [3, 18]. In diesen Studien konnte kein signifikanter Überlebensvorteil durch die adjuvante Behandlung nachgewiesen werden. Auch die am häufigsten verwendeten Tumorklassifikationen wie das TNM- oder Robson-System erlauben keine Selektion einer Patientengruppe, die von dieser Therapie profitiert [3]. Es war deshalb Ziel dieser Studie, die Tumor-Ploidie als Selektionsfaktor für die Interferon Therapie beim nicht-metastasierten Nierenzellkarzinom zu testen. Die vorliegenden Daten zeigen einen marginalen, jedoch nicht signifikanten Überlebensvorteil für Patienten mit diploiden Tumoren. In dieser Gruppe konnte kein Todesfall aufgrund des Tumoreleidens dokumentiert werden. Die Ergebnisse demonstrieren, daß gerade Patienten mit den prognostisch günstigeren diploiden Karzinomen von dieser Therapie profitieren könnten. Wegen der limitierten Zahl von Patienten in einer retrospektiven Analyse kann jedoch vorerst keine generelle Therapieempfehlung gegeben werden. Es ist dazu eine prospektive, randomisierte Studie mit einem größeren Patienten-

Dr. med. Stefan Corvin

Geboren 1966 in Wasserburg am Inn (D), von 1986 bis 1993 Medizinstudium in München, Approbation und Promotion. Von 1993 bis 1995 Chirurgische Abteilung am Krankenhaus Alt-/Neuötting, 1995–1998 Urologische Klinik der Universität Innsbruck, seit 1998 Abteilung für Urologie und Kinderurologie am Krankenhaus Alt-/Neuötting, Lehrkrankenhaus der TU München.



Korrespondenzadresse:

Dr. med. Stefan Corvin
Abteilung für Urologie und Kinderurologie
Krankenhaus Alt-Neuötting
D-84503 Altötting, Vinzenz-von-Paul-Straße 10

kollektiv notwendig. Darüberhinaus ist eine Einbeziehung weiterer molekularbiologischer Parameter wie beispielsweise des S-Phase-Anteils der Tumoren [19] geplant.

Literatur:

1. Atzpodi J, Hänninen EL, Kirchner H, Bodenstern H, Pfreundschuh M, Rebmann U, Metzner B, Illinger HJ, Jakse G, Niesel T, Scholz HJ, Wilhelm S, Pielmeier T, Zakrzewski G, Blum G, Beier J, Müller GW, Duensing S, Anton P, Allhoff E, Jonas U, Poliwoda H. Multiinstitutional home-therapy trial of recombinant human interleukin-2 and interferon alpha-2 in progressive metastatic renal carcinoma. *J Clin Oncol* 1995; 13: 497–501.
2. Lümme G, Goepel M, Möllhoff S, Hinke A, Otto T, Rübber H. Phase II study of interferon-gamma versus interleukin-2 and interferon-alpha 2b in metastatic renal cell carcinoma. *J Urol* 1996; 155: 455–8.
3. Pizzocaro G, Piva L, Di Palo A, Grosso G, Colavita M. Adjuvant interferon (IFN) to radical nephrectomy in Robson's Stages II & III renal cell cancer (RCC), a multicenter study. *J Urol* 1998; 159: 150.
4. Al-Abadi H, Nagel R. Zellkern-DNS-Analyse bei Nierenkarzinomen unter Berücksichtigung des morphologischen Malignitätsgrades. *Akt Urol* 1987; 18: 137–41.

5. Thrasher JB, Paulson DF. Prognostic factors in renal cancer. *Urol Clin North Am* 1993; 20: 247–62.
6. Bartoletti R, Selli C, Nicolo G, Margallo E, Amorosi A. Cytofluorometric and cytogenetic evaluation of renal cell carcinoma: correlations with the clinical course. *Urol Int* 1997; 58: 1–7.
7. Selli C, Nicolo G, Margallo E, Bartoletti R, Amorosi A. Cytofluorometric evaluation of nuclear DNA content distribution in renal neoplasms treated by conservative surgery. *Urol Int* 1996; 57: 151–7.
8. Ljungberg B, Stenling R, Roos G. DNA content and prognosis in renal cell carcinoma: A comparison between primary tumors and metastases. *Cancer* 1986; 57: 2346.
9. Ljungberg B, Larsson P, Stenling R, Roos G. Flow cytometric deoxyribonucleic analysis in stage I renal cell carcinoma. *J Urol* 1991; 146: 697–9.
10. Ljungberg B, Forsslund G, Stenling R. Prognostic significance of the DNA content in renal cell carcinoma. *J Urol* 1986; 135: 422.
11. Papadopoulos I, Rudolph P, Weichert-Jacobsen K. Value of p53 expression, cellular proliferation, and DNA content as prognostic indicators in renal cell carcinoma. *Eur Urol* 1997; 32: 110–7.
12. Koss LG, Werst RP, Simmons DA, Deitch D, Herz F, Fried SZ. Predictive

value of DNA measurements in bladder washings. comparison of flow cytometry, and cytology in patients with a past history of urothelial tumors. *Cancer* 1989; 64: 916–24.

13. Kushima M, Kushima R, Hattori T, Tomoyoshi T. Heterogeneity and progression of renal cell carcinomas as revealed by DNA cytofluorometry and the significance of the presence of polyploid cells. *Urol Res* 1995; 23: 381–6.

14. Marshall ME, Simpson W, Butler K. Treatment of renal cell carcinoma with low dose alpha interferon. *J Biol Resp* 1989; 8: 453–61.

15. Kriegmair M, Hofstetter A. Interferon therapy in urology. *Urologe [A]* 1989; 28: 116–21.

16. Choudhury M, Efros M, Mittelmann A. Interferons and interleukins in metastatic renal cell carcinoma. *Urology* 1993; 41: 67–72.

17. Muss HB. Interferon therapy for renal cell carcinoma. *Sem Oncol* 1987; 14: 36–42.

18. Takahashi S, Tanigawa T, Imagawa M, Mimata H, Nomura Y, Ogata J. Interferon as adjunctive treatment for non-metastatic renal cell carcinoma. *Br J Urol* 1994; 74: 11–4.

19. Larsson P, Roos G, Stenling R, Wilson GD, Ljungberg B. Cell proliferation in renal cell carcinoma – a comparative study of cell kinetic methods. *Urol Res* 1996; 24: 291–5.

Eingelangt am: 16. 02. 99,
angenommen am: 12. 04. 99

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)