

Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. Christian Stief

***Externe Validierung zweier Biomarker-Prognosemodelle  
(Klatte-Nomogramm und BioScore)***

***Kann die prognostische Diskriminierung von Patienten mit  
lokalisiertem Nierenzellkarzinom nach operativer Primärtherapie  
anhand von Prognosemodellen mit Inkorporation molekularer  
Biomarker verbessert werden?***

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Laura Morshäuser  
aus  
Bad Brückenau  
2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Sabine Brookman-May

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Jutta Engel, MPH  
Prof. Dr. Hans-Joachim Anders  
PD Dr. habil. Med. Heike Pohla

Mitbetreuung durch:

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 22.04.2021

## Eidesstattliche Versicherung

Morshäuser, Laura

---

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**Externe Validierung zweier Biomarker-Prognosemodelle  
(Klatte-Nomogramm und BioScore)**

**Kann die prognostische Diskriminierung von Patienten mit lokalisiertem  
Nierenzellkarzinom nach operativer Primärtherapie anhand von  
Prognosemodellen mit Inkorporation molekularer Biomarker verbessert werden?**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Karlsruhe, 21.06.2021

---

Ort, Datum

Laura Morshäuser

---

Unterschrift Doktorandin

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>5</b>
<b>2.</b>	<b>PUBLIKATIONSLISTE</b> .....	<b>7</b>
<b>3.</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>10</b>
<b>4.</b>	<b>ZIELSETZUNG</b> .....	<b>11</b>
<b>5.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>14</b>
5.1	MATERIAL UND METHODEN FÜR DIE VALIDIERUNG DES KLATTE-NOMOGRAMMS .....	14
5.1.1	PATIENTENSELEKTION, KLINISCH-PATHOLOGISCHE CHARAKTERISTIKA UND ZUSAMMENSTELLUNG DES NOMOGRAMMS..	14
5.1.2	PATHOLOGISCHE EVALUATION UND IMMUNHISTOCHEMIE.....	14
5.1.3	STATISTISCHE ANALYSE UND ZIELPARAMETER.....	15
5.2	MATERIAL UND METHODEN FÜR DIE VALIDIERUNG VON BIOSCORE .....	16
5.2.1	PATIENTENSELEKTION UND KLINISCH-PATHOLOGISCHE CHARAKTERISTIKA.....	16
5.2.2	BESTIMMUNG DES BIOSCORE.....	16
5.2.3	STATISTISCHE ANALYSE.....	17
<b>6.</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>18</b>
6.1	ERGEBNISSE DER VALIDIERUNG DES KLATTE-NOMOGRAMMS .....	18
6.2	ERGEBNISSE DER VALIDIERUNG DES BIOSCORE .....	23
<b>7.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>34</b>
7.1	ZUSAMMENFASSUNG .....	34
7.2	SUMMARY .....	36
<b>8.</b>	<b>EIGENANTEIL AN DEN VORGELEGTEN ARBEITEN</b> .....	<b>38</b>
<b>9.</b>	<b>PUBLIKATIONEN FÜR DIE KUMULATIVE DISSERTATION</b> .....	<b>39</b>
<b>10.</b>	<b>TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>41</b>
<b>11.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>43</b>
<b>12.</b>	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>48</b>

## 1. Abkürzungsverzeichnis

<b>B7-H1</b>	B7 Homolog 1
<b>BMI</b>	Body Mass Index
<b>C-Index</b>	<i>Harrell's C-Index</i> , Konkordanz-Index nach Harrell
<b>CI</b>	Konfidenzintervall
<b>CSM</b>	<i>Cancer Specific Mortality</i> , krebsspezifische Mortalität
<b>CSS</b>	<i>Cancer Specific Survival</i> , krebsspezifisches Überleben
<b>CT</b>	Computertomographie
<b>CTLA-4-AK</b>	<i>Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4</i> , zytotoxisches T-Lymphozyten-assoziiertes Protein 4
<b>DP</b>	<i>Disease Progression</i> , Krankheitsprogression
<b>DFS</b>	<i>Disease Free Survival</i> , krankheitsfreies Überleben
<b>EAU</b>	European Association of Urology
<b>ECOG-PS</b>	Eastern Co-operative Oncology Group Performance Status
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>HR</b>	Hazard Ratio
<b>IQR</b>	Interquartile Range
<b>Ki-67</b>	Kiel-67
<b>p</b>	<i>Probability</i> , Wahrscheinlichkeit
<b>P53</b>	Tumorsuppressorgen p53
<b>PA</b>	<i>Predictive Accuracy</i> , Vorhersagegenauigkeit
<b>PD-1-Inhibitor</b>	<i>Programmed Cell Death Protein 1</i> , programmierter Zelltod Protein 1 Inhibitor
<b>pT</b>	<i>Pathologic Tumor Stage</i> , pathologisches Tumorstadium
<b>RCC</b>	<i>Renal Cell Carcinoma</i> , Nierenzellkarzinom
<b>SD</b>	<i>Standard Deviation</i> , Standardabweichung
<b>TNM</b>	Tumor Node Metastasis
<b>UICC</b>	Union internationale contre le cancer
<b>UISS</b>	UCLA Integrated Staging System

<b>VEGF</b>	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> , vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor
<b>VEGF-D</b>	<i>Vascular Endothelial Growth Factor D</i> , vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor D
<b>VEGFR-1</b>	<i>Vascular Endothelial/Epithelial Growth Factor Receptor 1</i> ; vaskulärer endothelialer/epithelialer Wachstumsfaktorrezeptor 1
<b>WHO</b>	<i>World Health Organization</i> ; Weltgesundheitsorganisation

## 2. Publikationsliste

- 2.1 Morshaeuser L, May M, Burger M, Otto W, Hutterer GC, Pichler M, Klatter T, Wild P, Buser L, Brookman-May S. p53-expression in patients with renal cell carcinoma correlates with a higher probability of disease progression and increased cancer-specific mortality after surgery but does not enhance the predictive accuracy of robust outcome models. *Urol Oncol.* 2018 Mar;36(3):94.e15-94.e21. DOI: [10.1016/j.urolonc.2017.11.011](https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2017.11.011) [1]
- 2.2 Hutterer GC, Posch F, Buser L, Zigeuner R, Morshäuser L, Otto W, Wild PJ, Burger M, May M, Pichler M, Brookman-May SD. BioScore (B7-H1, survivin, and Ki-67) does not predict cancer-specific mortality in surgically treated patients with renal cell carcinoma: An external validation study. *Urol Oncol.* 2019 Jul;37(7):510-518. DOI: [10.1016/j.urolonc.2019.04.004](https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2019.04.004) [2]





**Einleitende Zusammenfassung der schriftlichen, kumulativen Promotion**  
gemäß § 4a der Promotionsordnung der LMU vom 1.Juni 1983 in der achten Fassung  
der Änderungssatzung vom 1.April 2009

### 3. Einleitung

Das Nierenzellkarzinom (Renal Cell Carcinoma; RCC) ist für etwa 2-3 % aller Tumorerkrankungen weltweit verantwortlich [3]. Die Inzidenz ist in Europa und Nordamerika am höchsten und nimmt in diesen Ländern auch weiterhin zu, während die Inzidenz in anderen Ländern in den vergangenen Jahren teilweise rückläufig war [4, 5]. Die höchste Inzidenz weltweit ist aus bisher nicht final eruierten Ursachen in der Tschechischen Republik zu verzeichnen [4,5]. Die Verteilung des RCC hängt auch ab von Geschlecht und ethnischer Herkunft; die Inzidenz bei Männern ist ca. doppelt so hoch wie bei Frauen [6]. Als etablierte Risikofaktoren gelten Nikotinkonsum [7], Adipositas [8, 9] und arterielle Hypertonie [10, 11].

Generell kann das primär lokalisierte RCC mittels radikaler oder partieller Nephrektomie (sog. Nieren- oder nephron-erhaltende Nephrektomie) kurativ behandelt werden [12, 13]. Besonders in frühen Stadien sind die Heilungsraten durch radikale Nephrektomie sehr gut. Laut aktueller Leitlinie der European Association of Urology (EAU) betragen die krebsspezifischen 5-Jahres-Überlebensraten für die Tumor Node Metastasis (TNM) [14] Stadien I, II, III und IV nach Nephrektomie jeweils 91%, 74%, 67% und 32%. Die Gesamtüberlebensraten nach Nephrektomie betragen für die Stadien T1 und T2 jeweils 83% bzw. 57% [10, 15].

Heutzutage wird das RCC meistens inzidentell mittels Sonographie zu einem Zeitpunkt entdeckt, in dem der Tumor sich noch durch keine Symptomatik äußert. Eine Diagnosestellung erst in fortgeschrittenen Stadien aufgrund von Symptomen ist mittlerweile äußerst selten.

Nicht nur aufgrund einer früheren Diagnosestellung im Krankheitsverlauf, sondern auch durch den heutzutage häufigen Einsatz von abdominalen Ultraschall- oder Computertomographie-Untersuchungen (CT) und eine verbesserte Nachsorge sind die Mortalitätsraten in den letzten Jahren stetig gesunken [16]. Nichtsdestotrotz entwickeln sich bei 10-30 % der Patienten im weiteren Verlauf Metastasen, teilweise noch Jahrzehnte nach Erstdiagnose [17]. Trotz verbesserter systemischer Therapieoptionen gilt das metastasierte RCC nach wie vor als eine nicht heilbare Erkrankung.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Prognose des RCC individuell sehr unterschiedlich und von zahlreichen tumor- sowie patienten-assoziierten Faktoren abhängig ist.

Da das Fortschreiten in eine systemische Erkrankung nach wie vor den Übergang in eine palliative Situation darstellt, ist es umso bedeutender, Patienten bereits zu einem

möglichst frühen Zeitpunkt in unterschiedliche Risikopopulationen einteilen zu können und so ein individuelles und strukturiertes Follow-Up zu entwickeln, um die Entwicklung von Fernmetastasen oder ein lokales Fortschreiten der Erkrankung frühzeitig zu bemerken. Eine adäquate Risiko-Stratifizierung könnte gewährleisten, dass Hochrisikopatienten ein strikteres und engmaschigeres Follow-Up erhalten und in Studien mit adjuvanten Therapieoptionen nach Durchführung der Primärtherapie eingeschlossen werden können. Bisher existieren in diesem Setting noch keine zugelassenen Therapieoptionen. Zugleich kann eine solche Risiko-Stratifizierung dabei helfen, Patienten mit geringerem Risiko unnötige Therapien zu ersparen und sie in selteneren Abständen einer diagnostischen Follow-Up Untersuchung zu unterziehen. Bedacht werden muss darüber hinaus, dass durch eine genauere Risikovorhersage unnötige Strahlenbelastung durch Kontroll-CT-Untersuchungen reduziert und so das Risiko von Zweittumoren gemindert werden kann.

Bis heute liefert insbesondere das TNM-Staging-System [14] Informationen über die Prognose des RCC; dennoch wird die Prognosegenauigkeit des TNM-Systems immer wieder kontrovers diskutiert, weswegen weitere prognostische Modelle mit dem Ziel entwickelt wurden, eine genauere individuelle Risikovorhersage zu gewährleisten.

#### 4. Zielsetzung

Molekulare Biomarker wie der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor (Vascular Endothelial Growth Factor; VEGF) oder das Tumorsuppressorgen p53 sind in den letzten Jahren immer mehr in den Fokus gerückt, um eine exaktere Risikovorhersage nach Nephrektomie zu erreichen und potentielle Angriffspunkte für neue Therapieansätze zu liefern [18-23]. VEGF spielt eine entscheidende Rolle im Wachstum vieler Tumoren und kann so als Angriffspunkt für neue Therapien genutzt werden. [24, 25]. Ebenso findet sich bei Tumoren häufig ein defektes Gen für das Tumorsuppressorgen p53, welches dem Tumor ein ungehindertes Wachstum ermöglicht [26, 27].

Erst kürzlich wurde von der Food and Drug Administration (FDA) eine adjuvante Therapie, bestehend aus einer Kombination von Nivolumab (PD-1-Inhibitor) und Ipilimumab (CTLA-4-AK), zur Therapie des metastasierten RCC zugelassen. Diese Kombinationstherapie konnte in der Phase 3-Studie das Gesamtüberleben von Patienten mit metastasiertem RCC signifikant verbessern und hebt die Bedeutung molekularer

Biomarker als Angriffspunkte neuer zielgerichteter und immuntherapeutischer Therapiekonzepte hervor [28].

In den Guidelines der EAU werden molekulare Biomarker bisher nicht zur Risiko-Stratifizierung empfohlen [10]. Obwohl bereits einige Arbeiten mit aussichtsreichen Ergebnissen zu diesem Thema vorliegen, fehlt in den meisten Fällen eine externe Validierung, welche sie für den routinemäßigen klinischen Einsatz und die Übertragbarkeit auf andere Patientenkollektive qualifizieren würde [29-34].

Ziel der vorliegenden Dissertationsarbeit war es, zwei publizierte Nomogramme, BioScore sowie das von Klatter et al. konstruierte Nomogramm, zur Prognosevorhersage nach Nephrektomie bei lokalisiertem, nicht metastasiertem RCC erstmalig anhand einer Single-Center-Studie extern zu validieren [33, 34]. Beide Nomogramme zeichnen sich dadurch aus, dass sie neben etablierten klinisch-pathologischen Faktoren ebenfalls molekulare Biomarker mit einbeziehen und so in den Originalkohorten sehr hohe Prognosevorhersagen erzielen konnten.

Das von Klatter et al. entwickelte Nomogramm umfasst die Parameter Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG-PS) [35], pathologisches Tumorstadium (pT), Ki-67 (Ki-67), p53, vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktorrezeptor 1 (VEGFR-1), vaskulärer epithelialer Wachstumsfaktorrezeptor 1 (VEGFR-1, Expression im Tumorepithel) sowie vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor D (VEGF-D, Expression im Gefäßendothel); in der Originalarbeit erzielte das Nomogramm eine Vorhersagegenauigkeit für das krankheitsfreie Überleben (Disease Free Survival; DFS) von 90,4% [33].

BioScore inkludiert die Parameter B7 Homolog 1 (B7-H1), Survivin sowie Ki-67 und untersuchte den prognostischen Einfluss der in den Score integrierten Parameter auf die krebsspezifische Mortalität (Cancer Specific Survival; CSS) [34]. Dabei wurde gezeigt, dass die Addition des BioScores zu etablierten prognostischen Kriterien und Scores jeweils in einer signifikanten Verbesserung der prädiktiven Genauigkeit resultierte; wurde BioScore beispielsweise zum UCLA Integrated Staging System (UISS) [10] Prognosesystem hinzugefügt, erhöhte sich der c-Index von 0.774 auf 0.819 [34].

Ein weiteres Ziel der Validierung von BioScore war die Evaluierung des potentiellen Mehrwerts von BioScore im Vergleich zum Stage, Size, Grade and Necrosis (SSIGN) score [36].

Zur externen Validierung stand eine Studienkohorte zur Verfügung, die aus 393 Patienten mit nicht metastasiertem RCC bestand. Die Patienten wurden im Zeitraum von 1999 – 2004 in der Urologischen Klinik der Universität Regensburg operiert.

Auf Basis dieser Kohorte erfolgten die Validierungen der beiden Nomogramme.

## 5. Material und Methoden

### 5.1 Material und Methoden für die Validierung des Klatte-Nomogramms

#### 5.1.1 Patientenselektion, klinisch-pathologische Charakteristika und Zusammenstellung des Nomogramms

Die für diese Arbeit untersuchte Studienkohorte bestand zunächst aus 393 Patienten mit lokalisiertem RCC (N0M0). 40 Patienten mit positivem Lymphknotenstatus und/oder Fernmetastasen wurden ausgeschlossen, ebenso zehn Patienten, bei denen sich Mängel in der immunhistochemischen Färbung bzw. deren Auswertung zeigten. Die finale Studienkohorte bestand somit aus 343 Patienten. Im Zeitraum von 1999 – 2004 wurden alle Patienten der Studienkohorte einer radikalen Nephrektomie oder Nierenteilresektion in der Urologischen Klinik des Universitätsklinikums Regensburg unterzogen.

Bei allen Patienten wurden ECOG-PS, pT Stadium, Ki-67, p53, VEGFR-1, VEGF-D, pathologische Tumorgröße, Invasion des harnableitenden Systems (Collecting System Invasion; CSI), histologischer Subtyp basierend auf der Heidelberg-Klassifikation, Grading anhand der Mainz-Klassifikation, Alter und Geschlecht erhoben [14; 35; 37-39].

#### 5.1.2 Pathologische Evaluation und Immunhistochemie

Aus formalinfixierten und in Paraffin eingebetteten Primärtumorproben wurden durch einen erfahrenen Pathologen jeweils drei Kerngewebebiopsien mit einem Durchmesser von 0,6 mm aus morphologisch repräsentativen Arealen entnommen und präzise angeordnet. Aus diesen Tumorgewebe-Microarray-Blöcken wurden anschließend repräsentative 4 µm dicke Sektionen auf einen Objektträger transferiert. Die immunhistochemische Färbung wurde für die Antikörper Ki-67 (Dako, Bestandsnummer: M7240, Verdünnung 1:200), p53 (Ventana, Bestandsnummer: 05267102001, einsatzbereit), VEGFR-1 (Sigma, Bestandsnummer: HPA011740, Verdünnung 1:300) und VEGF-D (Sigma, Bestandsnummer: HPA027342, Verdünnung 1:35) durchgeführt. Mittels standardisierter positiver und negativer Antikörperkontrollen wurde die Spezifität der Färbung gewährleistet. Die pathologische Auswertung erfolgte verblindet zu klinisch-pathologischen Variablen sowie zum klinischen Ergebnis.

Für Ki-67 und p53 wurde der durchschnittliche Prozentsatz basierend auf der Zählung jeglicher positiver Kernfärbung in mindestens drei zufällig über einen ganzen Abschnitt verteilten Arealen berechnet.

Alle anderen Marker wurden durch Abschätzen des Prozentsatzes der positiven Färbung der gesamten Tumorprobe bewertet. Zusätzlich wurde die Färbungsintensität separat registriert.

Die membranöse Expression von VEGFR-1 wurde jeweils im Tumorepithel sowie im Endothel der tumorassoziierten Gefäße evaluiert. Die zytoplasmatische Immunreaktivität von VEGF-D wurde nur in den Tumorzellen analysiert. Der ermittelte Prozentsatz an nukleärem p53, epithelalem VEGFR-1 und VEGF-D wurde in Schritten von 10% aufgezeichnet. Für Ki-67 sowie endothelialer VEGFR-1 wurden 5%-Schritte registriert und einem bestimmten Punktwert zugeordnet [1].

### 5.1.3 Statistische Analyse und Zielparameter

Zusätzlich zu dem von Klatter gewählten Endpunkt krebsspezifische Mortalität (Cancer Specific Mortality; CSM) wurde in unserer Studie als weiterer Endpunkt die Krankheitsprogression (Disease Progression; DP) evaluiert. Mit multivariablen Cox-Regressionsmodellen wurde die unabhängige Auswirkung klinischer, pathologischer und molekularer Parameter auf die Endpunkte DP und CSM analysiert. Zusätzlich wurden zwei neuartige Modelle unter Berücksichtigung weiterer klinischer und pathologischer Kriterien entwickelt. Die Wahrscheinlichkeiten für DFS und CSS wurden unter Verwendung der Kaplan-Meier-Methode analysiert.  $P < 0,05$  wurde als statistisch signifikant angesehen.

Die statistische Analyse erfolgte mit SPSS, Version 23 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). Eine detaillierte Beschreibung von Material und Methoden ist in der Originalarbeit von Klatter et al. und in dem veröffentlichten Artikel zur externen Validierung nachzulesen [1, 33].

## 5.2 Material und Methoden für die Validierung von BioScore

### 5.2.1 Patientenselektion und klinisch-pathologische Charakteristika

Die für die externe Validierung von BioScore [34] herangezogene Studienkohorte bestand final aus 382 Patienten mit lokalisiertem und operativ therapiertem RCC. 11 Patienten wurden von der Studie ausgeschlossen, weil Follow-Up Informationen fehlten, eine pathologische Evaluation technisch nicht möglich war oder nicht genügend Gewebe für die immunhistochemische Färbung vorlag.

Für die Validierung wurden B7-H1, Survivin, Ki-67, Alter, BMI, Geschlecht, ECOG-PS, Symptome bei Diagnosestellung, Lokalisation des Primärtumors, pT Stadium, Lymphknotenstatus, pathologische Tumorgröße, CSI, histologischer Subtyp und Grading nach Mainz-Klassifikation evaluiert [14; 35; 37-39].

### 5.2.2 Bestimmung des BioScore

Die Aufarbeitung der Proben und die immunhistochemische Färbung erfolgten wie in der Originalarbeit von Parker et al. beschrieben [34]. Für jeden Patienten wurde ein in Paraffin eingebetteter Block mit repräsentativem Tumormaterial identifiziert, woraus 3,5  $\mu$  dicke Slides für die Färbung ausgewählt wurden. Für die anschließende immunhistochemische Färbung wurden Antikörper entsprechend der Studie von Parker et al. verwendet.: Ki-67 (Dako, Bestandsnummer: M7240, monoklonaler Mausantikörper; Verdünnung 1: 200), Survivin (Abcam, Bestandsnummer: #ab469; polyklonaler Kaninchen-Antikörper; Verdünnung 1: 250) und B7-H1 (CD274; Sigma, Bestandsnummer: # SAB2900365, polyklonaler Kaninchen-Antikörper; Verdünnung 1: 300).

Das membranöse Färbemuster von B7-H1 wurde als Prozentsatz positiver Tumorzellen in Schritten von 5% bis 10% quantifiziert. Die nukleären Färbemuster von Survivin und Ki-67 wurden als Anzahl positiver Tumorzellen in jedem der fünf repräsentativen Hauptgesichtsfelder angegeben. Die Expression wurde somit quantifiziert als die Anzahl positiver Tumorzellen pro  $\text{mm}^2$  [2]. Die Berechnung des BioScore folgte der zuvor veröffentlichten Methode von Parker et al. [34].

Beispielsweise definierte ein Patient mit einem B7-H1 negativen, Survivin niedrigen und Ki-67 niedrigen Tumor den Baseline Patienten mit einem BioScore von null Punkten. B7-



H1 Positivität wurde mit zwei Punkten bewertet, ein hohes Survivin mit drei Punkten und ein hohes Ki-67 mit zwei Punkten. Der maximal mögliche BioScore betrug sieben.

### 5.2.3 Statistische Analyse

Endpunkt der Studie war wie in der Originalarbeit CSM [34]. Zusätzlich wurde anhand einer Dichotomisierung der B7-H1 Expression in „hoch“ und „niedrig“ (n = 85; cut-off  $\geq$  30% positive Zellen) sowie „hoch“ (n = 19; cut-off  $\geq$  15%) eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt.

CSM wurde anhand Kaplan-Meier-Schätzern analysiert und zwischen zwei oder mehr Gruppen mittels Log-Rank-Test verglichen. Die diskriminative Leistung des BioScores und des SSIGN-Scores wurde mit dem Konkordanz-Index nach Harrell (Harrell's C-Index) quantifiziert. Die statistische Auswertung wurde anhand Stata 14.0 (Stata Corp., Houston, TX, USA) durchgeführt. Eine detaillierte Beschreibung von Material und Methoden ist in der Originalarbeit und in dem veröffentlichten Artikel zur externen Validierung nachzulesen [2, 34].

## 6. Ergebnisse

### 6.1 Ergebnisse der Validierung des Klatte-Nomogramms

Die finale Studienkohorte setzte sich aus 211 Männern (61,5 %) und 132 Frauen (38,5 %) zusammen. Das mediane Alter lag bei 64 Jahren. Das mediane Follow-Up betrug 100 Monate (IQR=81,5-120,6 Monate).

ECOG-PS und pT-Stadium konnten in den multivariablen Analysen einen signifikanten Einfluss auf die beiden Endpunkte CSM und DP zeigen. Von den validierten Biomarkern zeigte lediglich p53 in unserer Validierungskohorte einen unabhängigen Einfluss auf den Endpunkt DP (HR=1.31, 95% CI=1.07-1.59, p=0.008), nicht jedoch auf den Endpunkt CSM. Die PA der multivariablen Modelle für die Endpunkte DP und CSM betrug 78,4% (95% CI=71–86%) bzw. 80,1% (95% CI=71–89%) (**Tabelle 1**).

Da außer p53 keiner der validierten Marker eine unabhängige Auswirkung auf DP hatte, verzichteten wir auf die Validierung des gesamten Nomogramms. In einem zweiten Schritt sollte die PA beider multivariabler Modelle durch Hinzufügen weiterer klinischer und pathologischer Parameter und Eliminierung von Parametern des Originalnomogramms ohne Einfluss auf DP und CSM untersucht werden; daher erfolgte die Evaluierung von zwei alternativen multivariablen Modellen für beide Endpunkte, in denen p53 anhand des 20%-Cut-Offs (pos.) inkludiert wurde (**Tabelle 2**). In diesen Modellen zeigte sich ein größerer Einfluss von p53 auf den Endpunkt DP (HR=4.13, 95% CI=1.59-10.77, p=0.004) sowie zusätzlich auch ein unabhängiger Einfluss auf den Endpunkt CSM (HR=3.74, 95% CI=1.27-11.00, p=0.017). Die Vorhersagegenauigkeit dieser Modelle wurde für DP auf 80,7% und für CSM auf 81,7% erhöht. Unabhängig davon führte jedoch der Einschluss von p53 anhand des 20%-Cut-offs anstelle der kontinuierlichen Variable nicht zu einer signifikanten Verbesserung der Prognosegenauigkeit der beiden modifizierten Modelle (**Tabelle 2**). Die Vorhersagegenauigkeit des modifizierten Nomogramms konnte durch Integration von p53 also nicht weiter gesteigert werden. Durch die Trennung von Patienten basierend auf dichotomisierter p53-Expression zeigten Patienten, die hinsichtlich der p53-Expression als negativ gewertet wurden (<20%) nach 5 Jahren signifikant erhöhte DFS-Raten von 88%, während Patienten mit p53-Positivität (≥20%) DFS-Raten von 67% zeigten (p=0,038, **Abbildung 1**). Das CSS nach 5 Jahren betrug 93% bei p53-negativen Patienten und 73% bei p53-positiven Patienten (p=0,058, **Abbildung 2**).

Mit Ausnahme der prognostischen Wertigkeit des Einzelmarkers p53 für den Endpunkt DP konnten wir den unabhängigen Einfluss der in das Klatte-Nomogramm inkludierten molekularen Biomarker in der durchgeführten externen Validierung dieses Nomogramms nicht bestätigen [1].

**Tabelle 1                      Multivariable Analyse prognostischer Variablen auf die Endpunkte DP und CSM bei Patienten mit lokalisierter Erkrankung (N0M0, n = 343) entsprechend des originalen Nomogramms nach Klatte et al.**

<b>Parameter</b>	<b>DP HR (95%-CI), p*</b>	<b>CSM HR (95%-CI), p**</b>
<b>ECOG-PS <math>\geq 1</math></b> (Referenz: ECOG-PS 0)	<b>4.58 (2.45-8.55), p&lt;0.001</b>	<b>7.53 (3.66-15.47), p&lt;0.001</b>
<b>Pathologisches Tumorstadium (pT), pro 4er Kategorie</b>	<b>1.98 (1.45-2.71), p&lt;0.001</b>	<b>1.81 (1.26-2.62), p=0.001</b>
<b>Ki-67, pro 5%</b>	1.01 (0.99-1.02), p=0.359	1.01 (0.99-1.02), p=0.240
<b>p53, pro 10%</b>	<b>1.31 (1.07-1.59), p=0.008</b>	1.23 (0.97-1.55), p=0.084
<b>Endothelialer VEGFR-1, pro 5%</b>	0.94 (0.87-1.01), p=0.076	0.98 (0.91-1.06), p=0.679
<b>Epitheliale VEGFR-1, pro 10%</b>	1.07 (0.92-1.25), p=0.372	1.00 (0.84-1.18), p=0.976
<b>Epithelialer VEGF-D, pro 10%</b>	1.05 (0.96-1.14), p=0.273	1.02 (0.92-1.12), p=0.723

\*PA, 0.784 (95%-CI: 0.71-0.86); \*\*PA, 0.801 (95%-CI: 0.71-0.89)

DP = *Disease Progression*, Krankheitsprogression; CSM = *Cancer Specific Mortality*, krebsspezifische Mortalität; HR = Hazard Ratio; 95 % CI = *95% Confidence Interval*, 95% Konfidenzintervall; P = *P-value*, p-Wert; ECOG-PS = Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; VEGFR-1 = *Vascular Endothelial/Epithelial Growth Factor Receptor 1*, vaskulärer endothelialer/epithelialer Wachstumsfaktor-Rezeptor; VEGFD = *Vascular Epithelial Growth Factor D*, vaskulärer epithelialer Wachstumsfaktor D; PA = *Predictive Accuracy*, Vorhersagegenauigkeit

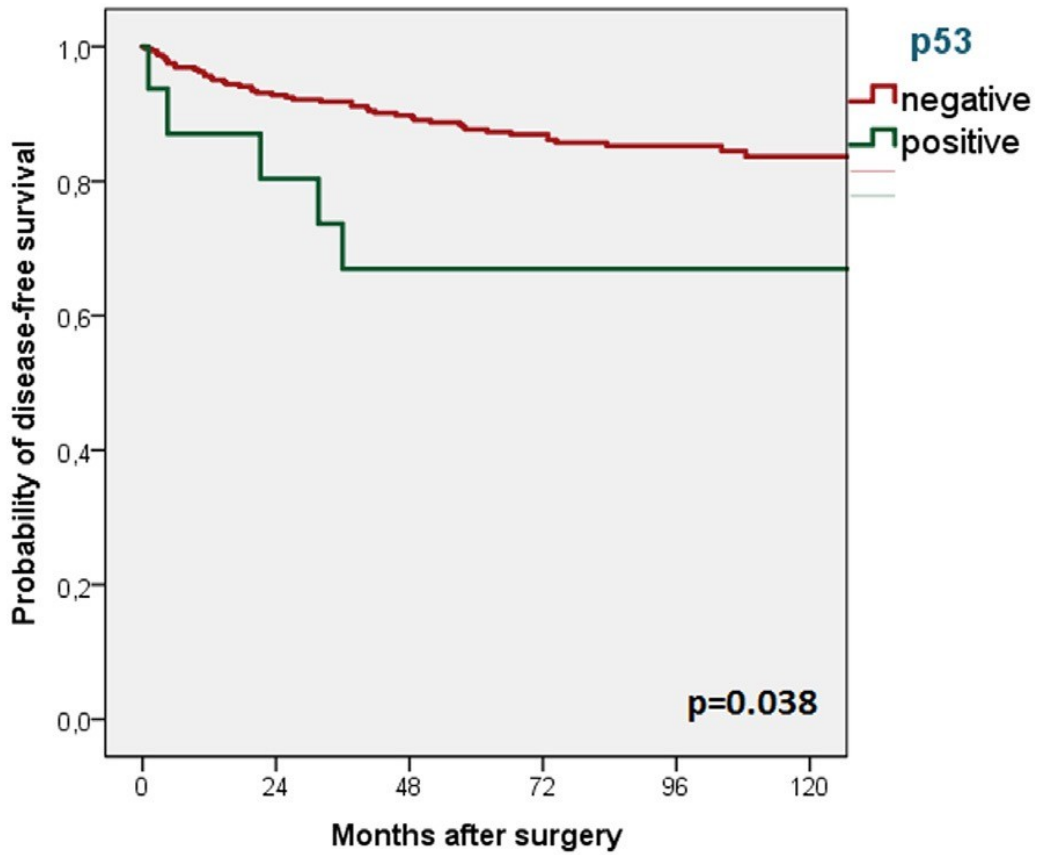
**Tabelle 2                      Multivariable Analyse prognostischer Variablen auf die Endpunkte DP und CSM in den 2 optimierten Modellen (N0M0, n = 343)**

<b>Parameter</b>	<b>DP HR (95%-CI), p*</b>	<b>CSM HR (95%-CI), p**</b>
<b>ECOG-PS <math>\geq 1</math></b> (Referenz: ECOG-PS 0)	<b>3.34 (1.70-6.57), p&lt;0.001</b>	<b>5.20 (2.50-10.82), p&lt;0.001</b>
<b>Alter</b> (kontinuierlich), pro Jahr	1.03 (1.00-1.06), p=0.099	<b>1.06 (1.02-1.11), p=0.001</b>
<b>pT3-4</b> (Referenz: pT1-2)	<b>2.75 (1.45-5.22), p=0.002</b>	<b>2.73 (1.26-5.89), p=0.011</b>
<b>Grade</b> , pro 3er Kategorie	<b>1.85 (1.03-3.33), p=0.040</b>	1.51 (0.78-2.94), p=0.223
<b>Pathologische Tumorgröße</b> (kontinuierlich), pro mm	<b>1.01 (1.00-1.02), p=0.001</b>	1.01 (1.00-1.02), p=0.028
<b>p53 positiv</b> (Referenz: negative)	<b>4.13 (1.59-10.77), p=0.004</b>	<b>3.74 (1.27-11.00), p=0.017</b>

\*PA, 0.807 (95%-CI: 0.73-0.89); \*\*PA, 0.817 (95%-CI: 0.74-0.90)

DP = *Disease Progression*, Krankheitsprogression; CSM = *Cancer Specific Mortality*, krebspezifische Mortalität; HR = Hazard Ratio; 95% CI = *95% Confidence Interval*, 95% Konfidenzintervall; P = *P-value*, p-Wert; ECOG-PS = Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; pT = *Pathologic Tumor Stage*, pathologisches Tumorstadium; PA = *Predictive Accuracy*, Vorhersagegenauigkeit

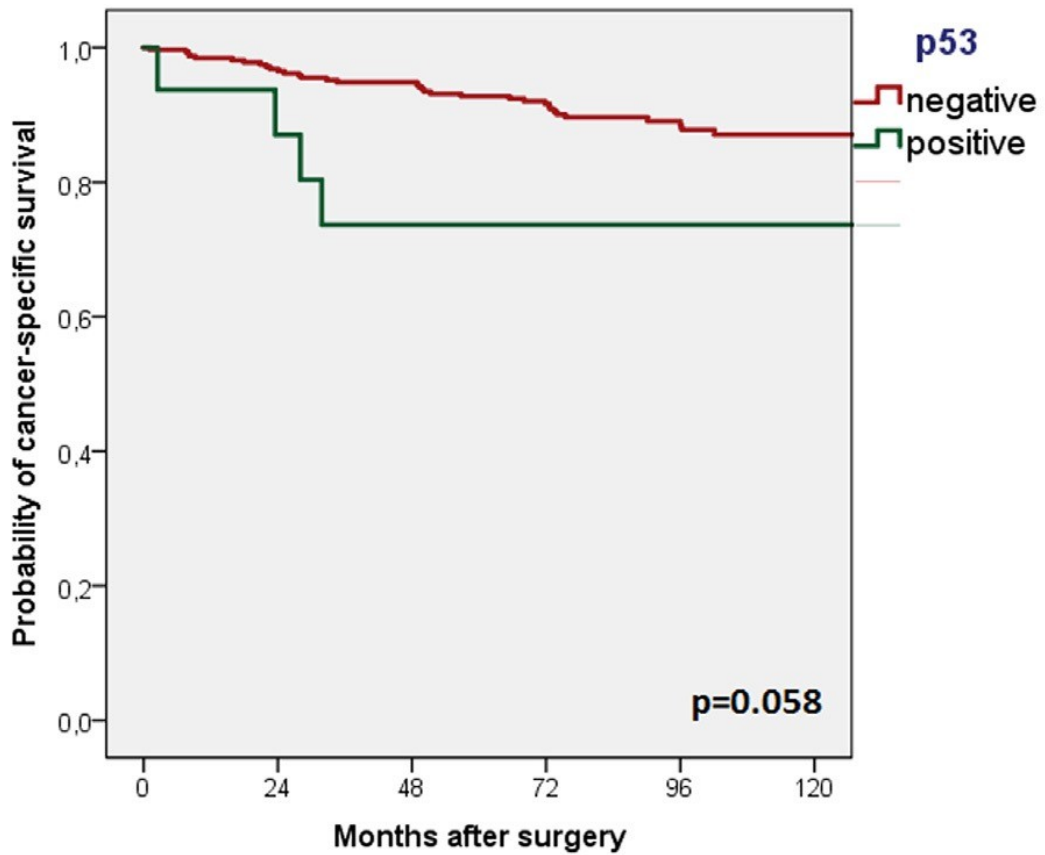
**Abbildung 1** Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt DFS anhand p53-Expression (neg. <20% vs. pos. ≥20%)



Number of patients at risk	0 months	24 months	48 months	72 months	96 months	120 months
p53 negative	327	283	260	220	132	62
p53 positive	16	12	10	9	7	3

DFS = *Disease Free Survival*, krankheitsfreies Überleben; P = *P-value*, p-Wert

**Abbildung 2** Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS anhand p53-Expression (neg. <20% vs. pos. ≥20%)



Number of patients at risk	0 months	24 months	48 months	72 months	96 months	120 months
p53 negative	327	294	275	235	139	63
p53 positive	16	13	11	10	8	4

CSS = *Cancer Specific Survival*, krebsspezifisches Überleben; P = *P-value*, p-Wert

## 6.2 Ergebnisse der Validierung des BioScore

Die Validierungskohorte bestand aus 382 RCC-Patienten. Das mediane Alter betrug 64 Jahre (IQR=57-71 Jahre). Der Großteil der Patienten war männlich (323; 61%) und hatte histologisch ein klarzelliges RCC (277; 73%).

Das mediane Follow-Up lag bei 7,8 Jahren. Während des Follow-Up konnten 132 Todesfälle beobachtet werden. 52% der Todesfälle wurden auf Krankheitsprogression zurückgeführt.

Die univariate Analyse der klinisch-pathologischen Parameter in Bezug auf CSM wird in **Tabelle 3** dargestellt.

Eine hohe Survivinexpression (HR=1.85, 95% CI=1.14-3.02, p=0.014) sowie eine hohe Expression von Ki-67 (HR=1.70, 95% CI=1.05-2.73, p=0.029) konnten eine erhöhte CSM in univariater Analyse vorhersagen, nicht aber eine erhöhte B7-H1-Expression (HR=1.00, 95% CI=0.62-1.61, p=0.995; **Tabelle 3**).

Ein höherer BioScore war schwach mit einem erhöhten Risiko für Tod durch RCC assoziiert (HR pro Punkt Zunahme =1,12, 95% CI=1,02-1,23, p=0,023; **Tabelle 4**). Die krebspezifischen 10-Jahres-Überlebensraten betragen 82% bei einem BioScore von null bis zwei Punkten, 79% bei einem BioScore von drei bis vier Punkten und 71% bei einem BioScore von mindestens fünf Punkten (log-rank p=0,048, **Tabelle 4, Abbildung 3**). Die krebspezifischen 10-Jahres-Überlebensraten betragen für einen SSIGN Score von null bis zwei Punkten 93%, 80% bei einem SSIGN Score von drei bis vier Punkten sowie 66% bei einem SSIGN Score von fünf bis sechs Punkten (p=<0,0001; **Tabelle 4, Abbildung 4**).

Die Diskriminierungsfähigkeit des BioScore war in der Validierungskohorte insgesamt mäßig (C-Index=0,60, 95% CI des C-Index=0,53-0,67). Im Gegensatz hierzu zeigte der extern validierte SSIGN Score eine deutlich höhere Diskriminierungsfähigkeit (C-Index=0,81, 95% CI=0,75-0,87). Des Weiteren war die Assoziation des SSIGN Score mit CSM deutlich stärker als die korrespondierende Assoziation zwischen BioScore (**Tabelle 3**).

Bei Patienten mit hoher Survivin-, Ki-67- oder B7-H1-Expression lagen die krebspezifischen 10-Jahres-Überlebensraten nach Kaplan-Meier bei jeweils 71%, 74% und 79%, bei Patienten ohne diese immunhistochemischen Eigenschaften bei 82%, 82% und 79% (**Tabelle 4; Abbildung 5-7**).

Im multivariablen Cox Regressionsmodell im Hinblick auf den Endpunkt CSM hatte nur der SSIGN Score einen statistisch signifikanten Einfluss auf CSM (**Tabelle 5**). Auch

durch Hinzufügen des BioScore zum SSIGN Score konnte dessen Diskriminierungsfähigkeit nicht verbessert werden (Änderung des Harrell-C-Index=0,01, 95% CI=0,01 bis 0,03, p=0,341). Die zusätzlich durchgeführte Sensitivitätsanalyse ergab, dass eine hohe B7-H1 Expression keinen signifikanten Einfluss auf CSM hat (HR für den cut-off bei  $\geq 30\%$  positiver Zellen=0,85, p=0.594; HR für den cut-off bei  $\geq 15\%$ =0.28, p=0.207).

Zusätzlich nahm die Prognosegenauigkeit von BioScore über die Zeit ab, diese Analyse war jedoch nicht statistisch signifikant (p=0,130) [2].

**Tabelle 3                      Univariate Analyse zum Einfluss der klinisch-pathologischen Parameter auf CSM bei Patienten mit RCC (n=382) [2]**

Variable	Hazard Ratio (HR)	95%CI	p-Wert
<b>Demographische Charakteristika</b>			
Alter bei Studieneintritt (pro 5 Jahre Zunahme)	1.27	1.12-1.45	<b>&lt;0.0001</b>
Weibliches Geschlecht	1.10	0.68-1.79	0.691
BMI (pro 5 kg/m <sup>2</sup> Zunahme)	0.66	0.48-0.90	<b>0.008</b>
ECOG-PS $\geq$ 1	13.95	8.54-22.78	<b>&lt;0.0001</b>
<b>Tumor Charakteristika</b>			
RCC-verbundene Symptome bei Diagnosestellung	1.88	1.16-3.04	<b>0.010</b>
Tumorlokalisation (Seite)	/	/	/
---rechts	Ref.	Ref.	Ref.
---links	1.05	0.64-1.70	0.856
---bilateral	1.38	0.42-4.51	0.599
Tumorlokalisation (Niere)	/	/	/
---oberes renales Drittes	Ref.	Ref.	Ref.
---mittleres renales Drittel	0.82	0.47-1.44	0.493
---unteres renales Drittel	0.69	0.38-1.26	0.230
Tumorgroße (pro 10mm Zunahme)	1.17	1.13-1.22	<b>&lt;0.0001</b>
TNM pT3-pT4	10.49	5.46-20.15	<b>&lt;0.0001</b>
TNM pN	/	/	/
---pN0	Ref.	Ref.	Ref.
---pN1	6.23	3.12-12.43	<b>&lt;0.0001</b>
---pNX	0.44	0.26-0.75	<b>0.002</b>



<b>Variable</b>	<b>Hazard Ratio (HR)</b>	<b>95%CI</b>	<b>p-Wert</b>
TNM cM	10.44	6.25-17.42	< <b>0.0001</b>
Fuhrmann Grade	/	/	/
---G1	Ref.	Ref.	Ref.
---G2	2.39	1.01-5.67	<b>0.047</b>
---G3	12.96	5.28-31.77	< <b>0.0001</b>
Tumorhistologie	/	/	/
---klarzelliges RCC	Ref.	Ref.	Ref.
---papilläres RCC	0.99	0.56-1.77	0.981
---chromophobes RCC	0.62	0.15-2.55	0.507
Nebennierenbeteiligung	27.68	10.43-73.49	< <b>0.0001</b>
Mikrovaskuläre Invasion	4.38	2.68-7.15	< <b>0.0001</b>
Lymphovaskuläre Invasion	6.19	3.06-12.51	< <b>0.0001</b>
Tumornekrose >10%	2.70	1.65-4.43	< <b>0.0001</b>
Multifokalität	2.30	0.99-5.33	0.052
<b>Chirurgische Charakteristika</b>			
Nephron-erhaltenden/partielle Nephrektomie	0.21	0.05-0.86	<b>0.030</b>
Adrenalektomie	2.89	1.79-4.66	< <b>0.0001</b>
Infiltration der Nierenvene und/oder V. cava	5.60	3.36-9.32	< <b>0.0001</b>
Fettgewebe-Invasion	5.31	3.29-8.55	< <b>0.0001</b>
Invasion des harnableitenden Systems	3.48	2.05-5.91	< <b>0.0001</b>
Positiver Resektionsstatus (R1)	12.93	5.53-30.26	< <b>0.0001</b>
<b>BioScore Variablen</b>			
B7-H1 „Positiv“	1.00	0.62-1.61	0.995
Nukleäres Survivin „Hoch“	1.85	1.14-3.02	<b>0.014</b>
Nukleäres Ki-67 „Hoch“	1.70	1.05-2.73	<b>0.029</b>
<b>Risikovorhersage</b>			
BioScore (pro 1 Punkt Zunahme)	1.12	1.02-1.23	<b>0.023</b>
BioScore (pro 1 SD Zunahme)	1.31	1.04-1.65	<b>0.023</b>
BioScore (pro Verdopplung)	1.20	0.96-1.51	0.107
SSIGN score (pro 1 Punkt Zunahme)*	1.51	1.41-1.61	< <b>0.0001</b>
SSIGN score (pro 1 SD Zunahme)	3.29	2.71-3.99	< <b>0.0001</b>
SSIGN score (pro Verdopplung)	3.92	2.81-5.45	< <b>0.0001</b>

CSM = *Cancer Specific Mortality*, krebsspezifische Mortalität; RCC = *Renal Cell Carcinoma*, Nierenzellkarzinom; 95% CI = *95% Confidence Interval*, 95% Konfidenzintervall; BMI = Body Mass Index; ECOG-PS = Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; TNM = Tumor Node Metastasis; pT = *Pathologic Tumor Stage*, pathologisches Tumorstadium; SSIGN = Stage, Size, Grade and Necrosis Score

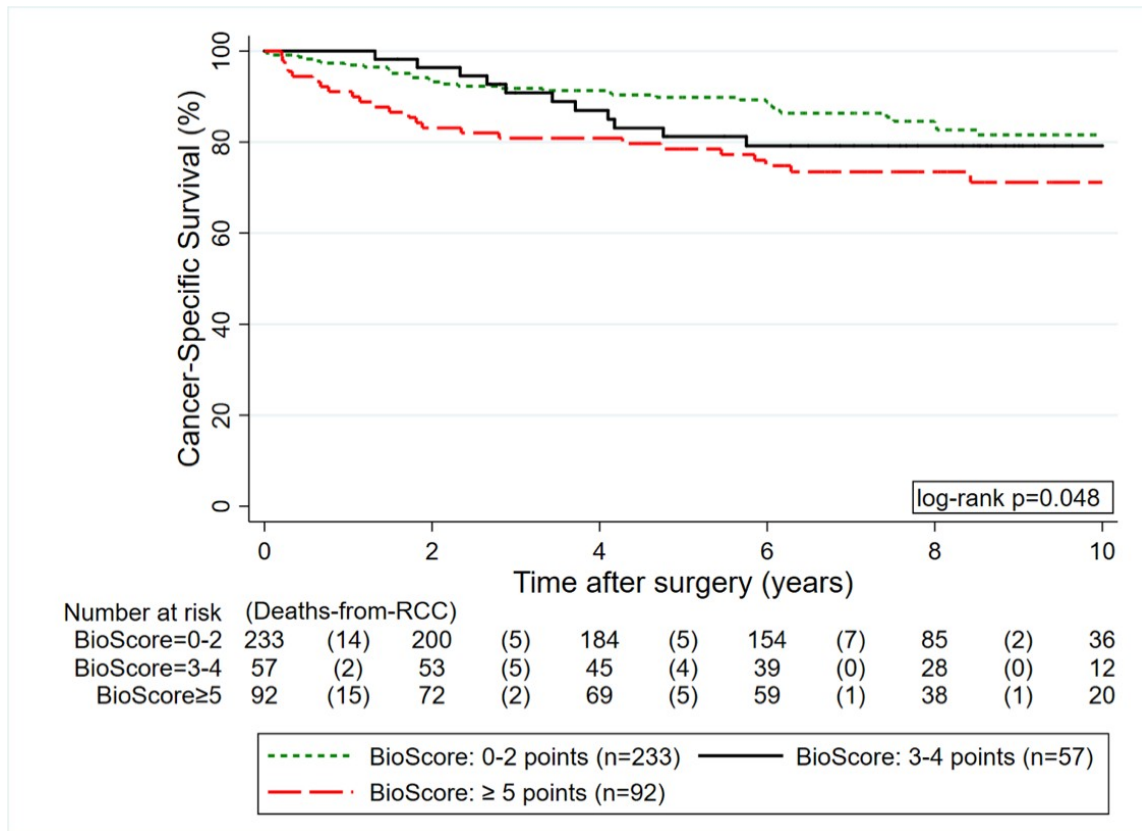
Tabelle 4

1-, 3-, 5- und 10-Jahres-Kaplan-Meier-Analysen für den Endpunkt CSS unterteilt nach hohem, niedrigem oder negativem Expressionslevel der Marker B7-H1, Survivin und Ki-67 sowie für die Risiko-Klassifizierungen anhand des BioScore und des SSIGN Score [2]

	1-J CSS (95%CI)	3-J CSS (95%CI)	5-J CSS (95%CI)	10-J CSS (95%CI)	log-rank p
<b>B7-H1 Expression</b>					
---B7-H1 „positiv“	96% (92-98)	90% (85-93)	85% (80-90)	79% (72-85)	0.995
---B7-H1 „negativ“	96% (92-98)	88% (82-92)	86% (80-91)	79% (70-85)	
<b>Survivin Expression</b>					
---Survivin „hoch“	92% (84-96)	80% (71-87)	78% (68-85)	71% (60-80)	<b>0.012</b>
---Survivin „niedrig“	97% (95-99)	92% (88-95)	89% (84-92)	82% (76-86)	
<b>Ki-67 Expression</b>					
---Ki-67 „hoch“	95% (90-97)	85% (78-90)	80% (72-85)	74% (66-81)	<b>0.028</b>
---Ki-67 „niedrig“	97% (94-98)	92% (88-95)	90% (85-93)	82% (75-87)	
<b>BioScore</b>					
---0-2 Punkte	97% (94-99)	92% (87-95)	90% (85-93)	82% (75-87)	<b>0.048</b>
---3-4 Punkte	100% (100-100)	91% (79-96)	81% (68-89)	79% (66-88)	
---5-7 Punkte	91% (83-95)	81% (71-88)	78% (68-86)	71% (60-80)	
<b>SSIGN score</b>					
---0-2 Punkte	100% (97-100)	97% (94-99)	97% (93-98)	93% (89-96)	<b>&lt;0.0001</b>
---3-4 Punkte	97% (90-99)	91% (81-95)	89% (79-94)	80% (66-89)	
---5-6 Punkte	96% (77-99)	93% (74-98)	82% (62-92)	66% (42-82)	
---7-9 Punkte	87% (68-95)	55% (36-71)	34% (17-51)	0% (0-0)	
---≥10 Punkte	46% (19-70)	8% (0-29)	8% (0-29)	0% (0-0)	

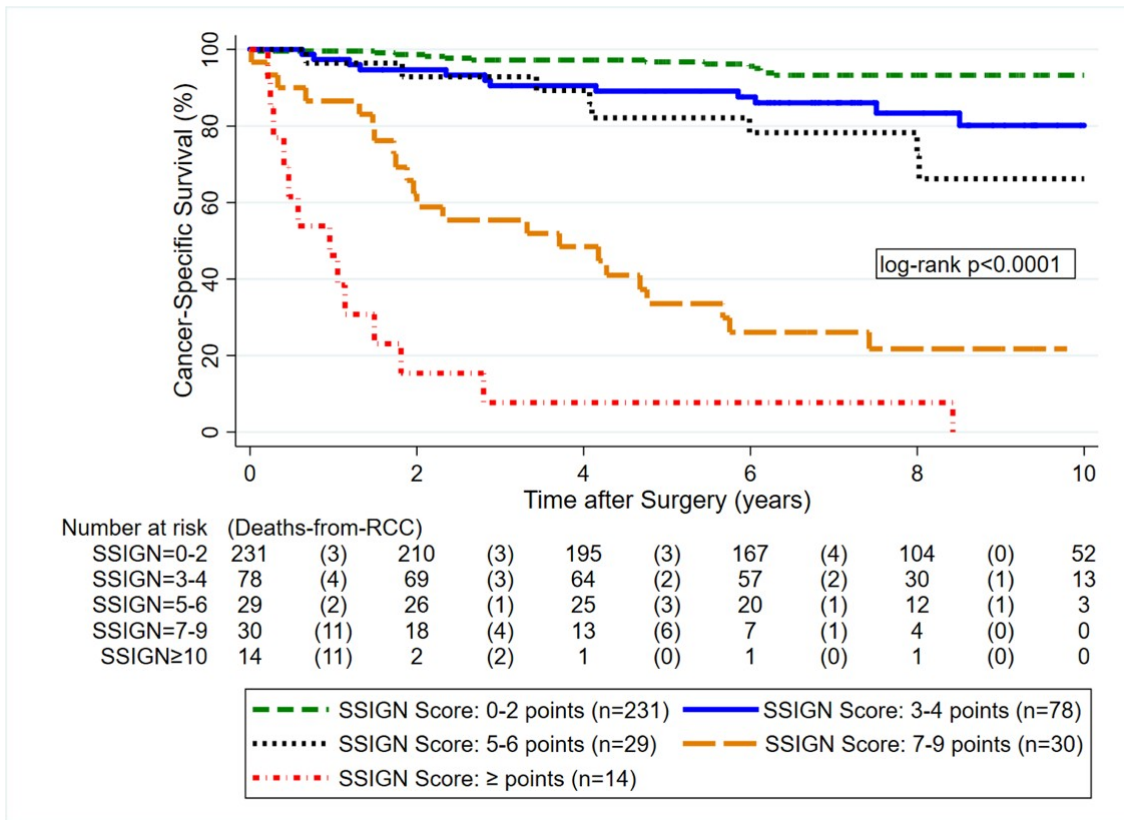
CSS = *Cancer Specific Survival*, krebspezifisches Überleben; SSIGN = Stage, Size, Grade and Necrosis Score; 95% CI = *95% Confidence Interval*, 95% Konfidenzintervall; P = *P-value*, p-Wert

**Abbildung 3** 1-, 3-, 5- und 10-Jahres-Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS in der Studienkohorte entsprechend BioScore-Klassifizierung [2]



CSS = *Cancer Specific Survival*, krebsspezifisches Überleben

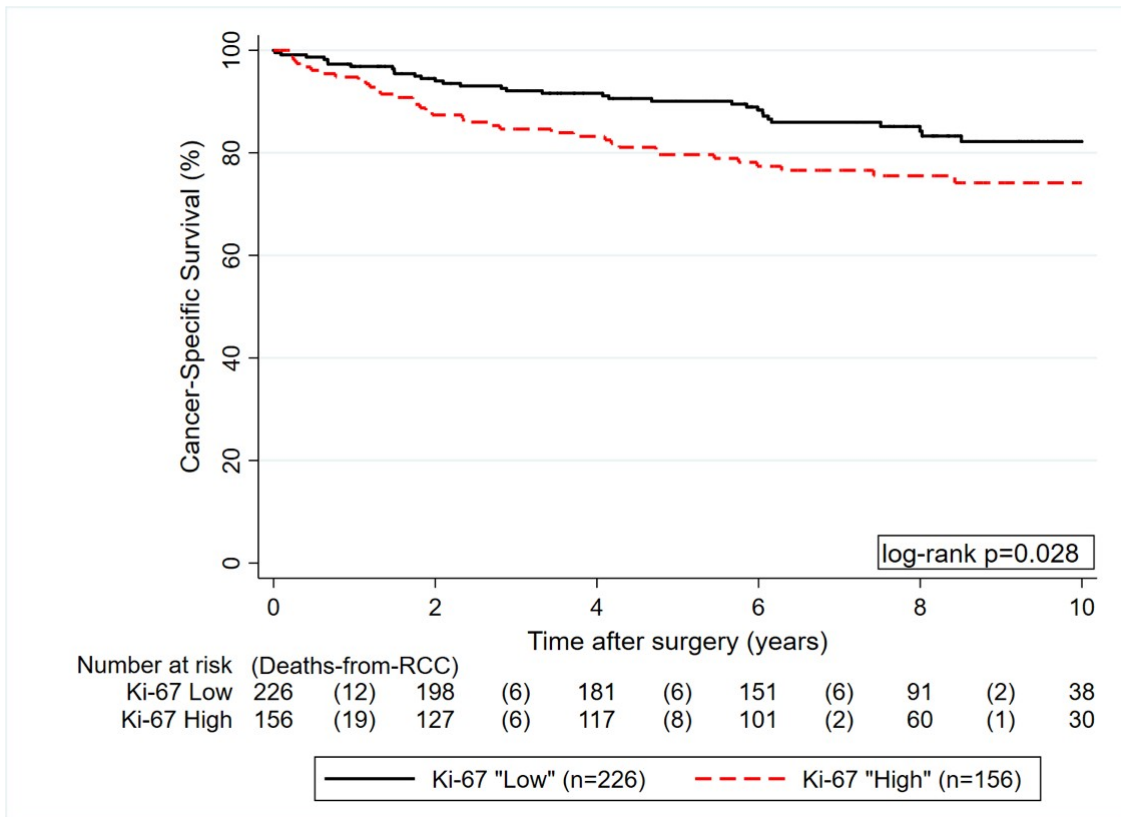
**Abbildung 4** 1-, 3-, 5- und 10-Jahres Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS in der Studienkohorte anhand SSIGN-Score-Klassifizierung [2]



CSS = *Cancer Specific Survival*, krebsspezifisches Überleben; SSIGN = Stage, Size, Grade and Necrosis Score

Abbildung 5

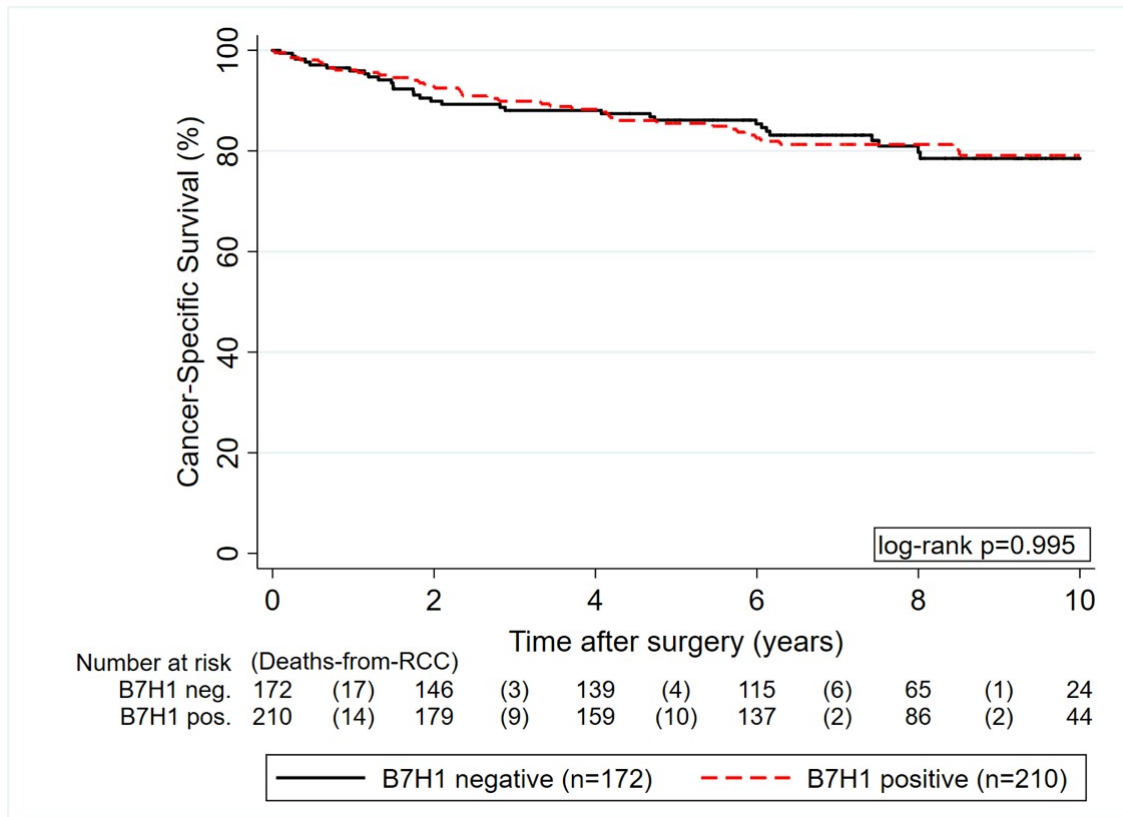
1-, 3-, 5- und 10-Jahres Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS unterteilt anhand Ki-67 Expression (hoch vs. niedrig) [2]



CSS = *Cancer Specific Survival*, krebsspezifisches Überleben

Abbildung 6

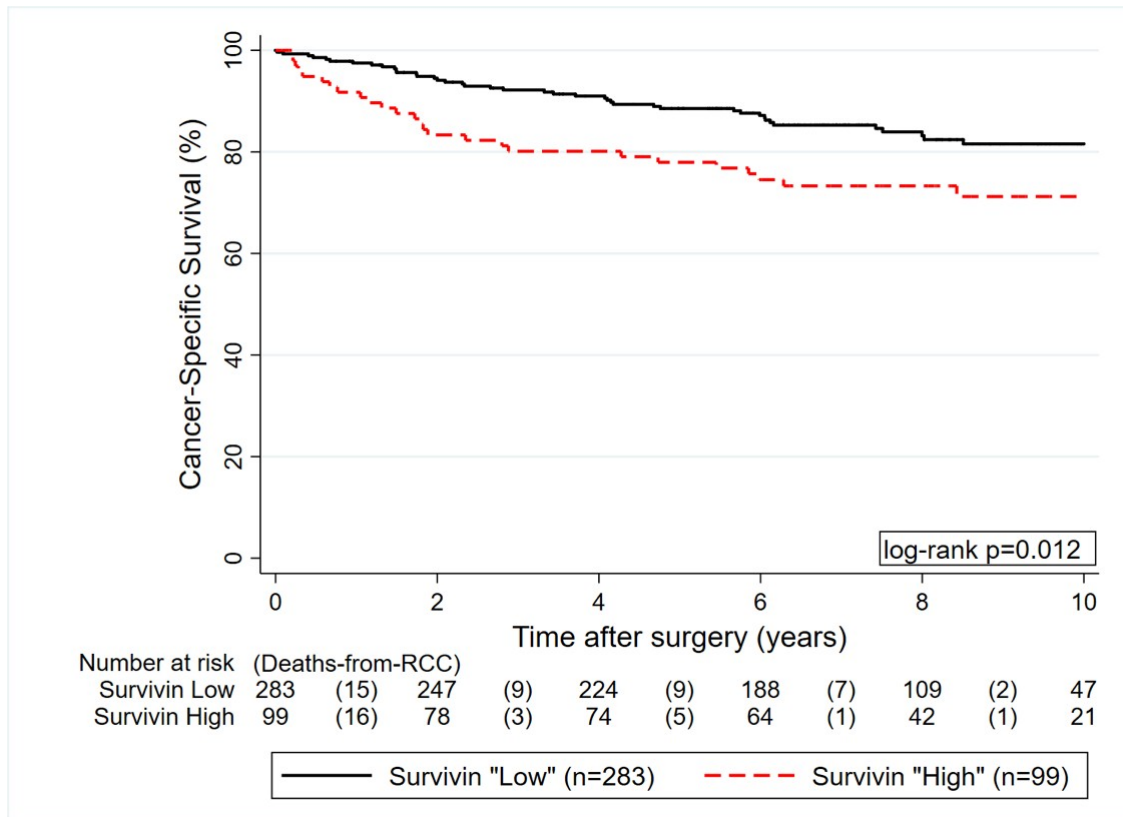
1-, 3-, 5- und 10-Jahres Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS unterteilt nach B7H1-Expression (positiv vs. Negativ) [2]



CSS = *Cancer Specific Survival*, krebsspezifisches Überleben

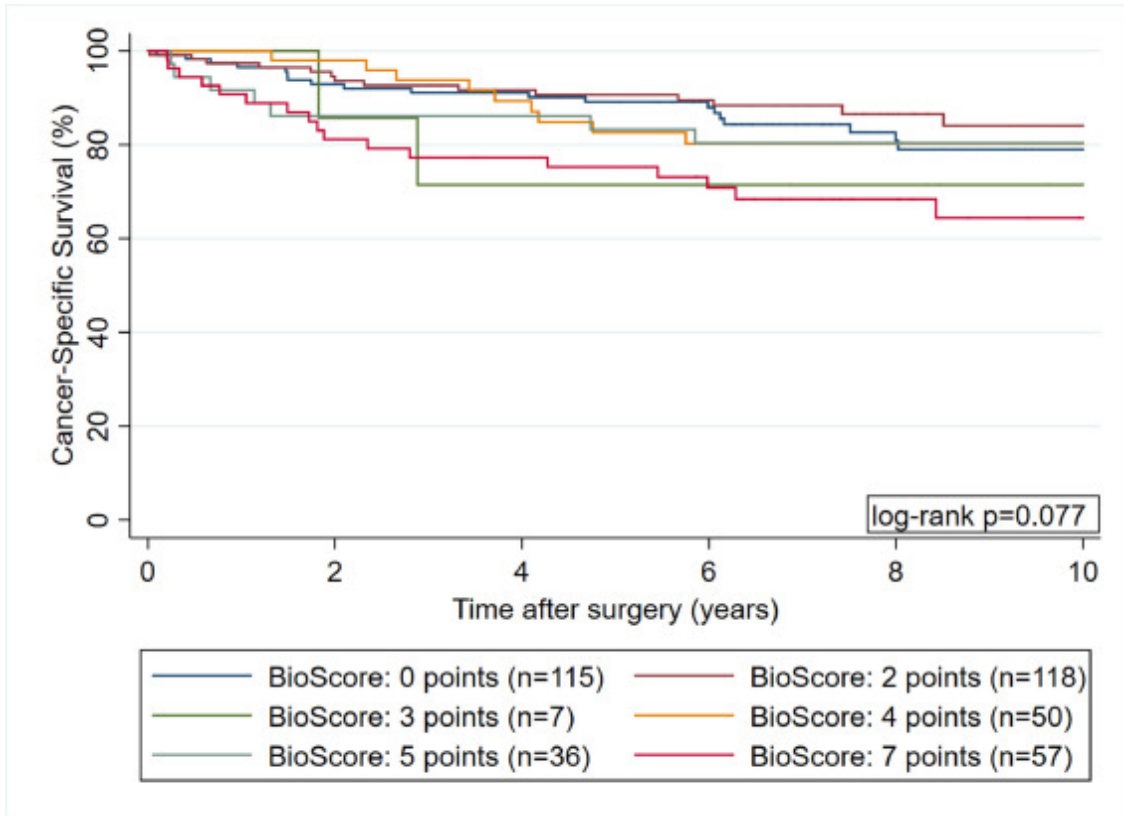
Abbildung 7

1-, 3-, 5- und 10-Jahres Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS unterteilt nach Survivin-Expression (hoch vs. niedrig) [2]



CSS = *Cancer Specific Survival*, krebsspezifisches Überleben

**Abbildung 8** 1-, 3-, 5- und 10-Jahres Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS stratifiziert nach BioScore-Punktwerten [2]





**Tabelle 5**                      **Multivariables Cox Regressionsmodell hinsichtlich CSS bei  
RCC Patienten, einschließlich BioScore und SSIGN Score [2]**

<b>Variable</b>	<b>Hazard Ratio (HR)</b>	<b>95%CI</b>	<b>p-Wert</b>
BioScore (pro 1 Punkt Zunahme)	1.01	0.91-1.11	0.896
SSIGN score (pro 1 Punkt Zunahme)	1.50	1.40-1.62	<b>&lt;0.0001</b>

CSS = *Cancer Specific Survival*, krebsspezifisches Überleben; RCC = *Renal Cell Carcinoma*, Nierenzellkarzinom; SSIGN score = Mayo Clinic Stage, Size, Grade and Necrosis Score; 95% CI = *95% Confidence Interval*, 95% Konfidenzintervall

## 7. Zusammenfassung

### 7.1 Zusammenfassung

Das RCC ist weltweit für ca. 2-3% aller Krebserkrankungen verantwortlich. Grundsätzlich stellt bei lokaler Ausbreitung eine kurative operative Therapie mittels Nephrektomie oder nierenerhaltender Operation den Goldstandard dar. Dennoch finden sich bei ca. 20-30 Prozent der Patienten im weiteren Verlauf Metastasen, teilweise auch noch Jahrzehnte nach Diagnosestellung. Sobald ein systemischer Progress zu verzeichnen ist, befindet sich der Patient unweigerlich in einer palliativen Therapiesituation, in der zwar zahlreiche Medikamente zur Verfügung stehen, die eine Verzögerung der Progression bis hin zur vorübergehenden Vollremission, aber keine Kuration ermöglichen.

Umso wichtiger ist eine möglichst frühe Risiko-Stratifizierung der Patienten nach Erstdiagnose oder operativer Primärtherapie mithilfe von Prognosetools, um Hochrisikopatienten eine adäquate Nachsorge und – falls künftig verfügbar – adjuvante Therapieoptionen zu ermöglichen oder sie in Therapiestudien zu adjuvanten Optionen einzuschließen, um die mittel- bis langfristige onkologische Prognose zu verbessern. Ebenso könnten so Patienten mit geringem Risiko unnötige Therapien mit teilweise schlechter Verträglichkeit erspart werden.

Um eine genauere individuelle Prognose nach Nephrektomie zu erhalten, wurden einige Nomogramme zur Vorhersage des individuellen Progressions- und Rezidiv-Risikos konzipiert, jedoch fehlt bei den meisten eine externe Validierung und somit die Grundlage für eine routinemäßige klinische Anwendung.

Ziel der vorliegenden Dissertation war die externe Validierung zweier publizierter Nomogramme zur Prädiktion des krankheitsfreien Überlebens bei Klatte et al. sowie der krebsspezifischen Mortalität bei BioScore [33, 34] anhand einer Studienkohorte von 393 Patienten mit lokalisiertem, nicht metastasierten RCC, die im Zeitraum von 1999 – 2004 an der Urologischen Klinik der Universität Regensburg mittels nierenerhaltender oder radikaler Nephrektomie operiert wurden. Beide Nomogramme zeichneten sich dadurch aus, dass sie neben bereits etablierten klinisch-pathologischen Faktoren auch molekulare Biomarker wie beispielsweise p53 und VEGF untersuchten und im Nomogramm bzw. Score inkludieren.

Von den von Klatte et al. [33] überprüften Biomarkern hatte in unserer Validierungs-Analyse [1] lediglich p53 einen unabhängigen Einfluss auf den Endpunkt DP, nicht jedoch auf CSM. Eine gesteigerte Prädikation wurde zusätzlich ermöglicht, indem der Marker nicht kontinuierlich, sondern anhand eines Cut-Offs von 20% für die Expression in die Modelle eingeschlossen wurde. Allerdings führte dies dennoch nicht zu einer signifikanten Verbesserung der Vorhersagegenauigkeit der Modelle. Unabhängig davon scheint aber trotzdem ein ungünstiger prognostischer Einfluss bei übermäßiger Expression von p53 zu bestehen. Weitere Studien sollten daher erfolgen, um zu untersuchen, inwiefern die prognostische Wertigkeit ggf. für definierte Patienten-Subgruppen variiert bzw. mit weiteren Faktoren assoziiert ist.

Neben der Validierung des Klatte-Nomogramms erfolgte im Rahmen dieser Dissertation auch die erstmalige externe Validierung des BioScores [34], der Patienten hinsichtlich ihres Risikos für den Endpunkt CSM unterteilt. Die Diskriminierungsfähigkeit von BioScore war in unserer Analyse nur gering (C-Index=0.6) [2]. Ebenso konnte durch eine Integration der im BioScore inkludierten Marker in ein multivariablen Modell mit Adjustierung für die im SSIGN enthaltenen Prognosemarker keine zusätzliche signifikante Verbesserung der prädiktiven Genauigkeit im Vergleich zum SSIGN Score alleine erreicht werden, welche auch ohne BioScore mit einem C-Index von 0.841 bereits sehr hoch war [36].

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass sich die Ergebnisse der beiden Nomogramme in der Validierungskohorte nicht reproduzieren ließen und die Nomogramme somit nicht für eine Anwendung im klinischen Alltag zur Prädiktion des individuellen onkologischen Risikoprofils in der Nachsorge- und Therapieplanung geeignet sind. Daher sollte weiterhin untersucht werden, aufgrund welcher Faktoren, abgesehen von bereits etablierten klinischen Faktoren, eine zuverlässige Risikoeinteilung von Patienten nach Nephrektomie erfolgen könnte, da wir zwingend auf reliable prognostische und ggf. auch prädiktive Marker angewiesen sind, um eine bestmögliche Patientenversorgung zu ermöglichen. Weitere Forschung zu molekularen Biomarkern sollte mit der Zielsetzung erfolgen, Biomarker zu identifizieren, die verlässliche Prognosen für Patienten mit RCC nach erfolgter Primärtherapie liefern und damit mittelfristig – durch adäquate Nachsorge- und Therapieplanung – auch die onkologische Prognose verbessern können. Im Hinblick auf neue Therapien, die molekulare Biomarker als Angriffspunkte nehmen, wären solche Marker auch als prädiktive Marker nutzbar, vorausgesetzt, ihr prädiktiver Nutzen wird unabhängig und prospektiv validiert und bestätigt.

## 7.2 Summary

RCC is responsible for approximately 2-3% of all cancers worldwide. Basically, curative surgical therapy using radical or partial nephrectomy is the gold standard for localized disease. Nevertheless, about 20-30 percent of patients eventually develop metastases, sometimes even decades after diagnosis. As soon as there is a systemic progress, patients are inevitably in a palliative therapy situation, in which numerous medications are available to prolong disease progression up to temporary complete remission, while curation is no longer possible. It is therefore most important to risk stratify patients as early as possible after initial diagnosis or operative primary therapy using prognostic tools in order to enable high-risk patients to receive adequate follow-up care and – if available in the future – adjuvant therapy options or to include them in adjuvant therapy studies in order to include the medium to long-term options to improve oncological prognosis. Likewise, patients with low risk can be spared unnecessary, sometimes poorly tolerated therapies.

In order to obtain a more precise individual prognosis after nephrectomy, some nomograms were designed to predict the individual progression and recurrence risk, but most of them lack external validation and thus the basis for routine clinical use.

The aim of this dissertation was the external validation of two published nomograms for the prediction of disease-free survival in the nomogram by Klatte et al. and cancer-specific mortality in BioScore [33, 34] based on a study cohort of 393 patients with localized, non-metastatic RCC who underwent surgery in a tertiary academic center from 1999 to 2004 using partial or radical nephrectomy. Both nomograms were characterized by the fact that, in addition to already established clinicopathological factors, they also examined molecular biomarkers such as p53 and VEGF and included them in the nomogram or score.

From those biomarkers reviewed by Klatte et al., only p53 had an independent influence on the endpoint DP in our validation analysis [1], but not on CSM. An increased predication was additionally made possible by not including the marker continuously, but instead using a cut-off of 20% for expression in the models. However, this did not lead to a significant improvement in the predictive accuracy of the models. Nonetheless, excessive p53 expression seems to show an inherent poor prognostic influence. Further studies should therefore be carried out to investigate to what extent the prognostic value may vary e.g. for defined patient subgroups or is associated with other factors.

Besides the validation of the Klatte nomogram, this doctoral thesis also carried out the first external validation of BioScore [34], which divides patients according to their risk for CSM. BioScore's ability to discriminate was only low in our analysis (c-index=0.6) [2]. Likewise, by integrating the markers included in BioScore into a multivariable model with adjustment for the prognostic markers contained in the SSIGN score, no additional significant improvement in the predictive accuracy compared to the SSIGN score alone could be achieved, which even without BioScore with a c-index of 0.841 was very high [36].

In summary, it should be noted that the results of the two nomograms could not be reproduced in the validation cohort and that the nomograms are therefore not suitable for use in everyday clinical practice to predict the individual oncological risk profile in aftercare and therapy planning. Therefore, it should be continued to investigate on the basis of which factors, apart from already established clinical factors, a reliable risk assessment of patients after nephrectomy could take place, since we are absolutely dependent on reliable prognostic and possibly also predictive markers in order to enable the best possible patient care.

Further research on molecular biomarkers should be carried out with the aim of identifying biomarkers that provide reliable prognoses for patients with RCC after primary therapy and can thus improve the oncological prognosis in the medium term – through adequate follow-up care and therapy planning. With regard to new therapies that use molecular biomarkers as targets, such markers could also be used as predictive markers, provided their predictive benefits are validated and confirmed independently and prospectively.

## 8. Eigenanteil an den vorgelegten Arbeiten

Die Doktorandin hat das Thema der Dissertation mit Unterstützung von Frau Prof. Dr. med. Sabine Brookman-May selbständig entwickelt. Die Doktorandin war an der Planung des Studienaufbaus für beide Validierungsstudien inklusive Erstellung der Tabellen zur Datensammlung, Planung bzw. Umsetzung der immunhistochemischen Färbungen und pathologischen Auswertungen, Datenakquise sowie Follow-Up-Datenerhebung aktiv beteiligt. Die statistischen Analysen und Auswertungen sowie die Interpretation der Daten der externen Validierung des Klatte-Nomogramms wurden von der Doktorandin mit Unterstützung der Koautoren der beiden durch die Doktorandin publizierten Originalarbeiten durchgeführt. Der veröffentlichte Artikel zur Validierung des Klatte-Nomogramms wurde von der Doktorandin als Erstautorin verfasst, zudem fungierte die Doktorandin hierbei als korrespondierende Autorin. Der Koautor stand bei weiteren Fragestellungen zur statistischen Auswertung sowie zur graphischen Darstellung der Studienergebnisse zur Verfügung. In der zweiten Originalarbeit zur externen Validierung des BioScores fungierte die Doktorandin als Koautorin.

## 9. Publikationen für die kumulative Dissertation

Zwei international publizierte Originalarbeiten beschreiben die Ergebnisse der externen Validierungen beider Nomogramme detailliert.

Unter dem von Morshaeuser L, May M, Burger M, et al. veröffentlichten Titel „*p53-expression in patients with renal cell carcinoma correlates with a higher probability of disease progression and increased cancer-specific mortality after surgery but does not enhance the predictive accuracy of robust outcome models*“ wurden die Ergebnisse der Validierung des Klatte-Nomogramms in der Zeitschrift *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* veröffentlicht [1].

*Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* erscheint bei Elsevier und ist die offizielle Zeitschrift der Society of Urologic Oncology. Der Impact Factor lag 2018 bei 2,863, der 5-Jahres Impact-Factor bei 2,914 [40, 41].

Die Ergebnisse der Validierung von BioScore wurden von Hutterer GC, Posch F, Buser L, et al. ebenfalls in der Zeitschrift *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* veröffentlicht unter dem Titel „*BioScore (B7-H1, survivin, and Ki-67) does not predict cancer-specific mortality in surgically treated patients with renal cell carcinoma: An external validation study.*“ [2].





## 10. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1	Multivariable Analyse prognostischer Variablen auf die Endpunkte Krankheitsprogression (DP) und karzinomspezifische Mortalität (CSM) bei Patienten mit lokalisierter Erkrankung (N0M0, n = 343) entsprechend dem originalen Nomogramm nach Klatte et al. ....	<b>19</b>
Tabelle 2	Multivariable Analyse prognostischer Variablen auf die Endpunkte Krankheitsprogression (DP) und karzinomspezifische Mortalität (CSM) nach den 2 optimierten Modellen (N0M0, n= 343).....	<b>20</b>
Tabelle 3	Univariate Analyse zum Einfluss der der klinisch-pathologischen Parameter auf das CSM bei Patienten mit RCC (n=382).....	<b>24</b>
Tabelle 4	1-, 3-, 5- und 10-Jahres-Kaplan-Meier-Analysen für den Endpunkt CSS unterteilt nach hohem, niedrigem oder negativem Expressionslevel der Marker B7-H1, Survivin und Ki-67 sowie für die Risiko-Klassifizierungen anhand des BioScore und des SSIGN Score .....	<b>26</b>
Tabelle 5	Multivariables Cox Regressionsmodell hinsichtlich CSS bei RCC Patienten, einschließlich BioScore und SSIGN Score .....	<b>33</b>
Abbildung 1	Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt DFS anhand p53-Expression (neg. <20% vs.pos. ≥20%).....	<b>21</b>
Abbildung 2	Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS (neg. <20% vs. pos. ≥20%).....	<b>22</b>

Abbildung 3	1-, 3-, 5- und 10-Jahres-Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS in der Studienkohorte entsprechend BioScore-Klassifizierung.....	<b>27</b>
Abbildung 4	1-, 3-, 5- und 10-Jahres Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS in der Studienkohorte anhand SSIGN-Score-Klassifizierung.....	<b>28</b>
Abbildung 5	1-, 3-, 5- und 10-Jahres Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS unterteilt anhand Ki-67 Expression (hoch vs. niedrig).....	<b>29</b>
Abbildung 6	1-, 3-, 5- und 10-Jahres Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS unterteilt nach B7H1-Expression (positiv vs. negativ).....	<b>30</b>
Abbildung 7	1-, 3-, 5- und 10-Jahres Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS unterteilt nach Survivin-Expression (hoch vs. niedrig).....	<b>31</b>
Abbildung 8	1-, 3-, 5- und 10-Jahres Kaplan-Meier-Kurven für den Endpunkt CSS stratifiziert nach BioScore-Punktwerten.....	<b>32</b>

## 11. Literaturverzeichnis

1. Morshaeuser L, May M, Burger M, Otto W, Hutterer GC, Pichler M, et al. p53-expression in patients with renal cell carcinoma correlates with a higher probability of disease progression and increased cancer-specific mortality after surgery but does not enhance the predictive accuracy of robust outcome models. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*. 2018 Mar;36(3):94.e15-94.e21. DOI: [10.1016/j.urolonc.2017.11.011](https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2017.11.011)
2. Hutterer GC, Posch F, Buser L, Zigeuner R, Morshäuser L, Otto W, Wild PJ, Burger M, May M, Pichler M, Brookman-May SD. BioScore (B7-H1, survivin, and Ki-67) does not predict cancer-specific mortality in surgically treated patients with renal cell carcinoma: An external validation study. *Urol Oncol*. 2019 Jul;37(7):510-518. DOI: [10.1016/j.urolonc.2019.04.004](https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2019.04.004)
3. European Network of Cancer Registries. Eurocim version 4.0. European incidence database V2.3, 730 entity dictionary, Lyon. 2011.
4. Lindblad P. Epidemiology of Renal Cell Carcinoma. *Scand J Surg*. 2004 Jun 1;93(2):88–96. DOI: [10.1177/145749690409300202](https://doi.org/10.1177/145749690409300202)
5. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012. *European Journal of Cancer*. 2013 Apr 1;49(6):1374–403. DOI: [10.1016/j.ejca.2012.12.027](https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.12.027)
6. Karim-Kos HE, Vries E de, Soerjomataram I, Lemmens V, Siesling S, Coebergh JWW. Recent trends of cancer in Europe: A combined approach of incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s. *European Journal of Cancer*. 2008 Jul 1;44(10):1345–89. DOI: [10.1016/j.ejca.2007.12.015](https://doi.org/10.1016/j.ejca.2007.12.015)
7. Ferlay J, Shin H-R, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International Journal of Cancer*. 127(12):2893–917. DOI: [10.1002/ijc.25516](https://doi.org/10.1002/ijc.25516)
8. Hunt JD, Hel OL van der, McMillan GP, Boffetta P, Brennan P. Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: Meta-analysis of 24 studies. *International Journal of Cancer*. 114(1):101–8. DOI: [10.1002/ijc.20618](https://doi.org/10.1002/ijc.20618)
9. Adams KF, Leitzmann MF, Albanes D, Kipnis V, Moore SC, Schatzkin A, et al. Body Size and Renal Cell Cancer Incidence in a Large US Cohort Study. *Am J Epidemiol*.

- 2008 Aug 1;168(3):268–77. DOI: [10.1093/aje/kwn122](https://doi.org/10.1093/aje/kwn122)
10. Ljungberg B, Albiges L, Abu-Ghanem Y, Bensalah K, Dabestani S, Fernández- Pello S, et al. European Association of Urology Guidelines on Renal Cell Carcinoma: The 2019 Update. *Eur Urol.* 2019 May;75(5):799-810. DOI:[10.1016/j.eururo.2019.02.011](https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.02.011)
  11. Weikert S, Boeing H, Pischon T, Weikert C, Olsen A, Tjønneland A, et al. Blood Pressure and Risk of Renal Cell Carcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am J Epidemiol.* 2008 Feb 15;167(4):438– 46. DOI: [10.1093/aje/kwm321](https://doi.org/10.1093/aje/kwm321)
  12. Zisman A, Pantuck AJ, Wieder J, Chao DH, Dorey F, Said JW, et al. Risk Group Assessment and Clinical Outcome Algorithm to Predict the Natural History of Patients With Surgically Resected Renal Cell Carcinoma. *JCO.* 2002 Dec 1;20(23):4559–66. DOI: [10.1200/JCO.2002.05.111](https://doi.org/10.1200/JCO.2002.05.111)
  13. Kim SP, Weight CJ, Leibovich BC, Thompson RH, Costello BA, Cheville JC, et al. Outcomes and Clinicopathologic Variables Associated With Late Recurrence After Nephrectomy for Localized Renal Cell Carcinoma. *Urology.* 2011 Nov 1;78(5):1101– 6. DOI: [10.1016/j.urology.2011.05.012](https://doi.org/10.1016/j.urology.2011.05.012)
  14. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C, Cancer IU against. TNM classification of malignant tumours [Internet]. 7th ed. Chichester, West Sussex, UK Wiley-Blackwell; 2009. Zuletzt aufgerufen am 27.04.2021. <https://trove.nla.gov.au/version/207914819>
  15. Tsui KH, Shvarts O, Smith RB, Figlin RA, deKernion JB, Belldegrun A. Prognostic indicators for renal cell carcinoma: a multivariate analysis of 643 patients using the revised 1997 TNM staging criteria. *J Urol.* 2000 Apr;163(4):1090-5; quiz 1295. DOI: [10.1016/s0022-5347\(05\)67699-9](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(05)67699-9)
  16. Levi F, Ferlay J, Galeone C, Lucchini F, Negri E, Boyle P, et al. The changing pattern of kidney cancer incidence and mortality in Europe. *BJU International.* 101(8):949–58. DOI: [10.1111/j.1464-410X.2008.07451.x](https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2008.07451.x)
  17. Brookman-May S, May M, Shariat SF, Xylinas E, Stief C, Zigeuner R, et al. Features Associated with Recurrence Beyond 5 Years After Nephrectomy and Nephron-Sparing Surgery for Renal Cell Carcinoma: Development and Internal Validation of a Risk Model (PRELANE score) to Predict Late Recurrence Based on a Large Multicenter Database (CORONA/SATURN Project). *European Urology.* 2013 Sep 1;64(3):472–7. DOI: [10.1016/j.eururo.2012.06.030](https://doi.org/10.1016/j.eururo.2012.06.030)
  18. Shvarts O, Seligson D, Lam J, Shi T, Horvath S, Figlin R, et al. p53 is an independent predictor of tumor recurrence and progression after nephrectomy in patients with localized

- renal cell carcinoma. *The Journal of Urology*. 2005 Mar 1;173(3):725–8. DOI: [10.1097/01.ju.0000152354.08057.2a](https://doi.org/10.1097/01.ju.0000152354.08057.2a)
19. Rioux-Leclercq N, Turlin B, Bansard J-Y, Patard J-J, Manunta A, Moulinoux J-P, et al. Value of immunohistochemical Ki-67 and p53 determinations as predictive factors of outcome in renal cell carcinoma. *Urology*. 2000 Apr 1;55(4):501–5. DOI: [10.1016/s0090-4295\(99\)00550-6](https://doi.org/10.1016/s0090-4295(99)00550-6)
  20. Mombini H, Givi M, Rashidi I. Relationship Between Expression of p53 Protein and Tumor Subtype and Grade in Renal Cell Carcinoma. *Urology Journal*. 2009 Mar 1;3(2):79–81. PMID: [17590839](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17590839/)
  21. Jacobsen J, Grankvist K, Rasmuson T, Bergh A, Landberg G, Ljungberg B. Expression of vascular endothelial growth factor protein in human renal cell carcinoma. *BJU Int*. 2004 Feb;93(3):297–302. DOI: [10.1111/j.1464-410x.2004.04605.x](https://doi.org/10.1111/j.1464-410x.2004.04605.x)
  22. Paradis V, Lagha NB, Zeimoura L, Blanchet P, Eschwege P, Ba N, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in renal cell carcinomas. *Virchows Arch*. 2000 Apr;436(4):351–6. DOI: [10.1007/s004280050458](https://doi.org/10.1007/s004280050458)
  23. Eichelberg C, Junker K, Ljungberg B, Moch H. Diagnostic and Prognostic Molecular Markers for Renal Cell Carcinoma: A Critical Appraisal of the Current State of Research and Clinical Applicability. *European Urology*. 2009 Apr 1;55(4):851–63. DOI: [10.1016/j.eururo.2009.01.003](https://doi.org/10.1016/j.eururo.2009.01.003)
  24. Ferrara N. VEGF as a Therapeutic Target in Cancer. *OCL*. 2005;69(Suppl. 3):11–6. DOI: [10.1159/000088479](https://doi.org/10.1159/000088479)
  25. Verheul HMW, Pinedo HM. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Tumor Angiogenesis and Early Clinical Development of VEGF Receptor Kinase Inhibitors. *Clinical Breast Cancer*. 2000 Sep 1;1:S80–4. DOI: [10.3816/cbc.2000.s.015](https://doi.org/10.3816/cbc.2000.s.015)
  26. Harris CC. Structure and function of the p53 tumor suppressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategies. *J Natl Cancer Inst*. 1996 Oct 16;88(20):1442–55. DOI: [10.1093/jnci/88.20.1442](https://doi.org/10.1093/jnci/88.20.1442)
  27. Guimaraes DP, Hainaut P. TP53: a key gene in human cancer. *Biochimie*. 2002 Jan 1;84(1):83–93. DOI: [10.1016/s0300-9084\(01\)01356-6](https://doi.org/10.1016/s0300-9084(01)01356-6)
  28. Powles T, Albiges L, Staehler M, Bensalah K, Dabestani S, Giles RH, et al. Updated European Association of Urology Guidelines: Recommendations for the Treatment of First-line Metastatic Clear Cell Renal Cancer. *European Urology*. 2018 Mar 1;73(3):311–5. DOI: [10.1016/j.eururo.2017.11.016](https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.11.016)
  29. Sorbellini M, Kattan MW, Snyder ME, Reuter V, Motzer R, Goetzl M, et al. A postoperative prognostic nomogram predicting recurrence for patients with conventional clear cell renal

- cell carcinoma. *The Journal of Urology*. 2005 Jan 1;173(1):48–51. DOI: [10.1097/01.ju.0000148261.19532.2c](https://doi.org/10.1097/01.ju.0000148261.19532.2c)
30. Karakiewicz PI, Briganti A, Chun FK-H, Trinh Q-D, Perrotte P, Ficarra V, et al. Multi-Institutional Validation of a New Renal Cancer–Specific Survival Nomogram. *JCO*. 2007 Apr 10;25(11):1316–22. DOI: [10.1200/JCO.2006.06.1218](https://doi.org/10.1200/JCO.2006.06.1218)
31. Kattan MW, Reuter V, Motzer RJ, Katz J, Russo P. A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma. *The Journal of Urology*. 2001 Jul 1;166(1):63–7. PMID: [11435824](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11435824/)
32. Lam JS, Shvarts O, Leppert JT, Pantuck AJ, Figlin RA, Belldegrun AS. Postoperative surveillance protocol for patients with localized and locally advanced renal cell carcinoma based on a validated prognostic nomogram and risk group stratification system. *The Journal of Urology*. 2005 Aug 1;174(2):466–72. DOI: [10.1097/01.ju.0000165572.38887.da](https://doi.org/10.1097/01.ju.0000165572.38887.da)
33. Klatte T, Seligson DB, LaRochelle J, Shuch B, Said JW, Riggs SB, et al. Molecular Signatures of Localized Clear Cell Renal Cell Carcinoma to Predict Disease-Free Survival after Nephrectomy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009 Mar 1;18(3):894–900. DOI: [10.1158/1055-9965.EPI-08-0786](https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0786)
34. Parker AS, Leibovich BC, Lohse CM, Sheinin Y, Kuntz SM, Eckel-Passow JE, et al. Development and Evaluation of BioScore. *Cancer*. 2009 May 15;115(10):2092–103. DOI: [10.1002/cncr.24263](https://doi.org/10.1002/cncr.24263)
35. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol*. 1982 Dec;5(6):649–55. PMID: [7165009](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7165009/)
36. Frank I, Blute ML, Chevillet JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. An Outcome Prediction Model for Patients with Clear Cell Renal Cell Carcinoma Treated with Radical Nephrectomy Based on Tumor Stage, Size, Grade and Necrosis: The Ssign Score. *The Journal of Urology*. 2002 Dec 1;168(6):2395–400. DOI: [10.1097/01.ju.0000035885.91935.d5](https://doi.org/10.1097/01.ju.0000035885.91935.d5)
37. Sobin LH, Wittekind C, *Cancer IU against. TNM: classification of malignant tumours* [Internet]. 6th ed. New York : Wiley-Liss; 2002. Zuletzt aufgerufen am 27.04.2021. <https://trove.nla.gov.au/version/46499586>
38. Kovacs G, Akhtar M, Beckwith BJ, Bugert P, Cooper CS, Delahunt B, et al. The Heidelberg classification of renal cell tumours. *The Journal of Pathology*. 183(2):131–3. DOI: [10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199710\)183:2<131::AID-PATH931>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199710)183:2<131::AID-PATH931>3.0.CO;2-G)
39. Störkel S, Thoenes W, Jacobi GH, Lippold R. Prognostic parameters in renal cell carcinoma—a new approach. *Eur Urol*. 1989;16(6):416–22. DOI: [10.1159/000471633](https://doi.org/10.1159/000471633)
40. Elsevier Journal Insights. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*. Impact

Factor. Zuletzt aufgerufen am 27.04.2021.

[https://journalinsights.elsevier.com/journals/1078-1439/impact\\_factor](https://journalinsights.elsevier.com/journals/1078-1439/impact_factor)

41. Elsevier Journal Insights. Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations. 5 year Impact Factor. Zuletzt aufgerufen am 27.04.2021\_

[https://journalinsights.elsevier.com/journals/1078-1439/impact\\_factor\\_5\\_year](https://journalinsights.elsevier.com/journals/1078-1439/impact_factor_5_year)

## 12. Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. med. Sabine Brookman-May sowie bei Herrn Prof. Dr. med. Christian Stief für die Überlassung des Themas und somit der Ermöglichung dieser Doktorarbeit bedanken.

Besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. Sabine Brookman-May und Herrn Prof. Dr. med. Matthias May für die wertvolle fachliche sowie menschliche Unterstützung und Hilfestellung bei jeglichen Fragen zur Dissertation.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Maximilian Burger und bei Herrn PD Dr. med. Wolfgang Otto für die Möglichkeit der Validierung einer Studiengruppe aus dem Regensburger Klinikum bedanken.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern Johann und Erika und bei meinen Schwestern bedanken, die mich auf meinem bisherigen Weg jederzeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt auch meinem Partner Nikolas Günthner, der mich zu jeder Zeit unterstützt und aufgemuntert hat



