

1. Einleitung

Das Glykoprotein Erythropoietin (EPO) stellt den wichtigsten singulären Faktor für die Regulation der Hämatopoese dar. EPO zeigt eine betont restriktive Gewebe- und zellspezifische Expression. Im Erwachsenenalter findet die hämatopoietisch relevante Sekretion dieses Glykoproteins zum einen durch die peritubulären Fibroblasten der Niere statt und zum anderen, jedoch mit deutlich geringerer Bedeutung, in den Hepatozyten und den Ito-Zellen der Leber. Die zugrunde liegenden Mechanismen dieser stark eingeschränkten Expression / Sekretion sind nicht bekannt.

Klinisch bedeutsam ist vor allem ein Mangel an EPO, insbesondere bei verschiedensten Nierenerkrankungen, was in einer Anämie resultiert. Sehr viel seltener sind krankhafte Zustände, die mit einer Überproduktion von Erythrozyten (Polyzythämie) einhergehen, die unter anderem von einer gesteigerten Produktion von EPO ausgelöst werden können. Von besonderem Interesse ist dabei das Syndrom der paraneoplastischen Polyzythämie, welches in den meisten Fällen ebenfalls durch die Überexpression von EPO verursacht wird. Dieses insgesamt recht seltene Phänomen wird vermehrt bei Nierenzellkarzinomen (NZK) beobachtet, wohingegen es bei anderen Tumoren nur jeweils in Einzelfällen beschrieben wurde. Die Mehrzahl der NZK, sporadisch sowie im Rahmen des familiären VHL-Syndroms, entstehen durch die Inaktivierung des von Hippel Lindau (VHL) Tumorsuppressorgenes. Dieses Gen spielt eine entscheidende Rolle in dem Abbau des „Hypoxia-inducible Factor“ (HIF). HIF ist ein Sauerstoff regulierter Transkriptionsfaktor, dem in hypoxischen Geweben, wie z.B. in Tumoren oder ischämischen Erkrankungen, eine Schlüsselrolle in der sauerstoffabhängigen Genregulation zukommt. Er ist der maßgebliche Regulator der sauerstoffabhängigen Induktion des EPO Genes, welches als Funktion der Sauerstoffverfügbarkeit in renalen Geweben umgesetzt wird. Klarzellige NZK und nur diese sind mit der VHL Inaktivierung assoziiert, sollen aus proximalen Tubuluszellen entstehen, die normalerweise keine EPO Genexpression zeigen. Trotzdem weist eine signifikante Zahl von Patienten mit NZK eine erhöhte Serum EPO Konzentration auf, ohne dabei das klinische Syndrom der Polyzythämie zu zeigen. Offensichtlich finden in dem Gewebe einzelner NZK also Prozesse statt, die eine systemisch relevante EPO Sekretion ermöglichen. Dieses ist charakteristisch nur für NZK. In der Literatur sind Einzel-Kasuistiken beschrieben, in denen die erhöhte EPO Produktion klar auf die Tumorzellen zurückzuführen sind.

Die genauen Kenntnisse der Zusammenhänge von EPO Genexpression, VHL Inaktivierung und HIF Stabilisierung in Nierenzellkarzinomen sind nur unzureichend bekannt. Kommt es zu einer Einwanderung von peritubulären Fibroblasten in das Tumorgewebe oder verändern sich einige Tumorzellen so, dass sie in der Lage sind, EPO zu exprimieren?

In der vorliegenden Arbeit werden 70 NZK mit unterschiedlichem histologischen Typ analysiert. Dabei werden die Ergebnisse für HIF-1 α , HIF-2 α und EPO sowohl für alle klarzelligen Nierenzellkarzinome als auch im Vergleich von klarzelligen NZK mit nicht klarzelligen NZK zusammengefasst.

1.1. Erythropoietin (EPO)

1.1.1. Historische Hintergründe

Claude Bernard und seine Mitarbeiter entwickelten vor mehr als 100 Jahren in Paris zwei neue Konzepte, wonach die Idee entstand, dass ein Faktor existieren müsse, der die Erythropoiese kontrolliert und reguliert [1;2]. Zum einen begann man die Konsequenzen eines Sauerstoffmangels im arteriellen Blut zu verstehen und zum anderen erkannte man, dass die Proliferation und die metabolische Aktivität von Geweben durch endokrine Drüsen geregelt werden können.

Im Jahre 1948 führten Bonsdorff und Jalavisto den Namen Erythropoietin [3] ein.

Jacobson et al [4] zeigten in Studien an anephrischen Tieren, dass EPO in der Niere synthetisiert wird und dass dieser Prozess durch den Sauerstoffpartialdruck reguliert wird. Vier Jahre später (1961) wurden erstmals Berichte [5;6] über die EPO-Bildung isolierter, mit Blut perfundierter Nieren publiziert.

Zunächst vertrat man die Auffassung, dass die Nierenzellen nicht direkt EPO synthetisieren könnten, sondern dass sie ein Enzym bilden, welches ein in der Leber produziertes Proerythropoietin aufspaltet. Erslev [7] gelang es jedoch im serumfreien Perfusat isolierter Nieren EPO-Aktivität nachzuweisen. Im Jahre 1985 konnte das humane Erythropoietin Gen auf dem Chromosom sieben identifiziert und strukturell aufgeklärt werden [11;12]. Mit dieser Information konnte die EPO-Genexpression direkt untersucht werden. 1986 konnten verschiedene Arbeitsgruppen die EPO-mRNA in der Niere direkt nachweisen (1986 Beru et al [8], Bondurant&Koury [9] und Schuster et al [10]).

1.1.2. Syntheseorte und Regulation von EPO

EPO ist ein Glykoprotein und gehört zur Gruppe der hämatopoietischen Wachstumsfaktoren. Das Knochenmark ist sein hauptsächliches Zielorgan und es steuert und reguliert in diesem die Bildung der roten Blutkörperchen (Erythropoiese).

Über eine Hemmung der Apoptose, dem programmierten Zelltod, in den erythropoietischen Vorläuferzellen des Knochenmarkes führt EPO zu einer gesteigerten Proliferation und Differenzierung der Erythrozyten [13;14;15].

Die für die Hämatopoiese relevante EPO-Produktion findet während der Fetalperiode in Leber und Niere statt, wobei die Leber, durch die Hepatozyten und Ito-Zellen, in dieser Zeit die Hauptsynthese übernimmt [16;17]. Dieses Verhältnis ändert sich im Erwachsenenalter zugunsten der Nieren, wobei die peritubulären Fibroblasten die EPO-Produktion wahrnehmen [18;19;20;21].

Der einzig relevante physiologische Stimulus für die gesteigerte Sekretion von EPO ist eine verminderte Sauerstoffspannung des Gewebes. Ursächlich können dabei zahlreiche klinische Zusammenhänge, wie Anämie, kardiale oder respiratorische Insuffizienz sein. Das EPO Protein wird nach der Synthese nicht relevant zellulär gespeichert, sondern effizient sezerniert. Bei der Regulation kommt daher der Genexpression die grösste Bedeutung zu, insbesondere der *de novo* Transkription [15]. Aus diesem Grund wurde intensiv nach sauerstoffabhängigen transkriptionellen Regulationsmechanismen des EPO Gens gesucht. Gen-Deletionsstudien konnten die sauerstoffabhängige Domäne des EPO Gens identifizieren. Es handelt sich dabei um ein Enhancer Element, welches 3' des kodieren Bereiches liegt [22;23;24]. Dieser Enhancer beinhaltet ein "Consensus Motif" 5'- A/CCGTG - 3', welches die Bindungsstelle für einen bis dahin nicht bekannten sauerstoffabhängigen Transkriptionsfaktor darstellt, der aus diesem Grunde „Hypoxia Responsive Element“ (HRE) genannt wurde.

Im Jahr 1995 gelang es Semenza und Wang, den Transkriptionsfaktor „Hypoxia-inducible Factor-1“ (HIF-1) als bindenden Faktor an den HRE des EPO Gens zu identifizieren [25].

1.2. „Hypoxia-inducible Factor-1“ (HIF-1)

1.2.1. Struktureller Aufbau

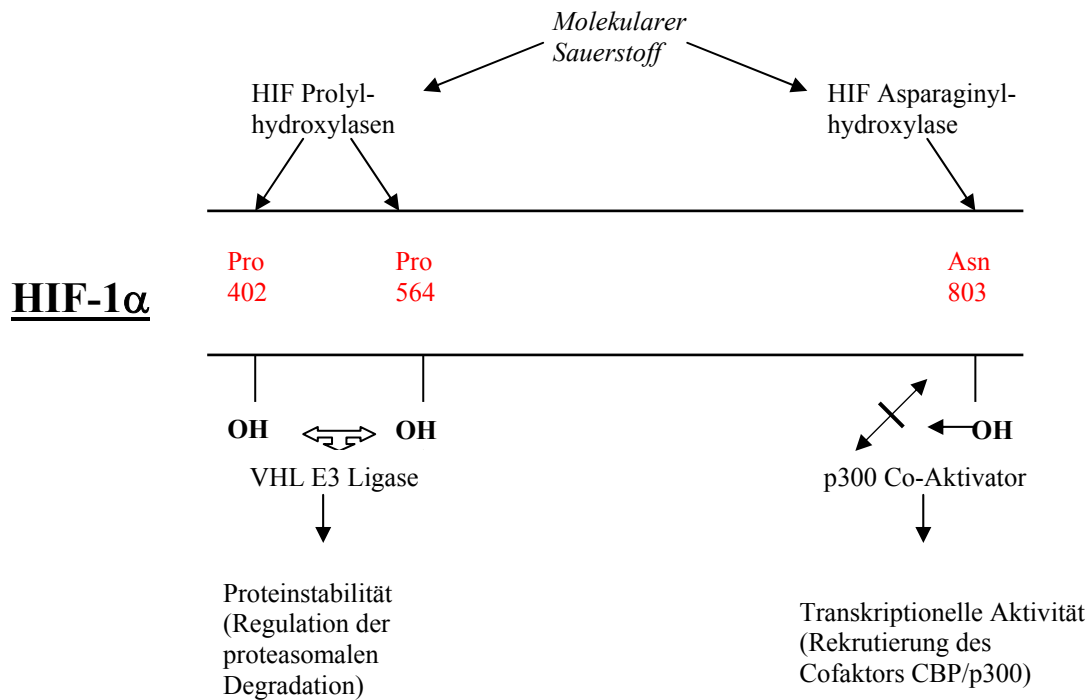
Der Transkriptionsfaktor HIF-1 ist ein Heterodimer bestehend aus den beiden Untereinheiten HIF-1 α (ca. 120 kDa) [26] und HIF-1 β (ca. 94 kDa), zwei Proteinen aus der Familie der „basic-Helix-Loop-Helix“ (bHLH) - Per-ARNT-Sim (PAS) regulatorischen Faktoren. HIF-1 β stellte ein bereits bekanntes Protein dar, mit der Bezeichnung „Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator“ (ARNT) und fungiert ebenfalls als Dimerisationspartner anderer bHLH-PAS Proteine. Dahingegen konnte mit HIF-1 α ein neues, bislang unbekanntes Protein identifiziert werden. HIF-1 β ist ein konstitutives Protein, wohingegen HIF-1 α direkt und invers durch die Sauerstoffspannung reguliert wird [27;28].

Bisher konnten zwei sauerstoffabhängige HIF- α Isoformen identifiziert werden. Diese sind zum einen HIF-1 α und zum anderen das später identifizierte HIF-2 α [29]. Beide Untereinheiten werden in sehr ähnlicher Weise reguliert, wie es vor allem in Tumorzelllinien gezeigt werden konnte [30]. Die HIF- α Untereinheiten dimerisieren jeweils mit HIF-1 β und bilden somit den funktionsfähigen dimeren Transkriptionsfaktor, entsprechend benannt HIF-1 oder HIF-2. Die aminoterminalen bHLH-PAS Domänen vermitteln dabei die Dimerisierung, als auch die DNA-Bindung an ihre Zielgene.

1.2.2. Regulation von HIF-1

Die HIF- α Untereinheiten stellen die regulatorischen Untereinheiten der funktionellen transkriptionellen Komplexe dar. Sie werden direkt durch das Sauerstoffangebot an die Zellen reguliert. In Gegenwart von molekularem Sauerstoff sind die HIF- α Untereinheiten kaum nachweisbar. Hingegen zeigen sie in der Zellkultur, nach Inkubation in hypoxischer Umgebung (1% Sauerstoff), einen umgehenden Anstieg der Proteinexpression, welche einen maximalen Wert nach zwei bis vier Stunden Hypoxie verzeichnet. Die sauerstoffabhängige Proteinakkumulation ist nicht mit einer signifikanten Regulation auf RNA Ebene verbunden. Vielmehr findet die Regulation durch posttranslatorische Modifikationen statt, die nicht nur die Proteinstabilität, sondern auch die transkriptionelle Aktivität beeinflussen (siehe Abbildung 1) [30;31;32].

Abbildung 1: Aufbau und Regulation von HIF-1 (modifiziert nach P.J. Ratcliffe [32])



Pro=Prolin; Asn=Asparagin; VHL E3 Ligase Komplexe bestehend aus Elongin B/C, Cul-2, Rbx-1

In Anwesenheit von molekularem Sauerstoff erfolgt durch die Hydroxylierung an den Prolinresten (Pro 402/Pro 564) die proteolytische Destruktion von HIF-1 α , welche über den VHL E3 Ubiquitin Ligase Komplex vermittelt wird. Zum anderen erfolgt eine weitere Hydroxylierung am C-terminalen Ende von HIF-1 α (Asn 803). Dieser Schritt verhindert die Interaktion von HIF α mit dem transkriptionalen Koaktivator CBP/p300, und mindert daher die transkriptionelle Aktivität.

Unter hypoxischen Verhältnissen sind diese Regulationsmechanismen aufgehoben und es resultiert eine Stabilisierung von HIF-1 α mit nachfolgender Aktivierung seiner Zielgene, welche z.B. in die Erythropoese, den Glukosestoffwechsel oder den Eisentransport involviert sind.

Unter dem Einfluss von molekularem Sauerstoff werden die HIF- α Untereinheiten an definierten Aminosäuren hydroxyliert. Die Enzyme, die diese Reaktion katalysieren sind eisen- und 2-oxoglutaratabhängige Hydroxylasen, die als obligates Substrat molekularen Sauerstoff benötigen. Sie werden daher momentan als wichtige intrazelluläre Sauerstoffsensoren verstanden. Einerseits werden spezifische Prolylreste (Pro402 und Pro564 von HIF-1 α , siehe auch Abb. 1) hydroxyliert. Diese Reaktion ist für die Bindung einer E3-Ubiquitin Ligase notwendig, die zur Polyubiquitinierung führt. Im Anschluss daran werden die HIF- α Untereinheiten über das Proteasom zerstört.

Unter atmosphärischer Sauerstoffspannung beträgt die Halbwertszeit der HIF- α Isoformen nur wenige Minuten [33;34;35;36]. Andererseits wird ein Asparaginrest (Asn803 von HIF-1 α , siehe auch Abb. 1) hydroxyliert. Diese Reaktion verhindert die Bindung der C-terminalen Transaktivierungsdomäne an den transkriptionellen Kofaktor p300/CBP und hemmt dadurch die transkriptionelle Aktivität von HIF- α [37].

1.2.3. Funktion des HIF-1 Gens

Unter Sauerstoffmangel bleiben die enzymatischen Veränderungen der HIF-Untereinheiten aus und es kommt zu deren Stabilisierung und Aktivierung. Dadurch bindet HIF an eine Vielzahl sauerstoffabhängiger Gene und führt dort zu einer transkriptionellen Aktivierung, woraus im Endeffekt eine Erhöhung des Sauerstoffangebotes bzw. eine Reduktion des Sauerstoffbedarfes resultiert. Die überwiegende Mehrzahl der Literatur geht daher momentan von einer gewebs- und zellprotektiven Auswirkung dieses Systems aus.

Die von HIF beeinflussten Prozesse spielen unter anderem eine Rolle für die Erythropoese (z.B. EPO), die Angiogenese (z.B. VEGF) und die Glykolyse (Glucosetransporter und die überwiegende Anzahl glykolytischer Enzyme) [38;39;40].

Tabelle 1 gibt eine Auswahl der Zielgene von HIF wieder.

Tabelle 1: HIF und eine Auswahl seiner Zielgene

<i>Targetgene von HIF-1</i>	
Ausreifung der Erythrozyten	Erythropoietin
Glukosestoffwechsel	Glukosetransporter 1, Hexokinase 2, Aldolase A
Eisenstoffwechsel	Transferrin, Transferrin-Rezeptor
Wachstumsfaktoren	VEGF
Zellbildung und Zelldifferenzierung	IGF-2, Cyclin G2
pH-Regulation	Carboanhydrase 9

Mittlerweise ist bekannt, dass HIF bei zahlreichen Erkrankungen aktiviert wird, wie z.B. bei kardiovaskulären Ischämien. Daneben kommt HIF aber auch eine zentrale Bedeutung im Rahmen von malignen Erkrankungen zu.

1.2.4. Folgen der HIF Überexpression in Tumoren

Ein wichtiges Merkmal von Tumoren ist die unkontrollierte Proliferation seiner Zellen. Abhängig von der Größe der Strukturen tritt eine Diffusionslimitierung für Nährstoffsubstrate und Sauerstoff auf. Die Folge ist ein regionaler Sauerstoffmangel. So liegen in Tumoren gut oxygenierte Areale und hypoxische Areale oft dicht nebeneinander.

Bereits in den 30er Jahren des vergangenen Jahrhunderts erkannte Otto Warburg, dass der Stoffwechsel von Tumorzellen eine gesteigerte Rate der Glykolyse aufweist, und wird deshalb seither als „Warburg-Effekt“ bezeichnet [41]. Man geht heute davon aus, dass dieses eine direkte Folge der Aktivierung von HIF in Tumoren ist [40].

Eine fokal betonte Expression von HIF- α Untereinheiten konnte frühzeitig in verschiedenen soliden Tumoren beschrieben werden [42;43]. Die für das Grössenwachstum notwendigen Anpassungsreaktionen werden dabei wesentlich durch HIF vermittelt. Die überwiegende Zahl funktioneller Studien mit experimentellen Tumoren konnten daher eine wesentliche Rolle von HIF beim Grössenwachstum von Tumoren beschreiben [44;45;46]. Zwei Arbeiten zeigten demgegenüber einen gegenteiligen Effekt, so dass die Rolle von HIF beim Tumorwachstum noch nicht eindeutig definiert ist [47;48]. Neuere Daten deuten ausserdem daraufhin, dass HIF nicht nur am Wachstum von Tumoren, sondern auch an der Tumorgenese selbst beteiligt sein könnte [49;50;51]. In Bezug auf HIF sind insbesondere solche Tumoren von Interesse, die eine Inaktivierung der HIF-regulierenden Faktoren aufweisen. Dieses ist bei Tumoren, die mit einer Inaktivierung des Tumor-Suppressor-Gens „von-Hippel-Lindau“ einhergehen, in besonderem Masse gegeben.

1.3. Von-Hippel-Lindau-Syndrom (VHL)

1.3.1. Entdeckung und Charakteristika/Aufbau des VHL-Gen

Das von Hippel-Lindau Syndrom ist eine familiäre Phakomatose dessen Zusammenhänge vor annähernd 100 Jahren zum ersten Mal in der medizinischen Literatur beschrieben wurden. Der deutsche Ophthalmologe Eugen von Hippel erkannte im Jahre 1911 familiär gehäufte Veränderungen an der Retina, die er als Angiomatose der Retina beschrieb. Der schwedische Pathologe Arvid Lindau konnte 1926 diese Läsionen mit zerebellären Hämangioblastomen bestimmter Familien in Beziehung setzen. Einige Jahrzehnte später wurde das VHL Syndrom, mit den zusätzlichen Manifestationen der Nierenzellkarzinome und der Phäochromozytome vollständig charakterisiert, welches einem autosomal dominanten Erbgang folgt.

Im Jahre 1993 wurde das VHL-Gen indentifiziert, nachdem es Seizinger und Mitarbeitern 1988 gelang, diesen Tumorsuppressor auf dem kurzen Arm des Chromosom 3p zu lokalisieren [52;53]. Es verhält sich sowohl funktionell als auch genetisch wie ein Tumorsuppressorgen [54]. Das Gen folgt dem „Knudson two-hit model“ [55], d.h. erst wenn beide Allele des Gens inaktiviert werden, z.B. durch Mutation, entwickeln sich in den betroffenen Patienten Tumoren. Typischerweise entstehen dabei sehr gefäßreiche Tumoren [56], die dementsprechend als Hämangiome bezeichnet werden und sich in der Retina und dem Zentralnervensystem manifestieren. Weitere auftretende Tumoren sind das klarzellige Nierenzellkarzinom (NZK), Phäochromozytome und polyzystisch veränderte Organe, wie z.B. der Niere, Leber oder Pankreas. Die klarzelligen NZK treten bei circa 50% der Betroffenen auf und stellen zusammen mit den zentralnervösen Hämangioblastomen die häufigste Todesursache beim VHL-Syndrom dar.

Das familiäre VHL-Syndrom wird durch eine inaktivierende VHL Mutation in der Keimbahn verursacht. Darüber hinaus kommt es aber auch zu der Entwicklung von sporadischen Nierenzellkarzinomen, wenn beide (somatischen) Allele des VHL-Genes inaktiviert sind. Dieses kann durch manifeste Mutationen und/oder Hypermethylierung des VHL-Gens verursacht werden.

In etwa 70-80% aller klarzelligem Nierenzellkarzinome wird dieses gefunden. Interessanterweise zeigen jedoch bis zu 98% aller klarzelligem NZK einen Verlust der Heterozygotie am kurzen Arm des Chromosoms 3p.

Es wird daher vermutet, dass sich in dieser Region noch weitere Tumorsuppressorgene mit Bedeutung für das Nierenzellkarzinom befinden [57;58].

1.3.2. Folgen der VHL-Gen Inaktivierung

Wie bereits in Kapitel 1.2.2. beschrieben, wird hydroxyliertes HIF- α durch eine E3-Ubiquitin Ligase gebunden und dadurch für den proteasomalen Abbau markiert. Der eigentlich bindende Anteil dieser Multiproteinkomplex-Ligase ist das VHL Protein. Es konnte gezeigt werden, dass NZK Zellen, die eine Inaktivierung des VHL-Genes aufweisen, eine sauerstoffunabhängige Stabilisierung von HIF- α Untereinheiten besitzen [59]. Daraus resultiert eine Aktivierung der hypoxischen Genregulation. Im Gegensatz zu anderen soliden Tumoren, in denen HIF nur fokal aktiviert ist, zeichnen sich die VHL defizienten Tumoren durch eine globale und ausgesprochen starke Stabilisierung von HIF α Untereinheiten aus [60;61].

Es wird daher momentan vermutet, dass dieses die Ursache des ausgeprägt vaskulären Phänotyps dieser Tumoren ist, und sie daher in der Lage sind schneller zu expandieren, was letztendlich für die rasche Progression und die schlechte Prognose von Bedeutung wäre.

1.4. Nierenzellkarzinom (NZK)

1.4.1. Klinische Daten des NZK

Nierenzellkarzinome machen alleine in den USA 2-3% aller Malignome aus [62]. Die Inzidenz weist von Land zu Land Schwankungen auf, wobei die höchste Rate in Nordamerika und Skandinavien zu verzeichnen ist. Motzer et al 1996 [63] konnte zeigen, dass in dem Zeitraum von 1974 bis 1990 die Inzidenzrate um 38% angestiegen ist.

Männer besitzen ein zweifach höheres Risiko an NZK zu erkranken als Frauen und das Verhältnis der schwarzen Bevölkerung zur weißen Bevölkerung in den USA ist annähernd ausgeglichen. Das mediane Erkrankungsalter bei Diagnosestellung beträgt 65 Jahre, wobei die Erkrankung ihren Häufigkeitsgipfel in der 7.-8. Lebensdekade aufweist [62;64].

In internationalen Fall-Kontroll Studien konnten eine Reihe von Risikofaktoren für die Entstehung von Nierenzellkarzinomen gefunden werden [65;66]. So ist belegt, dass der Genuss von Zigaretten die Wahrscheinlichkeit an einem Nierenzellkarzinom zu erkranken verdoppelt und das es in mehr als 1/3 der Fälle mit dieser Erkrankung assoziiert ist [67].

1.4.2. Histologische Klassifikation der NZK

Die histologische Einteilung der NZK folgt der Heidelberger Klassifikation aus dem Jahre 1996 [68]. Hiernach werden benigne und maligne parenchymatöse Neoplasien mit den entsprechenden Untergruppen unterschieden. Zu den benignen parenchymatösen Neoplasien zählen die metanephrischen Adenome, die papillären Adenome und die Onkozytome (3-5% aller NZK).

In die Gruppe der malignen parenchymatösen Neoplasien reihen sich die klarzelligen NZK („Common or conventional RCC“, 75% aller NZK), die papillären NZK (10% aller NZK), die chromophoben NZK (5% aller NZK), die NZK der Sammelrohre (1% aller NZK) und die unklassifizierbaren NZK (3-5% aller NZK) ein.

Die klarzelligen Nierentumoren leiten sich möglicherweise wie die papillären (=chromophilen) Nierentumoren von den Zellen des proximalen Tubulus ab [69;70]. Allerdings sind dieses lediglich immunhistochemische Färbungen mit Markern, die für gewöhnlich nur in proximalen Tubuluszellen exprimiert werden. Im Widerspruch dazu wurde vor kurzem die überwiegende Zahl von entstehenden NZK in Nieren von VHL Syndrom Patienten eher dem Bereich der dicken aufsteigenden Schleife zugeordnet [49]. Nur die klarzelligen NZK stehen im Zusammenhang mit dem VHL Tumor Suppressor Gen.

1.4.3. EPO bedingte Polyzythämie

Ein insgesamt seltenes, aber für die NZK charakteristisches Ereignis ist das der paraneoplastischen Polyzythämie.

Nach den in der Literatur beschriebenen Angaben zeigen 1-5% der Patienten mit Nierenzellkarzinomen eine pathologische Erhöhung der roten Zellpopulation [63].

Insgesamt weisen Tumoren, die mit einer Inaktivierung des VHL Gens assoziiert sind, eine auffällige Häufung von paraneoplastisch bedingten Polyzythämien auf [71]. Interessanterweise konnte kürzlich die Ursache mehrerer familiärer und kongenitaler Polyzythämien auf eine Punktmutation des VHL-Gens zurückgeführt werden [72;73]. Diese VHL Mutationen führten allerdings nicht zu dem gehäuften Auftreten maligner Tumoren.

Mehrere bisher veröffentlichte Fallstudien mit einer Polyzythämie bei NZK konnten die EPO Überexpression den Tumorzellen zuordnen. Einerseits wurde der EPO Nachweis direkt histologisch geführt [74]. Andererseits liess sich die EPO Expression der Tumorzellen bis in die Zellkultur aus Tumorpräparationen nachverfolgen [75;76;77]. Zum Teil führten diese Zellen dann auch nach subkutaner Injektion in Nacktmäusen zu einer Polyzythämie der Mäuse [75;76;77]. Zumindestens in diesen untersuchten Fällen stammt die EPO Überproduktion daher eindeutig von den malignen Zellen ab, die eigentlich epithelialen Ursprungs sind.

Wie unter 1.2.2. erläutert, wird EPO normalerweise nur von interstitiellen Fibroblasten in der Niere exprimiert, so dass offensichtlich die maligne Transformation dieser Tubuluszellen die strenge zellspezifische Regulation des EPO Gens überwindet.

Die Assoziation der VHL Inaktivierung mit dem klinischen Auftreten der Polyzythämie und dem Verlust der Zellspezifität der EPO Expression lassen einen Zusammenhang vermuten. Es liegen bisher keine systematischen Daten der EPO-Gen Expression in NZK vor. Darüber hinaus ist eine Korrelation der EPO Expression mit der HIF- α Isoformexpression für die Interpretation der Ergebnisse von wesentlicher Bedeutung. Aus diesem Grunde wurden in der vorliegenden Arbeit Nierenzellkarzinome prospektiv und retrospektiv gesammelt und auf diese Faktoren hin untersucht.

1.5. Fragestellungen:

- Wie hoch ist die Rate der Erythropoietin Expression in Nierenzellkarzinomen?
- Korreliert die EPO-Expression mit einem bestimmten histopathologischen Typ der NZK?
- Spielt eine der beiden HIF- α Untereinheiten (HIF-1 α oder HIF-2 α) eine entscheidene Rolle für die EPO-Regulierung in NZK?
- Welche Zellen/Gewebestrukturen sind für die EPO-Sekretion in Nierenzellkarzinomen verantwortlich?
- Erlaubt der präoperative Hämoglobinwert einen Rückschluß auf die EPO-Expression?