

Untersuchungen zur prognostischen Bedeutung der „Stromareaktion“ beim malignen Melanom

II. Entzündliches Infiltrat und Prognose* **

F. Weidner und Otto P. Hornstein

Dermatologische Universitätsklinik Erlangen (Direktor: Prof. Dr. O. P. Hornstein)
und Arbeitsgemeinschaft „Malignes Melanom“ (Leiter: Prof. Dr. K. W. Kalkoff) Freiburg i. Br.

Eingegangen am 8. November 1972

Investigations on the Prognostic Significance of the “Stroma Reactivity” to Malignant Melanoma

II. Inflammatory Infiltration and Prognosis

Summary. This communication deals with some histological properties of mesenchymal inflammatory reaction to malignant melanoma which may be regarded as morphological criteria for evaluation of tumor prognosis. We investigated the same histological preparations of 97 prognostically informative cases of malignant melanoma as reported in our first paper on vascularization and prognosis. Microscopical examinations as well as statistical analysis were carried out in the same manner, each tumor section virtually being divided into several histological “compartments”. The intensity of cellular, especially lympho-monocytic, infiltration was evaluated according to its density and distribution within the different compartments. It offered no clear relations to tumor prognosis. This is in accordance with the results of authors who were unable to find a favourable statistical influence of increased cellular infiltration on the survival rate of patients with malignant melanoma. On the other hand, in almost every second case with occurrence of plasma cells below the basal tumor area we found a prognostic connection with an unfavourable clinical course. As these observations seem to be contradictory to the current concept of cellular immunological defense against melanoma they ought to stimulate further investigations on the question of whether the proliferation of plasma cells around the melanoma indicates a beneficial immunological mechanism or not.

Comparing the histological criteria of increased vascularization and of intensified lympho-monocytic infiltration of the tumor stroma we found neither histotopic coincidences in the different compartments nor definitive statistical connection with “good” or “poor” prognosis. Thus, with regard to prognostic predictions on malignant melanoma we doubt the equivalency of vascularization and of inflammatory infiltration though being the main histological components of the so-called “stroma reactivity” to melanomalignoma, and we cannot interpret these distinct mesenchymal phenomena as being equally representative in trials of “multifactorial statistical analysis” of tumor prognosis.

Zusammenfassung. Diese Mitteilung befaßt sich mit der prognostischen Bedeutung der Stroma-Veränderungen beim malignen Melanom, soweit sie das entzündliche Zellinfiltrat betreffen. Analog den Untersuchungen über die Vascularisation verwendeten wir die gleichen histologischen Präparate von 97 prognostisch informativen Melanom-Patienten, berücksichtigten die nämliche histotopie Aufgliederung der Tumorschnittfläche einschließlich ihrer Umgebung in Kompartimente, und wandten dieselben statistischen Methoden an.

Die Intensität des cellulären, insbesondere des lympho-monocytären, Infiltrats wurde entsprechend seiner Ausdehnung und Dichte geschätzt. In keinem Kompartiment innerhalb

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

** Herrn Prof. Erich Müller, Erlangen, zum 70. Geburtstag gewidmet.

oder außerhalb des Melanoms fanden sich dabei eindeutige prognostische Tendenzen. Somit stimmen wir mit denjenigen Autoren überein, die bei verstärkter cellularer Infiltration keinen Trend zur günstigen Prognose feststellen konnten. Jedoch legt das Vorkommen von Plasmazellen unterhalb des Tumors nach unseren Befunden einen eher ungünstigen als günstigen Einfluß auf die Prognose nahe und steht somit in Gegensatz zu neueren Vorstellungen über die defensive Bedeutung cellularer Immunprozesse beim malignen Melanom. Zumindest erscheint es fraglich, ob eine rein morphologische Beurteilung des cellularen Infiltrats zur Erkennung immunologischer, gegen das Melanomwachstum gerichteter Vorgänge ausreicht.

Abschließend wurden die histologischen Kriterien einer verstärkten lympho-monocytären Infiltration und einer verstärkten Vascularisation einander gegenübergestellt. Dabei konnten weder histotopische Übereinstimmungen beider Kriterien in den einzelnen Kompartimenten noch Parallelen im prognostischen Verhalten aufgedeckt werden, so daß wir die entzündliche Infiltration und die Vascularisation nicht als prognostisch gleichwertige Komponenten der „Stromareaktion“ beim malignen Melanom ansehen.

In unserem ersten histologisch-statistischen Beitrag zur Prognose des malignen Melanoms haben wir auf die besondere Bedeutung der Vascularisation des Tumors bzw. seines Stromas hingewiesen. Als weiterer, wesentlicher Bestandteil der „Stromareaktion“ interessiert die entzündliche Zellinfiltration im Einflußbereich des Melanoms. Theoretisch liegt es nahe, einer verstärkten nachweisbaren lympho-monocytären Infiltration aus Gründen der immunologischen Abwehr einen eher günstigen Einfluß auf die Prognose des malignen Melanoms beizumessen (Lloyd, 1969; Gartmann u. Tritsch, 1972). Doch werden aufgrund vergleichender histologischer Studien nach wie vor unterschiedliche Meinungen vertreten (Lane *et al.*, 1958; Delacrétaiz, 1960; Andrade, 1966; Bolgert u. Le Sourd, 1966; Kortling *et al.*, 1967; Hardmeier *et al.*, 1968; Williams *et al.*, 1968; Storck, 1970; Gartmann u. Tritsch, 1972), die u. E. weitgehend auf Differenzen in der Auswahl des Patientenguts und in der Untersuchungsmethodik zurückzuführen sind und daher nicht vergleichbar sind. Ferner muß eine Beurteilung der Infiltratstärke ohne Aufteilung der Schnittfläche in gedachte histotopische „Kompartimente“ dazu führen, daß die räumliche Ausdehnung des entzündlichen Infiltrats nur sehr pauschal erfaßt wird.

Wir unternahmen es daher, die Prognosefrage an möglichst präzise definierten Kriterien der cellularen Infiltration unter Berücksichtigung der Verteilung im Gewebe erneut zu prüfen.

Material und Methode

1. Die histologischen Untersuchungen wurden an den gleichen Präparaten der 100 Melanom-Fälle (davon 97 prognostisch informativ) unter den gleichen methodischen Voraussetzungen durchgeführt und statistisch ausgewertet wie bei unserer vorausgegangenen Studie über die Vascularisation.

2. Histologische Kriterien der cellularen Infiltration:

a) Intensität des (überwiegend lympho-monocytären) Infiltrats: mittelstark — stark — sehr stark = „*Verstärkte celluläre Infiltration*“; fehlend — spärlich = „*Schwache oder fehlende celluläre Infiltration*“ (mäßig stark: nicht ausgewertet).

b) Vorkommen von „*Plasmazellen*“.

c) Vorkommen von „*Neutrophilen Granulocyten*“.

Die Intensität des überwiegend lympho-monocytären, nur am oberen Tumorpole z.T. auch erheblich granulocytären Infiltrats wurde mittels der angegebenen

Schätzgrößen bestimmt, die sich aus vergleichenden Voruntersuchungen ergeben hatten. In jedem der spiegelsymmetrischen Kompartimente wurde nur die überwiegende Schätzgröße berücksichtigt.

Das Kriterium „schwache oder fehlende celluläre Infiltration“ in einem oder mehreren Kompartimenten braucht eine gleichzeitig „verstärkte celluläre Infiltration“ in anderen Kompartimenten nicht auszuschließen, so daß die Summe aus A—F auch solche Fälle einbezieht, die nur in einem oder wenigen Teilbereichen eine „schwache oder fehlende celluläre Infiltration“ aufweisen. Da dies für nahezu alle Fälle zutrifft, wurde im Interesse einer sinnvollen integralen Bewertung noch gesondert eine *ausschließlich* minimale celluläre Entzündung für A—F untersucht. Im Gegensatz zu den Untersuchungen anderer Autoren wurden auch hierfür die Befunde in den einzelnen Kompartimenten zugrunde gelegt.

Das Vorkommen von (mindestens etlichen) neutrophilen Granulocyten betraf meist nur höher gelegene Tumorabschnitte, so daß hier auf eine Trennung in Kompartimente verzichtet wurde.

Ein weiteres Kriterium stellte das gehäufte Vorkommen von Plasmazellen dar, welche die Bereiche A, B und C bevorzugten, mitunter aber auch in den anderen Kompartimenten vorkamen.

Ergebnisse

„*Verstärkte celluläre Infiltration*“ war bei 62 von insgesamt 100 untersuchten Melanomfällen nachweisbar. Dabei betraf der Hauptanteil die seitlich an das Melanom angrenzende Zone A (41%); es folgte die Zone B (32%).

Wie Abb. 1 zeigt, liegen hinsichtlich dieses Kriteriums die Vertrauensgrenzen in allen Kompartimenten und auch bei integraler Beurteilung (A—F) weit unter 50% und lassen insofern keine prognostischen Tendenzen erkennen.

Das gleiche gilt für „*schwache oder fehlende celluläre Infiltration*“ (Abb. 2), die jedoch wegen der vorgenommenen histotopen Gliederung nicht als komplementär zu einer „*verstärkten cellulären Infiltration*“ anzusehen ist, da beide Kriterien ganz unterschiedlich auf die einzelnen Kompartimente des gleichen Tumors verteilt sein können. *Ausschließlich* schwache oder fehlende celluläre Entzündung in der gesamten Tumorschnittfläche fand sich in 38 von 100 Fällen. Sie betraf 19 von 55 Fällen mit ungünstiger und 18 von 42 Fällen mit günstiger Prognose, bei einer kritischen Unterschiedswahrscheinlichkeit (Wkrit) von nur 34,2%.

Lediglich bei „*vermehrten Plasmazellen*“ (insgesamt in 37% nachweisbar) resultierte im Kompartiment B (Abb. 3) eine Tendenz zum ungünstigen Verlauf (60,8% Wkrit), die sich bei integraler Beurteilung aller Kompartimente weniger bemerkbar machte (46,9% Wkrit).

Bei den „*Neutrophilen Granulocyten*“ (in 51 v. H. Fällen gehäuft) war ein geringer Trend zur ungünstigen Prognose (49,2% Wkrit) erkennbar.

Diskussion

Hinsichtlich der Intensität des lympho-monocytären Infiltrats beim malignen Melanom befinden wir uns in Übereinstimmung mit Lane *et al.* (1958), Delacrétaiz (1960), Andrade (1966), Korting *et al.* (1967), Hardmeier *et al.* (1968), Williams *et al.* (1968), die keine Zusammenhänge mit der Prognose aufdecken konnten. Dagegen

Verstärkte zelluläre Infiltration
und Prognose des malignen Melanoms

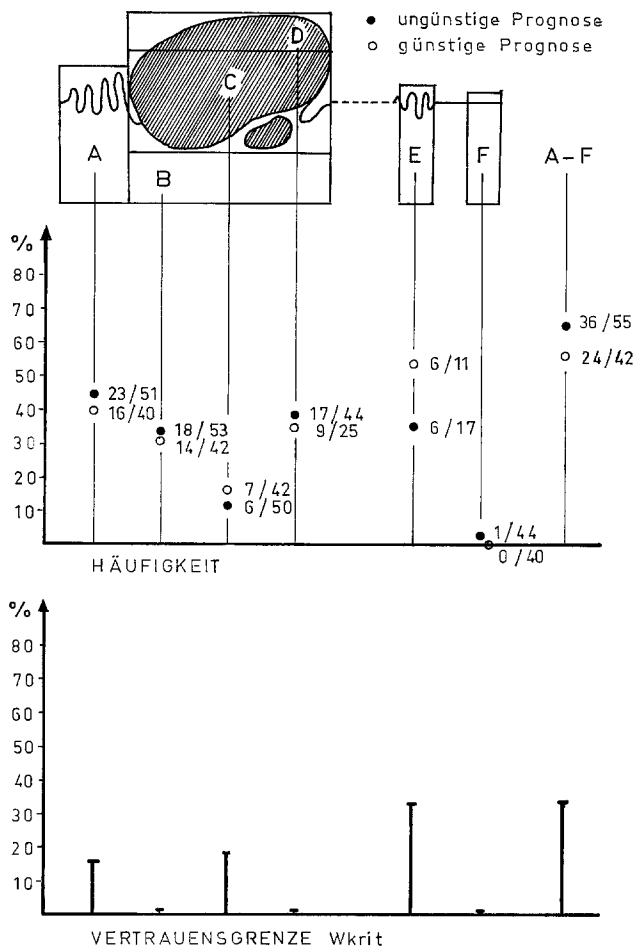


Abb. 1. Das obere Diagramm veranschaulicht das prozentuale Vorkommen des histologischen Kriteriums „Verstärkte zelluläre Infiltration“ in den einzelnen Kompartimenten, bei „ungünstiger“ (●) bzw. bei „günstiger“ (○) Prognose. Die das histologische Kriterium aufweisende und die diesbezüglich beurteilbare Fallzahl sind für jede Prognosegruppe als zwei Zahlenwerte angegeben. Im unteren Diagramm finden sich die kritischen Wahrscheinlichkeiten (Wkrit), mit denen sich die Häufigkeiten in beiden Prognosegruppen voneinander unterscheiden. A—F integrale Bewertung der gesamten histologischen Schnittfläche

wurde schwache bzw. fehlende Entzündung von Bolgert und Le Sourd (1966) eher bei günstiger, von Eichenberger eher bei ungünstiger Prognose gesehen.

Neuerdings haben Gartmann und Tritsch (1972) an einem großen Untersuchungsgut eine kräftige entzündliche Begleitreaktion im Bereich der Melanom-Basis bei günstigem Verlauf signifikant häufiger beobachtet als bei ungünstiger Prognose. Sie bringen dieses Ergebnis in

Schwache- fehlende zelluläre Infiltration
und Prognose des malignen Melanoms

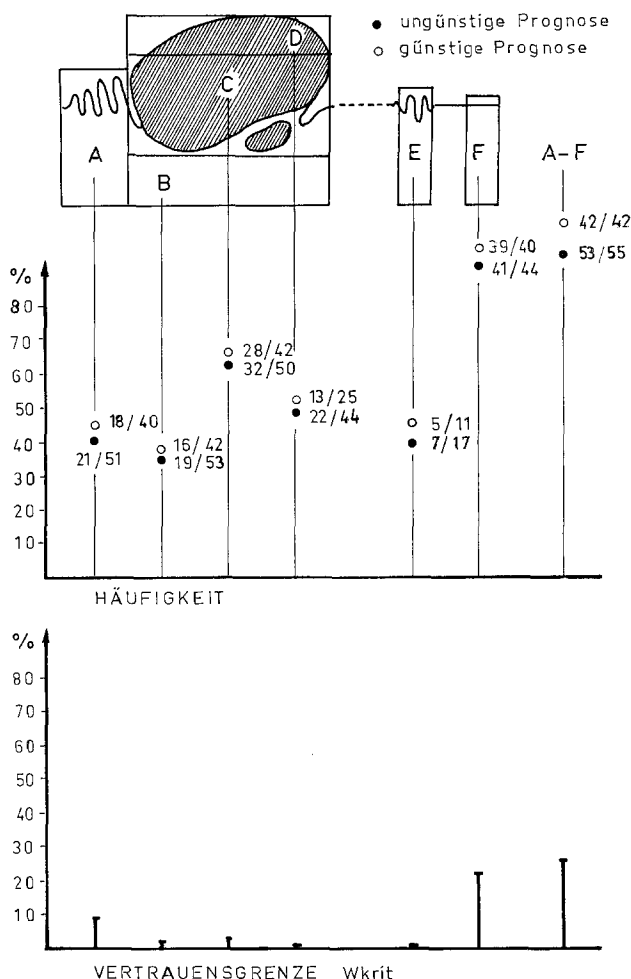


Abb. 2. Das obere Diagramm veranschaulicht das prozentuale Vorkommen des histologischen Kriteriums „Schwache oder fehlende celluläre Infiltration“ in den einzelnen Kompartimenten bei „ungünstiger“ (●) bzw. bei „günstiger“ (○) Prognose. Die das histologische Kriterium aufweisende und die diesbezüglich beurteilbare Fallzahl sind für jede Prognosegruppe als zwei Zahlenwerte angegeben. Im unteren Diagramm finden sich die kritischen Wahrscheinlichkeiten (Wkrit), mit denen sich die Häufigkeiten in beiden Prognosegruppen voneinander unterscheiden. A—F integrale Bewertung der gesamten histologischen Schnittfläche

Zusammenhang mit immunologischen Befunden beim malignen Melanom (Tritsch, 1968; Fass *et al.*, 1970; Ikonopisov *et al.*, 1970; Tritsch, 1970). Andererseits konnten Silberberg *et al.* (1966) immunfluoreszenzmikroskopisch keine isoliert gegen Melanomzellen ohne gegen andere Stromabestandteile gerichtete Antikörper beim Kaninchen erzeugen, weshalb sie das Fehlen eines spezifischen Tumor-Antigens beim malignen Melanom nicht für ausgeschlossen halten.

Plasmazellen
und Prognose des malignen Melanoms

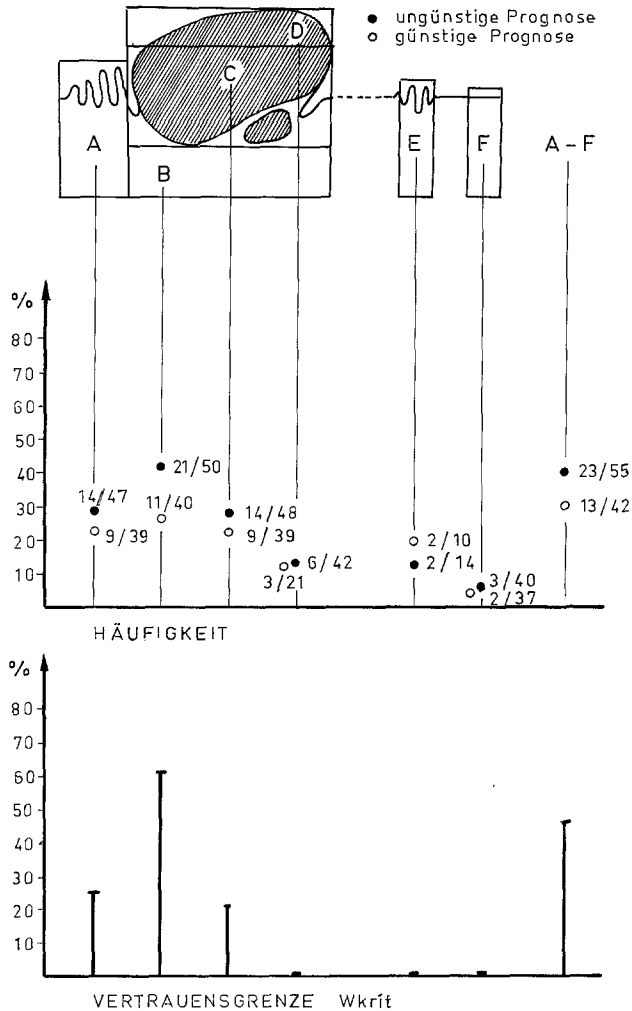


Abb. 3. Das obere Diagramm veranschaulicht das prozentuale Vorkommen des histologischen Kriteriums „Plasmazellen“ in den einzelnen Kompartimenten bei „ungünstiger“ (●) bzw. bei „günstiger“ (○) Prognose. Die das histologische Kriterium aufweisende und die diesbezüglich beurteilbare Fallzahl sind für jede Prognosegruppe als Zahlenwerte angegeben. Im unteren Diagramm finden sich die kritischen Wahrscheinlichkeiten (Wkrit), mit denen sich die Häufigkeiten in beiden Prognosegruppen voneinander unterscheiden. A—F integrale Bewertung der gesamten histologischen Schnittfläche

Auch bei anderen malignen Tumoren ist es umstritten, ob die Stroma-Veränderungen als Ausdruck einer abwehrenden Immunitätsreaktion oder eher als Wegbereiter für das Tumorstromawachstum anzusehen sind (Hamperl, 1956).

Im Hinblick auf den Zusammenhang der entzündlichen Zellinfiltration mit dem Wachstumsfortschritt des Melanoms wird von Herzberg (1964), Korting *et al.* (1967) und Lloyd (1969) betont, daß die Entzündung im initialen Melanomstadium meist deutlich unterhalb des Tumors vorhanden ist und sich mit dessen Größenzunahme verliert oder mehr auf die Randpartien beschränkt. Dies trifft jedoch nicht generell zu, da nach unseren Beobachtungen auch im Initialstadium eine celluläre Entzündung völlig fehlen kann; auch wird sie bei Beschränkung auf einen kleinen Tumor erfahrungsgemäß eher stärker bewertet als bei lockerer Verteilung über ein größeres, fortgeschrittenes Melanom. Es ist ferner möglich, daß der Nachschub an Infiltratzellen wegen der tumorbedingten Verdrängung des Stromas mit dem Melanomwachstum immer weniger Schritt hält. Damit erhebt sich die Frage, ob nicht dem Tumolvolumen anstelle der entzündlichen Infiltratstärke für die Beurteilung der Prognose die größere Bedeutung zukommt.

Schwankungen der entzündlichen Infiltratstärke innerhalb des Tumors lassen sich genauer erkennen durch dessen histotopische Aufgliederung in kleinere Abschnitte, die einzeln befundet und dann — quasi mosaikartig — zusammengesetzt und beurteilt werden. Aber auch damit ist es nicht möglich, Ausdehnung und Dichte des entzündlichen Infiltrats gleichermaßen lückenlos zu erfassen. Eine besondere Problematik bei der Beurteilung der Infiltratstärke liegt darin, daß im Rahmen des Melanom-Wachstums Verschiebungen zwischen benachbarten „Kompartimenten“ auftreten, die beim histologischen Vergleich unterschiedlicher Stadien nicht kalkulierbar sind: So kann sich eine ursprünglich dichte celluläre Infiltration *unter* dem Tumor schließlich *innerhalb* der Tumormasse verlieren und bleibt u. U. nur noch am Tumorrand auffällig. Da bei einer histologischen Auswertung jeweils nur schematische „Kompartimente“ miteinander verglichen werden, kommen durch die Wachstumsdynamik des Melanoms bedingte Verschiebungen der histotopischen Gliederung in den Resultaten nicht immer zum Ausdruck¹.

Aus diesen Überlegungen ist zu folgern, daß eine korrelative Betrachtungsweise der entzündlichen Infiltratstärke im Hinblick auf den Wachstumsfortschritt des Melanoms zwar erforderlich, aber doch nur mit Einschränkung möglich ist. Ein abschließendes Urteil über die prognostische Dignität des entzündlichen Infiltrats beim malignen Melanom dürfte daher nur mit Vorbehalt erlaubt sein, auch wenn sich aus unseren Untersuchungen keine Beziehungen zur Prognose ableiten lassen.

Läßt die prognostische Bewertung der entzündlichen Infiltratstärke zwar methodische Fragen offen, so deutet in qualitativer Hinsicht das Vorkommen von Plasmazellen auf wahrscheinliche Beziehungen zur Prognose hin. Dabei dürfte nach unseren Resultaten das Auftreten von Plasmazellen *unter* dem Melanom eher mit ungünstiger als mit günstiger Prognose korreliert sein (Ausdruck einer insuffizienten immunologischen Abwehrreaktion?). Die Frage ist zu stellen, inwieweit morphologisch nicht-differenzierbare Zell-Klone mit unterschiedlicher Immunkompetenz die Prognose beeinflussen und inwieweit humorale (und evtl. auch neuronale) Faktoren hier mitwirken.

¹ Wie bereits in der I. Mitteilung erläutert, haben wir bei der „Kompartimentierung“ der Tumorschnittfläche die jeweilige Konfiguration des Tumors berücksichtigt; so entfiel z. B. bei flachen bzw. das übrige Hautniveau nicht wesentlich überschreitenden Melanomen das Kompartiment D („oberer Tumorphol“).

Das Vorkommen von neutrophilen Granulocyten im Tumorbereich wird durch ulcerieren-des Wachstum, Lokalisation in intertriginösen Hautregionen, Röntgenvorbestrahlungen und mechanische Irritationen gefördert. Aus diesen Möglichkeiten könnte sich ein gewisser Trend zur ungünstigen Prognose erklären, wie er — analog zu Nekrosen und/oder hämorrhagischen Extravasaten in höhergelegenen Melanompartien — aus unseren Untersuchungen hervorgeht.

Stellt man abschließend die semi-quantitativen histologischen Schätzgrößen der „*entzündlichen Infiltration*“ und der „*Vascularisation*“ (vgl. I. Mitteilung) generell einander gegenüber, so verhalten sie sich im Hinblick auf die Prognose keineswegs gleichsinnig. Auch in den einzelnen Kompartimenten ergeben sich keine Übereinstimmungen etwa zwischen verstärkter lympho-monocytärer Infiltration und verstärkter Vascularisation, obwohl die Entzündungsbereitschaft auf das Vorhandensein von Gefäßen angewiesen ist. Daher hegen wir Bedenken gegen eine pauschale prognostische Beurteilung von cellularer Infiltration und Vascularisation als „*Stroma-Reaktion*“.

Die mit dem „*Umgebungsstroma*“ einer Geschwulst identische „*Stroma-Reaktion*“ (Böhmig, 1930; Hamperl, 1956) wird gerade bei dem schnellwachsenden malignen Melanom ganz wesentlich vom präformierten „*Organstroma*“ der betroffenen Hautregion mitgeprägt. Da verstärkte Vascularisation und verstärkte Entzündung gelegentlich schon vor Beginn des infiltrativen Melanomwachstums nachweisbar sind, läßt sich ihr rein reaktives, ausschließlich tumorinduziertes Zustandekommen nicht sicher beweisen. Dabei stehen die bekannten Wechselwirkungen zwischen ausgereiften Geschwülsten und Umgebungsstroma außer Diskussion. Es fragt sich aber, inwieweit Tumor und Gesamtorganismus konkurrierend auf das mesenchymale Stroma einwirken und gemeinsam dessen prognostische Rolle beim malignen Melanom modifizieren.

Literatur

- Andrade, R.: Le mélanome malin. Y a-t-il une corrélation entre les caractères histologiques et le pronostic? Bull. Soc. franç. Derm. Syph. **73**, 647—660 (1966).
- Böhmig, R.: Das Krebsstroma und seine morphologischen Reaktionsformen. Beitr. path. Anat. **83**, 333—382 (1930).
- Bolger, M., Le Sourd, M.: A propos de 91 naevo-carcinomes traités depuis 1947. Considérations sur la thérapeutique et le pronostic histologique. Bull. Soc. franç. Derm. Syph. **73**, 666—674 (1966).
- Clark, W.H., Jr., From, L., Bernardino, E.A., Mihm, M.C.: The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. Cancer Res. **29**, 705—726 (1969).
- Delacrétaz, J., Jäger, H.: Die Melanome (Die malignen Melanome). In: Dermatologie und Venerologie (hrsg. von H.A. Gotttron und W. Schönfeld), Bd. IV, S. 591—632. Stuttgart: G. Thieme, 1960.
- Eichenberger: Zit. nach Storek.
- Fass, L., Heberman, R.B., Ziegler, J. L., Kiryabwire, J.W. M.: Cutaneous hypersensitivity reactions to autologous extracts of malignant melanoma cells. Lancet **1970 I**, 116.
- Gartmann, H., Tritsch, H.: Bedeutung feingeweblicher Befunde für die Prognose des malignen Melanoms. Dtsch. med. Wschr. **97**, 857—859 (1972).
- Hamperl, H.: Geschwulststroma. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie (hrsg. von F. Büchner, E. Letterer, F. Roulet), Bd. VI/3, S. 58—59. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.
- Hardmeier, T., Nussbaumer, U., Kotnik, G.: Zur prognostischen Bedeutung histologischer Kriterien beim malignen Melanom. Virchows Arch. Abt. A **345**, 23—32 (1968).

- Herzberg, J. J.: Das Verhalten der cutanen Lymphgefäße beim malignen Melanom. Arch. klin. exp. Derm. **220**, 129—141 (1964).
- Ikonopisov, R. L., Lewis, M. G., Hunter-Craig, I. D., Bodenham, D. C., Philips, T. M., Cooling, C. I., Proctor, J., Fairly, G. H., Alexander, P.: Autoimmunization with irradiated tumour cells in human malignant Melanoma. Brit. med. J. **1970 II**, 752.
- Korting, G. W., Holzmann, H., Höde, N.: Bemerkungen zur Stromareaktion beim Melanom. Med. Welt **31**, 1786—1794 (1967).
- Lane, N., Lattes, R., Malm, J.: Clinicopathological correlations in a series of 117 malignant melanomas of the skin of adults. Cancer (Philad.) **11**, 1025—1043 (1958).
- Lloyd, O. C.: Regression of malignant melanoma as a manifestation of a cellular immunity response. Proc. roy. Soc. Med. **62**, 543—545 (1969).
- Miescher, G.: Melanom. In: J. Jadassohns Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. I/1. Berlin: Springer 1925.
- Silberberg, I., Kopf, A. W., Cooper, N. S.: Studies of the antigenicity of human malignant melanoma for rabbits. (Findings in blood serum of antibody response of rabbits following immunization procedures with extracts from malignant melanomas and control materials.) J. invest. Derm. **47**, 87—98 (1966).
- Storck, H.: Zur Klinik und Therapie des malignen Melanoms. Hautarzt **21**, 187—194 (1970).
- Tritsch, H.: Antigene Wirkung von Tumorgewebe. In: Jadassohn, W., C. G. Schirren (ed.), XIII. Congr. Internat. Dermatologiae, vol. 1, p. 48. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Tritsch, H.: Dermale Reaktionen auf Melanom-Autohomogenate. Hautarzt **21**, 258—265 (1970).
- Williams, W. J., Davies, K., Jones, W. M., Roberts, M. M.: Malignant melanoma of the skin: prognostic value of histology in 89 cases. Brit. J. Cancer **22**, 452—460 (1968).

Dr. Frank Weidner
 Prof. Dr. Otto P. Hornstein
 Dermatologische Universitätsklinik
 D-8520 Erlangen, Hartmannstraße 14
 Bundesrepublik Deutschland