

Technische Universität München



Fakultät für Medizin

**Nachweis immunaktiver Zellen in Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals
Bereiches als therapieprädiktive Marker**

Daniela Maureen Alexandra Ganser

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades einer Doktorin der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. Marcus Makowski

Prüfer*innen der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. Markus Wirth
2. Prof. Dr. Tilo Biedermann

Die Dissertation wurde am 29.03.2022 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 21.02.2023 angenommen.

Widmung

Für meine Großeltern

Inhaltsverzeichnis

Widmung.....	2
1. Abkürzungsverzeichnis.....	6
2. Einleitung.....	9
2.1. Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereiches.....	9
2.2. Klassifikation.....	9
2.3. Epidemiologie.....	16
2.4. Ätiologie.....	19
2.4.1. Lifestyle assoziierte Risikofaktoren.....	19
2.4.2. Virale Risikofaktoren.....	21
2.4.3. Weitere Risikofaktoren.....	22
2.5. Pathologie.....	23
2.6. Metastasierung.....	26
2.6.1. Lokoregionäre Metastasierung.....	27
2.6.2. Fernmetastasierung.....	29
2.7. Diagnostik und Symptomatik.....	29
2.8. Therapie.....	31
2.8.1. Chirurgische Therapie.....	31
2.8.2. Bestrahlungstherapie.....	33
2.8.3. Chemotherapie.....	34
2.8.4. „Targeted Therapy“ und Immuntherapie.....	35
2.9. Prognosefaktoren.....	36

2.10. Immunzellen und Mikroumgebung	36
2.10.1. PD-L1	39
2.10.2. CD4	41
2.10.3. CD8	42
2.10.4. IDO	43
2.10.5. CD68	44
2.11. Problemstellung	45
2.12. Zielsetzung der Arbeit	45
3. Material und Methoden	47
3.1. Material	47
3.1.1. Studienkollektiv	47
3.1.2. Geräte	48
3.1.3. Chemikalien und Farbstoffe	49
3.1.4. Antikörper	50
3.1.5. Verbrauchsmaterial	51
3.2. Methoden	51
3.2.1. Tissue Microarrays (TMAs)	51
3.2.2. Immunhistochemie	52
3.2.3. Auswertung und Scores	53
3.2.4. Statistik	55
4. Ergebnisse	57
4.1. Charakterisierung des Kollektivs	57

4.2.	Auswertung der Immunhistochemie.....	58
4.3.	Statistische Auswertung	61
4.3.1.	Heterogenitätsfaktor (Cohen's Kappa).....	61
4.3.2.	Kreuztabellen	64
4.3.3.	Wilcoxon-Test.....	66
4.3.3.1.	Wilcoxon-Test zur Analyse Primarius und Metastase.....	66
4.3.3.2.	Wilcoxon-Test zur Analyse des verbundenen Kollektivs.....	67
4.3.4.	Überlebenskurven.....	68
5.	Diskussion.....	74
5.1.	Stellung der Ergebnisse in der aktuellen Forschung	74
5.2.	Die Tumormikroumgebung und ihr Einfluss.....	76
5.3.	Kritische eigene Bewertung/Vergleich der Zielsetzung mit den Ergebnissen	77
6.	Zusammenfassung.....	79
7.	Abbildungsverzeichnis.....	80
8.	Tabellenverzeichnis	82
9.	Literaturverzeichnis	90
10.	Anhang	105
11.	Veröffentlichung	132
12.	Danksagung	133

1. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
%	Prozent
µm	Mikrometer
Abb.	Abbildung
AJUBA	Protein der JUB Protein Familie
BATF	Basic leucine zipper transcription factor
°C	Grad Celsius
CAF	Cancer associated fibroblasts
CSC	Cancer stem cells
CD	Cluster of differentiation (Systematik zur Einteilung der Oberflächenmarker von Zellen)
cm	Zentimeter
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
EGFR	Endothelial growth factor receptor
FAT1	Protein der Cadherin Familie
FoxP3	Forkhead Box Protein P3
G	Grading
HE	Hämatoxylin und Eosin Färbung
HNSCC	Head and neck squamous cell carcinoma
HPV	Humanes Papillomavirus
IDO	Indolamin-2,3-Dioxygenase
IF	Invasionsfront
IFN- γ	Interferon- Gamma

IGF1	Insulin like growth factor I
IHC	Immunhistochemie
IL-5	Interleukin 5
IL-8	Interleukin 8
IL-10	Interleukin 10
IL-13	Interleukin 13
IMRT	Intensitätsmodulierte Strahlentherapie
κ	Cohen`s Kappa
KMT2D	Histon-Lysin-N-Methyltransferase 2D
M	Metastasen Status
mAK	Monoklonaler Antikörper
MAPK	mitogen-activated protein Kinase
MDSC	myeloid-derived suppressor cells
MHC	major histocompatibility complex
mTOR	mechanistic target of rapamycin
N	Node Status
NSD1	Histon-Lysin-N-Methyltransferase, Bindestelle 1
NSD2	Histon-Lysin-N-Methyltransferase, Bindestelle 2
p16	cyclin-dependent kinase inhibitor 2A
P16-INK4A	P16- assoziierter cyclin-dependent kinase inhibitor 2A
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PD-1	programmed cell death protein 1
PD-L1	programmed cell death protein 1 ligand 1
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase
R	Resektionsstatus

SHP2	Tyrosin-Phosphatase 2
T	Tumorstatus
TAN	Tumor-assoziierte Neutrophile
TAM	Tumor-assoziierte Makrophagen
TAM M1	Tumor-assoziierte Makrophagen Typ 1
TAM M2	Tumor-assoziierte Makrophagen Typ 2
Th1 – Zellen	T-Helferzellen Typ 1
Th2 – Zellen	T-Helferzellen Typ 2
TIL	Tumor infiltrierende Lymphozyten
TMA	Tissue microarray
TNM	tumor node metastasis (internationales Klassifikationssystem der Tumore)
TNF- α	Tumornekrosefaktor Alpha
TP53	Tumorsuppressor Protein 53
TZ	Tumorzentrum
UICC	Union for international cancer control
VEGF	Vascular endothelial growth factor
WNT	Ligand des WNT-Signalweges, der hemmend auf verschiedene Tumor-Suppressor Molekül einwirkt

2. Einleitung

2.1. Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereiches

In Deutschland erkrankten alleine im Jahr 2012 knapp 17 500 Menschen an einem sogenannten Kopf-Hals-Tumor (Robert Koch-Institut (RKI) November 2016). Das relative 5-Jahres-Überleben lag geschlechter-abhängig zwischen 51-61% (Robert Koch-Institut (RKI) November 2016 Tabelle 2.10.t1). Die meisten Tumore im Kopf-Hals-Bereich sind Plattenepithelkarzinome, ausgehend vom Plattenepithel des oberen Aerodigestivtraktes. Des Weiteren gibt es seltenere Entitäten, wie zum Beispiel Sarkome, Melanome und Lymphome. In dieser Arbeit wurde sich auf die Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereiches konzentriert – im Folgenden unter dem englischen Fachbegriff „Head and neck squamous cell carcinoma“, kurz HNSCC, subsumiert. Ausgeschlossen sind darüber hinaus Spinaliome, also Plattenepithelkarzinome der Haut.

HNSCCs werden klinisch nach verschiedenen Systemen eingeteilt. Für die klinische Einteilung ist aktuell die anatomische Einteilung und der Tumor-Node-Metastasis, abgekürzt TNM, Status am wichtigsten. Anhand des TNM Stadiums kann wiederum ein UICC Stadium ermittelt werden, anhand dessen eine Therapieentscheidung getroffen werden kann.

Seit einigen Jahren findet darüber hinaus der Humane Papillomavirus (HPV) Status durch die zugrunde liegende virale Onkogenese Eingang sowohl in die Klassifikation als auch in die klinische Entscheidung.

2.2. Klassifikation

Die HNSCCs werden anhand ihrer klinischen Darstellung nach ihrer primären anatomischen Lage eingeteilt. Dabei werden drei Lokalisationen unterschieden: Mundhöhle, Pharynx und Larynx.

Für jede anatomische Lokalisation ist eine Einteilung entsprechend des TNM Stadiums möglich, wobei zusätzliche Untergruppen, hinsichtlich der drei Etagen des Pharynx (Naso-, Oro- und Hypopharynx) und des Larynx (supraglottisch, glottisch und subglottisch) gebildet werden. Die TNM Einteilung wurde Mitte des letzten Jahrhunderts als internationaler Standard der Tumoreinteilung eingeführt. „T“ beschreibt dabei die Tumorausdehnung, „N“ den etwaigen Befall von Lymphknoten und „M“ eventuell vorhandene Fernmetastasen. Mit einem vorangeschriebenen „c“ wird deutlich, dass die Diagnose klinisch, mit einem „p“ pathologisch, also Anhand eines Operationspräparates, gestellt wurde. Darüber hinaus sind weitere Beschreibungen möglich wie zum Beispiel „G“ für die histologische Differenzierung des Gewebes, das sogenannte Grading, „R“ für das operative Resektionsergebnis, „L“ für eine Lymphangioinvasion, „V“ für eine venöse, und „Pn“ für eine vorhandene perineurale Invasion. (Brierley et al. 2017, S. 20–29)

Da die in dieser Arbeit verwendeten Tumore in den Jahren 2000 bis 2017 diagnostiziert wurden, erfolgte die Einteilung nach der TNM Klassifikation von 2010 (Wittekind und Meyer 2010).

Nachfolgend ist die TNM Klassifikation mit entsprechender Stadieneinteilung für die verschiedenen Lokalisationen nach der Union international contre le cancer (UICC, Internationale Vereinigung gegen Krebs) aus dem Jahr 2010 in den Tabelle 1: T-Klassifikation für Mundhöhlen- und Lippen-Tumore bis Tabelle 11: UICC Stadium von Larynx-Tumoren aufgeführt. Die Maße beziehen sich soweit nicht anders angegeben, auf die größte Ausdehnung.

Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor \leq 2 cm
T2	Tumor $>$ 2 bis 4 cm
T3	Tumor $<$ 4 cm

T4a	Lippe: Tumorinfiltration durch kortikalen Knochen, in den N. alveolaris inferior, in den Mundhöhlenboden oder in die Haut Mundhöhle: Tumorinfiltration durch kortikalen Knochen, in äußere Muskulatur der Zunge, in die Kieferhöhle oder in die Haut
T4b	Tumorinfiltration in Spatium masticatorium, Processus pterygoideus oder in die Schädelbasis, oder Umschließung der A. carotis interna

Tabelle 1: T-Klassifikation für Mundhöhlen- und Lippen-Tumore

Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor \leq 2cm
T2	Tumor > 2 bis 4 cm
T3	Tumor mehr als 4 cm in größter Ausdehnung oder Ausbreitung zur inguinalen Oberfläche der Epiglottis
T4a	Tumorinfiltration des Larynx, der äußeren Zungenmuskulatur, der Lamina medialis des Processus pterygoideus, des harten Gaumens oder des Unterkiefers
T4b	Tumorinfiltration des M. pterygoideus lateralis, der Lamina lateralis des Processus pterygoideus, der Schädelbasis oder Umschließung der A. carotis interna

Tabelle 2: T-Klassifikation für Oropharynx-Tumore

Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor \leq 2cm und begrenzt auf einen Unterbezirk des Hypopharynx

T2	Tumor > 2 bis 4 cm mehr als ein Unterbezirk des Hypopharynx betroffen, ohne Fixation des Hemilarynx
T3	Tumor >4 cm oder Fixation des Hemilarynx
T4a	Tumorinfiltration des Schild-/Ringknorpels, des Zungenbeins, der Schilddrüse, des Ösophagus oder zentraler Weichteile des Halses
T4b	Tumorinfiltration der prävertebralen Faszie oder der Strukturen des Mediastinums, oder Umschließung der A.carotis interna

Tabelle 3: T-Klassifikation der Hypopharynx-Tumore

Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
Tis	Carcinoma in situ
T1	Infiltration eines Unterbezirkes, normale Beweglichkeit der Stimmlippen
T2	Schleimhaut von mehr als einem Unterbezirk von Supraglottis/Glottis oder Schleimhaut eines Areals außerhalb der Supraglottis, keine Larynxfixation
T3	Begrenzt auf Larynx, mit Stimmlippenfixation und/oder Invasion von Postkrikoidregion, präepiglottischem Gewebe, paraglottischem Raum, geringgradige Schildknorpelerosion
T4a	Ausbreitung durch Schildknorpel: Trachea, Halsweichteile, äußere Muskulatur der Zunge, grade Halsmuskulatur der Zunge, gerade Halsmuskulatur, Schilddrüse/Ösophagus
T4b	Prävertebralraum, mediastinale Strukturen, A.carotis interna

Tabelle 4: T-Klassifikation der Larynx-Tumore

Nx	Keine Einschätzung der regionalen Lymphknoten möglich
N0	Keine regionalen Lymphknoten-Metastasen

N1	Metastase in einem einzelnen gleichseitigen Lymphknoten, nicht größer als 3 cm im Durchmesser
N2a	Metastase in einem einzelnen gleichseitigen Lymphknoten, zwischen 3 und 6 cm im Durchmesser
N2b	Metastase in mehreren gleichseitigen Lymphknoten, kleiner 6 cm im Durchmesser
N2c	Metastase in beidseitigen oder gegenüberliegenden Lymphknoten, kleiner 6 cm im Durchmesser
N3	Metastase(n) in Lymphknoten, größer als 6 cm im Durchmesser

Tabelle 5: N-Klassifikation

M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Tabelle 6: M-Klassifikation

Rx	Eventueller Resttumor kann nicht beurteilt werden
R0	Kein Resttumor
R1	Mikroskopischer Resttumor
R2	Makroskopischer Resttumor

Tabelle 7: R-Klassifikation

Gx	Differenzierungsgrad nicht bestimmbar
G1	Gut differenziert
G2	Mäßig differenziert
G3	Schlecht differenziert

G4	Undifferenziert
----	-----------------

Tabelle 8: Differenzierung des HNSCC-Gewebes

Stadium	T	N	M
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium II	T2	N0	M0
Stadium III	T1, T2	N1	M0
	T3	N0, N1	M0
Stadium IV A	T1, T2, T3	N2	M0
	T4a	N0, N1, N2	M0
Stadium IV B	Jedes T	N3	M0
	T4b	Jedes N	M0
Stadium IV C	Jedes T	Jedes N	M1

Tabelle 9: UICC Stadien von Mundhöhlen- und Lippentumoren

Stadium	T	N	M
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium II	T2	N0	M0
Stadium III	T1, T2	N1	M0
	T3	N0, N1	M0
Stadium IV A	T1, T2, T3	N2	M0
	T4a	N0, N1, N2	M0

Stadium IV B	T4b	Jedes N	M0
	Jedes T	N3	M0
Stadium IV C	Jedes T	Jedes N	M1

Tabelle 10: UICC Stadium von Oro- und Hypopharynx-Tumoren

Stadium	T	N	M
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium II	T2	N0	M0
Stadium III	T1, T2	N1	M0
	T3	N0, N1	M0
Stadium IV A	T1, T2, T3	N2	M0
	T4a	N0, N1, N2	M0
Stadium IV B	T4b	Jedes N	M0
	Jedes T	N3	M0
Stadium IV C	Jedes T	Jedes N	M1

Tabelle 11: UICC Stadium von Larynx-Tumoren

(Wittekind und Meyer 2010)

Im Jahr 2017 erschien die 8. Auflage der TNM Klassifikation mit einigen Neuerungen für die unterschiedlichen Lokalisationen der Kopf-und-Hals-Tumore. Für Karzinome der Lippe und der Mundhöhle muss fortan die Infiltrationstiefe des Tumors mitbestimmt werden. Darüber hinaus muss für Oropharynx-Tumore, die für eine virale Onkogenese durch HPV typische p16 Expression immunhistochemisch ermittelt werden. Anschließend wird bei der Stadieneinteilung nach UICC zwischen dem p16 positivem und dem p16 negativem Oropharynxkarzinom unterschieden. Die p16 negativen Tumore werden mit den Hypopharynx-

Tumoren zusammengefasst. Bei den Hypopharynx-Tumoren wird die Erstreckung in den Ösophagus nun auch zu T3 gezählt. Zusätzlich wurde die N-Klassifikation erweitert in N3a und N3b. Zu N3b wird nun die extranodale Ausbreitung gezählt (Brierley et al. 2017). Aufgrund des Diagnosezeitraums, des in dieser Arbeit erfassten Kollektivs, finden diese Neuerungen jedoch keine Berücksichtigung in der vorliegenden Arbeit.

2.3. Epidemiologie

Weltweit variiert die Anzahl der Neuerkrankungen an HNSCCs stark. So belegten die Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereiches im Jahr 2008 bei Männern weltweit Platz neun der Krebsneuerkrankungen (Jemal et al. 2011, S. 72). Die höchsten Inzidenzen sind dabei in Melanesien, Süd-Zentral Asien und Zentral- und Ost-Europa zu finden (Jemal et al. 2011, S. 83). Wie in Abbildung 1: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebserkrankungen in Deutschland 2014 (ohne nicht-melanotischen Hautkrebs) (Robert-Koch-Institut 2017, S. 16) zu erkennen gibt es auch in Deutschland geschlechter- und lokalisationsbezogene Unterschiede in der Neuerkrankungsrate. So rangierte das Karzinom der Mundhöhlen und des Rachens bei Männer 2014 auf Platz neun und bei Frauen auf Platz 15 der Krebserkrankungen (Robert-Koch-Institut 2017, S. 16).

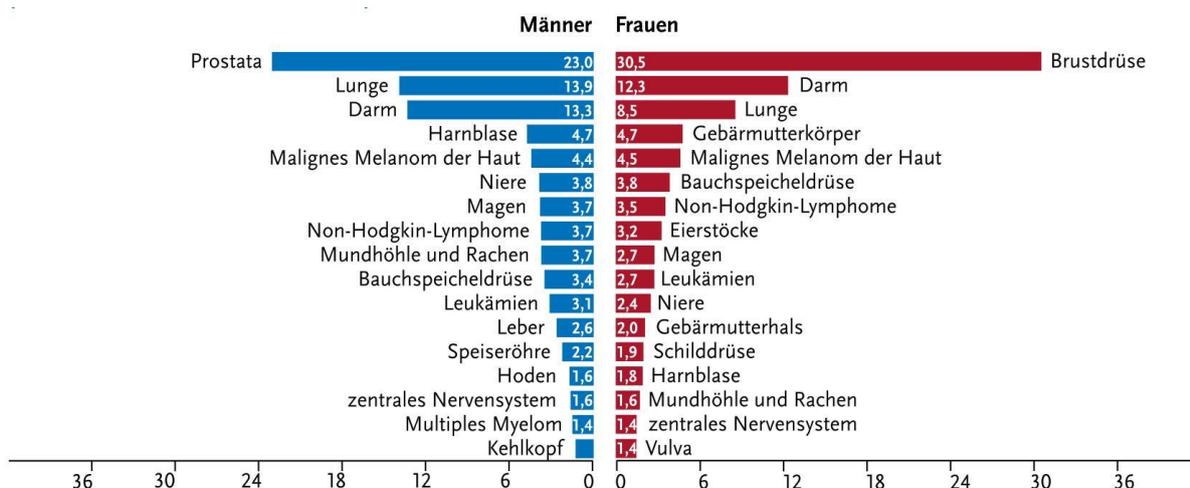


Abbildung 1: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebserkrankungen in Deutschland 2014 (ohne nicht-melanotischen Hautkrebs) (Robert-Koch-Institut 2017, S. 16)

Auch bei der Sterberate gab es im Jahr 2014 in Deutschland geschlechterspezifische Unterschiede (Robert-Koch-Institut 2017, S. 17), bei Männern belegten Karzinome der Mundhöhle und des Rachens Platz neun und bei Frauen Platz 16 der Tumorlokalisationen mit Todesfolge- siehe dazu Abbildung 2: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebssterbefällen in Deutschland 2014 (Robert-Koch-Institut 2017, S. 17).

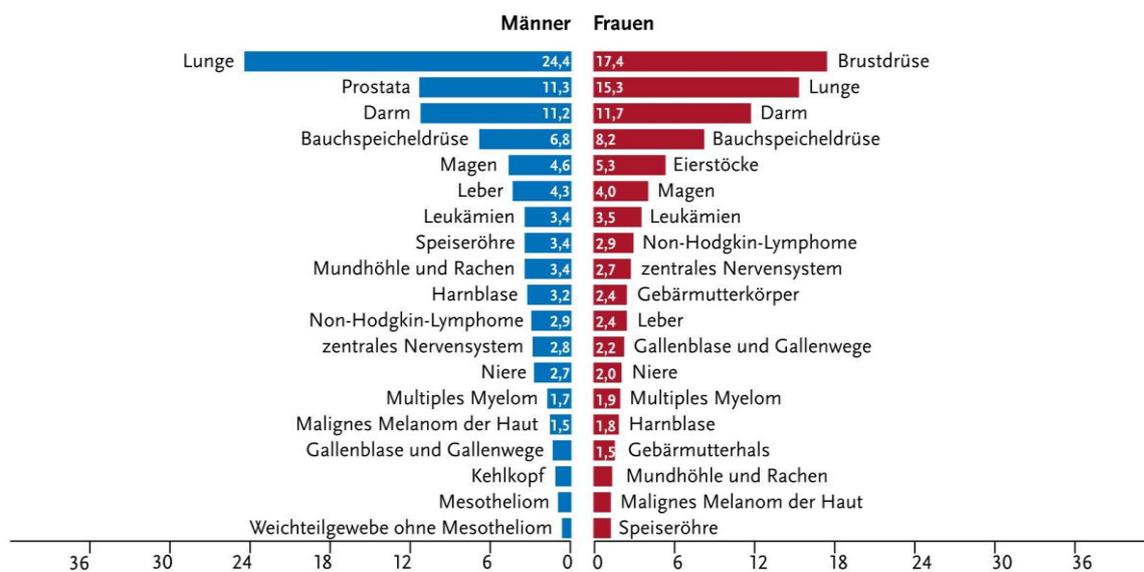


Abbildung 2: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebssterbefällen in Deutschland 2014 (Robert-Koch-Institut 2017, S. 17)

Darüber hinaus unterscheidet sich das mittlere Erkrankungs- und Sterbealter. Laut Robert-Koch-Institut betrug der Median des Erkrankungsalters 2014 bei Männern 63 und bei Frauen 66 Jahre. Der Median des Sterbealters lag bei Männern bei 65 und bei Frauen bei 71 Jahren (Robert-Koch-Institut 2017, S. 17). Die Daten für Karzinome des Kehlkopfes sehen ähnlich aus. Das mittlere Erkrankungsalter bei Männern lag 2014 hier bei 66 Jahren, bei Frauen bei 65 Jahren. Das mittlere Sterbealter lag für Männern bei 71 Jahren und für Frauen bei 70 Jahren. (Robert-Koch-Institut 2017, S. 52)

Die 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit zeigt ebenfalls Unterschiede in Bezug auf Lokalisation und Geschlecht. Für Karzinome der Mundhöhle und des Rachens gilt für „Frauen mit 59 % im Vergleich zu Männern mit 48 % [eine] höhere relative 5-Jahres-Überlebensrate[n]“ (Robert-Koch-Institut 2017, S. 24). Für Karzinome des Larynx sind die Unterschiede nicht so ausgeprägt, hier gilt eine „relative[n] 5-Jahres-Überlebensrate[n] von Männern (63 %) und Frauen (64 %)“ (Robert-Koch-Institut 2017, S. 52). Hierbei gilt es, das Stadium zum Zeitpunkt der Diagnose zu berücksichtigen.

Wie in Abbildung 3: Absolute Zahl der Neuerkrankungs- und Sterbefälle, nach Geschlecht, ICD-10 C00-C14, Deutschland 1999-2014/15 (Robert-Koch-Institut 2017, S. 25) zu erkennen, nimmt die Erkrankungsrate für Karzinome in Mundhöhle und Rachen für Männer tendenziell ab, für Frauen hingegen zu. Die Sterberate bleibt hier seit circa 2010 in Deutschland relativ konstant (Robert-Koch-Institut 2017, S. 25).

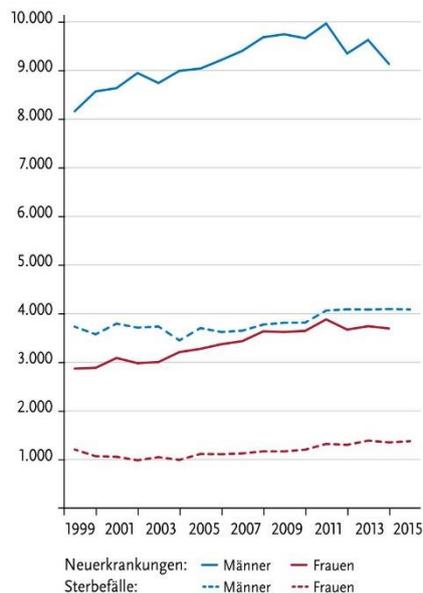
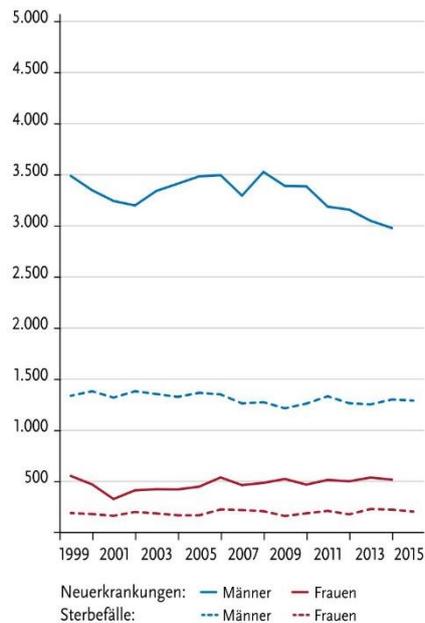


Abbildung 3: Absolute Zahl der Neuerkrankungs- und Sterbefälle, nach Geschlecht, ICD-10 C00-C14, Deutschland 1999-2014/15 (Robert-Koch-Institut 2017, S. 25)

Auch für das Larynx-Karzinom nimmt die Erkrankungsrate bei Männern eher ab, während sie bei Frauen konstant niedriger bleibt. Die Sterberate ist auch hier in Deutschland seit einigen Jahren konstant (Robert-Koch-Institut 2017, S. 53), siehe hierzu Abbildung 4: Absolute Zahl der Neuerkrankungs- und Sterbefälle, nach Geschlecht, ICD-10 C32, Deutschland 1999-2014/15 (Robert-Koch-Institut 2017, S. 53).



2

Abbildung 4: Absolute Zahl der Neuerkrankungs- und Sterbefälle, nach Geschlecht, ICD-10 C32, Deutschland 1999-2014/15 (Robert-Koch-Institut 2017, S. 53)

Gründe für die epidemiologischen Unterschiede zwischen den Geschlechtern werden im unterschiedlichen Risikoverhalten gesehen.

2.4. Ätiologie

Die Ätiologie des HNSCCs ist multivariabel und Gegenstand aktueller Forschung.

2.4.1. Lifestyle assoziierte Risikofaktoren

Einige der Risikofaktoren für HNSCCs sind seit vielen Jahren bekannt und untersucht. Dazu zählen die Genussmittel Tabak, Alkohol und Betelnuss.

Bereits Ende der 1940er Jahre wurde Tabak in Zusammenhang mit der Entstehung von zunächst Lungenkarzinomen gebracht (Doll, R. Hill, B. 1950). In den folgenden Jahren wurde der Einfluss von Tabak weiter untersucht und Mitte der 1960er Jahre wurde auch die Entstehung von Larynxkarzinomen in Zusammenhang mit Tabakkonsum gebracht (Jethwa und Khariwala 2017, S. 414). Heute weiß man, dass Tabakkonsum ein Risikofaktor für alle HNSCC Lokalisationen ist. Anamnestisch wird dabei sowohl der Unterschied in der Zubereitungsart des Tabaks als auch die tägliche konsumierte Menge beachtet.

Bei den Zubereitungsformen werden die gerauchten Tabakformen von den nicht gerauchten Tabakformen unterschieden. Zu den gerauchten Tabakformen zählen Zigaretten, Zigarren, Zigarillos und die E-Zigarette. Zu den nicht gerauchten Tabakformen zählen Kau- und Schnupftabak. Bei allen Konsumformen steigt das Risiko an einem HNSCC zu erkranken - lediglich die anatomische Lokalisation unterscheidet sich. So erhöht der regelmäßige Konsum von Kautabak beispielsweise das Risiko eines Plattenepithelkarzinoms der Mundhöhle (Wyss et al. 2016).

Ein weiterer Risikofaktor ist der Alkoholkonsum. Die internationale Agentur für Krebsforschung (IARC) listet Alkoholkonsum seit 1988 als Risikofaktor für die Entstehung eines Karzinoms im Kopf-Hals-Bereich (International Agency for research on cancer, WHO). Dies wurde in den nachfolgenden Jahren durch verschiedene Studien bestätigt, unter anderem Blot et al.. Mehrfach wurde hier, auch in großen Kohorten wie zum Beispiel von Marron M. et al., gezeigt, dass die Zubereitungsform nicht entscheidend ist, sondern die Menge an Ethanol, die aufgenommen wird (Marron et al. 2012).

Tabak allein erhöht das Risiko an einem HNSCC zu erkranken, dabei um das zehnfache (Jethwa und Khariwala 2017, S. 411), Alkohol um das zweifache (Hashibe et al. 2007, S. 784). Da die Risikofaktoren jedoch häufig zusammen auftreten, beschrieb Bolt et al. erstmals, dass sich das

Risiko an einem HNSCCs zu erkranken, bei gleichzeitigem Alkohol- und Tabakkonsum nicht additiv verhält, sondern um das 35-fache ansteigt (Bolt et al. 1988).

Einen weiteren Risikofaktor stellt der Genuss von Produkten der Betelnusspalme dar. Seit den späten 1950er Jahren fiel der WHO die Häufung von Karzinomen der Mundhöhle in Süd- und Südost-Asien auf (Hirayama T. 1966). Dies wurde in Zusammenhang mit dem Konsum von Produkten der Betelnusspalme (Botanisch: *Areca catechu*) gebracht, deren getrocknete Blätter und Nüsse werden, je nach regionaler Konvention, vermischt mit Tabak oder Limette konsumiert (WHO 1984). Trotz intensiver Bemühungen vor allem in Indien und Südostasien sind die genauen Mechanismen der Kanzerogenität nicht verstanden (Shah et al. 2012, S. 74). Der statistische Zusammenhang konnte jedoch mehrfach in Studien gezeigt werden (Thomas und MacLennan 1992; Zhang und Reichart 2007; Thomas et al. 2007; Shah et al. 2012).

2.4.2. Virale Risikofaktoren

Ein weiterer Risikofaktor ist die Infektion mit dem Humanen Papillomavirus (HPV). Da sich bei circa 15 bis 20% der HNSCC-Patienten anamnestisch weder Alkohol- noch Tabakkonsum erheben ließ (Koch et al. 1999; Gillison et al. 2000), wurde diese Patientengruppe genauer untersucht. So konnten Koch et al. zeigen, dass sich die Tumore von Nicht-Rauchern genetisch von denen der Raucher unterscheiden (Koch et al. 1999). Gleichzeitig fanden Gillison et al., dass Patienten mit einem HPV positiven HNSCC ein circa halb so großes Mortalitätsrisiko haben im Vergleich zu HPV negativen HNSCC Patienten (Gillison et al. 2000, S. 716). Daraus entwickelte sich die Hypothese, dass es zwei verschiedene Wege der Tumorgenese geben müsse. Einen über die oben bereits erläuterten Risikofaktoren, Alkohol und Nikotin, und einen weiteren Weg über eine viral getriggerte Onkogenese in Verbindung mit einer HPV-Infektion. Die HPV-Infektion konnte besonders in den Karzinomen des Oropharynx nachgewiesen werden (Koch et al. 1999; Paz et al. 1997, S. 598; Brandsma und Abramson 1989). Da sich diese Tumore durch mehrere Besonderheiten auszeichnen, wurde p16 als Surrogate-Marker für

den HPV Statuts 2017 in die TNM Klassifikation der Oropharynxkarzinome aufgenommen (Brierley et al. 2017). Zu den Charakteristika des p16, beziehungsweise des HPV, positiven HNSCCs zählt, unter anderem das jüngere Patientenkollektiv, das längere Überleben und das bessere Ansprechen auf Strahlen- und Chemotherapie (Hafkamp et al. 2008; Marur et al. 2010). Eine Zusammenfassung der Unterschiede ist in Tabelle 12: Unterschiede zwischen HPV positiven und HPV negativen HNSCCs nach (Marur et al. 2010, S. 784) zu sehen.

	HPV positive Tumore	HPV negative Tumore
Anatomische Lage	Tonsille und Zungengrund	Alle Lagen
Histologie	Nicht-keratinisierend	keratinisierend
Alter	Jüngere Kohorte	Ältere Kohorte
Geschlechterverhältnis	3:1, mehr Männer	3:1, mehr Männer
Stadium	Tx, T1-2	Variabel
Risikofaktoren	Sexualverhalten	Alkohol und Tabak
Inzidenz	Ansteigend	Abfallend
Überleben	Verbessert	unverändert

Tabelle 12: Unterschiede zwischen HPV positiven und HPV negativen HNSCCs nach (Marur et al. 2010, S. 784)

Abzuwarten bleibt, ob und wann sich ein Effekt durch die HPV-Impfung für die Kanzerogenese im Aerodigestivtrakt abzeichnet.

2.4.3. Weitere Risikofaktoren

Darüber hinaus werden in der Literatur weitere Risikofaktoren diskutiert. Dazu zählen unter anderem schlechte Mundhygiene (Hashim et al. 2016, S. 1623), der weibliche Hormonzyklus (Hashim et al. 2017), körperliche Inaktivität (Platek et al. 2017, S. 3779) und bestimmte Sexualpraktiken (Marur et al. 2010, S. 783; Shah et al. 2017, S. 708).

Umstritten ist, ob die Verwendung von Mundwasser als Risikofaktor gewertet werden kann, da dieses meist alkoholhaltig ist (Boffetta et al. 2016). Ähnlich verhält es sich mit dem Konsum von Marihuana, da hier meist Tabak zeitgleich konsumiert wird.

2.5. Pathologie

Häufigster Ausgangspunkt der Tumore des Kopf-Hals-Bereiches ist das typische Plattenepithel des oberen Aerodigestivtraktes. „Über 80 % der Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereichs entsprechen [dabei] typischen verhornenden oder nichtverhornenden Plattenepithelkarzinomen“ (Ihrler et al. 2014) darüber hinaus gibt es mehrere seltenere Unterformen, wie das verruköse, das sarkomatoide und das basaloide Plattenepithelkarzinom (Ihrler et al. 2014). Bereits 1953 wurde der Begriff der Feldkanzerisierung durch Slaughter et al. geprägt, die von einem mehrstufigen, in mehreren Zellen auftretenden, Prozess der Krebsentstehung, ausgingen (Slaughter et al. 1953, S. 967).

Klinisch sind mehrere Vorstufen bekannt, unter anderem die oralen Leukoplakien (Warnakulasuriya und Ariyawardana 2016, S. 162).

Damit sich aus gesunden Zellen ein Karzinom entwickelt, wird davon ausgegangen, dass sechs krebstypische Veränderungen auftreten müssen, die sogenannten „Hallmarks of Cancer“, dazu zählen: Unabhängigkeit von proliferativen Signalwegen, Umgehung von wachstumshemmenden Signalen, Induktion der Angiogenese, Widerstand gegen den Zelltod, unbegrenzte Zellreplikation, invasives Wachstum und Metastasierung (Hanahan und Weinberg 2011).

Bei HNSCCs sind verschiedene molekularpathologische Veränderungen bekannt, die typischerweise auftreten und der Zelle den Weg der Karzinogenese eröffnen. Insgesamt werden zwischen 50 bis 100 Mutationen in Verbindung mit der Entstehung eines HNSCCs gebracht, welche Gegenstand der aktuellen Forschung sind (Leemans et al. 2018, S. 271). Auf einige

wichtige Genmutationen wird im Folgenden eingegangen, sie sind in Tabelle 13 zusammengefasst.

Zellulärer Prozess	Gen	Genart	Mutationshäufigkeit (%)
Zellzyklus	CDKN2A	Tumorsuppressor	22
	TP53	Tumorsuppressor	72
	CCND1	Tumoronkogen	0,6
Wachstumssignale	EGFR	Tumoronkogen	4
Überlebenssignal	PIK2CA	Tumoronkogen	18
	PTEN	Tumorsuppressor	3
WNT Signalweg	FAT1	Tumorsuppressor	23
	AJUBA	Tumorsuppressor	7
	NOTCH1	Tumorsuppressor	18
Epigenetische Veränderungen	KMT2D	Tumorsuppressor	16
	NSD1	Tumorsuppressor	12

Tabelle 13: Gene mit hoher Signifikanz und Häufigkeit der somatischen Genveränderungen in HPV positiven HNSCCs modifiziert nach Leemans et al. 2018, S. 272

Sehr früh in der Karzinogenese scheint der Verlust der Heterozygotie der Chromosomen aufzutreten, da diese zuerst in der Beschreibung der Präkanzerosen entdeckt wurden (Califano et al. 1996). Später ließ sich der Heterozygotie-Verlust der Chromosomen 3p und 9p und die Veränderungen, der hier codierten Proteine P16-INKA und G1-S-spezifisches Cyclin D1, mehrfach in HNSCCs nachweisen (Leemans et al. 2018, S. 272). Eine weitere häufige Mutation ist die Mutation von TP53, die in 60-80% der HNSCCs zu finden ist (Leemans et al. 2011, S. 11). Zusammen genommen beeinflusst dies den Zellzyklus.

Eine weitere Veränderung ist die Amplifikation des „Epidermal Growth Factor Rezeptors“ (EGFR), welcher nachgeschaltet unter anderem Einfluss auf den Mitogen-aktivierende Protein-Kinase (MAPK)- und den Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K) - Signalweg und damit auf Wachstumssignale des Zellzyklus hat. (Normanno et al. 2006, S. 3)

In ausgedehnten Genanalysen an HNSCCs wurden weitere Mutationen, im zur Familie der Cadherine zählenden FAT1 Gen, dem zur Familie der JUB Gene zählenden AJUBA Gen und im NOTCH1 Signalweg gefunden, die alle den Tumorsuppressor-hemmenden WNT Signalweg beeinflussen (The Cancer Genome Atlas Network 2015, S. 581).

Zusätzlich wurden epigenetische Veränderungen in HNSCCs beobachtet, wie unterschiedliche Methylierungs- und Acetylierungsgrade an den Genen der Histon-Lysin-N-Methyltransferase, Bindestelle 1 (NSD1) und der Histon-Lysin-N-Methyltransferase 2D (KMT2D) (The Cancer Genome Atlas Network 2015, S. 578).

Insgesamt unterscheiden sich die Mutationen und molekularpathologischen Veränderungen zwischen HPV positiven und HPV negativen Karzinomen (The Cancer Genome Atlas Network 2015, S. 580). Und man geht derzeit von verschiedenen Wegen aus, die zum Teil parallel ablaufen (Leemans et al. 2018, S. 280). Eine modellgraphische Zusammenfassung nach Leemans et al. ist in Abbildung 5: Modell der genomischen Karzinogenese in HNSCCs (Leemans et al. 2018, S. 279) zu sehen. Auf der linken Seite ist dabei die HPV assoziierte Karzinogenese abgebildet über die Onkoproteine E6 und E7. Auf der rechten Seite ist hingegen die Noxen-assoziierte Karzinogenese abgebildet mit den entsprechenden Mutationen, die zu unterschiedlichen pathologischen Plattenepithelkarzinom-Formen führen.

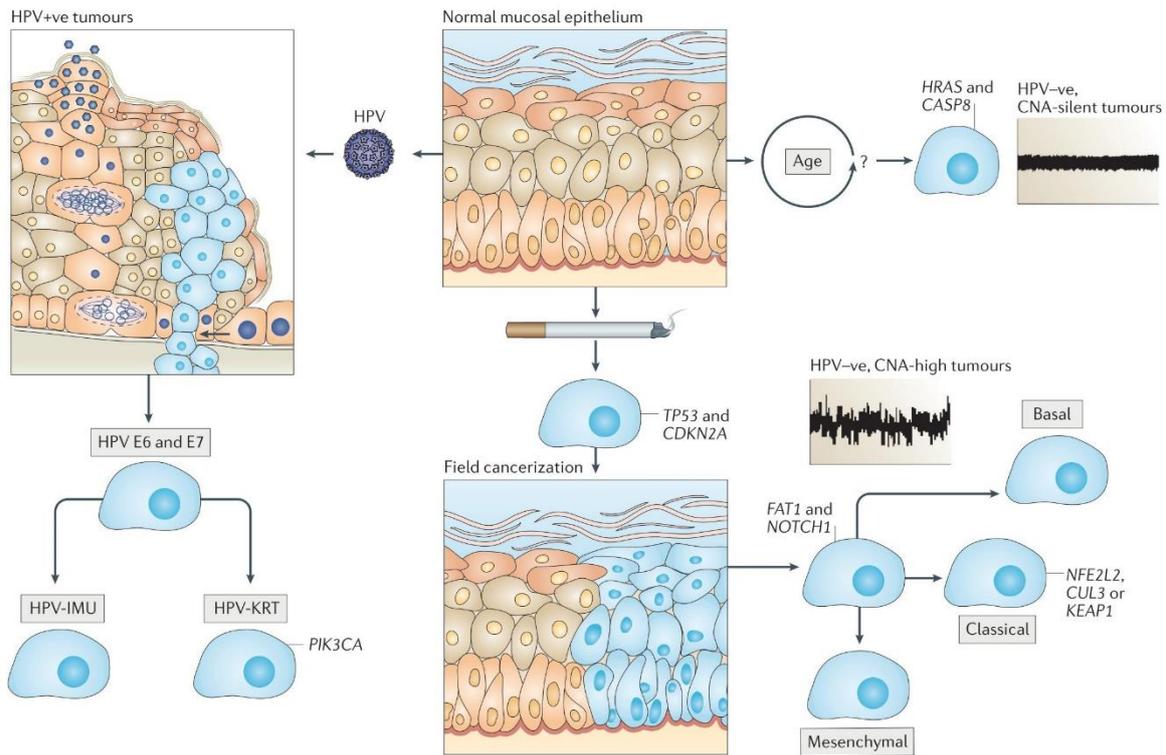


Abbildung 5: Modell der genomischen Karzinogenese in HNSCCs (Leemans et al. 2018, S. 279)

2.6. Metastasierung

Ein charakteristisches Merkmal von Kanzerogenität ist die Fähigkeit, Metastasen zu entwickeln (Hanahan und Weinberg 2011). Bereits 1889 wurde die „Seed-and Soil“-Theorie der Metastasierung von S. Paget aufgestellt (Paget 1889). Mittlerweile wird davon ausgegangen, dass bestimmte Tumorzellen sich im Sinne eines Samens auf den Weg machen und in bestimmten Organen auf das für sie passende Mikroenvironment treffen, in dem sie sich zu einer Metastase entwickeln können (Langley und Fidler 2007, S. 313). Für beide Entwicklungen, also sowohl die Zellen im Tumor, als auch das Mikroenvironment am Ort der Metastasenbildung gibt es mehrere Entstehungstheorien (Talmadge und Fidler 2010; Hanahan und Weinberg 2011, S. 656).

Auf Zellebene lässt sich die Metastasierung als mehrstufiger Prozess auffassen, der in Tabelle 14 angelehnt an Talmadge und Fidler zusammengefasst ist.

1.	Initiales Transformationsereignis mit anschließendem progressivem, neoplastischem Zellwachstum
2.	Notwendigkeit der Vaskularisation, ab 1-2 mm Durchmesser und damit die Synthese und Sekretion von Angiogenese-Faktoren
3.	Lokale Invasion über verschiedene Mechanismen in das Wirtsgewebe
4.	Ablösung und Embolisation von Tumorzellaggregaten, größenvariabel je nach Interaktion mit hämatopoetischen Stammzellen
5.	Zirkulation der Tumorzellaggregate in Blut- und Lymphgefäßen
6.	Überleben der wandernden Tumorzellen und Anheftung in Kapillarbetten
7.	Extravasation der Zellen des Tumorzellaggregates mithilfe von Gewebsinvasion
8.	Proliferation der Tumorzellen im Parenchym, führt zur Bildung eines metastatischen Fokus
9.	Etablierung der Vaskularisation und Abwehr der Immunantwort des Wirtsorganes
10.	Re-Initiierung des Prozesses zur Bildung von Metastasen der Metastasen

Tabelle 14: Mehrstufiger Prozess der Metastasenbildung nach Talmadge und Fidler (Talmadge und Fidler 2010)

Bei HNSCCs können zwei Arten von Metastasen unterschieden werden: die lymphogenen und die hämatogenen Metastasen.

2.6.1. Lokoregionäre Metastasierung

Bei der lokoregionären Metastasierung kommt es zum Befall der zervikalen Lymphknoten. Je nach Lokalisation des Primärtumors sind unterschiedliche Muster des Lymphknotenbefalls entlang der zervikalen Lymphabflüsse, bekannt (Lindberg 1972, S. 1447). Therapeutisch wird je nach Erkrankungsstadium, Patientenwunsch und Tumorboard-Empfehlung die chirurgische

Lymphknotenentfernung im Sinne einer neck dissection, siehe dazu Kapitel 2.8 Therapie, durchgeführt.

Einen klinischen Sonderfall stellen Patienten dar, die zunächst mit einem sogenannte CUP-Syndrom, auffallen. CUP-Syndrom steht dabei für den englischen Begriff „Cancer of unknown primary“. Im Deutschen würde man den Begriff mit „Metastasen bei unbekanntem Primärtumor“ (Hossfeld und Wittekind 2005, S. 904) übersetzen. Dabei fallen die Patienten zunächst durch eine Metastase auf, zu der kein Primärtumor bekannt ist. Für eine zervikale Lymphknotenmetastase ergeben sich die in Abbildung 6: Halslymphknotenmetastasen und möglicher Sitz des Primärtumors (Hossfeld und Wittekind 2005, S. 905) dargestellten Möglichkeiten eines Primärtumors, die durch eine entsprechende Diagnostik, im Sinne einer Bildgebung und pathologischen Aufarbeitung, abgeklärt werden müssen.

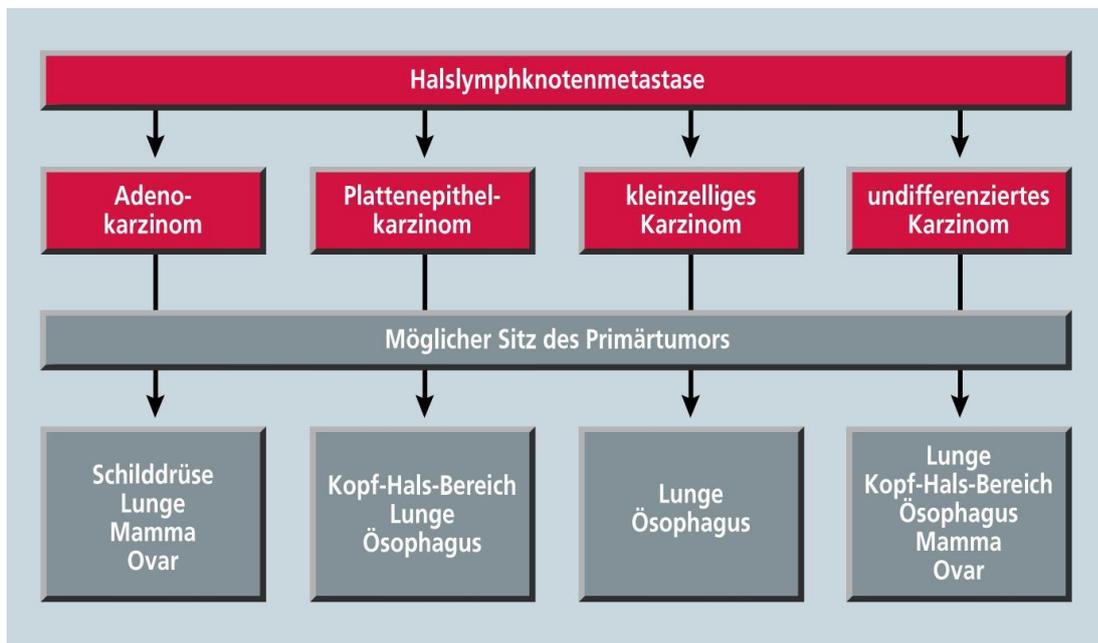


Abbildung 6: Halslymphknotenmetastasen und möglicher Sitz des Primärtumors (Hossfeld und Wittekind 2005, S. 905)

2.6.2. Fernmetastasierung

Bei der Fernmetastasierung kommt es zur Metastasenbildung in einem anderen Organsystem. Es kann dabei zwischen der Metastasenbildung in einem soliden Organ und dem lymphatischen Organsystem unterschieden werden (Spector et al. 2001).

Am häufigsten betroffen von einer Fernmetastasierung bei einem HNSCC sind Lunge, Leber und Knochen, hier besonders Rippen, Wirbel und Schädel (Spector et al. 2001). Eine lymphogene Fernmetastasierung erfolgt am häufigsten in die mediastinalen Lymphknoten (Spector et al. 2001). In klinischen Studien wurde eine Fernmetastasierungsrate zwischen 11% und 24% gefunden (Spector et al. 2001). Spector et al. fanden in einer klinischen Studie zur Rezidiv- und Fernmetastasenbildung keinen Zusammenhang mit dem T-Stadium des Tumors und der Ausbildung von Fernmetastasen (Spector et al. 2001), vermuteten aber einen Zusammenhang mit extrakapsulärem Wachstum, also Tumorwachstum außerhalb der Lymphknoten (Spector et al. 2001). Sumi et al. konnte 2017 zeigen, dass extrakapsuläres Wachstum zumindest für regionäre Metastasierung einen Risikofaktor darstellt (Sumi et al. 2017). Weitere Einflussfaktoren auf die Bildung von Fernmetastasen sind Gegenstand aktueller Forschung.

Therapeutisch ändert sich das Vorgehen bei einer Fernmetastasierung zumeist von einem kurativen zu einem palliativen Ansatz.

2.7. Diagnostik und Symptomatik

Die Diagnostik von Tumoren des Kopf-Hals-Bereiches wird an die Symptomatik und die Anamnese des Patienten angepasst. Die Symptome unterscheiden sich hier entsprechend der anatomischen Lokalisation des Tumors. Die S3-Leitlinie für Mundhöhlenkarzinome empfiehlt eine spezialisierte Abklärung bei Vorliegen eines der folgenden Symptome über zwei Wochen:

- Weiße oder rote Flecken auf der Mundschleimhaut

- Vorliegen eines Schleimhautdefektes oder einer Ulzeration
- Schwellung im Bereich der Mundhöhle
- Unklare Zahnlockerung
- Persistierendes, speziell einseitiges Fremdkörpergefühl
- Schmerzen
- Schluckstörungen oder Schmerzen beim Schlucken
- Schwierigkeiten beim Sprechen
- Verminderte Zungenbeweglichkeit
- Taubheitsgefühl an Zunge, Zähnen oder Lippe
- Unklare Blutungen
- Schwellung am Hals
- Foetor ex ore
- Veränderung der Okklusion

(Deutsche Gesellschaft für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie 2012)

Oder einem der nachfolgenden Symptome über vier Wochen:

- Heiserkeit
- Schwierigkeiten beim Sprechen und Atmen
- Schmerzen, ins Ohr ausstrahlend
- Schluckstörungen und/oder Schmerzen beim Schlucken
- Unklares Bluthusten

(Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde 2018)

Die spezialisierte Abklärung umfasst zunächst die Anamnese, insbesondere in Bezug auf mögliche Risikofaktoren (siehe Kapitel 2.4 Ätiologie), die körperliche Untersuchung und bei allen nicht der direkten Inspektion zugänglichen Lokalisationen, empfiehlt die S3 Leitlinie, die endoskopische oder Spiegel-Untersuchung (Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-

Ohrenheilkunde 2018). Diese ist sowohl starr als auch flexibel möglich (Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde 2018). Zur weiteren Abklärung der Ausdehnung und eines eventuell vorhanden synchronen Zweitkarzinoms sollte eine Panendoskopie in Vollnarkose vorgenommen werden (Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde 2018). Des Weiteren soll im Rahmen der körperlichen Untersuchung nach Zeichen einer lymphogenen Metastasierung am Hals gesucht werden, erst palpatorisch und bei bestehendem Verdacht mit Hilfe einer Ultraschall- und Schnittbild-Untersuchung, im Sinne eines CTs oder MRTs (Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde 2018). Zur endgültigen Diagnosesicherung muss, entsprechend der Leitlinie, eine Biopsie entnommen werden, welche pathologisch aufgearbeitet werden muss (Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde 2018).

2.8. Therapie

Nach der Diagnosesicherung wird jeder Fall in einem interdisziplinären Tumor-Board, bestehend aus den beteiligten Fachgebieten wie „Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Strahlentherapie, medizinische Onkologie, Pathologie und Radiologie“ (Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde 2018), besprochen. Die hierbei erarbeitete Empfehlung wird im Anschluss mit dem Patienten besprochen, bevor eine Therapie-Entscheidung getroffen wird.

Therapeutisch stehen die drei Säulen der Krebstherapie zur Verfügung: Chirurgie, Strahlentherapie und Chemotherapie. In den frühen Tumorstadien UICC I und II erfolgt die Therapie in der Regel kurativ, entweder chirurgisch oder durch Bestrahlung (Argiris et al. 2008, S. 1701). In fortgeschrittenen Stadien werden die drei Therapieformen entsprechend kombiniert (Argiris et al. 2008, S. 1701).

2.8.1. Chirurgische Therapie

Standardtherapie des HNSCCs ist, abhängig von Lokalisation und Stadium der Erkrankung, die operative Resektion des Tumors. (Argiris et al. 2008, S. 1699; Deutsche Gesellschaft für Mund-

, Kiefer- und Gesichtschirurgie 2012; Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde 2018)

Dabei muss eine Balance zwischen Funktionserhalt zum Wohl des Patienten und Radikalität des Eingriffes zum Zweck der R0-Resektion gefunden werden (Baddour et al. 2016, S. 248).

Die chirurgische Versorgung wird leitliniengemäß und Stadien-angepasst mit einer Entfernung der Lymphknoten einer sogenannten neck dissection, vorgenommen (Deutsche Gesellschaft für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie 2012; Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde 2018). Bei der neck dissection unterscheidet man verschiedene Formen:

- Radikale neck dissection (RND): Resektion Level I-V incl. Resektion der Vena jugularis interna [...] des Musculus sternocleidomastoideus [...] und des Nervus accessorius
- Modifiziert radikale neck dissection (mRND) = funktionale ND: Resektion der Level I-V; Erhalt einer oder mehrerer nicht-lymphatischer Strukturen der RND (mRND Typ 1-3)
- Selektive neck dissection (SND) Erhalt von einem oder mehreren LK-Levels der RND; Erhalt der [Vena jugularis interna, M. sternocleidomastoideus und N.accessorius] [...]
- Extended neck dissection

(Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde 2018)

Die entsprechende Levelteilung ist in Abbildung 7: Anatomische Darstellung der Level Einteilung für die neck dissection (Robbins et al. 2008, S. 537) zu erkennen.

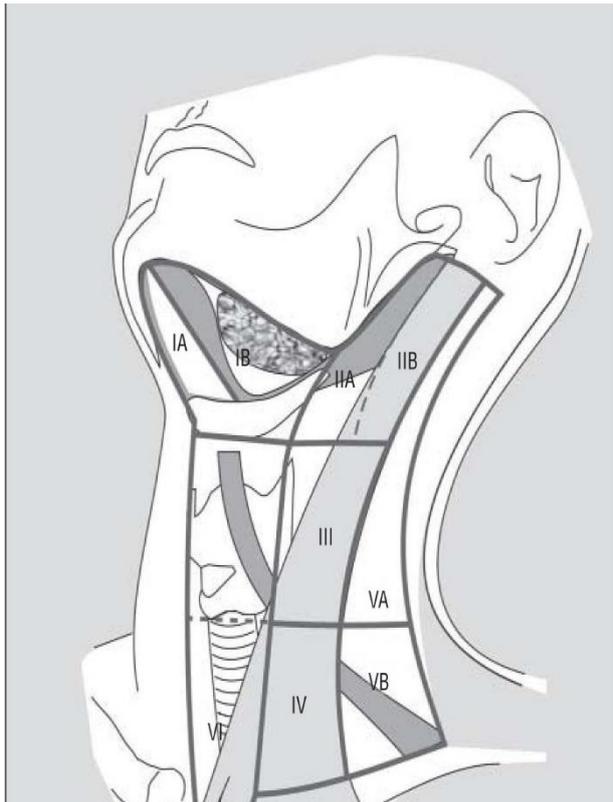


Abbildung 7: Anatomische Darstellung der Level Einteilung für die neck dissection (Robbins et al. 2008, S. 537)

2.8.2. Bestrahlungstherapie

Weiterer wichtiger Bestandteil der Therapie ist die Bestrahlung oder Radiatio (Argiris et al. 2008, S. 1699; Marta et al. 2014, S. 9). Die Bestrahlung bildet damit zusammen mit der Chemotherapie die Grundlage der konservativen HNSCC Therapie, welche stadien- und lokalisationsabhängig eingesetzt wird. (Deutsche Gesellschaft für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie 2012; Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde 2018) Sie kann sowohl einzeln als auch in Kombination mit den weiteren Therapiemöglichkeiten eingesetzt werden (Deutsche Gesellschaft für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie 2012).

Dabei werden verschiedene Arten der Bestrahlung unterschieden. In den entsprechenden Leitlinien wird dabei sowohl die fraktionierte als auch die intensitätsmodulierte Bestrahlung für unterschiedliche Tumorstadien und -lokalisationen empfohlen. Nutting et al. fanden in einer randomisierten Studie in England ein geringeres Risiko auf die stark

lebensqualitätseinschränkenden Nebenwirkungen Xerostomie und akute Dermatitis bei der intensitätsmodulierten Radiotherapie (IMRT) (Nutting et al. 2011, S. 134), da hier die großen Speicheldrüsen besonders beachtet und geschont werden (Nutting et al. 2011, S. 127). Dies führte in Zusammenschau mit weiteren Vorteilen, wie der Schonung der Schilddrüse oder der großen Halsgefäße, mit nachfolgender Reduktion postradiogener Spättoxizität und nachfolgender Morbidität, unter anderem gezeigt von Marta GN et al. (Marta et al. 2014, S. 12), zur Empfehlung dieser Bestrahlungsart bei HNSCC.

Die konventionell fraktionierte Bestrahlung kann auch in Kombination mit einer Systemtherapie, als kombinierte Radiochemotherapie (siehe Kapitel 2.8.3 Radiochemotherapie) indiziert sein.

2.8.3. Chemotherapie

Als weitere Form der Therapie des HNSCCs steht die Chemotherapie zur Verfügung. Sie kann entweder allein, dann zumeist in einem palliativen Kontext, oder in Kombination erfolgen. Therapeutisch eingesetzt werden zumeist platinhaltige Chemotherapeutika in Kombination mit Methotrexat, Fluorouracil und Taxane, wie Paclitaxel oder Docetaxel (Colevas 2006, S. 2649).

Bei nicht resezierbaren Tumoren empfiehlt die Leitlinie die Kombination aus Bestrahlung und einer platinhaltigen Chemotherapie (Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde 2018). Insbesondere bei Larynxkarzinomen gibt es die, vor allem in den USA verbreitete, Möglichkeit einer neoadjuvante Therapie, in Form einer Radiatio, Radiochemotherapie oder einer Induktionschemotherapie, vor einem eventuell organerhaltenden Vorgehen (Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde 2018). Basierend auf mehreren Studien aus den späten 90er Jahren wird postoperativ die Radiochemotherapie bei einer R1 Resektion empfohlen. (Blasco et al. 2017, S. 2569)

2.8.4. „Targeted Therapy“ und Immuntherapie

Mittlerweile ist die Interaktion des HNSCCs mit dem Immunsystem und die daraus resultierenden Therapiemöglichkeiten Gegenstand der Forschung (Blasco et al. 2017, S. 2569).

Dies führte zu diversen neuen Therapieansätzen.

Im Bereich der „Targeted Therapy“, wurde 2006 Cetuximab, ein Antikörper gegen den epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor (EGFR), von der Federal Food and Drug Administration (FDA) bei nicht resezierbaren Tumoren in Kombination mit Radiation und als Monotherapie bei metastasierten oder rezidivierten HNSCCs, zugelassen (Azoury S.C. et al. 2016, S. 508–509). Vermorken et al. konnten zeigen, dass die Kombination von Platin-Fluorouracil Chemotherapie mit Cetuximab das Überleben bei rezidiviertem oder metastasiertem HNSCC um 2,7 Monate verlängert (Vermorken et al. 2008, S. 1124). Weitere EGFR-Antikörpertherapien sind Gegenstand verschiedener klinischer Studien.

Ein weiterer Ansatz sind die Tyrosinkinase-Inhibitoren. Hier konnte aber bisher kein deutlicher Vorteil nachgewiesen werden (Azoury S.C. et al. 2016, S. 509–510). Auch der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor 1 und 2 (VEGF), der transmembranöse Tyrosinkinaseinhibitor (C-MET), der IGF-1 Rezeptor und der Rapamycin-Rezeptor des Säugetiers (mTOR) sind dabei Gegenstand aktueller Forschung (Azoury S.C. et al. 2016, S. 510–511).

Im Bereich der Immuntherapie werden mehrere Ansätze verfolgt, unter anderem die Checkpoint Inhibition und die Impfung (Zolkind und Uppaluri 2017). Wie Zolkind et al. in ihrer Übersicht der aktuellen Entwicklung der Immuntherapie des HNSCCs ausführen, wird insbesondere an der Therapie mit PD1- und PD-L1-Antikörpern geforscht (Zolkind und Uppaluri 2017, S. 482). Siehe dazu Kapitel 2.10.1.. Für die Behandlung von rezidivierenden und metastasiertem HNSCC sind hier auch bereits die Antikörper Nivolumab und Pembrolizumab zugelassen (Zolkind und Uppaluri 2017, S. 475). Diese befinden sich im palliativen Setting oder im Rahmen von klinischen Phase III Studien bereits in der Anwendung.

2.9. Prognosefaktoren

Prognostisch wird zwischen klinisch-pathologischen und molekularpathologischen Faktoren unterschieden. Bei den klinisch-pathologischen Prognosefaktoren wird noch einmal unterschieden in patienten- und tumorabhängige Prognosefaktoren. Bei den patientenabhängigen Faktoren sind unter anderem der klinische Zustand des Patienten und der Hämoglobinwert zu nennen. Bei den tumorabhängigen ist das TNM Stadium entscheidend, wichtig ist aber auch die Tumorlokalisation, die Differenzierung, der Resektionsstatus, das extrakapsuläre Wachstum und die perineurale Invasion. (Argiris et al. 2008, S. 1705)

Darüber hinaus gibt es weitere Faktoren, denen eine prognostische Relevanz zugeordnet wird, wie zum Beispiel der HPV Status, die Tumor-Aneuploidie (Wemmert et al. 2018, S. 1139) und die Tumor-infiltrierenden Leukozyten, sogenannte TILs (Uppaluri et al. 2008, S. 7). Diese und weitere Prognosefaktoren, wie zum Beispiel die in dieser Arbeit betrachteten immunhistochemischen Oberflächenmarker, sind Gegenstand der Forschung und Anlass der vorliegenden Arbeit.

2.10. Immunzellen und Mikroumgebung

Das Amerikanische National Cancer Institute definiert die Mikroumgebung, häufig auch als Mikroenvironment bezeichnet, eines Tumors als die Zellen, Moleküle und Blutgefäße die Tumorzellen umgeben und ernähren. Dabei kann der Tumor sein Mikroenvironment verändern und gleichzeitig kann auch das Mikroenvironment das Tumorwachstum verändern. Bereits in den 1970er und 1980er Jahren wurden erste Zusammenhänge zwischen der Dichte an Tumor-infiltrierenden Lymphozyten, sogenannten TILs, dem Überleben der Patienten und dem Stadium des Tumors gefunden (Wolf et al. 1986; Lei et al. 2016). Ribbat-Idel et al. fanden erst kürzlich Hinweise auf einen prognostischen Charakter der Immunzellverteilung um HNSCC Tumorzellen (Ribbat-Idel et al. 2021, S. 8). Darüber hinaus gibt es die Hypothese, dass das unterschiedliche Therapieansprechen von HPV positiven und negativen HNSCCs durch die

Aktivierung des Immunsystems erklärt werden kann, wie unter anderem von Lei et al. in seiner Zusammenfassung der Mikroenvironment-Forschung erklärt (Lei et al. 2016).

Insgesamt werden mehrere Einflussfaktoren auf das Mikroenvironment des Tumors betrachtet.

Abbildung 8: Zusammenfassung der Einflussfaktoren in der Tumormikroumgebung modifiziert nach (Tong et al. 2012, S. 267) und Peltanova et al. 2019 zeigt die groben Zusammenhänge.

Rote Pfeile demonstrieren dabei eine Hemmung, grüne eine Aktivierung. Als hemmende Einflüsse werden hier CD4- und CD8-positive Zellen sowie die Tumor-assoziierten Makrophagen M1, auf die im Verlauf noch eingegangen wird, aufgeführt. Aktivierende Einflüsse sind unter anderem die Tumor-assoziierten Makrophagen M2, die Krebs-assoziierten Fibroblasten und die extrazelluläre Matrix. Alle in der Graphik aufgeführten Faktoren beeinflussen sich dabei gegenseitig und darüber hinaus weitere Pfade der Karzinogenese.

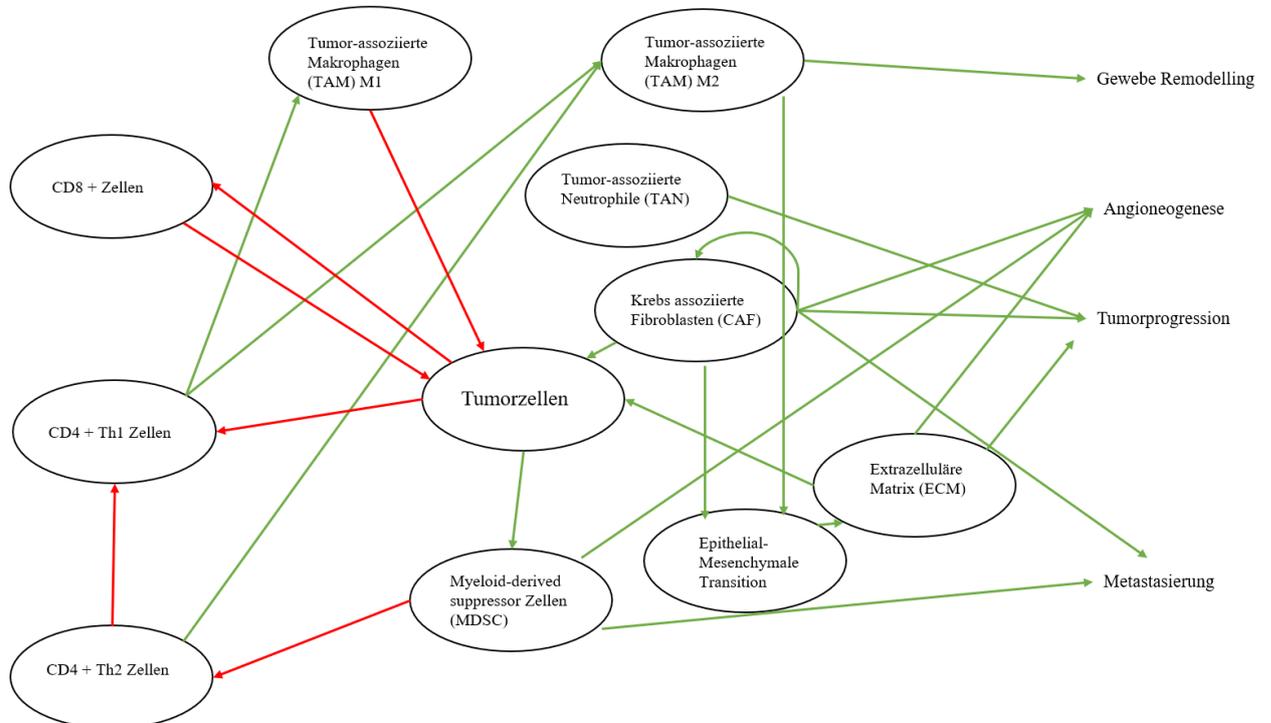


Abbildung 8: Zusammenfassung der Einflussfaktoren in der Tumormikroumgebung modifiziert nach (Tong et al. 2012, S. 267) und Peltanova et al. 2019

Wichtige zelluläre Bestandteile der Tumorumgebung sind, zum einen die Zellen des Immunsystems, zum anderen die ortsständigen Zellen, etwa die Zellen des Tumors und des umgebenden Gewebes.

So konnten Nyugen et al. zeigen, dass eine hohe Anzahl an Tumor-infiltrierenden Lymphozyten, sogenannte TILs, mit einem besseren Gesamtüberleben einhergehen, zusätzlich sahen sie eine positive Tendenz in Bezug auf das Therapieansprechen. Dabei wurden die Oberflächenmarker CD4, CD8, CD68 und FoxP3, zur immunhistochemischen Unterscheidung der T-Zellen eingesetzt. (Nguyen et al. 2016)

Weitere Zellen, die Einfluss auf das Mikroenvironment von HNSCCs nehmen sind die Tumor-assoziierten Makrophagen, sogenannte TAMs, welche in zwei Aktivierungsgrade, M1 und M2, unterteilt werden (Peltanova et al. 2019). Costa et al. zeigten immunhistochemisch, dass Patienten mit einem hohen Anteil an TAMs im Tumormikroenvironment und im peripheren Blut ein schlechteres Überleben, eine höhere Rate an Metastasierung und höhere Spiegel an anti-inflammatorischen Zytokinen haben (Costa et al. 2013, S. 220). Umgekehrt konnten mehrere Arbeitsgruppen, unter anderem Feinmesser et al. die Zusammensetzung des Tumormikroenvironments, insbesondere der TAMs, durch Zytokine-Zugabe verändern (Feinmesser et al. 2004, S. 366).

Zusätzlich dazu sind die Tumor-assoziierten Neutrophilen, sogenannte TANs, an der Tumorprogression beteiligt. Die genauen Mechanismen des Tumoreinflusses sind Gegenstand der aktuellen Forschung, welche von Peltanova et al. 2019 zusammengefasst wurde. Durch verschiedene Zytokine fördern TANs zum einen die Angiogenese sowie die Thromboembolie-Bildung und zum anderen die Zelladhäsion. (Peltanova et al. 2019)

Die Immunantwort des Körpers auf den Tumor wird darüber hinaus durch die Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) beeinflusst. MDSCs sind unreife, vorwiegend hemmende

Immunzellen, die regulierend in pathologische Abwehrreaktionen eingreifen. Es kommt zur Hemmung der T-Zell Aktivierung und der Apoptose der T-Zellen, sowie zur Induktion der regulatorischen T-Zellen. Eine Förderung der Angiogenese, sowie eine Begünstigung der Metastasenbildung konnten ebenfalls gezeigt werden. (Peltanova et al. 2019)

Im Tumorgewebe beeinflussen die sogenannten Krebs-assoziierten Fibroblasten (CAF), als Stroma des Tumors, ebenfalls durch Zytokine, das Tumorwachstum, die Angiogenese und die Metastasierung (Peltanova et al. 2019).

Hinzu kommt der allgemeine Einfluss von Hypoxie auf das Gewebe und den Gewebemetabolismus, sowie die sogenannten Krebs-Stammzellen (Cancer stem cells, CSC), auf die im Weiteren in Zusammenhang mit PD-1 und PD-L1 eingegangen wird.

2.10.1. PD-L1

PD-L1 oder programmed cell death protein ligand 1, ist ein an PD-1 bindender Ligand, der in der Forschung an PD-1, in Zusammenhang mit der Tumorgenese gebracht werden konnte (Iwai et al. 2002, S. 12295).

PD-1 ist ein 1992 von Ishida et al. erstmals im Zusammenhang mit dem programmierten Zelltod beschriebenes transmembranöses Protein (Ishida et al. 1992, S. 3888). Entsprechend erfolgte auch die Namensgebung, als programmed cell death protein 1. Erst Anfang der 2000 wurde in Zusammenschau von verschiedenen Experimenten mit knock out Mäusen deutlich, dass PD-1 eine entscheidende Rolle in der Entwicklung der T-Zell-abhängigen Eigentoleranz des Immunsystems spielt (Wu et al. 2019, S. 663).

PD-L1 hemmt, grob zusammengefasst, die Aktivierung spezifischer T-Zellen und verhindert so eine Aktivierung des Immunsystems zur Tumorbekämpfung (Iwai et al. 2002, S. 12295). Als weiteren Liganden gibt es PD-L2, welcher ebenfalls in HNSCCs nachgewiesen wurde (Pai et al. 2016). Aufgrund der geringeren Expressionsstärke fand die Expression lange nicht die

gleiche Aufmerksamkeit wie PD-L1. Veränderte Expressionsmuster nach Chemotherapie haben dies zuletzt geändert. PD-L2 zeigt im Vergleich zu PD-L1 eine höhere Affinität an PD-1, ob dies Konsequenzen in Form eines möglichen Therapieansatzes haben kann, ist Gegenstand der aktuellen Forschung. (Rozali et al. 2012, S. 3)

Heute sind monoklonale Antikörper gegen die PD-1/PD-L1 Achse bei verschiedenen Tumorleiden als Therapeutikum zugelassen, unter anderem dem Melanom, nicht-kleinzelligem und kleinzelligem Lungenkrebs, Nierenkrebs, Hodgkin-Lymphom und HNSCC (Wu et al. 2019, S. 664).

Das genaue Zusammenspiel von PD-1 und PD-L1 und der konsekutive Effekt auf das Tumorgewebe ist Gegenstand der aktuellen Forschung. PD-1 hemmt nach der Aktivierung, über die Aktivierung der Tyrosin-Phosphatase 2 (SHP2) und dem Leucin-Zipper-Transkriptionsfaktor (BATF) die Aktivität der T-Zellen (Wu et al. 2019, S. 663). Im Mausmodell konnten Amarnath et al. zeigen, dass PD-L1 an der Konversion von Th1-Zellen in Treg-Zellen beteiligt ist und damit sowohl die zelluläre als auch die Zytokin-basierte Umgebung des Tumors verändert. (Amarnath et al. 2011).

So fanden Vassilakopoulou et al. am Beispiel des Larynxkarzinoms Zusammenhänge zwischen einer hohen immunhistochemischen Expression von PD-L1 in Kombination mit einer hohen Rate an insbesondere CD8-positiven TILs und einem besseren Überleben (Vassilakopoulou et al. 2016, S. 709). Ähnliches konnte für oropharyngeale Karzinome unter Berücksichtigung des HPV-Status gezeigt werden (Sato et al. 2019a, S. 546). Von beiden Arbeitsgruppen wird der prognostische Wert der immunhistochemischen PD-1 und PD-L1 Färbung in ihren jeweiligen Kollektiven betont.

Die Ergebnisse von Strati et al. legen nahe, dass bereits kleine Mengen PD-L1 positiver Zellen wie zum Beispiel die im Blut zirkulierenden PD-L1 positiven HNSCC-Zellen als Grundlage

einer Therapieentscheidung mit PD-L1 Antikörpern hergenommen werden können (Strati et al. 2017, S. 1932).

2.10.2. CD4

Die menschlichen Immunzellen werden anhand ihrer Zellmembranmoleküle eingeteilt. Das hierfür verwendete System ist das sogenannte CD-Antigene System, das Cluster of Differentiation System. Alle Zellen, die mit demselben monoklonalen Antikörper reagieren, gehören hierbei der gleichen CD-Gruppe an. (Vollmar et al. 2013)

CD4 „ist ein Glykoprotein, welches u.a. auf Monozyten und T-Helfer-Zellen exprimiert wird und als Ko-Rezeptor gemeinsam mit dem T-Zell-Rezeptor Antigene erkennt, die über Haupthistokompatibilitätskomplex-Klasse-II-Moleküle („major histocompatibility complex“, MHC) präsentiert werden.“ (Bastian et al. 2020, S. 81). CD4-positive Zellen werden in ihrer Funktion daher als Helferzellen beschrieben. Innerhalb der Gruppe der CD4-positiven Zellen ist aufgrund der Funktion und der sezernierten Zytokine eine weitere Unterscheidung in vier Arten möglich: Th1-, Th2-Zellen, regulatorische T-Zellen und Th17-Zellen. Th1-Zellen sezernieren dabei verschiedene Zytokine zur Abwehr sowohl von Erregern als auch von als körperfremd erkannten Zellen. Th2-Zellen aktivieren durch die Sekretion von diversen Interleukinen Mastzellen und B-Zellen. Regulatorische T-Zellen greifen in die Immunantwort ein, um ein Überschießen derselbigen zu vermeiden. Die Rolle der Th17-Zellen ist aktuell noch nicht verstanden, sie basiert wohl auf einer Interleukin-17 vermittelten Funktion im Tumormikroumfeld. (Bastian et al. 2020, S. 81) Diese haben unterschiedliche immunsuppressive Eigenschaften und CD4-positive Zellen als eine gleichartige Entität zu sehen, erscheint eine unangemessene Vereinfachung. So konnten de Medeiros et al. bei der Inkubation naiver T-Zellen zeigen, dass HNSCC Zellen die unterschiedliche immunsuppressive Wirkung der einzelnen CD4-positiven Zellen beeinflussen, und ein insgesamt tumorförderndes Milieu erzeugen. (Medeiros et al. 2017, S. 60868).

In ihrer Metaanalyse empfehlen O'Higgins et al. eine Kombination der Oberflächenmarker CD3, CD4, CD25, CD127LO, FoxP3 und CTLA4 zur Charakterisierung einer regulatorischen T-Zelle zu nutzen (O'Higgins et al. 2018, S. 13–14). Mit einer genauen Identifikation sei auch eine Verwendung als Prognosefaktor möglich (O'Higgins et al. 2018, S. 13). Spector et al. fanden darüber hinaus einen Zusammenhang zwischen der CD4 Dichte und einem verringerten Mortalitätsrisiko während und nach der Chemotherapie. (Spector et al. 2019a, S. 5)

Zusammensetzungsanalysen der TILs nach Abschluss einer onkologischen Therapie zeigen persistierende Veränderungen, die als Hinweis auf die deutliche Immunmodulation durch HNSCCs gedeutet werden können. (Schott et al. 2010, S. 71)

2.10.3. CD8

Eine wichtige Funktion der oben aufgeführten CD4-positiven Zellen ist die Aktivierung der CD8-positiven Zellen, welche eine Schlüsselrolle in unserer Immunabwehr spielen. Als sogenannte zytotoxische Killerzellen (Bastian et al. 2020, S. 83) setzen sie nach Aktivierung verschiedene Enzyme frei, die zum Untergang attackierter Zelle führen. (Vollmar et al. 2013)

Auch bei CD8-positiven Zellen können aufgrund unterschiedlicher Zytotoxizität und Zusammensetzung der frei gesetzten Enzyme, vier Arten unterschieden werden, die terminalen, die dysfunktionellen, die seneszenten und die stammzellähnlichen T-Zellen. Die terminalen Zellen wirken dabei zytotoxisch. Die dysfunktionellen Zellen wirken in Verbindung mit unter anderem PD-1 hemmend auf verschiedene Checkpoint- Rezeptoren. Durch die seneszenten Zellen werden DNA-schädigende Gene aktiviert und die stammzellähnlichen T-Zellen wirken sowohl zytotoxisch als auch regenerativ. (Bastian et al. 2020, S. 83)

Wie bereits in anderen Tumoren, zum Beispiel Ovarial-, Magen- oder kolorektalem Karzinom (Gooden et al. 2011, S. 98), konnte auch für das Plattenepithelkarzinom gezeigt werden, dass ein Zusammenhang zwischen der Dichte der CD8-positiven Zellen und einem positiven Ergebnis, hinsichtlich des Gesamtüberlebens (overall survivals, OS) und des krankheitsfreien

Überlebens (disease free survivals, DFS), besteht (Ryu et al. 2017, S. 982; Spector et al. 2019b, S. 4). Dieser Zusammenhang konnte sowohl in Zusammenhang mit der HPV Positivität (Ryu et al. 2017, S. 982) als auch unabhängig davon bei Larynx Tumoren (Zhou et al. 2019, S. 1769) gezeigt werden. Russel et al. stellen die Theorie auf, dass die höhere Dichte an CD8-positiven Zellen in HPV positiven Tumoren zur besseren Prognose dieser beiträgt. (Russell et al. 2013) Dies wird aber insgesamt eher kritisch gesehen, da sowohl immunstimulierende als auch immunsuppressive Einflussfaktoren in Zusammenhang mit HPV Infektionen gefunden wurden. (Bastian et al. 2020, S. 84–85)

Chatzopoulos et al. konnten zeigen, dass die CD8 Dichte schwach mit der Anzahl der TILs korreliert. Gleichzeitig eignete sich bereits die Dichte der TILs hier am Beispiel des Larynxkarzinoms als Prognosefaktor. (Chatzopoulos et al. 2019) Ähnliches konnten Spector et al. zeigen (Spector et al. 2019b, S. 5).

Die genauen Mechanismen der Antitumoraktivität CD8-positiver Zellen, sowie eventuelle metabolische Zusammenhänge sind Gegenstand aktueller Forschung. Im Hinblick auf diese Arbeit wurde sich auf einen eventuellen prognostischen Charakter von CD8-positiven Zellen konzentriert.

2.10.4. IDO

Ein weiterer T-Zellabhängiger Einfluss auf die Mikroumgebung ist der Tryptophan-Stoffwechsel. Erstbeschrieben in der T-Zellabhängigen Immunsuppression der Placenta (Munn et al. 1998), spielt Indolamin-2,3-dioxygenase, kurz IDO, als entscheidendes Enzym in diversen Karzinomen eine Rolle. (Platten et al. 2012, S. 5435) IDO spaltet die Aminosäure Tryptophan in Kynurenin und hemmt damit den Stoffwechsel der T-Zelle (Platten et al. 2012, S. 5436). Die genauen Mechanismen sind bis heute nicht verstanden. So wird sowohl ein Akkumulations- als auch ein Depletionseffekt der entsprechenden Stoffwechselzwischenprodukte diskutiert. (Platten et al. 2012, S. 5437)

Als Hinweis auf die immunmodulierende Aktivität des HNSCC Mikroenvironments konnten Bates et al. in der Zellkultur zeigen, dass bestimmte HNSCC Zelllinien durch verschiedene Zytokine zur vermehrten Expression von IDO an der Oberfläche angeregt werden können (Bates et al. 2018, S. 536). Dies führt konsekutiv zur weiteren Hemmung der T-Zellaktivität und damit einem tumorwachstumsfördernden Effekt. Ein weiterer Hinweis für die immunmodulierende Aktivität von IDO ist die verstärkte Expression bei HPV positiven Tumoren (Krishna et al. 2018, S. 6166).

IDO wird aufgrund seines T-Zelleinflusses als mögliches Therapieziel gesehen. Unterstützt wird diese Annahme durch Veränderungen an Genen des Tryptophan-Stoffwechsels, die nach der Gabe des jahrelang erfolgreich verwendeten Chemotherapeutikum Cetuximab beschrieben wurden. (Riess et al. 2020, S. 11)

2.10.5. CD68

Zusätzlich zu den T-Zellen, sind die bereits erwähnten Tumor-assoziierte Makrophagen, TAMs, mit der Unterscheidung M1 und M2, an der Mikroumgebung in Kopf-Hals-Tumoren beteiligt. Bei M1 handelt es sich um physiologisch aktivierte Makrophagen, M2 hingegen sind immunhemmende Makrophagen, die nur im Rahmen einer Karzinomentwicklung aktiviert werden. Beide werden durch den allgemeinen Makrophagen Marker CD68 angefärbt. Eine Unterscheidung ist erst durch die CD163 Färbung möglich, welche nur M2 Makrophagen färbt. (Kumar et al. 2019, S. 2)

Lechien et al. fanden in einer Metanalyse keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen der CD68 Dichte und dem HPV Status (Lechien et al. 2019). Russel et al. sahen entsprechend ihrer immunhistochemischen Analyse eine Kombination von HPV, CD8 und CD68 als mögliche Prognosefaktoren für das HNSCC Überleben (Russell et al. 2013). Einen Zusammenhang zwischen einer hohen Dichte an CD68-positiven Zellen und einer entsprechenden Veränderung

von Zell-Zell Kontakte mit nachfolgender Metastasierungsneigung legen Daten von Costa et al. nahe (Costa et al. 2013, S. 221).

Im Hinblick auf die TAM Differenzierung zeigte insbesondere eine hohe Dichte an M2 Makrophagen eine Assoziation mit höheren T-Stadien, N-Stadien und einer höheren Rate an Gefäß- und Lymphinvasion (Kumar et al. 2019, S. 7).

2.11. Problemstellung

Obwohl HNSCCs seit Jahren als sehr immunsuppressive Tumore gelten, ist das genau Zusammenspiel der verschiedenen Zellarten in der Mikroumgebung des Tumors bis heute nicht verstanden. So ist der Zusammenhang zwischen den oben beschriebenen Zellen und der Entwicklung von Lymphknoten- beziehungsweise Fernmetastasen genauso wenig verstanden wie die Verwertbarkeit einzelner immunhistochemischer Färbungen als Prognosefaktoren.

Aufgrund der weitreichenden Konsequenzen der multimodalen Therapie sowohl in Hinblick auf die Prognose als auch die Lebensqualität der Patienten, wäre ein eindeutiger immunhistochemischer Prognosefaktor insbesondere für das Auftreten und die Art der Metastasierung von entscheidender Bedeutung. Hierdurch wäre eine Individualisierung der Therapiekonzepte, besonders hinsichtlich der Radikalität der Therapie, möglich.

2.12. Zielsetzung der Arbeit

In dieser Arbeit wurde in einem explorativen Ansatz die Mikroumgebung mit Hilfe von T-Zell- und Makrophagen-Oberflächenmarkern auf Unterschiede zwischen fernmetastasierten und nicht-fernmetastasierten HNSCCs untersucht. Unter der Annahme, dass metastasierte Tumore immunsuppressiver mit der Umgebung auch in der Distanz zum Primarius agieren können, wurden Expressionsunterschiede zwischen einem metastasierten und einem nicht-metastasierten Kollektiv untersucht.

Gleichzeitig wurde anhand verschiedener Expressionsmuster ein Prognosefaktor für die Tumorprogression insbesondere auf das Vorhandensein von Metastasen gesucht.

Endziel wäre es Patienten, die eine Fernmetastase bereits entwickelt haben oder vermutlich noch entwickeln werden, frühzeitig zu identifizieren und einer entsprechend spezifischen Therapie zuzuführen.

3. Material und Methoden

3.1. Material

3.1.1. Studienkollektiv

Das für diese Arbeit verwendete Kollektiv umfasst 247 Patienten, aufgeteilt in zwei Untergruppen, ein fernmetastasiertes Kollektiv (M+), mit 137 Patienten, und ein nicht-fernmetastasiertes Kollektiv (M-), mit 110 Patienten. Das dabei histologisch aufgearbeitete fernmetastasierte Kollektiv M+ ist mit 45 Patienten jedoch kleiner, da die Diagnose einer Fernmetastase häufig radiologisch, ohne bioptische Sicherung erfolgte. Die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit betrug 26,8 Monate. Alle Patienten wurden in den Jahren 2000 bis 2017 in der Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik der Technischen Universität München behandelt. Die retrospektive Aufarbeitung wurde durch die Ethik Kommission des Klinikums rechts der Isar, Ethikvotum 1420/05, genehmigt. Die verwendeten Präparate bestehen aus Gewebe, das in den entsprechenden Operationen, sowohl in Tumorresektionen mit anschließender neck dissection (radikal, selektiv, funktional oder modifiziert) oder Fernmetastasenresektionen als auch den Probeentnahmen zur Diagnosesicherung, gewonnen wurde. Die Präparate wurden anschließend vom Institut für Pathologie befundet und asserviert. Das metastasierte Kollektiv umfasst Metastasen in folgenden Bereichen: Knochen, Leber, Lunge, Niere, Pankreas, Haut, zentrales Nervensystem und mediastinale oder sonstige Lymphknoten. Das Kollektiv wurde anhand des TNM Status und der Therapie paarig abgestimmt. Die Therapie variiert bei den Patienten entsprechend des klinischen Vorgehens.

Die deskriptive Statistik des Kollektivs ist in Tabelle 24: Charakterisierung des Kollektivs aufgeschlüsselt.

Einschlusskriterien:

- Alter: 21 – 89 Jahren

- Pathologisch gesichertes Plattenepithelkarzinom mit Tumorlokalisierung:
 - o Mundhöhle
 - o Hypopharynx
 - o Oropharynx
 - o Larynx

Ausschlusskriterien:

- Nicht-plattenepitheliale Tumore im Kopf-Hals-Bereich
- Nicht ausreichend dokumentierter Verlauf der Behandlung oder der tumorbezogenen Krankengeschichte
- Simultanes Zweitkarzinom

3.1.2. Geräte

Geräte	Hersteller
Mikrotom: Microm HM 355S	Thermo Fisher Scientific, 168 Third Avenue, Waltham, MA 02451, USA
Mikrotomklingen Blade S35	Novoglas Labortechnik, Stöckackerstr. 103, CH-3018 Bern
Mikroskop Leica DMI 6000B	Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH Mikroskopie und Histologie, Ernst-Leitz-Str. 17-37, D-35578 Wetzlar
Kühlplatte COP 30	Medite GmbH, Wollenweberstr. 12, D-31303 Burgdorf
Paraffin-Streckbad TFB35	Medite GmbH, Wollenweberstr. 12, D-31303 Burgdorf

Objektträger-Strecktisch OTS 40	Medite GmbH, Wollenweberstr. 12, D-31303 Burgdorf
Tissue Microarrayer	Beecher Instruments, Inc., 820 Hummingbird Court, Sun Prairie, WI 53590, USA
Trockenschrank	Memmert GmbH + Co.KG, D-91126 Schwabach
Mikroskop Zeiss Axioskop	Carl Zeiss AG Carl-Zeiss-Straße 22, D-73447 Oberkochen

Tabelle 15: verwendete Geräte

3.1.3. Chemikalien und Farbstoffe

Chemikalien	Hersteller
Roti®-Histokit II Einschlussmittel	Carl Roth GmbH + Co.KG, Schoemperlenstr. 3-5, D-76185 Karlsruhe
Ethanol 96% vergällt $\geq 96\%$ mit ca. 1% MEK	Carl Roth GmbH + Co.KG, Schoemperlenstr. 3-5, D-76185 Karlsruhe
Ethanol 70% vergällt $\geq 70\%$	Carl Roth GmbH + Co.KG, Schoemperlenstr. 3-5, D-76185 Karlsruhe
Xylol (Isomere) $>98\%$, rein	Carl Roth GmbH + Co.KG, Schoemperlenstr. 3-5, D-76185 Karlsruhe
2-Propanol, Rotisolv ® $\geq 99,95\%$, LC-MS-Grade	Carl Roth GmbH + Co.KG, Schoemperlenstr. 3-5, D-76185 Karlsruhe

Tabelle 16: verwendete Chemikalien

Farbstoffe	Hersteller
Wässrige Eosinlösung 10%	Krankenhausapotheke, Klinikum rechts der Isar, 81664 München
Hämalaunlösung sauer nach Mayer	Carl Roth GmbH + Co.KG, Schoemperlenstr. 3-5, D-76185 Karlsruhe

Tabelle 17: verwendete Farbstoffe

3.1.4. Antikörper

Antikörper	Clone	Verdünnung	Hersteller
mAK Kaninchen-Anti-PDL-1	QR1	1:150	DCS Innovative Diagnostik Systeme, Dr. Christian Sartori GmbH & Co. KG, Poppenbütteler Chaussee 36, 22397 Hamburg
mAK Kaninchen-Anti-CD4 (human-specific)	EP204	1:200	Perkin Elmar Cellular Technologies Germany GmbH, Schnackenburgallee 114, 22525 Hamburg
mAK Maus-Anti-CD8	C8/144B	1:300	Perkin Elmar Cellular Technologies Germany GmbH, Schnackenburgallee 114, 22525 Hamburg
mAK Maus-Anti-CD68	PGM1	1:100	Dako Deutschland GmbH, Stresemannstraße 161, 22769 Hamburg

mAK Kaninchen-Anti-IDO-1	D5J4E	1:100	Cell Signaling Technology, Danvers, Massachusetts, USA
mAK Maus-Anti-p16	E6H4	1:200	Roche Diagnostics GmbH, Nonnenwaldweg 2, 82377 Penzberg

Tabelle 18: verwendete Antikörper

3.1.5. Verbrauchsmaterial

Verbrauchsmaterial	Hersteller
Einmalpipetten	VWR International bvba, Researchpark Haasrode 2020, Geidenaaksebaan 464, B-3001 Leuven
Objektträger Superfrost Plus, Thermo Scientific	Gerhard Menzel B.V. & Co kg, Saarbrückener Straße 248, D - 38116 Braunschweig
Deckgläser	Medite GmbH, Wollenweberstr. 12, D-31303 Burgdorf

Tabelle 19: verwendetes Verbrauchsmaterial

3.2. Methoden

3.2.1. Tissue Microarrays (TMAs)

Zur Herstellung der Tissue Microarrays wurde zu jedem Block ein entsprechender Hämatoxylin Eosin (HE) gefärbter Schnitt als Stanz-Referenz angefertigt.

Zur Herstellung der HE Schnitte wurde zunächst ein 2 µm dicker Schnitt des entsprechenden Paraffinblockes mit dem Mikrotom geschnitten. Diese Schnitte wurden anschließend auf einen

Objektträger gezogen und getrocknet. Nach einem groben Paraffinverflüssigungsschritt im Brutschrank für 45 min, wurden die Schnitte in der absteigenden Alkoholreihe aus Xylol, Propanolol, Ethanol 96%, Ethanol 75% und Aqua dest. entparaffiniert. Nachfolgend wurde die Farbreihe aus saurer Hämalaunlösung nach Mayer, Aqua dest., Eosin 1% und Aqua dest. durchlaufen. Zur Entwässerung durchliefen die Schnitte daraufhin noch einmal die oben beschriebene Alkoholreihe, diesmal aufsteigend von Ethanol 75% zu Xylol. Zum Abschluss wurden die Schnitte mit einem Deckglas versehen.

Die so erzeugten HE-Schnitte wurden von einem erfahrenen Untersucher am Mikroskop bewertet. Dazu wurden jeweils, entsprechend der Größe des Präparates, ein bis zwei Markierungen im Tumorzentrum (TZ) und ein bis zwei Markierungen in der Invasionsfront (IF) gesetzt. In dieser Weise wurden alle zu untersuchenden Präparate markiert.

Anschließend wurde die Markierung auf den zugehörigen Paraffinblock übertragen. Zur Erstellung der Tissue Microarrays wurden im pathologischen Institut der Technischen Universität München mithilfe eines Tissue Arrayers Stanzen mit einem Durchmesser von 2 mm erzeugt und anschließend in einen leeren Paraffinblock übertragen. Zur Orientierung wurden Stanzen aus gesundem Lebergewebe miteingefügt. Es ergaben sich sechs Blöcke, jeweils ein Block mit Hypopharynx-, Oropharynx-, Larynx- und Mundhöhlen-Tumoren, Lymphknotenmetastasen, Fernmetastasen und ein gemischter Block. Anschließend wurden die Blöcke bei 37,0°C inkubiert.

3.2.2. Immunhistochemie

Die Immunhistochemische Färbung erfolgte in Zusammenarbeit mit Professor Doktor Martina Rudelius, Institut für Pathologie der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Hierfür wurden mithilfe eines Mikrotoms Schnitte von 2 µm Dicke erzeugt. Zur Vorbereitung der Färbung mussten die Schnitte deparaffiniert werden. Dazu wurden sie zunächst über Nacht

im Brutschrank vorbehandelt, um dann mittels der oben beschriebene absteigende Alkoholreihe deparaffiniert zu werden. Im Anschluss wurden die Schnitte durch fünf-minütiges Eintauchen in Xylol, Isopropanol, 96% Ethanol, 70% Ethanol und abschließend Aqua dest. rehydriert.

Um eine ausreichende Anlagerung der Antikörper und damit eine aussagekräftige Färbung zu ermöglichen, wurden die Schnitte mit Citrat- oder EDTA-Puffer vorbehandelt.

Die eigentliche immunhistochemische Färbung erfolgte mittels der Streptavidin-Biotin-Methode. Hierzu wurden die Schnitte zunächst mit Wasserstoffperoxid inkubiert, im Anschluss wurden die Primärantikörper zugegeben. Diese lagern sich an die nachzuweisende Antigenstruktur an. Abschließend wird der Schnitt mit dem Detektionskit inkubiert, um einen visuellen Nachweis der gesuchten Struktur zu ermöglichen. Hierfür lagerte sich ein sekundärer Antikörper an den primären an. Der sekundäre Antikörper ist dabei mit Biotin verbunden, an das wiederum das im Detektionskit enthaltene mit Peroxidase-markierte Streptavidin bindet. An diesen Komplex bindet sich wiederum der immunhistochemische Farbstoff Diaminobenzin (DAB), welcher für die mikroskopisch erkennbare Braunfärbung sorgt. Zum Abschluss erfolgte die Gegenfärbung mit Hämatoxylin.

Zur Verlängerung der Haltbarkeit wurden die Schnitte wieder entwässert, indem sie erneut die Alkoholreihe diesmal in aufsteigender Reihenfolge durchliefen. Abschließend wurden die Schnitte mit einem Deckglas eingedeckt.

3.2.3. Auswertung und Scores

Die Auswertung der gefärbten TMAs erfolgte durch zwei unabhängige Untersucher. Die Evaluation erfolgte semiquantitativ entsprechend der einzelnen Marker.

Die Bewertung der einzelnen Marker-Expressionen erfolgte entsprechend der Tabellen 20 bis 23.

<1% positiv	0
≥ 1% positiv	1
≥ 5% positiv	2
≥ 10% positiv	3
≥ 25% positiv	4
≥ 50% positiv	5

Tabelle 20: Auswertungs-Score PD-L1, Cologne-Score

negativ	0
< 33% positiv	1
33-66% positiv	2
> 66% positiv	3

Tabelle 21: Auswertungs-Score CD4, CD8 und CD68

negativ	0
1-25% positiv	1
26-50% positiv	2
51-75% positiv	3
>75% positiv	4

Tabelle 22: Auswertungs-Score IDO

HPV negativ	0
HPV positiv	1

Tabelle 23: Auswertungs-Score p16

Aufgrund mangelnden Materials wurde der HPV Status nur anhand der p16 Färbbarkeit und nicht mithilfe einer Virus Polymerasekettenreaktion (PCR) bestimmt.

3.2.4. Statistik

Zur statistischen Analyse wurde das Programm SPSS 24/25 von IBM verwendet. Bei allen Tests wurde ein Signifikanzniveau von 5% festgesetzt. Die statistische Auswertung lässt sich in vier Teile gliedern. Die im Folgenden zunächst einzeln und anschließend in Zusammenschau betrachtet werden.

Um den zufälligen Charakter der Probenentnahme aus Zentrum und Invasionsfront sowie die Heterogenität des Tumors und der Metastase adäquat analysieren zu können, wurde der Heterogenitätsfaktor nach Cohen verwendet. Im Anschluss wurde die Expression der Marker pro Fall zusammengefasst, sodass sich für Zentrum und Invasionsfront jeweils entsprechend der Marker ein maximaler beziehungsweise ein minimaler Wert ergab. Für die Marker PD-L1, CD4, CD68 und IDO wurde mit dem maximalen Wert, und für den Marker CD8 mit dem minimalen Wert weitergearbeitet.

Für die Analyse der klinischen Daten in Zusammenschau mit den Ergebnissen wurden Kreuztabellen mit dichotomisierten Werten verwendet. Der Cut-off wurde hier bei der Unterscheidung positiv/negativ gesetzt, um die Subjektivität der immunhistochemischen Auswertung zu relativieren.

Aufgrund der insgesamt nur geringen Anzahl histologischer Präparate sind Fernmetastasen und Lymphknotenmetastasen im metastasierten Kollektiv, wenn nicht anders angegeben, zusammengefasst worden.

Aufgrund der hohen Übereinstimmung des fernmetastasierten und nicht-fernmetastasierten Kollektives, konnte als nicht-parametrischer Test der Wilcoxon-Test verwendet werden.

Zur Untersuchung der Überlebenszeiten wurden Kaplan-Meier-Kurven und der LogRank Test verwendet.

4. Ergebnisse

4.1. Charakterisierung des Kollektivs

Charakteristika	Daten absolut	Daten prozentual
Alter		
Mittelwert	59,83 Jahre	
Range	21,0 bis 89,0 Jahre	
Geschlecht		
weiblich/männlich	40/207	16,2/83,8%
T-Stadium		
T1	35	14,2%
T2	64	25,9%
T3	52	21,1%
T4a	69	27,9%
T4b	2	0,8%
Tx	23	9,3%
fehlend	2	0,8%
N-Stadium		
N0	49	19,8%
N1	32	13,2%
N2a	15	6,1%
N2b	84	34,0%
N2c	51	20,6%
N3	22	3,5%
fehlend	5	2,0%
M-Stadium		
M0	199	80,6%

M1	45	18,2%
Mx	3	1,2%
Grading		
G1	12	4,9%
G2	100	40,5%
G3	130	52,6%
fehlend	5	2,0%
Lokalisation		
Mundhöhle	26	10,5%
Hypopharynx	85	34,4%
Oropharynx	81	32,8%
Larynx	33	13,4%
CUP	22	8,9%
Alkoholkonsum		
Alkoholkonsum/kein Alkoholkonsum	207/39	83,8/15,8%
keine Angabe	1	0,4%
Nikotin		
Nikotinkonsum/kein Nikotinkonsum	164/37	66,4/15,0%
keine Angabe	46	18,6%

Tabelle 24: Charakterisierung des Kollektivs

4.2. Auswertung der Immunhistochemie

In Tabelle 34 bis 38 im Anhang ist eine Aufstellung der Ergebnisse der immunhistochemischen Auswertung zu finden. Nachfolgend werden Bilder mit Beispielen der Marker-Expressionen gezeigt.

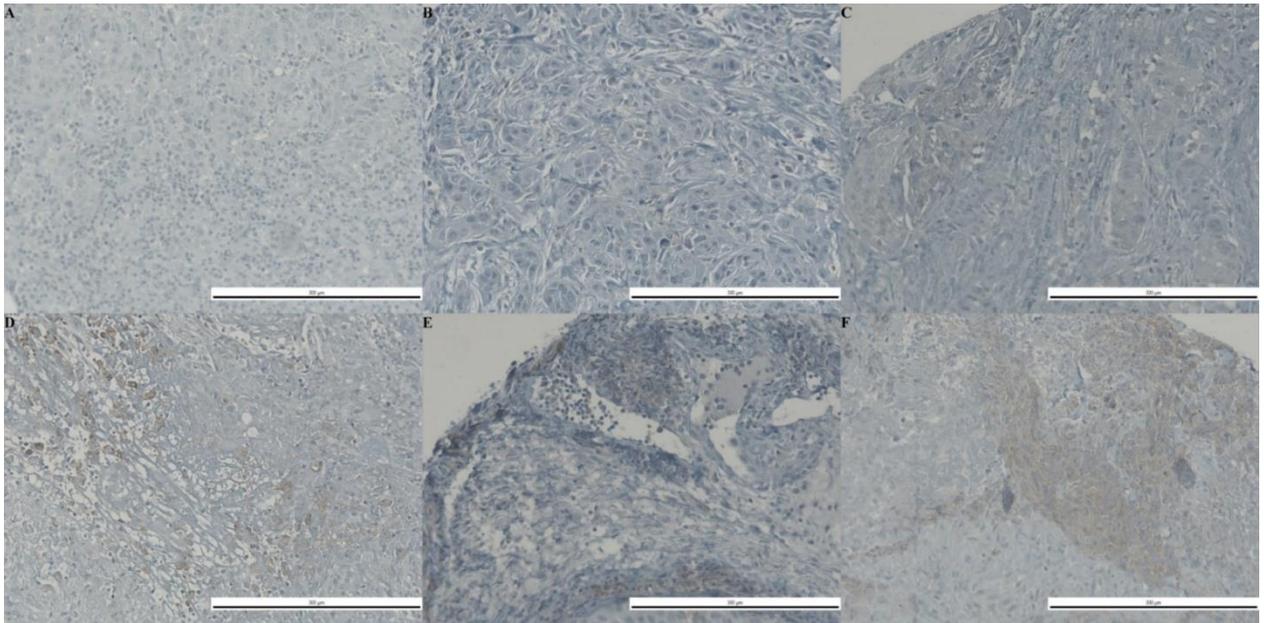


Abbildung 9: Immunhistochemische Marker-Expression PD-L1, 20-fache Vergrößerung. A <1% positiv, B \geq 1% positiv, C \geq 5% positiv, D \geq 10% positiv, E \geq 25% positiv, F \geq 50% positiv

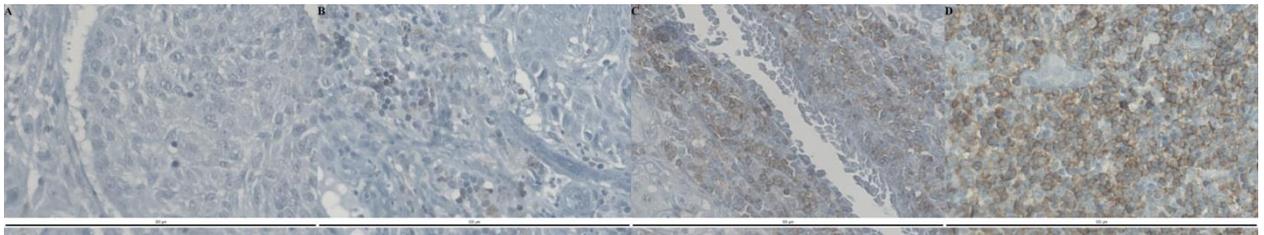


Abbildung 10: Immunhistochemische Marker-Expression CD4, 40-fache Vergrößerung, A negativ, B <33% positiv, C 33-66% positiv, D >66% positiv

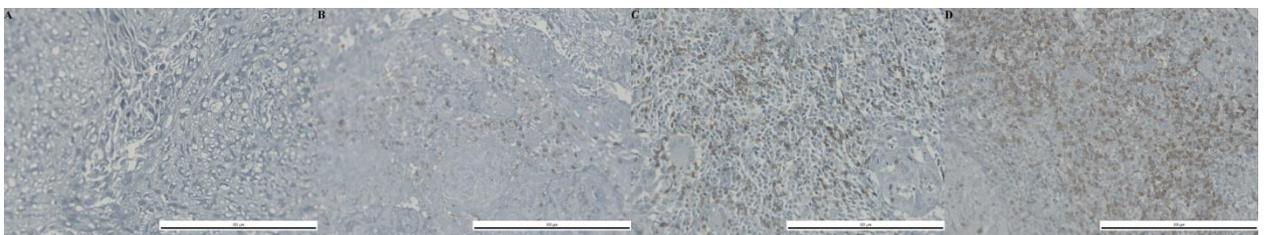


Abbildung 11: Immunhistochemische Marker-Expression CD8, 20-fache Vergrößerung, A negativ, B <33% positiv, C 33-66% positiv, D >66% positiv

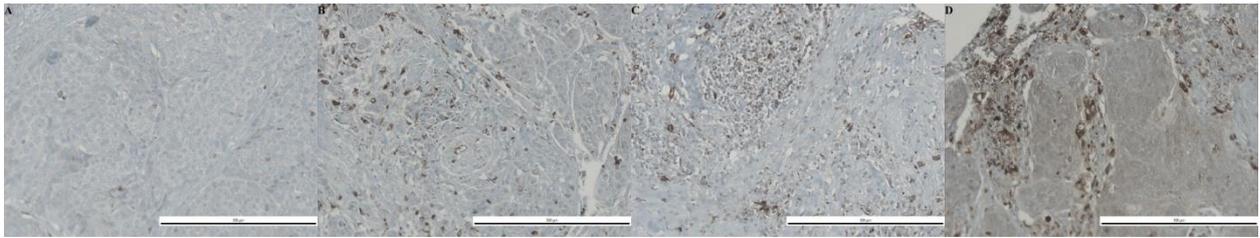


Abbildung 12: Immunhistochemische Marker-Expression CD68, 20-fache Vergrößerung, A negativ, B <math><33\%</math> positiv, C 33-66% positiv, D >66% positiv

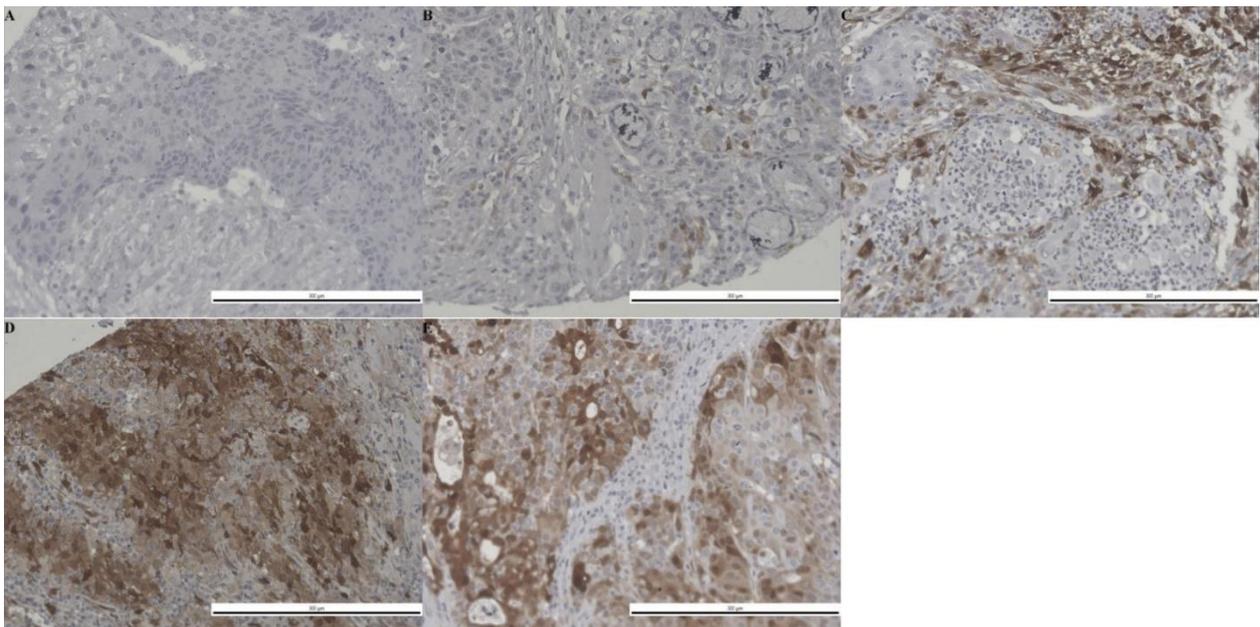


Abbildung 13: Immunhistochemische Marker-Expression IDO, 20-fache Vergrößerung. A negativ, B 1-25% positiv, C 26-50% positiv, D 51-75% positiv, E >75% positiv

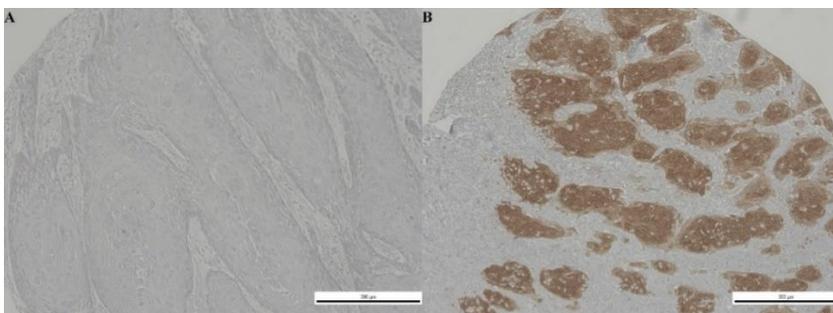


Abbildung 14: Immunhistochemische Marker-Expression p16, 10-fache Vergrößerung. A negativ, B positiv

4.3. Statistische Auswertung

4.3.1. Heterogenitätsfaktor (Cohen's Kappa)

Der Heterogenitätsfaktor nach Cohen, abgekürzt mit κ , kommt ursprünglich aus den Sozialwissenschaften und dient der Untersuchung von Intra- und Interrater-Reliabilität (McHugh 2012, S. 277). Im vorliegenden Fall wurde er verwendet, um einen möglichen Unterschied zwischen den verschiedenen Stenzen aus einem Tumor beziehungsweise aus einer Metastase zu analysieren. Dazu wurden jeweils die beiden Stenzen aus dem Tumorzentrum des gesamten Kollektivs, des fernmetastasierten und des nicht-fernmetastasierten Teilkollektivs verglichen. Zusätzlich wurde κ für die Stenzen aus Zentrum und Invasionsfront, sowie Zentrum und Invasionsfront des Tumors mit der entsprechenden Metastase verglichen.

Cohen's Kappa (κ) kann Werte zwischen -1/0 (maximale Heterogenität) und +1 (komplette Homogenität) annehmen (McHugh 2012, S. 279) und wird entsprechend Tabelle 25: Interpretation Cohen's Kappa (κ) (Landis und Koch 1977, p. 165) interpretiert.

Wert κ	Bedeutung im englischen Original	Bedeutung im deutschen
< 0,00	poor	schlechte Übereinstimmung
0,00 bis 0,20	slight	etwas Übereinstimmung
0,21 bis 0,40	fair	ausreichende Übereinstimmung
0,41 bis 0,60	moderate	mittelmäßige Übereinstimmung
0,61 bis 0,80	substantial	beachtliche Übereinstimmung
0,81 bis 1,00	almost perfect	fast vollkommene Übereinstimmung

Tabelle 25: Interpretation Cohen's Kappa (κ) (Landis und Koch 1977, p. 165)

Für die Expression von PD-L1 ergab sich sowohl im Vergleich der Stenzen aus dem Tumorzentrum fernmetastasierter mit nicht-fernmetastasierter Tumore als auch im Vergleich Tumorzentrum mit Invasionsfront ein höherer Wert für κ . Dies lässt auf eine höhere

Heterogenität der Expression in fernmetastasierten Tumoren im Vergleich zu nicht-fernmetastasierten schließen. So zeigte der Vergleich der Proben aus dem Tumorzentrum bei nicht-fernmetastasierten Tumoren mit $\kappa = 0.368$ eine ausreichende Übereinstimmung und bei den fernmetastasierten Tumoren mit $\kappa = 0,062$ schlechte Übereinstimmung.

Die Expression von CD4 zeigte unabhängig vom Metastasierungsgrad mit $\kappa = 0,349$ und $0,317$ relativ konstante Heterogenitätswerte, die als ausreichende Übereinstimmung zu klassifizieren sind.

Ein deutlicher Unterschied wurde im Vergleich des Expressionsprofils von CD8 sichtbar. Mit einem $\kappa = 0,109$ in nicht-fernmetastasierten Tumorzentren, ergab sich hier etwas Übereinstimmung. Im fernmetastasierten Tumor-Kollektiv ergab sich mit $\kappa = 0,575$ im Vergleich der Tumorzentren eine mittelmäßige Übereinstimmung. Im Vergleich Tumorzentrum und Invasionsfront zeigten sich ähnliche Werte. Siehe Tabelle 28: Cohen's Kappa (κ) für die Expression von CD8 für die genauen Werte.

Für die Expression von IDO ist aufgrund der geringen Fallzahl von Stanzten aus der Invasionsfront nur der Vergleich der Tumorzentren auszuwerten. Hier zeigt sich mit $\kappa = 0,337$ im nicht-fernmetastasierten und $\kappa = 0,294$ im fernmetastasierten Kollektiv jeweils eine ausreichende Übereinstimmung.

Bei der Expression von CD68 ergab sich im Vergleich der Tumorzentren sowohl im nicht-fernmetastasierten als auch im fernmetastasierten Kollektiv mit κ -Werten zwischen $0,189$ und $0,127$ etwas Übereinstimmung. Im Vergleich Tumorzentrum und Invasionsfront zeigte sich mit $\kappa = 1,00$ jedoch sowohl im nicht-fernmetastasierten als auch im fernmetastasierten Kollektiv eine perfekte Übereinstimmung.

	κ aus dem Vergleich der Tumorzentren	κ aus dem Vergleich Tumorzentrum und Invasionsfront
--	---	--

nicht-fernmetastasiertes Kollektiv	0,368	0,300
fernmetastasiertes Kollektiv	0,062	0,093
Gesamtkollektiv	0,245	0,173

Tabelle 26: Cohen's Kappa (κ) für die Expression von PD-L1

	κ aus dem Vergleich der Tumorzentren	κ aus dem Vergleich Tumorzentrum und Invasionsfront
nicht-fernmetastasiertes Kollektiv	0,349	0,323
fernmetastasiertes Kollektiv	0,317	-
Gesamtkollektiv	0,337	0,089

Tabelle 27: Cohen's Kappa (κ) für die Expression von CD4

	κ aus dem Vergleich der Tumorzentren	κ aus dem Vergleich Tumorzentrum und Invasionsfront
nicht-fernmetastasiertes Kollektiv	0,109	0,143
fernmetastasiertes Kollektiv	0,575	0,259
Gesamtkollektiv	0,395	0,217

Tabelle 28: Cohen's Kappa (κ) für die Expression von CD8

	κ aus dem Vergleich der Tumorzentren	κ aus dem Vergleich Tumorzentrum und Invasionsfront
nicht-fernmetastasiertes Kollektiv	0,337	-
fernmetastasiertes Kollektiv	0,294	0,492
Gesamtkollektiv	0,345	0,301

Tabelle 29: Cohen's Kappa (κ) für die Expression von IDO

	κ aus dem Vergleich der Tumorzentren	κ aus dem Vergleich Tumorzentrum und Invasionsfront
nicht-fernmetastasiertes Kollektiv	0,189	1,00
fernmetastasiertes Kollektiv	0,127	1,00
Gesamtkollektiv	0,158	1,00

Tabelle 30: Cohen's Kappa (κ) für die Expression von CD68

4.3.2. Kreuztabellen

Zur Analyse der Zusammenhänge zwischen der Oberflächenmarker-Expression und den klinischen Daten wurden Kreuztabellen, siehe Anhang Tabellen 40 bis 109, verwendet. Als klinische Daten werden in diesem Zusammenhang das T-, N-, M-Stadium, das Grading, der HPV-Status und die Tumorlokalisation im Verhältnis zur immunhistologischen Auswertung des Tumorzentrums betrachtet. Aufgrund der unzureichenden Gesamtabbildung der Marker-Expression in einer TMA Stanze, wurde der dichotomisierte, also der auf negativ oder positiv

reduzierte Wert, und nicht der in verschiedene Stufen aufgeteilte Wert der Marker-Expression verwendet.

Die Expression von PD-L1 zeigte sich niedrig in Tumoren des Oropharynx mit 46,9% PD-L1 Negativität und hoch in Tumoren des Hypopharynx mit 40% PD-L1 Positivität ($p=0,006$). Leider ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse bei der Analyse der klinischen Parameter T-, N- und M-Stadium, sowie dem Grading. Es zeigten sich lediglich Tendenzen, wie zum Beispiel bei den N0 Fällen mit circa 65% PD-L1 positiven Primären. Geschichtet nach M-Stadium ergibt sich eine höhere Anzahl PD-L1 negativer Fälle bei höherem N-Stadium im fernmetastasierten Kollektiv. Auch in Bezug auf den HPV-Status zeigt sich keine Signifikanz, nur eine Tendenz mit knapp 67% der HPV positiven Fälle bei PD-L1 Positivität ($p=0,229$).

CD4 Positivität war vermehrt in Oro- und Hypopharynxkarzinomen nachweisbar ($p=0,02$), dies zeigte sich sowohl in fernmetastasierten als auch nicht-fernmetastasierten Tumoren. Bei Betrachtung der T-Stadien und des Gradings ließ sich kein Trend hinsichtlich der CD4 Dichte erkennen, anders als beim N-Stadium. Insbesondere im nicht-fernmetastasierten Kollektiv zeigte sich eine Tendenz zur vermehrten CD4 Expression bei erhöhtem N-Status ($p=0,08$). In der Analyse des M-Status und der CD4 Expression zeigte sich die Tendenz zu CD4 Positivität bei M0 Status ($p=0,317$). Ebenso zeigt sich nur eine Tendenz in Korrelation mit der HPV Positivität und erhöhter CD4 Expression.

Für die CD8 Expression zeigten sich keine signifikanten Ergebnisse. In unserem Kollektiv zeigte sich der Trend zur erhöhten CD8 Expression bei metastasierten Oropharynxkarzinomen ($p=0,297$). Bei den HPV positiven Tumoren war ebenfalls ein Trend zur erhöhten CD8-Expression, insbesondere bei den nicht-fernmetastasierten Tumoren, zu erkennen.

Insgesamt zeigte sich im metastasierten Kollektiv eine erhöhte IDO Expression in Korrelation mit dem T-Stadium ($p=0,095$). Nicht-fernmetastasierte Tumore zeigen dabei eine Tendenz zur

erhöhten IDO Expression ($p=0,094$). Mit 76,2% der HPV positiven Tumoren fällt dabei ein Zusammenhang mit der erhöhten IDO Expression auf ($p=0,045$).

Unabhängig von der Lokalisation ergab sich eine hohe CD68 Expression. Mit Zunahme des T-Stadiums stieg die CD68 Dichte zusätzlich ($p=0,06$) an, dies galt sowohl für fernmetastasierte als auch für nicht-fernmetastasierte Tumore. Es zeigte sich der Trend zur erhöhten CD68 Expression bei 87,4% der nicht-fernmetastasierten Tumoren im Verhältnis zu 68,4% der fernmetastasierten Tumoren ($p=0,112$).

4.3.3. Wilcoxon-Test

Beim Wilcoxon Test handelt es sich um einen statistischen Test, mit dem man zwei Werte einer verbundenen Stichprobe untersuchen kann (Li und Johnson 2014, G281).

Im vorliegenden Fall wurde er sowohl für den Vergleich der Marker-Expression von Primarius und Metastase sowie dem Vergleich der Primarien des verbundenen fernmetastasierten und nicht-fernmetastasierten Kollektives verwendet.

4.3.3.1. Wilcoxon-Test zur Analyse Primarius und Metastase

Um die Zusammensetzung des Mikroenvironments von Primarius und Metastase zu untersuchen, wurde die Marker-Expression verglichen. Da es sich um Proben desselben Patienten handelt, wurde der Wilcoxon-Test verwendet. Die p-Werte sind in der Tabelle 31: p-Werte des Wilcoxon-Tests zur Analyse der Marker-Expression Primarius und Metastase aufgeführt.

	Primariusprobe aus TZ im Vergleich zu Metastasenprobe aus TZ	Primariusprobe aus IF im Vergleich zu Metastasenprobe aus IF	Primariusprobe aus TZ im Vergleich zu Metastasenprobe aus IF	Primariusprobe aus IF im Vergleich zu Metastasenprobe aus TZ
PD-L1	0,292	0,180	0,523	0,102
CD4	0,143	0,317	0,480	0,257
CD8	0,212	0,157	0,157	1,000
IDO	0,627			0,317
CD68	0,160	1,000	0,248	0,655

Tabelle 31: p-Werte des Wilcoxon-Tests zur Analyse der Marker-Expression Primarius und Metastase (TZ = Tumorzentrum, IF= Invasionsfront)

Bei einem Signifikanzniveau von 0,05 sind in unserem Kollektiv keine signifikanten Unterschiede zwischen der Marker-Expression auf Primarien im Vergleich zu den zugehörigen Metastasen zu finden.

4.3.3.2. Wilcoxon-Test zur Analyse des verbundenen Kollektivs

Für die Untersuchung des fernmetastasierten Kollektivs im Vergleich zum nicht-fernmetastasierten Kollektiv wurden die gemachten Proben als verbundene Stichproben angesehen und erneut der Wilcoxon-Test verwendet.

	TZ (metastasiert) im Vergleich zu TZ (nicht- metastasiert)	TZ (metastasiert) im Vergleich zu IF (nicht- metastasierten)	IF (metastasiert) im Vergleich zu TZ (nicht- metastasierten)	IF (metastasiert) im Vergleich zu IF (nicht- metastasiert)
PD-L1	0,287	0,891	0,343	0,317
CD4	0,763	0,461	0,131	0,317
CD8	1,0000	0,564	0,739	1,000
IDO	0,763	0,655	1,000	1,000
CD68	0,272	0,564	0,236	1,000

Tabelle 32: p-Werte des Wilcoxon-Tests zur Analyse der Marker-Expression des Primarius im Vergleich fernmetastasiertes mit nicht-fernmetastasiertem Kollektiv (TZ= Tumorzentrum, IF= Invasionsfront)

Ausgehend von einem Signifikanzniveau 0,05 sind auch hier keine signifikanten Unterschiede zu erkennen. Aufgrund der geringen Anzahl vollständig vorhandener pathologischer Präparat-Gruppen, sind die Metastasen hier nicht in Lymphknoten- und Fernmetastase differenziert.

4.3.4. Überlebenskurven

Zur Bewertung des prognostischen Charakters der einzelnen Marker-Expressionen wurde das Überleben mithilfe von Kaplan-Meier Kurven und dem LogRank Test untersucht. Wie bereits in den Kreuztabellen erläuterte, wurde auch hier die dichotomisierte Marker-Expression verwendet. Dementsprechend wird nur zwischen Marker-Positivität und Negativität unterschieden. Die Höhe der Expression geht demzufolge nicht in die Analyse ein.

Erwartungsgemäß zeigt sich im Vergleich des Gesamtüberlebens („overall-survival“, OS) von metastasiertem (sowohl Fern-als auch Lymphknotenmetastasen) und nicht-metastasiertem Kollektiv graphisch und mit einem p-Wert von 0,00 ein eindeutiger Unterschied.

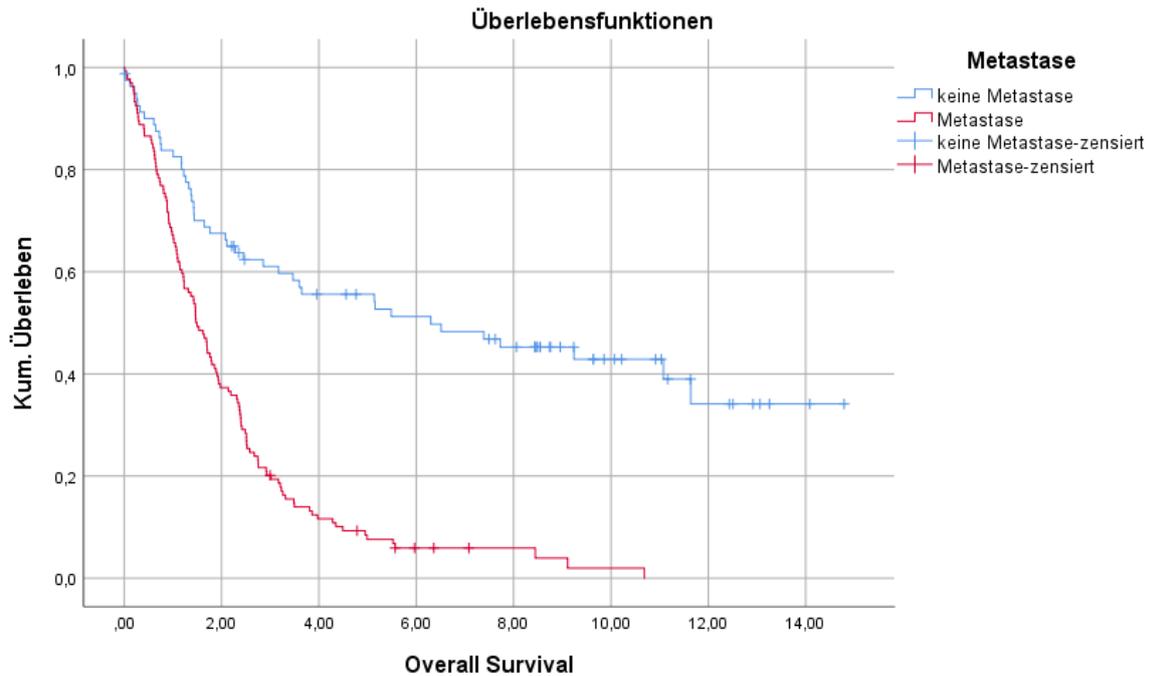


Abbildung 15: Kaplan-Meier-Kurve metastasiertes und nicht-metastasiertes Kollektiv

Der HPV Status zeigt mit einem kumulierten p-Wert von 0,179 erst bei Aufteilung des Kollektivs in metastasiert (p-Wert 0,374) und nicht-metastasiert (p-Wert 0,273) einen Vorteil der HPV Positivität. Im nicht-metastasierten Kollektiv ist hier zumindest graphisch eine vorteilhafte Überlebens-Tendenz zu erkennen.

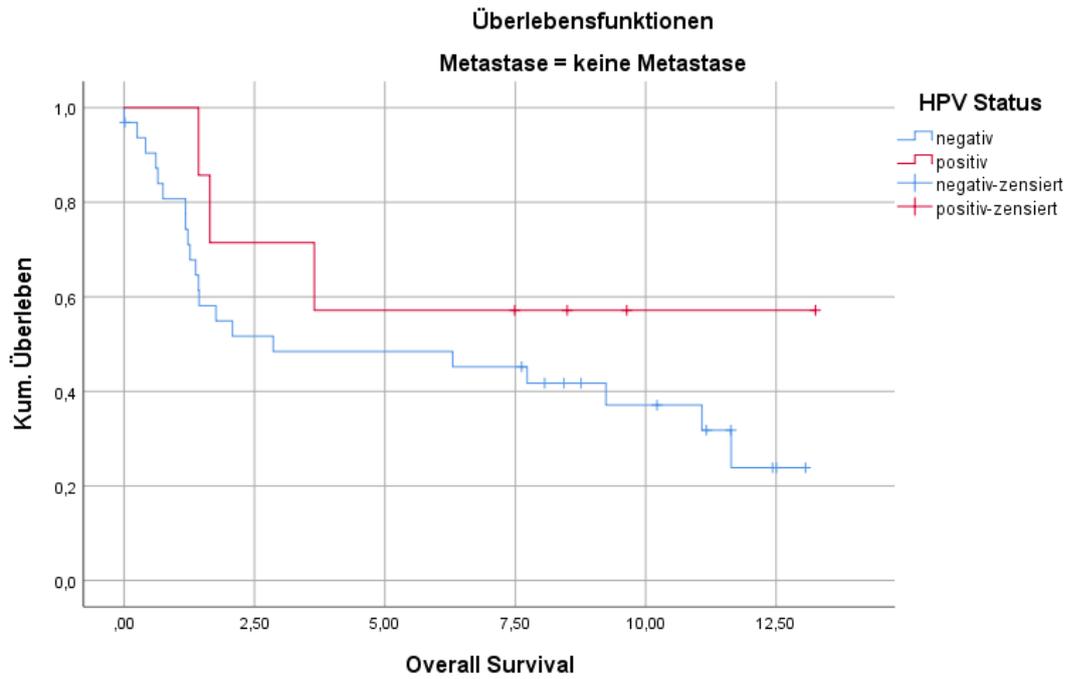


Abbildung 16: Kaplan-Meier-Kurve nicht-metastasiertes Kollektiv, Vergleich HPV-Status

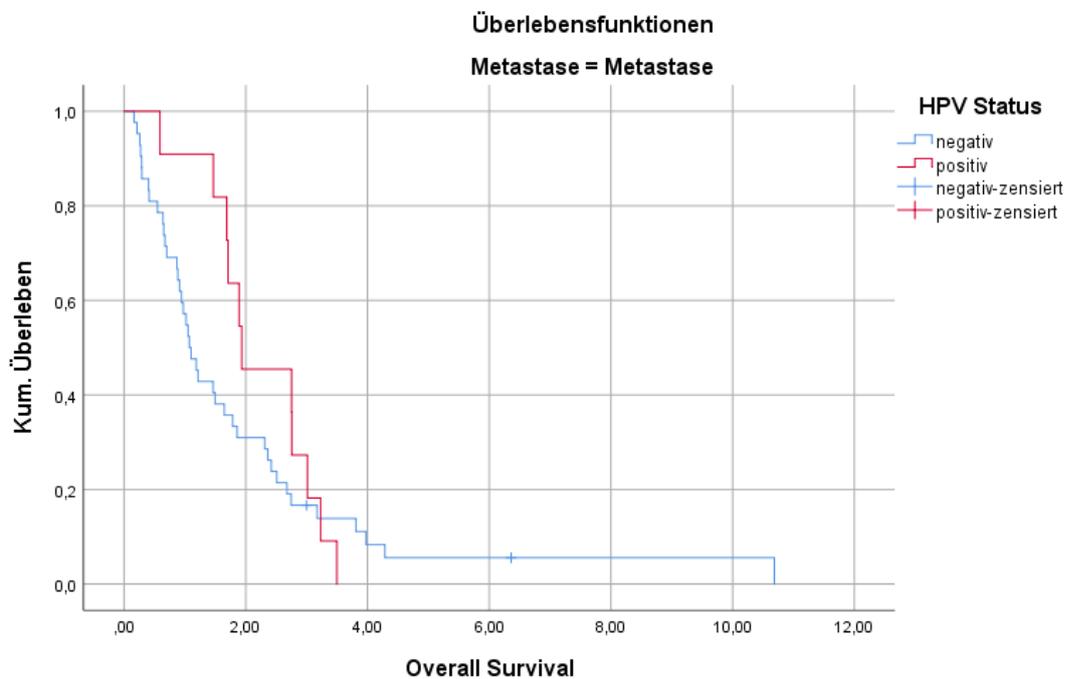


Abbildung 17: Kaplan-Meier-Kurve metastasiertes Kollektiv, Vergleich HPV-Status

Die Analyse der Oberflächenmarker im Vergleich metastasiertes (sowohl Fernmetastasen als auch Lymphknotenmetastasen) und nicht-metastasiertes Kollektiv ergab für das Tumorzentrum, die in Tabelle 33: p-Werte des LogRank Test aus dem Tumorzentrum im Vergleich metastasiertes und nicht-metastasiertes Kollektiv, und für die Invasionsfront, die in Tabelle 34: p-Werte des LogRank Test aus der Invasionsfront im Vergleich metastasiertes und nicht-metastasiertes Kollektiv, aufgeführten Werte. Hierfür wurde sowohl das gesamte Kollektiv als auch die Schichtung anhand des M-Status betrachtet.

Oberflächenmarker	Kollektiv	p-Wert
PD-L1	gesamt	0,418
	metastasiert	0,161
	nicht-metastasiert	0,943
CD4	gesamt	0,700
	metastasiert	0,402
	nicht-metastasiert	0,654
CD8	gesamt	0,456
	metastasiert	0,743
	nicht-metastasiert	0,603
IDO	gesamt	0,573
	metastasiert	0,600
	nicht-metastasiert	0,445
CD68	gesamt	0,892
	metastasiert	0,109
	nicht-metastasiert	0,480

Tabelle 33: p-Werte des LogRank Test aus dem Tumorzentrum im Vergleich metastasiertes und nicht-metastasiertes Kollektiv

Oberflächenmarker	Kollektiv	p-Wert
PD-L1	gesamt	0,544
	metastasiert	0,852
	nicht-metastasiert	0,362
CD4	gesamt	0,304
	metastasiert	0,228
	nicht-metastasiert	0,808
CD8	gesamt	0,065
	metastasiert	0,967
	nicht-metastasiert	0,039
IDO	gesamt	0,073
	metastasiert	0,631
	nicht-metastasiert	0,025
CD68	gesamt	0,892
	metastasiert	0,109
	nicht-metastasiert	0,480

Tabelle 34: p-Werte des LogRank Test aus der Invasionsfront im Vergleich metastasiertes und nicht-metastasiertes Kollektiv

Signifikante Werte ergaben sich bei der Expression von IDO und CD8 in der Invasionsfront des nicht-metastasierten Kollektives. Aufgrund der geringen Fallzahl (unter 10 Fällen) sind diese Ergebnisse aber nur als Tendenz zu interpretieren.

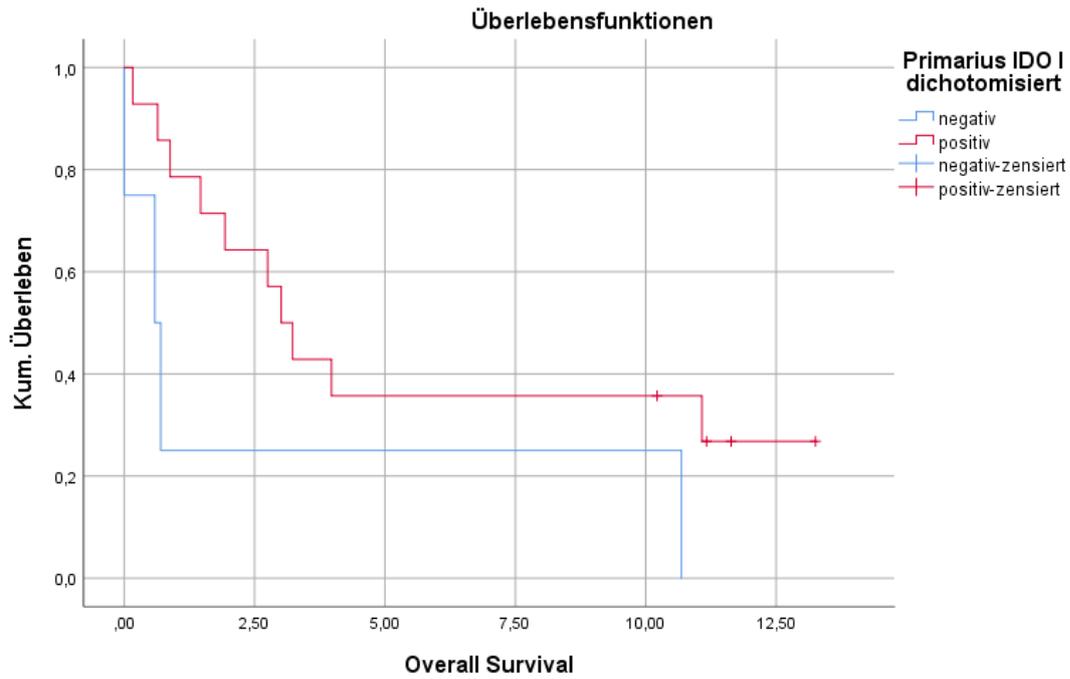


Abbildung 18: Kaplan-Meier-Kurve IDO Expression der Invasionsfront im Vergleich metastasiertes und nicht-metastasiertes Kollektiv

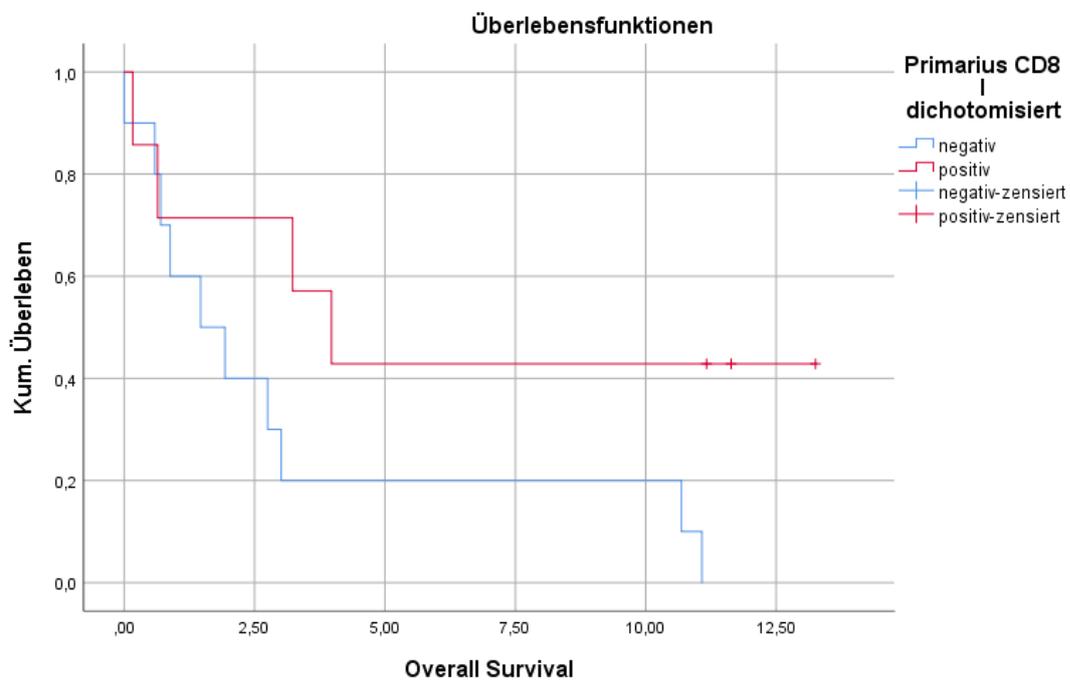


Abbildung 19: Kaplan-Meier-Kurve CD8 Expression der Invasionsfront im Vergleich metastasiertes und nicht-metastasiertes Kollektiv

5. Diskussion

5.1. Stellung der Ergebnisse in der aktuellen Forschung

Die hier verwendete Palette an Oberflächenmarkern ist bisher in der Fachliteratur nicht in dieser Kombination etabliert. Die Ergebnisse werden daher in Bezug zu vorbeschriebenem Färbeverhalten einzelner Färbungen der entsprechenden Marker gesetzt.

Für PD-L1 ist in der Literatur insgesamt eine positive Korrelation mit einem guten Ergebnis beschrieben (Vassilakopoulou et al. 2016, S. 709). Die Ergebnisse der PD-L1 Expression bestätigen die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen. So zeigte sich eine ausgeprägtere Heterogenität in der PD-L1 Expression im metastasierten Kollektiv und eine Abnahme der Expression mit höherem N-Status, beides ist kohärent mit einer Verschlechterung der Prognose. Zusätzlich konnten wir eine vermehrte PD-L1 Expression bei HPV positiven Tumoren zeigen, und damit Ergebnisse, die bereits für Oropharynxkarzinome vorliegen (Sato et al. 2019b, S. 542) bestätigen.

Bei CD4 handelt es sich um einen grundlegenden T-Zellmarker, er erlaubt jedoch wie bereits erwähnt keine Unterscheidung der T-Zellart (Bastian et al. 2020, S. 81). Zusammengefasst ist eine hohe CD4 Expression als unvorteilhafter Prognosefaktor zu werten (O'Higgins et al. 2018, S. 13). Im vorliegenden Kollektiv war eine CD4 Expression ebenfalls mit einem höheren N-Status und einem höheren Grading assoziiert. Mit Cohen's Kappa konnte keine ausgeprägte Heterogenität beschrieben werden. Dies könnte durch die mangelnde Unterscheidung der einzelnen T-Zell Unterarten erklärt werden.

Die CD8 Expression ist in der Literatur mit einem guten Outcome und häufig mit HPV positiven Tumoren assoziiert (Sato et al. 2019b, S. 542). Analog war die CD8 Expression auch in unserem Kollektiv bei HPV positiven Tumoren erhöht. Zusätzlich waren Oropharynxkarzinome am häufigsten CD8-positiv. Auch zeigte sich ein statistisch signifikanter

Zusammenhang zwischen der CD8-Positivität der Invasionsfront und dem Overall-survival im nicht-fernmetastasierten Kollektiv. Die Heterogenität der CD8 Expression im fernmetastasierten Kollektiv ist höher als im nicht-metastasierten. Aufgrund der Berechnungsart des Heterogenitätsfaktors wird jedoch nicht zwischen der Positivität und Negativität und damit dem Vorhandensein von zytotoxischen Zellen unterschieden. Dies stellt also keinen Widerspruch zum prognostisch positiven Charakter der CD8 Färbung da.

IDO ist als Stoffwechsellzym des T-Zell-Stoffwechsel vermehrt in den Fokus der aktuellen Tumorforschung gerückt. Für HNSCCs ist eine Zunahme des Tumorwachstums und damit eine Prognoseverschlechterung in Korrelation mit einer verstärkten IDO Expression beschrieben (Bates et al. 2018, S. 536). Dies konnten wir durch unsere Überlebenskurven nicht bestätigen. Signifikante Werte ergaben sich im Sinne eines Überlebensvorteils einer IDO Expression für die Invasionsfront des nicht-fernmetastasierten Kollektivs. Der Zusammenhang zwischen einem HPV assoziierten Tumor und einer vermehrten IDO Expression der von Krishna et al. beschrieben wurde (Krishna et al. 2018, S. 6166) konnte hingegen auch in unserem Kollektiv gezeigt werden. Obwohl dem Grading aktuell keine diagnostische Bedeutung zukommt, konnten wir hier für IDO eine positive Korrelation zeigen.

Für den Makrophagen-Marker CD68 konnte eine vermehrte Expression in Korrelation mit dem Fehlen von Metastasen (Costa et al. 2013, S. 219), wie sie von Costa et al. beschrieben wurde, bestätigt werden. Gleiches gilt für einen fehlenden Zusammenhang mit der HPV Positivität, die auch in unserem Kollektiv auffiel. Interessanterweise zeigte sich eine sehr gleichmäßige Verteilung der CD68-positiven Zellen in Tumorzentrum und Invasionsfront. Da Daten zur Lokalisation der TAMs in HNSCCs aktuell fehlen, wäre eine weitere Untersuchung mit gegebenenfalls zusätzlichen Makrophagen-Markern für das Verständnis der TAM Rolle im Mikroenvironment interessant.

5.2. Die Tumormikroumgebung und ihr Einfluss

Aus der Fachliteratur weiß man um den Einfluss und die komplexen Zusammenhänge des Mikroenvironments. Nach wie vor ist die genaue Rolle der menschlichen Immunantwort auf die Kanzerogenese und die Interaktion einzelner Zellen sowie ihrer Zytokine mit den Tumorzellen nicht verstanden.

Im Hinblick auf den explorativen Charakter dieser Arbeit zeigt sich ein Bedarf nach weiteren Untersuchungen. Die vorliegende Arbeit ist durch die Oberflächenmusterexpression-Analyse nahezu eine reine Untersuchung der Zelldichte. Zum besseren Verständnis des Mikroenvironments sollten zusätzlich auch die löslichen Faktoren untersucht werden. In der Literatur gibt es hier bereits einige diskutierte Faktoren wie zum Beispiel IFN- γ , TNF- α oder verschiedene Interleukine, wie IL-5, IL-8, IL-10 oder IL-13 (Peltanova et al. 2019), deren genaue Interaktionen weiterer Forschung bedürfen.

Zusätzlich bedürfen die einzelnen Zellarten einer genaueren Analyse. Am Beispiel der in dieser Arbeit verwendeten Zellarten: zum besseren Verständnis von TAMs bietet sich die Doppelfärbung CD68 und CD163 an (Kumar et al. 2019, S. 5), zum besseren Verständnis CD4-positiver T-Zellen bietet sich hingegen die Untersuchung der sezernierenden Faktoren an, da so eine Unterscheidung in funktionell unterschiedliche Unterarten möglich ist (Bastian et al. 2020, S. 81). Ähnliches gilt für CD8-positive T-Zellen, auch hier bietet sich eine genauere Unterscheidung mit Hilfe unterschiedlicher Färbungen, wie unter anderem FoxP3, CD27, CD26, CD26I oder CD45 R an. (Bastian et al. 2020, S. 83)

Trotzdem konnte in dieser Arbeit durch die Analyse des Heterogenitätsfaktors die Bedeutung der Variabilität der Zellzusammensetzung in HNSCCs gezeigt werden. In Kombination mit der genaueren Unterscheidbarkeit, der hier untersuchten Zellen wird die Notwendigkeit von Folgearbeiten, die eine genauere Zell-Differenzierung ermöglichen, offenbar. Zum einen zum

besseren Verständnis des Zusammenhangs Metastasierung und Mikroumgebung und zum anderen zur Suche nach einem immunhistochemischen Prognosefaktor.

5.3. Kritische eigene Bewertung/Vergleich der Zielsetzung mit den Ergebnissen

Durch den großen Behandlungsumfang, die Dokumentation der erfolgten Therapien im klinischen Alltag, in Kombination mit der Erfahrung des Arbeitskreises hinsichtlich retrospektiver immunhistochemischer Analysen, konnte eine suffiziente Kollektivgröße erreicht werden. Ein Problem stellten jedoch die fehlenden oder zu kleinen pathologischen Präparate, insbesondere der Fernmetastasen, dar. Aufgrund der häufigeren radiologischen Diagnosestellung fehlten hier zumeist korrespondierende Präparate. Dies führte zu einer deutlich geringeren Anzahl an vollständigen histologischen Probenpaaren als initial geplant.

Die Verwendung von TMAs zur Analyse der Marker-Expression kann man bei explorativen immunhistochemischen Studien durchaus kritisch beurteilen. Ein Vorteil ist sicherlich die Möglichkeit kostengünstig eine höhere Anzahl an Tumoren zu untersuchen. Die Nachteile sind der höhere Zeitaufwand und die nur stellenweise Beurteilung des Gewebes. Diese birgt im Vergleich zur Untersuchung von konventionellen histologischen Schnitten das Risiko einzelne Expressionsmuster über- oder unterzubewerten. Für einen Überblick, welche Marker es sich im weiteren Verlauf zu untersuchen lohnt, können TMAs jedoch sinnvoll herangezogen werden.

Ein weiterer Kritikpunkt an immunhistochemischen Analysen ist die relative Subjektivität der Auswertung. Man kann versuchen diese durch mindestens drei Untersucher und randomisierte verblindete Untersuchungen abzumildern, um sowohl die Inter- als auch die Intraraterreliabilität zu berücksichtigen. Dies war uns im Umfang dieser Untersuchung jedoch nicht möglich.

Durch gezielte Auswahl der statistischen Testung, die Verwendung der Maximal- beziehungsweise Minimalwerte sowie der Dichotomisierung der Daten wurde versucht obengenannten Problemen entgegenzuwirken.

Trotzdem war es nicht möglich unter den verwendeten Oberflächenmarkern einen Prognosefaktoren für das Vorhandensein von Metastasen oder den klinischen Progress zu identifizieren.

6. Zusammenfassung

Das Vorliegen einer Fernmetastase führt bei HNSCC Patienten im Normalfall zum Verlassen eines kurativen Therapieansatzes. In früheren Arbeiten konnten wir zeigen, dass eine spezifische Therapie der Fernmetastasen zu einer signifikanten Verbesserung des Überlebens führt. (Schulz et al. 2018, S. 1244) Ziel dieser Arbeit war es Marker für das Vorhandensein einer Metastase, und damit Patienten, die von einer spezifischen Therapieoption profitieren, zu identifizieren. Der ausgeprägte immunmodulatorische Zusammenhang der Zellen des Mikroenvironments mit den Plattenepithelkarzinomzellen, legt die Vermutung nahe, dass diese Marker im Bereich der tumorinfiltrierenden Lymphozyten (kurz TILs) zu suchen sind.

Wir konnten zeigen, dass eine ausgeprägte Heterogenität der zellulären Mikroenvironment-Bestandteile vermehrt in Primarien metastasierter Tumore auftreten. Dies war besonders für die Expression von CD8 und PD-L1 auffällig. Gleichzeitig konnten wir ein auffälliges Fehlen dieser Heterogenität für die Marker IDO und CD68 beobachten. Dies unterstreicht in Zusammenschau mit der aktuellen Fachliteratur die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen.

Leider konnten wir in den Überlebensanalysen bei keinem der untersuchten Marker eine Eignung als Prognosefaktor für das Überleben oder das Auftreten einer Metastase beschreiben, der über bereits beschriebene Tendenzen hinausreicht. Wir sehen jedoch in der getrennten Untersuchung von Tumorzentrum und Invasionsfront unterschiedliche Marker-Verteilungen, welche auch hier die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen nahelegen.

Zusammengefasst wären weitere Untersuchungen, sowohl mit größeren Patientenzahlen als auch mit genaueren Zellsubdifferenzierungen und im Weiteren auch mit Einbeziehung der unterschiedlichen löslichen Faktoren zum genaueren Verständnis und damit möglicherweise auch der Identifikation von Prognoseparametern, wünschenswert.

7. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebserkrankungen in Deutschland 2014 (ohne nicht-melanotischen Hautkrebs) (Robert-Koch-Institut 2017, S. 16).....	16
Abbildung 2: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebssterbefällen in Deutschland 2014 (Robert-Koch-Institut 2017, S. 17).....	17
Abbildung 3: Absolute Zahl der Neuerkrankungs- und Sterbefälle, nach Geschlecht, ICD-10 C00-C14, Deutschland 1999-2014/15 (Robert-Koch-Institut 2017, S. 25).....	18
Abbildung 4: Absolute Zahl der Neuerkrankungs- und Sterbefälle, nach Geschlecht, ICD-10 C32, Deutschland 1999-2014/15 (Robert-Koch-Institut 2017, S. 53).....	19
Abbildung 5: Modell der genomischen Karzinogenese in HNSCCs (Leemans et al. 2018, S. 279).....	26
Abbildung 6: Halslymphknotenmetastasen und möglicher Sitz des Primärtumors (Hossfeld und Wittekind 2005, S. 905).....	28
Abbildung 7: Anatomische Darstellung der Level Einteilung für die neck dissection (Robbins et al. 2008, S. 537).....	33
Abbildung 8: Zusammenfassung der Einflussfaktoren in der Tumormikroumgebung modifiziert nach (Tong et al. 2012, S. 267) und Peltanova et al. 2019.....	37
Abbildung 9: Immunhistochemische Marker-Expression PD-L1, 20-fache Vergrößerung. A <1% positiv, B \geq 1% positiv, C \geq 5% positiv, D \geq 10% positiv, E \geq 25% positiv, F \geq 50% positiv.....	59
Abbildung 10: Immunhistochemische Marker-Expression CD4, 40-fache Vergrößerung, A negativ, B <33% positiv, C 33-66% positiv, D >66% positiv.....	59
Abbildung 11: Immunhistochemische Marker-Expression CD8, 20-fache Vergrößerung, A negativ, B <33% positiv, C 33-66% positiv, D >66% positiv.....	59

Abbildung 12: Immunhistochemische Marker-Expression CD68, 20-fache Vergrößerung, A negativ, B <33% positiv, C 33-66% positiv, D >66% positiv	60
Abbildung 13: Immunhistochemische Marker-Expression IDO, 20-fache Vergrößerung. A negativ, B 1-25% positiv, C 26-50% positiv, D 51-75% positiv, E >75% positiv	60
Abbildung 14: Immunhistochemische Marker-Expression p16, 10-fache Vergrößerung. A negativ, B positiv.....	60
Abbildung 15: Kaplan-Meier-Kurve metastasiertes und nicht-metastasiertes Kollektiv.....	69
Abbildung 16: Kaplan-Meier-Kurve nicht-metastasiertes Kollektiv, Vergleich HPV-Status .	70
Abbildung 17: Kaplan-Meier-Kurve metastasiertes Kollektiv, Vergleich HPV-Status	70
Abbildung 18: Kaplan-Meier-Kurve IDO Expression der Invasionsfront im Vergleich metastasiertes und nicht-metastasiertes Kollektiv.....	73
Abbildung 19: Kaplan-Meier-Kurve CD8 Expression der Invasionsfront im Vergleich metastasiertes und nicht-metastasiertes Kollektiv.....	73

8. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: T-Klassifikation für Mundhöhlen- und Lippen-Tumore.....	11
Tabelle 2: T-Klassifikation für Oropharynx-Tumore.....	11
Tabelle 3: T-Klassifikation der Hypopharynx-Tumore.....	12
Tabelle 4: T-Klassifikation der Larynx-Tumore.....	12
Tabelle 5: N-Klassifikation.....	13
Tabelle 6: M-Klassifikation.....	13
Tabelle 7: R-Klassifikation.....	13
Tabelle 8: Differenzierung des HNSCC-Gewebes.....	14
Tabelle 9: UICC Stadien von Mundhöhlen- und Lippentumoren.....	14
Tabelle 10: UICC Stadium von Oro- und Hypopharynx-Tumoren.....	15
Tabelle 11: UICC Stadium von Larynx-Tumoren.....	15
Tabelle 12: Unterschiede zwischen HPV positiven und HPV negativen HNSCCs nach (Marur et al. 2010, S. 784).....	22
Tabelle 13: Gene mit hoher Signifikanz und Häufigkeit der somatischen Genveränderungen in HPV positiven HNSCCs modifiziert nach Leemans et al. 2018, S. 272.....	24
Tabelle 14: Mehrstufiger Prozess der Metastasenbildung nach Talmadge und Fidler (Talmadge und Fidler 2010).....	27
Tabelle 15: verwendete Geräte.....	49
Tabelle 16: verwendete Chemikalien.....	49
Tabelle 17: verwendete Farbstoffe.....	50
Tabelle 18: verwendete Antikörper.....	51
Tabelle 19: verwendetes Verbrauchsmaterial.....	51
Tabelle 20: Auswertungs-Score PD-L1, Cologne-Score.....	54
Tabelle 21: Auswertungs-Score CD4, CD8 und CD68.....	54

Tabelle 22: Auswertungs-Score IDO	54
Tabelle 23: Auswertungs-Score p16	54
Tabelle 24: Charakterisierung des Kollektivs	58
Tabelle 25: Interpretation Cohen's Kappa (κ) (Landis und Koch 1977, p. 165).....	61
Tabelle 26: Cohen's Kappa (κ) für die Expression von PD-L1	63
Tabelle 27: Cohen's Kappa (κ) für die Expression von CD4	63
Tabelle 28: Cohen's Kappa (κ) für die Expression von CD8	63
Tabelle 29: Cohen's Kappa (κ) für die Expression von IDO.....	64
Tabelle 30: Cohen's Kappa (κ) für die Expression von CD68	64
Tabelle 31: p-Werte des Wilcoxon-Tests zur Analyse der Marker-Expression Primarius und Metastase (TZ = Tumorzentrum, IF= Invasionsfront)	67
Tabelle 32: p-Werte des Wilcoxon-Tests zur Analyse der Marker-Expression des Primarius im Vergleich fernmetastasiertes mit nicht-fernmetastasiertem Kollektiv (TZ= Tumorzentrum, IF= Invasionsfront)	68
Tabelle 33: p-Werte des LogRank Test aus dem Tumorzentrum im Vergleich metastasiertes und nicht-metastasiertes Kollektiv	71
Tabelle 34: p-Werte des LogRank Test aus der Invasionsfront im Vergleich metastasiertes und nicht-metastasiertes Kollektiv	72
Tabelle 35: Deskriptive Zusammenfassung der PDL-1 Färbung.....	106
Tabelle 36: Deskriptive Zusammenfassung der CD4-Färbung	106
Tabelle 37: Deskriptive Zusammenfassung der CD8-Färbung.....	107
Tabelle 38: Deskriptive Zusammenfassung der CD68-Färbung.....	108
Tabelle 39: Deskriptive Zusammenfassung der IDO-Färbung	109
Tabelle 40: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, PDL1 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,006	109

Tabelle 41: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,011	110
Tabelle 42: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,153	110
Tabelle 43: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, PDL1 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,637.....	110
Tabelle 44: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,697	111
Tabelle 45: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,386	111
Tabelle 46: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, PDL1 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,513.....	111
Tabelle 47: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,431	111
Tabelle 48: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,794	112
Tabelle 49: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, PDL1 Expression vs. M-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,539.....	112
Tabelle 50: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, PDL1 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,851.....	112
Tabelle 51: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,834	113
Tabelle 52: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,633.....	113
Tabelle 53: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, PDL1 Expression vs. HPV-Status, Chi-Quadrat-Test nach Pearson:0,229.....	113

Tabelle 54: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. HPV-Status, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,543	114
Tabelle 55: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. HPV-Status, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,274	114
Tabelle 56:Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD4 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,02	114
Tabelle 57: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,103	115
Tabelle 58: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,03	115
Tabelle 59: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD4 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,665.....	115
Tabelle 60: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,781	116
Tabelle 61: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,628	116
Tabelle 62: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD4 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,791.....	116
Tabelle 63: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,080	117
Tabelle 64: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,572	117
Tabelle 65: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD4 Expression vs. M-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,317	117
Tabelle 66: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD4 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert:0,860	118

Tabelle 67: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD4 Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,224	118
Tabelle 68: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,630	118
Tabelle 69: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. HPV-Expression, exakte Signifikanz nach Fisher zweiseitig: 0,313	119
Tabelle 70: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD8 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,507	119
Tabelle 71: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,994	119
Tabelle 72: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,241	120
Tabelle 73: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD8 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,701	120
Tabelle 74: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,520	120
Tabelle 75: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,710	121
Tabelle 76: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD8 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,308.....	121
Tabelle 77: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,088	121
Tabelle 78: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,634	122
Tabelle 79: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD8 Expression vs. M-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,297	122

Tabelle 80: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD8 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,513	122
Tabelle 81: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,343	122
Tabelle 82: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,195	123
Tabelle 83: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD8 Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,264	123
Tabelle 84: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,133	123
Tabelle 85: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,898	124
Tabelle 86: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, IDO Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,701	124
Tabelle 87: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, IDO Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,199	124
Tabelle 88: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, IDO Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,853.....	125
Tabelle 89: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, IDO Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,398.....	125
Tabelle 90: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, IDO Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,095	125
Tabelle 91: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, IDO Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,745	126
Tabelle 92: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, IDO Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,808.....	126

Tabelle 93: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, IDO Expression vs. M-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson:0,094.....	126
Tabelle 94: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, IDO Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,736.....	127
Tabelle 95: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, IDO Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,045	127
Tabelle 96: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, IDO Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,523	127
Tabelle 97: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, IDO Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,031	128
Tabelle 98: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD68 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,198	128
Tabelle 99: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD68 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,612.....	128
Tabelle 100: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD68 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,066	129
Tabelle 101: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD68 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson:0,060.....	129
Tabelle 102: Kreuztabelle nicht-metastiertes Kollektiv, CD68 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,208	129
Tabelle 103: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD68 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,150	130
Tabelle 104: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD68 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,113.....	130
Tabelle 105: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD68 Expression vs. M-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,112.....	130

Tabelle 106: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD68 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,887.....	130
Tabelle 107: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD68 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,639	131
Tabelle 108: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD68 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,874	131
Tabelle 109: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD68 Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,826	131

9. Literaturverzeichnis

Amarnath, S.; Mangus, C. W.; Wang, J. C. M.; Wei, F.; He, A.; Kapoor, V. et al. (2011): The PDL1-PD1 axis converts human TH1 cells into regulatory T cells. In: *Science translational medicine* 3 (111), 111ra120. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003130.

Argiris, A.; Karamouzis, M. V.; Raben, D.; Ferris, R. L. (2008): Head and neck cancer. In: *The Lancet* 371 (9625), S. 1695–1709. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60728-X.

Azoury S.C.; Gilmore R.C.; Shukla V. (2016): Molecularly Targeted Agents and Immunotherapy for the Treatment of Head and Neck squamous Cell Cancer (HNSCC). In: *Discovery Medicine* (118), S. 507–516.

Baddour, H. M.; Magliocca, K. R.; Chen, A. Y. (2016): The importance of margins in head and neck cancer. In: *Journal of surgical oncology* 113 (3), S. 248–255. DOI: 10.1002/jso.24134.

Bastian, T.; Lang, S.; Kansy, B. A. (2020): Vergleich der T-Zell-Antwort im Tumormilieu von Patienten mit HPV+- und HPV–-Kopf-Hals-Karzinom. In: *HNO* 68 (2), S. 80–86. DOI: 10.1007/s00106-019-00804-0.

Bates, A. M.; Gomez Hernandez, M. P.; Lanzel, E. A.; Qian, F.; Brogden, K. A. (2018): Matrix metalloproteinase (MMP) and immunosuppressive biomarker profiles of seven head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) cell lines. In: *Translational cancer research* 7 (3), S. 533–542. DOI: 10.21037/tcr.2018.05.09.

Blasco, M. A.; Svider, P. F.; Raza, S. N.; Jacobs, J. R.; Folbe, A. J.; Saraf, P. et al. (2017): Systemic therapy for head and neck squamous cell carcinoma. Historical perspectives and recent breakthroughs. In: *The Laryngoscope* 127 (11), S. 2565–2569. DOI: 10.1002/lary.26629.

Boffetta, P.; Hayes, R. B.; Sartori, S.; Lee, Y.-C. A.; Muscat, J.; Olshan, A. et al. (2016): Mouthwash use and cancer of the head and neck. A pooled analysis from the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. In: *European journal of cancer prevention : the*

official journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP) 25 (4), S. 344–348.
DOI: 10.1097/CEJ.0000000000000179.

Bolt, W. J.; McLaughlin, J.; Winn, D. M.; Austin D. F.; Greenberg R. S; Preston-Martin S. et al. (1988): Smoking and drinking in Relation to oral and Pharyngeal cancer. In: *Cancer research* (48), S. 3282–3287.

Brandsma, J. L.; Abramson, A. L. (1989): Association of papillomavirus with cancers of the head and neck. In: *Archives of otolaryngology--head & neck surgery* 115 (5), S. 621–625.

Brierley, J.; Gospodarowicz, M. K.; Wittekind, C. (Hg.) (2017): *TNM classification of malignant tumours*. Eighth edition. Chichester, West Sussex, UK, Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc.

Califano, J.; van der Riet, P.; Westra, W. H.; Nawroz, H.; Claymann, G.; Piantadosi, S. et al. (1996): Genetic Progression Model for HNSCC: Implications for field Cancerization. In: *Cancer research* (56), S. 2488–2492.

Chatzopoulos, Kyriakos; Kotoula, Vassiliki; Manoussou, Kyriaki; Markou, Konstantinos; Vlachsis, Konstantinos; Angouridakis, Nikolaos et al. (2019): Tumor Infiltrating Lymphocytes and CD8+ T Cell Subsets as Prognostic Markers in Patients with Surgically Treated Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. In: *Head and neck pathology*. DOI: 10.1007/s12105-019-01101-6.

Colevas, A. D. (2006): Chemotherapy options for patients with metastatic or recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 24 (17), S. 2644–2652. DOI: 10.1200/JCO.2005.05.3348.

Costa, N. L.; Valadares, M. C.; Souza, P. P. C.; Mendonça, E. F.; Oliveira, J. C.; Silva, T. A.; Batista, A. C. (2013): Tumor-associated macrophages and the profile of inflammatory

cytokines in oral squamous cell carcinoma. In: *Oral oncology* 49 (3), S. 216–223. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2012.09.012.

Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde (2018): Leitlinienporgramm Onkologie. Konsultationsfassung S3-Leitlinie Diagnostik, Tehrapie und Nachsorge des Larynxkarzinom.

Deutsche Gesellschaft für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie (2012): Leitlinienporgramm Onkologie. Diagnsotik und Therapie des Mundhöhlenkarzinoms.

Doll, R. Hill, B. (1950): Smoking and carcinoma of the lung (1950). In: *British Medical Journal*, S. 739–748.

Feinmesser, M.; Okon, E.; Schwartz, A.; Kaganovsky, E.; Hardy, B.; Aminov, E. et al. (2004): Histologic and immunohistochemical characterization of tumor and inflammatory infiltrates in oral squamous cell carcinomas treated with local multikine immunotherapy. The macrophage at the front line. In: *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery* 261 (7), S. 359–368. DOI: 10.1007/s00405-003-0615-x.

Gillison, M. L.; Koch, W.; Capone, R.; Spafford, M.; Westra, W. H.; Wu, L. et al. (2000): Evidence for a Casual Associtaion Between Human Papillomavirus and a Subset of Head and Neck Cancers. In: *Journal of the National Cancer Institute* (92), S. 709–720.

Gooden, M. J. M.; Bock, G. H. de; Leffers, N.; Daemen, T.; Nijman, H. W. (2011): The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer. A systematic review with meta-analysis. In: *British journal of cancer* 105 (1), S. 93–103. DOI: 10.1038/bjc.2011.189.

Hafkamp, H. C.; Manni, J. J.; Haesevoets, A.; Voogd, A. C.; Schepers, M.; Bot, F. J. et al. (2008): Marked differences in survival rate between smokers and nonsmokers with HPV 16-

associated tonsillar carcinomas. In: *International journal of cancer* 122 (12), S. 2656–2664. DOI: 10.1002/ijc.23458.

Hanahan, D.; Weinberg, R. A. (2011): Hallmarks of cancer. The next generation. In: *Cell* 144 (5), S. 646–674. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.

Hashibe, M.; Brennan, P.; Benhamou, S.; Castellsague, X.; Chen, C.; Curado, M. P. et al. (2007): Alcohol drinking in never users of tobacco, cigarette smoking in never drinkers, and the risk of head and neck cancer. Pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. In: *Journal of the National Cancer Institute* 99 (10), S. 777–789. DOI: 10.1093/jnci/djk179.

Hashim, D.; Sartori, S.; Brennan, P.; Curado, M. P.; Wunsch-Filho, V.; Divaris, K. et al. (2016): The role of oral hygiene in head and neck cancer. Results from International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) consortium. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 27 (8), S. 1619–1625. DOI: 10.1093/annonc/mdw224.

Hashim, D.; Sartori, S.; La Vecchia, C.; Serraino, D.; Maso, L. D.; Negri, E. et al. (2017): Hormone factors play a favorable role in female head and neck cancer risk. In: *Cancer medicine* 6 (8), S. 1998–2007. DOI: 10.1002/cam4.1136.

Hirayama T. (1966): An epidemiological study of oral and pharyngeal cancer in Central and South-East Asia, S. 41–69.

Hossfeld, D. K.; Wittekind, C. (2005): Metastasen bei unkeanntem Primärtumor. Das CUP-Syndrom. In: *Deutsches Ärzteblatt* 102 (13), S. 904–907.

Ihrler, S.; Mollenhauer, M.; Weiler, C. (2014): *Kopf-Hals-Malignome. Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge*. 5th ed. Germering bei München: W. Zuckschwerdt Verlag (Manuale Tumorzentrum München).

International Agency for research on cancer, WHO: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Alcohol Drinking 1988 (Volumen 44).

Ishida, Y.; Agata, Y.; Shibahara, K.; Honjo, T. (1992): Induced expression of PD1 a novel member of the immunoglobulin gene superfamily upon programmed cell death // Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. In: *The EMBO Journal* 11 (11), S. 3887–3895. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1992.tb05481.x.

Iwai, Y.; Ishida, M.; Tanaka, Y.; Okazaki, T.; Honjo, T.; Minato, N. (2002): Involvement of PDL1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PDL1 blockade // Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (19), S. 12293–12297. DOI: 10.1073/pnas.192461099.

Jemal, A.; Bray, F.; Center, M. M.; Ferlay, J.; Ward, E.; Forman, D. (2011): Global cancer statistics. In: *CA: a cancer journal for clinicians* 61 (2), S. 69–90. DOI: 10.3322/caac.20107.

Jethwa, A. R.; Khariwala, S. S. (2017): Tobacco-related carcinogenesis in head and neck cancer. In: *Cancer metastasis reviews* 36 (3), S. 411–423. DOI: 10.1007/s10555-017-9689-6.

Koch, W.; Lango, M.; Sewell, D.; Zahurak, M.; Sidransky, D. (1999): Head and Neck Cancer in Nonsmokers: A Distinct Clinical and Molecular Entity. In: *The Laryngoscope* (109), S. 1544–1551.

Krishna, S.; Ulrich, P.; Wilson, E.; Parikh, F.; Narang, P.; Yang, S. et al. (2018): Human Papilloma Virus Specific Immunogenicity and Dysfunction of CD8+ T Cells in Head and Neck Cancer. In: *Cancer research* 78 (21), S. 6159–6170. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-0163.

Kumar, A. T.; Knops, A.; Swendseid, B.; Martinez-Outschoom, U.; Harshyne, L.; Philp, N. et al. (2019): Prognostic Significance of Tumor-Associated Macrophage Content in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. A Meta-Analysis. In: *Frontiers in oncology* 9, S. 656. DOI: 10.3389/fonc.2019.00656.

Landis, J. R.; Koch, G. G. (1977): The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. In: *Biometrics* 33 (1), S. 159. DOI: 10.2307/2529310.

Langley, R. R.; Fidler, I. J. (2007): Tumor cell-organ microenvironment interactions in the pathogenesis of cancer metastasis. In: *Endocrine reviews* 28 (3), S. 297–321. DOI: 10.1210/er.2006-0027.

Lechien, J. R.; Seminerio, I.; Descamps, G.; Mat, Q.; Mouawad, F.; Hans, S. et al. (2019): Impact of HPV Infection on the Immune System in Oropharyngeal and Non-Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. A Systematic Review. In: *Cells* 8 (9). DOI: 10.3390/cells8091061.

Leemans, C. R.; Braakhuis, B. J. M.; Brakenhoff, R. H. (2011): The molecular biology of head and neck cancer. In: *Nature reviews. Cancer* 11 (1), S. 9–22. DOI: 10.1038/nrc2982.

Leemans, C. R.; Snijders, P. J. F.; Brakenhoff, R. H. (2018): The molecular landscape of head and neck cancer. In: *Nature reviews. Cancer* 18 (5), S. 269–282. DOI: 10.1038/nrc.2018.11.

Lei, Y.; Xie, Y.; Tan, Y. S.; Prince, M. E.; Moyer, J. S.; Nör, J.; Wolf, G. T. (2016): Telltale tumor infiltrating lymphocytes (TIL) in oral, head & neck cancer. In: *Oral oncology* 61, S. 159–165. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2016.08.003.

Li, H.; Johnson, T. (2014): Wilcoxon's signed-rank statistic. What null hypothesis and why it matters. In: *Pharmaceutical statistics* 13 (5), S. 281–285. DOI: 10.1002/pst.1628.

Lindberg, R. (1972): Distribution of cervical lymph node metastases from squamous cell carcinoma of the upper respiratory and digestive tracts. In: *Cancer* 29 (6), S. 1446–1449. DOI: 10.1002/1097-0142(197206)29:6<1446::AID-CNCR2820290604>3.0.CO;2-C.

Marron, M.; Boffetta, P.; Møller, H.; Ahrens, W.; Pohlabeln, H.; Benhamou, S. et al. (2012): Risk of upper aerodigestive tract cancer and type of alcoholic beverage. A European multicenter case-control study. In: *European journal of epidemiology* 27 (7), S. 499–517. DOI: 10.1007/s10654-012-9699-1.

Marta, G. N.; Silva, V.; Andrade Carvalho, H. de; Arruda, F. F. de; Hanna, S. A.; Gadia, R. et al. (2014): Intensity-modulated radiation therapy for head and neck cancer. Systematic review and meta-analysis. In: *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology* 110 (1), S. 9–15. DOI: 10.1016/j.radonc.2013.11.010.

Marur, S.; D'Souza, G.; Westra, W. H.; Forastiee, A. A. (2010): HPV-associated head and neck cancer. A virus-related cancer epidemic. In: *The Lancet Oncology* 11 (8), S. 781–789.

McHugh, M. L. (2012): Interrater reliability. The kappa statistic. In: *Biochemia medica* 22 (3), S. 276–282.

Medeiros, Marcell Costa de; Banerjee, Rajat; Liu, Min; Anovazzi, Giovana; D'Silva, Nisha J.; Junior, Carlos Rossa (2017): HNSCC subverts PBMCs to secrete soluble products that promote tumor cell proliferation. In: *Oncotarget* 8 (37), S. 60860–60874. DOI: 10.18632/oncotarget.18486.

Munn, D. H.; Zhou, M.; Attwood, J. T.; Bondarev, I.; Conway, S. J.; Marshall, B. et al. (1998): Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. In: *Science (New York, N.Y.)* 281 (5380), S. 1191–1193. DOI: 10.1126/science.281.5380.1191.

Nguyen, N.; Bellile, E.; Thomas, D.; McHugh, J.; Rozek, L.; Virani, S. et al. (2016): Tumor infiltrating lymphocytes and survival in patients with head and neck squamous cell carcinoma. In: *Head & neck* 38 (7), S. 1074–1084. DOI: 10.1002/hed.24406.

Normanno, N.; Luca, A. de; Bianco, C.; Strizzi, L.; Mancino, M.; Maiello, M. R. et al. (2006): Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. In: *Gene* 366 (1), S. 2–16. DOI: 10.1016/j.gene.2005.10.018.

Nutting, C. M.; Morden, J. P.; Harrington, K. J.; Urbano, T. G.; Bhide, S. A.; Clark, C. et al. (2011): Parotid-sparing intensity modulated versus conventional radiotherapy in head and neck cancer (PARSPORT). A phase 3 multicentre randomised controlled trial. In: *The Lancet Oncology* 12 (2), S. 127–136. DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70290-4.

O'Higgins, C.; Ward, F. J.; Abu Eid, R. (2018): Deciphering the Role of Regulatory CD4 T Cells in Oral and Oropharyngeal Cancer. A Systematic Review. In: *Frontiers in oncology* 8, S. 442. DOI: 10.3389/fonc.2018.00442.

Paget, S. (1889): Distribution of secondary growths in cancer of the breast. In: *The Lancet*, S. 571–573.

Pai, S. I.; Zandberg, D. P.; Strome, S. E. (2016): The role of antagonists of the PD-1:PD-L1/PD-L2 axis in head and neck cancer treatment. In: *Oral oncology* 61, S. 152–158. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2016.08.001.

Paz, I. B.; Cook, N.; Odom-Maryon, T.; Xie, Y.; Wilczynski, S. P. (1997): Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. An Association of HPV 16 with Squamous Cell Carcinoma of Waldeyer`s Tonsillar Ring. In: *Cancer* 79 (3), S. 595–604. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19970201)79:3<595::AID-CNCR24>3.0.CO;2-Y.

Peltanova, B.; Raudenska, M.; Masarik, M. (2019): Effect of tumor microenvironment on pathogenesis of the head and neck squamous cell carcinoma. A systematic review. In: *Molecular cancer* 18 (1), S. 63. DOI: 10.1186/s12943-019-0983-5.

Platek, Alexis J.; Cannioto, Rikki A.; Etter, John Lewis; Kim, Jae; Joseph, Janine M.; Gulati, Nicholas R. et al. (2017): The association of lifetime physical inactivity with head and neck

cancer. A hospital-based case-control analysis. In: *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery* 274 (10), S. 3773–3780. DOI: 10.1007/s00405-017-4688-3.

Platten, M.; Wick, W.; van den Eynde, B. J. (2012): Tryptophan catabolism in cancer. Beyond IDO and tryptophan depletion. In: *Cancer research* 72 (21), S. 5435–5440. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0569.

Ribbat-Idel, J.; Perner, S.; Kuppler, P.; Klapper, L.; Krupar, R.; Watermann, C. et al. (2021): Immunologic "Cold" Squamous Cell Carcinomas of the Head and Neck Are Associated With an Unfavorable Prognosis. In: *Frontiers in medicine* 8, S. 622330. DOI: 10.3389/fmed.2021.622330.

Riess, C.; Schneider, B.; Kehnscherper, H.; Gesche, J.; Irmscher, N.; Shokraie, F. et al. (2020): Activation of the Kynurenine Pathway in Human Malignancies Can Be Suppressed by the Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor Dinaciclib. In: *Frontiers in immunology* 11, S. 55. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00055.

Robbins, K. T.; Shaha, A. R.; Medina, J. E.; Califano, J. A.; Wolf, G. T.; Ferlito, A. et al. (2008): Consensus statement on the classification and terminology of neck dissection. In: *Archives of otolaryngology--head & neck surgery* 134 (5), S. 536–538. DOI: 10.1001/archotol.134.5.536.

Robert Koch-Institut (RKI) (November 2016): Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016.

Robert-Koch-Institut (2017): Krebs in Deutschland | 2013/2014.

Rozali, E. N.; Hato, S. V.; Robinson, B. W.; Lake, R. A.; Lesterhuis, W. J. (2012): Programmed death ligand 2 in cancer-induced immune suppression. In: *Clinical & developmental immunology* 2012, S. 656340. DOI: 10.1155/2012/656340.

Russell, S. M.; Angell, T. E.; Lechner, M. G.; Liebertz, D. J.; Correa, A. J.; Sinha, U. K. et al. (2013): Immune cell infiltration patterns and survival in head and neck squamous cell carcinoma. In: *Head & neck oncology* 5 (3), S. 24.

Ryu, Hyang Joo; Kim, Eun Kyung; Heo, Su Jin; Cho, Byoung Chul; Kim, Hye Ryun; Yoon, Sun Och (2017): Architectural patterns of p16 immunohistochemical expression associated with cancer immunity and prognosis of head and neck squamous cell carcinoma. In: *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* 125 (11), S. 974–984. DOI: 10.1111/apm.12744.

Sato, F.; Ono, T.; Kawahara, A.; Kawaguchi, T.; Tanaka, H.; Shimamatsu, K. et al. (2019a): Prognostic impact of p16 and PD-L1 expression in patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma receiving a definitive treatment. In: *Journal of clinical pathology* 72 (8), S. 542–549. DOI: 10.1136/jclinpath-2019-205818.

Sato, Fumihiko; Ono, Takeharu; Kawahara, Akihiko; Kawaguchi, Toshihiko; Tanaka, Hisaichiro; Shimamatsu, Kazuhide et al. (2019b): Prognostic impact of p16 and PD-L1 expression in patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma receiving a definitive treatment. In: *Journal of clinical pathology* 72 (8), S. 542–549. DOI: 10.1136/jclinpath-2019-205818.

Schott, A. K.; Pries, R.; Wollenberg, B. (2010): Permanent up-regulation of regulatory T-lymphocytes in patients with head and neck cancer. In: *International journal of molecular medicine* 26 (1), S. 67–75. DOI: 10.3892/ijmm_00000436.

Schulz, Dominik; Wirth, Markus; Piontek, Guido; Knopf, Andreas; Straube, Christoph; Pigorsch, Steffi et al. (2018): Improved overall survival in head and neck cancer patients after specific therapy of distant metastases. In: *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery* 275 (5), S. 1239–1247. DOI: 10.1007/s00405-018-4920-9.

Shah, A.; Malik, A.; Garg, A.; Mair, M.; Nair, S.; Chaturvedi, P. (2017): Oral sex and human papilloma virus-related head and neck squamous cell cancer. A review of the literature. In: *Postgraduate medical journal* 93 (1105), S. 704–709. DOI: 10.1136/postgradmedj-2016-134603.

Shah, G.; Chaturvedi, P.; Vaishampayan, S. (2012): Arecanut as an emerging etiology of oral cancers in India. In: *Indian journal of medical and paediatric oncology : official journal of Indian Society of Medical & Paediatric Oncology* 33 (2), S. 71–79. DOI: 10.4103/0971-5851.99726.

Slaughter, D. P.; Southwick, H. W.; Smejkal, W. (1953): "Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium. Clinical implications of multicentric origin. In: *Cancer* (6), S. 963–968.

Spector, J. G.; Sessions, D. G.; Haughey, B. H.; Chao, K. S.; Simpson, J.; El Mofty, S.; Perez, C. A. (2001): Delayed regional metastases, distant metastases, and second primary malignancies in squamous cell carcinomas of the larynx and hypopharynx. In: *The Laryngoscope* 111 (6), S. 1079–1087. DOI: 10.1097/00005537-200106000-00028.

Spector, M. E.; Bellile, E.; Amlani, L.; Zarins, K.; Smith, J.; Brenner, J. C. et al. (2019a): Prognostic Value of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. In: *JAMA otolaryngology-- head & neck surgery*. DOI: 10.1001/jamaoto.2019.2427.

Spector, Matthew E.; Bellile, Emily; Amlani, Lahin; Zarins, Katie; Smith, Joshua; Brenner, J. Chad et al. (2019b): Prognostic Value of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. In: *JAMA otolaryngology-- head & neck surgery*. DOI: 10.1001/jamaoto.2019.2427.

Strati, A.; Koutsodontis, G.; Papaxoinis, G.; Angelidis, I.; Zavridou, M.; Economopoulou, P. et al. (2017): Prognostic significance of PD-L1 expression on circulating tumor cells in patients with head and neck squamous cell carcinoma. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 28 (8), S. 1923–1933. DOI: 10.1093/annonc/mdx206.

Sumi, M.; Sato, S.; Nakamura, T. (2017): Extranodal spread of primary and secondary metastatic nodes. The dominant risk factor of survival in patients with head and neck squamous cell carcinoma. In: *PLOS ONE* 12 (8), e0183611. DOI: 10.1371/journal.pone.0183611.

Talmadge, J. E.; Fidler, I. J. (2010): AACR centennial series. The biology of cancer metastasis: historical perspective. In: *Cancer research* 70 (14), S. 5649–5669. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1040.

The Cancer Genome Atlas Network (2015): Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. In: *Nature* 517 (7536), S. 576–582. DOI: 10.1038/nature14129.

Thomas, S. J.; Bain, C. J.; Battistutta, D.; Ness, A. R.; Paissat, D.; Maclennan, R. (2007): Betel quid not containing tobacco and oral cancer. A report on a case-control study in Papua New Guinea and a meta-analysis of current evidence. In: *International journal of cancer* 120 (6), S. 1318–1323. DOI: 10.1002/ijc.22304.

Thomas, S. J.; Maclennan, R. (1992): Silkaed lime and betel nut cancer in Papua New Guinea. In: *The Lancet* 1992 (340), S. 577–578.

Tong, C. C. L.; Kao, J.; Sikora, A. G. (2012): Recognizing and reversing the immunosuppressive tumor microenvironment of head and neck cancer. In: *Immunologic research* 54 (1-3), S. 266–274. DOI: 10.1007/s12026-012-8306-6.

Uppaluri, Ravindra; Dunn, Gavin P.; Lewis, James S. (2008): Focus on TILs. Prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in head and neck cancers. In: *Cancer immunity* 8, S. 16.

Vassilakopoulou, M.; Avgeris, M.; Velcheti, V.; Kotoula, V.; Rampias, T.; Chatzopoulos, K. et al. (2016): Evaluation of PD-L1 Expression and Associated Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. In: *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 22 (3), S. 704–713. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1543.

Vermorcken, J. B.; Mesia, R.; Rivera, F.; Remenar, E.; Kawecki, A.; Rottey, S. et al. (2008): Platinum-Based Chemotherapy plus Cetuximab in Head and Neck Cancer. In: *The New England journal of medicine* 359 (11), S. 1116–1127. DOI: 10.1056/NEJMoa0802656.

Vollmar, A.; Zündorf, I.; Dingermann, T. (2013): *Immunologie. Grundlagen und Wirkstoffe ; mit 216 Tabellen. 2., völlig neu bearb. und erw. Aufl.* Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.

Warnakulasuriya, S.; Ariyawardana, A. (2016): Malignant transformation of oral leukoplakia. A systematic review of observational studies. In: *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology* 45 (3), S. 155–166. DOI: 10.1111/jop.12339.

Wemmert, S.; Linxweiler, M.; Lerner, C.; Bochen, F.; Kulas, P.; Linxweiler, J. et al. (2018): Combinational chromosomal aneuploidies and HPV status for prediction of head and neck squamous cell carcinoma prognosis in biopsies and cytological preparations. In: *Journal of*

cancer research and clinical oncology 144 (6), S. 1129–1141. DOI: 10.1007/s00432-018-2629-1.

WHO (1984): WHO Bulletin Control of oral cancer in developing countries.

Wittekind, C.; Meyer, H.-J. (Hg.) (2010): TNM. Klassifikation maligner Tumoren. International Union against Cancer. 7. Auflage. s.l.: Wiley-VCH.

Wolf, G. T.; Hudson, J. L.; Peterson, K. A.; Miller, H. L.; McClatchey, K. D. (1986): Lymphocyte subpopulations infiltrating squamous carcinomas of the head and neck. Correlations with extent of tumor and prognosis. In: Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery 95 (2), S. 142–152. DOI: 10.1177/019459988609500203.

Wu, X.; Gu, Z.; Chen, Y.; Chen, B.; Chen, W.; Weng, L.; Liu, X. (2019): Application of PD-1 Blockade in Cancer Immunotherapy. In: Computational and structural biotechnology journal 17, S. 661–674. DOI: 10.1016/j.csbj.2019.03.006.

Wyss, A. B.; Hashibe, M.; Lee, Yuan-Chin A.; Chuang, S.-C.; Muscat, J.; Chen, C. et al. (2016): Smokeless Tobacco Use and the Risk of Head and Neck Cancer. Pooled Analysis of US Studies in the INHANCE Consortium. In: American journal of epidemiology. DOI: 10.1093/aje/kww075.

Zhang, X.; Reichart, P. A. (2007): A review of betel quid chewing, oral cancer and precancer in Mainland China. In: Oral oncology 43 (5), S. 424–430. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2006.08.010.

Zhou, Liyuan; Li, Yujun; Gao, Wei; Huangfu, Hui; Wen, Shuxin; Zhang, Chunming et al. (2019): Assessment of tumor-associated immune cells in laryngeal squamous cell carcinoma. In: Journal of cancer research and clinical oncology 145 (7), S. 1761–1772. DOI: 10.1007/s00432-019-02936-w.

Zolkind, P.; Uppaluri, R. (2017): Checkpoint immunotherapy in head and neck cancers. In: *Cancer Metastasis Rev* 36 (3), S. 475–489. DOI: 10.1007/s10555-017-9694-9.

10. Anhang

Marker	Probenart	Score	Anzahl	Prozentual	
PDL-1	Primarius	0	125	37,98%	
		1	27	8,21%	
		2	37	11,24%	
		3	13	3,94%	
		4	15	4,56%	
		5	1	0,30%	
	Nicht verwertbar		111	33,74%	
					Gesamt: 329
PDL-1	Fernmetastase	0	23	30,25%	
		1	5	6,58%	
		2	3	3,95%	
		3	7	9,20%	
		4	2	2,62%	
		5	2	2,62%	
	Nicht verwertbar		34	44,74%	
					Gesamt:76
	LK-Metastase	0	45	67,15%	
		1	4	5,97%	
		2	5	7,45%	
		3	4	5,97%	
		4	4	5,97%	
		5	1	1,48%	

	Nicht verwertbar		4	5,97%	
					Gesamt: 67

Tabelle 35: Deskriptive Zusammenfassung der PDL-1 Färbung

Marker	Probenart	Score	Anzahl	Prozentual	
CD4	Primarius	0	87	26,43%	
		1	85	25,84%	
		2	41	12,45%	
		3	9	2,74%	
	Nicht verwertbar			32,51%	107
					Gesamt: 329
CD4	Fernmetastase	0	17	22,37%	
		1	20	26,32%	
		2	2	2,62%	
		3	3	3,95%	
	Nicht verwertbar			44,74%	34
					Gesamt: 76
CD4	LK-Metastase	0	35	52,24%	
		1	23	34,33%	
		2	3	4,48%	
		3	1	1,48%	
	Nicht verwertbar			7,45%	5
					Gesamt: 67

Tabelle 36: Deskriptive Zusammenfassung der CD4-Färbung

Marker	Probenart	Score	Anzahl	Prozentual	
CD8	Primarius	0	96	29,18%	

		1	116	35,26%	
		2	12	3,65%	
		3	1	0,30%	
	Nicht verwertbar			31,60%	104
					Gesamt: 329
CD8	Fernmetastase	0	19	25,00%	
		1	17	22,37%	
		2	5	6,58%	
		3	1	1,32%	
	Nicht verwertbar			44,74%	34
					Gesamt: 76
CD8	LK-Metastase	0	11	16,42%	
		1	43	64,18%	
		2	8	11,93%	
		3	0	0,00%	
	Nicht verwertbar			7,45%	5
					Gesamt: 67

Tabelle 37: Deskriptive Zusammenfassung der CD8-Färbung

Marker	Probenart	Score	Anzahl	Prozentual	
CD68	Primarius	0	21	6,37%	
		1	103	31,31%	
		2	57	17,31%	
		3	50	15,20%	
	Nicht verwertbar			29,79%	98
					Gesamt: 329

CD68	Fernmetastase	0	5	6,58%	
		1	12	15,79%	
		2	9	11,83%	
		3	18	23,67%	
	Nicht verwertbar			42,10%	32
					Gesamt: 76
CD68	LK-Metastase	0	6	8,94%	
		1	32	47,75%	
		2	17	25,36%	
		3	7	10,45%	
	Nicht verwertbar			7,45%	5
					Gesamt: 67

Tabelle 38: Deskriptive Zusammenfassung der CD68-Färbung

Marker	Probenart	Score	Anzahl	Prozentual	
IDO	Primarius	0	127	38,60%	
		1	91	27,66%	
		2	11	3,33%	
		3	1	0,30%	
		4	0	0,00%	
	Nicht verwertbar			30,08%	99
					Gesamt: 329
IDO	Fernmetastase	0	34	44,74%	
		1	9	11,83%	
		2	0	0,0%	
		3	0	0,0%	

		4	0	0,0%	
	Nicht verwertbar			43,41%	33
					Gesamt: 76
IDO	LK-Metastase	0	33	49,24%	
		1	26	38,81%	
		2	2	2,97%	
		3	1	1,50%	
		4	1	1,50%	
	Nicht verwertbar			5,96%	4
					Gesamt: 67

Tabelle 39: Deskriptive Zusammenfassung der IDO-Färbung

PDL1	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	7	23	14	5	0	49
Negativ - Prozentual	14,3%	46,9%	28,6%	10,2%	0,0%	100%
Positiv - Anzahl	4	11	22	16	2	55
Positiv - Prozentual	7,3%	20,0%	40,0%	29,1%	3,6%	100%
Gesamt - Anzahl	11	34	36	21	2	104
Gesamt - Prozentual	10,65	32,7%	34,6%	20,2%	1,9%	100%

Tabelle 40: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, PDL1 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,006

PDL1	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	2	12	5	0	0	19
Negativ - Prozentual	10,5%	63,2%	26,3%	0,0%	0,0%	100%
Positiv - Anzahl	3	6	10	9	2	30
Positiv - Prozentual	10,0%	20,0%	33,3%	30,0%	6,7%	100%
Gesamt - Anzahl	5	18	15	9	2	49

Gesamt - Prozentual	10,2%	36,7%	30,6%	18,4%	4,1%	100%
---------------------	-------	-------	-------	-------	------	------

Tabelle 41: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,011

PDL1	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	5	11	9	5		30
Negativ - Prozentual	16,7%	36,7%	30,0%	16,7%		100%
Positiv - Anzahl	1	5	12	7		25
Positiv - Prozentual	4,0%	20,0%	48,0%	28,0%		100%
Gesamt - Anzahl	6	16	21	12		55
Gesamt - Prozentual	10,9%	29,1%	38,2%	21,8%		100%

Tabelle 42: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,153

PDL1	Tx	T1	T2	T3	T4a	Gesamt
Negativ - Anzahl	0	10	15	11	13	49
Negativ - Prozentual	0,0%	55,6%	46,9%	50,0%	43,3%	47,1%
Positiv - Anzahl	2	8	17	11	17	55
Positiv - Prozentual	100%	44,4%	53,1%	50,0%	56,7%	52,9%
Gesamt - Anzahl	2	18	32	22	30	104
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 43: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, PDL1 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,637

PDL1	Tx	T1	T2	T3	T4a	Gesamt
Negativ - Anzahl	0	5	5	5	4	19
Negativ - Prozentual	0,0%	45,5%	50,0%	35,7%	33,3%	38,8%
Positiv - Anzahl	2	6	5	9	8	30
Positiv - Prozentual	100%	54,5%	50,0%	64,3%	66,7%	61,2%
Gesamt - Anzahl	2	11	10	14	12	49
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 44: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,697

PDL1	Tx	T1	T2	T3	T4a	Gesamt
Negativ - Anzahl		5	10	6	9	30
Negativ - Prozentual		71,4%	45,5%	75,0%	50,0%	54,5%
Positiv - Anzahl		2	12	2	9	25
Positiv - Prozentual		28,6%	54,5%	25,0%	50,0%	45,5%
Gesamt - Anzahl		7	22	8	18	55
Gesamt - Prozentual		100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 45: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,386

PDL1	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	Gesamt
Negativ - Anzahl	9	6	3	16	13	2	49
Negativ - Prozentual	34,6%	42,9%	75,0%	47,1%	59,1%	50,0%	47,1%
Positiv - Anzahl	17	8	1	18	9	2	55
Positiv - Prozentual	65,4%	57,1%	25,0%	52,9%	40,9%	50,0%	52,9%
Gesamt - Anzahl	26	14	4	34	22	4	104
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 46: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, PDL1 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,513

PDL1	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	Gesamt
Negativ - Anzahl	4	4	1	4	6		19
Negativ - Prozentual	23,5%	36,4%	50,0%	44,4%	60,0%		38,8%
Positiv - Anzahl	13	7	1	5	4		30
Positiv - Prozentual	76,5%	63,6%	50,0%	55,6%	40,0%		61,2%
Gesamt - Anzahl	17	11	2	9	10		49
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%		100%

Tabelle 47: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,431

PDL1	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	Gesamt
Negativ - Anzahl	5	2	2	12	7	2	30
Negativ - Prozentual	55,6%	66,7%	100%	48,0%	58,3%	50,0%	54,5%
Positiv - Anzahl	4	1	0	13	5	2	25
Positiv - Prozentual	44,4%	33,3%	0,0%	52,0%	41,7%	50,0%	45,5%
Gesamt - Anzahl	9	3	2	25	12	4	55
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 48: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,794

PDL1	M0	M1	Mx	Gesamt
Negativ - Anzahl	39	9	1	49
Negativ - Prozentual	45,9%	50,0%	100%	47,1%
Positiv - Anzahl	46	9	0	55
Positiv - Prozentual	54,1%	50,0%	0,0%	52,9%
Gesamt - Anzahl	85	18	1	104
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%

Tabelle 49: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, PDL1 Expression vs. M-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,539

PDL1	G1	G2	G3	Gesamt
Negativ - Anzahl	4	21	24	49
Negativ - Prozentual	50,0%	50,0%	44,4%	47,1%
Positiv - Anzahl	4	21	30	55
Positiv - Prozentual	50,0%	50,0%	55,6%	52,9%
Gesamt - Anzahl	8	42	54	104
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%

Tabelle 50: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, PDL1 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,851

PDL1	G1	G2	G3	Gesamt
------	----	----	----	--------

Negativ - Anzahl	1	7	11	19
Negativ - Prozentual	25,0%	41,2%	39,3%	38,8%
Positiv - Anzahl	3	10	17	30
Positiv - Prozentual	75,0%	58,8%	60,7%	61,2%
Gesamt - Anzahl	4	17	28	49
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%

Tabelle 51: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,834

PDL1	G1	G2	G3	Gesamt
Negativ - Anzahl	3	14	13	30
Negativ - Prozentual	75,0%	56,0%	50,0%	54,5%
Positiv - Anzahl	1	11	13	25
Positiv - Prozentual	25,0%	44,0%	50,0%	45,5%
Gesamt - Anzahl	4	25	26	55
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%

Tabelle 52: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,633

PDL1	Negativ	Positiv	Gesamt
Negativ - Anzahl	37	7	44
Negativ - Prozentual	48,1%	33,3%	44,9%
Positiv - Anzahl	40	14	54
Positiv - Prozentual	51,9%	66,7%	55,1%
Gesamt - Anzahl	77	21	98
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 53: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, PDL1 Expression vs. HPV-Status, Chi-Quadrat-Test nach Pearson:0,229

PDL1	Negativ	Positiv	Gesamt
Negativ - Anzahl	15	3	18

Negativ - Prozentual	40,5%	30,0%	38,3% ^S
Positiv - Anzahl	22	7	29
Positiv - Prozentual	59,5%	70,0%	61,7%
Gesamt - Anzahl	37	10	47
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 54: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. HPV-Status, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,543

PDL1	Negativ	Positiv	Gesamt
Negativ - Anzahl	22	4	26
Negativ - Prozentual	55,0%	36,4%	51,0%
Positiv - Anzahl	18	7	25
Positiv - Prozentual	45,0%	63,4%	49,0%
Gesamt - Anzahl	40	11	51
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 55: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, PDL1 Expression vs. HPV-Status, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,274

CD4	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	6	12	9	16	1	44
Negativ - Prozentual	13,6%	27,3%	20,5%	36,4%	2,3%	100%
Positiv - Anzahl	4	25	26	5	1	61
Positiv - Prozentual	6,6%	41,0%	42,6%	8,2%	1,6%	100%
Gesamt - Anzahl	10	37	35	21	2	105
Gesamt - Prozentual	9,5%	35,2%	33,3%	20,0%	1,9%	100%

Tabelle 56: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD4 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,02

CD4	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	1	8	3	7	1	20
Negativ - Prozentual	25,0%	42,1%	21,4%	77,8%	50,0%	41,7%

Positiv - Anzahl	3	11	11	2	1	28
Positiv - Prozentual	75%	57,9%	78,6%	22,2%	50,0%	58,3%
Gesamt - Anzahl	4	19	14	9	2	48
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 57: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. Tumorlokalisierung, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,103

CD4	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	5	4	6	9		24
Negativ - Prozentual	83,3%	22,2%	28,6%	75,0%		42,1%
Positiv - Anzahl	1	14	15	3		33
Positiv - Prozentual	16,7%	77,8%	71,4%	25,0%		57,9%
Gesamt - Anzahl	6	18	21	12		57
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%		100%

Tabelle 58: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. Tumorlokalisierung, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,03

CD4	Tx	T1	T2	T3	T4a	T4b	Gesamt
Negativ - Anzahl	1	7	13	6	15	1	43
Negativ - Prozentual	2,3%	16,3%	30,2%	14,0%	34,9%	2,3%	100%
Positiv - Anzahl	1	11	19	14	16	0	61
Positiv - Prozentual	1,6%	18,0%	31,1%	23,0%	26,2%	0,0%	100%
Gesamt - Anzahl	2	18	32	20	31	1	104
Gesamt - Prozentual	1,9%	17,3%	30,8%	19,2%	29,8%	1,0%	100%

Tabelle 59: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD4 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,665

CD4	Tx	T1	T2	T3	T4a	T4b	Gesamt
Negativ - Anzahl	1	3	4	4	7		19
Negativ - Prozentual	5,3%	15,8%	21,1%	21,1%	36,8%		100%
Positiv - Anzahl	1	7	6	8	6		28

Positiv - Prozentual	3,6%	25,0%	21,4%	28,6%	21,4%		100%
Gesamt - Anzahl	2	10	10	12	13		47
Gesamt - Prozentual	4,3%	21,3%	21,3%	25,5%	27,7%		100%

Tabelle 60: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,781

CD4	Tx	T1	T2	T3	T4a	T4b	Gesamt
Negativ - Anzahl		4	9	2	8	1	24
Negativ - Prozentual		16,7%	37,5%	8,3%	33,3%	4,2%	100%
Positiv - Anzahl		4	13	6	10	0	33
Positiv - Prozentual		12,1%	39,4%	18,2%	30,3%	0,0%	100%
Gesamt - Anzahl		8	22	8	18	1	57
Gesamt - Prozentual		14,0%	38,6%	14,0%	31,6%	1,8%	100%

Tabelle 61: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,628

CD4	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	Gesamt
Negativ - Anzahl	12	6	2	15	7	2	44
Negativ - Prozentual	52,2%	37,5%	50,0%	44,1%	31,8%	33,3%	41,9%
Positiv - Anzahl	11	10	2	19	15	4	61
Positiv - Prozentual	47,8%	62,5%	50,0%	55,9%	68,2%	66,7%	58,1%
Gesamt - Anzahl	23	16	4	34	22	6	105
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 62: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD4 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,791

CD4	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	Gesamt
Negativ - Anzahl	9	5	0	5	1		20
Negativ - Prozentual	60,0%	41,7%	0,0%	55,6%	10,0%		41,7%
Positiv - Anzahl	6	7	2	4	9		28
Positiv - Prozentual	40,0%	58,3%	100%	44,4%	90,0%		58,3%

Gesamt - Anzahl	15	12	2	9	10		48
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%		100%

Tabelle 63: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,080

CD4	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	Gesamt
Negativ - Anzahl	3	1	2	10	6	2	24
Negativ - Prozentual	37,5%	25,0%	100%	40,0%	50,0%	33,3%	42,1%
Positiv - Anzahl	5	3	0	15	6	4	33
Positiv - Prozentual	62,5%	75,0%	0,0%	60,0%	50,0%	66,7%	58,1%
Gesamt - Anzahl	8	4	2	25	12	6	57
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 64: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,572

CD4	M0	M1	Mx	Gesamt
Negativ - Anzahl	34	10	0	44
Negativ - Prozentual	39,5%	55,6%	0,0%	41,9%
Positiv - Anzahl	52	8	1	61
Positiv - Prozentual	60,5%	44,4%	100%	58,1%
Gesamt - Anzahl	86	18	1	105
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%

Tabelle 65: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD4 Expression vs. M-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,317

CD4	G1	G2	G3	Keine Angaben	Gesamt
Negativ - Anzahl	3	19	22	0	44
Negativ - Prozentual	42,9%	43,2%	41,5%	0%	41,9%
Positiv - Anzahl	4	25	31	1	61
Positiv - Prozentual	57,1%	56,8%	58,5%	100%	58,1%
Gesamt - Anzahl	7	44	53	1	105

Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%
---------------------	------	------	------	------	------

Tabelle 66: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD4 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert:0,860

CD4	Negativ	Positiv	Gesamt
Negativ - Anzahl	36	6	42
Negativ - Prozentual	45,0%	30,0%	42,0%
Positiv - Anzahl	44	14	58
Positiv - Prozentual	55,0%	70,0%	58,0%
Gesamt - Anzahl	80	20	100
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 67: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD4 Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,224

CD4	Negativ	Positiv	Gesamt
Negativ - Anzahl	16	3	19
Negativ - Prozentual	42,1%	33,3%	40,4%
Positiv - Anzahl	22	6	28
Positiv - Prozentual	57,9%	66,7%	59,6%
Gesamt - Anzahl	38	9	47
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 68: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,630

CD4	Negativ	Positiv	Gesamt
Negativ - Anzahl	20	3	23
Negativ - Prozentual	47,6%	27,3%	43,4%
Positiv - Anzahl	22	8	30
Positiv - Prozentual	52,4%	72,7%	56,6%
Gesamt - Anzahl	42	11	53
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 69: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD4 Expression vs. HPV-Expression, exakte Signifikanz nach Fisher zweiseitig: 0,313

CD8	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	5	12	17	12	1	47
Negativ - Prozentual	10,6%	25,5%	36,2%	25,5%	2,1%	100%
Positiv - Anzahl	6	24	19	9	1	59
Positiv - Prozentual	10,2%	40,7%	32,2%	15,3%	1,7%	100%
Gesamt - Anzahl	11	36	36	21	2	106
Gesamt - Prozentual	10,4%	34,0%	34,0%	19,8%	1,9%	100%

Tabelle 70: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD8 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,507

CD8	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	2	7	6	4	1	20
Negativ - Prozentual	40,0%	36,8%	40,0%	44,4%	50,0 %	40,0%
Positiv - Anzahl	3	12	9	5	1	30
Positiv - Prozentual	60,0%	63,2%	60,0%	55,6%	50,0 %	60,0%
Gesamt - Anzahl	5	19	15	9	2	50
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100 %	100%

Tabelle 71: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,994

CD8	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	3	5	11	8		27
Negativ - Prozentual	50,0%	29,4%	52,4%	66,7%		49,2%
Positiv - Anzahl	3	12	10	4		29
Positiv - Prozentual	50,0%	70,6%	47,6%	33,3%		51,8%

Gesamt - Anzahl	6	17	21	12		56
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%		100%

Tabelle 72: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,241

CD8	Tx	T1	T2	T3	T4a	T4b	Gesamt
Negativ - Anzahl	1	9	15	10	10	1	46
Negativ - Prozentual	50,0%	47,4%	46,9%	47,6%	33,3%	100%	43,8%
Positiv - Anzahl	1	10	17	11	20	0	59
Positiv - Prozentual	50,0%	52,6%	53,1%	52,4%	66,7%	0,0%	56,2%
Gesamt - Anzahl	2	19	32	21	30	1	105
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 73: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD8 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,701

CD8	Tx	T1	T2	T3	T4a	T4b	Gesamt
Negativ - Anzahl	1	5	3	7	3		19
Negativ - Prozentual	50,0%	45,5%	30,0%	53,8%	23,1%		38,8%
Positiv - Anzahl	1	6	7	6	10		30
Positiv - Prozentual	50,0%	54,5%	70,0%	46,2%	76,9%		61,2%
Gesamt - Anzahl	2	11	10	13	13		49
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%		100%

Tabelle 74: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,520

CD8	Tx	T1	T2	T3	T4a	T4b	Gesamt
Negativ - Anzahl		4	12	3	7	1	27
Negativ - Prozentual		50,0%	54,5%	37,5%	41,2%	100%	48,2%
Positiv - Anzahl		4	10	5	10	0	29
Positiv - Prozentual		50,0%	45,5%	62,5%	58,8%	0,0%	51,8%
Gesamt - Anzahl		8	22	8	17	1	46

Gesamt - Prozentual		100%	100%	100%	100%	100%	100%
---------------------	--	------	------	------	------	------	------

Tabelle 75: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,710

CD8	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	Gesamt
Negativ - Anzahl	13	9	1	14	6	4	47
Negativ - Prozentual	52,0%	56,3%	25,0%	42,4%	27,3%	66,7%	44,3%
Positiv - Anzahl	12	7	3	19	16	2	59
Positiv - Prozentual	48,0%	43,8%	75,0%	57,6%	72,7%	33,3%	55,7%
Gesamt - Anzahl	25	16	4	33	22	6	106
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 76: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD8 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,308

CD8	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	Gesamt
Negativ - Anzahl	8	8	0	2	2		20
Negativ - Prozentual	40,0%	40,0%	0,0%	10,0%	10,0%		100%
Positiv - Anzahl	9	4	2	7	8		30
Positiv - Prozentual	30,0%	13,3%	6,7%	23,3%	26,7%		100%
Gesamt - Anzahl	17	12	2	9	10		50
Gesamt - Prozentual	34,0%	24,0%	4,0%	18,0%	20,0%		100%

Tabelle 77: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,088

CD8	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	Gesamt
Negativ - Anzahl	5	1	1	12	4	4	27
Negativ - Prozentual	18,5%	3,7%	3,7%	44,4%	14,8%	14,8%	100%
Positiv - Anzahl	3	3	1	12	8	2	29
Positiv - Prozentual	10,3%	10,3%	3,4%	41,4%	27,6%	6,9%	100%
Gesamt - Anzahl	8	4	2	24	12	6	56
Gesamt - Prozentual	14,3%	7,1%	3,6%	42,9%	21,4%	10,7%	100%

Tabelle 78: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,634

CD8	M0	M1	Mx	Gesamt
Negativ - Anzahl	37	10	0	47
Negativ - Prozentual	42,0%	58,8%	0,0%	44,3%
Positiv - Anzahl	51	7	1	59
Positiv - Prozentual	58,0%	41,2%	100%	55,7%
Gesamt - Anzahl	88	17	1	106
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%

Tabelle 79: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD8 Expression vs. M-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,297

CD8	G1	G2	G3	Keine Angaben	Gesamt
Negativ - Anzahl	4	21	21	1	47
Negativ - Prozentual	57,1%	46,7%	39,6%	100%	44,3%
Positiv - Anzahl	3	24	32	0	59
Positiv - Prozentual	42,9%	53,3%	60,4%	0,0%	55,7%
Gesamt - Anzahl	7	45	53	1	106
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 80: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD8 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,513

CD8	G1	G2	G3	Keine Angaben	Gesamt
Negativ - Anzahl	1	10	9		20
Negativ - Prozentual	25,0%	52,6%	33,3%		40,0%
Positiv - Anzahl	3	9	18		30
Positiv - Prozentual	75,0%	47,4%	66,7%		60,0%
Gesamt - Anzahl	4	19	27		50
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%		100%

Tabelle 81: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,343

CD8	G1	G2	G3	Keine Angaben	Gesamt
Negativ - Anzahl	3	11	12	1	27
Negativ - Prozentual	100%	42,3%	46,2%	100%	48,2%
Positiv - Anzahl	0	15	14	0	29
Positiv - Prozentual	0,0%	57,7%	53,8%	0,0%	51,8%
Gesamt - Anzahl	3	26	26	1	56
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 82: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,195

CD8	Negativ	Positiv	Gesamt
Negativ - Anzahl	38	7	45
Negativ - Prozentual	46,9%	33,3%	44,1%
Positiv - Anzahl	43	14	57
Positiv - Prozentual	53,1%	66,7%	55,9%
Gesamt - Anzahl	81	21	102
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 83: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD8 Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,264

CD8	Negativ	Positiv	Gesamt
Negativ - Anzahl	18	2	20
Negativ - Prozentual	46,2%	20,0%	40,8%
Positiv - Anzahl	21	8	29
Positiv - Prozentual	53,9%	80,0%	59,2%
Gesamt - Anzahl	39	10	49
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 84: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,133

CD8	Negativ	Positiv	Gesamt

Negativ - Anzahl	20	5	25
Negativ - Prozentual	47,6%	45,5%	47,2%
Positiv - Anzahl	22	6	28
Positiv - Prozentual	52,4%	54,5%	52,8%
Gesamt - Anzahl	42	11	53
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 85: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD8 Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson p-Wert: 0,898

IDO	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	5	18	17	8	0	48
Negativ - Prozentual	45,5%	47,4%	47,2%	38,1%	0,0%	44,4%
Positiv - Anzahl	6	20	19	13	2	60
Positiv - Prozentual	54,5%	52,6%	52,8%	61,9%	100%	55,6%
Gesamt - Anzahl	11	38	36	21	2	108
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 86: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, IDO Expression vs. Tumorlokalisierung, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,701

IDO	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	2	10	7	1	0	20
Negativ - Prozentual	40,0%	52,6%	46,7%	11,1%	0,0%	40,0%
Positiv - Anzahl	3	9	8	8	2	30
Positiv - Prozentual	60,0%	47,4%	53,3%	88,9%	100%	60,0%
Gesamt - Anzahl	5	19	15	9	2	50
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 87: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, IDO Expression vs. Tumorlokalisierung, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,199

IDO	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
				x		

Negativ - Anzahl	3	8	10	7		28
Negativ - Prozentual	50,0%	32,1%	47,6%	58,3%		48,3%
Positiv - Anzahl	3	11	11	5		30
Positiv - Prozentual	50,0%	57,9%	52,4%	41,7%		51,7%
Gesamt - Anzahl	6	19	21	12		58
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%		100%

Tabelle 88: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, IDO Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,853

IDO	Tx	T1	T2	T3	T4a	T4b	Gesamt
Negativ - Anzahl	0	9	11	12	14	1	47
Negativ - Prozentual	0,0%	47,4%	34,4%	54,5%	45,2%	100%	43,9%
Positiv - Anzahl	2	10	21	10	17	0	60
Positiv - Prozentual	100%	52,6%	65,6%	45,5%	54,8%	0,0%	56,1%
Gesamt - Anzahl	2	19	32	22	31	1	107
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 89: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, IDO Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,398

IDO	Tx	T1	T2	T3	T4a	T4b	Gesamt
Negativ - Anzahl	0	4	1	8	6		19
Negativ - Prozentual	0,0%	36,4%	10,0%	61,5%	46,2%		38,8%
Positiv - Anzahl	2	7	9	5	7		30
Positiv - Prozentual	100%	63,6%	90,0%	38,5%	53,8%		61,2%
Gesamt - Anzahl	2	11	10	13	13		49
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%		100%

Tabelle 90: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, IDO Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,095

IDO	Tx	T1	T2	T3	T4a	T4b	Gesamt
Negativ - Anzahl		5	10	4	8	1	28

Negativ - Prozentual		62,5%	45,5%	44,4%	44,4%	100%	48,3%
Positiv - Anzahl		3	12	5	10	0	30
Positiv - Prozentual		37,5%	54,5%	55,6%	55,6%	0,0%	51,7%
Gesamt - Anzahl		8	22	9	18	1	58
Gesamt - Prozentual		100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 91: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, IDO Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,745

IDO	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	Gesamt
Negativ - Anzahl	10	6	2	17	9	4	48
Negativ - Prozentual	40,0%	37,5%	40,0%	50,0%	40,9%	66,7%	44,4%
Positiv - Anzahl	15	10	3	17	13	2	60
Positiv - Prozentual	60,0%	62,5%	60,0%	50,0%	59,1%	33,3%	55,6%
Gesamt - Anzahl	25	16	5	34	22	6	108
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 92: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, IDO Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,808

IDO	M0	M1	Mx	Gesamt
Negativ - Anzahl	35	12	1	48
Negativ - Prozentual	39,8%	63,2%	100%	44,4%
Positiv - Anzahl	53	7	0	60
Positiv - Prozentual	60,2%	36,8%	0,0%	55,6%
Gesamt - Anzahl	88	19	1	108
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%

Tabelle 93: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, IDO Expression vs. M-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,094

IDO	G1	G2	G3	Keine Angaben	Gesamt
Negativ - Anzahl	4	20	24	0	48
Negativ - Prozentual	57,1%	44,4%	43,6%	0,0%	44,4%

Positiv - Anzahl	3	25	31	1	60
Positiv - Prozentual	42,9%	55,6%	56,4%	100%	55,6%
Gesamt - Anzahl	7	45	55	1	109
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 94: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, IDO Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,736

IDO	Negativ	Positiv	Gesamt
Negativ - Anzahl	39	5	44
Negativ - Prozentual	48,1%	23,8%	43,1%
Positiv - Anzahl	42	16	58
Positiv - Prozentual	51,9%	76,2%	56,9%
Gesamt - Anzahl	81	21	102
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 95: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, IDO Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,045

IDO	Negativ	Positiv	Gesamt
Negativ - Anzahl	16	3	19
Negativ - Prozentual	41,0%	30,0%	38,8%
Positiv - Anzahl	23	7	30
Positiv - Prozentual	59,0%	70,0%	61,2%
Gesamt - Anzahl	39	10	49
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 96: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, IDO Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,523

IDO	Negativ	Positiv	Gesamt
Negativ - Anzahl	23	2	25
Negativ - Prozentual	54,8%	18,2%	47,2%
Positiv - Anzahl	19	9	28

Positiv - Prozentual	45,2%	81,8%	52,8%
Gesamt - Anzahl	42	11	53
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 97: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, IDO Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,031

CD68	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	0	4	9	3	1	17
Negativ - Prozentual	0,0%	11,1%	23,7%	14,3%	50,0%	15,9%
Positiv - Anzahl	10	32	29	18	1	90
Positiv - Prozentual	100%	88,9%	76,3%	85,7%	50,0%	84,1%
Gesamt - Anzahl	10	36	38	21	2	107
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 98: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD68 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,198

CD68	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	0	3	2	2	1	8
Negativ - Prozentual	0,0%	17,6%	13,3%	22,2%	50,0%	17,0%
Positiv - Anzahl	4	14	13	7	1	39
Positiv - Prozentual	100%	82,4%	86,7%	77,8%	50,0%	83,0%
Gesamt - Anzahl	4	17	15	9	2	47
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 99: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD68 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,612

CD68	Mundhöhle	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	CUP	Gesamt
Negativ - Anzahl	0	1	7	1		9
Negativ - Prozentual	0,0%	5,3%	30,4%	8,3%		15,0%
Positiv - Anzahl	6	18	16	11		51
Positiv - Prozentual	100%	94,7%	69,6%	91,7%		85,0%

Gesamt - Anzahl	6	19	23	12		60
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%		100%

Tabelle 100: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD68 Expression vs. Tumorlokalisation, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,066

CD68	Tx	T1	T2	T3	T4a	T4b	Gesamt
Negativ - Anzahl	1	5	3	4	3	1	17
Negativ - Prozentual	50,0%	26,3%	9,4%	18,2%	9,7%	100%	15,9%
Positiv - Anzahl	1	14	29	18	28	0	90
Positiv - Prozentual	50,0%	73,7%	90,6%	81,8%	90,3%	0,0%	84,1%
Gesamt - Anzahl	2	19	32	22	31	1	107
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 101: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD68 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson:0,060

CD68	Tx	T1	T2	T3	T4a	T4b	Gesamt
Negativ - Anzahl	1	3	1	3	0		8
Negativ - Prozentual	50,0%	30,0%	10,0%	23,1%	0,0%		17,0%
Positiv - Anzahl	1	7	9	10	12		39
Positiv - Prozentual	50,0%	70,0%	90,0%	76,9%	100%		83,0%
Gesamt - Anzahl	2	10	10	13	12		47
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%		100%

Tabelle 102: Kreuztabelle nicht-metastiertes Kollektiv, CD68 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,208

CD68	Tx	T1	T2	T3	T4a	T4b	Gesamt
Negativ - Anzahl		2	2	1	3	1	9
Negativ - Prozentual		22,2%	9,1%	11,1%	15,8%	100%	15,0%
Positiv - Anzahl		7	20	8	16	0	51
Positiv - Prozentual		77,8%	90,9%	88,9%	84,2%	0,0%	85,0%
Gesamt - Anzahl		9	22	9	19	1	60

Gesamt - Prozentual		100%	100%	100%	100%	100%	100%
---------------------	--	------	------	------	------	------	------

Tabelle 103: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD68 Expression vs. T-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,150

CD68	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	Gesamt
Negativ - Anzahl	5	1	1	6	1	3	17
Negativ - Prozentual	20,0%	6,7%	25,0%	17,1%	4,5%	50,0%	15,9%
Positiv - Anzahl	20	14	3	29	21	2	90
Positiv - Prozentual	80,0%	93,3%	75,0%	82,9%	95,5%	50,0%	84,1%
Gesamt - Anzahl	25	15	4	35	22	6	107
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 104: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD68 Expression vs. N-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,113

CD68	M0	M1	Mx	Gesamt
Negativ - Anzahl	11	6	0	17
Negativ - Prozentual	12,6%	31,6%	0,0%	15,9%
Positiv - Anzahl	76	13	1	90
Positiv - Prozentual	87,4%	68,4%	100%	84,1%
Gesamt - Anzahl	87	19	1	107
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%

Tabelle 105: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD68 Expression vs. M-Stadium, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,112

CD68	G1	G2	G3	Keine Angaben	Gesamt
Negativ - Anzahl	1	6	10	0	17
Negativ - Prozentual	11,1%	14,3%	18,2%	0,0%	15,9%
Positiv - Anzahl	8	36	45	1	90
Positiv - Prozentual	88,9%	85,7%	81,8%	100%	84,1%
Gesamt - Anzahl	9	42	55	1	107
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 106: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD68 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,887

CD68	G1	G2	G3	Keine Angaben	Gesamt
Negativ - Anzahl	0	3	5		8
Negativ - Prozentual	0,0%	18,8%	18,5%		17,0%
Positiv - Anzahl	4	13	22		39
Positiv - Prozentual	100%	81,3%	81,5%		83,0%
Gesamt - Anzahl	4	16	27		47
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%		100%

Tabelle 107: Kreuztabelle nicht-metastasiertes Kollektiv, CD68 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,639

CD68	G1	G2	G3	Keine Angaben	Gesamt
Negativ - Anzahl	1	3	5	0	9
Negativ - Prozentual	20,0%	11,5%	17,9%	0,0%	15,0%
Positiv - Anzahl	4	23	23	1	51
Positiv - Prozentual	80,0%	88,5%	82,1%	100%	85,0%
Gesamt - Anzahl	5	26	28	1	60
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 108: Kreuztabelle metastasiertes Kollektiv, CD68 Expression vs. Grading, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,874

CD68	Negativ	Positiv	Gesamt
Negativ - Anzahl	13	3	16
Negativ - Prozentual	16,3%	14,3%	15,8%
Positiv - Anzahl	67	18	85
Positiv - Prozentual	83,8%	85,7%	84,2%
Gesamt - Anzahl	80	21	101
Gesamt - Prozentual	100%	100%	100%

Tabelle 109: Kreuztabelle gesamtes Kollektiv, CD68 Expression vs. HPV-Expression, Chi-Quadrat-Test nach Pearson: 0,826

11. Veröffentlichung

Immuno-Oncology 2018 World Congress des Ella Lemelbaum Institute for Immuno-Oncology, Sheba Medical Center, Israel, vom 25.06. bis 26.06.2018 in Wien, Österreich

“Evaluation of immunoactive and stem like cells in HNSCCs as possible therapy predictive marker”

D.Ganser, G.Piontek, A.Schaffelhofer, M.Rudelius, A.Pickhard, M.Buchberger

12. Danksagung

Mein größter Dank gilt zuallererst meiner Doktormutter Prof. Dr. med. Anja Pickhard für die hervorragende Betreuung, die Geduld, die konstante Herausforderung menschlich und intellektuell sowie die Möglichkeit diese Arbeit umzusetzen. Weiterer Dank gebührt Dr. med. Maria Buchberger, die mit ihrem offenen Ohr, ihrem Engagement und Ihrer Motivation diese Arbeit und darüber hinaus mich als Mensch beruflich und persönlich entscheidend geprägt hat.

Für die Möglichkeit zur Promotion und Interaktion mit dem Team des onkologischen Labors gilt mein Dank, dem verstorben Prof. Dr. med. Henning Bier, unter dem diese Arbeit begonnen wurde. Für die Möglichkeit zur Fertigstellung bedanke ich mich sehr herzlich bei Frau Prof. Dr. med. Barbara Wollenberg.

Für die pathologische Betreuung, ihre Geduld und Hilfestellung danke ich Frau PD Dr. med. Melanie Boxberg. Für die Expertise im Bereich der immunhistochemischen Färbungen danke ich Frau Prof. Dr. med. Martina Rudelius sehr herzlich.

Darüber hinaus möchte ich mich bei dem gesamten Team des onkologischen Labors für Rat, Tat und eine gute Zeit bedanken. Mein besonderer Dank geht dabei an Dr. med. Isabelle Koob, Andreas Schaffelhofer und Katherina Feigl.

Für ihre Unterstützung, Geduld und Ermutigung danke ich meinen Eltern Ulrike und Siegfried Ganser, meinem Bruder Matthias, und meinen lieben Kolleginnen Frau Dr. med. Senta Gewalt, Ekaterina Nedeoglo und Charlotte Lang.

Zu guter Letzt gilt mein Dank meinem geschätzten Kollegen und Lebenspartner, Niels Krysiak, für seine unermüdliche Bestärkung, Motivation und seinen Beistand. Danke Niels!