

DISSERTATION

Expression von RHAMM (CD168) und die Aktivität von
zytotoxischen CD8+ T-Zellen bei Patient:innen mit oralem
Plattenepithelkarzinom

Expression of RHAMM (CD168) and the Activity of Cytotoxic
CD8+ T cells in Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Anna Reds

Erstbetreuung: PD Dr. med. Dr. med. dent. Jan-Dirk Raguse

Datum der Promotion: 28.02.2025

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	3
Abbildungsverzeichnis	4
Tabellenverzeichnis.....	6
Abstract.....	7
1 Einleitung.....	9
1.1 Das orale Plattenepithelkarzinom	9
1.1.1 Epidemiologie.....	9
1.1.2 Ätiologie.....	11
1.1.3 Prämaligne Veränderungen der Mundschleimhaut.....	12
1.1.4 Symptomatik.....	13
1.1.5 Tumorklassifikation.....	14
1.1.6 Histopathologische Tumorgradierung.....	16
1.1.7 Therapie	17
1.2 Rezeptor für Hyaluronsäure-vermittelte Motilität	24
1.3 CD8+ T-Zellen.....	27
1.4 Zielsetzung.....	28
2 Material und Methoden	29
2.1 Ethikvotum	29
2.2 Studiendesign und Untersuchungsmaterial.....	29
2.3 Datenerhebung	30
2.4 Erfasste Daten	30
2.5 Mikroskopische Auswertung	31
2.6 TMA Herstellung und Immunhistochemie (IHC).....	32
2.7 Statistische Auswertung.....	34
3 Ergebnisse.....	36
3.1 Patient:innenkollektiv	36
3.2 CD168 und CD8+ T-Zellen.....	37
3.3 Operierte CD168-Tumor-Gruppe	38
3.3.1 Gesamtüberleben	43
3.3.2 Rezidivfreies Überleben	46
3.4 Operierte CD8-Tumor-Gruppe	50
3.4.1 Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Gruppe.....	51
3.4.2 Geschlechterverteilung.....	52
3.4.3 Klinisch-pathologische Daten	53
3.4.4 Gesamtüberleben	54

3.4.5 Rezidivfreies Überleben	55
4 Diskussion	57
4.1 Das orale Plattenepithelkarzinom	57
4.2 Aspekte der Studie sowie ihre Durchführung.	57
4.3 Expression von RHAMM	58
4.4 Aktivität von zytotoxischen CD8+ T-Zellen.....	61
4.5 Schlussfolgerung	64
5 Literaturverzeichnis	66
6 Eidesstattliche Versicherung	76
7 Lebenslauf	78
8 Danksagung.....	79

Abkürzungsverzeichnis

BRCA1	Brustkrebsgen 1
CD	Differenzierungsgruppe
CT	Computertomographie
DC	dendritische Zellen
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EGFR	epidermale Wachstumsfaktorrezeptor
ERK	Extrazellulär regulierende Kinase
FU	Fluorouracil
HPV	Humanes Papillomavirus
IHC	Immunhistochemie
LK	Lymphknoten
MAPK	Mitogen aktivierte Proteinkinase
MEK	MAPK-Kinase/ERK-Kinase
MHC	Hauptkompatibilitätskomplex
MRT	Magnetresonanztomographie
OP	Operation
OSCC	oral squamous cell carcinoma
p53	Tumorprotein p53
P	Phosphor
PD-1	Programmed Death Protein-1
PD-L1	Programmed Death Ligand-1
PDGFR	Plättchen-abgeleiteten Wachstumsfaktorrezeptor
pN	postoperatives Lymphknotenstadium
pRb	Retinoblastoma
pT	postoperatives Tumorstadium
RHAMM	Rezeptor für Hyaluronsäure-vermittelte Motilität
RT	Radiotherapie
Ras	Rat-sarcoma-Proteine
TAA	Tumor assoziiertes Antigen
TMA	Tissue Microarrays
TNM	Tumor, Nodulus, Metastase
TPX2	Mikrotubuli-assoziierte Proteinhomolog
UICC	Union International Contre le Cance

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Funktion von RHAMM bei der Karzinomproliferation (59).....	25
Abbildung 2: T-Zell Aktivierung durch Kontakt mit Dendritischen Zellen (56).....	27
Abbildung 3: Objektträger mit Orientierungshilfen zum Ablesen der TMAs.....	33
Abbildung 4: Aufteilung der Geschlechter der 558 evaluierten Patient:innen.....	36
Abbildung 5: Die Häufigkeitsverteilung der pT-Stadien.....	37
Abbildung 6: Geschlechterverteilung der positiven und negativen CD168-Tumor-Patient:innen.....	38
Abbildung 7: CD168-Verteilung der positiven und negativen CD168-Tumor-Patient:innen.....	39
Abbildung 8: Verteilung in Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Gruppe bei positiver und negativer CD168-Tumor-Gruppe.	40
Abbildung 9: UICC-Verteilung der positiven und negativen CD168-Tumor-Gruppen.	41
Abbildung 10: Analyse des Gesamtüberlebens innerhalb der Patient:innengruppen CD168 negativ und positiv.	44
Abbildung 11: Das Gesamtüberleben bei den CD168 negativen und positiven Patient:innen in der Niedrig- Risikogruppe.	45
Abbildung 12: Gesamtüberlebens bei den operierten und adjuvant bestrahlten CD168 negativen und positiven Patient:innen.	46
Abbildung 13: Analyse des rezidivfreies Überlebens bei den operierten CD168 negativen und positiven Patient:innen.	48
Abbildung 14: Analyse des rezidivfreies Überlebens bei den operierten CD168 negativen und positiven Patient:innen in der Niedrigrisikogruppe.	49

Abbildung 15: Analyse des rezidivfreies Überlebens bei den operierten und adjuvant bestrahlten CD168 negativen und positiven Patient:innen.	50
Abbildung 16: Verteilung der positiven und der negativen CD8-Tumor-Patient:innen.	51
Abbildung 17: Verteilung in Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Gruppe bei positiven und negativen CD8-Tumor- Patient:innen.	52
Abbildung 18: Geschlechterverteilung der positiven und negativen CD8-Tumor-Patient:innen.....	53
Abbildung 19: Das Gesamtüberleben von CD8-Tumor-positiven und -negativen Patient:innen.....	55
Abbildung 20: Das rezidivfreies Überleben von CD8-Tumor-positiven und -negativen Patient:innen.....	56

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Entartungsrisiko für die jeweiligen Vorläuferläsionen (12).	13
Tabelle 2: Tumorstadien für das orale Plattenepithelkarzinom (36).....	14
Tabelle 3: TNM-Klassifikation der 7. Ausgabe der UICC von 2010 (36).....	15
Tabelle 4: Differenzierungsgrad (36).....	17
Tabelle 5: Klassifikation des Residualtumors (36).....	19
Tabelle 6: Einteilung der zervikalen Lymphknoten nach Robbins (43).....	20
Tabelle 7: Klassifikation der Neck Dissection (43).....	21
Tabelle 8: Die erhöhte Expression von RHAMM in humanen Tumoreinheiten (59)..	26
Tabelle 9: Übersicht Einschlusskriterien / Ausschlusskriterien.	29
Tabelle 10: Erhobene Daten aus den Patient:innenakten.	31
Tabelle 11: Ermittelte histologische Befunde.....	32
Tabelle 12: Antikörper für Immunzytologie.	34
Tabelle 13: Aufteilungskriterien in Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Gruppe.....	39
Tabelle 14: Klinisch-pathologische Eigenschaften der positiven und der negativen CD168-Tumor-Gruppen.....	42
Tabelle 15: Startdatum für ein rezidivfreies Überleben.....	47
Tabelle 16: Ausschlusskriterien für die Rezidivanalyse.	47
Tabelle 17: Klinisch-pathologische Daten der operierten CD8-Tumor-Gruppe.....	53

Abstract

Das orale Plattenepithelkarzinom (oral squamous cell carcinoma; OSCC) gehört zu den häufigsten malignen Tumorerkrankungen in der Kopf-Hals-Region, wobei eine stetig steigende Inzidenz zu beobachten ist (1). Die Erkrankung weist trotz intensiver Forschung seit Dekaden eine weitgehend unveränderte 5-Jahres-Überlebensrate von ca. 50-60 % auf (2). Entscheidend für die klinischen Leitlinien bezüglich der Behandlung eines oralen Plattenepithelkarzinoms ist primär die TNM-Klassifizierung (3). Das TNM-Stadium wird in seiner Funktion als maßgeblicher Parameter heutzutage jedoch zunehmend hinterfragt, da es versäumt, Fälle von Patient:innen abzugrenzen, welche auch in einem vermeintlich frühen Stadium der Erkrankung einen aggressiveren Verlauf zeigen (3). Vielmehr wird es als entscheidend erachtet, dass bei Patient:innen mit oralem Plattenepithelkarzinom neben dem TNM-Stadium auch prognostische Biomarker Berücksichtigung finden, um gezielt multimodale Therapieansätze wählen zu können.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, auf der Basis demografischer Daten sowie histopathologischer Präparate von insgesamt 558 Patient:innen mit oralem Plattenepithelkarzinom erstmals den Einfluss des Rezeptors RHAMM (Rezeptor für Hyaluronsäure-vermittelte Motilität) und tumorinfiltrierender CD8+ T-Zellen auf das Outcome der Betroffenen zu untersuchen.

Es konnte gezeigt werden, dass eine erhöhte RHAMM-Aktivität einen statistisch signifikanten Einfluss auf die Überlebensrate von Patient:innen hat, die sich in einem frühen Stadium der Erkrankung befinden.

Gleichzeitig konnte kein signifikanter Einfluss tumorinfiltrierender CD8+ T-Zellen nachgewiesen werden, auch wenn dies in der aktuellen Literatur kontrovers diskutiert wird (4–6).

Für eine finale Entscheidung dahingehend, ob und wie CD8+ T-Zellen und der Rezeptor RHAMM sich als Biomarker bei OSCC eignen, reichen die in dieser Arbeit präsentierten Ergebnisse nicht aus. Dies erfordert zusätzliche Studien, welche auf die erarbeiteten Daten als Grundlage für weiterführende Untersuchungen zurückgreifen können.

Squamous cell carcinoma of the oral cavity (OSCC) is one of the most common malignant tumor diseases in head and neck region, with a continuously increasing incidence observed (1). Despite decades of intensive research, the disease maintains a largely unchanged 5-year survival rate of approximately 50-60 % (2). The TNM classification is crucial for clinical guidelines for the treatment of oral squamous cell carcinoma (3). However, the TNM stage is increasingly being questioned in its function as the decisive parameter, as it fails to differentiate cases of patients who exhibit a more aggressive course even in an ostensibly early stage of the disease (3). Instead, it is considered crucial that prognostic biomarkers be taken into account alongside the TNM stage in patients with OSCC, in order to choose targeted multimodal therapy approaches.

This study aimed to investigate, for the first time, the influence of the receptor RHAMM and tumor-infiltrating CD8+ T cells on the outcome of 558 patients with OSCC, based on demographic data and histopathological specimens.

It was demonstrated that increased RHAMM activity has a statistically significant impact on the survival rate of patients at an early stage of the disease.

At the same time, no significant influence of tumor-infiltrating CD8+ T-cells could be proven, although this is a subject of controversial discussion in current literature (4–6).

The results presented are not sufficient for a final decision on whether and how CD8+ T cells and the RHAMM receptor are suitable as biomarkers for OSCC. Additional studies are required, which can build upon the data obtained in this work as a basis for further investigations.

1 Einleitung

1.1 Das orale Plattenepithelkarzinom

Das orale Plattenepithelkarzinom zählt zu den häufigsten malignen Tumorerkrankungen in der Kopf-Hals-Region und seine Inzidenz steigt stetig (1). Die 5-Jahres-Überlebensrate liegt seit Jahren relativ unverändert um die 50-60 %, wobei Frauen eine tendenziell bessere Prognose haben (2). Die ersten Symptome treten häufig sehr spät in Erscheinung und bereits 60 % der Patient:innen weisen zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ein lokal fortgeschrittenes Stadium auf (7,8). Heute standardmäßig durchgeführte multimodale Therapieansätze können zwar leichte Verbesserungen in Hinsicht auf die Prognose verzeichnen, gehen jedoch mit diversen Langzeitfolgen einher. Infolgedessen sind viele Betroffene mit erheblichen persönlichen, sowie sozioökonomischen Auswirkungen konfrontiert (9). Zu den häufigsten Problemen zählen Schwierigkeiten mit der Aussprache, Atmung und Nahrungsaufnahme, ebenso wie eine psychologische Beeinträchtigung (10).

Plattenepithelkarzinome werden in verhornende und nicht verhornende Karzinome unterteilt, die entsprechend ihres Differenzierungsstadiums (sog. Grading) in Grad 1-3 untergliedert werden (8,11). Per definitionem durchbricht das invasive orale Plattenepithelkarzinom die Basalmembran und wächst lokal destruierend in die Umgebung. Der Einbruch in Lymphgefäße und Venen führt zu einer lymphogenen und hämatogenen Metastasierung des Karzinoms (8,12,13). Bei der lymphogenen Metastasierung werden bei Kopf-Hals-Karzinomen in 80 % der Fälle die regionären Lymphknoten befallen (12). Die hämatogen bedingten Metastasierungen treten primär in der Lunge auf, in selteneren Fällen sind auch Leber und Skelettsystem betroffen (8,12,13).

1.1.1 Epidemiologie

Die globale Entstehung maligner Tumoren steigt stetig an, da Alterung und Wachstum der Weltbevölkerung zunehmen und das Vorhandensein von Karzinom verursachenden Verhaltensweisen zu beobachten ist (1). Mit Blick auf die Entstehung

eines Tumors ist zudem festzustellen, dass eine Störung der DNA (Desoxyribonukleinsäure)-Reparaturmechanismen von großer Bedeutung ist (14).

Basierend auf den GLOBOCAN Schätzungen werden weltweit 19,3 Millionen Malignom-Fälle und 10,0 Millionen Tumortodesfälle im Jahr 2020 prognostiziert. Erwartet wird, dass 377.713 Menschen an oralen Plattenepithelkarzinomen (einschließlich Lippenkarzinom) erkranken und 177.757 sterben werden (1). Im Vergleich dazu werden jährlich in der Bundesrepublik Deutschland etwa 500.000 neue Malignome diagnostiziert (2,15). Im Jahr 2020 erkrankten an bösartigen Tumoren im Kopf-Hals-Bereich 9.140 Männer und 4.050 Frauen, wobei 3.955 Männer und 1.397 Frauen infolge der Erkrankung verstarben (15).

Die Verteilung des Vorkommens von Kopf-Hals-Tumoren variiert je nach Kultur und geographischer Region. Im Jahr 2020 lag die höchste Inzidenz der Patient:innen mit oralem Plattenepithelkarzinomen in der Welt in Melanesien (22,2 Fälle pro 100.000 bei Männern und 11,9 Fälle pro 100.000 bei Frauen), gefolgt von Südasien, Osteuropa, Australien/Neuseeland, Westeuropa und Südafrika (5,3 Fälle pro 100.000 bei Männern und 2,6 Fälle pro 100.000 bei Frauen) (1). Das Muster spiegelt die Prävalenz bekannter Risikofaktoren wie Tabak und Alkoholkonsum in Westeuropa, Südeuropa und Südafrika und das Kauen von Betelnuss in Südasien und Melanesien wider (1). Die Gesamttumor-Inzidenzraten sind in den Entwicklungsländern bei beiden Geschlechtern niedriger als in den Industrieländern, trotzdem verhalten sich die Gesamt-Karzinom-Sterblichkeitsraten im Allgemeinen ähnlich. In der Dritten Welt ist eine ubiquitär niedrige Überlebensrate zu verzeichnen, da eine Erstdiagnose in vielen Fällen in einem vorangeschrittenen Tumorstadium erfolgt und darüber hinaus ein begrenzter Zugang zu einer rechtzeitigen und standardisierten Behandlung gegeben ist (1). Neben den regionalen Unterschieden wird beobachtet, dass die Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereiches vorwiegend bei Patient:innen der Altersgruppe von 50 bis 59 Jahren auftreten und Männer doppelt so häufig wie Frauen erkranken (16).

1.1.2 Ätiologie

Das orale Plattenepithelkarzinom entwickelt sich infolge spontan auftretender DNA-Mutationen in den betroffenen Zellen (12). Ein erhöhtes Risiko dafür entsteht durch die Exposition gegenüber einer Reihe von chemischen oder physikalischen Mutagenen (12). Hauptrisikofaktor für das Auftreten von oralen Plattenepithelkarzinomen ist der chronische Tabakabusus (8,17,18). Weitere prädisponierende Faktoren, die zur Entstehung dieser Tumorerkrankung beitragen, schließen den Genuss von Alkoholprodukten, eine schlechte Mundhygiene und eine unausgewogene Ernährung ein (8,11,16). In der Forschung gibt es eine Diskussion darüber, inwiefern das Auftreten einzelner Viren (humane Papillomaviren Typ 16/18, Epstein-Barr-Virus) mit der Karzinogenese korreliert (10,19). Etwa 20 % der Kopf-Hals-Karzinomerkrankungen ist nicht auf die genannten Risikofaktoren zurückzuführen (11,20).

Tabak und Alkohol

Studien belegen, dass das Risiko, orale Plattenepithelkarzinome zu entwickeln, bei Konsumenten von Tabak- und Alkoholprodukten signifikant erhöht ist (8,21). Die Analyse dieser beiden Noxen liefert Beweise, dass gemeinsamer Alkohol- und Nikotingenuss den häufigsten synergistischen Effekt bei Patient:innen mit oralem Plattenepithelkarzinom darstellt (16). Im Vergleich zu Erkrankten, die keine Exposition gegenüber den genannten Stoffen aufweisen, ist das Entstehungsrisiko von oralen Plattenepithelkarzinomen bei Menschen, die rauchen oder trinken, drei- bis neunmal größer und dreißigmal größer bei denen, die den beiden Noxen gleichzeitig ausgesetzt sind (8,11). Alkohol alleine führt nur in einem kleinen Umfang zur Entstehung oraler Plattenepithelkarzinome (11,16,22). Die zahlreichen im Tabak- und Zigarettenrauch enthaltenen chemischen Substanzen (u. a. Benzopyrene, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, Formaldehyde und tabakspezifische Nitrosamine) verfügen über karzinogene Eigenschaften (23,24). Im Vergleich dazu wurden die genauen Mechanismen, über die Alkohol eine karzinogene Transformation und bösartige Progression von Epithelzellen induziert, bislang noch nicht abschließend geklärt (22,24). Es ist aber bekannt, dass die Metabolisierung von Ethanol zu Acetaldehyd in

der Mundschleimhaut einen wichtigen Einfluss auf die Karzinogenese hat (11,24). Alkoholkonsum erhöht auch die Permeabilität der Mundschleimhaut für karzinogene Noxen, die im Zigarettenrauch enthalten sind (25). Des Weiteren wird die alkoholbedingte T-Zell-Suppression als wesentlicher Ko-Faktor für die Entstehung orale Plattenepithelkarzinome betrachtet (26,27).

Humane Papillomaviren

Seit mehreren Jahren gibt es ein zunehmendes Bewusstsein für den Zusammenhang zwischen Tumorentstehung und HPV (Humanes Papillomavirus)-Infektionen (28). Die humanen Papillomaviren vom High-Risk-Typ 16, welche bei den Kopf-Hals-Tumoren am häufigsten nachweisbar sind und 18 wurden als Karzinogene für den Menschen beschrieben (19,29). HPV-assoziierte Kopf-Hals-Tumore entstehen vorwiegend im Oropharynx (30,31). Während einer HPV-Infektion interagieren die viralen Onkogene E6 und E7 mit den zellulären Tumorsuppressorproteinen p53 (p53-Protein) und pRb (Retinoblastoma-Protein), welche eine wichtige Rolle in der Apoptose über die Regulation des Zellzyklus und der DNA-Reparatur spielen (29). Das Vorhandensein von HPV im Karzinom korreliert mit geringer Aufnahme von Tabak und Alkohol. Es gibt Hinweise darauf, dass bei der HPV-Krankheitsübertragung Sexualpraktiken eine Rolle spielen, die oral ausgeführt werden (28). Darüber hinaus kann eine Ansteckung auch auf andere Weise erfolgen, wie z.B. die Übertragung von Mutter zu Kind, entweder in der Schwangerschaft oder während der Geburt (28). Aus der Mehrzahl der Studien geht hervor, dass es sich beim HPV um einen unabhängigen Faktor zur Prognose von Kopf-Hals-Tumoren handelt, nicht jedoch in Bezug auf das orale Plattenepithelkarzinom (28,32).

1.1.3 Prämaligne Veränderungen der Mundschleimhaut

Der Entstehung eines oralen Plattenepithelkarzinoms gehen in 11-67 % erkennbare und langfristig bestehende Veränderungen der Mundhöhle voraus (25). Zu den wichtigsten Vorläuferläsionen der Mundschleimhaut gehören die Erythroplakie und

Leukoplakie. Die Erythroplakie wird als eine rote Veränderung der Mundschleimhaut definiert, die klinisch als keine andere definierbare Krankheit charakterisiert werden kann (33). Diese Vorläuferläsion tritt vorwiegend im mittleren und älteren Alter auf, wobei keine Geschlechterpräferenz vorliegt. Jede Stelle der oralen und oropharyngealen Kavität kann betroffen sein (34). Eine Erythroplakie weist eine hohe Rate bösartiger Transformationen auf (Tabelle 1).

Die häufigste präkanzeröse Läsion, aus der sich das orale Plattenepithelkarzinom entwickelt, ist die orale Leukoplakie, welche in eine homogene und inhomogene Leukoplakie unterteilt werden kann (35). Diese Erkrankung wird durch eine weiße oder überwiegend weiße, nicht abwischbare Veränderung der Mundschleimhaut beschrieben, die klinisch als keine andere definierbare Schleimhautveränderung diagnostizierbar ist (18,34,35).

Tabelle 1: Entartungsrisiko für die jeweiligen Vorläuferläsionen (12).

Entartungsrisiko	Vorläuferläsionen orale Plattenepithelkarzinome
Sehr hoch (85 %+)	Erythroplakie
Hoch (30 %+)	Inhomogene Leukoplakie Proliferative verruköse Leukoplakie Chronische Candida albicans infizierte Leukoplakie
Niedrig (<5 %)	Homogene Leukoplakie Lichen planus Diskoide Lupus erythematoses

Anmerkung Tabelle 1: Die Entartungsrisiko ist nach Vorläuferläsionen oraler Plattenepithelkarzinome aufgeschlüsselt.

1.1.4 Symptomatik

Das orale Plattenepithelkarzinom ist zu Beginn vorwiegend asymptomatisch, wodurch die Erstdiagnose häufig ein Zufallsbefund ist und die Erkrankung meistens erst im fortgeschrittenen Krankheitsstadium diagnostiziert wird (8,18). Je nach Lokalisation des Karzinoms können die Patient:innen die ersten Symptome als Raumforderung und/oder atypische und diffuse Schmerzen beschreiben (8). Im fortgeschrittenen

Stadium kommt es in Abhängigkeit von der Lage des Malignoms zu Zahnlockerungen, Schwellungen, Schluckbeschwerden, kloßiger Sprache, reduzierter Beweglichkeit und Taubheit der Zunge, Taubheit der Lippen, Fremdkörpergefühl, Sprechstörungen, Blutungen unbekannter Herkunft und Mundgeruch (8). Einzelne Erkrankte weisen eine B-Symptomatik (gleichzeitige Auftreten von Fieber, Nachtschweiß und Gewichtsabnahme) auf (8).

1.1.5 Tumorklassifikation

Das TNM-System ist in der klinischen Praxis von großer Bedeutung. Es dient der Erstellung von Therapieplänen und verschafft Hinweise auf das Überleben von Patient:innen. Kriterien für die Klassifizierung waren die Tumorgöße (T-Stadium), die Betroffenheit der regionalen Lymphknoten (N-Stadium) und die Existenz von Fernmetastasen (M-Stadium). Anhand dieser Klassifikation wird das Tumorstadium bestimmt (Tabelle 2) (36). Zwischen den einzelnen Individuen bestehen erhebliche Unterschiede. Deshalb können die Patient:innen mit dem gleichen TNM-Stadium unterschiedlich auf die Behandlung reagieren. Letztendlich ist der klinische Erfolg ausschließlich personenbezogen (11).

Tabelle 2: Tumorstadien für das orale Plattenepithelkarzinom (36).

Tumorstadium	Primärtumor	Regionäre Lymphknoten (LK)	Fernmetastasen
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 IVA	T1, T2, T3	N2	M0
	T4a	N0, N1, N2	M0

Stadium IVB	jedes T T4b	N3 jedes N	M0 M0
Stadium IVC	jedes T	jedes N	M1

Anmerkung Tabelle 2: Präsentiert sind die Tumorstadien des oralen Plattenepithelkarzinoms gemäß der 7. Ausgabe der UICC von 2010.

In dieser Arbeit wurde die Klassifikation der 7. Ausgabe der UICC von 2010 für ein orales Plattenepithelkarzinom verwendet (Tabelle 3) (36). Im Jahr 2017 ist eine neue Auflage der TNM-Klassifikation veröffentlicht worden. In der 8. Ausgabe wird neben der Tumorgröße (bei den Stadien pT1-3) auch die Invasionsstiefe angegeben und bei der Lymphknoteninfiltration (pN-Stadium) wird zusätzlich zu den Kriterien der 7. Ausgabe die extranodale Tumorausbreitung begutachtet (37).

Tabelle 3: TNM-Klassifikation der 7. Ausgabe der UICC von 2010 (36).

T-Primärtumor:	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in Situ
T1	Tumor ≤ 2 cm in der größten Ausdehnung
T2	Tumor > als 2 cm aber ≤ 4 cm in der größten Ausdehnung
T3	Tumor > 4 cm in größter Ausdehnung
T4	Tumor infiltriert Nachbarstrukturen
T4 _A (Lippe)	Tumor infiltriert Korticalis, N. alv. inferior, Mundboden oder Haut (Kinn oder Nase)
T4 _A (Mundhöhle)	Tumorinvasion in benachbarte Strukturen: Korticalis, äußere Zungenmuskulatur, Sinus maxillaris oder Gesichtshaut

T4B (Lippe und Mundhöhle)	Tumorinvasion in benachbarte Strukturen: Spatium masticatorium, Proc. pterygoideus, Schädelbasis oder umschließt A. carotis interna
N- Regionäre Lymphknoten:	
NX	Regionäre Lymphknoten sind nicht beurteilbar
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastase in einem solitären, ipsilateralen LK ≤ 3 cm in größter Ausdehnung
N2a	Metastase in einem solitären, ipsilateralen LK > 3 cm ≤ 6 cm in der größten Ausdehnung
N2b	Metastase in multiplen, ipsilateralen LK ≤ 6 cm in der größten Ausdehnung
N2c	Metastase in bi- oder kontralateralen LK ≤ 6 cm in der größten Ausdehnung
N3	Metastasen in Lymphknoten > 6 cm in der größten Ausdehnung
M- Fernmetastasen:	
MX	Das Vorliegen von Fernmetastasen ist nicht beurteilbar
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen in z.B. Lunge und Leber

Anmerkung Tabelle 3: Dargestellt ist die Stadieneinteilung für OSCC nach der UICC, aus: Wittekind, C TNM-Klassifikation maligner Tumore, 7.Auflage.

1.1.6 Histopathologische Tumorgradierung

Unter Tumorgradierung versteht man die histologische Beurteilung des Differenzierungsgrades der Tumorzellen (11). Die Abweichung des Karzinomgewebes vom Ausgangsgewebe wird in drei Abstufungen differenziert (Tabelle 4) (36).

Tabelle 4: Differenzierungsgrad (36).

Tumorgradierung	
G1	gut differenziert (weniger bösartig)
G2	mäßig differenziert
G3	schlecht differenziert

Anmerkung Tabelle 4: Die Differenzierungsgrade für OSCC gemäß der 7. Ausgabe der UICC von 2010 sind aufgeführt.

Gut differenzierte Tumore besitzen eine histologische Ähnlichkeit mit dem Ursprungsgewebe. Im Gegensatz dazu weisen die schlecht differenzierten Karzinome keine oder nur wenige histologische Merkmale der gesunden Gewebe auf (11).

1.1.7 Therapie

Bei der Auswahl der Therapiemodalität wird das tumorfreie Überleben von Patient:innen unter Erhalt oder Wiederherstellung der Funktionen angestrebt (38). Um dies zu erreichen, stehen Therapieansätze der Chirurgie, Strahlentherapie, Systemtherapie, sowie multimodale Behandlungskonzepte und letztlich auch primäre und sekundäre Präventionsstrategien, einschließlich Lebensstiländerungen, zur Verfügung (39). Die Behandlungsmöglichkeiten werden an zertifizierten Kopf-Hals-Zentren durch ein interdisziplinäres Team im Rahmen einer Tumorkonferenz (Tumorboard) diskutiert. Bei der Besprechung sind Chirurgen aus der Abteilung für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, sowie der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Strahlentherapeuten, Pathologen, Onkologen und Radiologen anwesend (8,40). Die interdisziplinäre Planung und Durchführung der Therapie basieren auf dem individuellen Befund (Alter, Allgemeinzustand, Nebendiagnosen), den tumorimmanenten Faktoren (Lokalisation, Größe, Knochennähe und Tiefe der Infiltration, Vorhandensein von Metastasen) und den persönlichen Wünschen des Patient:innen (8,39).

Innerhalb der ersten zwei bis drei Jahren nach der Therapie entstehen die meisten Rezidive, wovon ca. 20 % der Patient:innen betroffen sind (8). Demzufolge ist die

regelmäßige Nachsorge in den ersten fünf Jahren nach der Behandlung zwingend erforderlich. Die Wiedervorstellung betrifft auch symptomfreie Patient:innen, wobei das Intervall in den ersten zwei Jahren auf alle drei Monate und in den letzten drei Jahren auf alle sechs Monate entsprechend der Leitlinie festgesetzt wird (8). Für jeden einzelnen Erkrankten wird ein individueller Plan erstellt, in dem eine klinische Untersuchung, eine ausführliche Anamnese und ein bildgebendes Verfahren (Computertomographie; CT oder Magnetresonanztomographie; MRT, Röntgen-Thorax oder CT-Thorax, Ultraschalldiagnostik) inbegriffen sind. Nach einer fünfjährigen Tumorfreiheit, empfiehlt es sich, die standardmäßigen Früherkennungsmaßnahmen anzuwenden (8).

Chirurgie

Für die meisten Patient:innen stellt die chirurgische Behandlung das Therapieverfahren der Wahl dar. Dieses beinhaltet neben der Resektion des Primarius, eine Ausräumung lokoregionärer Hals-Lymphknoten (sog. Neck-Dissection), sowie rekonstruktive Maßnahmen zur funktionellen und ästhetischen Rehabilitation (8,39). Kleine und oberflächliche Primärtumore der Mundhöhle (Stadium I und II) werden durch die alleinige Operation erfolgreich behandelt. Bei der Entfernung des Primärtumors wird ein sicherer Resektionsrand von mindestens 5 mm angestrebt (8). Die Resektionsgrenzen werden intraoperativ durch einen Schnellschnitt begutachtet und danach in einer definitiven histopathologischen Beurteilung festgelegt. Das Vorhandensein von Residualtumoren nach der chirurgischen Therapie wird mit der R-Klassifikation beschrieben (41) (Tabelle 5). Wenn eine R0-Resektion bei der primären Operation nicht eingehalten wird, ist eine Nachresektion, sofern möglich, nötig (8). Die rekonstruktive Therapie wird in Betracht gezogen, wenn funktionale oder ästhetische Defekte in der Mundhöhle nach der Tumorentfernung entstanden sind (39). So wäre der Verlust eines bedeutenden Teils der Zunge, des Mundbodens, der bukkalen Schleimhaut oder eines Segments des Unterkiefers Indikatoren für die rekonstruktive Chirurgie (39). Diese chirurgischen Maßnahmen beinhalten freie Hauttransplantate, gestielte Fernlappen, freie Knochentransplantate und die mikrochirurgische Transplantation von Gewebe. Oberflächliche chirurgische Defekte werden mit Hauttransplantaten adäquat rekonstruiert (39). Nach der Resektion von großen, in der

Tiefe wachsenden Tumoren kommt dagegen eine aufwendige plastische Deckung zum Einsatz (8,39).

Tabelle 5: Klassifikation des Residualtumors (36).

R- Residualtumor:	
RX	Das Vorliegen von Residualtumoren ist nicht beurteilbar
R0	Kein Residualtumor
R1	Mikroskopischer Residualtumor
R2	Makroskopischer Residualtumor

Anmerkung Tabelle 5: Dargestellt ist die Klassifikation des Residualtumors für OSCC gemäß der 7. Ausgabe der UICC von 2010.

Größere Malignome (ab dem Stadium III) erfordern zusätzlich zu einer umfangreicheren chirurgischen Resektion, soweit sie sinnvoll ist, eine unterstützende, sogenannte adjuvante Therapie (42). Bei allen Patient:innen erfolgt nach der chirurgischen Intervention eine erneute Vorstellung im Tumorboard. In Anhängigkeit von bestimmten Faktoren, wie z.B. dem Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen und einem knappen Resektionsrand (histopathologischer Sicherheitsabstand unter 5 mm) kann eine weiterführende Therapie im Sinne einer adjuvanten Radiochemotherapie erfolgen (8,39). Bei Patient:innen mit begrenzter Lebenserwartung, kann eine palliative chirurgische Intervention zur Anwendung kommen. Dies kann in ausgewählten Fällen zur Lebensqualitätsverbesserung der Patient:innen führen, indem ggf. die Kau-, Sprech- und Schluckfunktionen erhalten werden können.

Neck-Dissection

Als Neck-Dissection wird eine Ausräumung von Lymphknoten des Halses bezeichnet, die bei der Therapie von oralen Malignomen angewendet wird (43). Erstmals beschrieben wurde diese Methode 1888 von Franciszek Jawdynski, welcher aus Warschau stammte (44). 18 Jahre später hat die Veröffentlichung von George Washington Crile, in der er 132 Fälle der Neck-Dissection dargestellt hat, den Durchbruch gebracht (45).

Seit dieser Publikation sind viele Änderungen und Modifikationen des Verfahrens beschrieben (43). Bei der gängigen Klassifikation nach Robbins werden zervikale Lymphknoten in verschiedene Level unterteilt (Tabelle 6) (43).

Tabelle 6: Einteilung der zervikalen Lymphknoten nach Robbins (43).

Level	Lymphknotengruppe
Sublevel IA	submentale Lymphknoten
Sublevel IB	submandibuläre Lymphknoten
Sublevel IIA	obere juguläre Lymphknoten
Sublevel IIB	obere juguläre Lymphknoten
Level III	mittlere juguläre Lymphknoten
Level IV	kaudojuguläre Lymphknoten
Level V	posteriores Halsdreieck
Level VI	anteriore Lymphknoten

Anmerkung Tabelle 6: Dargestellt ist die Einteilung der zervikalen Lymphknoten nach Robbins in Sublevel und Level.

Das Ausmaß der Neck-Dissection (Tabelle 7) hängt im Wesentlichen von der Tumorausdehnung, der Lokalisation des Primärtumors und dem klinischen Lymphknotenstatus ab (43). Bei der Therapiewahl muss beachtet werden, dass auch wenn bei der Diagnostik kein Anhalt für lokoregionäre Lymphknotenmetastasen vorliegt, histologisch in ca. 30 % der Fälle okkulte Metastasen festgestellt werden (47).

Laut der neuesten Leitlinie von 2021 wird bei Patient:innen mit unauffälligem Lymphknotenstatus (cN0) eine elektive (prophylaktische) Halslymphknotenausräumung empfohlen (8). Bei oralen Plattenepithelkarzinomen befinden sich in den Leveln I, II und III Lymphknoten mit dem größten Metastasenrisiko (43). Zusätzlich kann bei den Zungenkarzinomen die Ausräumung der Lymphknoten in den Leveln IV und IIB erwogen werden (8). Bei oralen Plattenepithelkarzinomen kann ein Verzicht auf Ausräumung von Level IIB in Betracht gezogen werden (8).

Tabelle 7: Klassifikation der Neck Dissection (43).

Neck-Dissection Typ	Vorgehen
Radikal	Ausräumung der Level I-V zusammen mit Resektion des N. accessorius, der V. jugularis interna und des M. sternocleidomastoideus
Modifiziert-radikal	Ausräumung der Level I-V unter Erhalt einer oder mehrerer nicht-lymphatischer Strukturen
Selektiv	Der Erhalt von mindestens einer Lymphknotengruppe, die bei dem radikalen Vorgehen ausgeräumt werden
Erweitert	Ausräumung oder Entfernung zusätzlicher Lymphknotengruppen oder nicht-lymphatischer Strukturen

Anmerkung Tabelle 7: Dargestellt ist Klassifikation der Neck Dissection nach Robbins.

Radiatio

Neben der Chirurgie besitzt auch die Radiotherapie einen wichtigen Stellenwert in der Behandlung von oralen Plattenepithelkarzinomen (48). Dabei wird ionisierende Strahlung eingesetzt (8,39). Eine adjuvante Strahlentherapie ist ein fester Bestandteil der Behandlung von fortgeschrittenen oralen Plattenepithelkarzinomen (39,49). Dadurch können die verbliebenen Primärtumorzellen und Lymphknotenmetastasen zerstört werden. Patient:innen mit fortgeschrittenen oralen Plattenepithelkarzinomen

(T3, T4) weisen nach alleiniger Strahlentherapie eine erhöhte Rezidivrate auf (8). Deswegen wird bei den Betroffenen eine Kombination aus Chirurgie und Radiochemotherapie bevorzugt (8). Eine definitive Bestrahlung (+/- Chemotherapie) kann mit kurativer Intention in frühen und intermediären Stadien des oralen Plattenepithelkarzinoms verabreicht werden. Mit palliativer Intention wird eine definitive Bestrahlung (+/- Chemotherapie) vorgenommen, wenn eine chirurgische Behandlung wegen der Tumorgröße oder des schlechten Allgemeinzustandes des Patient:innen nicht mehr geplant oder möglich ist (8).

Die Strahlentherapie kann mit einer Vielzahl von Nebenwirkungen einhergehen. Dazu zählen unter anderem Mukositis, Xerostomie, Dysphagie, Strahlenkaries und die Osteoradionekrose (50).

Chemotherapie

Die alleinige Chemotherapie stellt in der Behandlung orale Plattenepithelkarzinome keine kurative Therapiemodalität dar (8). Diese lebensverlängernde, palliative Maßnahme wird bei rezidivierenden oder metastasierten oralen Plattenepithelkarzinomen eingesetzt, die einer lokalen Therapie (Operation; OP, Radiotherapie; RT) nicht mehr zugänglich sind (8,51). Die Kombination aus Chemo- und Strahlentherapie soll der alleinigen Radiotherapie bei Patient:innen mit fortgeschrittenem, nicht sinnvoll operablem und nicht fernmetastasiertem oralen Plattenepithelkarzinomen vorgezogen werden (8). Als wirksame Zytostatika haben sich Cisplatin, Carboplatin, Methotrexat, 5-Fluorouracil (FU), Vincaalcaloide, Ifosfamid und Taxane erwiesen. Als heutiger Standard gilt die Kombination aus Cisplatin, 5-FU und Cetuximab (EXTREME-Schema) (52). Bei schlechter Toleranz von Cisplatin wird auf Carboplatin zurückgegriffen, welches ein günstigeres Toxizitätsprofil besitzt, aber über ein kleineres Anwendungsspektrum verfügt (8,51–53).

Bei oralen Plattenepithelkarzinomen werden häufig die epithelialen Wachstumsfaktorrezeptoren vermehrt produziert (52). Das führt zu der Hyperproliferation der Karzinomzellen. Durch die Zugabe des monoklonalen Antikörpers Cetuximab, der ein Inhibitor des epithelialen Wachstumsfaktorrezeptors

ist, kann das Wachstum des oralen Plattenepithelkarzinoms gehemmt werden. (51,54,55). Die Ergänzung der Chemotherapie mit Cetuximab hat einen signifikanten Gesamtüberlebensvorteil erzielt (52). Bei der Anwendung von Cetuximab muss beachtet werden, dass bei den Patient:innen eine Sepsis und schwere Hautauschlag auftreten können (52).

Immuntherapie

Es ist bekannt, dass das Immunsystem grundsätzlich in der Lage ist Karzinomzellen zu identifizieren und zu eliminieren. Um der Immunabwehr zu entkommen entwickeln Tumorzellen vielfältige Ausweichstrategien, unter anderem die Blockade inhibitorischen Immun-Checkpoints die sich auf T-Zellen befinden (56). Diese Kontrollpunkte regulieren normalerweise die Immunantwort, indem eine Überreaktion des Immunsystem z.B. nach Bekämpfung eines Fremdartigen oder Autoimmunreaktionen vermeiden werden (56).

Um die Verbesserung des Langzeitüberlebens und der Prognose beim Patient:innen mit oralem Plattenepithelkarzinom im fortgeschrittenen Stadium zu erzielen, werden neue Therapiemodalitäten benötigt (55,56). Im Mittelpunkt der Forschung stehen immuntherapeutische Ansätze. Bei der Immuntherapie werden monoklonale Antikörper (Immune Checkpoint-Inhibitoren) eingesetzt, um die Verbindung zwischen den Checkpoint-Liganden auf den Tumorzellen (PD-1L und PD-2L) und den inhibitorischen Rezeptoren (Immune Checkpoint-Rezeptoren wie PD-1) auf den T-Zellen zu unterbrechen (56). Auf diese Weise wird die zytotoxische Aktivität von T-Zellen wieder hochreguliert, sodass Tumorzellen via Antigenerkennung angegriffen und vernichtet werden können (57).

In der Leitlinienaktualisierung von 2021 zum oralen Plattenepithelkarzinomen (8) wird die Immuntherapie bei unheilbar kranken Patient:innen im fortgeschrittenen Stadium, aber mit gutem Allgemeinzustand empfohlen. Diese palliative Behandlung wird mit monoklonalen Antikörpern (z.B. Pembrolizumab) die gegen PD-1-Rezeptor gerichtet sind, bei Patient:innen mit PD-L1-exprimierenden Tumorzellen, verwendet. Immuntherapie kann als Monotherapie oder in Verbindung mit einer Chemotherapie

verabreicht werden (8). Die Nebenwirkungen beruhen auf eine Überaktivierung des Immunsystems und können klassischen Autoimmunerkrankungen ähneln (57).

1.2 Rezeptor für Hyaluronsäure-vermittelte Motilität

Die Erforschung relevanter Zielstrukturen im Karzinomgewebe besitzt aktuell einen hohen Stellenwert. Funktions- und Expressionsanalysen spezifischer Tumormarker sind essentiell für Diagnostik, Therapie und Prognose. Ein wichtiges Beispiel stellt der Rezeptor RHAMM/CD168 dar, welcher für die Hyaluronsäure-vermittelte Motilität verantwortlich ist. CD168 ist ein Hyaluronsäure-bindendes Protein, das extrazellulär und intrazellulär (Zytoplasma und Zellkern) lokalisiert ist (58). Je nach Lokalisation weist RHAMM verschiedene Funktionen auf (58). An der Zelloberfläche vermittelt CD168 die Zellmotilität und das Zellwachstum, während es innerhalb der Zelle an der Organisation des Zytoskelettnetzes beteiligt ist. Lokalisiert auf dem Kern reguliert er die Zellzyklusprogression (58,59). Humane Tumoreinheiten und im Teilungsprozess befindliche Zellen weisen eine erhöhte Expressionsrate der RHAMM auf (60). Zur Verringerung der CD168-Expression trägt der Tumorsuppressor p53 bei, der an dem ersten Exon und Intron von RHAMM-Gen bindet (61). Das Protein p53 stoppt den Zellzyklus, um Reparaturen an DNA zu ermöglichen und bei irreparablen DNA-Schäden die Apoptose auszulösen (62).

Eine wichtige Rolle weist RHAMM bei der Karzinomproliferation auf (Abbildung 1) (59). Dabei bindet das extrazellulär lokalisierte RHAMM an Hyaluronsäure und interagiert mit CD44 (Hyaluronsäure Rezeptor) oder einem Wachstumsfaktorrezeptor, wie z.B. mit dem Plättchen-abgeleiteten Wachstumsfaktorrezeptor (PDGFR, Platelet-Derived Growth Factor Receptor) oder dem epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor (EGFR, Epidermal Growth Factor Receptor) (63). Das führt zur Aktivierung der Ras (Rat-sarcoma-Proteine)-Signaltransduktionskaskade, wobei intrazelluläres RHAMM mit der ERK (Extrazellulär regulierende Kinase)-1,2 Kinase interagiert (64). Die dadurch in Gange gesetzte Ras-Signaltransduktionskaskade leitet die extrazelluläre Signale an den Zellkern, um einen zellulären Effekt auszulösen (65). Im Nukleus beeinflusst RHAMM die Spindelintegrität durch die Interaktion mit dem Mikrotubuli-assoziierten Proteinhomolog TPX2, was wiederum zu einer Zellzyklusanomalie führen kann (59).

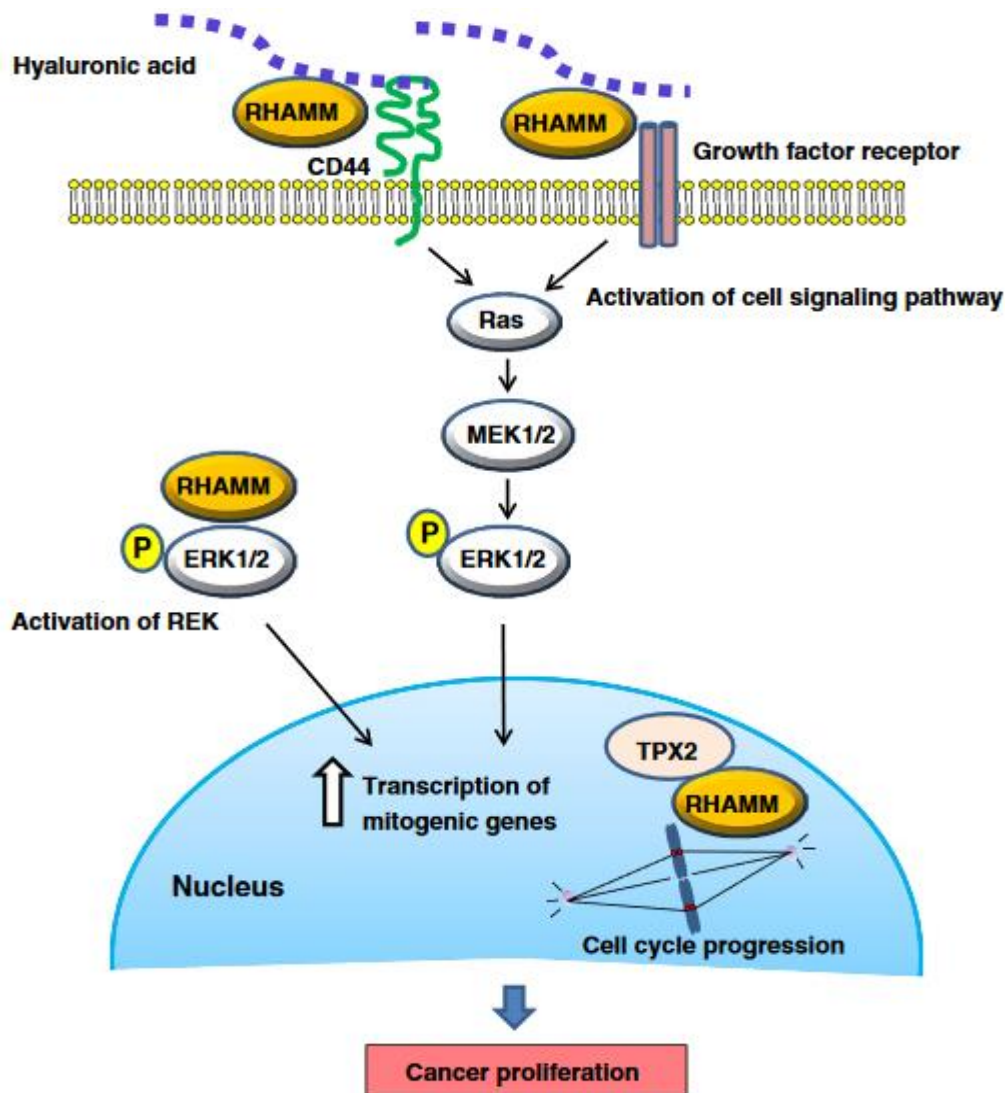


Abbildung 1: Funktion von RHAMM bei der Karzinomproliferation (59).

Legende Abbildung 1: Activation of; Aktivierung von, Hyaluronic acid; Hyaluronsäure, Growth factor receptor; Wachstumsfaktor-Rezeptor, Activation of cell signaling pathway; Aktivierung des Zellsignalwegs, Nucleus; Kern, Cell cycle progression; Verlauf des Zellzyklus, Transcription of mitogenic genes; Transkription mitogener Gene, Cancer proliferation; Karzinomproliferation, Ras; Rat-sarcoma-Proteine, MEK; MAPK-Kinase/ERK-Kinase, ERK; Extrazellulär regulierende Kinase, TPX2; Mikrotubuli-assoziierte Protein homolog, P; Phosphor

Anmerkung Abbildung 1: Es werden die Funktionen von extrazellulärem, intrazellulärem und nukleärem RHAMM bei der Karzinomproliferation dargestellt.

In verschiedensten humanen Tumoreinheiten wird RHAMM hochreguliert und seine Expression in Brust-, Darm-, Magen-, Nieren-, Harnblasen- und Endometriumkarzinomen (Tabelle 8) mit der Proliferation von Tumorzellen, Tumorprogression, Metastasierung und der schlechten Prognose assoziiert (59,66). Bei der chronischen lymphatischen Leukämie ist RHAMM nicht nur ein signifikanter

prognostischer Faktor, sondern auch ein vielversprechendes Ziel für die Immuntherapie (67). Orale Plattenepithelkarzinome korrelieren mit einer erhöhten Anzahl von RHAMM-Zellen, mit dem TNM-Stadium und dem Tumorgrad (9,68). Die verstärkte Expression von RHAMM ist mit einer hohen Proliferation von Tumorzellen, mit einer niedrigen Überlebensrate und einer Tumoraggressivität assoziiert, und kann bei oralen Plattenepithelkarzinomen in fortgeschrittenen Stadien (III und IV) beobachtet werden (9,59). Die Bestimmung des Expressionsmusters der RHAMM kann bei Patient:innen mit oralem Plattenepithelkarzinom als prognostischer Faktor eingesetzt werden (68).

Tabelle 8: Die erhöhte Expression von RHAMM in humanen Tumoreinheiten (59).

Tumorart	Erhöhte Expressionsrate von RHAMM korreliert mit:
Kopf-Hals-Tumor	<ul style="list-style-type: none"> • dem TNM-Stadium bei den oralen Plattenepithelkarzinomen • der TPX2 Expression in Speicheldrüsenkarzinomen • einer niedrigen Überlebensrate
Brustkarzinom	<ul style="list-style-type: none"> • der Ras-/ERK-Expression • einer schlechten Prognose • der BRCA1 (Brustkrebsgen) -Mutation
Magenkarzinom	<ul style="list-style-type: none"> • der Tumoraggressivität • Vorhandensein von Metastasen • der Tumorprogression
Kolorektales Karzinom, Kolonkarzinom	<ul style="list-style-type: none"> • einer niedrigen Überlebensrate • Vorhandensein von Metastasen
Nierenkarzinom	<ul style="list-style-type: none"> • einer niedrigen Überlebensrate • Vorhandensein von Metastasen
Harnblasenkarzinom	<ul style="list-style-type: none"> • einer niedrigen Überlebensrate • der Tumoraggressivität
Endometriumkarzinom	<ul style="list-style-type: none"> • dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen

Anmerkung Tabelle 8: Dargestellt ist die Korrelation zwischen der erhöhten Expressionsrate von RHAMM und unterschiedlichen Tumorarten.

1.3 CD8+ T-Zellen

Die zytotoxischen CD8+ T-Zellen gehören zu einer Untergruppe der T-Lymphozyten, die ein wichtiger Bestandteil des erworbenen Immunsystems sind. Die im Knochenmark gebildeten T-Zellen reifen im Thymus aus (69). Ihre zentrale Funktion besteht in der Lyse von infizierten und entarteten Körperzellen (70). Dies wird mit der Hilfe des T-Zell-Rezeptors (TCR), der an ihrer Oberfläche exprimiert ist, ermöglicht. Der TCR besitzt eine sehr große Spezifität und erkennt nur ein Zielzellen-typisches Antigen (56). Die Abtötung der Zielzelle kann auf zwei Wegen erfolgen. Entweder werden zytotoxische Granula freigesetzt oder es wird eine Apoptose ausgelöst (70). Karzinomzellen produzieren tumorassoziierte Antigene (TAA), deren Expression während der malignen Transformation entsteht. TAA werden an der Oberfläche von Tumorzellen, den professionellen Antigen präsentierenden Zellen (insbesondere dendritischen Zellen, DC) präsentiert (56,71). Die CD8+ T-Zell-Aktivierung erfolgt durch die Erkennung von Antigenen, die auf MHC-Klasse-I-Molekülen von DC präsentiert werden (Abbildung 2) (56,72). MHC-Klasse-I-Moleküle werden von nahezu allen kernhaltigen Zellen exprimiert.

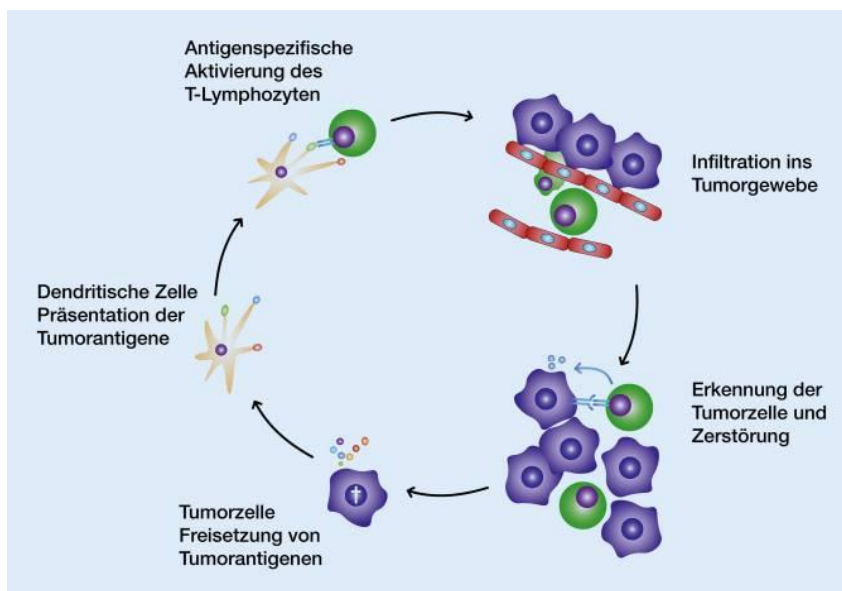


Abbildung 2: T-Zell Aktivierung durch Kontakt mit Dendritischen Zellen (56).

Anmerkung Abbildung 2: CD8+ T-Zell-Aktivierung zur Erkennung und Zerstörung von Tumorzellen.

CD8-Lymphozyten besitzen eine tragende Rolle bei der T-Zell-basierten Immunantwort gegen Tumorzellen. Die Karzinogenese ist eng mit dem Immunsystem verbunden (55). Jeden Tag entstehen bei gesunden Menschen Tumorzellen, die durch das Immunsystem eliminiert werden. Patient:innen mit Immunschwäche entwickeln häufiger Kopf-Hals-Karzinome als nicht immunsupprimierte Menschen und bei den Betroffenen wird ein schlechteres Ansprechen des Tumors auf die Behandlung beobachtet (55). Die Anwesenheit von tumorinfiltrierenden Lymphozyten kann als prognostischer Faktor bei bestimmten Karzinomen angesehen werden (73,74). Das Vorkommen der CD8+ T-Zellen in der Umgebung oralen Plattenepithelkarzinome korreliert mit Lymphknotenmetastasen, Tumorgröße und klinischem Stadium (75). Die verstärkte Infiltration der oralen Plattenepithelkarzinomen durch die CD8+ T-Zellen weist auf eine körpereigene Abwehr gegen die Tumorgewebe hin, was ein Zeichen für eine gute Prognose ist (73,76). Eine reduzierte Anzahl von CD8+ T-Zellen wurde in Lymphknotenmetastasen beim Mammakarzinom und bei Kopf-Hals-Tumoren beobachtet, was auf eine Herunterregulierung des Immunsystems durch das Karzinom hindeutet (74).

1.4 Zielsetzung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss des Rezeptors RHAMM und der tumorinfiltrierenden CD8+ T-Zellen auf das Überleben von Patient:innen mit oralem Plattenepithelkarzinom analysiert. Darüber hinaus wurde die Aktivität des Rezeptors RHAMM und die Dichte der tumorinfiltrierenden CD8+ T-Zellen mit klinisch pathologischen Daten in Beziehung gesetzt, um deren prognostische Werte in OSCC in Bezug auf ihre potenzielle Einsetzbarkeit als Prognosemarker zu erörtern.

Für die Einführung multimodaler Therapien und damit die Verlängerung der Lebensdauer von Patient:innen mit OSCC ist es essenziell, prognostische Biomarker in die Diagnostik miteinzubeziehen. Dafür wurden in der vorliegenden Studie Daten von 558 Patient:innen aufbereitet. Im Anschluss wurden die histologischen Patient:innenschnitte lichtmikroskopisch begutachtet und nachfolgend fand die Auswertung statt.

2 Material und Methoden

2.1 Ethikvotum

Für die Durchführung der vorliegenden Arbeit liegt ein positives Ethikvotum (Antragsnummer: EA2/028/15; Datum: 12.03.2015) der Ethikkommission der Charité - Universitätsmedizin Berlin vor.

2.2 Studiendesign und Untersuchungsmaterial

Es handelt sich bei der vorliegenden Studie um eine retrospektive Untersuchung von Patient:innen mit der Erstdiagnose eines oralen Plattenepithelkarzinoms, die im Zeitraum von 2005 bis 2011 an Charité – Universitätsmedizin Berlin behandelt wurden. Das Ende des klinischen Beobachtungszeitraums wurde auf den 31.05.2017 festgelegt. Tabelle 9 zeigt die Ein- und Ausschlusskriterien nach denen 558 Patient:innen (197 weiblich, 361 männlich) eingeschlossen wurden.

Tabelle 9: Übersicht Einschlusskriterien / Ausschlusskriterien.

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
die histologisch gesicherte Diagnose, im Zeitraum von 2005 bis 2011, eines oralen Plattenepithelkarzinoms	CUP-Syndrom keine sichere Diagnose des oralen Plattenepithelkarzinoms als Primärtumor
Patient:innen die an Charité – Universitätsmedizin Berlin behandelt wurden	Nicht vollständige Akten
>18 Jahre	<18 Jahre

Anmerkung Tabelle 9: Die Einschluss- und Ausschlusskriterien, die zur Aufnahme der Patienten in die vorliegende Studie verwendet wurden, sind hier aufgeführt.

Nach Festlegung des Patient:innenkollektivs, konnten 1.818 zugehörige Präparate, die aus dem Archiv des Instituts für Pathologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin stammten und während der Diagnostik oder der Therapie von den ausgewählten Patient:innen entnommen wurden, identifiziert werden. Anschließend erfolgte die lichtmikroskopische Begutachtung der histologischen Patient:innenschnitte. Darüber wurden repräsentative Blöcke identifiziert und die für die Herstellung von TMAs (Tissue Microarrays) asserviert. Die Repräsentativität der Schnitte und Paraffinblöcke wurde in Zusammenarbeit mit Frau Korinna Jöhrens ausgewertet. Nach immunhistologischer Färbung gegen CD8 und CD168 erfolgte die mikroskopische Untersuchung und Auswertung der TMAs.

2.3 Datenerhebung

Die klinischen Daten der Patient:innen wurden aus dem medizinischen Software-Programm SAP und den Papierakten, die aus dem Archiv der Charité - Universitätsmedizin Berlin angefordert wurden, erhoben. Alle ermittelten Daten und Ergebnisse dieser Studie wurden anschließend in Microsoft Excel® (Microsoft; USA) erfasst und für die statistische Auswertung vorbereitet.

2.4 Erfasste Daten

Die folgende Tabelle 10 zeigt die bei der klinischen Datenanalyse erhobenen Parameter:

Tabelle 10: Erhobene Daten aus den Patient:innenakten.

Patient:innendaten	Aufnahmeklinik, Fallnummer Name, Geschlecht, Geburtsdatum, Größe, Gewicht, Adresse Risikofaktoren (Alkohol, Rauchen, HPV) Blutwerte (CRP, HB, Hämatokrit, Leukozyten) Hausarzt (Adresse)
Tumordaten	J-Nummer Erstdiagnosedatum Histologie cTNM-Klassifikation, Grading, UICC klinisch (Tumorstadium) Tumordurchmesser, Knocheninfiltration, Lokalisation pTNM-Klassifikation, UICC pathologisch (Tumorstadium)
Diagnostik	Art der Diagnostik und Beschreibung
Therapie	Art der Therapie und Beschreibung
Rezidive und Metastasen	Datum des Auftretens Lokalisation
Letzte Daten	Letzter Kontakt Letzte Nachuntersuchung Todesdatum Todesgrund
Therapienebenwirkungen	Osteoradionekrose, Strahlenkaries

Anmerkung Tabelle 10: In dieser Tabelle sind die erhobenen Daten aus den Patient:innenakten dargestellt.

2.5 Mikroskopische Auswertung

Die histologische Untersuchung erfolgte unter der Anleitung von Frau Korinna Jöhrens. Bei dem Lichtmikroskop (LEICA DMLB; Hersteller: Leica Microsystems GmbH; Deutschland) wurde während der Untersuchung die Vergrößerung auf 40x/0.70 eingestellt. In den CD168-TMAs wurde die Intensität von CD168-positiven Zellen in Tumorgewebe bewertet und in Prozenten angegeben. Danach wurde in den CD8-TMAs die gesamte Tumordinfiltration durch die CD8+ T-Zellen auf einer Skala von 0 bis 3 begutachtet. Die ermittelten Befunde (Tabelle 11) wurden in eine Microsoft Office Excel® 365 Tabelle eingetragen.

Tabelle 11: Ermittelte histologische Befunde.

CD8+ T-Zellen	Tumorinfiltration durch die Immunzellen auf einer Skala von 0 bis 3: <ul style="list-style-type: none">• 0 = negativ• 1 = schwach positiv• 2 = mittel positiv• 3 = stark positiv
CD 168	CD168-Expression im Tumorgewebe (in Prozent)

Anmerkung Tabelle 11: Dargestellt sind die Kriterien zur Ermittlung histologischer Befunde.

2.6 TMA Herstellung und Immunhistochemie (IHC)

Die TMA (Tissue Microarrays)-Herstellung und die IHC-Färbungen wurden am Institut für Pathologie der Universität Charité Berlin-Mitte durchgeführt. Aus den in Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Gewebeproben der Patient:innen wurden TMAs erstellt (15 TMAs für CD168 und 15 TMAs für CD8+ T-Zellen) und der immunhistologischen Untersuchung zugeführt. Die TMA-Technik ermöglicht eine effiziente und schnelle Analyse der Patient:innenpräparate, dank der großen Anzahl (bei dieser Studie 66) unterschiedlicher Gewebeproben auf einem Objektträger. Bei der manuellen Herstellung von TMAs wurden mittels Tissue Arrayer in einem reinen Paraffinblock 66 Stanzen eingebracht. Zur Orientierung bei der späteren TMA-Analyse wurden bei y4 und x3 keine Stanzen eingefügt (Abbildung 3). In den gesetzten Stanzzylinder wurden anschließend die von ausgewählten Patient:innen entnommenen Gewebeproben, die in Form von Paraffinblöcken aufbewahrt waren, appliziert.

	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7
Y1	1	2		3	4	5	6
Y2	7	8		9	10	11	12
Y3	13	14		15	16	17	18
Y4							
Y5	19	20		21	22	23	24
Y6	25	26		27	28	29	30
Y7	31	32		33	34	35	36
Y8	37	38		39	40	41	42
Y9	43	44		45	46	47	48
Y10	49	50		51	52	53	54
Y11	55	56		57	58	59	60
Y12	61	62		63	64	65	66

Abbildung 3: Objektträger mit Orientierungshilfen zum Ablesen der TMAs.

Anmerkung Abbildung 3: Die von den Patient:innen untersuchten Gewebeproben sind mit den Nummern 1 bis 66 gekennzeichnet. Zur Orientierung wurden bei y4 und x3 keine Markierungen eingefügt.

Von jedem fertig konstruierten TMA-Paraffinblock wurden unter Verwendung eines Mikrotoms 2µm Schnitte erstellt, über dem Wasserbad auf einen Objektträger aufgezogen und in einem Ofen bei 80°C für 20 Minuten erwärmt (Leica BOND Universal Covertiles). Im Anschluss erfolgte eine immunhistologische Färbung.

Die Immunhistochemie ermöglicht den Nachweis von Antigen-Komponenten in Formalin fixiertem und in Paraffin eingebettetem Tumorgewebe. Diese Technik beruht auf der Affinität von spezifischen Antikörpern zu Antigenen und der dadurch entstehenden Antigen-Antikörper-Bindung. Dieser Komplex wird auf dem Objektträger sichtbar gemacht, indem auf den primären Antikörper ein Detektionssystem gekoppelt wird.

In der vorliegenden Arbeit wurde die immunhistochemische Färbung mit einem automatisierten Immunostainer (BondMax™; Leica Biosystems, Ltd.) gemäß dem Protokoll des Herstellers durchgeführt. Die Visualisierung der Antigen-Antikörper-Reaktionen (braunes Präzipitat) erfolgte unter Verwendung eines Bond Polymer

Refine DAB Detection Systems (Leica Biosystems, Ltd.). Die Sichtbarmachung der Zellkerne wurde durch Kontrastfärbung mit Hämatoxin (blau) erreicht.

Für den CD168-Proteinnachweis diente ein monoklonaler Maus-Antikörper, der gegen humanes CD168 (Klon 2D6, NCL-CD168; Leica Biosystems, Ltd., Newcastle, UK) erzeugt wurde und in einer Verdünnung von 1:50 verwendet worden ist (Tabelle 12). Für die Darstellung von CD8+ T-Zellen diente ein monoklonaler Maus-Antikörper (Hersteller: Dako, Denmark), der in einer Verdünnung von 1:100 verwendet worden ist.

Tabelle 12: Antikörper für Immunzytologie.

TMA	Verdünnung	Hersteller	Protokoll
CD 168	1:50	Abcam	HP1PZRZ30 ⁻
CD8+ T-Zellen	1:100	Dako	HP1PZRZ30 ⁻

Anmerkung Tabelle 12: Es werden die verwendeten Antikörper für die Immunzytologie dargestellt.

2.7 Statistische Auswertung

In dieser Dissertation wurden die Datensätze in Microsoft Excel (Microsoft Corporation, WA, USA) erfasst und gespeichert und mit dem Statistikprogramm SPSS (Version 27, IBM Corporation, NY, USA) statistisch ausgewertet. Für statistische Testverfahren wurde das Signifikanzniveau auf 5 % ($\alpha = 0,05$) festgelegt.

Mithilfe von SPSS wurden die Werte für CD8_TIL (Wertebereich 0-3) für die jeweiligen Spalten mit identischer Gewebeart (Primärkarzinoms, Probeentnahmen und primär befallene Lymphknoten) eines Patient:innen gemittelt, um so Variablen zu erstellen. In der positiven CD8-Gruppe wurden Patient:innen aufgenommen, bei denen die gesamte Tumorerfiltration durch die CD8+ T-Zellen auf einer Skala von 1 bis 3 notiert wurde, und in der negativen Gruppe jene auf einer Skala von 0 bis 0,99.

Zudem wurden mittels SPSS die CD168-Tumor-Werte (Wertebereich 0-100 %) gemittelt, wobei die jeweiligen Spalten zur Gewebeart eines Patient:innen

(Primärkarzinoms, Probeentnahmen und primär befallene Lymphknoten) zusammengefasst wurden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde für CD168-Tumor-Gruppe ein Cut-Off-Wert von 10 % zugrunde gelegt, wie dies auch Shigeishi et al. tun (83). Bei Patient:innen mit einer Intensität von CD168 von 10 % und höher, wurde die Einstufung in die Gruppe der positiven CD168-Tumore vorgenommen. Lag der Wert unterhalb der Grenze von 10 %, wurden die Patient:innen für die CD168-negative-Tumor-Gruppe klassifiziert.

Um den Datensatz auszuwerten, erfolgte eine deskriptive Analyse. Im Fokus stand dabei die Frage, wie diese Subkollektive mit den klinisch-pathologischen Merkmalen der operierten Patient:innen zusammenhängen.

Für die Prüfung von statistisch signifikanten Zusammenhängen der nominalen Merkmale wurde von dem Chi-Quadrat-Test (benutzerdefinierte Tabelle) Gebrauch gemacht.

Das Patient:innenüberleben wurde mithilfe von Kaplan-Meier-Analysen und einem Vergleich der positiven Gruppe mit der negativen Gruppe mithilfe des Log-Rank-Tests bestimmt.

3 Ergebnisse

3.1 Patient:innenkollektiv

Für die Evaluation wurde eine Gruppe von in Summe 558 Patient:innen untersucht, wobei in ihrer Unterteilung in männlichen (361) und weiblichen (197) ein Schwerpunkt seitens männlicher Patienten besteht (Abbildung 4). Von der Gruppe der 558 einbezogenen Patient:innen wurden 21 keiner Therapie unterzogen, operiert wurden 445 von ihnen.

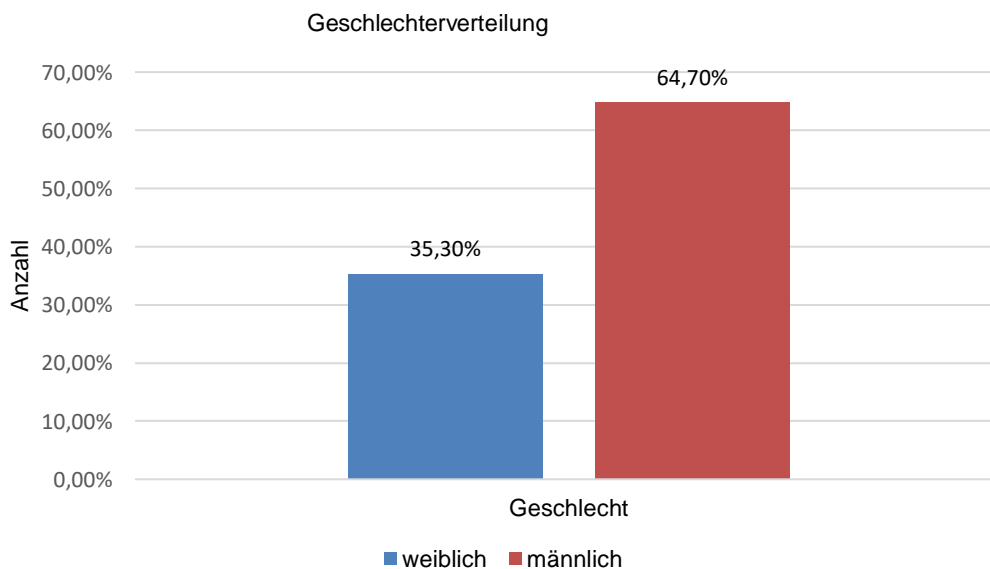


Abbildung 4: Aufteilung der Geschlechter der 558 evaluierten Patient:innen.

Anmerkung Abbildung 4: Ein Balkendiagramm zur Geschlechterverteilung der eingeschlossenen 558 Patient:innen.

Zum Zeitpunkt der Diagnose waren die Patient:innen im Mittel 61,72 Jahre alt, worunter die jüngsten das Alter von 27 Jahren und die ältesten von 98 Jahren erreicht hatten.

Bei 444 Patient:innen konnte das pT-Stadium festgelegt werden. Die Verteilung ist in der Abbildung 5 dargestellt. Bei den untersuchten Patient:innen kam pT1-Stadium am häufigsten vor.

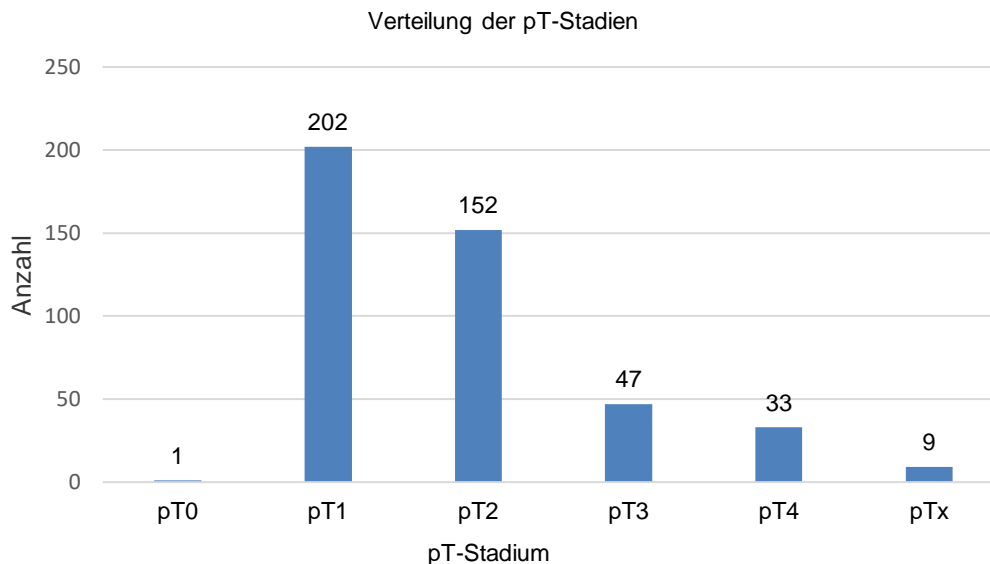


Abbildung 5: Die Häufigkeitsverteilung der pT-Stadien.

Anmerkung Abbildung 5: Ein Balkendiagramm zur Verteilung der pT-Stadien (pT0, pT1, pT2, pT3, pT4, pTx). Das pT1-Stadium trat am häufigsten bei den untersuchten Patienten auf.

3.2 CD168 und CD8+ T-Zellen

Im Ganzen konnte CD168 bei 297 Patient:innen mit Operation und CD8+ T-Zellen bei 299 Patient:innen mit Operation nachgewiesen werden. Diese Ermittlung von CD168 und CD8+ T-Zellen konnte nicht bei allen Patient:innen der Gruppe von 445 Teilnehmern vorgenommen werden, weil die Untersuchung ausschließlich für repräsentative Blöcke erfolgte, die für die Bildung von TMAs asserviert wurden. Gegen CD8+ T-Zellen und CD168 wurde eine immunhistologische Färbung unternommen, als deren Resultat nicht sämtliche Gewebeproben der Objektträger analysiert werden konnten. Ursächlich für den Ausschluss für die Untersuchung war, dass sich die Darstellung einiger Gewebeproben als zu undeutlich erwies. Daraus folgte, dass sich diese für eine mögliche Beurteilung nicht eigneten.

3.3 Operierte CD168-Tumor-Gruppe

Innerhalb der CD168-Tumor-Gruppe, deren Patient:innen sich einer Operation unterzogen haben, wurden die Daten derjenigen evaluiert, die einerseits nur einem operativen Eingriff unterzogen wurden oder andererseits ergänzend dazu eine adjuvante Therapie bekamen. Es erfolgte ein Cut-Off von 10 %. Bei den eingeschlossenen Patient:innen wurden die Karzinomzellen des Primärkarzinoms, Probeentnahmen und primär befallene Lymphknoten ausgewertet.

Insgesamt wurden 297 operierte CD168-Tumor-Patient:innen eingeschlossen. Von den 297 Patient:innen waren 105 Frauen und 192 Männer. Die Geschlechterverteilung in der positiven und negativen Gruppe ähnelt sich und ist zugunsten der Männer verschoben ($p = 0,753$) (Abbildung 6). In der positiven Gruppe waren es 28 Frauen (36,8 %) und 48 Männer (63,2 %) und in der negativen Gruppe 77 Frauen (34,8 %) und 144 Männer (65,2 %).

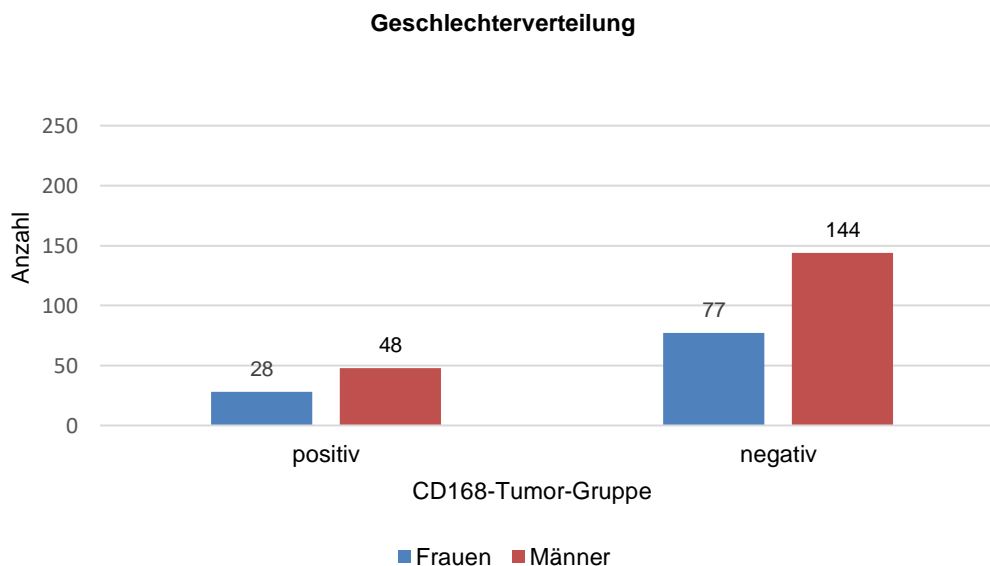


Abbildung 6: Geschlechterverteilung der positiven und negativen CD168-Tumor-Patient:innen.

Anmerkung Abbildung 6: In diesem Balkendiagramm wird die Geschlechterverteilung der positiven und negativen CD168-Tumorpatienten dargestellt. Es zeigt sich eine ähnliche Geschlechterverteilung in beiden Gruppen, jedoch zugunsten der Männer verschoben ($p = 0,753$).

Insgesamt besteht die Zusammenstellung der negativen-CD168-Tumor-Gruppe aus 221 Patient:innen, deren Aufteilung in Abbildung 7 aufgezeigt wird. Demnach setzt sich die positive Gruppe aus 76 Patient:innen zusammen. Das entspricht einem Anteil von 25,6 %.

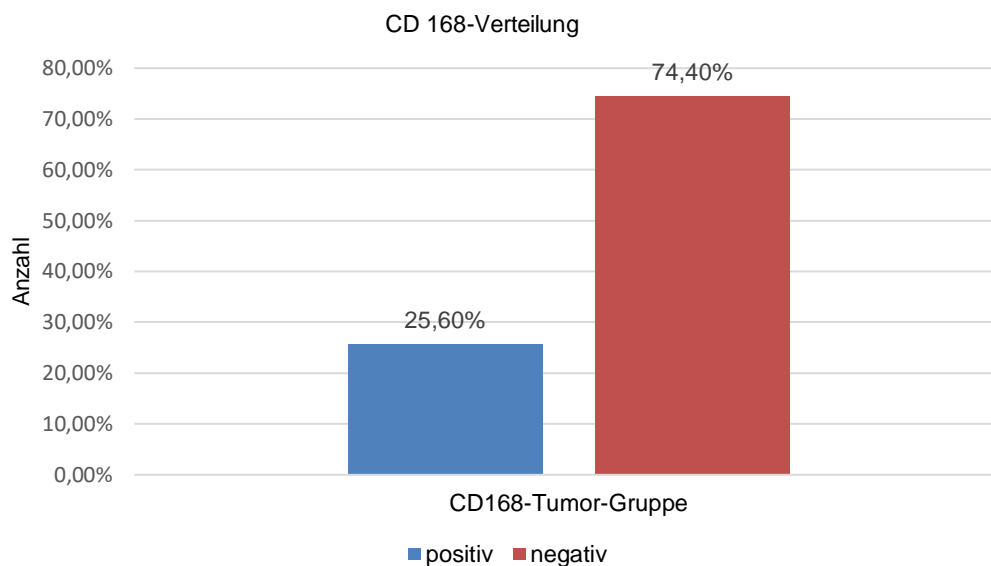


Abbildung 7: CD168-Verteilung der positiven und negativen CD168-Tumor- Patient:innen.

Anmerkung Abbildung 7: Dieses Balkendiagramm zeigt die CD168-Verteilung der positiven und negativen CD168-Tumorpatient:innen. Die positive Gruppe besteht aus 76 Patienten, was einem Anteil von 25,6 % entspricht.

Das Patient:innenkollektiv wurde in eine Niedrigrisiko-Gruppe und eine Hochrisiko-Gruppe eingeteilt. Eine genaue Auflistung der Kriterien findet sich in Tabelle 13.

Tabelle 13: Aufteilungskriterien in Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Gruppe.

	Niedrigrisiko-Gruppe	Hochrisiko-Gruppe
Operierte Patient:innen	pathologisch: T1/T2, N0 klinisch oder pathologisch: M0	pathologisch: T3/T4 oder N>0 oder M1
Primär bestrahlte Patient:innen	Klinisch: T1/T2, N0, M0	klinisch: T3/T4 oder N>0 oder M1
Grading	G1 oder/und G2	G2 oder/und G3

Anmerkung Tabelle 13: Aufgeführt sind die Aufteilungskriterien, die angewendet wurden, um Patient:innen in Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Gruppen einzuteilen.

Bei der Betrachtung der Verteilung in Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Gruppe zeigt sich ein hochsignifikanter Unterschied zwischen CD168 exprimierenden Karzinomzellen und CD168 nicht exprimierenden Karzinomzellen (Chi-Quadrat-Test, $p = 0,003$). Von den CD168 exprimierende Karzinomzellen wurden 23 Patient:innen der Niedrigrisiko-Gruppe und 50 der Hochrisiko-Gruppe zugeordnet. Von den CD168 nicht exprimierenden Karzinomzellen wurden 105 Patient:innen der Niedrigrisiko-Gruppe und 99 der Hochrisiko-Gruppe zugeordnet. Abbildung 8 gibt einen Überblick über diesen Sachverhalt.

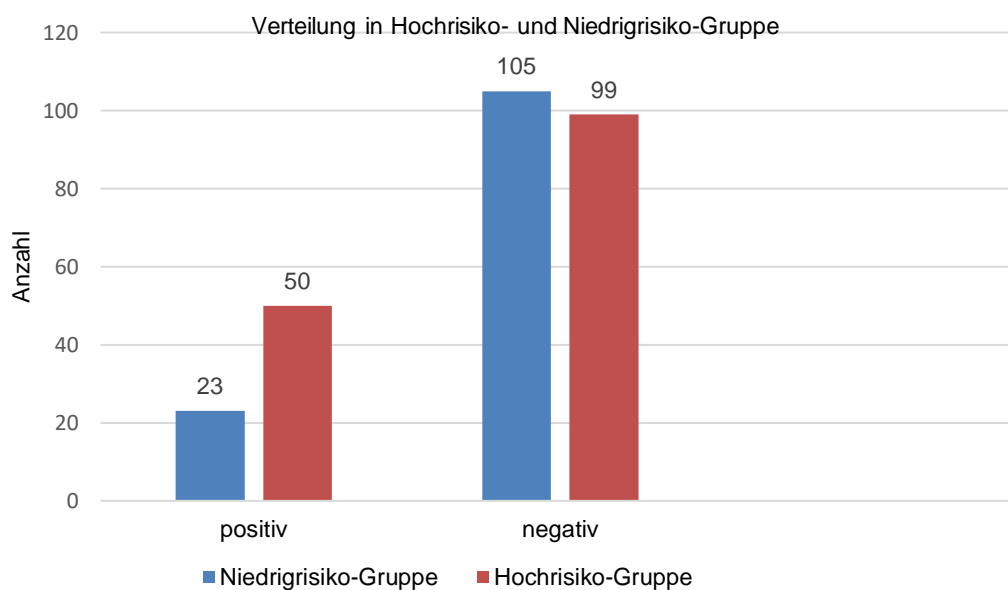


Abbildung 8: Verteilung in Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Gruppe bei positiver und negativer CD168-Tumor-Gruppe.

Anmerkung Abbildung 8: In diesem Balkendiagramm wird die Verteilung der Patient:innen der positiven und negativen CD168-Tumorgruppen in Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Gruppen dargestellt. Es zeigt sich ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den positiven und negativen CD168-Tumor-Gruppen ($p = 0,003$).

Die klinisch-pathologischen Eigenschaften der operierten CD-168-Tumor-Gruppen sind Tabelle 14 zu entnehmen. Betrachtet man die einzelnen Gruppen, werden signifikante Unterschiede deutlich. Die Verteilung der pT-Stadien bei positiven wie bei negativen CD168-Tumor-Gruppen zeigt einen hochsignifikanten Unterschied ($p = 0,001$). In der positiven Gruppe tritt das pT1-Stadium bei 17 Patient:innen (22,4 %) auf, während es in der negativen Gruppe bei 105 Patient:innen vorkommt.

Bei den positiven und bei den negativen Gruppen wurden signifikante Unterschiede hinsichtlich des Alters festgestellt ($p = 0,032$). Die Mehrheit der positiven Patient:innen (55,3 %) ist jünger als 60 Jahre, während in der negativen Gruppe die Mehrheit der Patient:innen über 60 Jahre alt ist. Ein weiterer hochsignifikanter Unterschied zwischen der positiven und der negativen Gruppe zeigt sich in den UICC-Stadien ($p < 0,001$). Das UICC I -Stadium kam mit 35,7 % am häufigsten bei negativen CD168-Tumor-Gruppen vor. UICC-Verteilung ist in Abbildung 9 dargestellt.

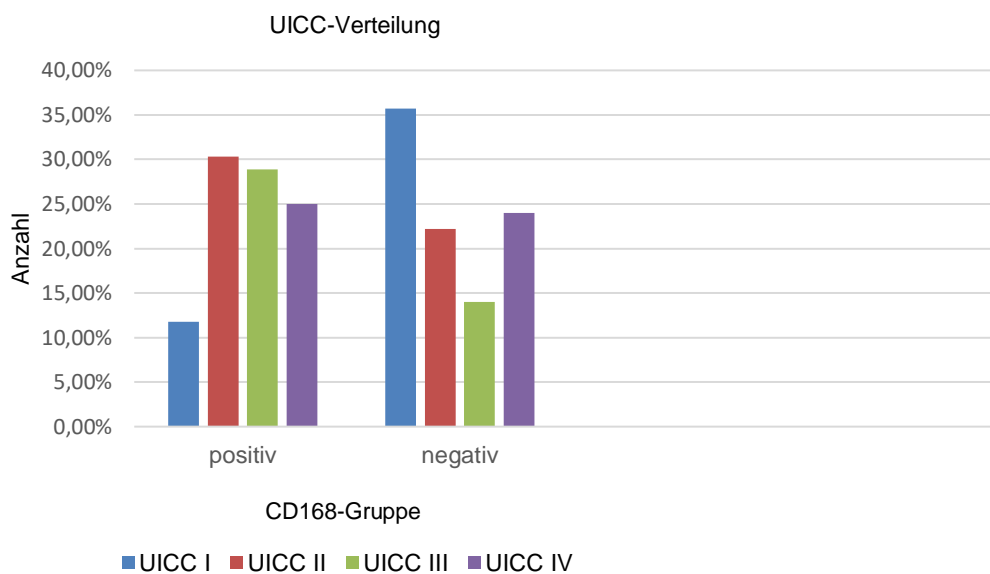


Abbildung 9: UICC-Verteilung der positiven und negativen CD168-Tumor-Gruppen.

Anmerkung Abbildung 9: Dieses Balkendiagramm zeigt die UICC-Verteilung der Patient:innen der positiven und negativen CD168-Tumorgruppen. Es zeigt sich ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den positiven und negativen Gruppen ($p < 0,001$).

Die Tabelle 14 zeigt die Verteilung der cN-Stadien bei positiver wie bei negativer CD168-Tumor-Gruppe. Bei der Beobachtung der einzelnen Gruppen wird ersichtlich, dass cN1 und cN2 am häufigsten in der CD168 exprimierenden Gruppe (zu 40,8 %)

vorkommen. In der Gruppe CD168 exprimierende Karzinome wurde N+ ECS+ bei 18,4 % der Patient:innen festgestellt, in der negativen Gruppe hingegen nur bei 13,1 % ($p = 0,293$). Tabelle 14 lassen sich die einzelnen Differenzierungsgrade der CD168-Tumor-Gruppen entnehmen. Knocheninfiltration kam in der positiven Gruppe zu 23,7 % ($n=18$) und in der negativen zu 22,6 % ($n=50$) vor.

Tabelle 14: Klinisch-pathologische Eigenschaften der positiven und der negativen CD168-Tumor-Gruppen.

		negativ	positiv	p-Wert
Geschlecht	Frauen	77	28	0,753
	Männer	144	48	
Alter bei Erstdiagnose	≤49	28	16	0,032
	50-59	55	26	
	60-69	87	17	
	70-79	38	15	
	80+	13	2	
Rauchen	Ja	153	55	0,417
	Nein	48	13	
Alkohol	Ja	153	52	0,944
	Nein	46	16	
pT	T1	105	17	0,001
	T2	75	35	
	T3	19	15	
	T4a	20	7	
	Tx	2	2	
pN	N0	137	41	0,239
	N1	27	16	
	N2	40	15	
Grading	1	19	2	0,215
	2	156	57	
	3	43	16	
Risikogruppe	niedrig	105	23	0,003
	hoch	99	50	
UICC pathologisch	I	79	9	
	II	49	23	

	III	31	22	
	IVa	53	19	<0,001
Nodalstatus ECS	N-	137	41	
	N+ ECS-	38	17	
	N+ ECS+	29	14	0,293
Knocheninfiltration pathologisch	nein	171	58	
	ja	50	18	0,850

Legende Tabelle 14: pN; postoperatives Lymphknotenstadium, pT; postoperatives Tumorstadium, UICC; Union International Contre le Cancer, ECS; kapselüberschreitendes Wachstum, N; Nodalstatus, ECS (+); extrakapsuläres Wachstum, ECS (-); kein extrakapsuläres Wachstum

Anmerkung Tabelle 14: Dargestellt sind die klinisch-pathologischen Eigenschaften der positiven und negativen CD168-Tumorgruppen. Es zeigen sich hochsignifikante Unterschiede zwischen den positiven und negativen Gruppen hinsichtlich pT ($p = 0,001$), Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Gruppen ($p = 0,003$) und UICC ($p < 0,001$).

3.3.1 Gesamtüberleben

Bei der Analyse des Gesamtüberlebens wurden die Zeiten zwischen dem Startdatum und dem Todesdatum herangezogen. Als Startdatum wurde das Datum der Erstdiagnose definiert; wo dies fehlte, wurde das Datum der Erstoperation bzw. ggf. das Datum der Erstradiotherapie als Startdatum verwendet. Wo das Todesdatum fehlte, wurde das Datum des letzten Kontaktes mit dem Patient:innen genommen, und wenn der Patient:innen nicht verstorben war, der 31.05.2017.

Gesamtüberlebensanalyse nach Kaplan-Meier für operierte CD168-Tumor-Patient:innen

Für die Auswertung des Gesamtüberlebens wurden 297 Patient:innen herangezogen. Unter ihnen wiesen 76 (25,6 %) die Eigenschaften für ein CD168-exprimierendes Karzinom auf, wohingegen diese bei 221 (74,4 %) fehlten. Für die zweite Patient:innengruppe konnte ein Überleben von im Durchschnitt ca. 85,9 Monaten festgestellt werden. Bei der ersten Gruppe (CD168 negative Tumore) betrug die Zeitspanne ca. 75 Monate (siehe Abbildung 10). Diese Diskrepanz ist nicht statistisch signifikant ($p = 0,145$).

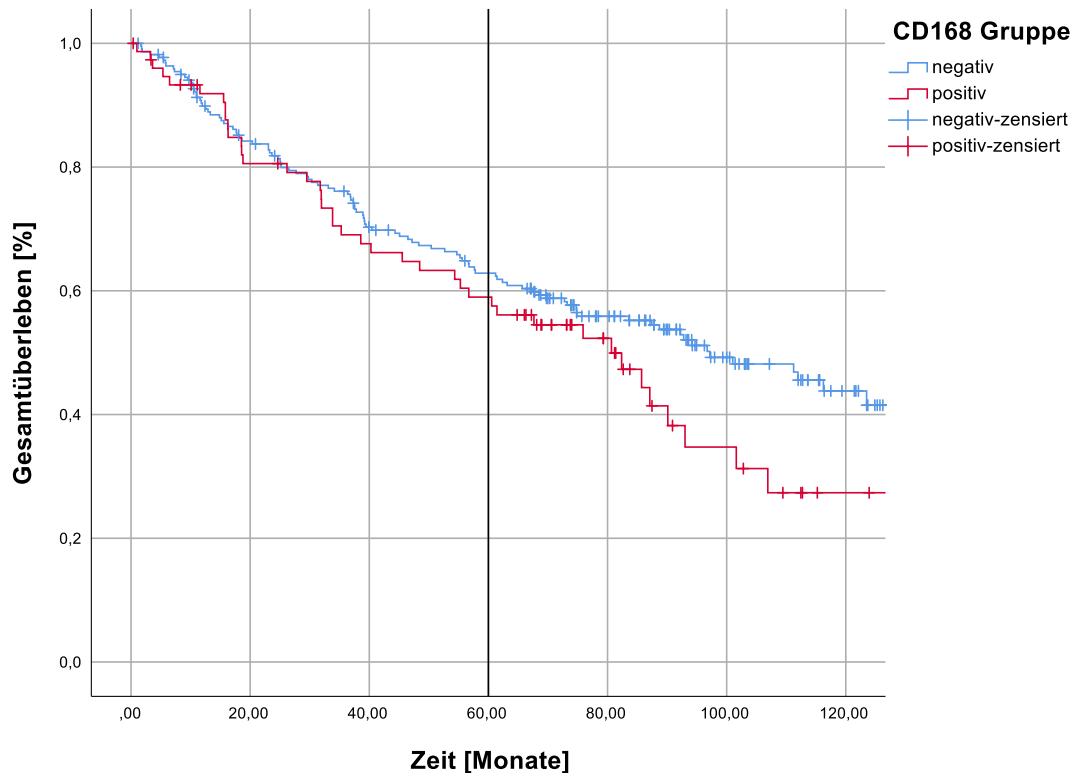


Abbildung 10: Analyse des Gesamtüberlebens innerhalb der Patient:innengruppen CD168 negativ und positiv.

Anmerkung Abbildung 10: Dargestellt wird die Gesamtüberlebensanalyse nach Kaplan-Meier für die positiv und negativ operierten CD168-Tumorgruppen. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den positiven und negativen CD168-Tumorgruppen ($p = 0,145$).

Gesamtüberlebensanalyse nach Kaplan-Meier für operierte CD168-Tumor-Patient:innen in der Niedrig-Risikogruppe

Bei dieser Analyse wurden 23 Patient:innen der positiven CD168-Tumor-Gruppe und 105 Patient:innen der negativen CD168-Tumor-Gruppe eingeschlossen. Bei 12 (52,2 %) Patient:innen der positiven Gruppe und bei 33 (31,4 %) Patient:innen der negativen Gruppe ist der Tod innerhalb des Beobachtungszeitraums eingetroffen. Es zeigt sich für positiven CD168-Tumor-Patient:innen ein kürzeres mittleres Überleben von 61,6 Monaten gegenüber den negativen CD168-Tumor-Patient:innen mit 106,1 Monaten. In Abbildung 11 wird das ermittelte Resultat mit statistisch hochsignifikantem Wert ($p = 0,001$) veranschaulicht.

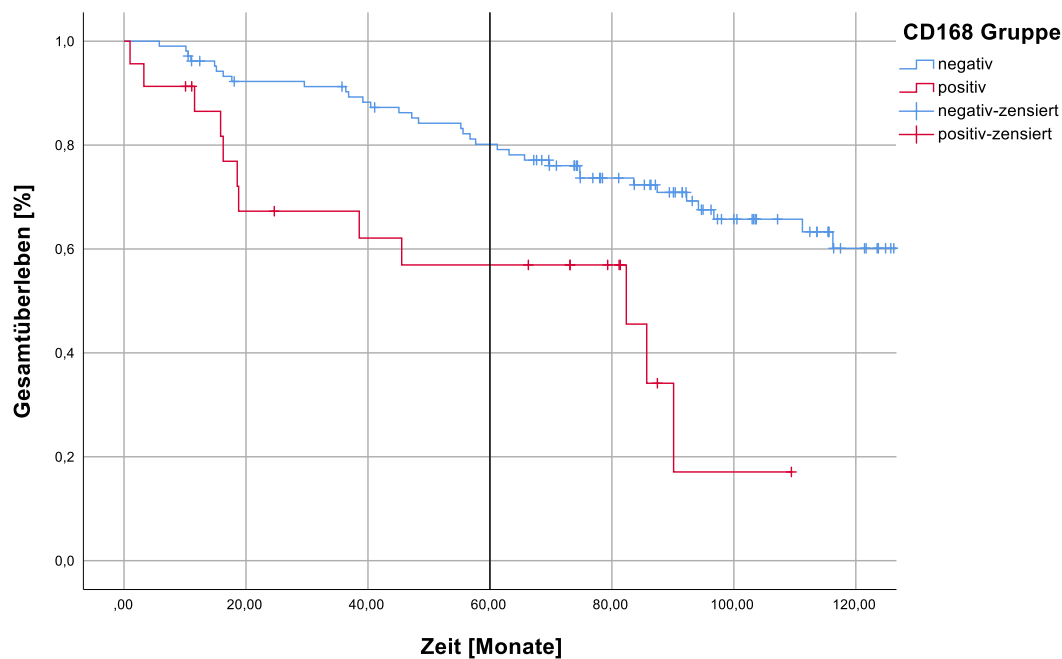


Abbildung 11: Das Gesamtüberleben bei den CD168 negativen und positiven Patient:innen in der Niedrig- Risikogruppe.

Anmerkung Abbildung 11: Diese Abbildung zeigt die Gesamtüberlebensanalyse nach Kaplan-Meier für operierte CD168-Tumor-Patient:innen in der Niedrig-Risikogruppe. Es zeigt sich ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den positiven und negativen CD168-Tumorgruppen ($p = 0,001$).

Gesamtüberlebensanalyse nach Kaplan-Meier für operierte und adjuvant bestrahlte CD168-Tumor-Patient:innen.

Die Gruppe der CD168 exprimierenden Karzinomen bestand aus 25 Patient:innen, davon sind 15 Patient:innen innerhalb des Erhebungszeitraums verstorben. Die Gruppe der CD168 nicht exprimierenden Karzinome bestand aus 60 Patient:innen, davon sind 35 Patient:innen innerhalb des Erhebungszeitraums verstorben. Betrachtet man die Kaplan-Meier-Kurven der operierten und adjuvant bestrahlten Patient:innen in beiden Gruppen (CD168 exprimierenden und nicht exprimierenden Karzinome), ist zu erkennen, dass sie sehr ähnlich verlaufen (siehe Abbildung 12). Das mittlere Überleben in der Gruppe der CD168-negativen Karzinome betrug 67,6 Monaten und in der Gruppe der CD168-positiven Karzinome 72,3 Monate. Dieser Unterschied zeigte keine statistische Signifikanz ($p = 0,833$).

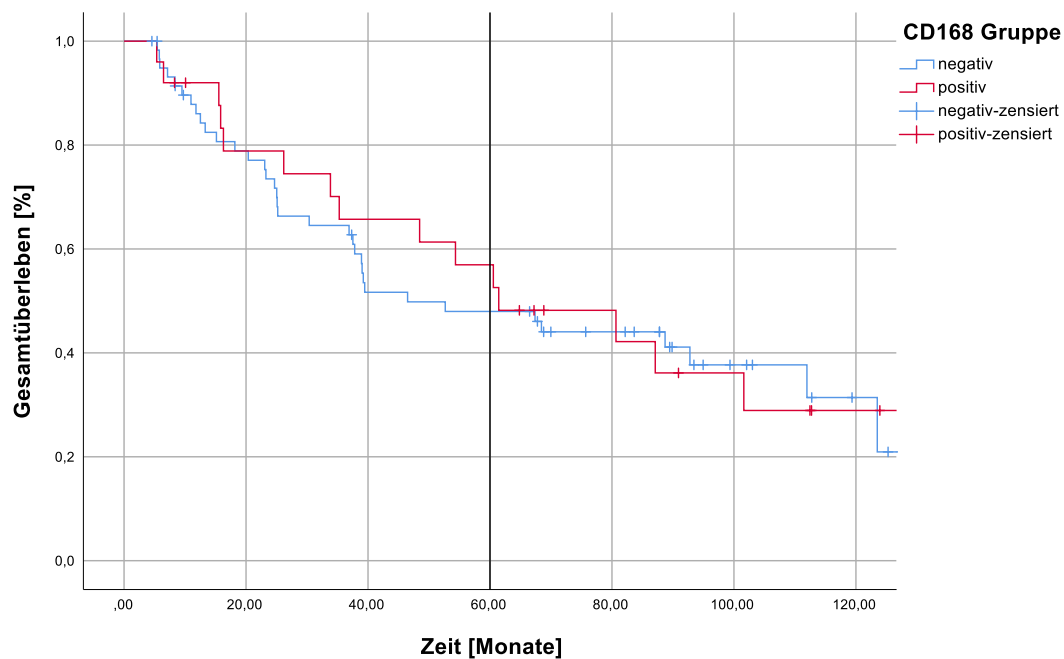


Abbildung 12: Gesamtüberlebens bei den operierten und adjuvant bestrahlten CD168 negativen und positiven Patient:innen.

Anmerkung Abbildung 12: Dargestellt wird die Gesamtüberlebensanalyse nach Kaplan-Meier für die positiv und negativ operierten und adjuvant bestrahlten CD168-Tumor-Gruppen. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den positiven und negativen CD168-Tumor-Gruppen ($p = 0,833$).

3.3.2 Rezidivfreies Überleben

Bei der Analyse des rezidivfreien Überlebens wurde als Startdatum (siehe Tabelle 15) die Zeit von der Erstbehandlung bis zum Eintritt des Rezidivs (innerhalb von 5 Jahren oder Tod) berücksichtigt. Wenn Rezidiv und Tod nicht definiert waren, wurde das Datum der letzten Nachuntersuchung genommen.

Tabelle 15: Startdatum für ein rezidivfreies Überleben.

Startdatum	
am Tag der Operation	falls nur Operation
am letzten Bestragungstag	falls Operation und Radiatio
am letzten Bestragungstag	falls nur Bestrahlung
am Tag der Erstdiagnose	falls kein Operationsdatum und/oder kein Bestrahlungsdatum vorhanden

Anmerkung Tabelle 15: In dieser Tabelle wird die Auswahl des genauen Startdatums für die Analyse des rezidivfreien Überlebens dargestellt.

Die detaillierten Ausschlusskriterien für die Rezidivanalyse können Tabelle 16 entnommen werden.

Tabelle 16: Ausschlusskriterien für die Rezidivanalyse.

Ausschlusskriterien für die Rezidivanalyse:
Rezidiv-Diagnose innerhalb der ersten 6 Monaten nach der Erstbehandlung
Patient:innen ohne Therapie
Patient:innen mit Palliativtherapie
Patient:innen mit alleiniger Induktions-Chemotherapie

Anmerkung Tabelle 16: Dargestellt sind die angewandten Ausschlusskriterien für die Rezidivanalyse.

Rezidivfreie Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier von operierten CD168-Tumor-Patient:innen

In der Gruppe der CD168 exprimierenden Karzinomzellen wurden 76 Patient:innen eingeschlossen. Das Rezidiv ist innerhalb des Beobachtungszeitraumes insgesamt bei

44 Patient:innen eingetreten. In der Gruppe der CD168 nicht exprimierenden Karzinome nahmen 221 Patient:innen an der Analyse teil, wobei das Rezidiv bei 115 Patient:innen innerhalb des Erhebungszeitraums eingetreten ist. (s. Abbildung 13). In der Gruppe der CD168 exprimierenden Karzinomzellen betrug die mittlere Eintrittszeit des Rezidivs 63,7 Monate, in der negativen Gruppe 70,7 Monate. In den zwei genannten Gruppierungen wurde bezüglich des Überlebens ohne Rezidiv keine Signifikanz festgestellt, da ein p-Wert von 0,277 ermittelt werden konnte.

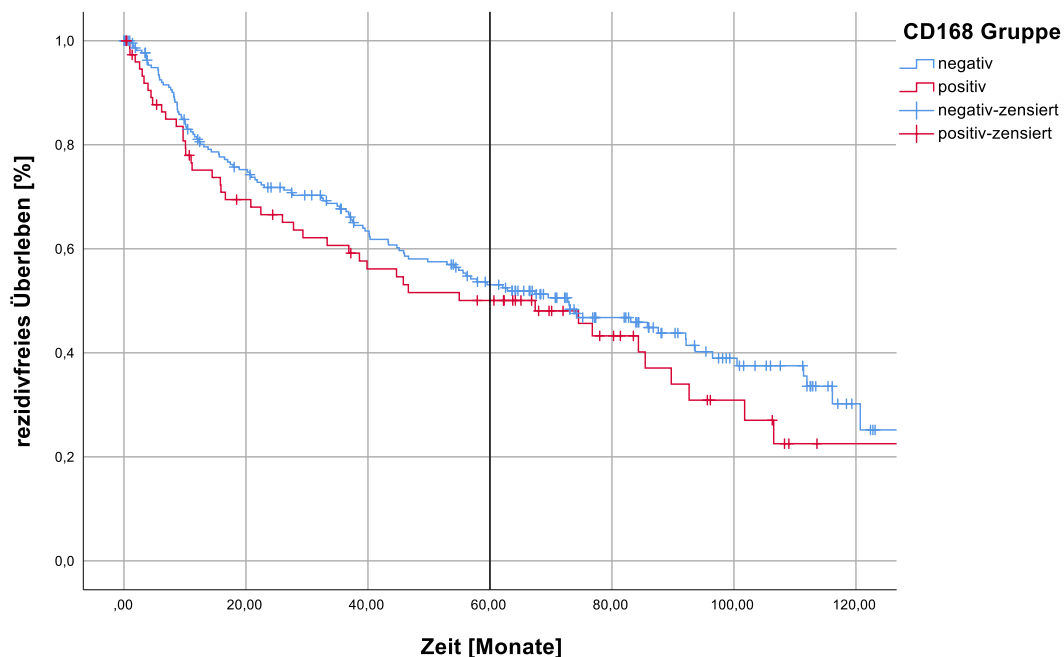


Abbildung 13: Analyse des rezidivfreies Überlebens bei den operierten CD168 negativen und positiven Patient:innen.

Anmerkung Abbildung 13: Diese Abbildung zeigt das rezidivfreie Überleben bei den operierten CD168-negativen und -positiven Patient:innen. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den positiven und negativen CD168-Tumor-Gruppen ($p = 0,277$).

Rezidivfreie Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier von operierten CD168-Tumor-Patient:innen in der Niedrig-Risikogruppe

In der negativen Gruppe ist bei 40 (38,1 %) Patient:innen während des Beobachtungszeitraums ein Rezidiv entstanden und bei 13 (56,6 %) Patient:innen in

der positiven Gruppe. Die mittlere Eintrittszeit des Rezidivs in der negativen Gruppe lag bei 90,6 Monaten und in der positiven Gruppe bei 52,3 Monaten (Abbildung 14). Die gefundenen Unterschiede zeigten eine statistische Signifikanz ($p = 0,006$).

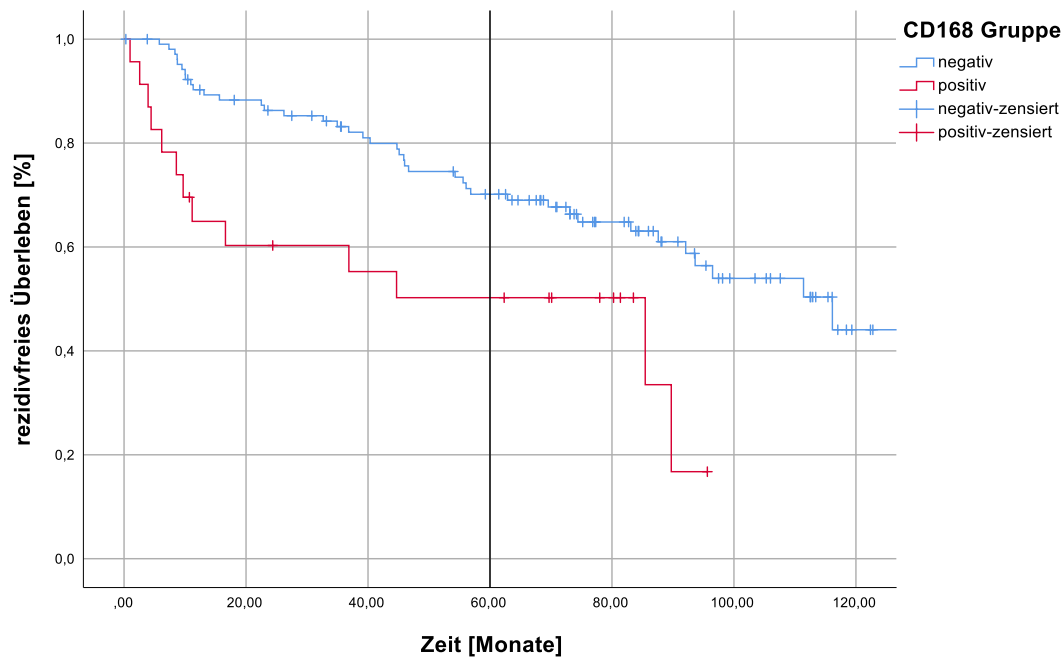


Abbildung 14: Analyse des rezidivfreien Überlebens bei den operierten CD168 negativen und positiven Patient:innen in der Niedrigrisikogruppe.

Anmerkung Abbildung 14: Dargestellt wird das rezidivfreie Überleben bei den operierten CD168-negativen und -positiven Patient:innen in der Niedrigrisikogruppe. Es zeigt sich ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den positiven und negativen CD168-Tumor-Gruppen ($p = 0,006$).

Rezidivfreie Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier von operierten und adjuvant bestrahlten CD168-Tumor-Patient:innen.

Das Ergebnis dieser Auswertung ist, dass die Zeit des Eintretens eines Rezidivs bei der negativen Gruppe im Mittel bei 53,1 Monate lag und in der positiven Gruppe bei 62,4 Monaten (siehe. Abbildung 15). Diese Unterschiede erbrachten keine statistische Signifikanz ($p = 0,489$).

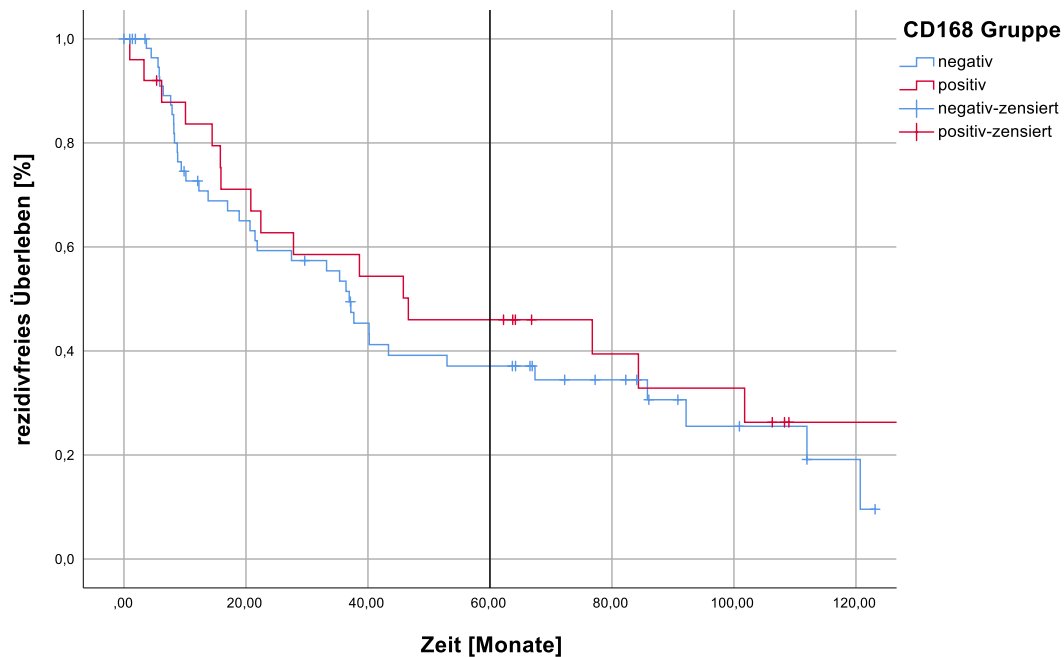


Abbildung 15: Analyse des rezidivfreien Überlebens bei den operierten und adjuvant bestrahlten CD168 negativen und positiven Patient:innen.

Anmerkung Abbildung 15: Diese Abbildung zeigt das rezidivfreie Überleben bei den operierten und adjuvant bestrahlten CD168-negativen und –positiven Patient:innen. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den positiven und negativen CD168-Tumor-Gruppen ($p = 0,489$).

3.4 Operierte CD8-Tumor-Gruppe

In diese Gruppe wurden Patient:innen aufgenommen, die entweder ausschließlich operiert wurden oder zusätzlich zu einer operativen Behandlung eine adjuvante Therapie erhalten haben. Abbildung 16 gibt die Einteilung der Patient:innen in die positive und die negative CD8-Tumor-Gruppe wieder. Bei den eingeschlossenen Patient:innen wurden die Karzinomzellen des Primärkarzinoms, Probeentnahmen und primär befallene Lymphknoten ausgewertet. In der positiven CD8-Gruppe wurden 275 Patient:innen eingeschlossen und in der negativen Gruppe 24 Patient:innen.

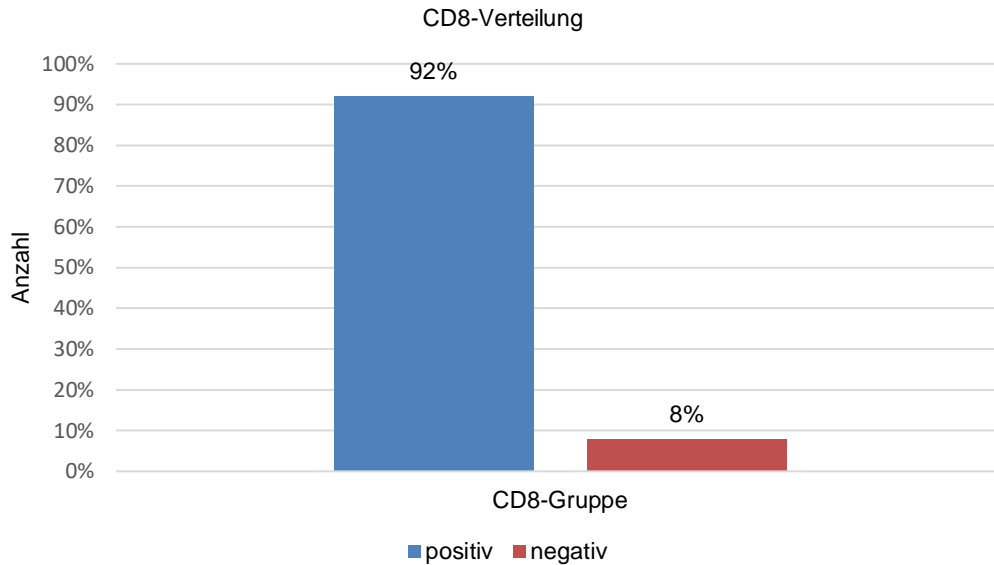


Abbildung 16: Verteilung der positiven und der negativen CD8-Tumor-Patient:innen.

Anmerkung Abbildung 16: In diesem Balkendiagramm wird die Verteilung von CD8 bei positiven und negativen CD8-Tumorpatient:innen dargestellt. Die positive Gruppe umfasst 275 Patienten, was einem Anteil von 92 % entspricht.

3.4.1 Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Gruppe

Die CD8-Tumor-Patient:innen wurden in eine Niedrigrisiko-Gruppe und eine Hochrisiko-Gruppe eingeteilt. Die Aufteilung orientierte sich an UICC I und II, sie wird in Tabelle 13 dargestellt. Die Verteilung in eine Hochrisiko- und eine Niedrigrisiko-Gruppe sieht bei positiven wie bei negativen Patient:innen unterschiedlich aus. Von der negativen CD8-Gruppe wurden 9 (39,1 %) Patient:innen in die Niedrigrisiko-Gruppe eingeschlossen und 14 (60,9 %) in der Hochrisiko-Gruppe. Der positiven Gruppe wurden 122 (47,7 %) Patient:innen der Niedrigrisiko-Gruppe und 134 (52,3 %) der Hochrisiko-Gruppe zugeordnet (Abbildung 17).

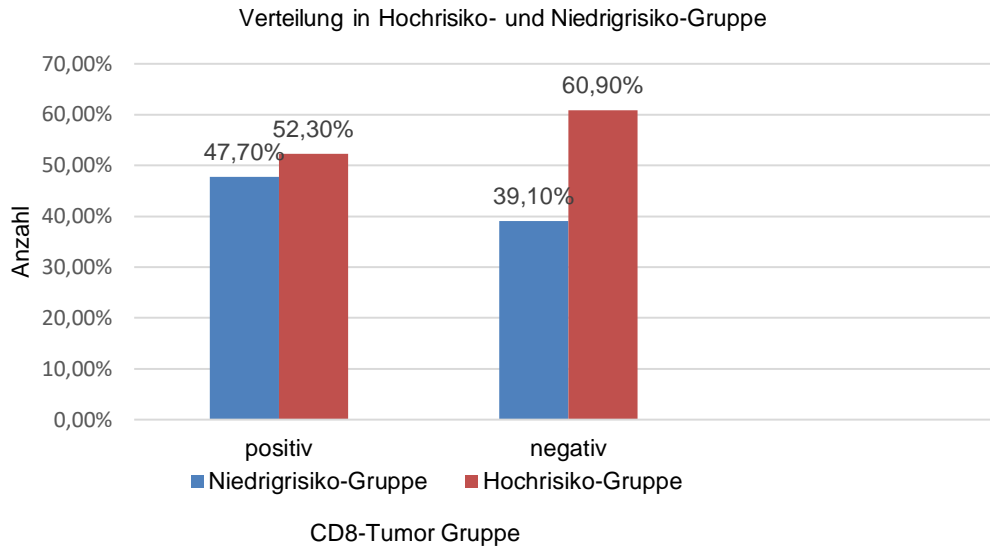


Abbildung 17: Verteilung in Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Gruppe bei positiven und negativen CD8-Tumor- Patient:innen.

Anmerkung Abbildung 17: Dieses Balkendiagramm zeigt die Verteilung der Patient:innen in der positiven und negativen CD8-Tumor-Gruppe nach Hochrisiko- und Niedrigrisiko-Kategorien.

3.4.2 Geschlechterverteilung

Abbildung 18 zeigt den Anteil weiblicher und männlicher Patient:innen in der CD8-negativen und in der -positiven Gruppe. Betrachtet man die in der positiven Gruppe aufgenommenen Patient:innen, so waren 99 (36 %) weiblich und 176 (64 %) männlich. In der negativen Gruppe liegt die Geschlechterverteilung bei 6 (25 %) Frauen und 18 (75 %) Männer. Die Geschlechterverteilung in der positiven und negativen Gruppe ist zu Gunsten der Männer verschoben ($p = 0,279$).

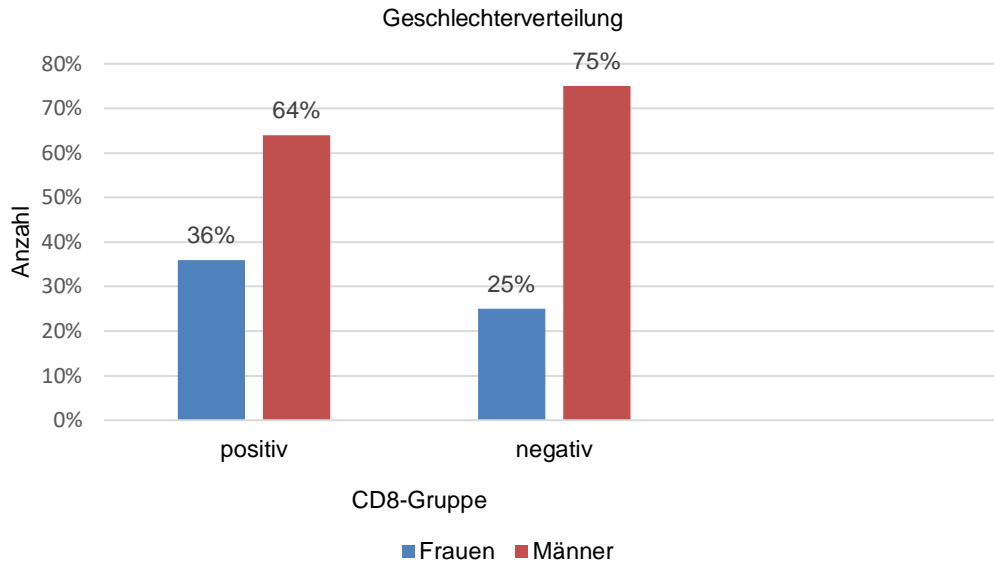


Abbildung 18: Geschlechterverteilung der positiven und negativen CD8-Tumor- Patient:innen.

Anmerkung Abbildung 18: Dieses Balkendiagramm zeigt die Geschlechterverteilung der positiven und negativen CD8-Tumorpatient:innen. Es gibt eine ähnliche Geschlechterverteilung in beiden Gruppen.

3.4.3 Klinisch-pathologische Daten

Die klinisch-pathologischen Eigenschaften der operierten CD8-Tumor-Gruppen sind Tabelle 17 zu entnehmen. In der positiven Gruppe lag bei 41,8 % der Patient:innen das pT1-Stadium vor und in der negativen Gruppe bei 29,2 % der Patient:innen. Das Stadium pT4 war mit 16,7 % am häufigsten in der negativen Gruppe vertreten.

Tabelle 17: Klinisch-pathologische Daten der operierten CD8-Tumor-Gruppe.

		negativ	positiv	p-Wert
Geschlecht	Frauen	6	99	0,279
	Männer	18	176	
Alter bei Erstdiagnose	≤49	5	40	0,445
	50-59	7	77	
	60-69	10	92	
	70-79	1	51	
	80+	1	15	
Rauchen	Ja	20	186	

	Nein	2	65	0,079
Risikogruppe	niedrig	9	122	
	hoch	14	134	0,433
Alkohol	Ja	15	191	
	Nein	7	55	0,313
pT	T1	7	115	
	T2	11	101	
	T3	2	32	
	T4	4	23	
	Tx	0	4	0,463
pN	N0	14	164	
	N1	3	43	
	N2	6	48	0,766
Nodalstatus ECS	N-	14	164	
	N+ ECS-	4	53	
	N+ ECS+	5	38	0,672
Knocheninfiltration pathologisch	0	17	211	
	1	7	64	0,515

Anmerkung Tabelle 17: In dieser Tabelle werden die klinisch-pathologischen Eigenschaften der positiven und negativen CD8-Tumorguppen dargestellt. Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

3.4.4 Gesamtüberleben

Die negative CD8-Gruppe bestand aus 24 Patient:innen, davon sind 13 Patient:innen innerhalb des Erhebungszeitraums verstorben. Die positive Gruppe bestand aus 275 Patient:innen, davon sind 130 Patient:innen innerhalb des Erhebungszeitraums verstorben. In der Gruppe der negativen CD8-Patient:innen wurde ein mittleres Überleben von 74,6 Monaten notiert und in der positiven Gruppe von 85,4 Monaten (Abbildung 19). Dieser Unterschied zeigte keine statistische Signifikanz ($p = 0,447$).

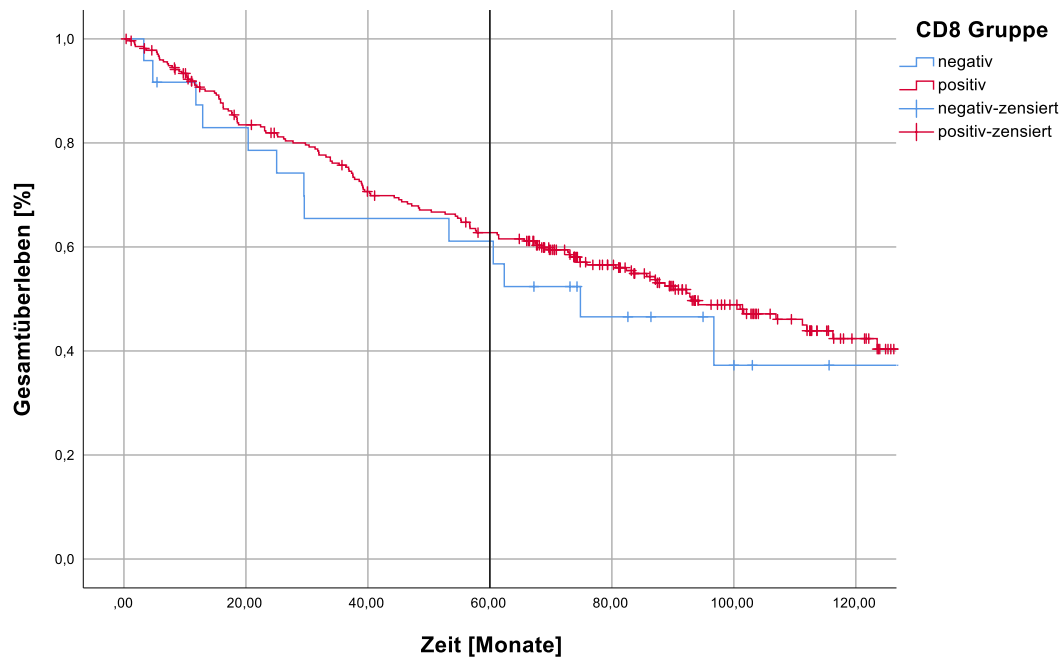


Abbildung 19: Das Gesamtüberleben von CD8-Tumor-positiven und -negativen Patient:innen.

Anmerkung Abbildung 19: Dargestellt wird die Gesamtüberlebensanalyse nach Kaplan-Meier für die positiven und negativen operierten CD8-Tumor-Gruppen. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den positiven und negativen CD8-Tumor-Gruppen ($p = 0,447$).

3.4.5 Rezidivfreies Überleben

Die Eintrittszeit des Rezidivs ist bei der negativen Gruppe im Mittel von kürzerer Dauer (61,4 Monate) als bei der positiven (71 Monate). Diese Diskrepanz ist jedoch nicht statistisch signifikant ($p = 0,598$). Das Rezidiv ist in der negativen CD8-Tumor-Gruppe bei 14 Patient:innen innerhalb des Erhebungszeitraums eingetreten und in der positiven Gruppe bei 144 Patient:innen (Abbildung 20).

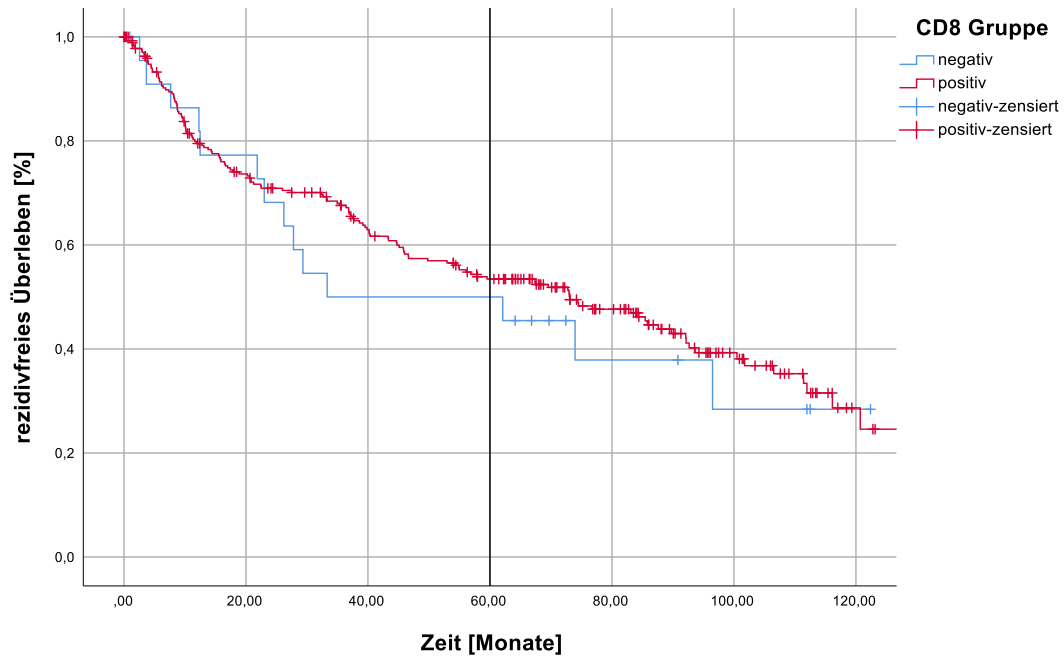


Abbildung 20: Das rezidivfreie Überleben von CD8-Tumor-positiven und -negativen Patient:innen.

Anmerkung Abbildung 20: Diese Abbildung zeigt das rezidivfreie Überleben bei den operierten CD8-negativen und -positiven Patient:innen. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den positiven und negativen CD168-Tumorgruppen ($p = 0,598$).

4 Diskussion

4.1 Das orale Plattenepithelkarzinom

Das orale Plattenepithelkarzinom zählt zu den häufigsten malignen Tumorerkrankungen in der Kopf-Hals-Region, und die Inzidenz steigt stetig (1,77). Trotz therapeutischer Fortschritte liegt die 5-Jahres-Überlebensrate betroffener Patient:innen seit Jahren relativ unverändert um die 50 % (2). Bisherige Versuche, neue Biomarker mit Prognose- und Therapierelevanz bei Patient:innen mit einem OSCC zu etablieren, erwiesen sich nicht als erfolgreich (78). Für die Diagnostik, Risikostratifizierung und Therapieplanung wird in erster Linie die TNM-Klassifikation, Grading und Staging, eingesetzt. Um bestmögliche Therapieformen zu etablieren und Krankheitsverläufe zukünftig besser einschätzen zu können, ist es sinnvoll, bewährte Diagnostikverfahren zu erweitern. In anderen Tumorentitäten wurden bereits molekulare Marker eingesetzt, wie das PSA beim Prostatakarzinom, wodurch eine genauere Einschätzung der Prognose bezüglich zielgerichteter Therapien ermöglicht werden konnte (79).

4.2 Aspekte der Studie sowie ihre Durchführung.

In dieser Arbeit wurde die Aktivität des Rezeptors RHAMM und CD8+ T-Zellen im OSCC untersucht, um neue prognostische, diagnostische und therapeutische Wege zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden die analog sowie digital generierten Patient:innendaten retrospektiv aufbereitet. In Akten und SAP wurden die klinischen Daten nicht konsistent und mit gleicher Qualität beschrieben. Da sich cTNM als problematisch erwies, wurden die erhobenen Daten, die sich häufig als fehlerhaft zeigten, nicht mit in die statistische Auswertung eingebunden. Um diese Arbeit möglichst aussagekräftig und mit anderen vergleichbar zu gestalten, wurde ein sowohl gut reproduzierbares als auch homogenes Patient:innen-kollektiv verwendet, welches sich aus operativ behandelten Patient:innen zusammensetzt.

4.3 Expression von RHAMM

Das Protein RHAMM ist ein vielversprechender Tumormarker, dessen erhöhtes Auftreten in sowohl humanen Tumoren als auch im Teilungsprozess befindlichen Zellen beobachtet wurde (60). Als ungünstiger prognostischer Faktor wurde in mehreren Tumoren, zum Beispiel Brust- und Prostatakarzinom, eine erhöhte RHAMM-Aktivität beschrieben (59,66,80).

Im Zusammenhang mit dieser Arbeit wurden Daten von 297 operierten CD168-Tumor-Patient:innen ausgewertet, die über einen Zeitraum von 2005 bis 2011 an der Charité – Universitätsmedizin Berlin behandelt wurden. Das Ende des klinischen Beobachtungszeitraums wurde auf den 31. Mai 2017 festgelegt; diese Daten sind ebenfalls in die statistische Auswertung eingegangen. Somit ist diese Arbeit zum heutigen Zeitpunkt eine der umfangreichsten und umfasst die größte Anzahl von Patient:innen, bei denen die Aktivität von RHAMM in OSCC untersucht wurde.

Ein Ergebnis dieser Arbeit besteht darin, dass bei 25,6 % aller untersuchten OSCC-Patient:innen ein erhöhter RHAMM-Wert anzutreffen war. Ein ähnlicher Wert, 24,5 %, wurde in der Arbeit von Su-Wen Zhu et al. beschrieben (81). Im Vergleich hierzu wiesen in der Arbeit von Jöhrens et al. 12 % der OSCC-Patient:innen eine erhöhte Expression von RHAMM auf (68). Der Unterschied ließe sich dadurch erklären, dass unser Patient:innen-Kollektiv deutlich größer als das von Jöhrens et al. (n=25) und vergleichbar mit dem von Su-Wen Zhu et al. (n=176) ist (81). Dagegen wurde in der Studie von Yamano et al. eine größere Aktivität von RHAMM beschrieben, bei 65,3 % der Patient:innen konnte eine erhöhte RHAMM-Aktivität beobachtet werden (9). In der Arbeit von Schmitt et al. zeigten 63 % der Tumore eine positive Färbung als Nachweis für RHAMM (82). Ein direkter Vergleich der Werte ist nicht möglich, da in der Literatur für die Aktivität von RHAMM in OSCC unterschiedliche Cut-Off-Werte verwendet wurden. Sowohl in dieser als auch der Arbeit von Shigeishi et al. wurde ein Cut-Off von 10 % angewendet (83). In der Studie von Jöhrens et al. wurde ein Cut-Off von 20 % beschrieben, und in der Arbeitsgruppe von Su-Wen Zhu et al. wurden ein Median Cut-Off und bester Cut-Off nach Budczies bestimmt (68,81). Bei Yamano et al. wurden Patient:innen mit einem immunhistochemischen RHAMM-Färbungs-Score > 89,12 als

positiv eingestuft (9). Angesichts der unterschiedlichen Werte für den Cut-Off erscheint es erstrebenswert, hier zu einer Standardisierung zu kommen.

In der vorliegenden Arbeit sowie in der Arbeit von Jöhrens et al. wurden OSCC-Patient:innen in zwei Gruppen aufgeteilt (68). In der Niedrigrisiko-Gruppe wurden Patient:innen mit Tumoren im Frühstadium und in der Hochrisikogruppe Patient:innen mit Tumoren im fortgeschrittenen Stadium aufgenommen. Im Rahmen der Analyse dieser Arbeit wurde nachgewiesen, dass in der Gruppe mit Patient:innen mit hohem Risiko, verglichen mit denen mit niedrigem Risiko, die Aktivität von RHAMM erhöht wurde. Hier wurde ein statistisch hochsignifikanter Wert festgestellt ($p = 0,003$). Dies entspricht den Angaben von Jöhrens et al., die in ihrer Arbeit eine hochsignifikante statistische Korrelation zwischen der Hochrisikogruppe und dem Vorhandensein von CD168-positiven Tumorzellen beobachtet hat. Im Vergleich mit dieser Studie muss beachtet werden, dass in der Studie von Jöhrens et al. Kopf-Hals-Tumore untersucht wurden, von denen 25 OSCC waren. Da allerdings die genaue Korrelation von hochreguliertem RHAMM in der Hochrisikogruppe für OSCC nicht ausführlich beschrieben wurde, bleibt es unklar, ob die signifikante Korrelation auch für OSCC zutrifft. Die Ergebnisse dieser Studie sind auch mit denen von Yamano et al. vergleichbar (9). Yamano et al. berichtet, dass eine höhere Expression von RHAMM signifikant mit dem Stadium des OSCC (T3 und T4) korreliert und in fortgeschrittenen Stadien (III und IV) von OSCC RHAMM hochreguliert (9). In der Arbeit von Su-Wen Zhu et al. wurde ebenfalls eine erhöhte RHAMM-Expression in fortgeschrittenen Stadien von OSCC festgestellt (81). Diese Erkenntnisse zeigen, dass RHAMM ein großes Potenzial besitzt, um als prognostischer Marker bei OSCC angewendet zu werden. Bis sich dieses Potenzial gänzlich entfaltet, sind weitere Studien nötig, die die genaue Funktion von RHAMM in OSCC untersuchen, denn diese wurde bis zum heutigen Zeitpunkt nicht genau erforscht (81).

Die Forschungsergebnisse, die sich in der Literatur zur Frage finden, wie sich ein hochregulierter RHAMM auf die Prognose von OSCC-Patient:innen auswirkt, sind widersprüchlich (68,81,83). Bei Analysen dieser Arbeit wurde das Überleben von operierten, operierten und bestrahlten und von operierten Patient:innen der Niedrigrisikogruppe untersucht. Bei allen in die Untersuchung eingeschlossenen Patient:innen wurde die Überlebensanalyse mithilfe der Kaplan-Meier-Methode durchgeführt. Es wurden keine signifikanten Unterschiede im Überleben von

Patient:innen sowohl in der operierten Gruppe als auch bei den operierten und bestrahlten Patient:innen gefunden. Bei Patient:innen mit erhöhter RHAMM-Aktivität wurden kürzere Überlebensraten beobachtet als bei Patient:innen mit niedriger RHAMM-Expression. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von Shigeishi et al. (83). Auch in der Studie von Jöhrens et al. wurde in den Kaplan-Meier-Analysen für das Gesamtüberleben, krankheitsfreie sowie progressionsfreie Überleben keine signifikanten Unterschiede zwischen CD168-positiven und -negativen Kopf-Hals-Tumoren gefunden (68). Jedoch muss in diesem Zusammenhang beachtet werden, dass die Analysen von Jöhrens et al. aufgrund der kurzen Beobachtungszeit nur eine geringe Aussagekraft besitzen.

Die Resultate dieser Studie lassen jedoch die Annahme zu, dass die Hochregulierung von RHAMM die Prognosen von Patient:innen tendenziell negativ beeinflussen kann. Diese Hypothese wurde im Jahr 2022 durch die Ergebnisse der Arbeitsgruppe von Su-Wen Zhu et al. bestätigt (81). In ihrer Veröffentlichung wurde eine signifikante Korrelation zwischen Hochregulierung von RHAMM und einem schlechteren Überleben der Patient:innen konstatiert. Zwar handelt es sich hierbei um vielversprechende Ergebnisse, jedoch ist die Nachbeobachtungszeit von einem Jahr sehr kurz. Aus diesem Grund erweist sich die Aussagekraft dieser statistischen Auswertung als deutlich eingeschränkt. Es wäre wünschenswert, Studien mit längerer Beobachtungszeit durchzuführen, um den Einfluss von RHAMM-Hochregulierung auf das Überleben besser beurteilen zu können.

Diese Arbeit zeigt zum ersten Mal auf, dass die Überlebenswahrscheinlichkeit von Patient:innen, bei denen eine erhöhte RHAMM-Aktivität bei OSCC in einem frühen Stadium des Tumors vorliegt, signifikant niedriger ist. Der Einfluss von RHAMM auf das Überleben ist ausschließlich in der operierten Gruppe erkennbar. Bei Betrachtung des Überlebens der operierten und bestrahlten Patient:innen in beiden Gruppen (mit und ohne RHAMM-Expression), fällt auf, dass sie sehr ähnlich sind. Dies legt nahe, dass die Radiotherapie den negativen Einfluss von RHAMM auf das Überleben der Patient:innen aufgehoben haben könnte. Daher wäre es sinnvoll zu untersuchen, ob bei Patienten mit erhöhter RHAMM-Aktivität bei OSCC in einem frühen Tumorstadium eine adjuvante Radiotherapie von Nutzen sein könnte. Hierfür sind weitere Studien erforderlich, da bisher keine Publikationen zu dieser Fragestellung vorliegen.

Die Ergebnisse dieser Studie könnten dazu beitragen, dass Patient:innen mit OSCC in einem frühen Stadium von RHAMM als Prognosemarker stark profitieren könnten. Dies könnte dazu führen, dass eine ungünstige Prognose bei Patient:innen in einem nicht fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung möglicherweise frühzeitig erkannt wird und eine adjuvante Therapie rechtzeitig eingeleitet werden kann.

4.4 Aktivität von zytotoxischen CD8+ T-Zellen

Es wird angenommen, dass die Anwesenheit von Immunzellen im Tumorgewebe der Versuch des Wirts ist, den Tumor zu beseitigen (84). Die Ansammlungen von CD8+ T-Zellen im Tumorgewebe ist ein Nachweis für eine Immunüberwachung des Tumors, die aber nicht ausreichend ist, um das Tumorstadium zu unterdrücken (85). Die Tumorzellen sind in der Lage, dem Immunsystem zu entkommen und das Fortschreiten des Tumors aufrechtzuerhalten (86). Mehrere Autoren haben sich mit der Korrelation zwischen CD8+ T-Zellen und der Patient:innenprognose bei unterschiedlichen Tumoren beschäftigt und gezeigt, dass eine hohe Tumordinfiltration durch CD8+ T-Zellen bei Patient:innen einen positiven Einfluss auf das Überleben haben kann (6,85,87,88). Diese Tumordinfiltration durch Immunzellen gestaltet sich je nach Art des Tumors unterschiedlich (84). Für Kopf-Hals-Tumoren wurde der Zusammenhang zwischen CD8+ T-Zellen und dem Überleben der Patient:innen in einer Metaanalyse von de Ruiter et al. untersucht (85). Das Vorhandensein von CD8+ T-Zellen in Kopf-Hals-Tumoren wurde signifikant mit einer günstigen Prognose in Verbindung gebracht (85). Bei Kopf-Hals-Tumoren haben Untersuchungen auch gezeigt, dass Patient:innen mit einer Immunschwäche eine schlechtere Prognose aufweisen (6). Studien beschreiben, dass die Bestimmung der CD8+ -T-Zellen-Dichte einen hohen prognostischen Wert liefert, und deswegen gelten CD8+ T-Zellen als ein vielversprechender Biomarker (3,6).

In der vorliegenden Studie wurde die Infiltration durch CD8+ T-Zellen bei OSCC-Patient:innen untersucht und mit klinisch-pathologischen Daten verglichen. Das Ziel dieser Arbeit war es, die prognostische Bedeutung von tumorinfiltrierenden CD8+ T-Zellen beim oralen Plattenepithelkarzinom zu bestimmen.

In dieser Arbeit wurde keine signifikante Korrelation zwischen klinisch-pathologischen Daten und den CD8-Gruppen festgestellt. Diese Beobachtung wurde auch in der Studie von Zhang et al. beschrieben (89). Es gibt aber auch Autoren, die eine Korrelation zwischen der Dichte von CD8+ T-Zellen und klinisch-pathologischen Daten festgestellt haben (90). Die Arbeitsgruppe von Lequerica-Fernández et al. beschreibt, dass die CD8+ T-Zellen-Dichte in einem Zusammenhang mit Rauch- und Alkoholgewohnheiten steht (90). Diese Beobachtung kann bedeuten, dass Tabak- und Alkoholkonsum nicht nur Risikofaktoren bei OSCC sind, sondern auch einen Einfluss auf das Immunsystem ausüben können (90).

Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass tumorinfiltrierende CD8+ T-Zellen umfassend OSCC durchdringen. Zhang et al. und Lequerica-Fernández et al. beschreiben auch, dass OSCCs eine große Dichte von CD8+ T-Zellen aufweisen und häufig ulzeriert sind (89,90). Bei der Infiltration durch CD8+ T-Zellen in OSCC spielt die Tumormikroumgebung eine wichtige Rolle. Das orale Plattenepithelkarzinom entsteht in einem Umfeld, das durch unterschiedliche Mikroorganismen, überwiegend Bakterien, besiedelt ist, wodurch die Aktivität von CD8+ T-Zellen beeinflusst wird (90). Trotz starker Besiedelung der OSCC von CD8+ T-Zellen konnte in dieser Arbeit kein Zusammenhang zwischen der Infiltration von CD8+ T-Zellen und der Prognose gezeigt werden. Die immunhistologischen Untersuchungen dieser Arbeit zeigen keine signifikanten Unterschiede, was das Überleben von Patient:innen der positiven und negativen CD8-Gruppe betrifft. Dieser Zusammenhang zwischen der Infiltration von CD8+ T-Zellen und der Prognose bei OSCC wurde auch in mehreren Studien untersucht (4–6,89–91). Die Ergebnisse dieser Studien sind verschieden, und der Einfluss von CD8+ T-Zellen auf die Prognose von OSCC-Patient:innen ist immer noch umstritten. Ergebnisse, die im Rahmen dieser Arbeit erzielt werden konnten, stimmen mit den Resultaten von Zhang et al. überein (89). In der Studie von Zhang et al. wurde gezeigt, dass die Dichte der CD8+ T-Zellen nicht mit dem Gesamtüberleben von OSCC-Patient:innen zusammenhängt (89). Ergebnisse dieser Arbeit entsprechen auch den Daten, die bereits in anderen Studien beschrieben wurden (6,90,91). In der Studie von Lequerica-Fernández et al. war die Anzahl der CD8+ T-Zellen kein signifikanter Prädiktor für das Überleben von OSCC-Patient:innen (90). Borsetto et al. untersuchte den prognostischen Wert von CD8+ T-Zellen beim Plattenepithelkarzinom im Kopf-Hals-Bereich (6). In seiner Metaanalyse wurden 28 Studien eingeschlossen, die bis September 2020 erschienen waren. Borsetto et al. hat keinen nennenswerten

Zusammenhang zwischen CD8+ T-Zellen bei Patient:innen mit OSCC und dem Überleben gefunden (6). Als Begründung dafür schreibt Borsetto et al., dass bei Plattenepithelkarzinom im Kopf-Hals-Bereich die Korrelation zwischen CD8+ T-Zellen und dem Gesamtüberleben von der Lage des Tumors abhängig ist und nicht von der CD8+ T-Zellen Dichte (6). Ähnliche Überlegungen wurden in der Arbeit von Lequerica-Fernández et al. beschrieben. In dieser Studie wurde vorgeschlagen, die Zungenkarzinome getrennt von anderen oralen Plattenepithelkarzinomen zu bewerten (90). Es wäre sinnvoll, in neuen Studien die Tumordinfiltration durch CD8+ T-Zellen mit der genauen Tumorumgebung in der Mundhöhle zu korrelieren. Sato et al. Ergebnisse deuten darauf hin, dass nicht die Dichte von CD8+ T-Zellen entscheidend ist, sondern das Verhältnis von Immunzellen zueinander (88). Sato et al. beschreibt, dass CD4+ T-Zellen die prognostische Bedeutung von CD8+ T-Zellen beeinflussen können (88). Diese Ergebnisse unterstützen das Vorhandensein verschiedener TIL-Subtypen in der Tumormikroumgebung, die miteinander interagieren, um ihre Wirkungen auszuüben, was die Idee unterstreicht, dass die Anzahl und Funktionen von TILs dynamischer Natur sind (90). In der Tumormikroumgebung befinden sich verschiedene Immunzellen, die miteinander interagieren, um ihre Wirkungen auszuüben, wodurch sich die Funktion und Aktivität von Immunzellen von Tumor zu Tumor unterscheidet (90). Lequerica-Fernández et al. beschreiben, dass die prognostische Relevanz der CD8+ T-Zellen bei OSCC in Bezug auf die Interaktion der Immunzellen zueinander betrachtet werden muss und dass CD8+ T-Zellen auch andere Funktionen als zytotoxische haben könnten (90). Es wäre sinnvoll, die Aktivität von CD8+ T-Zellen mit anderen Immunzellen zu vergleichen, um zu schauen, welchen Einfluss sie aufeinander ausüben. Das hat auch die Arbeitsgruppe von Wolf et al. vorgeschlagen (91). In der Studie von Wolf et al. wurde eine geringe CD8+ T-Zellen- und CD4+ T-Zellen-Infiltration mit dem Auftreten von Rezidiven in Verbindung gebracht (91). Diese Beobachtung zeigt, dass das Gleichgewicht zwischen CD8+ T-Zellen und CD4+ T-Zellen eine wichtige Rolle bei der Tumorentstehung hat. Wolf et al. beschreibt auch eine fehlende Korrelation zwischen CD8+ T-Zellen und dem Gesamtüberleben von OSCC-Patient:innen (91).

Gleichzeitig haben Berichte eine signifikante Korrelation zwischen der CD8+ T-Zellen-Dichte in OSCC und einem verbesserten Überleben gezeigt (3,5). In der Metaanalyse von Huang et al. wurden 10 Studien bis zum 20. April 2019 eingeschlossen, die den prognostischen Wert von CD8+ T-Zellen in OSCC beurteilt haben (5). Diese

Metanalyse zeigt, dass eine starke Infiltration von CD8+ T-Zellen ein längeres Gesamtüberleben bei OSCC-Patient:innen begünstigt (5). Eine ähnliche Metanalyse wurde 2019 auch von Hadler-Olsen et al. durchgeführt (4). In der Metanalyse von Hadler-Olsen et al. wurden 3 Studien ausgewertet, die den prognostischen Wert von CD8+ T-Zellen in OSCC untersucht haben (4). Hadler-Olsen et al. beschreibt, dass eine erhöhte Anzahl tumorinfiltrierender CD8+ T-Zellen in der Regel mit einer etwas längeren Überlebenszeit verbunden war (4). Diese Autoren identifizierten CD8+ T-Zellen aber nicht als vielversprechendsten Prädiktor für das Überleben von OSCC-Patient:innen und behaupteten, dass die Infiltration von CD8+ T-Zellen in OSCC als prognostischer Marker noch lange nicht etabliert wird (4). Diese widersprüchlichen Ergebnisse zeigen, dass die genaue Funktion von CD8+ T-Zellen bei der Prognose von OSCC immer noch unklar ist. Es ist wichtig, weitere Studien durchzuführen, um die genaue Funktion von CD8+ T-Zellen in OSCC zu untersuchen. Die Bestimmung von CD8+ T-Zellen ermöglicht eine schnell durchführbare diagnostische Untersuchung, um den Krankheitsverlauf zu bestimmen und die bestmögliche Therapieform zu planen. Durch weitere Untersuchungen könnte die Erfassung der Dichte von CD8+ T-Zellen in OSCC eine reproduzierbare Bewertungsmethode sein, die als Prognosefaktor eingeführt werden könnte. Für das Überleben von OSCC-Patient:innen ist es von großer Bedeutung, die genaue Beteiligung von CD8+ T-Zellen an der Tumorabwehr zu verstehen.

4.5 Schlussfolgerung

Diese Arbeit analysierte die prädiktive Rolle von CD8+ T-Zellen und dem RHAMM-Rezeptor bei OSCC-Patient:innen. Es hat sich wiederholt gezeigt, dass eine erhöhte RHAMM-Aktivität ein ungünstiger Prognosefaktor bei mehreren Karzinomarten wie Brustkarzinom oder Prostatakarzinom ist (59,66). In der vorliegenden Studie korrelierte eine erhöhte RHAMM-Aktivität mit kürzeren Überlebensraten der Patient:innen und eine niedrigere RHAMM-Aktivität mit einem verlängerten Überleben, allerdings war dies statistisch nicht signifikant. Mit den ermittelten Daten kann erstmalig gezeigt werden, dass Patient:innen mit gesteigerter RHAMM-Aktivität bei OSCC in frühem Tumorstadium eine signifikant niedrigere Überlebenswahrscheinlichkeit vorweisen als

Patient:innen in frühem Tumorstadium ohne RHAMM-Aktivität. Diese Resultate der Untersuchung belegen den Nutzen von RHAMM als Prognosemarker für Patient:innen mit OSCC in Frühstadien. Es wurde gezeigt, dass additional zum TNM-Staging-System RHAMM ein hohes Potenzial für den Einsatz als prognostischer Biomarker für Patient:innen mit OSCC aufweist. Allerdings sind die Kenntnisse über die genauen Funktionen von RHAMM noch lückenhaft. Weitere Forschung ist erforderlich, um ein Verständnis der verschiedenen Funktionen von RHAMM in OSCC zu erlangen.

Tumordinfiltrierende Immunzellen sind an der Karzinogenese in essenzieller Weise beteiligt. Der prognostische Wert von tumordinfiltrierenden CD8+ T-Zellen wurde in diversen Karzinomen analysiert (6,85,87,88). Die vorliegende Studie zeigt, dass ein OSCC in hohem Maße von tumordinfiltrierenden CD8+ T-Zellen durchsetzt ist. Dies ist ein Hinweis darauf, dass sich das Immunsystem bei OSCC-Patient:innen verstärkt mit dem Tumor auseinandersetzt. Allerdings fand sich in den vorliegenden Daten kein signifikanter Zusammenhang zwischen tumordinfiltrierenden CD8+ T-Zellen und der Überlebensrate von Patient:innen mit OSCC. Andere Untersuchungen über den prädiktiven Wert von CD8+ T-Zellen in OSCC zeigten gemischte Resultate hinsichtlich deren potenzieller Verwendung als Prognosemarker (4,5,90). Während einige Autoren kein Potenzial von CD8+ T-Zellen für die Verwendung als diagnostischer Biomarker bei Patient:innen mit OSCC sehen, weisen andere Arbeiten auf einen tatsächlichen Einfluss von CD8+ T-Zellen auf die Prognose in OSCC hin (4,5). Verschiedene Faktoren können auf die prognostische Relevanz von CD8+ T-Zellen bei Patient:innen mit oralem Plattenepithelkarzinom einwirken. Einige Autoren sind der Meinung, dass bei der Beurteilung das Zusammenspiel von Immunzellen und die genaue Lage des Tumors berücksichtigt werden müssen und dass CD8+ T-Zellen möglicherweise auch eine nicht-zytotoxische Funktion haben (90). Daher ist es unabdingbar, dass für die Bestimmung des prognostischen Wertes von CD8+ T-Zellen bei oralen OSCC weitergehende Forschung durchgeführt wird.

5 Literaturverzeichnis

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209–49.
2. Barnes B, Kraywinkel K, Nowossadeck E, Schönfeld I, Starker A, Wienecke A, Wolf U. Bericht zum Krebsgeschehen Deutschl 2016 Zent für Krebsregisterdaten im Robert Koch-Institut (Hrsg) Berlin. Robert Koch-Institut; 2016.
3. Fang J, Li X, Ma D, Liu X, Chen Y, Wang Y, Lui VWY, Xia J, Cheng B, Wang Z. Prognostic significance of tumor infiltrating immune cells in oral squamous cell carcinoma. *BMC Cancer.* 2017;17:1–9.
4. Hadler-Olsen E, Wirsing AM. Tissue-infiltrating immune cells as prognostic markers in oral squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer.* 2019;120(7):714–27.
5. Huang Z, Xie N, Liu H, Wan Y, Zhu Y, Zhang M, Tao Y, Zhou H, Liu X, Hou J, Wang C. The prognostic role of tumour-infiltrating lymphocytes in oral squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *J Oral Pathol Med.* 2019;48(9):788–98.
6. Borsetto D, Tomasoni M, Payne K, Polesel J, Deganello A, Bossi P, Tysome JR, Masterson L, Tirelli G, Tofanelli M, Boscolo-Rizzo P. Prognostic significance of cd4+ and cd8+ tumor-infiltrating lymphocytes in head and neck squamous cell carcinoma: A meta-analysis. *Cancers (Basel).* 2021;13(4):1–15.
7. Weinberg MA, Estefan DJ. Assessing oral malignancies. *Am Fam Physician.* 2002;65(7):1379–87.
8. Wolff KD, Al-Nawas B, Al-Sharif U, Beck J, Bikowski K, Bissinger O, Böhme P, BöntheHieronymus I, Bootz F, Bozzato A, Budach W, Burkhardt A, Danker H, Eberhardt W, Engers K, Fietkau R, Frerich B, Gauler T, Gehrman-Weide K, Germann G, Giannakopoulos N, Gittler-Hebestreit N, Grötz K, Hertrampf K, Hoffmann J, Horch R, Ihrler S, Kaufmann R, Kehrer A, Keilholz U, Klußmann P,

Kolk A, Lell M, Lübbe A, Mantey W, Mischkowski R, Moll R, Nieberler M, Nusser-Müller-Busch R, Pistner H, Paradies K, Rau A, Reichert T, Reinert S, Schilling B, Schliephake H, Schmidt K, Schmitter M, Singer S, Terheyden H, Troost E, Waterboer T, Westhofen M, Weitz J, Wirz S, Wittlinger M, Zöphel K. Mundhöhlenkarzinom Diagnostik und Therapie des Mundhöhlenkarzinoms. AWMF Leitlinie. 2021.

9. Yamano Y, Uzawa K, Shinozuka K, Fushimi K, Ishigami T, Nomura H, Ogawara K, Shiiba M, Yokoe H, Tanzawa H. Hyaluronan-mediated motility: a target in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oncol.* 2008;32(5):1001–9.
10. Zaravinos A. An updated overview of HPV-associated head and neck carcinomas. *Oncotarget.* 2014;5(12):3956.
11. Mao L, Hong WK, Papadimitrakopoulou VA. Focus on head and neck cancer. *Cancer Cell.* 2004;5(4):311–6.
12. Scully C, Bagan J. Oral squamous cell carcinoma overview. *Oral Oncol.* 2009;45(4/5):301–8.
13. Calhoun KH, Fulmer P, Weiss R, Hokanson JA. Distant metastases from head and neck squamous cell carcinomas. *Laryngoscope.* 1994;104(10):1199–205.
14. Bartek J, Bartkova J, Lukas J. DNA damage signalling guards against activated oncogenes and tumour progression. *Oncogene.* 2007;26(56):7773–9.
15. Ronckers C, Spix C, Trübenbach C, Katalinic A, Christ M, Cicero A, Folkerts J, Hansmann J, Kranzhöfer K, Kunz B, others. Krebs in Deutschland für 2019/2020. 2023;
16. Gangane N, Chawla S, Anshu GSS, Sharma SM. Reassessment of risk factors for oral cancer. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2007;8(2):243.
17. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, Austin DF, Greenberg RS, Preston-Martin S, Bernstein L, Schoenberg JB, Stemhagen A, Fraumeni JF. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res.* 1988;48(11):3282–7.
18. Barnes L. World Health Organization classification of tumours. *Pathol Genet*

- head neck tumours. 2005;
19. Zhang ZY, Sdek P, Cao J, Chen WT. Human papillomavirus type 16 and 18 DNA in oral squamous cell carcinoma and normal mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004;33(1):71–4.
 20. Hashibe M, Brennan P, Chuang S chun, Boccia S, Castellsague X, Chen C, Curado MP, Dal Maso L, Daudt AW, Fabianova E, Fernandez L, Wünsch-Filho V, Franceschi S, Hayes RB, Herrero R, Kelsey K, Koifman S, Vecchia C La, Lazarus P, Fabio L, Lence JJ, Mates D, Matos E, Menezes A, McClean MD, Muscat J, Eluf-Neto J, Olshan AF, Purdue M, Rudnai P, Schwartz SM, Smith E, Sturgis EM, Szeszenia-Dabrowska N, Talamini R, Wei Q, Winn DM, Shangina O, Pilarska A, Zhang ZF, Ferro G, Berthiller J, Boffetta P. Interaction between tobacco and alcohol use and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *Cancer Epidemiol Prev Biomarkers.* 2009;18(2):541–50.
 21. Pavia M, Pileggi C, Nobile CGA, Angelillo IF. Association between fruit and vegetable consumption and oral cancer: a meta-analysis of observational studies. *Am J Clin Nutr.* 2006;83(5):1126–34.
 22. Pöschl G, Seitz HK. Alcohol and cancer. *Alcohol Alcohol.* 2004;39(3):155–65.
 23. Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 1999;91(14):1194–210.
 24. Hunter KD, Parkinson EK, Harrison PR. Profiling early head and neck cancer. *Nat Rev Cancer.* 2005;5(2):127.
 25. Reichart PA. Primärprävention des Mundhöhlenkarzinoms und oraler Präkanzerosen. *Mund-, Kiefer-und Gesichtschirurgie.* 2000;4(6):357–64.
 26. Reidy J, McHugh E, Stassen LFA. A review of the relationship between alcohol and oral cancer. *Surg.* 2011;9(5):278–83.
 27. Szabo G, Mandrekar P. A recent perspective on alcohol, immunity, and host defense. *Alcohol Clin Exp Res.* 2009;33(2):220–32.

28. Lajer CB, Buchwald CVON. The role of human papillomavirus in head and neck cancer. *Apmis*. 2010;118(6–7):510–9.
29. Shi W, Kato H, Perez-Ordóñez B, Pintilie M, Huang S, Hui A, O’Sullivan B, Waldron J, Cummings B, Kim J, others. Comparative prognostic value of HPV16 E6 mRNA compared with in situ hybridization for human oropharyngeal squamous carcinoma. *J Clin Oncol*. 2009;27(36):6213–21.
30. Klussmann JP, Weissenborn SJ, Wieland U, Dries V, Kolligs J, Jungehüelsing M, Eckel HE, Dienes HP, Pfister HJ, Fuchs PG. Prevalence, distribution, and viral load of human papillomavirus 16 DNA in tonsillar carcinomas. *Cancer Interdiscip Int J Am Cancer Soc*. 2001;92(11):2875–84.
31. Westra WH. The pathology of HPV-related head and neck cancer: implications for the diagnostic pathologist. *Semin Diagn Pathol*. 2015;32(1):42–53.
32. Nauta IH, Heideman DAM, Brink A, van der Steen B, Bloemena E, Koljenović S, de Jong RJ, Leemans CR, Brakenhoff RH. The unveiled reality of human papillomavirus as risk factor for oral cavity squamous cell carcinoma. *Int J cancer*. 2021;149(2):420–30.
33. Pindborg JJ, Reichart PA, Smith CJ, der Waal I. Definitions and explanatory notes. In: *Histological typing of cancer and precancer of the oral mucosa*. Springer; 1997. p. 11–31.
34. der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol*. 2009;45(4–5):317–23.
35. Reichart PA. Orale Leukoplakie/Erythroplakie. Vol. 62, Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Zahn-Mund-und Kieferheilkunde. *DZZ*. 2007.
36. Wittekind C, Meyer HJ. *TNM Klassifikation maligner Tumoren*. 7. Aufl. UICC Wiley. VCH, Weinheim; 2010.
37. Siegert D med. S. Trillium Krebsmedizin. 2017. p. <https://www.trillium.de/zeitschriften/trillium-kre> Achte Auflage der TNM-

Klassifikation maligner Tumoren - was gibt es Neues?

38. Argiris A, Karamouzis M V, Raben D, Ferris RL. Head and neck cancer. *Lancet*. 2008;371(9625):1695–709.
39. Shah JP, Gil Z. Current concepts in management of oral cancer--surgery. *Oral Oncol*. 2009;45(4–5):394–401.
40. Magnes T, Egle A, Greil R, Melchardt T. Update on squamous cell carcinoma of the head and neck. *memo-Magazine Eur Med Oncol*. 2017;10(4):220–3.
41. Hermanek P, Wittekind C. Residual tumor (R) classification and prognosis. In: *Seminars in surgical oncology*. 1994. p. 12–20.
42. Seiwert TY, Cohen EEW. State-of-the-art management of locally advanced head and neck cancer. *Br J Cancer*. 2005;92(8):1341.
43. Robbins KT, Clayman G, Levine PA, Medina J, Sessions R, Shaha A, Som P, Wolf GT. Neck dissection classification update: revisions proposed by the American Head and Neck Society and the American Academy of Otolaryngology--Head and Neck Surgery. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2002;128(7):751–8.
44. Jawdynski F. Przypadek raka pierwotnego szyi. tz raka skrzelowego Volkmann'a. Vol. 8, Wyciecie nowotworu wraz z rezekcyjã teetnicy szyjowej wspólnej i zyły szyjowej wewnetrznej. *Wyzdrowienie. Gaz Lek*. 1888. 530–537 p.
45. Crile G. Excision of cancer of the head and neck - With special reference to the pian of dissection based on one hundred and thirty-two operation's. *J Am Med Assoc*. 1906;47(22):1780–6.
46. Robbins K, Shaha A, Medina J, et al. Consensus Statement on the Classification and Terminology of Neck Dissection. *Arch Otolaryngol - Head Neck Surg*. 2008;134(5):536–8.
47. D'Cruz AK, Vaish R, Kapre N, Dandekar M, Gupta S, Hawaldar R, Agarwal JP, Pantvaidya G, Chaukar D, Deshmukh A, others. Elective versus therapeutic

- neck dissection in node-negative oral cancer. *N Engl J Med.* 2015;373(6):521–9.
48. Ganly I, Kaye SB. Recurrent squamous-cell carcinoma of the head and neck: overview of current therapy and future prospects. *Ann Oncol.* 2000;11(1):11–6.
 49. Bernier J, Schneider D. Cetuximab combined with radiotherapy: an alternative to chemoradiotherapy for patients with locally advanced squamous cell carcinomas of the head and neck? *Eur J Cancer.* 2007;43(1):35–45.
 50. Meyer JE, Brocks C, Maune S, Strnad V, Werner JA, Wollenberg B, Kovács G. Brachytherapy for the treatment of head and neck cancer. *HNO.* 2010;58(9):947–58.
 51. Pan Q, Gorin MA, Teknos TN. Pharmacotherapy of head and neck squamous cell carcinoma. *Expert Opin Pharmacother.* 2009;10(14):2291–302.
 52. Vermorken JB, Mesia R, Rivera F, Remenar E, Kawecki A, Rottey S, Erfan J, Zabolotnyy D, Kienzer HR, Cupissol D, Peyrade F, Benasso M, Vynnychenko I, Raucourt D De, Bokemeyer C, Schueler A, Amellal N, Hitt R. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Engl J Med.* 2008;359(11):1116–27.
 53. Li Y, Zhang J. Expression of mutant p53 in oral squamous cell carcinoma is correlated with the effectiveness of intra-arterial chemotherapy. *Oncol Lett.* 2015;10(5):2883–7.
 54. Haddad RI, Shin DM. Recent advances in head and neck cancer. *N Engl J Med.* 2008;359(11):1143–54.
 55. Schoenfeld JD. Immunity in head and neck cancer. *Cancer Immunol Res.* 2015;3(1):12–7.
 56. Zander H, Müller-Egert S, Zwiewka M, Groß S, van Zandbergen G, Engelbergs J. Checkpointinhibitoren in der Tumorthherapie. *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz.* 2020;63(11):1322–30.
 57. Brahmer JR, Lacchetti C, Schneider BJ, Atkins MB, Brassil KJ, Caterino JM,

- Chau I, Ernstoff MS, Gardner JM, Ginex P, Hallmeyer S, Chakrabarty JH. Management of immune-related adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2018;36(17):1714.
58. Lynn BD, Li X, Cattini PA, Turley EA, Nagy JI. Identification of sequence, protein isoforms, and distribution of the hyaluronan-binding protein RHAMM in adult and developing rat brain. *J Comp Neurol*. 2001;439(3):315–30.
 59. Shigeishi H, Higashikawa K, Takechi M. Role of receptor for hyaluronan-mediated motility (RHAMM) in human head and neck cancers. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014;140(10):1629–40.
 60. Chen YT, Chen Z, Du YCN. Immunohistochemical analysis of RHAMM expression in normal and neoplastic human tissues: a cell cycle protein with distinctive expression in mitotic cells and testicular germ cells. *Oncotarget*. 2018;9(30):20941.
 61. Sohr S, Engeland K. RHAMM is differentially expressed in the cell cycle and downregulated by the tumor suppressor p53. *Cell Cycle*. 2008;7(21):3448–60.
 62. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature*. 1991;351(6326):453.
 63. Lesley J, Hyman R, English N, Catterall JB, Turner GA. CD44 in inflammation and metastasis. *Glycoconj J*. 1997;14(5):611–22.
 64. Leicht DT, Balan V, Kaplun A, Singh-Gupta V, Kaplun L, Dobson M, Tzivion G. Raf kinases: function, regulation and role in human cancer. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Molecular Cell Res*. 2007;1773(8):1196–212.
 65. Santarpia L, Lippman SM, El-Naggar AK. Targeting the MAPK--RAS--RAF signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets*. 2012;16(1):103–19.
 66. Wang D, Narula N, Azzopardi S, Smith RS, Nasar A, Altorki NK, Mittal V, Somwar R, Stiles BM, Du YCN. Expression of the receptor for hyaluronic acid

- mediated motility (RHAMM) is associated with poor prognosis and metastasis in non-small cell lung carcinoma. *Oncotarget*. 2016;7(26):39957.
67. Tabarkiewicz J, Giannopoulos K. Definition of a target for immunotherapy and results of the first Peptide vaccination study in chronic lymphocytic leukemia. *Transplant Proc*. 2010;42(8):3293–6.
 68. Jöhrens K, Anagnostopoulos I, Dommerich S, Raguse JD, Szczepek AJ, Klauschen F, Stölzel K. Expression patterns of CD168 correlate with the stage and grade of squamous cell carcinoma of head and neck. *Mol Clin Oncol*. 2017;6(4):597–602.
 69. Gruver AL, Hudson LL, Sempowski GD. “Immunosenescence of ageing.” *Joural Pathol*. 2007;211(2):144 – 156.
 70. Henkart PA. Mechanism of lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Annu Rev Immunol*. 1985;3(1):31–58.
 71. Ohnmacht GA, Marincola FM. Heterogeneity in expression of human leukocyte antigens and melanoma-associated antigens in advanced melanoma. *J Cell Physiol*. 2000;182(3):332–8.
 72. Hamdy S, Haddadi A, Hung RW, Lavasanifar A. Targeting dendritic cells with nano-particulate PLGA cancer vaccine formulations. *Adv Drug Deliv Rev*. 2011;63(10–11):943–55.
 73. De Meulenaere A, Vermassen T, Aspeslagh S, Deron P, Duprez F, Laukens D, Van Dorpe J, Ferdinande L, Rottey S. Tumor PD-L1 status and CD8+ tumor-infiltrating T cells: markers of improved prognosis in oropharyngeal cancer. *Oncotarget*. 2017;8(46):80443.
 74. Pretscher D, Distel L V, Grabenbauer GG, Wittlinger M, Buettner M, Niedobitek G. Distribution of immune cells in head and neck cancer: CD8+ T-cells and CD20+ B-cells in metastatic lymph nodes are associated with favourable outcome in patients with oro-and hypopharyngeal carcinoma. *BMC Cancer*. 2009;9(1):292.

75. Cho YA, Yoon HJ, Lee JI, Hong SP, Hong SD. Relationship between the expressions of PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2011;47(12):1148–53.
76. Ma SR, Deng WW, Liu JF, Mao L, Yu GT, Bu LL, Kulkarni AB, Zhang WF, Sun ZJ. Blockade of adenosine A2A receptor enhances CD8+ T cells response and decreases regulatory T cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Mol Cancer.* 2017;16(1):99.
77. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61(2):69–90.
78. Nguyen TTH, Sodnom-Ish B, Choi SW, Jung HI, Cho J, Hwang I, Kim SM. Salivary biomarkers in oral squamous cell carcinoma. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2020;46(5):301–12.
79. Partin AW, Oesterling JE. The clinical usefulness of prostate specific antigen: update 1994. *J Urol.* 1994;152(5):1358–68.
80. Hinneh JA, Gillis JL, Moore NL, Butler LM, Centenera MM. The role of RHAMM in cancer: Exposing novel therapeutic vulnerabilities. *Front Oncol.* 2022;12.
81. Zhu SW, Wang S, Wu ZZ, Yang QC, Chen DR, Wan SC, Sun ZJ. Overexpression of CD168 is related to poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Oral Dis.* 2022;28(2):364–72.
82. Schmitt A, Barth TFE, Beyer E, Borchert F, Rojewski M, Chen J, Guillaume P, Gronau S, Greiner J, Möller P, Riechelmann H, Schmitt M. The tumor antigens RHAMM and G250/CAIX are expressed in head and neck squamous cell carcinomas and elicit specific CD8+ T cell responses. *Int J Oncol.* 2009;34(3):629–39.
83. Shigeishi H, Fujimoto S, Hiraoka M, Ono S, Taki M, Ohta K, Higashikawa K, Kamata N. Overexpression of the receptor for hyaluronan-mediated motility, correlates with expression of microtubule-associated protein in human oral squamous cell carcinomas. *Int J Oncol.* 2009;34(6):1565–71.

84. Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(10):715–27.
85. de Ruiter EJ, Ooft ML, Devriese LA, Willems SM. The prognostic role of tumor infiltrating T-lymphocytes in squamous cell carcinoma of the head and neck: A systematic review and meta-analysis. *Oncoimmunology.* 2017;6(11):e1356148.
86. Whiteside TL. The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth. *Oncogene.* 2008;27(45):5904–12.
87. Piersma SJ, Jordanova ES, Van Poelgeest MIE, Kwappenberg KMC, Van Der Hulst JM, Drijfhout JW, Melief CJM, Kenter GG, Fleuren GJ, Offringa R, Sjoerd H van der B. High number of intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes is associated with the absence of lymph node metastases in patients with large early-stage cervical cancer. *Cancer Res.* 2007;67(1):354–61.
88. Sato E, Olson SH, Ahn J, Bundy B, Nishikawa H, Qian F, Jungbluth AA, Frosina D, Gnjjatic S, Ambrosone C, Kepner J, Odunsi T, Ritter G, Lele S, Chen YT, Ohtani H, Old LJ, Odunsi K. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci.* 2005;102(51):18538–43.
89. Zhang B, Wu C, Zhang Z, Yan K, Li C, Li Y, Li L. CXCL12 is associated with FoxP3+ tumor-infiltrating lymphocytes and affects the survival of patients with oral squamous cell carcinoma. *Oncol Lett.* 2019;18(2):1099–106.
90. Lequerica-Fernández P, Suárez-Canto J, Rodriguez-Santamarta T, Rodrigo JP, Suárez-Sánchez FJ, Blanco-Lorenzo V, Domínguez-Iglesias F, García-Pedrero JM, de Vicente JC. Prognostic relevance of CD4+, CD8+ and FOXP3+ TILs in oral squamous cell carcinoma and correlations with PD-L1 and cancer stem cell markers. *Biomedicines.* 2021;9(6):653.
91. Wolf GT, Chepeha DB, Bellile E, Nguyen A, Thomas D, McHugh J. Tumor infiltrating lymphocytes (TIL) and prognosis in oral cavity squamous carcinoma: a preliminary study. *Oral Oncol.* 2015;51(1):90–5.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Anna Reds, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: [Expression von RHAMM (CD168) und die Aktivität von zytotoxischen CD8+ T-Zellen bei Patient:innen mit mit oralem Plattenepithelkarzinom, Expression of RHAMM (CD168) and the Activity of Cytotoxic CD8+ T cells in Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma] selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

DatumUnterschrift

6 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

7 Danksagung

Zu großer Dankbarkeit bin ich Frau Prof. Dr. Korinna Jöhrens, Herrn Priv.-Doz. Dr. Dr. Jan Dirk Raguse sowie Herrn Dr. Dr. Christian Doll als den Betreuern meiner Arbeit verpflichtet. Sie haben mich über den gesamten Verlauf meiner Promotion immer bereitwillig unterstützt. Dankbar bin ich ihnen vor allem für ihre Geduld, zahlreiche fachliche Ratschläge und ihre aktive Förderung.

Ich möchte Herrn Prof. Dr. Dr. Max Heiland ganz herzlich für die Möglichkeit danken, in der Abteilung für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der Charité zu forschen.

Herr Dr. Konrad Neumann hat mich bei der statistischen Auswertung unterstützt und beraten, wofür ich ihm aufrichtig danken möchte. Zudem bin ich Frau Birgit Milluks zu Dank verpflichtet, deren Hilfe bei der Aktenbeschaffung und der Validierung der klinischen Daten unverzichtbar war.

Danke sagen will ich schließlich auch den Mitgliedern der Arbeitsgruppe der Abteilung für Pathologie in CCM und CBF, die mich nicht nur bei der TMA-Herstellung freundlich unterstützt haben.

Ein großes Dankeschön gilt meiner Freundin Dr. Karolin Tschauner, deren konstruktive Kritik und fachliche Diskussion mich entscheidend weitergebracht haben, sowie meiner Freundin Irena Trzpis-Możdżeń, die mich während des Arbeitsprozesses auf vielfältige Weise unterstützt und motiviert hat.

Ohne die kompromisslose Liebe meines Manns, Robert Lewandowski, und sein großes Verständnis in Phasen, in denen ich mit chronischer Müdigkeit und fehlender Motivation kämpfen musste, hätte ich diese Dissertation nie verfassen können. Dafür danke ich dir.

Ganz besonders dankbar bin ich meinen Eltern, die das Verfassen dieser Arbeit ermöglicht haben, weil sie immer an mich geglaubt und mich in jeder erdenklichen Weise unterstützt haben.

Danken will ich auch meiner übrigen Familie, insbesondere meinen Brüdern Adam und Stefan Redzimski, für die Begleitung auf diesem Weg und die viele Motivation.

Schließlich geht mein größter Dank an meine Söhne. Sie haben mir die Kraft geschenkt, diese Arbeit fertigzustellen.