

Aus der Klinik und Poliklinik
für Strahlentherapie und Radioonkologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.- Prof. Dr. med. Wilfried Budach

Häufigkeit und klinischer Verlauf von HPV-Infektionen bei Kopf-Hals-Tumoren in einer Population in Nordrhein- Westfalen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Birte Gössler

2015

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez. Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Dekan

Erstgutachter: Prof. Dr. Bölke

Zweitgutachter: Prof. Dr. Klenzner

Meinen Eltern

Zusammenfassung

Kopf-Hals-Tumore haben immer noch eine schlechte Prognose trotz verbesserter Systemtherapie und neuen Techniken in der Strahlentherapie. Der kausale Zusammenhang zwischen Karzinomen der Zervix uteri und Infektionen mit humanen Papillomaviren (HPV) ist ausreichend untersucht worden. Es gibt jedoch Publikationen, die zudem auf eine kausale Verbindung zwischen HPV-Infektionen und Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich, besonders bei Oropharynxkarzinomen, hindeuten. Ziel dieser Untersuchung war es daher, die Häufigkeit und den klinischen Verlauf der HPV-Infektion an einem Patientenkollektiv mit Kopf-Hals-Karzinomen zu untersuchen, um auf diesem Wege bestehende Therapiestrategien langfristig anpassen zu können.

In einer retrospektiven Untersuchung wurde das Tumorgewebe von 162 Patienten (108 Männer, 54 Frauen, 62.8 Jahre + 12.7) mit einem Kopf-Hals-Tumor (Oropharynx=64, Nasopharynx=10, Larynx= 13, Hypopharynx=15, Mundhöhle=33, CUP=5, sonstige=22) auf eine HPV-Infektion und deren klinischen Verlauf untersucht. Hierbei wurde das p16, ein Surrogat-Marker für die HPV-Infektion, bestimmt. Außerdem wurden Risikofaktoren wie Nikotin, Alkohol, Sicherheitsabstand des Operationspräparates, Histologie, Lymphknotenkapsel-durchbruch, Tumorstadium und die Behandlung des Tumors selbst analysiert. Patienten mit HPV-positiven Oropharynxkarzinomen zeigten im Vergleich zu HPV-negativen Tumoren eine tendenziell längere Überlebenszeit, die jedoch im untersuchten Patientenkollektiv noch nicht signifikant war ($p=0.76$, HR: 2.42, 95% KI 0.91 – 6.44). Alle weiteren Parameter waren – außer dem Tumorstadium in der uni- und multivarianten Analyse – nicht signifikant für das Gesamtüberleben. Ursache hierfür könnten die geringen Fallzahlen in den einzelnen Subgruppen sein.

Die existierenden Therapiestrategien für Oropharynxkarzinome bei Patienten mit und ohne die klassischen Risikofaktoren Tabak- und Alkoholkonsum müssen vor dem Hintergrund der Erfahrungen hinsichtlich der Bedeutung einer HPV-Infektion hinterfragt werden. Es scheint, dass HPV-positive Patienten einen besseren klinischen Verlauf haben, als HPV-negative Patienten. Dies muss jedoch langfristig in großen Patienten-Kollektiven bestätigt werden.

Abkürzungen

Abb:	Abbildung
ACCRA-HN-Studie:	<i>adjuvant Cetuximab and Chemotherapie in head and neck cancer</i>
AIDS:	<i>Acquired immunodeficiency syndrome</i>
CA:	Karzinom
CT:	Computer Tomographie
CTX:	Chemotherapie
CUP:	<i>cancer of unknown primary origin</i>
DNA:	Desoxyribonukleinsäure (-acid)
ECC:	<i>European Cancer Congress</i>
ECE/ECS:	extrakapsuläres Tumorwachstum einer Lymphknotenmetastase
ECOG:	<i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>
EGFR:	Epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor
Gy:	Gray
Hb:	Hämoglobinwert
HPV:	Humanes Papillomavirus
HR:	Hazard Ratio
ICH:	Immunhistochemie
IMRT:	Intensitätsmodulierte Strahlentherapie
KI:	Konfidenzintervall
LK:	Lymphknoten
Met:	Metastase
ND:	<i>neck dissection</i> = ausgiebige chirurgische Resektion der Halslymphknoten und des umliegenden Gewebes zwischen Mandibula und Clavicula
OP:	Operation
PE:	Probeexzision
PEC:	Plattenepithelkarzinom
RCT:	Radiochemotherapie
RT:	Radiotherapie
TH:	Therapie

TNM-Klassifikation: Einteilung von malignen Tumoren in Stadien. Die drei wichtigsten Kategorien entsprechen den drei Buchstaben: T= Tumor, N= Node (Lymphknoten) und M= Metastase

UICC: *Union International Contre le Cancer*

USA: *United States of America*

5-FU: 5-Fluorouracil

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	1
2 Fragestellung	5
2.1 Histologische Parameter	5
2.2 Klinische Parameter.....	5
3 Material und Methodik	6
3.1 Patientenkollektiv.....	6
3.2 Datenerhebung.....	7
3.3 Histologische und immunhistologische Untersuchung.....	9
4 Ergebnisse.....	15
5 Diskussion	47
6 Schlussfolgerung.....	51
7 Literaturverzeichnis	52
8 Danksagungen	
9 Eidesstattliche Versicherungen.....	

1. Einleitung

Malignome im Kopf-Hals-Bereich sind weltweit die sechsthäufigste Tumorerkrankung beim Menschen^{1,2}. Allein in Deutschland erkranken jährlich ungefähr 25 von 100.000 Einwohnern an Tumoren im Kopf-Hals-Bereich³ – Frauen sind davon statistisch etwas weniger betroffen als Männer. Erklärt wird diese Ungleichheit hinsichtlich der Geschlechtsverteilung üblicherweise mit den Schadstoffen Alkohol und Nikotin, durch die diese Tumore entstehen können und dass Frauen diese weniger konsumierten. Trotz der scheinbar abnehmenden Häufigkeit einiger Kopf-Hals-Tumore durch großangelegten Anti-Rauch-Kampagnen und der tatsächlich abnehmende Anzahl an Rauchern in der Gesamtgesellschaft, wie auch der aktuelle Tabak-Atlas 2015 des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ) bestätigt, steigt jedoch die Inzidenz vor allem der Oropharynxkarzinome gerade bei jungen Menschen und Frauen. Diese Ergebnisse sind erstaunlich und stellen die rein Noxen-induzierte Tumorbildung in Frage. Vielmehr zeigen aktuelle Publikationen eine kausale Verbindung zwischen HPV-Infektionen und Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich, besonders bei Oropharynxkarzinomen auf.^{2,4-8}

HP-Viren gehören zu der Familie der Papillomaviridae und besitzen einen unverhüllten DNA-Doppelstrang. Sie sind wirtsspezifisch, d.h. sie infizieren lediglich einen bestimmten Wirt, nämlich den Menschen. Dort werden die Epithelzellen bei Kontakt mit der Haut und verschiedenen Schleimhauttypen befallen und die Viren können ein unkontrolliertes Wachstum von Tumorzellen hervorrufen. Als wahrscheinlicher Übertragungsweg wird vor allem ungeschützter Sexualverkehr (oral, genital und anal) in der Forschung diskutiert.^{1,2,4-6,8-28}

Man kann die Viren nach dem onkogenen Risikopotential einteilen²⁹:

- a) *Low-Risk*-Typen: 6, 11, 42, 43, 44
- b) *Intermediär-Risk*-Typen: 33, 35, 39, 51, 52, 58
- c) *High-Risk*-Typen: 16, 18, 31, 45

oder anhand der klinischen Manifestationen:

- a) *Kutane* Typen: z.B. Typ 1-4, 7

b) Anogenitale Typen: z.B. Typ 6, 11, 16, 18, 31, 33, 42, 43, 44, 52³⁰

Die sog. „*low-risk*-Typen“ verursachen etwa häufig Warzen (Bsp. Condylomata accuminata, juvenile Larynxpapillomatose) an dem Infektionsort. Bösartige Tumorerkrankungen wie das Zervixkarzinom oder eben Kopf-Hals-Tumore werden durch die sogenannten „*high-risk*-Typen“, wie z.B. HPV 16 und HPV 18 verursacht. Die Fähigkeit der „*high-risk*-Typen“ ist auf der Interaktion der viralen Onkogenprodukte E6 und E7 aufgebaut, die mit den zellulären Tumorsuppressorproteinen p53 und pRB (Retinoblastom-Protein) interagieren.

p53 und pRB kontrollieren den Zellzyklus und reagieren auf DNA-Schäden in normalen Zellen. Die viralen Onkoproteine E6 und E7 greifen in die Zellzyklusregulation ein³¹. E6 verursacht eine Resistenz gegenüber dem programmierten Zelltod (Apoptose) und eine chromosomale Instabilität mit Akkumulation von DNA-Mutationen, die durch Herabsetzung von p53 bewirkt wurde. Durch das virale Onkogen E7 wird das pRB herabgesetzt und so Transkriptionsfaktoren (E2F) freigesetzt. Dieses ermöglicht ein Fortschreiten des Zellzyklus in die s-Phase und die Synthese der viralen DNA.

Während nun der kausale Zusammenhang zwischen Infektionen mit humanen Papillomaviren (HPV) und Karzinomen der Zervix uteri hinlänglich untersucht worden ist^{9,16}, fehlt es bislang an ausreichenden Untersuchungen für den Zusammenhang zwischen HP-Viren und Kopf-Hals-Tumoren. Denn es scheint, dass sich Kopf-Hals-Karzinome, die durch eine HPV-Infektion bedingt sind, klinisch und prognostisch von jenen typischen Kopf-Hals-Karzinomen unterscheiden, die durch die häufigsten Noxen, wie Alkohol und Rauchen, entstanden sind^{2-5,7,10,15,18,22}. Dies würde, so ist zu hoffen, eine Anpassung der Therapiemaßnahmen ermöglichen, die weniger Nebenwirkungen verursachen und die Überlebenszeit für den Patienten insgesamt verlängern könnte.

Was die Inzidenz von HPV bei Kopf-Hals-Tumoren angeht, schwankt diese jedoch weltweit deutlich. Ganz im Gegensatz zu den Zervixkarzinomen, die annähernd zu 100% HPV-positiv sind. Die Häufigkeit des HPV-Nachweises in Kopf-Hals-Karzinomen ist je nach Studie und geographischem Gebiet sehr variabel^{1,5,17,23,26,27}. Zusätzlich abhängige Faktoren sind außerdem Alter,

Geschlecht, Ethnizität und verwendete Detektionsmethode. Umfassende Untersuchungen, die speziell die deutsche Population im Blick haben, fehlen aber bislang. Genauso wie spezifische Aussagen dazu, ob die Befunde innerhalb der deutschen Bevölkerung wiederum Unterscheidungen aufweisen. Gibt es weltweit Unterschiede in der Infektions-Häufigkeit zwischen den Ländern, dann unter Umständen auch regionale Besonderheiten. Die vorliegenden Ergebnisse sollen die Häufigkeit von HPV-Infektionen bei Kopf-Hals-Tumoren für Düsseldorf und Einzugsgebiet der Landeshauptstadt von Nordrhein-Westfalen aufzeigen.

Die Abbildung 1 zeigt schematisch, wie durch eine Virusinfektion weitere Mutationen im Zellkern auftreten und zu einer malignen Tumorerkrankung führen kann. Die Latenzzeit für eine solche Transformation einer Zelle kann dabei über 10-20 Jahre dauern.

Typische Tumorerkrankungen durch eine HPV-Infektion sind Zervix- und Oropharynxkarzinome.

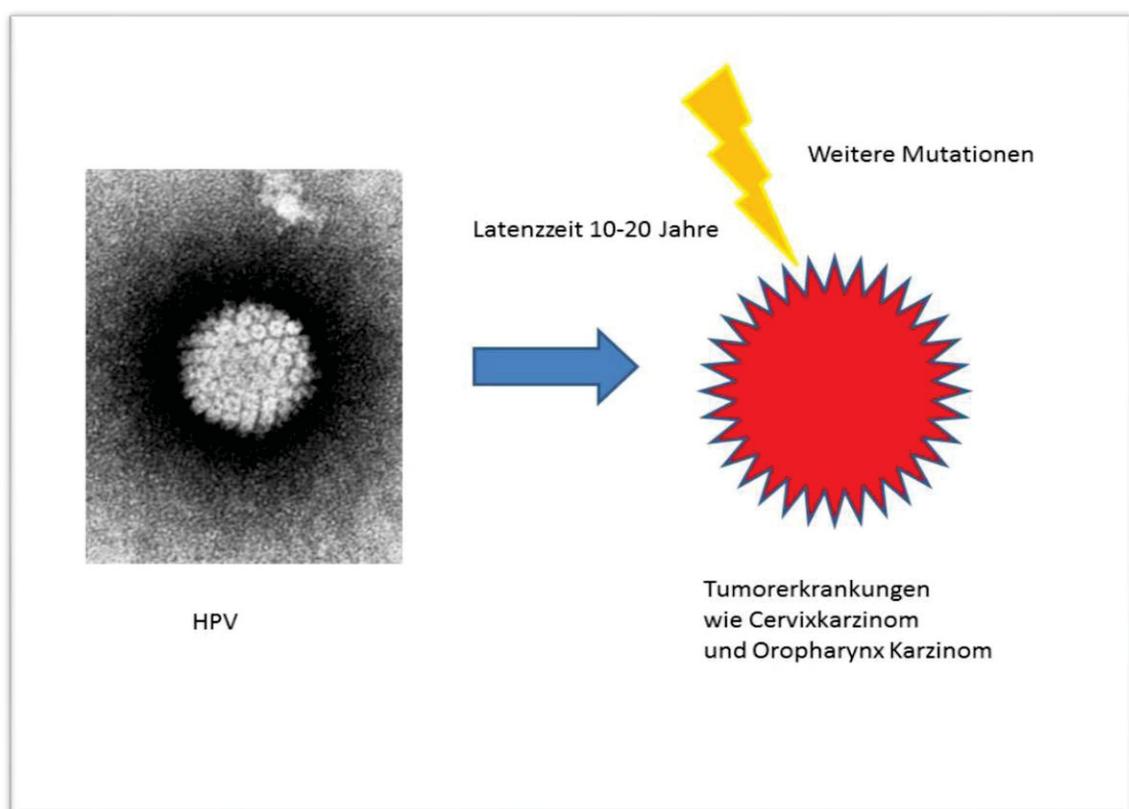


Abb. 1: Eine HPV-Infektion kann nach Jahren durch Mutationen eine Tumorerkrankung auslösen. Links ein elektronisch-mikroskopisches Bild eines HP-Virus. (Quelle: Wikimedia Commons.de;11/2015)

1976 fand Harald zur Hausen heraus, dass das humane Papillomavirus eine Rolle bei der Bildung eines Zervixkarzinoms spielen kann. Anfang der 80er Jahre erforschte er mit seinen Mitarbeitern die HPV-Typen HPV 16 und HPV 18 aus Tumorgewebe der Zervix^{32,33}. So wurde durch das Aufspüren der Ursache der dritthäufigsten Tumorerkrankung der Frau neue Zukunftsaussichten der Prävention und Behandlung gebahnt und es gelang die Entwicklung des HPV-Impfstoffes, welche seit 2006 erhältlich sind^{33,34}.

Den Nobelpreis für Physiologie und Medizin erhielt Harald zur Hausen 2008 zusammen mit dem Franzosen Luc Montagnier und der Französin Françoise Barré-Sinoussi.

2. Fragestellung

Ziel dieser Untersuchung ist es, die Häufigkeit und den klinischen Verlauf der HPV-Infektion an einem Patientenkollektiv mit Kopf-Hals-Karzinomen an dem Universitätsklinikum Düsseldorf zu untersuchen.

2.1. Histologische Parameter:

- Zentraler histologischer Parameter ist der p16 Status im Tumorgewebe

2.2. Klinische Parameter:

Es wurden folgende Kriterien im Patientenkollektiv ermittelt:

- Geschlecht
- Alter
- Tumorstadium
- Lokalrezidiv
- Fernmetastasierung
- Tumorlokalisation
- Tumorhistologie
- Therapieregime
 - Operation (Probeentnahme, radikale Tumorresektion)
 - Chemotherapie (verschiedene Regime)
 - Radiotherapie (primäre, adjuvante, palliative Radiotherapie)
- Hämoglobinwert
- Performance Status
- Noxenanamnese (z.B. Rauchen, Alkohol)
- Überlebenszeit

3. Material und Methodik

3.1 Patientenkollektiv

Nach Analyse der internen Datenbanken des Universitätsklinikums der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf konnten insgesamt 216 Patienten mit einem Kopf-Hals-Tumor identifiziert werden, die im interdisziplinären Tumorboard (Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Klinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie und der Klinik Strahlentherapie und Radioonkologie) von Dezember 2009 bis September 2011 besprochen und behandelt wurden.

Das Aktenzeichen Nr. 3920 wurde von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität im Rahmen der ethischen und rechtlichen Beratung für diese Arbeit vergeben, ein Ethikvotum liegt somit vor und umfasst die gesamte in der vorliegenden Arbeit untersuchte Fragestellung, also auf alle histopathologischen Untersuchungen und auf die retrospektive Datenanalyse.

Von den 216 Patienten konnten retrospektiv 162 Patienten ausgewertet werden, die die unten genannten spezifischen Einschlusskriterien erfüllten.

Diese waren Alter (>18 Jahre) und histologisch gesicherte Kopf-Hals-Tumore der folgenden Lokalisationen: Oropharynx-, Hypopharynx-, Larynx-, Mundhöhlen-, Nasennebenhöhlen-Karzinome und Metastasen der oben genannten Tumoren, wobei hier keine Entität doppelt genommen wurde. Diese Tumorentitäten umfassten sowohl Plattenepithel- und Adenokarzinome. Vereinzelt andere Entitäten, wie lymphoepitheliales Karzinom, Schilddrüsenkarzinom (von den Follikelzellen ausgehenden Tumor) oder sarkomatoides Karzinom wurden aus wissenschaftlichem Interesse auch vereinzelt auf den p16-Status überprüft.

Zu den Ausschlusskriterien gehörte die Entnahme der Gewebeprobe an einem anderen Standort als der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf oder die Nichtbestimmbarkeit des HPV-Status (z.B. durch Artefakte, zu geringe Gewebeprobenmenge für die Anfärbbarkeit). Dieses war leider bei 54 Patienten der Fall. Daher reduzierte sich die Zahl der auswertbaren Patienten von 216 auf 162.

3.2 Datenerhebung

Retrospektiv wurden primär eine HPV-Infektion und ihr klinischer Verlauf untersucht. Hierbei wurde das p16, ein Surrogat-Marker für die HPV-Infektion, bestimmt. Außerdem wurden soziodemographische Merkmale wie Alter, Geschlecht, Tumorstadium (TNM-Klassifikation), Risikofaktoren (wie Alkohol- und Tabakkonsum), Hämoglobinwert vor der Probeentnahme bzw. Operation, Sicherheitsabstand des Operationspräparates, Histologie, Lymphknotenkapsel-durchbruch, Nebendiagnosen des Patientenkollektivs und die Behandlung des Tumors analysiert.

Für die Erhebung der Überlebensdaten wurden die Einwohnermeldeämter der letztbekannten Wohnorte der Patienten, zwei Jahre nach Operation bzw. Probeentnahme, angeschrieben. Anhand der Rückmeldung der Behörde über die aktuelle Meldeadresse bzw. das Todesdatum konnte die Überlebenszeit der Patienten berechnet werden.

Die Performance der Patienten wurde mit Hilfe des ECOG- (*Eastern Cooperative Oncology Group*) Performance-Status eingeschätzt und ausgewertet.

Die retrospektiv erhobenen histologischen und klinischen Daten wurden mittels des MS-Office-Programms Excel (Version Word 2013) in einer Datenbank zusammengetragen. Die statistische Auswertung der erhaltenen Daten erfolgte mittels des Statistik-Programms SPSS 22. Die abschließende Datenauswertung erfolgte anfangs deskriptiv. Als Verfahren der deskriptiven Statistik wurden der Mittelwert, absolute und relative Häufigkeitsverteilungen, der Median und die Standardabweichung verwendet. Anschließend wurden Überlebenskurven nach Kaplan-Meier kalkuliert und für Unterschiede mit dem log-Rank-Test ausgewertet. Die multivariaten Analysen erfolgten dabei durch Cox-Regressions-Berechnungen zur Evaluation prognostischer Parameter. Als Signifikanzniveau wurde für alle Testverfahren eine Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5% ($p < 0,05$) festgelegt.

Ein typisches Beispiel des Patientenkollektivs für einen Tumor im Kopf-Hals-Bereich zeigt die Abbildung 2. Die 53 jährige Patientin wurde in der Universitätsklinik Düsseldorf therapiert. Die histologische Untersuchung zeigte, dass der Tumor HPV-positiv war. Auffallend bei der Patientin war auch eine

ausgeprägte zervikale Lymphknotenmetastasierung. Eine radikale operative Tumorthherapie war bei der Patientin aufgrund des fortgeschrittenen Tumorstadiums nicht möglich. Als Therapie erhielt die Patientin deshalb eine primäre Radiochemotherapie mit 5-FU und Cisplatin. Darunter kam es zu einer Regression des Tumors. Bestrahlt wurde die Patientin mit Hilfe der IMRT-Technik bis 72 Gy. Leider kam es im weiteren klinischen Verlauf bei der Patientin zu einer Lungen- und Lebermetastasierung, aber die Patientin lebt noch und erhält zurzeit eine palliative Chemotherapie. Lokal im Kopf-Hals-Bereich war der Tumor regredient.

Bisher ist die Prognose (5-Jahres-Überlebensrate) bei fortgeschrittenen Kopf-Hals-Tumoren noch sehr eingeschränkt.

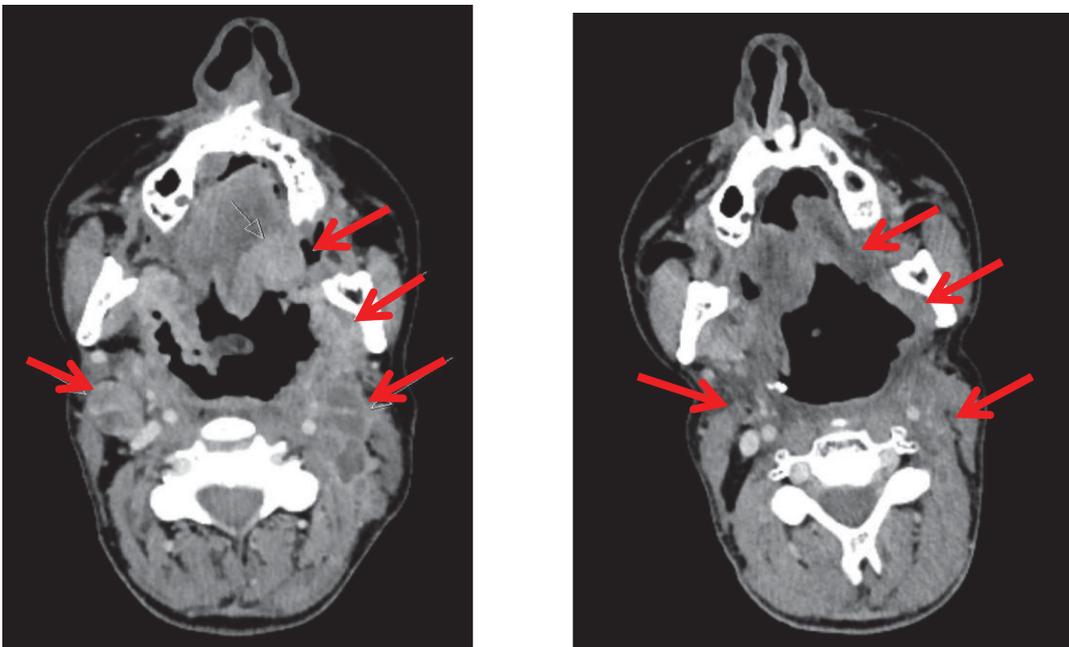


Abb. 2: CT-Kopf/-Hals einer Patientin mit einem 3-Etagen-Tumor. Mit Pfeilen markiert ist der Tumor im Mundbereich und die beidseits zervikalen Lymphknoten-Metastasen vor Therapiebeginn (links) und eine deutlich sichtbare Regredienz nach Radiochemotherapie (rechts).

3.3 Histologische und immunhistologische Untersuchungen

In dem ausgewählten Patientenkollektiv von 162 Patienten wurde Gewebe bei einer geplanten Operation oder Probeentnahme (z.B. Panendoskopie) entnommen. Im Institut für Pathologie am Universitätsklinikum Düsseldorf wurden die gewonnenen Gewebeproben (Tumorgewebe einschließlich eventueller Lymphknotenmetastasen) weiter untersucht. Es wurde eine Routinediagnostik durchgeführt, die Fixierung, Färbemethode und Paraffineinbettung beinhalten, und durch das Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Düsseldorf validiert wurden.

Das formalinfixierte Gewebe, das in Paraffinblöcke eingebettet war, wurde herausgesucht und repräsentative Stellen detektiert. Diese jeweils einem Patienten zugeordneten Gewebeproben hatten eine eigene, von dem Institut für Pathologie, gegebene Identifikationsnummer, so dass eine genaue Zuordnung von Block bzw. jeweiliger Gewebeprobe zum entsprechenden Fall gewährleistet wurde. Die immunhistochemischen (ICH) Untersuchungen zur Frage einer p16-Expression im Tumorgewebe wurden im ICH-Labor des Instituts für Pathologie am Universitätsklinikum Düsseldorf durchgeführt. Bei 54 Patienten war das vorhandene Tumorgewebe nicht analysierbar. Gründe dafür waren quantitativ nicht ausreichende Gewebemengen, Anfärbungsartefakte, unzureichende Fixierung oder Herkunft der Patienten aus externen Kliniken (vergleiche Ausführungen zu Ausschlusskriterien auf Seite 6).

Zur Bestimmung von p16 wurde das CINtec® p16-Histologie-Kit der Firma Roche verwendet. CINtec® p16-Histologie ist ein Immunhistochemie-Assay für den qualitativen Nachweis des p16^{INK4a}-Protein auf formalinfixierten und in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitten von Zervix-Biopsien oder anderen Geweben. Es handelt sich hierbei um einen monoklonalen Maus-Antikörper gegen p16-Protein, der nur zur *in-vitro*-Diagnostik bestimmt ist. Als Kontrollgruppe hinsichtlich des p16^{INK4a}-Status werden vom Unternehmen gesundes Pankreasgewebe und Tonsillengewebe sowie eine Zervixkarzinomprobe mitgeliefert. Die Ergebnisse sollten von einem qualifizierten Pathologen in Verbindung mit histologischen Untersuchungen und klinisch relevanten Informationen und angemessenen Kontrollen interpretiert werden. Die Auswertung der gefärbten Schnittpräparate erfolgte gemeinschaftlich unter der Anleitung von Oberarzt Dr. Frank Jankowiak.

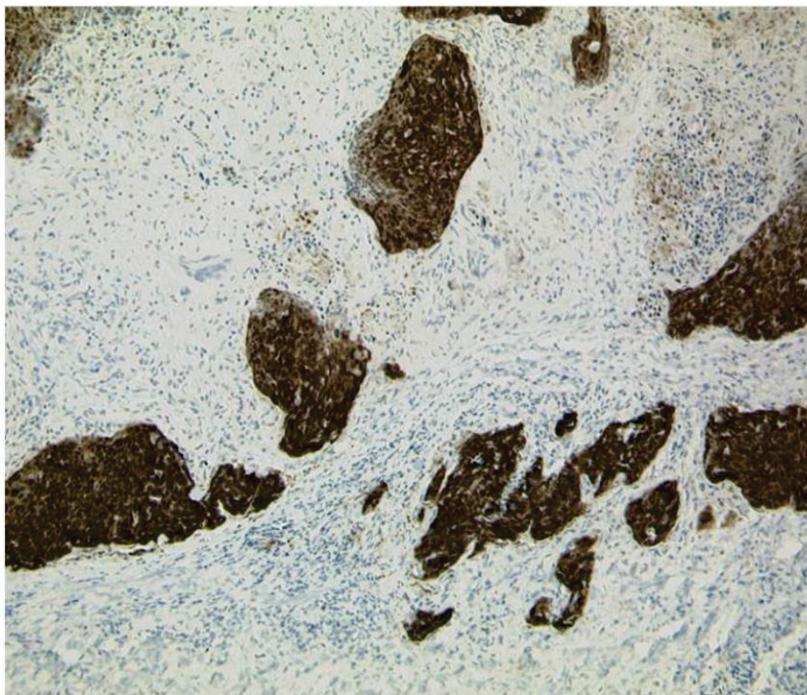
Die immunhistochemisch bearbeiteten Tumorgewebe wurden mikroskopiert und die unten gezeigten Fotos wurden an einem Zeiss Axioskop 40 angefertigt.

Die Kriterien, nach dem der Befund als p16-positiv bewertet wurde, beinhalten:

- Prozentuale Anteile (in Relation zu den gesamten Tumorzellen)
- Zytoplasmatische vs. Kernfärbung
- Einteilung der Befunde in Kategorien

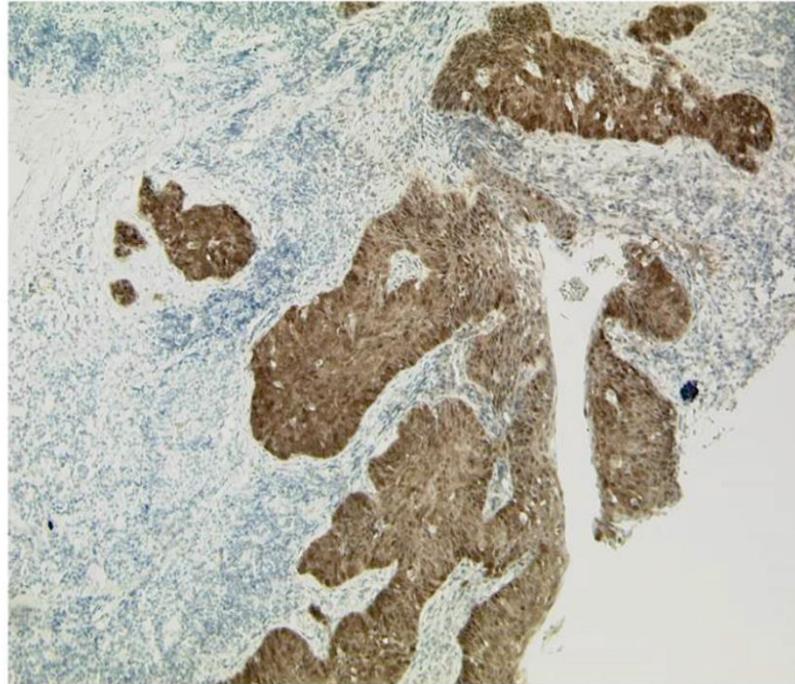
Die Auswertung erfolgte über semiquantitative Schätzung, eine Methode, die eine allgemein anerkannte Bewertungsgrundlage für immunhistochemische Färbeverfahren darstellt. Die Bewertung wurde gemeinschaftlich mit dem Pathologen am mikroskopischen Präparat durchgeführt. Dabei wurde der Prozentsatz der immunreaktiven, also angefärbten Zellen bestimmt. Die Anfärbbarkeit wurde als positiv gewertet, wenn eine nukleäre und/oder zytoplasmatische Färbung bestand. Wenn gar keine Färbung oder nur eine schwache Anfärbbarkeit gesehen wurde, ist das Tumorgewebe als p16-negativ eingestuft worden (0-30%). Bei geringer Färbung (30-60%) ist ein intermediärer p16-Status postuliert worden. Erst eine starke Färbung (>60%) ist als p16-positiv gewertet worden und zeigt eine Überexpression von p16^{INK4a}.³⁵⁻³⁷

Die Abbildungen 3 und 4 zeigen Beispiele für eine Infektion mit einem HPV-Virus. In beiden Abbildungen ist eine starke Überexpression von p16 im Zytoplasma und im Zellkern bei Patienten, die einen Kopf-Hals-Tumor hatten, zu sehen. Histologisch fand sich bei beiden Patienten ein mäßig differenziertes Plattenepithelkarzinom. Im Mikroskop zeigte sich eine dunkelbraune Färbung >60 % im Zytoplasma und im Zellkern der untersuchten Präparate.



Oropharynx-Karzinom p 16: 90% positiv

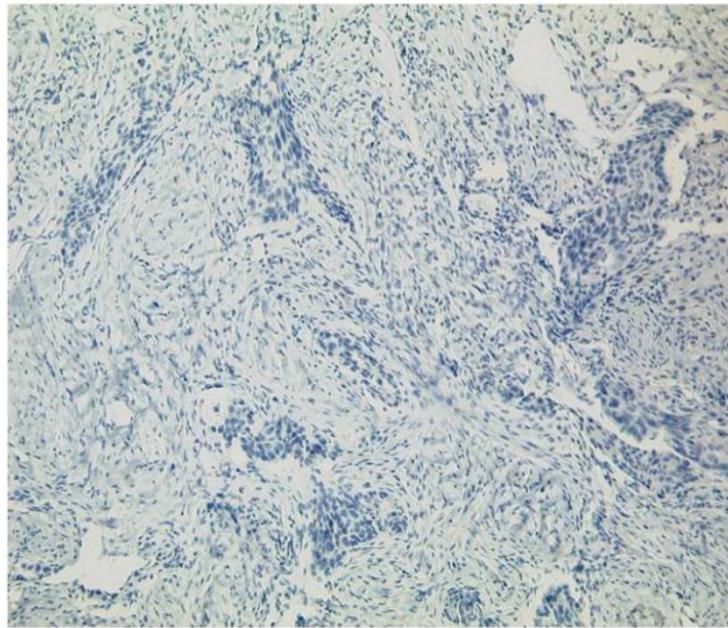
Abb. 3: p16-Immunhistologie, Oropharynxkarzinom, mäßiggradig differenziertes nicht verhornendes Plattenepithelkarzinom, diffus p16-positive Tumorzellnester, starke Überexpression von p16 im Zytoplasma und Kern.



Oropharynx-Karzinom: p 16: 90% positiv

Abb. 4: p16-Immunhistologie, Oropharynxkarzinom, mäßig differenziertes, gering verhornendes Plattenepithelkarzinoms, diffus p16-positive Tumorzellnester, starke Überexpression von p16 im Zytoplasma und Kern.

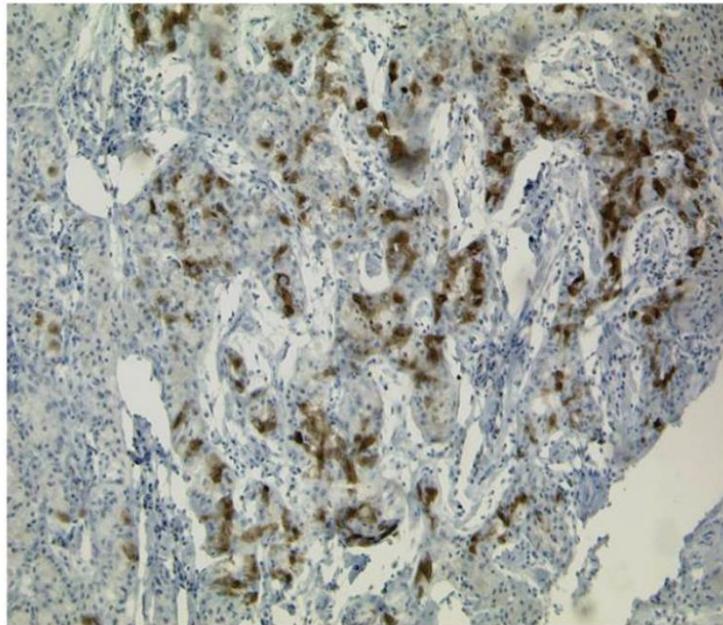
Ein Beispiel für einen Tumor, der nicht durch eine HPV-Infektion verursacht worden ist, findet sich in der Abbildung 5. Hier wurde das Präparat eines Patienten mit einem geringgradig differenzierten Plattenepithelkarzinom im Mundboden untersucht. Dabei fanden sich nach den immunhistochemischen Färbungen keine Färbungen des Zytoplasma und des Zellkern im Mikroskop.



Mundbodenkarzinom Rezidiv: p16 negativ 0%

Abb. 5: p16-Immunhistologie, Mundbodenkarzinom-Rezidiv, geringgradig differenziertes verhornendes Plattenepithelkarzinom, p16 negativ, keine Expression.

Ein Beispiel, bei dem die Beurteilung, ob eine HPV-Infektion im Tumorgewebe vorliegt oder nicht, schwieriger ist, findet sich in Abbildung 6. Hier ist ein Beispiel einer intermediären Einstufung zu sehen. Bei einem sekretorischen Parotistumor findet sich nur eine schwache Färbung für p16. Nur bei 30% zeigt sich eine Färbung im Zytoplasma und im Zellkern.



Parotis Carcinom: p 16 intermediate: 30 %

Abb. 6: p16-Immunhistologie, Parotiskarzinom, sekretorisches Karzinom (ETV 6-NTRV 3-Translokation), p16 schwach, das bedeutet nur fokal positiv, intermediäre Einstufung.

4. Ergebnisse

Deskriptive Statistik

Es konnten die Daten von 162 Patienten (108 (66,6%) Männer, 54 (33,3%) Frauen) aus der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf mit einem Kopf-Hals-Tumor ausgewertet und auf eine HPV-Infektion und ihrem klinischen Verlauf untersucht werden. Das Durchschnittsalter für Männer betrug 62,3 Jahre (Standardabweichung 12,4, der jüngste Mann war 27 Jahre, der älteste 96 Jahre alt) und für die Frauen 63,8 Jahre (Standardabweichung 13,4, die jüngste Frau war 19 Jahre alt und die älteste 90 Jahre).

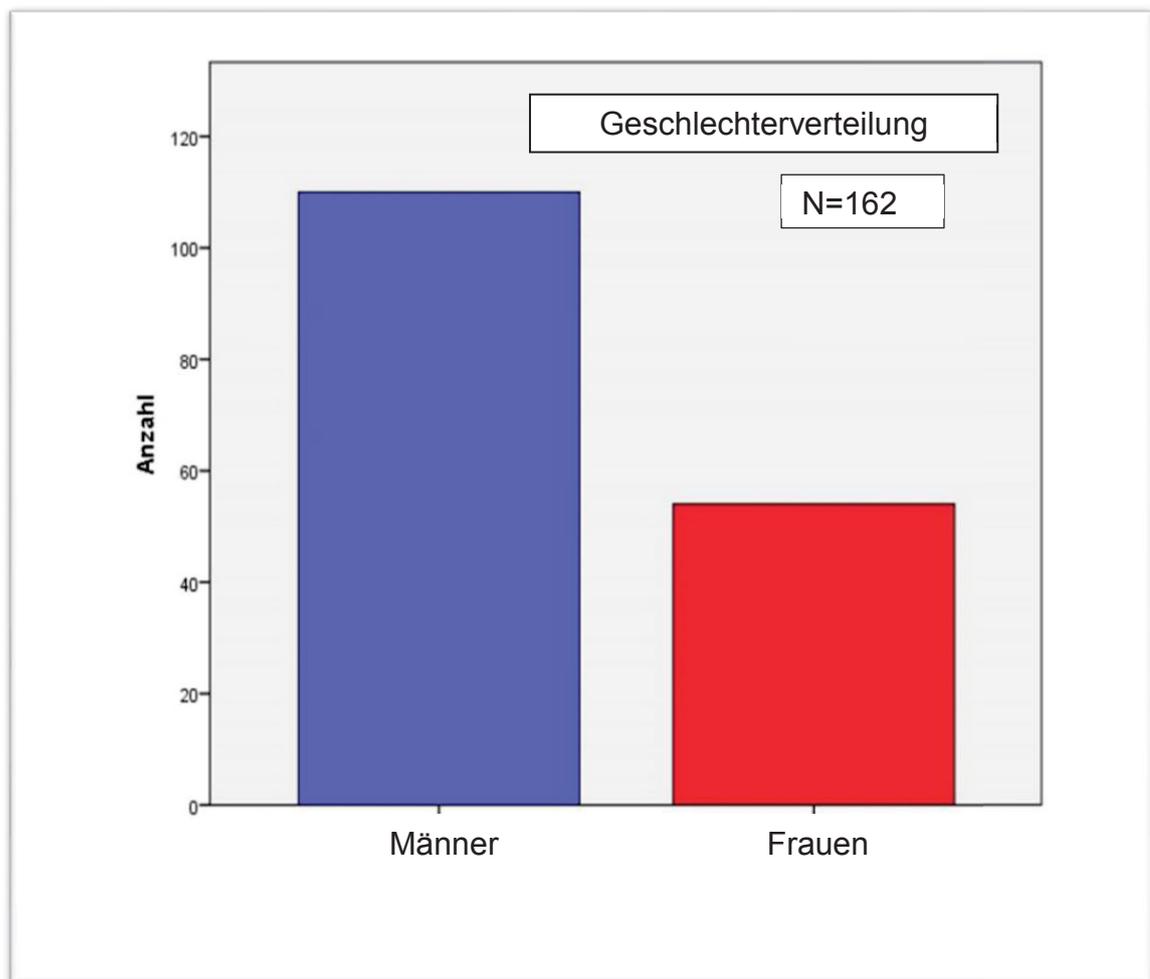


Abb. 7: Geschlechterverteilung, 1= Männer (blau) , 2= Frauen (rot) bei allen untersuchten Patienten. Die y-Achse gibt die Anzahl der Patienten an.

Die Gesamtgruppe der Kopf-Hals-Tumoren lässt sich weiter unterteilen in Oropharynx= 64 (39,5%), Nasopharynx= 10 (6,2%), Larynx= 13 (8%), Hypopharynx= 15 (9,3%), Mundhöhle= 33 (20,4%), CUP= 5 (3,1%) und sonstige

(z.B. Lungenmetastasen der o.g. Entitäten)= 22 (13,6%). Die meisten Patienten, die untersucht worden sind, wurden vorher im Universitätsklinikum Düsseldorf der Klinik für Hals-Nasen- und Ohrenheilkunde (118 (72,8%) Patienten) behandelt und 31 (19,1%) Patienten kamen aus der Klinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie. Bei 13 (8%) Patienten fehlte die Angabe, bei welcher Klinik die Probe entnommen wurde bzw. wo die Operation erfolgte.

Die folgenden Abbildungen zeigen nun, wie die Patienten therapiert wurden und welche Risikofaktoren sie hatten.

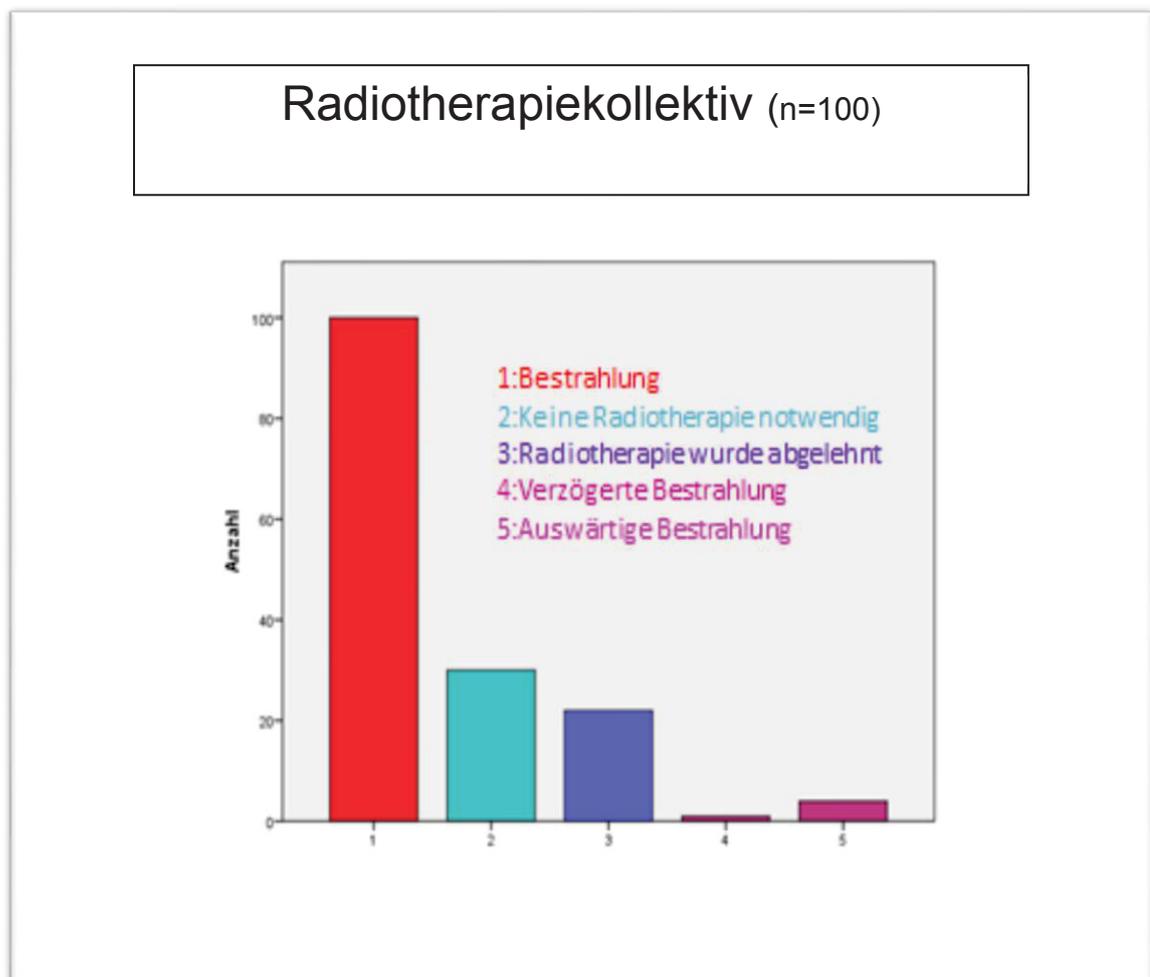


Abb. 8: Behandlung innerhalb des Patientenkollektivs. 100 (61,7%) Patienten erhielten eine Bestrahlung, 15 (9,3%) davon eine primäre Radiotherapie und 79 (48,8%) Patienten eine adjuvante Bestrahlung. 4 (2,5%) Patienten sind mit einer adjuvanten, aber palliativen Bestrahlung therapiert worden. 7 (4,3%) Patienten bekamen eine alleinige palliative Bestrahlung als Behandlung. 22 (13,6%) Patienten lehnten eine notwendige Radiotherapie ab, bei 1 (0,62%) Patient erfolgte die Bestrahlung verzögert und war deshalb nicht mehr adjuvant und 4 (2,47%) erhielten die Bestrahlung alio loco. Die Balken 4 und 5 sind Teil des Bestrahlungsgesamtkollektivs.

Die „Standard“- Therapien sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Eine Radiochemotherapie erfolgt als primäre Radio-(Chemo-)Therapie bis 70 Gy mit 5x2 Gy pro Woche in IMRT-Technik oder als eine adjuvante (nach erfolgter Operation) Radio-(Chemo-)Therapie bis 66 Gy mit 5x2 Gy pro Woche in gleicher Technik. Simultan erfolgte eine Chemotherapie mit Cisplatin und 5-FU in der 1. und 5. Behandlungswoche. Alternativ wurde bei schlechten Nierenwerten (Retentionsparametern) Carboplatin oder Mitomycin C und 5-FU angewendet. Falls ein Patient eine Chemotherapie ablehnt, ist es auch möglich, eine Radioimmuntherapie mit dem chimären monoklonalen Antikörper Cetuximab (Handelsname: Erbitux[®] ImClone Systems, Bristol-Myers Squibb und Merck KGaA) vom Typ IgG1 gegen den Epidermalen Wachstumsfaktor (EGFR) zu geben. Auch die alleinige Radiotherapie erfolgt mit den o.g. Dosen. Eine palliative (adjuvante) Bestrahlung kann mit Dosen von 36-60 Gy erfolgen.

Die **Tabelle 1** zeigt die durchgeführten Therapien in dem Patientenkollektiv:

adjuvante Therapie nach OP/PE	Patientenzahl (absolut)	in %
keine	38	23,5%
alleinige Radiotherapie (RT)	42	25,9%
standard Radiochemotherapie	53	32,7%
Radioimmuntherapie	2	1,2%
RCTX und Immuntherapie (ACCRA)	8	4,9%
neoadjuvante Chemotherapie	1	0,6%
palliative RTX	1	0,6%
palliative RCTX	6	3,7%
palliative CTX	6	3,7%
adjuvante Therapie indiziert, Patient lehnt Therapie ab	5	3,1%
Summe	162	100%

Insgesamt verstarben 60 (37%) von 162 Patienten in einem Beobachtungszeitraum von 2 Jahren. Von 3 (1,85%) Patienten waren die Überlebensangaben nicht zu ermitteln. Die vier häufigsten Todesursachen waren Pilzpneumonie, Pneumonie allgemein, Sepsis und Tumorblutung.

Abbildung 9 zeigt die bei 20 der 60 verstorbenen Patienten bekannten Todesursachen. Auffällig ist die hohe Rate an Pneumonien, einschließlich Pilzpneumonien. Diese Nebenwirkung der Therapie stellt ein hohes Risiko in unserem Patientenkollektiv dar und deckt sich mit den bekannten Todesursachen aus den Statistiken.

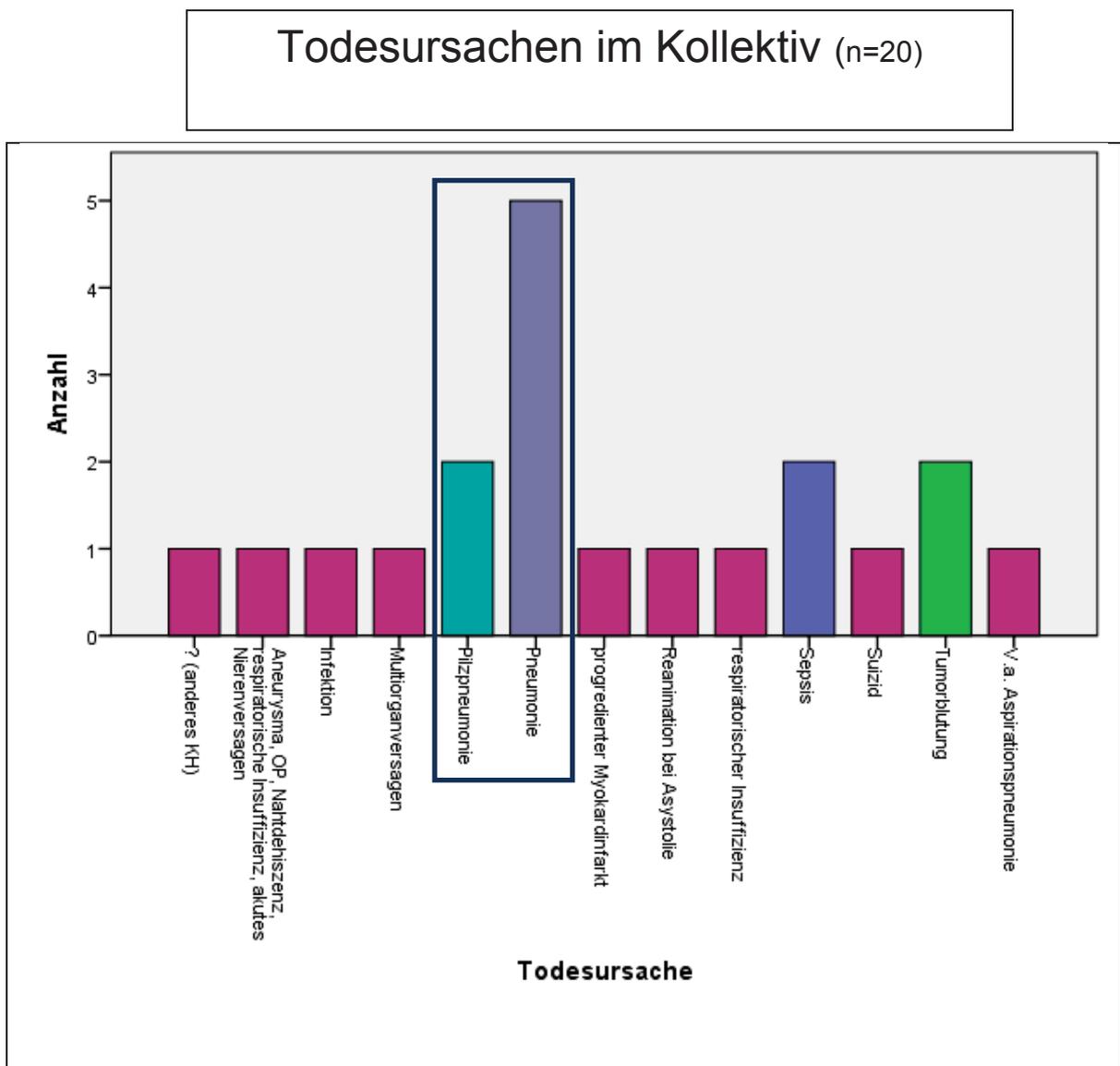


Abb. 9: x-Achse zeigt die Todesursachen der Patienten im untersuchten Kollektiv. Die y-Achse gibt die Anzahl der Patienten wieder. Der markierte Bereich kennzeichnet die häufigsten Todesursachen „Pneumonie“ und „Pilzpneumonie“.

76 (46,9%) Patienten waren Raucher, 41 (25,3%) Patienten hatten einen Nikotin- und Alkohol-Abusus. 2 (1,2%) Patienten gaben eine Alkoholabhängigkeit an. 43 Patienten (26,5%) nahmen keine Noxen zu sich.

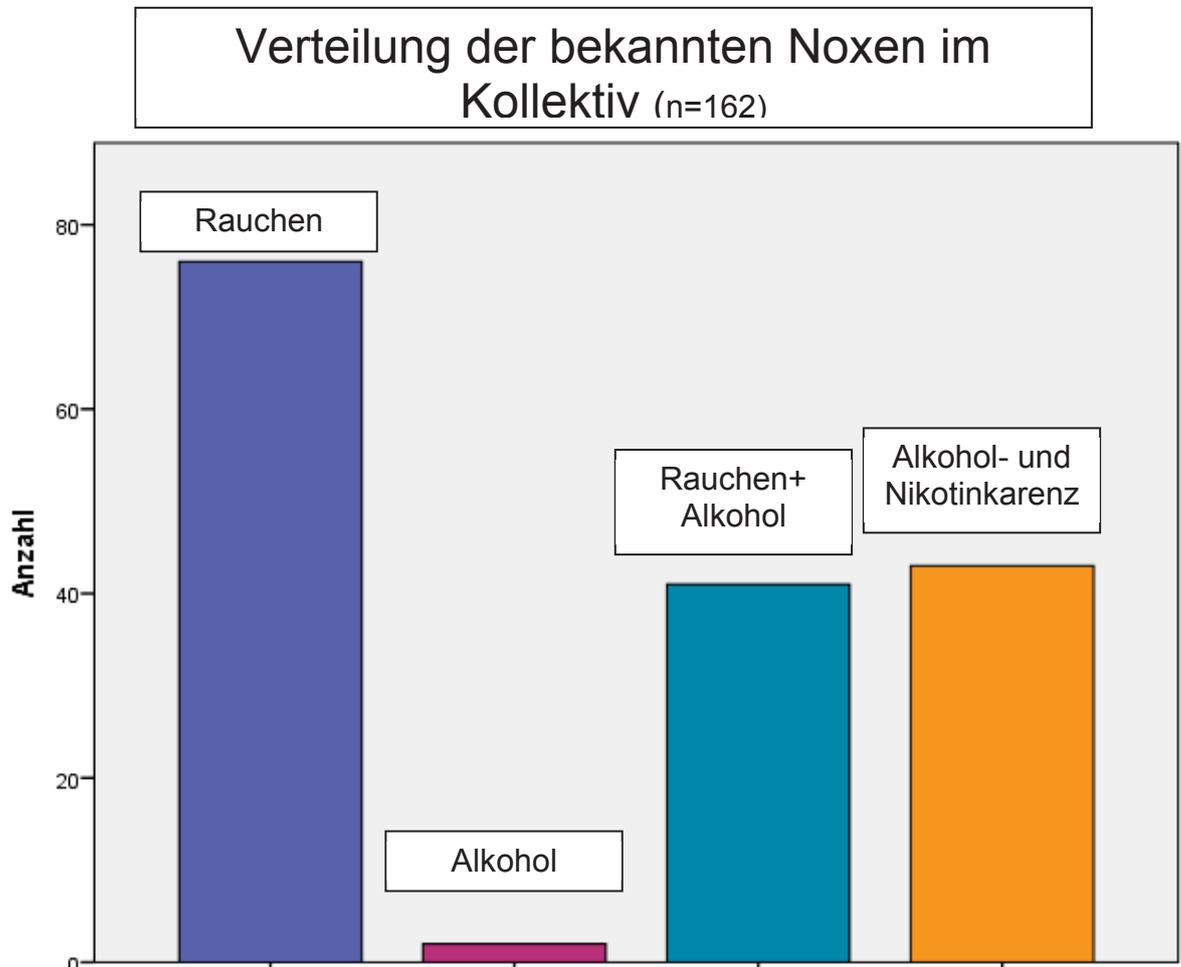


Abb. 10: Die Abbildung zeigt die unterschiedlichen Noxen, denen die Patienten ausgesetzt waren. Die y-Achse gibt die Anzahl der Patienten wieder.

Der histologische Differenzierungsgrad des Tumorgewebes wird in G1-G3, manchmal auch G4 und G9 eingeteilt (nach UICC). Das sog. Grading hat Einfluss in der Entscheidung der Behandlung, z. B. der Radiotherapie.

In dem untersuchten Kollektiv von Kopf-Hals-Tumoren fanden sich 105 (64,8%) Patienten mit einem G2 Grading, also einem mäßig differenzierten Tumor (Abbildung 11). 36 (22,2%) Patienten hatten ein schlecht/niedrig differenziertes Karzinom (G3), nur 4 (2,5%) Patienten ein gut differenziertes Tumorgewebe. Bei einem Karzinom (1 (0,6%) war ein nicht differenziertes sog. anaplastisches Gewebe angegeben. Von 16 Patienten (9,9%) lagen keine Angaben zum Differenzierungsgrad vor.

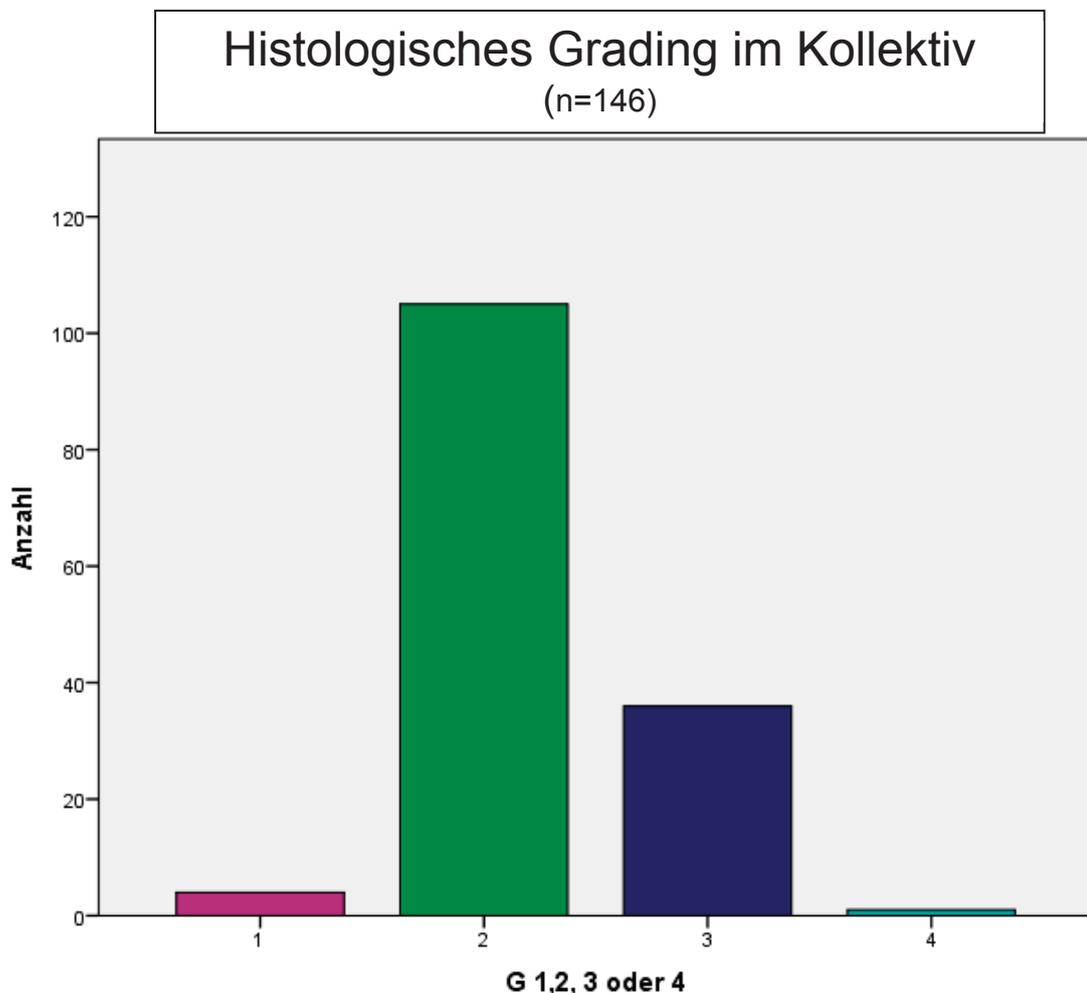


Abb. 11: Die Abbildung zeigt welches histologische Grading, die unterschiedlichen Tumoren hatten. Am häufigsten lag mit G2 ein mäßig differenziertes bösartiges Gewebe vor (grüner Balken). Bei 16 der 162 Patienten fehlten leider Angaben zum Grading.

Für eine kurative Tumorthherapie ist es wichtig, bei einer Radikalen Operation einen Sicherheitsabstand von $> 5\text{mm}$ zum Tumorrund einzuhalten, um lokale Rezidive des Tumors zu vermeiden³⁸. Wenn der Sicherheitsabstand kleiner als 5mm ist, ist von einem nicht ausreichenden Sicherheitsabstand auszugehen und es muss z.B. eine adjuvante Radio-(Chemo-)Therapie erfolgen, um das Rezidiv Risiko gering zu halten. Im Kopf-Hals-Bereich ist genügend Sicherheitsabstand oft schwierig zu erreichen, da es dort u.U. zu entstellenden oder lebensbedrohlichen Ereignissen kommen kann. Die Tumore wachsen manchmal in die Schädelbasis ein oder ummauern lebenswichtige Nerven- und Gefäßstrukturen.

Abbildung 12 zeigt den Sicherheitsabstand, der bei den operierten Patienten eingehalten wurde. Von insgesamt 98 operierten Patienten lag bei 76 eine Aussage über den Sicherheitsabstand vor. Bei 64 Patienten erfolgte eine Probeentnahme, also keine Tumorradikalooperation.

Bei 14 der 76 operierten Patienten mit Aussage zum Sicherheitsabstand (18,4%) fand sich ein Sicherheitsabstand von mehr als 5 mm im Operationspräparat. Bei 62 dieser operierten Patienten (81,6%) war der Sicherheitsabstand kleiner als 5mm. Bei 22 der gesamten operierten Patienten fehlten Aussagen zum Sicherheitsabstand.

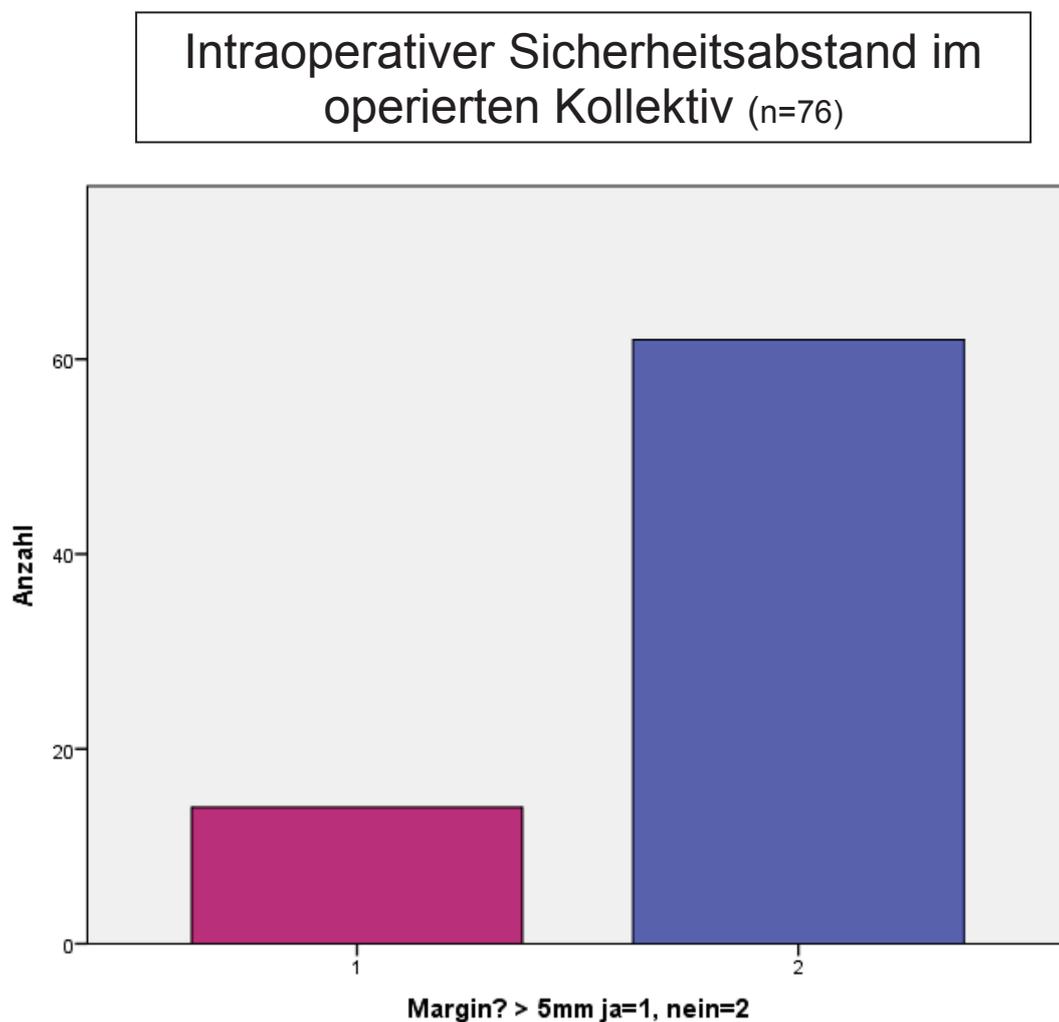


Abb. 12: Die Abbildung zeigt den bei einer Operation erreichten Sicherheitsabstand. Der lila Balken zeigt die Anzahl der Patienten mit einem ausreichendem Sicherheitsabstand (>5mm), der blaue Balken die Patienten mit einem nicht ausreichenden Sicherheitsabstand (<5mm). Die y-Achse gibt die Anzahl der untersuchten Patienten an.

Tabelle 2 Patientencharakteristik

Geschlecht [n]

	männlich	108
	weiblich	54
Summe		162

Durchschnittsalter [Jahren]

62.8 Jahre + 12.7

ECOG Score [n]

	0	60
	1	47
	2	34
	3	20
	4	1
Summe		162

Tumor Lokalisation [n]

	Nasopharynx	10
	Oropharynx	64
	Hypopharynx	15
	Mundhöhle	33
	Larynx	13
	CUP	5
	sonstige	22
Summe		162

T-Stadium (TNM-Klassifikation) [n]

	1	29
	2	44
	3	25
	4	34
	Tx (nicht bestimmt)	25
	fehlend	5
Summe		162

N-Stadium (TNM-Klassifikation) [n]

	0	48
	1	23
	2	45
	3	9
	Positiv ohne Zahlenangabe	13
	Nx (nicht bestimmt)	12
	fehlend	12
Summe		162

Histologie [n]

	Plattenepithelkarzinom	150
	Adenokarzinom	3
	andere (z.B.Schmincketumor)	9
Summe		162

Differenzierungsgrad [n]

	G1	4
	G2	105
	G3	36
	G4	1
	Keine Angabe	16
Summe		162

Indikation zur Bestrahlung [n]

	Keine	35
	primäre RT	15
	adjuvante RT	79
	palliative/adjuvante RT	4
	indiziert, aber nicht erfolgt	21
	palliative RT	8
Summe		162

Chemotherapie [n]

	Keine	93
	Cisplatin/5-FU	34
	MitomycinC/5-FU	8
	Cisplatin/5-FU/Cetuximab (Extreme-Studie)	7
	Cetuximab mono	2
	Cisplatin/5-FU/Cetuximab (ACCRA-Studie)	6
	Rezidiv Chemo (Docetaxel, Cisplatin,5-FU)	3
	palliativ Chemotherapie (Docetaxel mono)	2
	Cisplatin mono	6
	Mitomycin mono	1
Summe		162

Noxen [n]

	Keine	43
	Rauchen	76
	Alkohol	2
	Beides	41
Summe		162

OP [n]

	Keine	64
	OP	98
Summe		162

HPV-Status [n]

	Positiv	36
	Negativ	118
	Intermediär	8
Summe		162

Hb-Wert [n]

	>11 g/dl	143
	9,5 – 10,9 g/dl	13
	8,0 – 9,4 g/dl	3
	6,5 – 7,9 g/dl	2
	<6,4 g/dl	0
	fehlend	1
Summe		162

Abbildung 13 zeigt die Häufigkeit der HPV-Infektion in dem Patientenkollektiv der Universität Düsseldorf. HPV-positive Tumore fanden sich bei insgesamt 36 (22,2%) Patienten und HPV-negative bei 118 (72,8%). Die Häufigkeit der Infektion war deutlich geringer als in der vergleichbaren Literatur^{26,39,40}. 8 Patienten zeigten ein intermediäres Färbespektrum (5%).

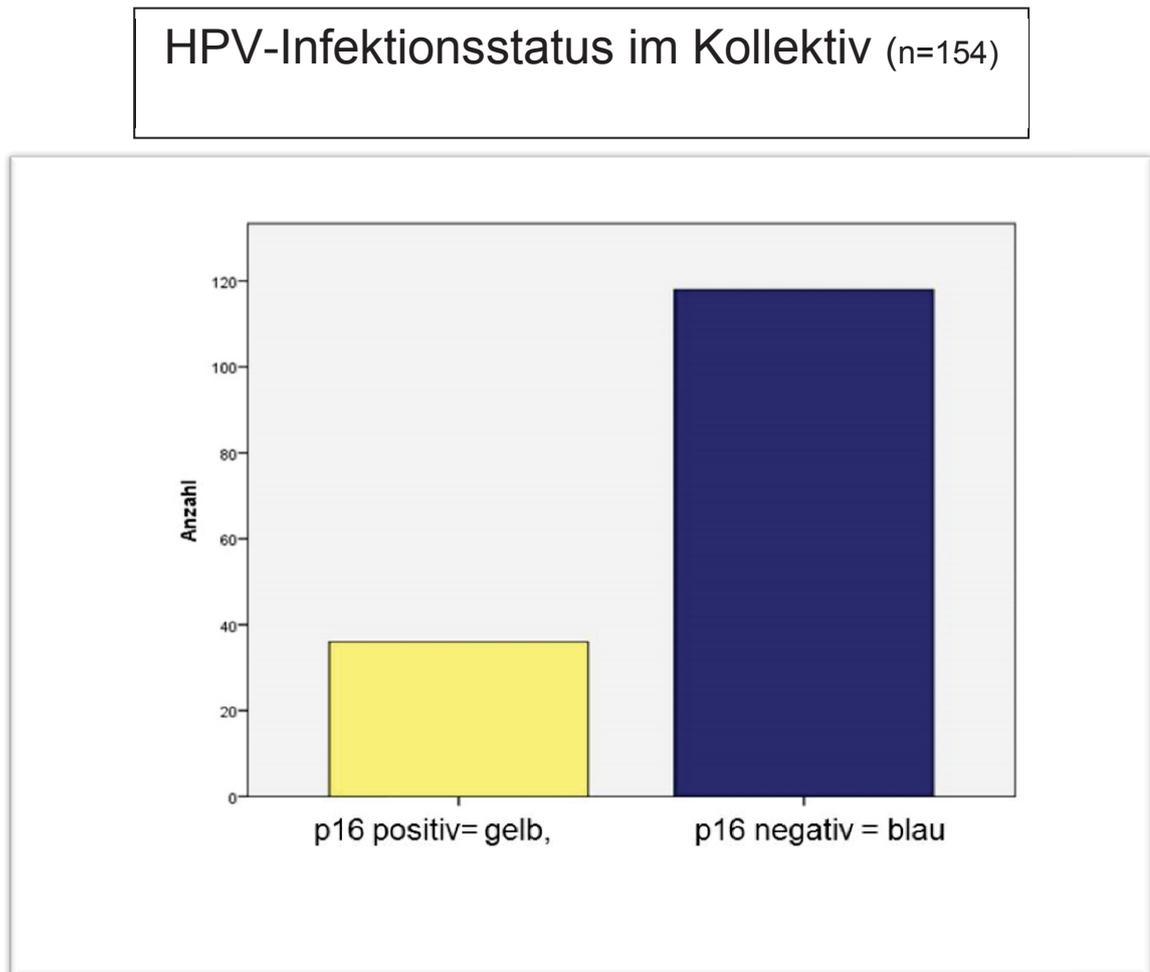


Abb. 13: Häufigkeit einer HPV-Infektion bei allen hier untersuchten Kopf-Hals-Tumoren im Raum Düsseldorf. Der gelbe Balken zeigt die 36 Patienten mit einem p16-positiven Tumor, der blaue Balken die 118 p16-negativen Tumore. Die y-Achse gibt die Anzahl der Patienten an. Der Anteil der intermediären Patienten wurde ausdrücklich nicht in die Grafik aufgenommen.

Bei 21 von 64 Patienten (32,8%) mit einem Oropharynxkarzinom fand sich eine HPV-Infektion. Bei 43 von 64 Patienten (67,2%) war der HPV-Status negativ. Bei zwei Patienten fehlte die Auswertung bezüglich des HPV-Status.

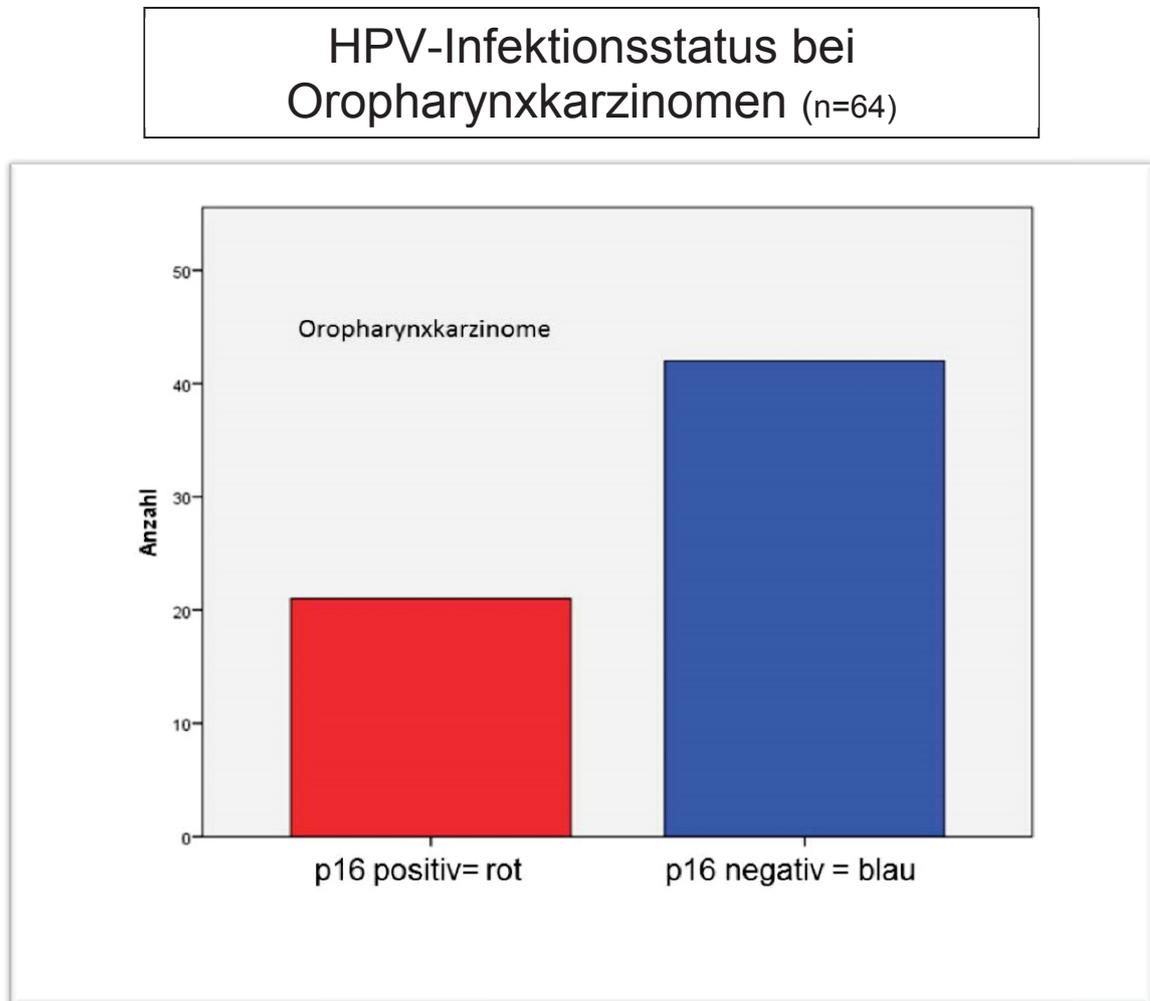


Abb. 14: Absolute Häufigkeit einer HPV-Infektion bei Oropharynxkarzinomen im Raum Düsseldorf. Der rote Balken zeigt die HPV-positiven Patienten (32,8%) mit einem Oropharynxkarzinom an. Der blaue Balken zeigt die Verteilung der HPV-negativen Patienten (67,2%). Die y-Achse gibt die Anzahl der Patienten wieder.

Die Abbildung 15 zeigt in welchem Allgemeinzustand sich die Patienten befanden.

Dafür wurde das Scoringssystem der *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) verwendet.

60 (37%) Patienten hatten einen guten Allgemeinzustand und wurden in den ECOG 0 eingeteilt. Das zweithäufigste war ein ECOG 1, welcher bei 47 (29%) der Patienten vorkam. Bei einem ECOG von 2 sind die Patienten eingeschränkt, brauchen vermehrt Ruhe, was bei der vorhandenen Patientengruppe bei 34 (21 %) Patienten der Fall war. Einen ECOG von 3 hatten hingegen 20 (12,3%) Patienten. Nur 1 Patient (0,6%) in dem Patientenkollektiv hatte einen ECOG 4 (grauer Balken), was einen bettlägerigen und pflegebedürftigen Zustand anzeigt.

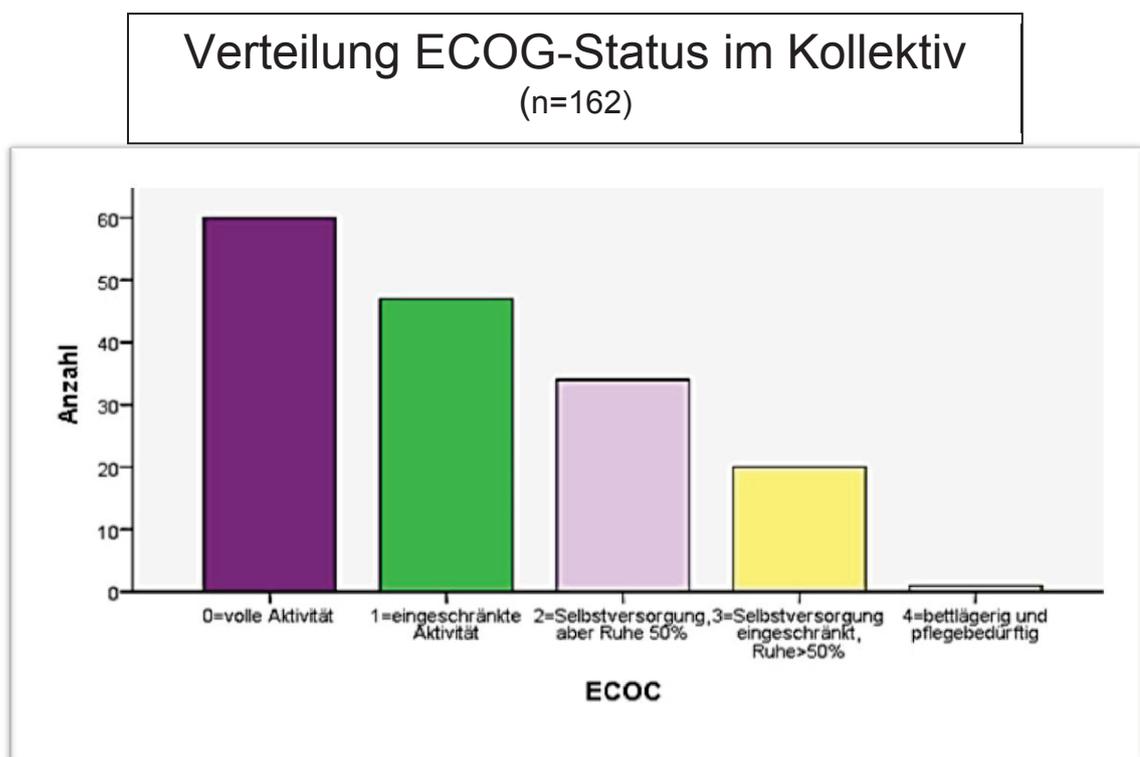


Abb. 15: ECOG-Status bei dem erfassten Patientenkollektiv.

Dunkel lila Balken= ECOG (-Status)= 0, d.h. volle Aktivität möglich; grüner Balken= ECOG 1, haben eine eingeschränkte Aktivität; hell-lila Balken=ECOG 2, Selbstversorgung möglich, die Patienten brauchen aber <50% des Tages Ruhe; gelber Balken zeigt einen ECOG 3, eingeschränkte Selbstversorgung, >50% Ruhezeit; grauer Balken= ECOG 4, bedeutet bettlägeriger und pflegebedürftiger Patient.

Statistische uni-und multivariate Auswertung

Patienten mit HPV-positiven Oropharynxkarzinomen zeigten im Vergleich zu HPV-negativen Tumoren eine tendenziell längere Überlebenszeit, die jedoch in dem Patientenkollektiv noch nicht signifikant war ($p=0.76$, HR: 2.42, 95% KI 0.91 – 6.44). Alle weiteren Parameter waren, außer dem Tumorstadium in der uni- und multivariate Analyse, nicht signifikant für das Gesamtüberleben. Ursache hierfür könnten die geringen Fallzahlen in den einzelnen Subgruppen sein. Die univariate Analyse, die als Endpunkt das Überleben hat, zeigt die Tabelle 3. Tabelle 4 zeigt die Auswertung in der multivariate Analyse.

Tabelle 3

Univariate, binarische logistische Regressions-Analyse mit Endpunkt Gesamt-Überleben

Variabel	Hazard Ratios	95 % KI der Odds-Ratio	p-Wert
Geschlecht	0.97	0.57 – 1.67	0.908
Alter	1.00	0.99 – 1.03	0.368
Hb-Wert <11g/dl	0.79	0.68 – 0.91	0.001*
HPV (alle Tumoren)	1.38	0.71 – 2.65	0.341
Oropharynx vs. restliche Lokalisation	1.09	0.65 – 1.83	0.736
Nasopharynx vs. restliche Lokalisation	1.32	0.48 – 3.65	0.588
Mundhöhle vs. restliche Lokalisation	0.59	0.28 – 1.25	0.592
Hyopharynx vs. restliche Lokalisation	1.09	0.47 – 2.55	0.837
Larynx vs. restliche Lokalisation	0.65	0.29 – 2.18	0.649
CUP vs. restliche Lokalisation	2.22	0.69- 7.10	0.179
T-Stadium (1-2 vs. 3-4)	4.14	2.11 – 8.11	0.001*
N-Stadium (0-1 vs. 2-3)	1.61	0.86 – 3.04	0.14

Histologie (PEC vs. andere Histologie)	0.96	0.35– 2.69	0.945
Tumor <i>Grading</i> (G1-2 vs.G3)	1.02	0.41– 2.55	0.974
Schnittrand (<5mm vs. >5mm)	1.08	0.36 – 3.22	0.894
Chemotherapie (ja vs. nein)	1.44	0.85 – 2.45	0.180
ECE vs. no ECE	1.82	0.98– 3.40	0.058
Alkohol (ja vs. nein)	0.609	0.36 – 1.04	0.068
Nikotin (ja vs. nein)	0.820	0.457 – 1.471	0.505

* Signifikante Werte von 5% (Wald-Test)

Tabelle 4

Multivariate logistische Regressionsanalyse für den Endpunkt Gesamtüberleben untersucht bei allen Patienten.

Variabel	Hazard Ratios	95 % KI der Odds-Ratio	p-Wert
T-Stadium (1-2 vs. 3-4)	3.56	1.78 – 7.12	0.001
HPV	1.03	0.47 – 2.28	0.933
Hb	0.882	0.74 – 1.05	0.162

In der Zusammenschau beider Tabellen lässt sich festhalten, dass sowohl das T-Stadium, wie auch der Hb-Wert signifikant waren (gelb hinterlegt). Die anderen untersuchten Parameter hingegen erwiesen sich als nicht signifikant.

Es ist hinreichend bekannt, dass bei Malignomen sekundäre tumorbedingte Anämien häufig auftreten. Dabei handelt es sich um hyporegenerative, normozytäre, normochrome Anämien. Sie entstehen durch eine verkürzte Lebenszeit und verminderte Produktion der Erythrozyten. Es liegen viele Untersuchungen vor, die einen Einfluss des Hämoglobinwertes auf die Tumorthherapie bei Tumoren des Kopf-Hals-Bereiches analysieren.

Patienten mit einem niedrigen Hämoglobinwert (<11 g/dl) haben in unserer Untersuchung ein schlechteres Überleben in der univariaten, jedoch nicht mehr in der multivariaten Analyse. Die Hämoglobinwerte konnten bei 161 (99,4%) ausgewertet werden. Es fehlte bei 1 (0,6%) Patienten die präoperative Hb-Wert Angabe. Der Hb-Wert der Patienten streute von 6,8 g/dl bis 17,3 g/dl. Der Mittelwert in diesem Patientenkollektiv lag bei 13,3 g/dl. Die Stratifizierung der Serum-Hb-Werte erfolgte analog der WHO-Skala:

Anämiegrad		Hb-Spiegel im Blut
Nicht anämisch	(Grad 0)	> 11 g/dl (6,8 mmol/l)
Leicht anämisch	(Grad 1)	9,5 – 10,9 g/dl (5,9 – 6,8 mmol/l)
Mäßig anämisch	(Grad 2)	8,0 – 9,4 g/dl (5,0 – 5,9 mmol/l)
Stark anämisch	(Grad 3)	6,5 – 7,9 g/dl (4,0 – 4,9 mmol/l)
Sehr stark anämisch	(Grad 4)	weniger als 6,5 g/dl (4,0 mmol/l)

Tabelle 5: WHO-Skala

Das Überleben nach dem Resektionsstatus zeigt die Abbildung 16.

Es wird deutlich, dass Patienten, die eine R0-Resektion (56 (34,6%) Patienten) hatten, einen deutlich besseren klinischen Verlauf aufweisen, als Patienten, bei denen mikroskopisch noch Tumoranteile im Resektionsrand nachweisbar sind (R1-Resektions-Status, insgesamt 50 (30,9%) Patienten). Die schlechtesten Überlebenschancen haben Patienten mit einem R2-Resektions-Status (makroskopisch Tumoranteile im Resektionsrand nachweisbar), 2 (1,2%) Patienten waren in unserem Patientenkollektiv davon betroffen. Bei 54 (33,3%) Patienten fehlten Angaben über den Resektions-Status, z.B. weil ein Lymphknoten zur Diagnosesicherung entnommen wurde oder eine PE erfolgte und keine vollständige radikale Tumoroperation.

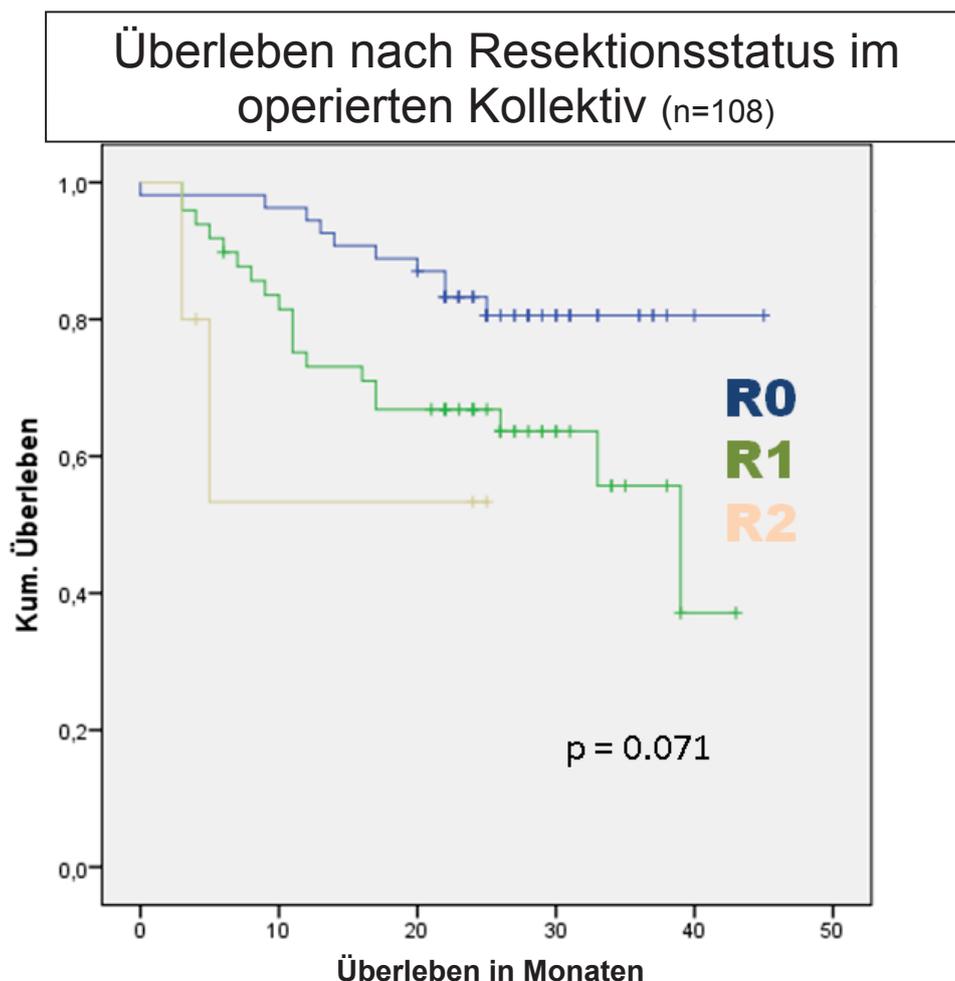


Abb. 16: Überleben nach Resektions-Status. y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. R0= blaue Kurve; R1= grüne Kurve, R2= rote Kurve.

Die Rolle von p16 zeigt sich am besten beim Oropharynxkarzinom. Hier ist ein verlängertes Gesamtüberleben zu sehen, wenn Patienten p16-positiv sind. Der klinische Verlauf ist in Abbildung 17 zu sehen.

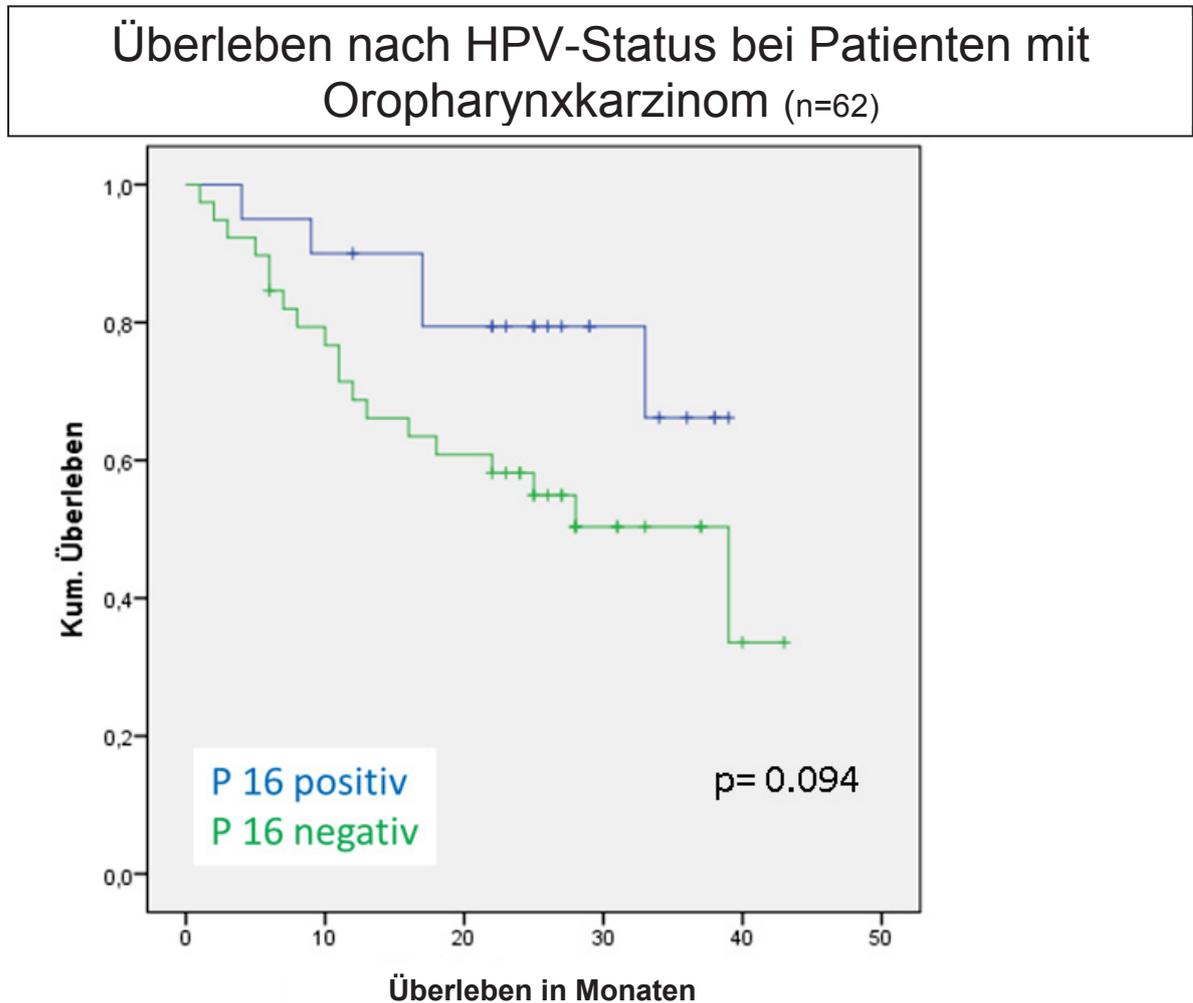


Abb. 17: Überleben nach HPV-Status bei Oropharynxkarzinomen. y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. p16 positiv = blaue Kurve; p16 negativ = grüne Kurve.

CUP-Patienten sind Patienten, bei denen der Ursprungstumor nicht bekannt ist. Das Überleben dieser Patienten zeigt Abbildung 18.

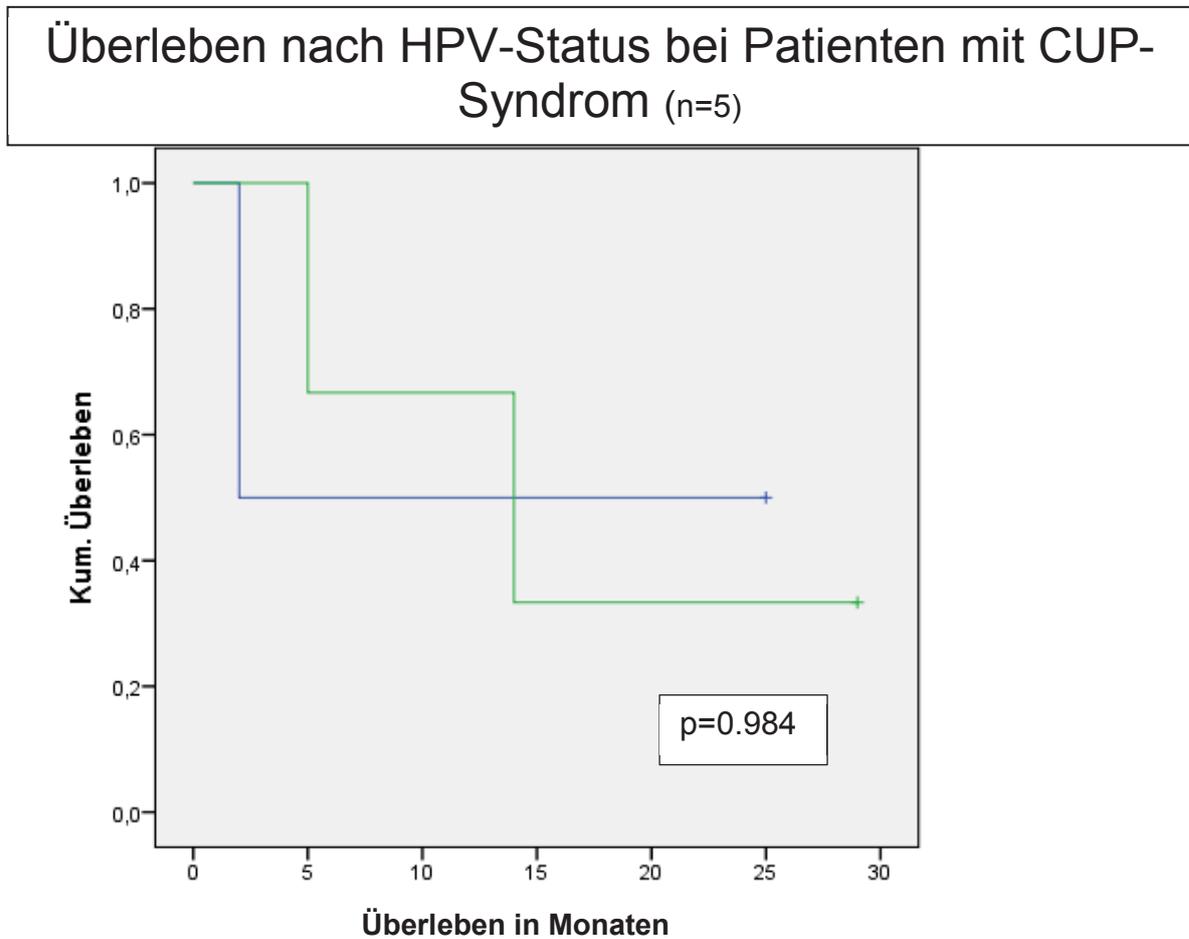


Abb. 18: Überleben nach HPV-Status bei CUP- Syndrom. y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. p16 positiv= blaue Kurve; p16 negativ= grüne Kurve.

Bei Patienten mit einem CUP-Syndrom ist das Überleben deutlich schlechter, als bei Patienten mit gesicherter Lokalisation des Primarius. Im untersuchten Patientenkollektiv lag ein CUP-Syndrom bei insgesamt 5 Patienten (3,1%) vor, z.B. als Lymphknotenmetastase im Kopf-Hals-Bereich und wurden deshalb auch wie ein primärer Kopf-Hals-Tumor therapiert. Die Ergebnisse zeigt die Abbildung 18.

Überleben nach HPV-Status bei Patienten mit Hypopharynxkarzinom (n=13)

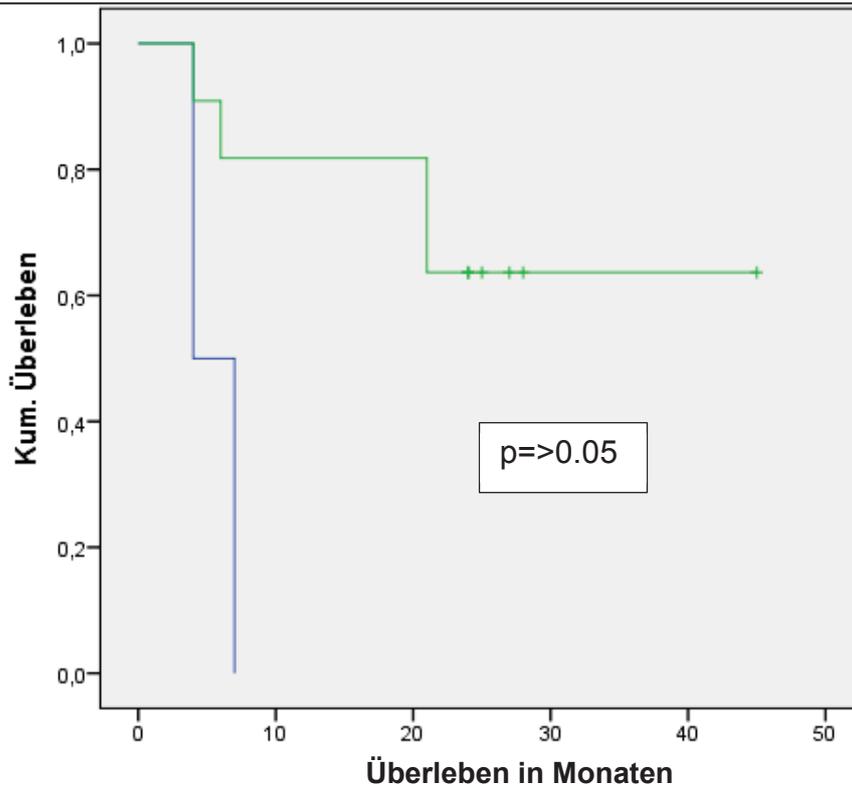


Abb. 19: Überleben nach HPV-Status beim Hypopharynxkarzinom. y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. p16 positiv = blaue Kurve; p16 negativ = grüne Kurve.

Ein Hypopharynxkarzinom lag bei insgesamt 15 (9,3%) Patienten vor. Davon waren 2 (13,3%) Patienten HPV-positiv und 11 (73,3%) Patienten HPV-negativ. Bei 2 Patienten (13,3%) konnte der HPV-Status nicht bestimmt werden, z. B. aufgrund von Artefakten bei der Anfärbung.

In unserem Patientenkollektiv fanden sich 10 Patienten (6,2%) mit einem Nasopharynxkarzinom. 3 (30%) dieser Patienten wiesen einen positiven HPV-Status auf. Die Abbildung 20 zeigt das Überleben für HPV-positive und HPV-negative Patienten in dieser Subgruppe. Auch hier ergibt sich eine Tendenz zum besseren klinischen Verlauf HPV-positiver Patienten.

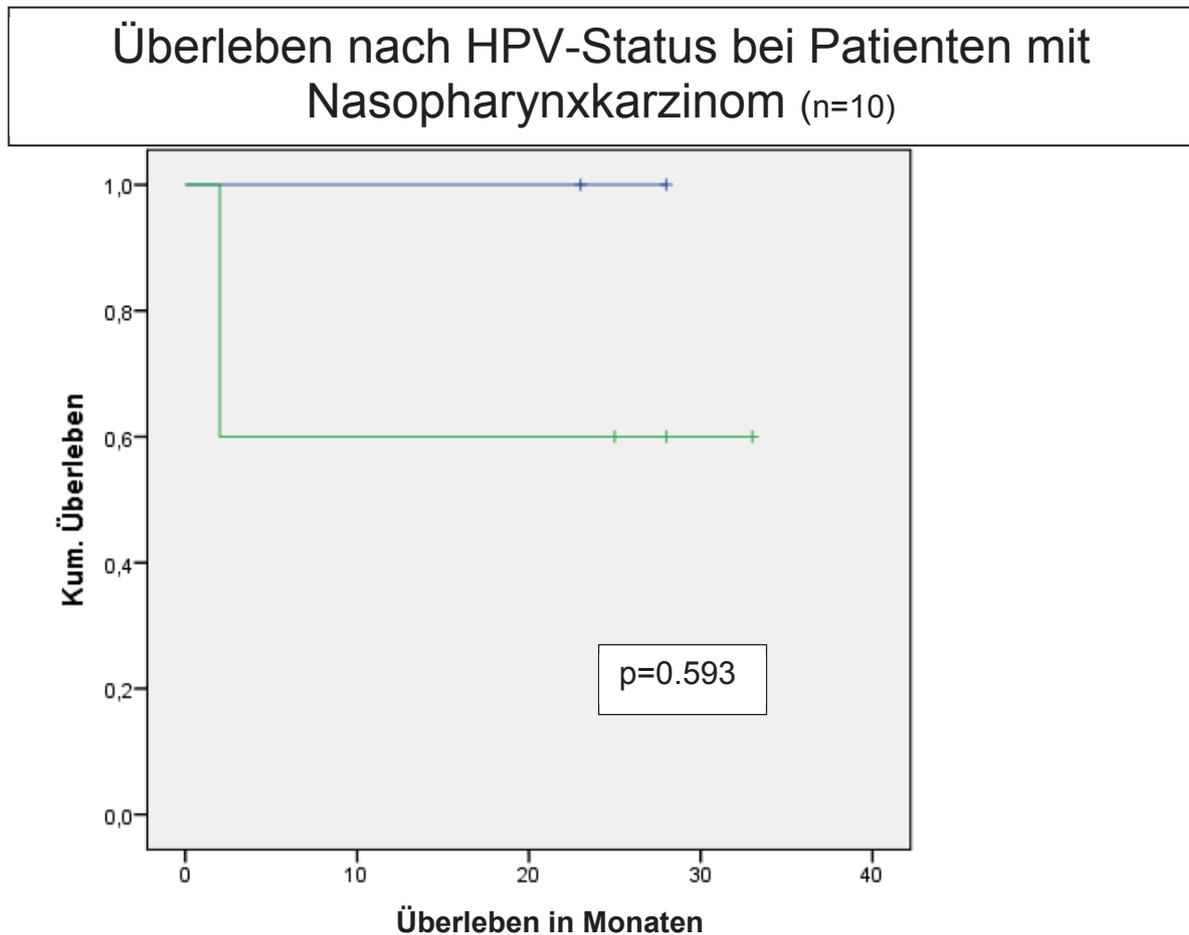


Abb. 20: Überleben nach HPV-Status beim Nasopharynxkarzinom. y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. p16 positiv= blaue Kurve; p16 negativ= grüne Kurve.

Bei dem unten gezeigten Patientenkollektiv war aus onkologischer Sicht entweder keine Bestrahlung erforderlich (20 (12,4%) Patienten), weil nach erfolgter Operation kein Risiko bestand weder ein Lokalrezidiv noch eine Metastasierung zu bekommen, oder die Patienten lehnten eine Bestrahlung ab (22 (13,6%)).

Überleben nach HPV-Status bei Patienten ohne Bestrahlung (n=42)

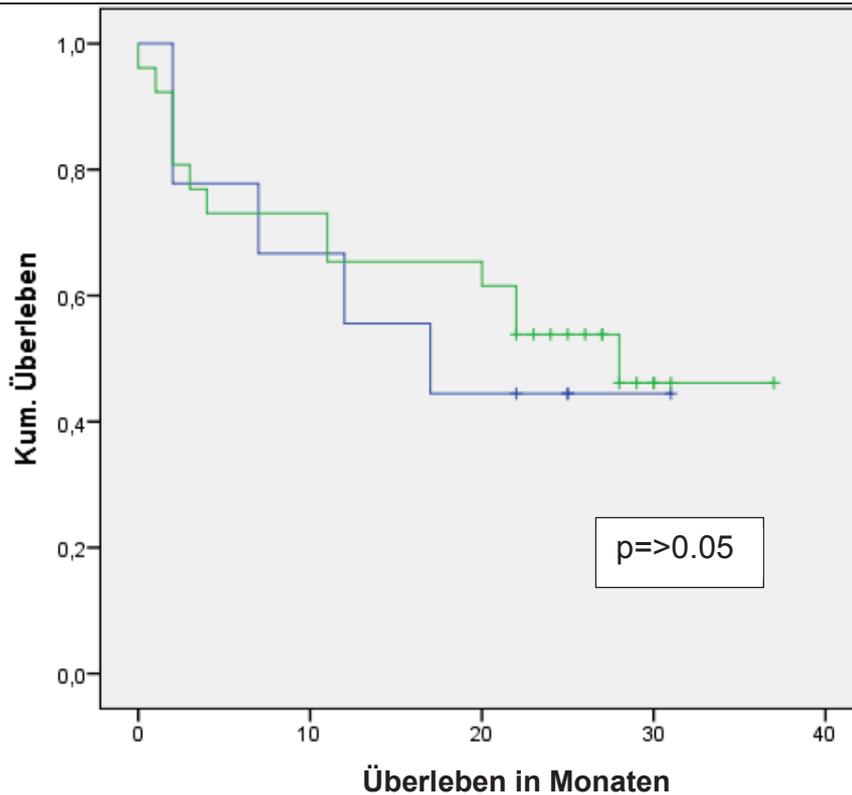


Abb. 21: Überleben ohne Bestrahlung. y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. p16 positiv = blaue Kurve; p16 negativ = grüne Kurve.

Überleben nach HPV-Status bei Patienten mit Mundhöhlentumoren (n=33)

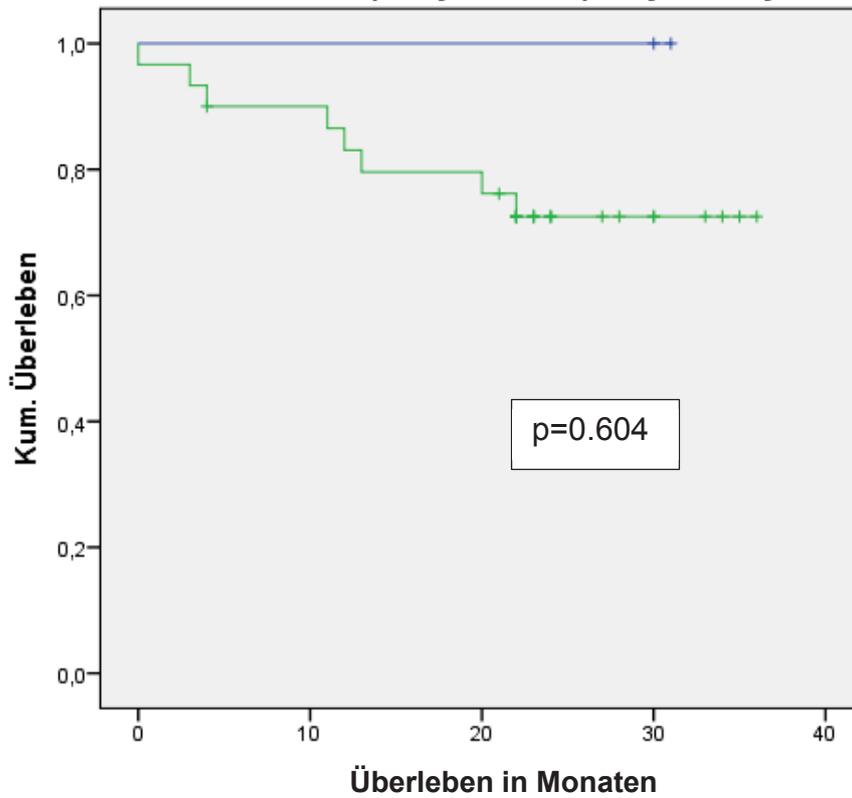


Abb. 22: Überleben nach HPV-Status beim Mundhöhlenkarzinom. y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. p16 positiv = blaue Kurve; p16 negativ = grüne Kurve.

In dem Patientenkollektiv hatten 33 Patienten (20,1%) ein Mundhöhlenkarzinom. HPV-positive Tumore der Mundhöhle haben im Patientenkollektiv ein sehr gutes Ansprechen. Vorteilhaft bei diesen Tumoren ist, dass sie durch die Lage in der Mundhöhle früher erkannt werden als andere Kopf-Hals-Tumore. Deshalb zeigt auch die Abbildung 22 ein besseres Überleben von Patienten mit einem Mundhöhlenkarzinom. p16-positive Patienten zeigten auch in dieser Analyse ein besseres Überleben, jedoch waren die Werte nicht statistisch signifikant.

Bekannte Risiken für ein Lokalrezidiv oder eine Fernmetastasierung bei Tumoren sind extrakapsuläres Wachstum (ECE) der Lymphknotenmetastasen, eine R1- oder R2- Resektion des Tumors sowie die Größe des Tumors (T3-T4 Tumore).

Deshalb erfolgt bei dieser Risikokonstellation nach erfolgter Tumorradikaloperation eine adjuvante Radio-(Chemo-)Therapie. Die Ergebnisse bezüglich dieser Risikofaktoren wurden in dieser Doktorarbeit ausgewertet und im Folgenden grafisch dargestellt.

Dabei wurden zunächst die erhobenen Daten zur Radio-(Chemo-)Therapie ausgewertet, danach die Ergebnisse zu den Risikofaktoren „Kapseldurchbruch bei Lymphknotenmetastasen“, „Resektionsstatus“, „begleitende Noxen“ und „fortgeschrittene Tumorgöße“ ausgewertet und in Zusammenhang mit dem HPV-Infektionszustand herausgearbeitet.

Überleben nach HPV-Status bei allen bestrahlten Patienten (n=98)

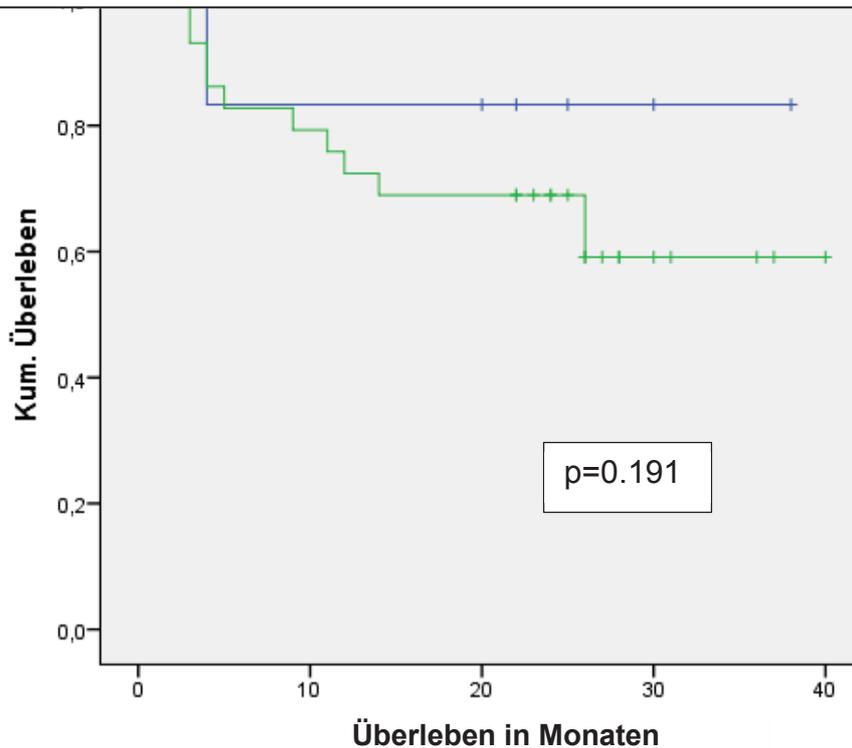


Abb. 23: Überleben mit Bestrahlung bei allen Kopf-Hals-Tumoren. y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. p16 positiv= blaue Kurve; p16 negativ= grüne Kurve.

HPV-positive Patienten haben einen günstigeren Krankheitsverlauf²⁵. Im Patientenkollektiv zeigte sich ein längeres Überleben als bei Patienten ohne HPV-Infektion. Dies zeigt auch die Abbildung 23. HPV-assoziierte Tumore scheinen auf eine Radiotherapie besser anzusprechen.

Überleben nach HPV-Status bei ACCRA-Studienpatienten (n=6)

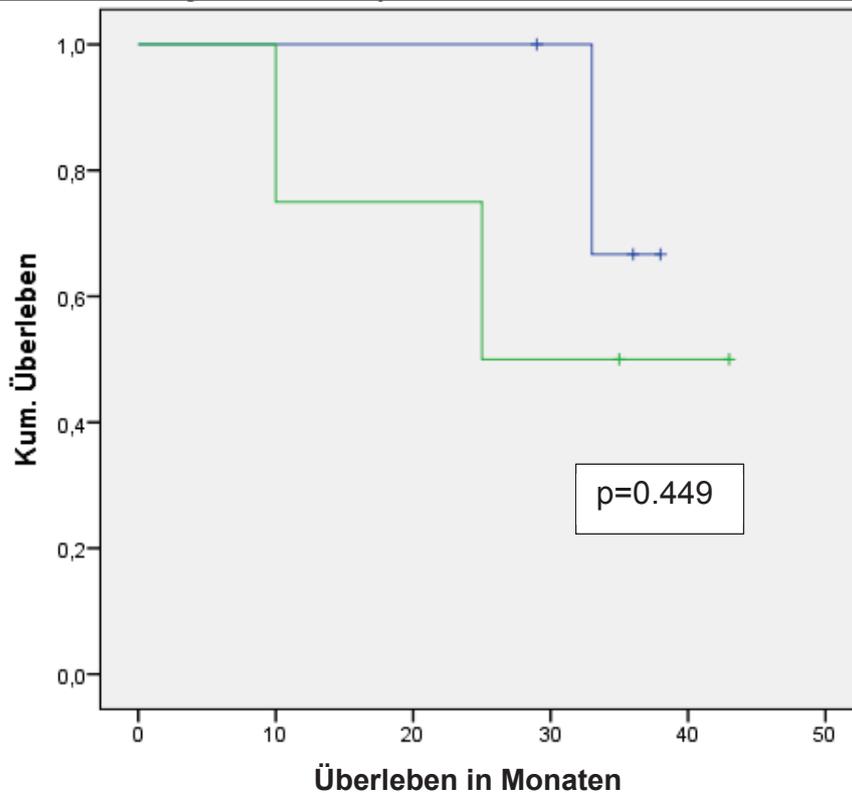


Abb. 24: Überleben mit Chemotherapie, Bestrahlung, Chemotherapie und Antikörpertherapie mit Cetuximab (Handelsname: Erbitux®). y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. p16-positiv = blaue Kurve; p16-negativ = grüne Kurve.

Am Standort Düsseldorf wurden Patienten zum Teil auch in die ACCRA- (*adjuvant Cetuximab and Radio- Chemotherapie in head and neck cancer*) Studie eingeschlossen. 6 (3,7%) Patienten in unserem Kollektiv erhielten diese Therapie.

Die Studie zeigte für eine zusätzliche Cetuximab-Gabe (chimärer, monoklonaler Antikörper vom Typ IgG1 gegen den Epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGFR)) zur Standard-Radiochemotherapie keinen Überlebensvorteil. Die HPV-positiven Patienten der ACCRA-Studie haben aber auch hier ein längeres Gesamtüberleben als HPV-negative Patienten.

Überleben nach HPV-Status und Resektionsrand bei allen operierten Patienten (n=76)

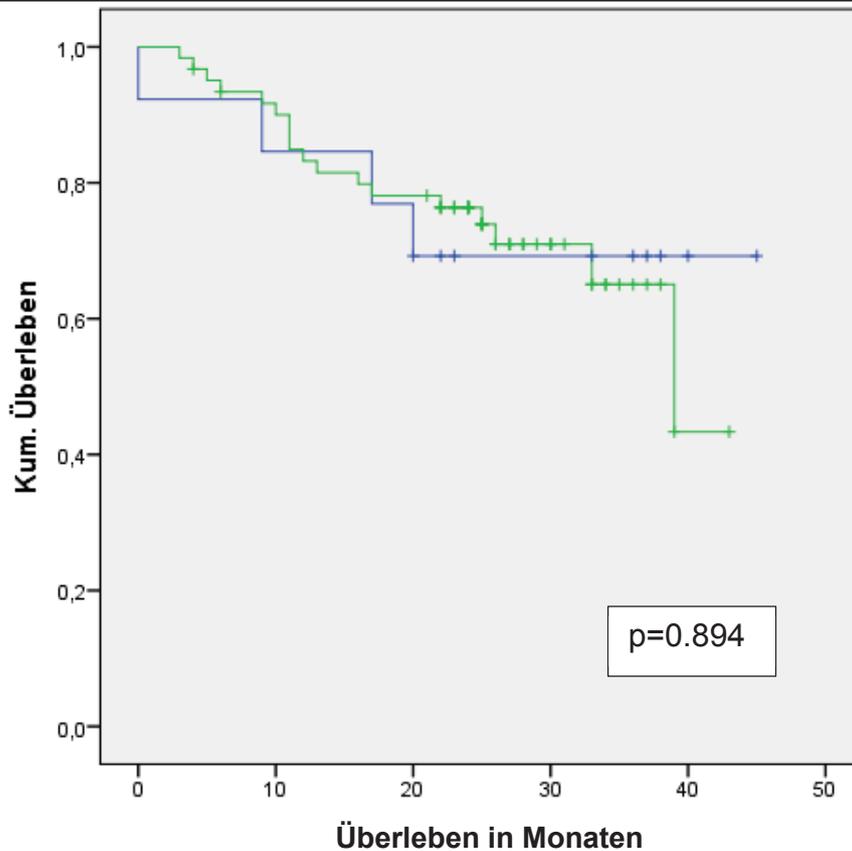


Abb. 25: Überleben nach operativer Therapie. Einfluss des Resektionsrandes. y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. Resektionsrand größer 5 mm = blaue Kurve; Resektionsrand kleiner als 5 mm = grüne Kurve.

Die Ergebnisse für die Untersuchung des Resektionsrandes sind in der Abbildung 25 dargestellt. Hier fanden sich keine Unterschiede bei Patienten die HPV-positiv bzw. HPV-negativ waren.

Die Untersuchung für das kumulative Überleben nach dem Resektions-Status findet sich in der Abbildung 26. Umso größer der Resektionsrand war, umso länger war das kumulative Überleben der Patienten. Die schlechtesten Ergebnisse fanden sich bei Patienten, bei denen makroskopisch Tumorreste nach der Operation im Resektionsrand verblieben waren.

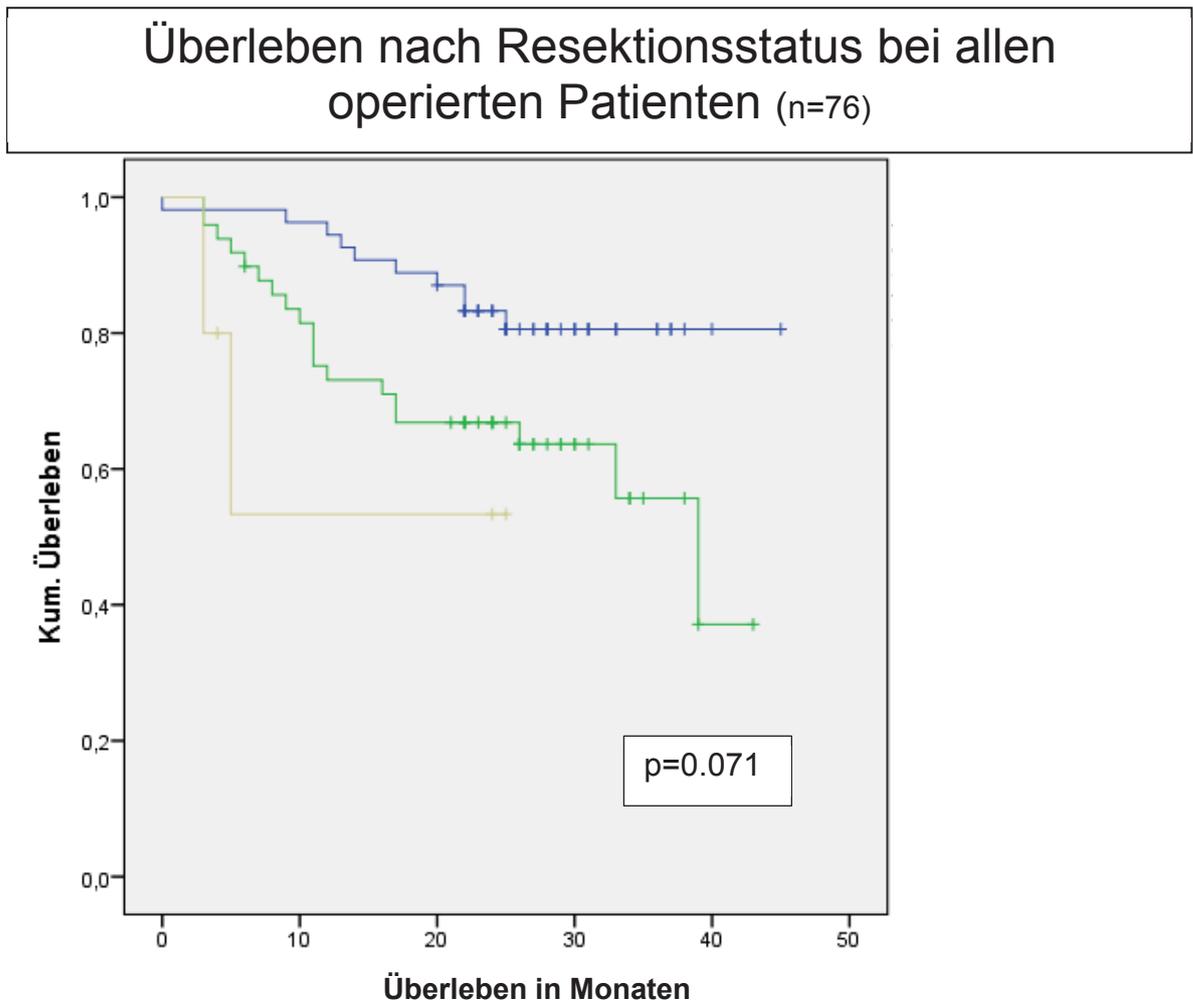


Abb. 26: Überleben nach Resektionsstatus. Einfluss von R0 (blau), R1 (grün) und R2 (rot) auf das Überleben. y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten.

Die Abbildung 27 zeigt das Überleben der Patienten nach einem Kapseldurchbruch des Tumors in einem Lymphknoten. Dies ist ein Zeichen für einen fortgeschrittenen Tumor. In der vorliegenden Untersuchung war das kumulative Überleben der Patienten besser, wenn eine HPV-Infektion nachgewiesen werden konnte. Die statistische Auswertung ergab jedoch keine Signifikanz.

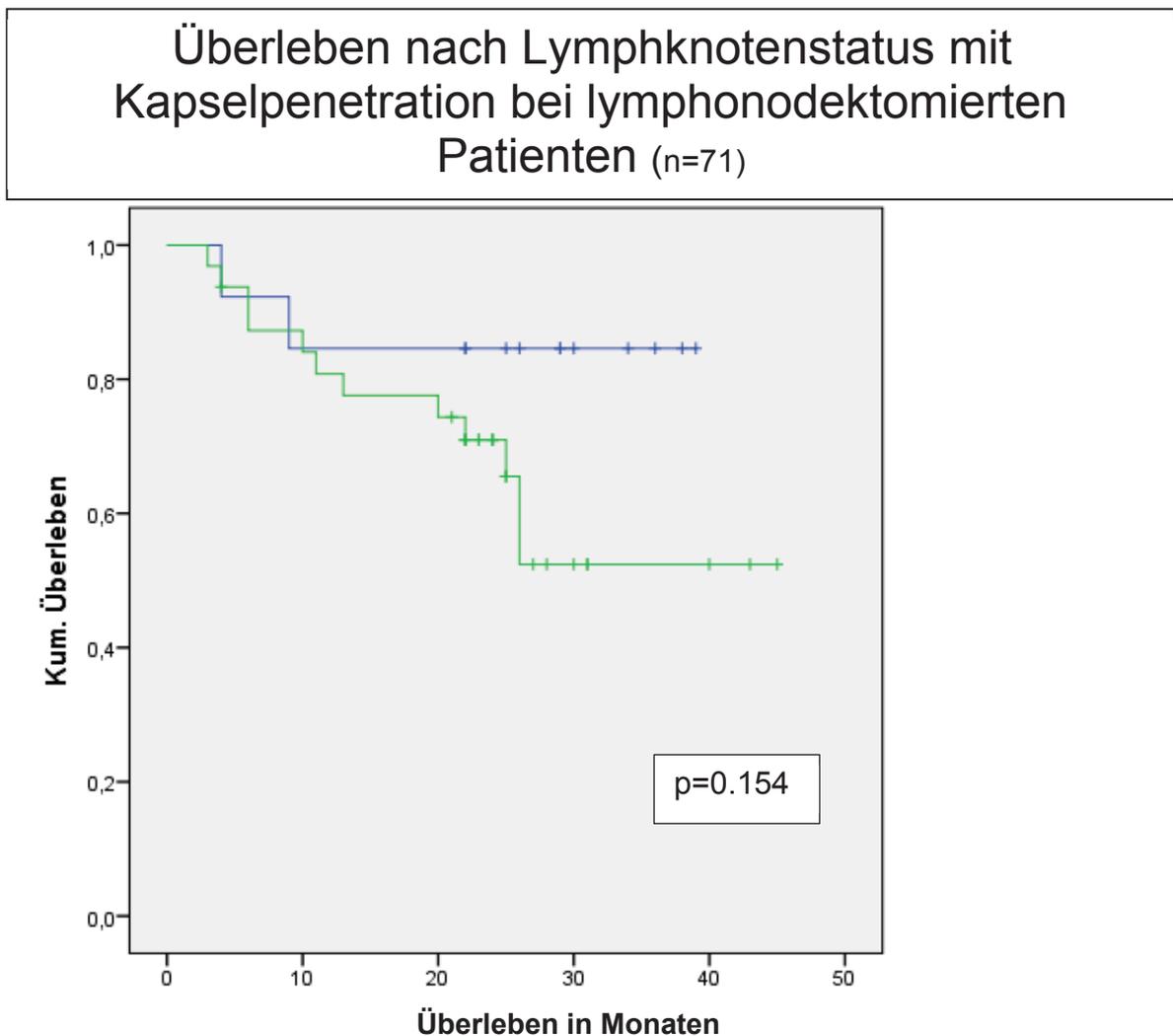


Abb. 27: Überleben nach Lymphknotenstatus (Kapseldurchbruch). y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. p16 positiv= blaue Kurve; p16 negativ= grüne Kurve.

Ein Lymphknotenstatus aus den histologischen Präparaten war bei 71 (43,8% des Gesamtkollektives) der Patienten angegeben. Bei 49 (69%) dieser Patienten war kein Kapseldurchbruch der Lymphknotenmetaste(n) zu sehen, bei 22 (31%) der Patienten war dieser vorhanden. Bei 91 (56,2% des Gesamtkollektives) Patienten

fehlten Angaben hinsichtlich dieses Parameters, weil die Patienten keine *neck dissection* erhielten.

Untersucht wurde auch der HPV-Status bei Patienten mit einem fortgeschrittenen Tumor (T3- und T4- Tumoren). Die Ergebnisse zeigt die Abbildung 28. Hier ergab sich ein tendenziell besseres Überleben bei Patienten mit einer HPV-Infektion. Jedoch war auch in dieser Untersuchung der Unterschied nicht statistisch signifikant.

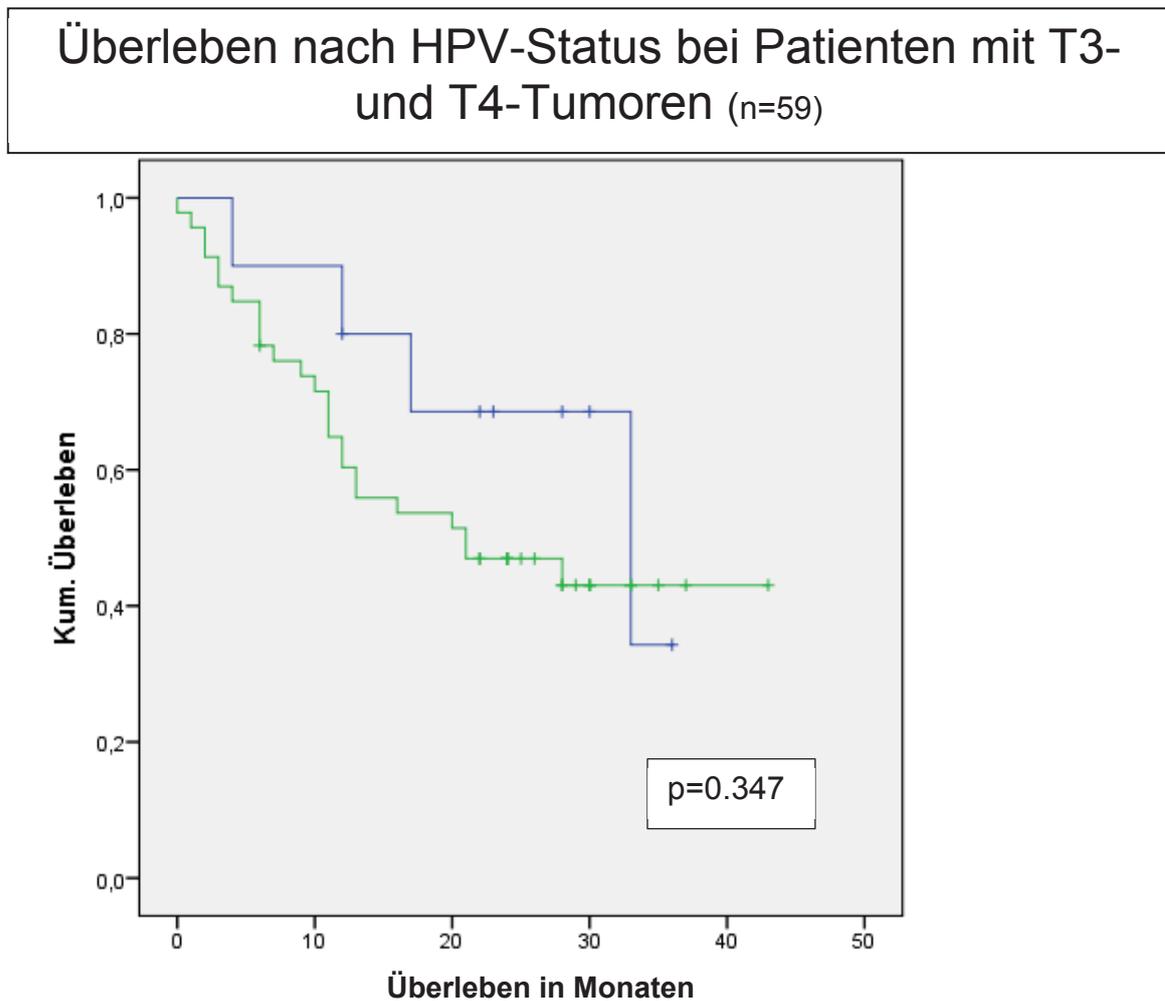


Abb. 28: Überleben bei Patienten mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium (T3- und T4-Tumoren) und Zusammenhang mit der HPV-Infektion. y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. p16-positiv= blaue Kurve; p16-negativ= grüne Kurve.

Analysiert wurde auch das Überleben der Patienten, die bestimmten Risikofaktoren ausgesetzt waren. Untersucht wurden Risikofaktoren wie etwa Zigarettenabusus, Alkoholmissbrauch und die Kombination von beiden Risikofaktoren. Abbildung 29 zeigt die Ergebnisse dieser Untersuchung.

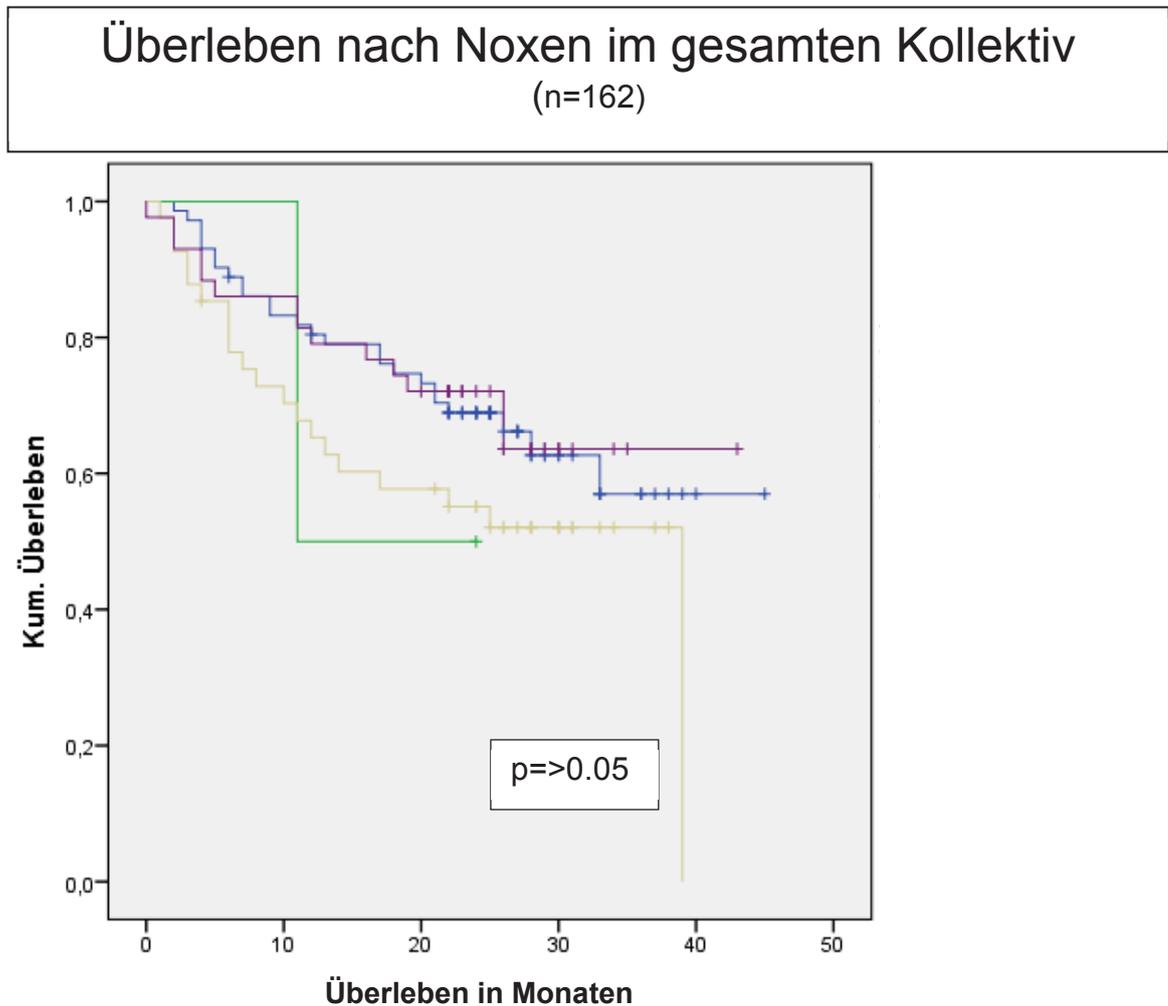


Abb. 29: Überleben von Patienten aller Tumorstadien im Zusammenhang mit Noxen. y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. Blaue Kurve: Raucher, grüne Kurve: Alkoholabusus. Gelb: Alkohol- und Nikotinabusus, lila Kurve: keine Noxen.

Die Auswertungen hinsichtlich des Überlebens nach Noxen erwecken den Eindruck, dass durch Noxen (Alkohol, Rauchen oder beides) das Gesamtüberleben nicht verändert wird.

Überleben nach ECOG-Status im gesamten Kollektiv (n=162)

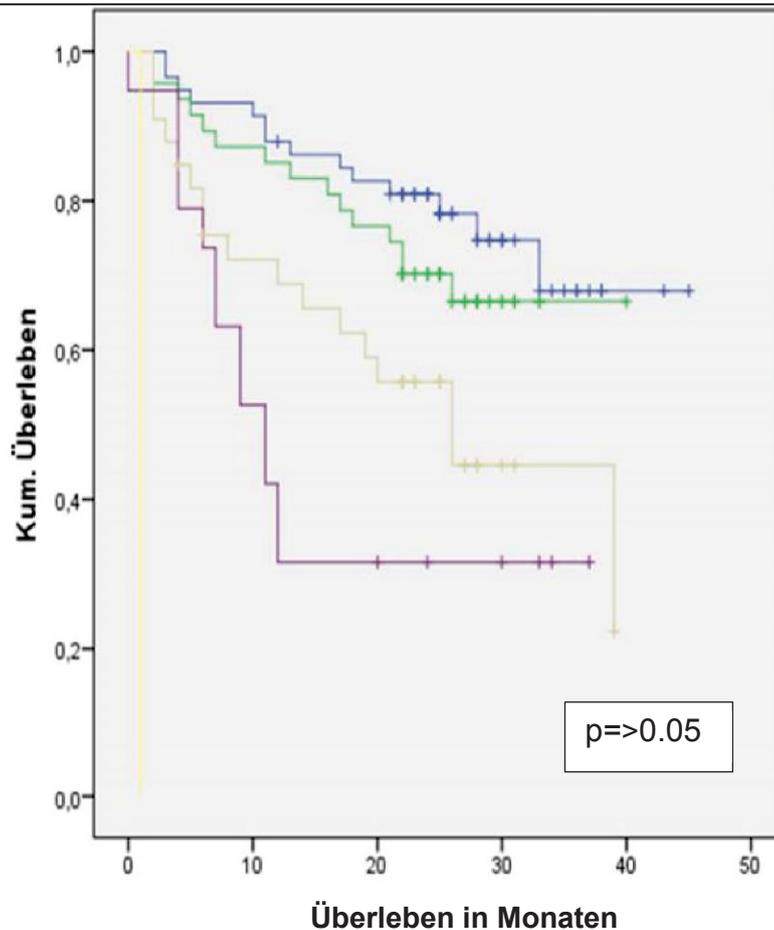


Abb. 30: Überleben von Patienten in Abhängigkeit nach dem ECOG-Status.

y-Achse: kumulatives Überleben, x-Achse: Überleben in Monaten. Blaue Kurve: ECOG=0, d.h. volle Aktivität, grüne Kurve: ECOG=1, d.h. eingeschränkte Aktivität, braune Kurve: ECOG=2, d.h. Selbstversorgung, aber Ruhe 50%, ECOG=3, d.h. Selbstversorgung eingeschränkt, Ruhe >50%, ECOG=4, d.h. bettlägerig und pflegebedürftig.

Die Patienten mit einem besseren ECOG-Status haben demnach ein besseres Gesamtüberleben.

5. Diskussion

Tumorerkrankungen können nicht nur durch eine genetische Disposition ausgelöst werden, sondern auch durch eine chronische Entzündung bedingt durch eine Infektion^{2,22}. Insbesondere der deutsche Mediziner Harald zur Hausen konnte zeigen, dass eine Infektion mit einem HP-Virus ein Zervixkarzinom auslösen kann^{32,33,41-60}. Aufgrund dieser Entdeckung und der Beschreibung seiner pathologischen Bedeutung als Beweis für die klinische Relevanz einer HPV Infektion und der damit verbundenen Entwicklung eines Impfstoffes wurde ihm 2008 der Nobelpreis für Medizin verliehen. Mittlerweile ist außerdem bekannt, dass eine Infektion mit einem HP-Virus auch einen Tumor im Mundhöhlenbereich auslösen kann²⁷.

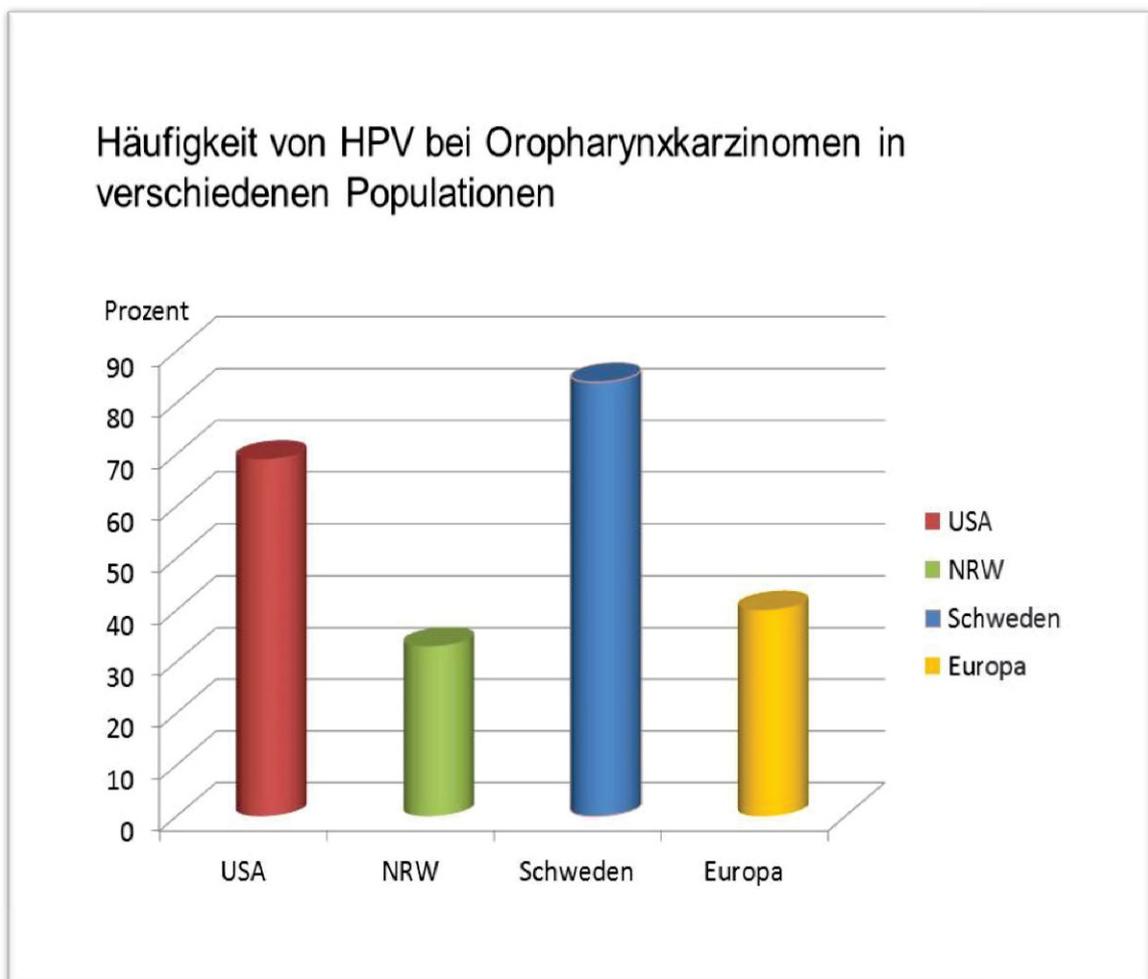


Abb. 31: Häufigkeit von HPV bei Oropharynxkarzinomen^{39,61-64} Die Balken zeigen die unterschiedlichen Regionen an. y-Achse: Häufigkeit in Prozent.

In den USA fand gegen Ende der Sechziger Jahre des vorherigen Jahrhunderts eine landesweite Kampagne gegen Alkohol und Nikotin statt. Im Zuge dieser Informationskampagne wurde erwartet, dass sich auch die Anzahl der Kopf-Hals-Tumore mit der Zeit in der Bevölkerungen reduzieren würde. Interessanterweise stellte man jedoch bei einer Folgeuntersuchung in den Siebziger Jahren eine Zunahme von Kopf-Hals-Tumoren vor allem bei gut situierten weißen Männern fest. Lange war man sich nicht im Klaren, was die Ursache dafür war, bis man feststellte, dass eine Infektion mit einem HP-Virus hierfür verantwortlich war. Mittlerweile hat sich gezeigt, dass Patienten mit einer HP-Virus-Infektion einen deutlich besseren klinischen Verlauf aufweisen, als Patienten, die den Tumor durch herkömmliche Noxen wie Alkohol und Nikotin bekommen haben. Professor Dr. K. Ang konnte in einer Publikation im New England Journal of Medicine zeigen, dass Patienten mit einer HPV-Infektion selbst dann einen deutlich besseren klinischen Verlauf hatten, wenn sie geraucht haben⁶⁵. Professor Dr. Angs Beobachtung in einer amerikanischen Bevölkerungsgruppe scheint auch die vorliegende Untersuchung zu zeigen.

Die Subgruppen-Analyse war in der vorliegenden Untersuchung in der Heinrich-Heine Universität wie in der multivariaten Untersuchung nicht signifikant, aber einen möglichen Trend zeigten die Kurven dennoch. Auch hier waren Patienten mit einem p16-positiven Status und damit einer stattgefundenen HPV-Infektion deutlich besser gestellt, was das Überleben betraf, als p16-negative Patienten. Dies zeigt, dass Patienten mit einem p16-positiven Status eine ganz andere Tumorentität aufweisen, als Patienten, die den Tumor durch Alkohol- und Nikotinabusus bekommen haben. Diskutiert werden muss in diesem Zusammenhang, ob bei diesen Patienten die Therapie nicht weniger toxisch gestaltet werden sollte^{4,5,18}. Heutzutage muss man in der Strahlentherapie sehr aggressiv vorgehen, wenn man einen Kopf-Hals-Tumor primär behandelt oder bei Hochrisiko-Patienten nach einer Operation adjuvant therapiert⁶⁶⁻⁸⁹. Gewöhnlich werden Patienten in der primären Behandlung bis 70 Gy behandelt und erhalten simultan eine Chemotherapie mit 5-FU und Cisplatin^{40,71,75,90-98}. In der adjuvanten Situation werden die Patienten bis 66Gy bestrahlt. Auch hier muss häufig eine Chemotherapie zur Strahlentherapie addiert werden. Mögliche Risikofaktoren sind dabei Mittellinienüberschreitung des Primärtumors und Kapseldurchbruch. Da die

Strahlentherapie im Halsbereich den Schlucktrakt und die Schleimhäute in Mitleidenschaft zieht, entwickeln die Patienten häufig gegen Ende der Bestrahlung eine ausgeprägte Mukositis und können kaum schlucken. Wie bereits in der Einleitung ausgeführt, ist die Therapie der Kopf-Hals-Tumoren mit einer Reihe lebensqualitätseinschränkender Nebenwirkungen vergesellschaftet.

Eine Alternative könnte in dem Zusammenhang sein, die Strahlendosis zu vermindern oder auf eine Chemotherapie zu verzichten⁵. Dies muss nun anhand von prospektiv randomisierten Studien untersucht und validiert werden. Ebenso weiß man, dass HPV-negative Patienten vermutlich einen deutlich schlechteren Verlauf haben. Hier kann jetzt diskutiert werden, ob man die Therapie noch aggressiver gestalten muss, zum Beispiel durch Erhöhung der Strahlendosis oder einer aggressiveren Chemotherapie. Auch dies muss in randomisierten Studien untersucht werden. Damit würde sich auch in der Strahlentherapie der allgemeine onkologische Trend bemerkbar machen, die onkologische Therapie immer mehr zu personalisieren und zu individualisieren und zwar anhand tumorspezifischer Marker wie etwa dem p16.

Eine weitere Überlegung, die sich aus den hier erhobenen Daten ergibt, ist eine Impfung gegen HPV. Der deutsche Nobelpreisträger Harald zur Hausen konnte erstmals nachweisen, dass eine HPV-Infektion für das Entstehen von Zervixkarzinomen sehr entscheidend ist. Der zweite Schritt war dann die Entwicklung eines Impfstoffes. Durch die Impfung kann jetzt die Infektionsgefahr bei der Frau und die Entstehung eines Zervixkarzinoms drastisch reduziert werden. In Europa und in den USA werden immer mehr junge Leute geimpft. Dadurch kann in den nächsten Jahren die Inzidenz des Zervixkarzinoms systematisch reduziert werden. In Zukunft könnte diskutiert werden, ob sich auch die Inzidenz vom HPV-positiven Oropharynxkarzinomen oder allgemein Kopf-Hals-Tumoren, durch eine solche Impfung reduzieren lässt^{14,37,38}. Die vorliegenden Daten zeigen, dass es eine signifikante Durchseuchung mit HPV in Europa gibt.

Viele Studien werden ohne Berücksichtigung von Komorbiditäten gemacht. Auch bei unseren Patienten sind die Nebendiagnosen im fortgeschrittenen Alter vorhanden und relevant bei der Entscheidung der Tumorthherapie und haben zusätzlich auch Einfluss auf das Überleben. Wichtig ist deshalb, eng mit dem

Hausarzt zusammenzuarbeiten um die Patienten gut zu kennen und die Therapieentscheidung dementsprechend anzupassen. Ebenso müssen in interdisziplinärem Dialog Risikofaktoren abgewogen und bewertet werden, um die Therapiekomponenten und ihre Toxizitäten dem individuellen Risikoprofil der Patienten anzupassen.

6. Schlussfolgerung

Die existierenden Therapiestrategien für Oropharynxkarzinome bei Patienten mit und ohne die klassischen Risikofaktoren wie Tabak- und Alkoholkonsum müssen vor dem Hintergrund der Erfahrungen zur Bedeutung einer HPV-Infektion hinterfragt werden. Es scheint, dass HPV-positive Patienten einen besseren klinischen Verlauf der Krebserkrankung bei Kopf-Hals-Tumoren vor und nach der Tumorthherapie aufweisen und deshalb auch ein längeres Gesamtüberleben, als HPV-negative Patienten zeigen. Dies muss jedoch noch in großen Patientenkollektiven bestätigt werden.

Die hohe Inzidenz von HPV-Infektionen weltweit und der mögliche Schutz durch eine HPV-Impfung sollten als Strategie zur Prävention von Kopf-Hals-Tumoren genutzt werden und deswegen zu einer frühen Impfung von Kindern beider Geschlechter auch in Deutschland führen.

Ein Vorteil bei bestehenden Fällen ist die mittlerweile fast standardisierte p16-Bestimmung bei Kopf-Hals-Tumoren. Dadurch kann zumindest nachgewiesen werden, welchen Ursprung einige Tumore haben. Durch die zunehmende Menge der Bestimmungen und die Analyse der Daten können heute immer bessere Schlüsse bezüglich der Therapiestrategien gezogen werden. Dazu soll auch diese Arbeit beitragen, die die Daten für den Raum Düsseldorf von Dezember 2009 bis September 2011 erfasst und ausgewertet hat.

7. Literaturverzeichnis

1. Lewis A, Kang R, Levine A, Maghami E. The New Face of Head and Neck Cancer: The HPV Epidemic. *Oncology* 2015;29.
2. Hubbers CU, Akgul B. HPV and cancer of the oral cavity. *Virulence* 2015;6:244-8.
3. Bentzen J, Toustrup K, Eriksen JG, Primdahl H, Andersen LJ, Overgaard J. Locally advanced head and neck cancer treated with accelerated radiotherapy, the hypoxic modifier nimorazole and weekly cisplatin. Results from the DAHANCA 18 phase II study. *Acta oncologica* 2015;54:1001-7.
4. Kaczmar J, Mehra R. HPV-negative head and neck squamous cell carcinomas: how can we use the tumor protein signature? *Biomarkers in medicine* 2015;9:183-5.
5. Laskar SG, Swain M. HPV positive oropharyngeal cancer and treatment deintensification: how pertinent is it? *Journal of cancer research and therapeutics* 2015;11:6-9.
6. Mydlarz WK, Chan JY, Richmon JD. The role of surgery for HPV-associated head and neck cancer. *Oral oncology* 2015;51:305-13.
7. Pohl F, Hartmann W, Holzmann T, Gensicke S, Kolbl O, Hautmann MG. Risk of infection due to medical interventions via central venous catheters or implantable venous access port systems at the middle port of a three-way cock: luer lock cap vs. luer access split septum system (Q-Syte). *BMC Infect Dis* 2014;14:41.
8. Ziemann F, Arenz A, Preising S, et al. Increased sensitivity of HPV-positive head and neck cancer cell lines to x-irradiation +/- Cisplatin due to decreased expression of E6 and E7 oncoproteins and enhanced apoptosis. *American journal of cancer research* 2015;5:1017-31.
9. Yang EJ, Quick MC, Hanamornroongruang S, et al. Microanatomy of the cervical and anorectal squamocolumnar junctions: a proposed model for anatomical differences in HPV-related cancer risk. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 2015;28:994-1000.
10. Whang SN, Filippova M, Duerksen-Hughes P. Recent Progress in Therapeutic Treatments and Screening Strategies for the Prevention and

Treatment of HPV-Associated Head and Neck Cancer. *Viruses* 2015;7:5040-65.

11. Stephen JK, Worsham MJ. Human papilloma virus (HPV) modulation of the HNSCC epigenome. *Methods in molecular biology* 2015;1238:369-79.
12. Seiwert TY, Zuo Z, Keck MK, et al. Integrative and comparative genomic analysis of HPV-positive and HPV-negative head and neck squamous cell carcinomas. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 2015;21:632-41.
13. Osazuwa-Peters N, Wang DD, Namin A, et al. Sexual behavior, HPV knowledge, and association with head and neck cancer among a high-risk group. *Oral oncology* 2015;51:452-6.
14. Mondini M, Nizard M, Tran T, et al. Synergy of Radiotherapy and a Cancer Vaccine for the Treatment of HPV-Associated Head and Neck Cancer. *Molecular cancer therapeutics* 2015;14:1336-45.
15. Modur V, Thomas-Robbins K, Rao K. HPV and CSC in HNSCC cisplatin resistance. *Frontiers in bioscience* 2015;7:58-66.
16. Mishra A, Verma V. Oral Sex and HPV: Population Based Indications. *Indian journal of otolaryngology and head and neck surgery : official publication of the Association of Otolaryngologists of India* 2015;67:1-7.
17. Maxwell JH, Grandis JR, Ferris RL. HPV-Associated Head and Neck Cancer: Unique Features of Epidemiology and Clinical Management. *Annual review of medicine* 2015.
18. Kimple RJ, Harari PM. The prognostic value of HPV in head and neck cancer patients undergoing postoperative chemoradiotherapy. *Annals of translational medicine* 2015;3:S14.
19. Deeken JF, Newkirk K, Harter KW, et al. Effect of multimodality treatment on overall survival for patients with metastatic or recurrent HPV-positive head and neck squamous cell carcinoma. *Head & neck* 2015;37:630-5.
20. Michaud DS, Langevin SM, Eliot M, et al. High-risk HPV types and head and neck cancer. *International journal of cancer Journal international du cancer* 2014;135:1653-61.
21. Maxwell JH, Mehta V, Wang H, et al. Quality of life in head and neck cancer patients: impact of HPV and primary treatment modality. *The Laryngoscope* 2014;124:1592-7.
22. Lopez RV, Levi JE, Eluf-Neto J, et al. Human papillomavirus (HPV) 16 and the prognosis of head and neck cancer in a geographical region with a low

- prevalence of HPV infection. *Cancer causes & control : CCC* 2014;25:461-71.
23. Kofler B, Laban S, Busch CJ, Lorincz B, Knecht R. New treatment strategies for HPV-positive head and neck cancer. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies* 2014;271:1861-7.
 24. Kimple RJ, Harari PM. Is radiation dose reduction the right answer for HPV-positive head and neck cancer? *Oral oncology* 2014;50:560-4.
 25. Tang AL, Owen JH, Hauff SJ, et al. Head and neck cancer stem cells: the effect of HPV--an in vitro and mouse study. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 2013;149:252-60.
 26. Wagner S, Mayer C, Wittekindt C, Klussmann JP. [Human papillomavirus (HPV) and head and neck cancer]. *Der Hautarzt; Zeitschrift fur Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete* 2012;63:24-9.
 27. Dufour X, Beby-Defaux A, Agius G, Lacau St Guily J. HPV and head and neck cancer. *European annals of otorhinolaryngology, head and neck diseases* 2012;129:26-31.
 28. Gillison M. HPV and its effect on head and neck cancer prognosis. *Clinical advances in hematology & oncology : H&O* 2010;8:680-2.
 29. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *The New England journal of medicine* 2003;348:518-27.
 30. Maier M. HPV-positive Plattenepithelkarzinome des oberen Aerodigestivtraktes-Eine Untersuchung zur Inzidenz, Lokalisationspräferenz, histologische Differenzierung und Abhängigkeit von Alkohol-und Tabakkonsum. *Dissertationsschrift* 2013.
 31. Dyson N, Howley PM, Munger K, Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989;243:934-7.
 32. zur Hausen H. Host cell regulation of HPV transforming gene expression. *Princess Takamatsu symposia* 1989;20:207-19.
 33. Zur Hausen H. HPV vaccines: what remains to be done? Interview by Lauren Constable. *Expert review of vaccines* 2011;10:1505-7.
 34. Kumar S, Biswas M, Jose T. HPV vaccine: Current status and future directions. *Medical journal, Armed Forces India* 2015;71:171-7.

35. Jiang W, Chamberlain PD, Garden AS, et al. Prognostic value of p16 expression in Epstein-Barr virus-positive nasopharyngeal carcinomas. *Head & neck* 2015.
36. Antonsson A, Neale RE, Boros S, et al. Human papillomavirus status and p16(INK4A) expression in patients with mucosal squamous cell carcinoma of the head and neck in Queensland, Australia. *Cancer epidemiology* 2015;39:174-81.
37. Kanyilmaz G, Ekinci O, Muge A, Celik S, Ozturk F. HPV-associated p16 INK4A expression and response to therapy and survival in selected head and neck cancers. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* 2015;16:253-8.
38. Yamada S, Kurita H, Shimane T, et al. Estimation of the width of free margin with a significant impact on local recurrence in surgical resection of oral squamous cell carcinoma. *International journal of oral and maxillofacial surgery* 2015.
39. Ramqvist T, Dalianis T. Oropharyngeal cancer epidemic and human papillomavirus. *Emerging infectious diseases* 2010;16:1671-7.
40. Vermorken JB, Stohlmacher-Williams J, Davidenko I, et al. Cisplatin and fluorouracil with or without panitumumab in patients with recurrent or metastatic squamous-cell carcinoma of the head and neck (SPECTRUM): an open-label phase 3 randomised trial. *Lancet Oncol* 2013;14:697-710.
41. Michels KB, zur Hausen H. HPV vaccine for all. *Lancet* 2009;374:268-70.
42. Bosch FX, Rohan T, Schneider A, et al. Papillomavirus research update: highlights of the Barcelona HPV 2000 international papillomavirus conference. *Journal of clinical pathology* 2001;54:163-75.
43. Finzer P, Soto U, Delius H, et al. Differential transcriptional regulation of the monocyte-chemoattractant protein-1 (MCP-1) gene in tumorigenic and non-tumorigenic HPV 18 positive cells: the role of the chromatin structure and AP-1 composition. *Oncogene* 2000;19:3235-44.
44. Soto U, Das BC, Lengert M, Finzer P, zur Hausen H, Rosl F. Conversion of HPV 18 positive non-tumorigenic HeLa-fibroblast hybrids to invasive growth involves loss of TNF-alpha mediated repression of viral transcription and modification of the AP-1 transcription complex. *Oncogene* 1999;18:3187-98.
45. von Knebel Doeberitz M, Rittmuller C, zur Hausen H, Durst M. Inhibition of tumorigenicity of cervical cancer cells in nude mice by HPV E6-E7 anti-sense RNA. *International journal of cancer Journal international du cancer* 1992;51:831-4.
46. Durst M, Glitz D, Schneider A, zur Hausen H. Human papillomavirus type

- 16 (HPV 16) gene expression and DNA replication in cervical neoplasia: analysis by in situ hybridization. *Virology* 1992;189:132-40.
47. Durst M, Bosch FX, Glitz D, Schneider A, zur Hausen H. Inverse relationship between human papillomavirus (HPV) type 16 early gene expression and cell differentiation in nude mouse epithelial cysts and tumors induced by HPV-positive human cell lines. *Journal of virology* 1991;65:796-804.
48. de Villiers EM, Hirsch-Behnam A, von Knebel-Doeberitz C, Neumann C, zur Hausen H. Two newly identified human papillomavirus types (HPV 40 and 57) isolated from mucosal lesions. *Virology* 1989;171:248-53.
49. Grimm M, de Villiers EM, Neumann C, Pawlita M, zur Hausen H. Characterization of a new human papillomavirus (HPV 41) from disseminated warts and detection of its DNA in some skin carcinomas. *International journal of cancer Journal international du cancer* 1988;41:5-9.
50. Greenspan D, de Villiers EM, Greenspan JS, de Souza YG, zur Hausen H. Unusual HPV types in oral warts in association with HIV infection. *Journal of oral pathology* 1988;17:482-8.
51. Scheurlen W, Stremlau A, Gissmann L, Hohn D, Zenner HP, zur Hausen H. Rearranged HPV 16 molecules in an anal and in a laryngeal carcinoma. *International journal of cancer Journal international du cancer* 1986;38:671-6.
52. Scheurlen W, Gissmann L, Gross G, zur Hausen H. Molecular cloning of two new HPV types (HPV 37 and HPV 38) from a keratoacanthoma and a malignant melanoma. *International journal of cancer Journal international du cancer* 1986;37:505-10.
53. Kahn T, Schwarz E, zur Hausen H. Molecular cloning and characterization of the DNA of a new human papillomavirus (HPV 30) from a laryngeal carcinoma. *International journal of cancer Journal international du cancer* 1986;37:61-5.
54. de Villiers EM, Neumann C, Oltersdorf T, Fierlbeck G, zur Hausen H. Butcher's wart virus (HPV 7) infections in non-butchers. *The Journal of investigative dermatology* 1986;87:236-8.
55. Pfister H, zur Hausen H. Seroepidemiological studies of human papilloma virus (HPV-1) infections. *International journal of cancer Journal international du cancer* 1978;21:161-5.
56. Pfister H, zur Hausen H. Characterization of proteins of human papilloma viruses (HPV) and antibody response to HPV 1. *Medical microbiology and immunology* 1978;166:13-9.

57. Gissmann L, zur Hausen H. Physical characterization of deoxyribonucleic acids of different human papilloma viruses (HPV). *Medical microbiology and immunology* 1978;166:3-11.
58. Pfister H, Gissmann L, zur Hausen H. Partial characterization of the proteins of human papilloma viruses (HPV) 1-3. *Virology* 1977;83:131-7.
59. Gissmann L, zur Hausen H. Inverted repetitive sequences in human papilloma virus 1 (HPV-1) DNA. *Virology* 1977;83:271-6.
60. Gissmann L, Pfister H, Zur Hausen H. Human papilloma viruses (HPV): characterization of four different isolates. *Virology* 1977;76:569-80.
61. Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM, et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2011;29:4294-301.
62. Chaturvedi AK, Katki HA, Hildesheim A, et al. Human papillomavirus infection with multiple types: pattern of coinfection and risk of cervical disease. *The Journal of infectious diseases* 2011;203:910-20.
63. Abogunrin S, Di Tanna GL, Keeping S, Carroll S, Iheanacho I. Prevalence of human papillomavirus in head and neck cancers in European populations: a meta-analysis. *BMC cancer* 2014;14:968.
64. Nichols AC, Palma DA, Dhaliwal SS, et al. The epidemic of human papillomavirus and oropharyngeal cancer in a Canadian population. *Current oncology* 2013;20:212-9.
65. Ang KK, Harris J, Wheeler R, et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *The New England journal of medicine* 2010;363:24-35.
66. Vermorken JB. Chemotherapy and new treatments in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Curr Opin Oncol* 1990;2:578-84.
67. Vermorken JB. Squamous cell carcinoma of the head and neck. *J BUON* 2002;7:311-7.
68. Vermorken JB. Medical treatment in head and neck cancer. *Ann Oncol* 2005;16 Suppl 2:ii258-64.
69. Vermorken JB. A new look at induction chemotherapy in locally advanced head and neck cancer. *Oncologist* 2010;15 Suppl 3:1-2.
70. Vermorken JB, Bach BA. Failure of anti-EGFR therapy in p16-positive head and neck cancer - authors' reply. *Lancet Oncol* 2013;14:e437-8.

71. Vermorken JB, Guigay J, Mesia R, et al. Phase I/II trial of cilengitide with cetuximab, cisplatin and 5-fluorouracil in recurrent and/or metastatic squamous cell cancer of the head and neck: findings of the phase I part. *Br J Cancer* 2011;104:1691-6.
72. Bernier J, Bentzen SM, Vermorken JB. Molecular therapy in head and neck oncology. *Nat Rev Clin Oncol* 2009;6:266-77.
73. Bernier J, Bonner J, Vermorken JB, et al. Consensus guidelines for the management of radiation dermatitis and coexisting acne-like rash in patients receiving radiotherapy plus EGFR inhibitors for the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Oncol* 2008;19:142-9.
74. Bernier J, Vermorken JB, Debruyne C, et al. From chemoprevention and organ preservation programmes to postoperative management: major achievements and strategies of the EORTC Head and Neck Cancer Group. *Eur J Cancer* 2002;38 Suppl 4:S75-81.
75. Bernier J, Vermorken JB, Koch WM. Adjuvant therapy in patients with resected poor-risk head and neck cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2006;24:2629-35.
76. Bourhis J, Lefebvre JL, Vermorken JB. Cetuximab in the management of locoregionally advanced head and neck cancer: expanding the treatment options? *Eur J Cancer* 2010;46:1979-89.
77. Bonner JA, De Los Santos J, Waksal HW, Needle MN, Trummel HQ, Raisch KP. Epidermal growth factor receptor as a therapeutic target in head and neck cancer. *Semin Radiat Oncol* 2002;12:11-20.
78. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2006;354:567-78.
79. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, et al. Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *Lancet Oncol* 2010;11:21-8.
80. Bonner JA, Keene KS. Is cetuximab active in patients with cisplatin-refractory squamous cell carcinoma of the head and neck? *Nat Clin Pract Oncol* 2007;4:690-1.
81. Bonner JA, Maihle NJ, Folven BR, Christianson TJ, Spain K. The interaction of epidermal growth factor and radiation in human head and neck squamous cell carcinoma cell lines with vastly different radiosensitivities. *Int J Radiat Oncol Biol*

Phys 1994;29:243-7.

82. Bonner JA, Raisch KP, Trummell HQ, et al. Enhanced apoptosis with combination C225/radiation treatment serves as the impetus for clinical investigation in head and neck cancers. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2000;18:47S-53S.

83. Bonner JA, Yang ES, Trummell HQ, Newsheer S, Willey CD, Raisch KP. Inhibition of STAT-3 results in greater cetuximab sensitivity in head and neck squamous cell carcinoma. *Radiother Oncol* 2011;99:339-43.

84. Caudell JJ, Locher JL, Bonner JA. Diagnosis-to-treatment interval and control of locoregionally advanced head and neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2011;137:282-5.

85. Caudell JJ, Meredith RF, Spencer SA, Keene KS, Dobelbower MC, Bonner JA. Margin on gross tumor volume and risk of local recurrence in head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010;76:164-8.

86. Caudell JJ, Sawrie SM, Spencer SA, et al. Locoregionally advanced head and neck cancer treated with primary radiotherapy: a comparison of the addition of cetuximab or chemotherapy and the impact of protocol treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008;71:676-81.

87. Caudell JJ, Schaner PE, Desmond RA, Meredith RF, Spencer SA, Bonner JA. Dosimetric factors associated with long-term dysphagia after definitive radiotherapy for squamous cell carcinoma of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010;76:403-9.

88. Caudell JJ, Schaner PE, Meredith RF, et al. Factors associated with long-term dysphagia after definitive radiotherapy for locally advanced head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009;73:410-5.

89. Curran D, Giralt J, Harari PM, et al. Quality of life in head and neck cancer patients after treatment with high-dose radiotherapy alone or in combination with cetuximab. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2007;25:2191-7.

90. Vermorken JB, Herbst RS, Leon X, Amellal N, Baselga J. Overview of the efficacy of cetuximab in recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck in patients who previously failed platinum-based therapies. *Cancer* 2008;112:2710-9.

91. Vermorken JB, Licitra L, Stohlmacher-Williams J, et al. Phase II study of pemetrexed in combination with cisplatin and cetuximab in recurrent or metastatic

- squamous cell carcinoma of the head and neck. *Eur J Cancer* 2013;49:2877-83.
92. Vermorken JB, Mesia R, Rivera F, et al. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Engl J Med* 2008;359:1116-27.
93. Vermorken JB, Peyrade F, Krauss J, et al. Cisplatin, 5-fluorouracil, and cetuximab (PFE) with or without cilengitide in recurrent/metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: results of the randomized phase I/II ADVANTAGE trial (phase II part). *Ann Oncol* 2014;25:682-8.
94. Vermorken JB, Psyrri A, Mesia R, et al. Impact of tumor HPV status on outcome in patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck receiving chemotherapy with or without cetuximab: retrospective analysis of the phase III EXTREME trial. *Ann Oncol* 2014;25:801-7.
95. Vermorken JB, Remenar E, van Herpen C, et al. Cisplatin, fluorouracil, and docetaxel in unresectable head and neck cancer. *N Engl J Med* 2007;357:1695-704.
96. Vermorken JB, Specenier P. Optimal treatment for recurrent/metastatic head and neck cancer. *Ann Oncol* 2010;21 Suppl 7:vii252-61.
97. Vermorken JB, Trigo J, Hitt R, et al. Open-label, uncontrolled, multicenter phase II study to evaluate the efficacy and toxicity of cetuximab as a single agent in patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck who failed to respond to platinum-based therapy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2007;25:2171-7.
98. Posner M, Vermorken JB. Induction therapy in the modern era of combined-modality therapy for locally advanced head and neck cancer. *Semin Oncol* 2008;35:221-8.

8. Danksagungen

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Univ.-Professor Dr. med. Wilfried Budach für die Überlassung des Themas dieser Arbeit. Mit ihm konnte ich alle Fragen intensiv diskutieren.

Ein herzlicher Dank geht an die Mitarbeiter der Pathologie der Heinrich-Heine-Universität, vor allem Herrn Dr. med. Frank Jankowiak, die mir bei der Färbung und Auswertung der histologischen Proben immer mit Rat und Tat zur Seite standen.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Univ.-Professor Dr. med. Edwin Bölke und Frau Dr. med. Christiane Matuschek für ihre gute Betreuung mit Diskussion hinsichtlich aller Fragen und Probleme zu jeder Zeit. Herrn Univ.-Professor Dr. med. Stefan Gripp und Herrn Dr. med. Martin Wittkamp möchte ich für die tatkräftige Unterstützung bei meiner Arbeit ebenfalls besonders danken.

Zudem danke ich den Kollegen der Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde und der Klinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie, besonders Herrn Dr. med. Christian Plettenberg und Herrn Dr. med. Christoph Sproll, die mir halfen, die Patientendaten zusammenzutragen und stets für Fragen offen waren.

Ich danke meinen Eltern die mir das Medizinstudium ermöglicht haben und mich mein ganzes Leben ohne Einschränkung unterstützt haben. Ihnen möchte ich diese Arbeit widmen.

Zuletzt danke ich meinen Freunden, besonders Dr. phil. Eve Sattler, Dr. med. Susanne Brandner, Dr. med. Anna Wille, Jana Jeuck, Alexandra Hintz und Melanie Mühlenbein, für ihre moralische und praktische Unterstützung, die wesentlich zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen haben.

9. Eidesstattliche Versicherungen

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

16.11.2015, Birte Gössler