

Inhaltsverzeichnis

1 **Einleitung.....5**

1.1 Klinik der Kopf-Hals-Tumoren 7

1.2 Biomarker für die Individualisierung der Therapie 10

1.3 Biologische Faktoren der Strahlenresistenz von Kopf-Hals-
Plattenepithelkarzinomen 11

1.3.1 *Reparatur der DNA* 11

1.3.2 *Redistribution im Zellzyklus*..... 13

1.3.3 *Repopulierung zwischen den einzelnen Bestrahlungsfractionen*..... 13

1.3.4 *Reoxygenierung und Hypoxie* 15

1.3.5 *(Intrinsische) Radiosensitivität*..... 18

1.3.6 *Tumorstammzellen*..... 19

1.3.7 *Tumolvolumen und Stammzellichte* 21

1.3.8 *Invasion und Metastasierung*..... 22

1.4 Humane Papilloma-Viren und deren Relevanz für die Radioonkologie23

1.5 Strahlenbiologie der HPV-positiven Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinome.....27

1.6 Molecular Cancer and Radiation Biology.....31

1.7 Kopf Hals-Biomarker-Studien im Deutschen Konsortium für Translationale
Krebsforschung..... 48

1.8 Fragestellungen50

2 **Prognostische Biomarker für die lokoregionäre Kontrolle nach
Radio(chemo)therapie.....54**

2.1 HPV16 DNA status is a strong prognosticator of loco-regional control after
postoperative radiochemotherapy of locally advanced oropharyngeal
carcinoma: Results from a multicentre explorative study of the German
Cancer Consortium Radiation Oncology Group (DKTK-ROG)54

2.2 Low cancer stem cell marker expression and low hypoxia identify good
prognosis subgroups in HPV(-) HNSCC after *postoperative*
radiochemotherapy: A multicenter study of the DKTK-ROG63

2.3 Independent validation of the prognostic value of cancer stem cell marker
expression and hypoxia-induced gene expression for patients with locally
advanced HNSCC after *postoperative* radiotherapy75

2.4 Development and validation of a gene signature for patients with head and
neck squamous cell carcinomas treated by *postoperative*
radio(chemo)therapy84

2.5 HPV status, cancer stem cell marker expression, hypoxia gene signatures
and tumour volume identify good prognosis subgroups in patients with
HNSCC after *primary* radiochemotherapy: A multicentre retrospective study
of the German Cancer Consortium Radiation Oncology Group (DKTK-ROG) 96

2.6	<i>Independent validation of tumour volume, cancer stem cell markers and hypoxia-associated gene expressions for HNSCC after primary radiochemotherapy</i>	107
2.7	<i>Comparison of detection methods for HPV status as a prognostic marker for loco-regional control after radiochemotherapy in patients with HNSCC</i>	116
3	Diskussion der Ergebnisse	126
3.1	<i>Einfluss des HPV-Status auf das Therapieansprechen von Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen nach postoperativer Radio(chemo)therapie</i>	126
3.2	<i>Einfluss von Tumorphoxie und von Tumorstammzellen auf die lokoregionäre Tumorkontrolle nach postoperativer Radiochemotherapie.</i>	127
3.3	<i>Berücksichtigung von weiteren prognostisch relevanten Faktoren für Patienten nach postoperativer Radiochemotherapie</i>	131
3.4	<i>Einfluss des HPV-Status auf die lokoregionäre Tumorkontrolle nach primärer Radiochemotherapie</i>	134
3.5	<i>Einfluss des Tumorumfanges und der Tumorstammzellendichte auf die lokoregionäre Kontrolle nach primärer Radiochemotherapie</i>	134
3.6	<i>Einfluss der Hypoxie-assoziierten Genexpression auf die lokoregionäre Kontrolle nach primärer Radiochemotherapie</i>	136
3.7	<i>Kombination von Tumorumfang, Tumorstammzellendichte und HPV-Status als prognostische Marker für die lokoregionäre Kontrolle nach primärer Radiochemotherapie</i>	137
3.8	<i>HPV-Status in Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals- Plattenepithelkarzinomen: Methodischer Vergleich der HPV-Untersuchungen im Hinblick auf den radioonkologischen Endpunkt der lokoregionären Tumorkontrolle</i>	138
4	zusammenfassende strahlenbiologische Betrachtung	141
5	Ausblick	145
6	Zusammenfassung	148
	Abkürzungsverzeichnis	152
	Literaturverzeichnis	155
	Danksagung	183
	Erklärung	185
	Anhang	186

1 Einleitung

In der Strahlentherapie ist die Entwicklung in den letzten Jahrzehnten in verschiedenen Bereichen stark vorangeschritten und die Therapie zunehmend personalisiert geworden. Der Patient erhält eine individuelle, auf seine Anatomie zugeschnittene und auf klinische Parameter abgestimmte Behandlung (Bem1er et al., 2004b, Baumann, 2006, Dawson und Sharpe, 2006, Verellen et al., 2007, Baumann et al., 2016c). Durch die technologischen Fortschritte in der Hochpräzisionsstrahlentherapie kann eine deutlich verbesserte Schonung des Normalgewebes erreicht werden, sodass die therapieinduzierten Toxizitäten abnehmen und die Lebensqualität bestmöglich erhalten bleibt (Bem1er et al., 2004b, Dawson und Sharpe, 2006, Baumann et al., 2016c). Darüber hinaus werden vermehrt moderne bildgebende Verfahren in die klinische Routine integriert, so dass eine bessere Diagnostik, Therapieplanung und Tumornachsorge ermöglicht werden (Benzén, 2005, Abramyuk et al., 2013, Roopashri und Balg, 2013, Baumann et al., 2016c). Zudem gehen aktuellste strahlenbiologische Kenntnisse in die Optimierung von klinischen Fraktionierungsschemata sowie in die biologische Individualisierung ein (Turrisi et al., 1999, Overgaard et al., 2003, Bourhis et al., 2006, Krause, 2007, Group et al., 2008, Baumann et al., 2011, Bentzen et al., 2015, Baumann et al., 2016c).

Für das Erreichen einer höchstmöglichen Tumorkontrollrate wird die Strahlentherapie in Abhängigkeit von der Indikation mit onkologischen Chirurgie oder einer simultanen bzw. sequenziellen Systemtherapie kombiniert. Diese Entwicklung wurde bereits vor Jahrzehnten vorangetrieben (Maccomb und Fletcher, 1957, Fletcher, 1979a, Fletcher, 1979b, Harris und Hellman, 1983, Suit und Spiro, 1995, Suit und Spiro, 1996) und steht auch weiterhin im Fokus mit dem Ziel, die Tumorkontrollrate und die Lebensqualität unter Nutzung neuester wissenschaftlicher Erkenntnisse, Technologien und/ oder effektiveren zytotoxischen Medikamenten für den individuellen Patienten weiter zu verbessern (Baumann et al., 2016c, Chargari et al., 2016, Sharma et al., 2016, Bristow et al., 2018). Klinische Beispiele für die Kombination der Strahlentherapie mit der onkologischen Chirurgie sind die neoadjuvante oder adjuvante Strahlentherapie von Weichgewebssarkomen, die adjuvante Strahlentherapie nach brusterhaltender onkologischer Resektion von Mammakarzinomen oder die adjuvante Strahlentherapie bei Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen mit einem mittleren Rezidivrisiko. Eine weitere Therapieintensivierung kann durch die Kombination mit Systemtherapien erreicht werden. Hierzu zählen zum Beispiel die neoadjuvante oder adjuvante Radiochemotherapie bei Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Ösophagus-, Pankreas- oder Rektumkarzinomen, sowie die adjuvante Radiochemotherapie bei Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plat

Plattenepithelkarzinomen mit hohem Rezidivrisiko. Durch einen additiven Effekt der Kombinationstherapien kann eine höhere lokale Tumorkontrollrate erreicht werden (Vokes und Weichselbaum, 1990). Zum anderen können durch die systemische Wirkung Mikrometastasen vernichtet werden (Buzel, 1998). Ein echter Therapiegewinn im Sinne eines verbreiterten therapeutischen Fensters kann jedoch nur dann erreicht werden, wenn bei höherer Tumorkontrollrate die Normalgewebetoxizität der Kombinationstherapie im Vergleich zur alleinigen Strahlentherapie unverändert bleibt oder sogar reduziert wird (Hollhuser, 1936).

Zusätzlich zu den oben beschriebenen Systemtherapien wurden in den letzten Jahren erste prospektive klinische Studien mit neuartigen Kombinationen der Strahlentherapie mit Immunmodulatorischen Therapien durchgeführt und haben vielversprechende Ergebnisse unter anderem für Patienten mit metastasierten malignen Melanomen hinsichtlich des klinischen Ansprechens bei guter Verträglichkeit gezeigt (Hiniker et al., 2016). Eine prospektive, randomisierte Phase III Studie in Patienten mit lokal fortgeschrittenen Lungenkarzinomen zeigt, dass eine konsolidierende Therapie mit dem PD-L1¹ Inhibitor Durvalumab, unmittelbar im Anschluss an die primäre Radiochemotherapie, das progressionsfreie Überleben signifikant verlängert (Antonia et al., 2017). Die sequenzielle Radioimmuntherapie hat jedoch zu einer höheren Pneumonitis-Inzidenz im Vergleich zur alleinigen Strahlen- oder Immuntherapie geführt (Antonia et al., 2017). In einer multizentrischen, randomisierten Phase II Studie in Patienten mit fortgeschrittenen nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen konnte demonstriert werden, dass die stereotaktische Strahlentherapie einer einzelnen Läsion das Therapieansprechen auf die nachfolgende Immuntherapie mit Pembrolizumab, insbesondere in PD-L1¹ negativen Tumoren, erhöht und somit von einer immunsensibilisierenden Wirkung der Strahlentherapie auszugehen ist (Theelen et al., 2019). Kombinationen der Strahlentherapie mit immunmodulatorischen Therapien werden derzeit auch in verschiedenen Phase III Studien bei Patienten mit Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen untersucht (www.clinicaltrials.gov; NCT02999087, NCT03576417). Die Immuntherapie könnte zu einem Paradigmenwechsel in der Radioonkologie führen, obwohl die Langzeitergebnisse noch unbefriedigend sind (Lambin und Lieve, 2019). Insbesondere die Kombination von der Immuntherapie und der Strahlentherapie bietet sich aufgrund der immunstimulatorischen Wirkung der Strahlentherapie an, die bereits in präklinischen Arbeiten gezeigt werden konnte (Hodge et al., 2012, Rodriguez-Ruiz et al., 2016, Kirn et al., 2017, Dudzinski et al., 2019). Inwieweit über eine immunstimulatorische/-modulierende Wirkung im Vergleich zur primär DNA-schädigenden und vollständigen lokalen tumorzellvernichtenden Wirkung einer kurativ intendierten Strahlentherapie eine permanente Tumorkontrolle erreicht werden kann, kann auf der Basis der bis jetzt vorliegenden Daten nicht beurteilt werden.

¹ Programmed Cell Death-Ligand 1

1 Einleitung

In der Strahlentherapie ist die Entwicklung in den letzten Jahrzehnten in verschiedenen Bereichen stark vorangeschritten und die Therapie zunehmend personalisiert geworden. Der Patient erhält eine individuelle, auf seine Anatomie zugeschnittene und auf klinische Parameter abgestimmte Behandlung (Berrner et al., 2004b, Baumann, 2006, Dawson und Sharpe, 2006, Verellen et al., 2007, Baumann et al., 2016c). Durch die technologischen Fortschritte in der Hochpräzisionsstrahlentherapie kann eine deutlich verbesserte Schonung des Normalgewebes erreicht werden, sodass die therapieinduzierten Toxizitäten abnehmen und die Lebensqualität bestmöglich erhalten bleibt (Berrner et al., 2004b, Dawson und Sharpe, 2006, Baumann et al., 2016c). Darüber hinaus werden vermehrt moderne bildgebende Verfahren in die klinische Routine integriert, sodass eine bessere Diagnostik, Therapieplanung und Tumornachsorge ermöglicht werden (Bentzen, 2005, Abramyuk et al., 2013, Roopashn und Balg, 2013, Baumann et al., 2016c). Zudem gehen aktuellste strahlenbiologische Kenntnisse in die Optimierung von klinischen Fraktionierungsschemata sowie in die biologische Individualisierung ein (Turrisi et al., 1999, Overgaard et al., 2003, Bourhis et al., 2006, Krause, 2007, Group et al., 2008, Baumann et al., 2011, Bentzen et al., 2015, Baumann et al., 2016c).

Für das Erreichen einer höchstmöglichen Tumorkontrollrate wird die Strahlentherapie in Abhängigkeit von der Indikation mit der onkologischen Chirurgie oder einer simultanen bzw. sequenziellen Systemtherapie kombiniert. Diese Entwicklung wurde bereits vor Jahrzehnten vorangetrieben (Maccomb und Fletcher, 1957, Fletcher, 1979a, Fletcher, 1979b, Harris und Hellman, 1983, Suitt und Spiro, 1995, Suitt und Spiro, 1996) und steht auch weiterhin im Fokus mit dem Ziel, die Tumorkontrollrate und die Lebensqualität unter Nutzung neuester wissenschaftlicher Erkenntnisse, Technologien und/ oder effektiveren zytotoxischen Medikamenten für den individuellen Patienten weiter zu verbessern (Baumann et al., 2016c, Chagari et al., 2016, Sharma et al., 2016, Bristow et al., 2018). Klinische Beispiele für die Kombination der Strahlentherapie mit der onkologischen Chirurgie sind die neoadjuvante oder adjuvante Strahlentherapie von Weichgewebssarkomen, die adjuvante Strahlentherapie nach brusterhaltender onkologischer Resektion von Mammakarzinomen oder die adjuvante Strahlentherapie bei Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen mit einem mittleren Rezidivrisiko. Eine weitere Therapieintensivierung kann durch die Kombination mit Systemtherapien erreicht werden. Hierzu zählen zum Beispiel die neoadjuvante oder adjuvante Radiochemotherapie bei Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Ösophagus-, Pankreas- oder Rektumkarzinomen, sowie die adjuvante Radiochemotherapie bei Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plat-

tenepithelkarzinomen mit hohem Rezidivrisiko. Durch einen additiven Effekt der Kombinationstherapien kann eine höhere lokale Tumorkontrollrate erreicht werden (Vokes und Weichselbaum, 1990). Zudem können durch die systemische Wirkung Mikrometastasen vernichtet werden (Brizel, 1998). Ein echter Therapiegewinn im Sinne eines verbreiterten therapeutischen Fensters kann jedoch nur dann erreicht werden, wenn bei höherer Tumorkontrollrate die Normalgewebetoxizität der Kombinationstherapie im Vergleich zur alleinigen Strahlentherapie unverändert bleibt oder sogar reduziert wird (Holthausen, 1936).

Zusätzlich zu den oben beschriebenen Systemtherapien wurden in den letzten Jahren erste prospektive klinische Studien mit neuartigen Kombinationen der Strahlentherapie mit immunmodulatorischen Therapien durchgeführt und haben vielversprechende Ergebnisse unter anderem für Patienten mit metastasierten malignen Melanomen hinsichtlich des klinischen Ansprechens bei guter Verträglichkeit gezeigt (Hiniker et al., 2016). Eine prospektive, randomisierte Phase III Studie in Patienten mit lokal fortgeschrittenen Lungenkarzinomen zeigt, dass eine konsolidierende Therapie mit dem PD-L1 Inhibitor Durvalumab, unmittelbar im Anschluss an die primäre Radiochemotherapie, das progressionsfreie Überleben signifikant verlängert (Antonina et al., 2017). Die sequenzielle Radioimmuntherapie hat jedoch zu einer höheren Pneumonitis-Inzidenz im Vergleich zur alleinigen Strahlen- oder Immuntherapie geführt (Antonia et al., 2017). In einer multizentrischen, randomisierten Phase II Studie in Patienten mit fortgeschrittenen nicht kleinzelligen Lungenkarzinomen konnte demonstriert werden, dass die stereotaktische Strahlentherapie einer einzelnen Läsion das Therapieansprechen auf die nachfolgende Immuntherapie mit Pembrolizumab, insbesondere in PD-L1 negativen Tumoren, erhöht und somit von einer immunsensibilisierenden Wirkung der Strahlentherapie auszugehen ist (Theelen et al., 2019). Kombinationen der Strahlentherapie mit immunmodulatorischen Therapien werden derzeit auch in verschiedenen Phase III Studien bei Patienten mit Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen untersucht (www.clinicaltrials.gov; NCT02999087, NCT03576417). Die Immuntherapie könnte zu einem Paradigmenwechsel in der Radioonkologie führen, obwohl die Langzeitergebnisse noch unbefriedigend sind (Lambin und Lieve, 2019). Insbesondere die Kombination von der Immuntherapie und der Strahlentherapie bietet sich aufgrund der immunstimulatorischen Wirkung der Strahlentherapie an, die bereits in präklinischen Arbeiten gezeigt werden konnte (Hodge et al., 2012, Rodriguez-Ruiz et al., 2016, Kirn et al., 2017, Oudizinski et al., 2019). Inwieweit über eine immunstimulatorische/-modulierende Wirkung im Vergleich zur primär DNA-schädigenden und vollständigen lokalen tumorzellvernichtenden Wirkung einer kurativ intendierten Strahlentherapie eine permanente Tumorkontrolle erreicht werden kann, kann auf der Basis der bis jetzt vorliegenden Daten nicht beurteilt werden.

¹ Programmed Cell Death-Ligand 1



Dazu sind intensive präklinische und klinische Untersuchungen erforderlich (Lambin und Lieveise, 2019). Es ist unklar, inwieweit synergistische Effekte beider Therapien bestehen oder ob ein echter Therapiegewinn im Sinne eines verbreiterten therapeutischen Fensters vorliegt (Baumann und Ebert, 2019). Ebenso lässt das Studiendesign unter alleiniger Verwendung von Standard-Therapieprotokollen seitens der Strahlentherapie noch keinen Rückschluss zu, inwieweit die Strahlentherapie durch die Immuntherapie moduliert werden kann (Baumann und Ebert, 2019). Vor einer Implementierung der kombinierten Radioimmuntherapie sind deshalb die Aufklärung der genauen Mechanismen, die Optimierung der Strahlendosis und der Fraktionierung sowie auch die Selektion der Patienten im Rahmen von entsprechenden Studien notwendig (Vanpouille-Box et al., 2018, Lambin und Lieveise, 2019, Baumann und Ebert, 2019).

Die Verschreibung der Tumorthherapie für Patienten erfolgt auf Grundlage der vorliegenden Tumorentität und von den im Rahmen von in klinischen Studien etablierten klinisch-pathologischen Parametern (Rosenthal und Ang, 2004). Für den einzelnen Patienten ist die Strahlentherapie auf klinisch-pathologischem Level personalisiert, die individuelle Therapieverschreibung berücksichtigt unter anderem dessen Allgemeinzustand, bekannte Komorbiditäten, Vorschädigungen, das (biologische) Alter des Patienten und auch den Patientenwunsch (Rosenthal und Ang, 2004). Zudem erhält jeder Patient seinen individuellen Bestrahlungsplan unter der Berücksichtigung der anatomischen Strukturen (Bernier et al., 2004b, Baumann et al., 2008a). Für die weitere Personalisierung sollte jedoch insbesondere die Strahlenempfindlichkeit der individuellen Tumoren stärker berücksichtigt werden (Rosenthal und Ang, 2004). Die zentrale Herausforderung bei strahlenresistenten Tumoren ist dabei, die Strahlendosis im Zielvolumen zu erhöhen, ohne das umliegende Normalgewebe weiter zu beeinträchtigen (Barnett et al., 2009). Dagegen könnte bei Patienten mit besonders strahlenempfindlichen Tumoren eine Therapieeideskalation zu einer Reduktion von starken chronischen Nebenwirkungen führen. Für eine solche Therapieindividualisierung in populationsbezogenen Strategien ist jedoch die Entwicklung und die Implementierung von robusten und klinisch einsetzbaren Biomarkern für strahlenbiologische Mechanismen in Ergänzung zu den etablierten klinisch-pathologischen Parametern essentiell (Baumann et al., 2016c).

1.1 Klinik der Kopf-Hals-Tumoren

Maligne Kopf-Hals-Tumoren stehen an sechster Stelle der häufigsten Krebsarten weltweit, mit einer Inzidenz von ca. 932.000 Neuerkrankungen pro Jahr (Global (Chi et al., 2015) Burden of Disease Cancer Collaboration, 2017). Für Deutschland wurde die Inzidenz der Kopf-Hals-Tumoren für das Jahr 2014 auf 12.110 bei Männern und auf 4.220 bei Frauen geschätzt (www.RKI.de, Krebs in Deutsch-

Patienten mit Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen sprechen UNTERSCHIEDLICH auf die aktuelle Standardtherapie an. Unter Berücksichtigung aller Tumoreigenschaften liegt das 5-Jahres-Gesamtüberleben von Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen bei ca. 50% (Leemans et al. 2011, Gatté et al. 2015). Der Therapieentscheidung des behandelnden Arztes liegt die TNM-Klassifikation zugrunde, die eine Einteilung der Krebserkrankung entsprechend des vorliegenden Stadiums ermöglicht. Dabei gilt in Deutschland die von der UICC³ erarbeitete Klassifikation, währenddessen beispielsweise in den USA die Vorgaben von der AJCC⁴ erstellt werden. Die Therapieempfehlung selbst erfolgt im Einklang mit nationalen Leitlinien. In der hier vorliegenden Arbeit werden eher in Deutschland anerkannte Konzepte **berücksichtigt**. Patienten mit lokal begrenzten Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen, d.h. mit frühen Tumorstadien (UICC Stadium I und II) bekommen in Deutschland eine alleinige Operation oder alternativ eine alleinige Strahlentherapie (Wolff KD, 2012). Für Patienten mit einer lokoregionär fortgeschrittenen Tumorerkrankung (UICC Stadium III und IV) wird ein multimodales Therapiekonzept empfohlen (Wolff K-D, 2012). Dieses umfasst zunächst eine operative Therapie und anschließende postoperative Strahlentherapie. Darüber hinaus wird bei einem Rezidiv, einer zweiten Primärdiagnose oder einem metastasierenden Tumor eine systemische Therapie in Kombination mit einer Strahlentherapie erwogen.

S

moltherapie empfohlen (Wolff K.-D., 2012). Diese Empfehlungen zur kombinierten Radiochemotherapie im Vergleich zur alleinigen Strahlentherapie bei Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf Hals-Plattenepithelkarzinomen basieren im Wesentlichen auf drei randomisierten klinischen Studien (Bernier et al., 2004a, Cooper et al., 2004, Fietkau et al., 2006) sowie auf einer Metaanalyse (Bernier et al., 2005), die zeigen, dass die simultane Cisplatin-basierte Chemotherapie die lokoregionäre Tumorkontrolle und das progressionsfreie Überleben (Fietkau et al., 2006) sowie das Gesamtüberleben (Cooper et al., 2004) bzw. das krankheitsfreie Überleben (Bernier et al., 2004a) signifikant verbessert. Alternativ kann bei Patienten mit lokal fortgeschrittenen Kopf Hals-Plattenepithelkarzinomen auch eine primäre Radiochemotherapie durchgeführt werden. Diese Indikation wird insbesondere bei funktioneller Inoperabilität gestellt (Wolff K.-D., 2012, Adelstein et al., 2017). Auch hier konnten randomisierte klinische Studien zeigen, dass die Applikation einer simultanen Chemotherapie zu einem verbesserten Gesamtüberleben (Adelstein et al., 1993, Adelstein et al., 2003), einer höheren lokoregionären Kontrollrate (Budach et al., 2014) und einem längeren metastasenfreien Überleben (Huguenin et al., 2004) im Vergleich zur alleinigen Strahlentherapie führen kann. Darüber hinaus konnte demonstriert werden, dass eine simultane Systemtherapie mit Cetuximab ebenfalls zu einem signifikant längeren Gesamtüberleben im Vergleich zur alleinigen Strahlentherapie von Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen führt (Bonner et al., 2006, Bonner et al., 2010).

Die simultane Radiochemotherapie kann aber durch ihre additive Wirkung neben einer Verbesserung der Heilungswahrscheinlichkeit auch zu einer Erhöhung der Akut- und Spättoxizitäten führen. Definitionsgemäß zählen zu den Akuttoxizitäten alle Nebenwirkungen, die bis zu 90 Tage nach Beginn einer Strahlentherapie auftreten. Nebenwirkungen, die später als 90 Tage auftreten, werden als Spättoxizitäten bezeichnet. Beispiele für akute Nebenwirkungen nach Bestrahlung im Kopf Hals-Bereich sind die orale Mukositis, die Dysphagie, die Xerostomie und die Dysgeusie (Bentzen et al., 2001, Dörr et al., 2002, Trotti et al., 2003, Barnett et al., 2009). Zu den radiogenen Spättoxizitäten gehören die anhaltende Xerostomie, Fibrosen, Teleangiectasien sowie Lymphödeme (Bentzen et al., 1989, Rodemann und Bamberg, 1995, Trotti, 2000, Dörr und Hendry, 2001, Bentzen, 2006, Barnett et al., 2009). Insbesondere Fibrosen und manifeste Lymphödeme können in ausgeprägten Fällen regionale Bewegungseinschränkungen verursachen und die Lebensqualität des Patienten langfristig beeinträchtigen (Cooper et al., 1995). Die Applikation der simultanen Chemotherapie führt zur Verstärkung einiger der oben genannten akuten Nebenwirkungen, z.B. der oralen Mukositis, und kann zusätzlich weitere Nebenwirkungen, vor allem Blutbildveränderungen mit Thrombozytopenien und Leukozytopenien, hervorrufen (Vokes und Weichselbaum, 1990). Bei Platin-basierter Chemotherapie können auch akute oder chronische Nierenfunktionsstörungen sowie ein Hörverlust bis hin zur Taubheit induziert werden

(Helson et al., 1978, Jacobs et al., 1978). Für 5-Fluorouracil werden insbesondere erhöhte Schleimhauttoxizitäten berichtet (Forastiere et al., 1987). Im Vergleich zur alleinigen Strahlentherapie führt die simultane Radiochemotherapie neben einer Zunahme der akuten radiogenen Nebenwirkungen auch zu einer Erhöhung der Spättoxizitäten (Bentzen und Trotter, 2007, Machtay et al., 2008). Eine Systemtherapie mit Cetuximab kann mit charakteristischen akneiformen Hautausschlägen einhergehen, deren Auftreten jedoch mit einem besseren Gesamtüberleben assoziiert ist (Bonner et al., 2010).

Generell sollten aufgrund der zu erwartenden Toxizitäten (*vide supra*) bei jeder Verschreibung einer simultanen Systemtherapie die vorhandenen Komorbiditäten des individuellen Patienten berücksichtigt und gegen den Nutzen der Therapie abgewogen werden. Patienten mit fehlender Belastbarkeit für eine solche Therapie oder mit vorbestehenden organischen Funktionsstörungen wird in der Regel eine alleinige Strahlentherapie mit einem strahlenbiologisch optimalen Fraktionierungsschemata verschrieben, um den Therapieerfolg zu maximieren (Boumis et al., 2006).

1.2 Biomarker für die Individualisierung der Therapie

Der Begriff Biomarker wird definiert als ein charakteristisches, das ein objektiv messbarer und evaluierbarer Indikator von normalen biologischen Prozessen, pathogenen Prozessen oder pharmakologischem Ansprechen auf eine therapeutische Intervention ist (Biomarkers Definitions Working Group, 2001). Dabei kann es sich um einen einzelnen Biomarker handeln, wie beispielsweise das Prostata-spezifische Antigen (PSA) für das Prostatakarzinom. Zudem werden zunehmend Biomarkersignaturen entwickelt, die aus mehreren einzelnen Biomarkern bestehen und damit insbesondere die intertumorale Heterogenität verschiedener Parameter potentiell besser abbilden können (Abraham et al., 2010, Wu et al., 2012, Yaromina et al., 2012, Marioni et al., 2014).

Prinzipiell wird zwischen prognostischen und prädiktiven Biomarkern unterschieden. Prognostische Biomarker informieren über den voraussichtlich zu erwartenden Verlauf der Erkrankung (McGuire und Clark, 1992, Oldenhuis et al., 2008, Ballman, 2015, Califf, 2018). Dagegen werden Biomarker als prädiktiv bezeichnet, wenn sich der Erfolg einer spezifischen Behandlung zwischen Biomarker-positiven und -negativen Patienten signifikant unterscheidet (Oldenhuis et al., 2008, Ballman, 2015). Die Identifikation eines prädiktiven Biomarkers erfolgt an Interventionsstudien, die den Therapieerfolg zwischen mindestens zwei Behandlungsarmen, dem Standardtherapie-Arm und einem experimentellen Arm, vergleichen (Ballman, 2015). Zudem können Biomarker sowohl einen prognostischen als auch einen prädiktiven Wert besitzen, wenn Biomarker-positiv

Übersichtsarbeit wird zusammengefasst, dass Zellen mit einer hohen p53-Wildtyp-Expression meistens radiosensitiver als solche mit einer niedrigeren p53-Expression sind (Liu et al. 2018). In einer präklinischen Studie an 20 Kopf-Hals-Tumorzelllinien konnte aber auch gezeigt werden, dass p53 mutierte Zellen zum Teil durch eine erhöhte Strahlensensitivität charakterisiert sein können, wobei die Strahlenempfindlichkeit stark abhängig ist von der Mutationsart sowie von der Lokalisation der Mutation (Servomaa et al., 1996). Dabei sind beispielsweise strukturverändernde Mutationen in dem codierenden TP53¹⁸-Gen mit aggressiveren Tumoreigenschaften assoziiert (Lindenbergh-van der Plas et al., 2011, Sano et al., 2011). In einer weiteren Studie an Patienten mit Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen konnte gezeigt werden, dass strukturverändernde Mutationen über die Inhibierung der Seneszenz zu einer erhöhten Strahlenresistenz und folglich zu einer hohen Lokalrezidivrate führen können (Skinner et al., 2012). Diese Daten (*vide supra*) stehen im Widerspruch zu einer früheren präklinischen Arbeit an 24 Kopf-Hals-Tumorzelllinien, die keine Assoziation zwischen der Strahlensensitivität und dem Mutationsstyp oder der Lokalisation der Mutation zeigen konnte (Brachman et al., 1993).

Weitere Marker zur Beurteilung der intrinsischen Radiosensitivität stellen beispielsweise der EGFR und die durch ihn aktivierten Signalwege (*vide supra*) dar. Darüber hinaus sind Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinome, die sich auf eine HPV-Infektion zurückführen lassen, durch eine erhöhte intrinsische Radiosensitivität charakterisiert. Darauf soll im Kapitel 1.4 detaillierter eingegangen werden.

Weitere biologische Faktoren bestimmen das Therapieansprechen

Neben den oben beschriebenen klassischen „R's der fraktionierten Strahlentherapie“ sind weitere biologische Aspekte von Bedeutung, die zum aggressiven Tumorwachstum und zur Metastasierung führen und als zusätzliche „R's“ gesehen werden können. Nachfolgend wird deshalb auf die Tumorstammzellen (Number) mit dem Tumolvolumen und der Stammzellichte sowie auf die Invasivität und Metastasierung (metastatic spread) eingegangen, die in dieser hier vorliegenden Arbeit mit berücksichtigt wurden.

1.3.6 Tumorstammzellen

Tumorstammzellen (*cancer stem cells*) sind definiert als die einzigen Zellen eines malignen Tumors, die ihre eigene Population unbegrenzt erhalten oder erweitern können und die einzigartige Fähigkeit besitzen, heterogene Tumorzelllinien bilden zu können, die einen individuellen Tumor ausmachen (Clarke et al., 2006). In der Literatur werden die Tumorstammzellen deshalb auch

¹⁸ Tumor Protein 53

als „Tumor-initiiierende Zellen“ bezeichnet (Clarke et al., 2006). Tumorzellen mit Stammzeleigenschaften sind durch eine phänotypische Plastizität charakterisiert, sie können sich in Nicht-Stammzellen und *vice versa* umwandeln. Die Aktivierung erfolgt dabei häufig über genetische Mutationen, was wiederum zu verschiedenen klonalen Subpopulationen und folglich zum heterogenen Therapieansprechen bis hin zur Therapieresistenz führen kann (Plaks et al., 2015). Zudem können die Tumorstammzellen auch in einen vorübergehenden ruhenden Zustand eintreten und sich somit der Therapie entziehen (Kreso et al., 2013).

Definitionsgemäß ist bereits eine einzelne überlebende Tumorstammzelle dazu in der Lage, zu einem Tumorrezidiv oder zu Metastasen zu führen (Clarke et al., 2006, Dmgli und Michor, 2006, Baumann et al., 2008b). Um eine für die Heilung erforderliche permanente Tumorkontrolle zu erreichen, ist es deshalb zwingend notwendig, alle Tumorstammzellen abzutöten oder zu inaktivieren, die der Wirt nicht selbst inaktivieren kann (Munro und Gilbert, 1961, Suit und Order, 1974, Suit und Walker, 1980, Reya et al., 2001, Baumann et al., 2008b). An Dosis-Wirkungs-Kurven für die lokale Kontrolle von Hauttumoren und Teleangiektasien wurde erstmals diskutiert, dass es einen Dosisbereich existiert, in dem eine hohe lokale Tumorkontrolle bei einer akzeptablen Inzidenz von ernsthaften Komplikationen vorliegt (Hollhuser, 1936, Bentzen, 1993). In präklinischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Strahlendosis, die erforderlich ist um 50% der Tumoren zu kontrollieren (*tumor control dose 50*, TCDS₅₀), mit dem Tumornutzen ansteigt (Suit et al., 1965). Zusätzlich zur Anzahl der Tumorstammzellen ist die intrinsische Strahlenempfindlichkeit der Tumorstammzellen dabei ein bestimmender Faktor. Bei fraktionierter Bestrahlung unter klinikrelevanten Bedingungen wird die Beziehung von der TCDS₅₀ und der Anzahl sowie der Strahlenempfindlichkeit der Tumorstammzellen von allen oben genannten biologischen Faktoren (αR_s) modifiziert (Suit et al., 1965, Baumann et al., 1990b, Yaromina et al., 2007).

Um zusätzlich zu strahlenbiologisch funktionellen Experimenten weitere biologische Einsichten zum Einfluss von Tumorstammzellen auf das Ergebnis einer Bestrahlung zu gewinnen, kann das Therapieansprechen mit sogenannten Stammzellmarkern korreliert werden. Spezifische Zellpopulationen können beispielsweise mittels der FACS¹⁸-basierten Zelltrennung (*sorting*) angereichert werden (Parks et al., 1979). Die Antikörper-basierte Markierung von bestimmten Oberflächenepitopen, die überwiegend auf den Tumorstammzellen exprimiert werden, ermöglicht hierbei eine Trennung in stammzellreiche und -arme Subpopulationen (Baum et al., 1992, Bhatia et al., 1997). Über die Isolation von CD34⁺/CD38⁻ Zellen erfolgte der erste Nachweis von Tumorstammzellen im Blut von Patienten mit akuter myeloischer Leukämie, die Injektion dieser leukämischen Tumorstammzellen initiierte ein malignes Tumorwachstum in Experimentalmäusen (Sonnet und

¹⁸Fluorescence-activated cell sorting

Dick 1997). Wenig später konnte eine tumorigene CD44⁺/CD24⁻ Subpopulation aus Mammakarzinom-Gewebe isoliert und charakterisiert werden (Al-Haili et al., 2003). Seitdem sind Tumorstammzellen und deren mögliche Marker auch Gegenstand intensiver Forschungen in solchen Tumoren. Ein Beispiel für einen bereits gut charakterisierten Marker für Tumorzellen mit Stammzelleneigenschaften stellt das Oberflächenprotein CD44 dar. CD44 ist ein Transmembran Glykoprotein mit verschiedenen Transkriptvarianten. Dessen Ligand ist das Hyaluronan, ein Protein der extrazellulären Matrix (Ponta et al., 2003). In einer praktischen Studie konnte gezeigt werden, dass CD44-positive Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomzellen zu einem rascheren und häufigeren Tumorstadium in immunkomprimierten Mäusen führen als CD44-negative Tumorzellen (Ponce et al., 2007). In einer retrospektiven klinischen Studie in 76 Patienten mit frühen Larynxkarzinomen konnte demonstriert werden, dass sowohl die CD44-Expression als auch der immunhistochemisch bestimmte CD44-Score mit der lokalen Tumorkontrolle nach alleiniger Strahlentherapie signifikant korreliert sind (de Jong et al., 2010). Weitere Untersuchungen an 8 Larynxkarzinomzelllinien zeigten, dass die CD44-Genexpression mit der Koloniebildungsfähigkeit in vitro signifikant korreliert ist. Es zeigte sich jedoch keine Assoziation der CD44-Expression mit der klinischen Strahlensensitivität (de Jong et al., 2010). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die CD44-Expression mit der Anzahl der Tumorstammzellen assoziiert ist, aber keine Aussage hinsichtlich deren klinischen Strahlensensitivität liefert (Baumann und Krause, 2010).

Aufgrund der Relevanz der Anzahl der Stammzellen für die lokale Tumorkontrolle erfolgt zunehmend die Integration von solchen putativen Tumorstammzellmarkern in prognostische und prädiktive Tests, in denen die Tumorstammzellmarker-spezifischen Oberflächenproteine als mögliche Surrogatmarker für die prospektive Identifikation von tumorigenen Zellpopulationen benutzt werden (Koch et al., 2010, Yaromina et al., 2012, Bütof et al., 2013, Peitzsch et al., 2013, Krause et al., 2017). Die eingeschränkte Spezifität und die Gewebeselektivität implizieren jedoch die Kombination verschiedener Marker für die Identifikation und Charakterisierung von Tumorstammzellen (Zhang et al., 2012, Peitzsch et al., 2013, Gilormini et al., 2016, Elkashty et al., 2019).

1.3.7 Tumorstadium und Stammzellendichte

Aus präklinischen und klinischen Studien ist bekannt, dass das Tumorstadium eng mit der lokalen Kontrolle nach der Strahlentherapie assoziiert ist (Suit et al., 1960, Haveman et al., 1981, Dubben et al., 1998). Das ist vor allem auf die Anzahl der Tumorstammzellen in Tumoren unterschiedlicher Größe sowie auf deren intrinsische Strahlensensitivität zurückzuführen. Präklinische Experimente konnten zeigen, dass die absolute Anzahl der Tumorstammzellen mit steigendem Tumorstadium zunimmt (Suit et al., 1965, Baumann et al., 1990b, Baumann et al., 2008b, Krause et al., 2017). Unter der Voraussetzung, dass alle anderen strahlenbiologischen Faktoren konstant

Kopf-Hals-Biomarker-Studien im Deutschen Konsortium für Translationale Krebsforschung

Um die erfolgreiche Durchführung von Biomarker-Studien werden ausreichend große Patienten-
 - orte benötigt, die mit aktuellen Therapiestrategien behandelt werden. Durch eine multizentri-
 - che nationale oder internationale Ausrichtung von Studien können eine höhere Rekrutierungs-
 - iahl erreicht und die Zeiträume der Studien verkürzt werden, sodass im Falle der retrospektiv
 - durchgeführten Studien die Therapie der aktuellen Standardtherapie entspricht. Prospektive mul-
 - tizenrische Studien benötigen einen kürzeren Rekrutierungszeitraum, sodass die Ergebnisse fru-
 - rvorliegen und die Patienten möglichst zeitnah davon profitieren. Die multizentrisch generierten
 - Studienergebnisse sind dabei besonders robust, weil Einzelzentrumseffekte und anderer Selekti-
 - onsbias damit reduziert werden.

(Ein Beispiel für ein nationales Forschungsnetzwerk ist das Deutsche Konsortium für Translato-
 - rische Krebsforschung (DKTK), das im Oktober 2012 gegründet wurde (Joos et al., 2019). In der transla-
 - tionale Gruppe des DKTK (OKTK-ROG) sind alle 8 Partnerstandorte des DKTK organi-

- siert. Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse sind Teil der ersten gemeinsamen Studie der
 - OKTK-ROG, bei der prognostische und prädiagnostische Biomarker für die lokoregionäre Kontrolle nach
 - (I) primärer beziehungsweise nach (II) postoperativer Radiochemotherapie in Patienten mit loko-

- regional fortgeschrittenen Kopf-Hals- Plattenepithelkarzinomen zunächst in einer retrospektiven
 - Studie identifiziert, in dem prospektiven Studienteil validiert und in einer Interventionsstudie
 - angewendet werden sollen (*vide infra*) (Baumann et al., 2012). Ein aus den Studienleitern der
 - beteiligten Standorte gebildeter Lenkungsausschuss und die gemeinsame Co-Ownership stellen den
 - hohen Standard der Studie sicher. Die Studie wird durch die DKTK-ROG-Studienzentrale in Dresden
 - betreut.

Im retrospektiven Teil der Studie erfolgen explorative Biomarkeranalysen an allen 8 Partnerstand-

- orten der DKTK-ROG. Jeweils getrennt für die Patienten, die eine primäre Radiochemotherapie
 - oder eine postoperative Radiochemotherapie nach vorangegangener onkologischer Resektion er-
 - folgten haben. Nach einer statistischen Modellierung der identifizierten und besonders vielverspre-

- chenden Marker für die primäre beziehungsweise postoperative Kohorte wird das für die jeweilige
 - Kohorte zu validierende Modell anschließend an einer parallel dazu prospektiv generierten, mul-

- tiplizierten DKTK-Kohorte (HNprädiB10-Studie; www.clinicaltrials.gov, NCT02059668) getestet. In der ges-
 - amten Studie liegen verbindliche Einschlusskriterien zugrunde, zudem erfolgen die stan-

- dardisierte Probenaufarbeitung des FFPE-Probenmaterials für die Biomarkeranalyse, die Homo-
 - logisierung der klinischen Daten und die Beurteilung der Bildgebung hinsichtlich der Lage des
 - Tumors zentral am OKTK-Standort Dresden. Die entsprechenden molekularen Analysen wurden

Im Rahmen dieser Habilitationsschrift wird im strahlenbiologischen Labor des OncoRay etabliert und unter meiner Leitung durchgeführt

Basierend auf diesen klinisch-pathologischen und Biomarker-Daten (*vide supra*), sollen im Anschluss daran entsprechende Interventionsstudien durchgeführt werden (siehe Seiten 145-147 dieser Habilitationsschrift).

Die erforderliche IT-Infrastruktur zur Zusammenführung der klinisch-pathologischen Daten, Biomarker-Daten sowie der Bildgebung einschließlich der Bestrahlungspläne wird mit der im DKTK entwickelten RadPlanBio-Datenbank sichergestellt (Skripcak et al., 2016), sodass die Daten und langfristig für weitere Analysen vorgehalten werden können.

im Rahmen dieser Habilitationssarbeit im strahlenbiologischen Labor des OncoRay etabliert und unter meiner Leitung durchgeführt.

Basierend auf diesen klinisch-pathologischen und Biomarker-Daten (*vide supra*), sollen im Anschluss daran entsprechende Interventionsstudien durchgeführt werden (siehe Seiten 145-147 dieser Habilitationsschrift)

- Die erforderliche IT²⁷-Infrastruktur zur Zusammenführung der klinisch-pathologischen Daten, Biomarker-Daten sowie der Bildgebung einschließlich der Bestrahlungspläne wird mit der im DKTK entwickelten RadPlanB10-Datenbank sichergestellt (Skripcak et al, 2016), sodass die Daten und langfristig für weitere Analysen vorgehalten werden können

1.8 Fragestellungen

Um die Patientenstratifizierung für eine biologisch personalisierte Strahlentherapie - zusätzlich zu den bereits bekannten klinischen Parametern - zu verbessern, soll in dieser Arbeit untersucht werden, inwieweit die aus präklinischen Arbeiten bekannten strahlenbiologischen Parameter und Mechanismen auf den Patienten übertragbar sind. Konkret sollen in dieser Arbeit die folgenden **Fragestellungen** beantwortet werden:

- 1 Welchen Einfluss hat der HPV-Status **auf** das Therapieansprechen von Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen, die eine postoperative Radiochemotherapie erhalten?
- 2 Welche Rolle spielen Tumorstammzellmarker und die prätherapeutische Tumormyxie bei lokoregionär fortgeschrittenen Tumoren von Patienten, die eine Operation und anschließende postoperative Radiochemotherapie *erhalten*?
- 3 Welche Möglichkeiten bieten Genpanels unter Einbeziehung weiterer strahlenbiologischer Resistenzfaktoren? *Wird* dadurch eine bessere Patientenstratifizierung möglich im Vergleich zu Gensignaturen, die lediglich auf **der** Tumormyxie und den Tumorstammzellmarkern **beruhen**?
- 4 Welche Rolle spielen die Tumorstammzellmarker und Tumormyxie neben dem HPV-Status in Patienten mit primärer Radiochemotherapie? Welchen Einfluss hat das Tumolvolumen?
- 5 Aufgrund der **Relevanz** des HPV-Status für künftige Interventionsstudien sollte abschließend geprüft werden, inwieweit sich die Methodik der HPV-Bestimmung auf die Klassifikation der Karzinome hinsichtlich deren HPV-Status und folglich der lokoregionären Kontrolle nach kurativ intendierter Strahlentherapie auswirkt.

Für die Bearbeitung der Fragestellungen (*vide supra*) wurden insgesamt 4 retrospektive Patientenkohorten zusammengetragen, die im Folgenden kurz eingeführt werden

Multizentrische, postoperative Kohorte der DTK-ROG

Diese Kohorte umfasst 221 Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen, die aufgrund des hohen Rezidivrisikos (mikroskopischer Tumorrest nach Operation oder kapselüberschreitendes Wachstum der Lymphknotenmetastasen oder >3 Lymphknotenmetastasen) an einem der 8 Partnerstandorte des DTK im Zeitraum zwischen 2004 und 2012 eine postoperative Cisplatin-basierte Radiochemotherapie in kurativer Intention erhalten haben. Bei 57% dieser Patienten wurde ein Oropharynxkarzinom, bei 27% ein Mundhöhlenkarzinom und bei 16% ein Hypopharynxkarzinom diagnostiziert. Diese Kohorte wird in der hier vorliegenden Arbeit auch als „postoperative explorative Kohorte“ bezeichnet.

Um die Vergleichbarkeit mit dem aktuellen Patientenkollektiv unter Berücksichtigung der steigenden Inzidenz (*vide supra*) von HPV-assoziierten Karzinomen, der aktuellen Standardtherapie und dem aktuellen Stand der Technik zu gewährleisten, erfolgte der Patienteneinschluss in dieser und in der multizentrischen, primären Kohorte der DTK-ROG (*vide infra*) von 2012 an rückwärts. Ziel war es dabei, insgesamt 240 Patienten (30 Patienten pro Standort) in die Studie einzuschließen. Für die Erfüllung der verbindlichen Einschlusskriterien musste der Zeitraum für den Patienteneinschluss an einigen Standorten rückwärts bis 2004 ausgedehnt werden (Lohaus et al. 2014). Nachträglich wurden 19 Patienten aufgrund von unzureichendem Biomaterial oder Nichterfüllung der Einschlusskriterien ausgeschlossen. Verpflichtend für den Studieneinschluss waren neben klinischen Parametern unter anderem auch das Vorhandensein von FFPE-Tumormaterial, Bestrahlungsplänen sowie klinischem Follow-up mit Bildgebung zur späteren Beurteilung eines möglichen Tumorrezidivs. Die Bildgebung und die Bestrahlungspläne sind für die Lagebeurteilung von Rezidiven im Vergleich zum Primärtumor wichtig und vor allem essentiell für Biomarker-Studien: nur die im Hochdosisbereich auftretenden Rezidive erlauben einen Rückschluss auf einen strahlenresistenten Tumor (Chao et al., 2003; Geretschläger et al., 2015; Li et al., 2018). Dagegen sind Tumorrezidive außerhalb des Hochdosis-Bereiches als „missed targets“ anzusehen und dürfen keinesfalls als strahlenresistente Tumoren gewertet werden. Die klinischen Daten, Bildgebung einschließlich der Bestrahlungspläne sowie molekularen Daten werden alle in der RadPlanBio-Datenbank erfasst (Skripcak et al., 2016).

Monozentrische, postoperative Kohorte

Die monozentrische, postoperative Patientenkohorte umfasst 152 Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Plattenepithelkarzinomen, die im Zeitraum zwischen 1999 und 2006 und damit vor

denen der oben genannten multizentrischen Kohorte behandelt wurden und somit nicht Bestandteil der DTKK-Kohorte sind (Einschlusszeitraum der Patienten des Standortes Dresden in die multizentrische Kohorte: 2007-2012) (Linge et al. 2016b). Prinzipiell wurden für den Patienteneinschluss die gleichen Kriterien wie bei der oben genannten multizentrischen Kohorte zugrunde gelegt. Hinsichtlich der Tumorlokalisation erfolgte eine Erweiterung um den Larynx. Bei 20% der Patienten dieser Kohorte wurde ein Oropharynxkarzinom, bei 55% ein Mundhöhlenkarzinom, bei 10% ein Hypopharynxkarzinom und bei 5% ein Larynxkarzinom histologisch gesichert. In dieser Kohorte haben im Gegensatz zur multizentrischen, postoperativen Kohorte der DTKK-ROG nur 40 Patienten (26%) eine simultane Radiochemotherapie erhalten, da diese Kombinationstherapie zum Zeitpunkt der Behandlung noch keine Standardtherapie darstellte und deshalb nur innerhalb klinischer Studien appliziert wurde. Diese monozentrische Kohorte wird in dieser Arbeit als „postoperative Validierungskohorte“ bezeichnet.

Multizentrische, primäre Kohorte der DTKK-ROG

Diese Kohorte umfasst 158 Patienten, die eine primäre Cisplatin- oder Mitomycin C-basierte Radiochemotherapie an einem von 6 DTKK-Partnerstandorten im Behandlungszeitraum zwischen 2005 und 2011 in kurativer Intention erhalten haben (Linge et al., 2016c). Der Patienteneinschluss erfolgte ebenfalls rückwärts, beginnend von 2011 (*vide supra*). Bei allen Patienten wurde ein Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle (17%), des Oropharynx (50%) oder des Hypopharynx (33%) bioptisch gesichert. Auch in dieser Kohorte wurden verbindliche Einschlusskriterien zugrunde gelegt (Linge et al., 2016c). Obligatorisch für den Einschluss in diese Studie waren neben klinischen Parametern das Vorhandensein von FFPE-Tumormaterial, Bestrahlungsplänen sowie klinischem follow-up einschließlich entsprechender Bildgebung zur späteren Lagebeurteilung des Rezidivs. Die Fallzahlkalkulation hat auch hier den Einschluss von insgesamt 240 Patienten (30 Patienten pro Standort) vorgesehen. Insbesondere aufgrund des nur eingeschränkt zur Verfügung stehenden Biomaterials (Biopsien) und teilweise auch aufgrund der Nichterfüllung aller Einschlusskriterien wurde jedoch die kalkulierte Fallzahl unterschritten. Diese Kohorte wird im Folgenden auch als „primäre explorative Kohorte“ bezeichnet.

Monozentrische, primäre Kohorte

Die monozentrische, primäre Kohorte besteht aus 92 Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf- Hals-Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle (33%), des Oropharynx (26%), des Hypopharynx (33%) und des Larynx (8%) (Linge et al., 2019). Alle Patienten haben zwischen 1999 und 2015 eine kurativ intendierte, primäre Radiochemotherapie am Standort Dresden erhalten und sind nicht Teil der primären explorativen Kohorte (*vide supra*). Bei den Patienten, die im gleichen

■ ■

„Zeitraum wie die Patienten der primären explorativen Kohorte behandelt wurden“, handelt es sich um Studienpatienten der prospektiven FMISO-Studie (Zips et al., 2012, Löck et al., 2019). Zusätzlich zu den obligatorischen Einschlusskriterien der multizentrischen Kohorte, wurde die Tumorklassifikation um den Larynx *erweitert (vide supra)*. Diese monozentrische Kohorte wird in der hier vorliegenden Arbeit auch als „primäre Validierungskohorte“ bezeichnet.

Prognostische Biomarker für die fokoregionäre Kontrolle nach Radio(chemo)therapie

HPV16 DNA status is a strong prognosticator of loco-regional control after *postoperative* radiochemotherapy of locally advanced oropharyngeal carcinoma: Results from a multicentre explorative study of the German Cancer Consortium Radiation Oncology Group (OKTK-ROG)

Lcllau S F., Ul., 9§.ß., Tinhofer I, Budach V, Gklka E, Stuschke M, Balerm pas P, Rbdel C, Avlar M, G1osu AL, Abdoffahl A, Debus J, Bayer C, Belka C, Pigo! Ch S, Combs SE, MOnrmch D Z, ps D. von Neubeck C, Baretton GB, Löck S, Thamea HD, KrauGe M, Baumann M, for the DKTK-ROG
•geteUle Erstautorenschall
Rad, other Onco/2014, 113(3) 317-323

Fragestellung: Aus der Literatur ist bereits bekannt, dass der HPV-Status ein prognostischer Faktor für Patienten ist, die eine primäre Radiochemotherapie erhalten. In dieser Arbeit sollte untersucht werden, inwieweit der HPV-Status auch bei Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen, die eine *postoperative* Radiochemotherapie erhalten haben, ein prognostischer Parameter ist.

Material und Methoden: Für 221 Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen des Hypopharynx, des Oropharynx oder der Mundhöhle, die an einem der 8 Partnerstandorte des DKTK behandelt wurden, erfolgte die retrospektive Analyse der Assoziation von HPV16 DNA, sowie der p16- und p53-Expression mit dem primären Endpunkt der lokoregionären Tumorkontrolle.

Ergebnisse: HPV DNA, p16-Expression, p53-Expression und die Tumorkontamination korrelierten in der univariablen Analyse signifikant mit der lokoregionären Tumorkontrolle. In den multivariablen Analysen, stratifiziert nach Tumorkontamination, war dagegen der HPV16 DNA Status nur mit der lokoregionären Tumorkontrolle in Oropharynxkarzinomen korreliert.

Schlussfolgerung für die vorliegende Habilitationsschrift:

Neben der prognostischen Rolle des HPV-Status für Patienten mit lokal fortgeschrittenen Oropharynxkarzinomen nach primärer Radiochemotherapie, ist der HPV-Status auch von prognostischer Bedeutung für Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Tumoren, die nach kurativer onkologischer Resektion eine *postoperative* Radiochemotherapie erhalten haben. Annehmbar nach der Resektion verbliebene HPV-positive Tumorzellen werden durch die *postoperative* Radiochemotherapie vernichtet. Aufgrund der höheren Strahlensensitivität der HPV-positiven Oropharynxkarzinome lässt sich schlussfolgern, dass die *postoperative* Strahlentherapie möglicherweise für diese Subgruppe dosisreduziert werden kann.

Diskussion der Ergebnisse

Einfluss des HPV-Status auf das Therapieansprechen von Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen nach postoperativer Radio(chemo)therapie

In vorangegangenen Studien konnte für Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen gezeigt werden, dass der HPV-Status ein wichtiger prognostischer Faktor für die lokoregionäre Kontrolle sowie für das Gesamtüberleben nach kurativ intendierter primärer Strahlentherapie und/ oder simultaner Radiochemotherapie ist (Lassan et al., 2009, Ang et al., 2010, Rischin et al., 2010, Lassen et al., 2013, Rosenthal et al., 2016)

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, inwieweit der HPV-Status auch ein prognostischer Parameter für Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen ist, die eine postoperative Radiochemotherapie erhalten haben. Aus einer post-hoc Analyse an einer bizenitrisch durchgeführten randomisierten klinischen Studie an einer Subgruppe von 59 der 31 Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Oropharynx- oder Mundhöhlenkarzinomen, die im Zeitraum zwischen 2001 und 2004 behandelt wurden, ergaben sich Hinweise, dass der HPV-Status mit einer hohen lokoregionären Kontrolle nach postoperativer Strahlentherapie assoziiert ist (Snietura et al., 2010). Alle 9 Patienten mit HPV-positiven Tumoren wiesen eine lokoregionäre Tumorkontrolle nach 60 Monaten auf, demgegenüber waren nur 50% der Tumoren von Patienten mit HPV-negativen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen lokoregionär kontrolliert (Snietura et al., 2010). In der multizentrischen, postoperativen explorativen Kohorte der DKTK-ROG konnten wir zeigen, dass die lokoregionäre Kontrollrate nach 60 Monaten mit fast 97% bei Patienten mit HPV-positiven Tumoren sowohl in der univariablen als auch in der multivariablen Analyse signifikant höher war als in Patienten mit HPV-negativen Tumoren (79%) (Lohaus et al., 2014). Dieser Effekt kommt vor allem durch die Oropharynxkarzinome zustande. Diese stellten mit 57% den größten Anteil der Kohorte dar, wobei in 49% der Oropharynxkarzinome eine HPV-Assoziation nachweisbar war (Lohaus et al., 2014). In unserer postoperativen Validierungskohorte konnte der HPV-Status als prognostischer Marker für die lokoregionäre Tumorkontrolle als statistischer Trend ($p:0,06$) bestätigt werden (Linge et al., 2016b). Die Unterschiede zur DKTK-ROG Kohorte liegen dabei vor allem darin, dass die Validierungskohorte im Vergleich zur Trainingskohorte durch einen geringeren Anteil von Oropharynxkarzinomen (30% versus 57%) und durch eine niedrigere HPV-Positivität der Oropharynxkarzinome (39% versus 49%) charakterisiert ist. Unsere Ergebnisse konnten mittlerweile von anderen Forschungsgruppen bestätigt werden. Beispielsweise konnte in einer monozentrischen Kohorte mit 302 Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen mit hohem Rezidivrisiko ebenfalls gezeigt werden, dass Patienten mit

-positiven Oropharynxkarzinomen nach 60 Monaten eine signifikant höhere lokoregionäre Kontrollrate (96%) im Vergleich zu HPV-negativen Karzinomen nach postoperativer Radiochemotherapie aufweisen (Mahlhoefer et al. 2018)

Einfluss von Tumorphypoxie und von Tumorstammzellen auf die lokoregionäre Tumorkontrolle nach *postoperativer* Radiochemotherapie

Während Patienten mit HPV-positiven Plattenepithelkarzinomen nach onkologischer Resektion und postoperativer Radiochemotherapie eine sehr hohe lokoregionäre Kontrollrate zeigen, ist insbesondere für die Stratifizierung von Patienten mit HPV-negativen Plattenepithelkarzinomen zusätzliche Biomarker erforderlich, um Patienten mit hoher lokoregionärer Kontrollrate von solchen mit hohem Rezidivrisiko zu trennen. Deshalb war es das nächste Ziel in der hier vorliegenden Arbeit, unter den Patienten mit HPV-negativen Tumoren diejenigen Subgruppen zu identifizieren, die eine vergleichsweise hohe lokoregionäre Kontrollrate zeigen oder besonders strahlensresistente Tumoren haben.

Einfluss der Tumorphypoxie

Aus zahlreichen präklinischen und klinischen Studien ist bekannt, dass der Oxygenierungsstatus des Tumors ein wichtiger prognostischer Parameter für den Therapieerfolg nach primärer Strahlentherapie ist (Reynaud-Bougnoux et al., 1986, Höckel et al., 1996, Harada, 2011). Bisher konnte in einer multizentrischen, prospektiven klinischen Studie an 397 Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen mit invasiven intratumoralen Messungen des Sauerstoffpartialdruckes mittels der Eppendorf-Elektrode gezeigt werden, dass eine schlechte Oxygenierung signifikant mit einem kürzeren Gesamtüberleben nach kurativ intendierter Strahlentherapie assoziiert ist (Nordsmark et al., 2005). Im letzten Jahrzehnt wurden verschiedene Assays entwickelt, um Hypoxie-assoziierte Veränderungen im Tumorgewebe zu bestimmen, das im Rahmen der prätherapeutischen histologischen Sicherung oder bei der onkologischen Resektion gewonnen wurde (Lendahl et al., 2009, Buffa et al., 2010, Toustrup et al., 2011, Eustace et al., 2013, Harris et al., 2015). Eine prognostische oder prädiktive Rolle dieser Signaturen wurde bisher nur für Patienten gezeigt, die eine primäre Strahlentherapie erhalten haben (siehe Seiten 17 bis 18 dieser Habilitationsschrift). In den zugrundeliegenden Publikationen der hier vorliegenden Habilitationsschrift sollte deshalb erstmalig exploriert werden, inwieweit die Tumorphypoxie auch ein prognostischer Biomarker für die lokoregionäre Kontrolle bei Patienten nach onkologischer Resektion und postoperativer Radiochemotherapie ist. Dies wäre allein

durch den Sauerstoffeffekt der Hypoxie nicht zu erwarten. Ist aber von erheblichem wissenschaftlichen Interesse um auch andere präklinisch vermutete Mechanismen, wie z. B. eine Verstärkung der Tumorgenese und -progression durch Hypoxie (Rankin und Giaccia, 2008) an einer klinischen Patientenkohorte zu prüfen. Dazu wurde in den beiden postoperativen Kohorten die prognostische Rolle der 15- und 26-Gensignatur (Toustrup et al., 2011, Eustace et al., 2013) untersucht. In der postoperativen explorativen Kohorte konnte gezeigt werden, dass die Expression der beiden Hypoxie-assoziierten Gensignaturen in der univariablen Analyse unerwarteterweise signifikant mit der lokoregionären Kontrollrate nach postoperativer Radiochemotherapie assoziiert ist. In der multivariablen Analyse konnte dieser Zusammenhang für die Patienten mit HPV-negativen Tumoren bestätigt werden. Patienten mit HPV-negativen, hypoxischen Tumoren haben eine signifikant niedrigere lokoregionäre Kontrollrate und ein kürzeres Gesamtüberleben (Linge et al., 2016a). In der postoperativen Validierungskohorte ergab sich ein Trend hinsichtlich der niedrigeren lokoregionären Kontrollrate bei der 15-Gensignatur. Demgegenüber ergab sich keine signifikante Assoziation der Hypoxie mit einem der klinischen Endpunkte für die Patienten mit HPV-positiven Tumoren. Das ist vermutlich in erster Linie statistisch bedingt, da die postoperative Validierungskohorte durch weniger HPV-positive Tumoren und weniger Ereignisse wie Rezidive oder Fernmetastasen charakterisiert ist. Der prognostische Wert der Hypoxie für die lokoregionäre Kontrollrate konnte als unabhängiger Parameter in der multivariablen Analyse unter Berücksichtigung des HPV-Status, der Tumorklassifikation und des Lymphknotenstatus überschreitenden Tumorstadiums bestätigt werden (Linge et al., 2016a).

Die prognostische Rolle der Expression von Hypoxie-assoziierten Gensignaturen im unterstrahlten Operationspräparat erscheint zunächst unerwartet. Der Tumor wurde reseziert, die postoperative Radiochemotherapie wurde lediglich auf die noch vorhandenen restlichen Tumorzellen appliziert, bei denen die Hypoxie keine Rolle mehr spielen sollte (Linge et al., 2016a). Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die Hypoxie nicht nur über die biochemischen Effekte die zelluläre Strahlenresistenz beeinflusst, sondern dass auch andere strahlenbiologische Aspekte hypoxischer Zellen (*vide infra*) hier eine Rolle spielen (Linge et al., 2016a). Diese Hypothese wird durch vorangegangene klinische Untersuchungen unterstützt. Yaromina et al. (2010) konnten zeigen, dass die prätherapeutische Tumorphypoxie die lokale Tumorkontrolle nach der Strahlentherapie signifikant beeinflusst, selbst wenn die Strahlentherapie unter homogenen anoxischen Bedingungen appliziert wurde. Weitere Publikationen weisen darauf hin, dass die Tumorphypoxie auch das Stammzellpotential und/oder das invasive Tumorstadium als externer Faktor unterstützen kann (Hilli et al., 2009, Mohyeldin et al., 2010, Welford und Giaccia, 2011, Butof et al., 2013, Peilzsch et al., 2014, Aponte und Calcedo, 2017). Wir konnten ebenfalls zeigen, dass die

ression der Hypoxie-assoziierten Gensignaturen mit der Expression der Tumorstammzellmarkern signifikant assoziiert ist (van der Linde et al., 2016a)

Einfluss der Tumorstammzellen

Für den Erfolg der Strahlentherapie ist es wichtig, dass alle Tumorstammzellen abgetötet oder inaktiviert werden, um ein Tumorrezidiv zu verhindern und eine langfristige Tumorkontrolle zu erreichen (Munro und Gilbert, 1961; Suil et al., 1965; Suit und Walker, 1980; Reya et al., 2001; Baumann et al., 2008b). In einer Studie von de Jong et al. (2010) konnte demonstriert werden, dass die CD44-Expression auf Gen- und auf Proteinebene signifikant mit der Lokalrezidivrate nach alleiniger Strahlentherapie in Patienten mit frühen Larynxkarzinomen assoziiert ist. In einer retrospektiven Studie an 290 Patienten mit Oropharynxkarzinomen konnte gezeigt werden, dass Patienten mit HPV-positiven Tumoren und einer niedrigen bzw. fehlenden CD44-Expression ein signifikant längeres progressionsfreies Überleben und Gesamtüberleben nach Radio(chemo)therapie aufweisen (Näsman et al., 2013). In der hier vorliegenden Arbeit konnte festgestellt werden, dass Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen, HPV-negativen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen mit einer verstärkten CD44-Proteinexpression eine signifikant niedrigere lokoregionäre Kontrollrate nach postoperativer Radiochemotherapie aufweisen (Linge et al., 2016a). Diese Daten wurden in einer Studie von Baschnagel et al. (2017) bestätigt, welche ebenfalls eine hohe CD44-Expression in p16-negativen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen nach primärer Radiochemotherapie gezeigt hat. Zusätzlich konnten die Autoren zeigen, dass eine hohe CD44-Expression mit einer Überexpression von MET assoziiert ist. Patienten mit einer simultanen CD44- und MET-Überexpression der Tumoren haben ein signifikant schlechteres progressionsfreies Überleben im Vergleich zur restlichen Patientenkohorte (30% versus 70%) (Baschnagel et al., 2017). MET ist eine transmembrane Rezeptortyrosinkinase für den Hepatozyten-Wachstumsfaktor (*Hepatocyte Growth Factor*, HGF). Die Phosphorylierung ihrer intrazellulären Domäne kann zur Aktivierung von Signalkaskaden zur Tumprogression, Invasion und Metastasierung führen (Birchmeier et al., 2003). In Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinom-Zelllinien konnte gezeigt werden, dass MET-positive Zellen die Fähigkeit zur Selbsterneuerung und zur Tumorgenese und damit Tumorstammzeleigenschaften aufweisen (Sun und Wang, 2011). In einer retrospektiven Studie an 107 Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen konnte in der univariablen Analyse eine signifikante Assoziation von einer hohen MET-Proteinexpression mit einer niedrigen lokoregionären Kontrolle, einem kürzeren krankheitsfreien Überleben und einem kürzeren Gesamtüberleben nach primärer Radiochemotherapie demonstriert werden (Baschnagel et al., 2014). In der multivariablen Analyse zeigte sich eine negative

oziation mit dem krankheitsfreien Überleben, Jedoch nur für Patienten mit p16negativen Tumoren (Baschnagel et al. 2014).

In der dieser Habilitationsschrift zugrunde liegenden Arbeit konnte eine signifikante Assoziation mit der lokoregionären Kontrolle, ein negativer Einfluss auf das metastasenfreie Überleben sowie ein schlechteres Gesamtüberleben von Patienten mit einer MET-Überexpression gezeigt werden, die eine postoperative Radiochemotherapie erhalten haben (Linge et al. 2016c). In einer orangegangenen Studie konnte zudem gezeigt werden, dass das MET-Protoonkogen durch eine oxidische Umgebung aktiviert werden kann und dass eine MET-Überexpression mit hypoxischen Tumorearealen assoziiert ist (Pennacchetti et al., 2003). Wir konnten eine positive Korrelation von der MET-Genexpression mit der Expression von Hypoxie-assoziierten Genen an Tumorkontakten der postoperativen explorativen Kohorte bestätigen. Insbesondere MET-positive, hypoxische Tumoren haben eine sehr niedrige lokoregionäre Tumorkontrollrate (Linge et al., 2016a). In der postoperativen Validierungskohorte konnte die prognostische Rolle von *MET* für die radioonkologischen Endpunkte nicht bestätigt werden, was möglicherweise auf die Heterogenität der Patientenkohorte zurückzuführen ist. Die Berücksichtigung der *MET-Expression* in den multivariaten Modellen von ausschließlich den Patienten der postoperativen Validierungskohorte, die eine postoperative Radiochemotherapie erhalten haben, verbessert jedoch deren prognostische Güte (Linge et al., 2016b). Die fehlende Signifikanz dieser Modelle kann insbesondere darin begründet sein, dass die simultane Chemotherapie zum damaligen Zeitpunkt nur im Rahmen von klinischen Studien durchgeführt wurde und dass damit von einer zusätzlichen Patientenselektion auszugehen ist (Linge et al., 2016b).

Als ein weiterer potenzieller Tumorstammzellmarker wird das Gen *SLC3A2* diskutiert, welches für das Protein CD98 codiert. Experimentelle Untersuchungen haben gezeigt, dass Zellen mit einer hohen CD98-Expression dazu in der Lage sind, Tumoren in immunodefizienten Mäusen zu etablieren (Martens-de Kemp et al., 2013). Darüber hinaus konnte in der Subpopulation der CD98-überexprimierenden Zellen eine vermehrte Expression von Genen detektiert werden, die in die Zellzyklus-Kontrolle und in die DNA-Reparatur involviert sind (Martens-de Kemp et al., 2013). In einer retrospektiven Studie an 711 Patienten mit Oropharynxkarzinomen konnte die gleiche Arbeitsgruppe zeigen, dass HPV-positive Tumoren eine geringere Proteinexpression der putativen Tumorstammzellmarker CD44 und CD98 aufweisen, währenddessen eine Überexpression von CD44 und CD98 mit einem signifikant schlechteren metastasenfreien Überleben und einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert ist (Rietbergen et al., 2014). In der hier vorliegenden Arbeit konnte erstmals gezeigt und validiert werden, dass eine erhöhte *SLC3A2*-Genexpression zu einer niedrigen lokoregionären Kontrollrate und zu einem erhöhten Risiko der Fernmetastasierung nach postoperativer Radiochemotherapie führt (Linge et al., 2016a, Unge et al., 2016b).

Darüber hinaus konnten wir eine signifikante Korrelation von den untersuchten putativen Tumorstammzellmarkern mit den beiden Hypoxie-assoziierten Gensignaturen nach postoperativer Radiochemotherapie zeigen (Linge et al, 2016a). Aus präklinischen und klinischen Studien ist

es bekannt, dass die Hypoxie das Stammzellpotential (Yaromina et al. 2010, Hashimoto et al., 2011, Mimeault und Batra, 2013, Bhagat et al, 2016, Qian und Rankin, 2019) erhöhen kann. In der hier vorliegenden Arbeit wurde erstmals die Relevanz dieser Mechanismen auch für die klinische Situation bestätigt

Berücksichtigung von weiteren prognostisch relevanten Faktoren für Patienten nach postoperativer Radiochemotherapie

Um zusätzlich zu den bisher in dieser Arbeit beschriebenen Biomarkern wie Tumorstammzellmarkern, Hypoxie und die Strahlensensitivität weitere strahlenbiologisch relevante Aspekte zu untersuchen, die Hinweise auf die Strahlenempfindlichkeit der Tumoren liefern können, wurde ein umfangreiches Hypothesen-basiertes Genset entwickelt (Schmidt et al. 2018). Dieses basiert auf Literaturrecherchen und berücksichtigt dabei neben der Tumorphypoxie, und den Tumorstammzellmarkern verschiedenste strahlenbiologische Aspekte wie die DNA-Reparatur, die Zellproliferation, die Invasion und Migration, die epitheliale-mesenchymale Transition (EMT) sowie Gene, die bei der Cisplatin-Resistenz eine Rolle spielen könnten. Auf Basis dieses Gensets wurde in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe „Modellierung und Biostatistik in der Radioonkologie“ des OncoRay unter Leitung von Herrn Professor Dr. Steffen Löck eine Gensignatur entwickelt, mit dem Ziel die lokoregionäre Kontrolle von Patienten mit HPV-negativen, lokoregionär fortgeschrittenen Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen bestmöglich vorherzusagen. Dabei kamen moderne maschinelle Lernverfahren zum Einsatz, die unter Verwendung von interner Kreuzvalidierung sowie einer weiteren unabhängigen Validierung durchgeführt wurden. Die entwickelte Signatur umfasst insgesamt 7 Gene (*SERPINE1*, *INHBA*²⁹, *ACTN1*³⁰, *P4HA1*³¹, *CD24*³², *TCFJ33* und *HILPDA*³⁴), welche bei der DNA-Reparatur, bei der Hypoxie sowie bei der Proliferation, der Invasion und der Metastasierung eine Rolle spielen (Schmidt et al., 2018). In einer Studie an 43 Patienten mit Zervixkarzinomen konnte eine signifikante Assoziation von einer Überexpression von *SERPINE1* (Alternativname *PAI-1*) mit einer niedrigeren Proteinexpression von Ku70/Ku80 und

19 fnh/bln Subunit Beta A

Actin, n Alpha 1

Prolyl-4-Hydroxylase Subunit Alpha 2

Cluster of Differentiation 24

Transcription Factor 3

34 Hypoxia /inducible Lipid Droplet Associated

Uncategorized References

Chi, A. C., Day, T. A., & Neville, B. W. (2015). Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma--an update. *CA Cancer J Clin*, 65(5), 401-421. <https://doi.org/10.3322/caac.21293>

