

Ck7 und E-Cadherin in Plattenepithelkarzinomen des Kopf- und Hals-Bereiches

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. med.)
der Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Busher Aboudan

aus Aleppo, Syrien

2025

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Glen Kristiansen
2. Gutachter: PD Dr. med. Klaus Eichhorn (HNO-Klinik UKB)

Tag der mündlichen Prüfung: 18.09.2025

Aus dem Institut für Pathologie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung	6
1.1 Plattenepithelkarzinome des Kopf- und Halsbereiches	6
1.1.1 Definition	6
1.1.2 Epidemiologie	6
1.1.3 Risikofaktoren	6
1.1.4 TNM-Klassifikation	7
1.1.5 Graduierung	7
1.1.6 Prognose	7
1.1.7 Therapie	7
1.1.8 Pathophysiologie	8
1.2. Epithelial-Mesenchymal-Transition (EMT)	9
1.3 Biomarker der Studie	10
1.3.1 Zytokeratine	10
1.3.2 Zytokeratin 7	10
1.3.3 E-Cadherin	11
1.4 Fragestellung der Arbeit	13
2. Material und Methoden	14
2.1 Material der Studie	14
2.2 Beurteilung der CK7-Expression	14
2.3 Die Beurteilung der E-Cadherin-Expression	15
2.4 Statistische Auswertungen	17
2.5 Das Patientenkollektiv	18
3. Ergebnisse	19
3.1 Patientenkohorte	19
3.2 Ergebnisse von CK7	22
3.3 E-Cadherin	24
4. Diskussion	32
4.1 Diskussion der CK7-Ergebnisse	32
4.2 Diskussion der E-Cadherin-Ergebnisse	35
4.3 Ausblick	39

5. Zusammenfassung	40
6. Abbildungsverzeichnis	41
7. Tabellenverzeichnis	42
8. Literaturverzeichnis	43
9. Erklärung zum Eigenanteil	52
10. Danksagung.....	53

Abkürzungsverzeichnis

CK7	Zytokeratin 7
CPS	Combined Positive Score
EBV	Epstein-Bar-Virus
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
EMT	Epithel Mesenchymal Transition
FDA	Food and Drug Administration
HNSCC	Head and Neck Squamous Cell Carcinoma
HPV	Human Papilloma Virus
OSdays	Overall Survival with days
pN-Status	Pathologische Lymphknotenmetastasierung (Nodalstatus)
pT-Status	Pathologische Tumorausbreitung
TMA	Tissue Micro-Array
TNM	Tumorausbreitung, Nodalstatus, Metastasierung (fern)
USA	United States of America
WHO	World Health Organisation

1. Einleitung

1.1 Plattenepithelkarzinome des Kopf- und Halsbereiches

1.1.1 Definition

Zu den Plattenepithelkarzinomen des Kopf- und Halsbereiches (engl. Squamous cell head and neck carcinoma, HNSCC) zählen Plattenepithelkarzinome der Schleimhäute des Rachens, der Mundhöhle, der Nase, der Nasennebenhöhlen und des Kehlkopfes. Die Plattenepithelkarzinome der Haut an Kopf und Hals sind von dieser Bezeichnung ausgeschlossen (Johnson et al., 2020).

1.1.2 Epidemiologie

Weltweit finden sich die Plattenepithelkarzinome des Kopf-/Halsbereichs an sechster Stelle der häufigsten Krebserkrankungen. Es zeigt sich eine geographische Variation der Inzidenzrate dieser Tumoren, wobei diese Karzinome zwischen 5 % und 10 % der gesamten Krebsinzidenz in Nordamerika und Europa formen. Diese Ratio steigt jedoch in einigen asiatischen Ländern (Indien, Sri Lanka, Pakistan) sprunghaft auf bis zu 80 % der gesamten malignen Neoplasien an. In Europa findet sich die höchste Inzidenzrate in Frankreich (Vigneswaran und Williams 2014).

In den USA liegt die gesamte Inzidenzrate bei 11,2 pro 100.000 Menschen, die Inzidenz bei Männern liegt bei 17,9 und bei Frauen bei 5,5 (Fakhry et al., 2018).

In Deutschland beträgt die altersstandarisierte Inzidenzrate im Jahr 2018 laut dem Zentrum für Krebsregisterdaten 7,3 bei Frauen und 24,3 bei Männern, jeweils pro 100.000 Menschen (RKI).

1.1.3 Risikofaktoren

Die oben beschriebene geographisch-epidemiologische Variation dürfte auf das unterschiedliche Exponieren zu den Risikofaktoren zurückzuführen sein. Zu den bekannten Risikofaktoren für HNSCC gehören Rauchen, Infektionen mit HPV und EBV sowie Alkoholabusus (Dhull et al., 2018). Die Population mit gleichzeitigem Konsum von Alkohol und Tabak ist 35-mal häufiger betroffen als die allgemeine Population (Blot et al., 1988).

Eine Infektion mit HP-Viren ist (laut der Studie Cruz et al., 1996) in ca. 50% der Plattenepithelkarzinome des Hals- und Kopf-Bereiches nachweisbar (Cruz et al., 1996), wobei diese im Oropharynx häufiger auftreten. Die Patienten mit HPV-assoziierten Plattenepithelkarzinomen sind jünger, zeigen häufiger Lymphknotenmetastasen und haben eine relativ bessere Überlebensrate (Joshi et al., 2014).

1.1.4 TNM-Klassifikation

Für das Tumorstadium sind die Größe des Tumors und die Infiltration wichtiger anatomischer Strukturen, z. B. der Mandibula, wichtig. Für Oropharynxkarzinome weist die achte Auflage der WHO-TNM-Klassifikation unterschiedliche Klassifizierungen der Oropharynx-Tumoren auf: Hier haben die p16-positiven/HPV-positiven Karzinome ihre eigene Klassifikation. Es gibt auch eine separate Klassifikation für die HPV-negativen Karzinome und für die Karzinome mit unbekanntem HPV-Status (Brierley et al, 2017).

1.1.5 Graduierung

Das von der WHO unterstützte Graduierungssystem ist relativ einfach und konzentriert sich auf die Tumorränder, wobei die Tumoren in gut, mäßig und gering differenziert unterteilt sind (Almangush et al., 2020). Einige Studien zeigen, dass dieses Graduierungssystem keine oder nur eine minimale prognostische Aussagekraft hat (Dik et al., 2018).

1.1.6 Prognose

Die zwei wichtigsten Prognosefaktoren sind der HPV-Status und das Staging, wobei die HPV-positiven Plattenepithelkarzinome eine bessere Prognose haben als die HPV-negativen sowie die lokal beschränkten Karzinome eine bessere Prognose haben als die fortgeschrittenen (Yu SS et al., 2020).

1.1.7 Therapie

Die Therapie ist abhängig von der Ausbreitung des Tumors und davon, ob es sich um einen Primärtumor oder um ein Rezidiv handelt sowie ob der Tumor operabel oder nicht operabel ist.

Als kurative Therapie kann eine vollständige chirurgische Resektion bei lokal beschränkten und nicht rezidierten Karzinomen die Maßgabe sein (Ren et al., 2022).

Fortgeschrittene Plattenepithelkarzinome des Hals- und Kopf-Bereiches (Stadium III und IV) werden mit einer kombinierten Therapie behandelt. Diese kann aus einer Radiochemotherapie oder einer chirurgischen Resektion, gefolgt von Bestrahlung oder Radiochemotherapie bestehen (Lee et al., 2020).

Eine begleitende Chemotherapie mit Cisplatin verbessert die Prognose nach der OP bei Hochrisikopatienten und auch bei nicht operablen Tumoren. Die kombinierte Chemotherapie, bestehend aus Docetaxel, Cisplatin, und 5-Floururacil mit anschließender Bestrahlung, zeigt eine verbesserte Prognose (Karabajakian et al., 2017).

Eine Immuntherapie kann die Prognose verbessern bei vermehrter Anti-Tumor-Immunreaktion. Die FDA hat die Monotherapie mit Pembrolizomab zugelassen bei einem CPS von ≥ 1 (Shibata et al., 2021).

Cetuximab ist das einzige Medikament, das als gezielte Therapie (EGFR-targeted therapy) für die Behandlung fortgeschrittener HNSCC von der FDA zugelassen ist (Li et al., 2023).

1.1.8 Pathophysiologie

Die Pathogenese der HNSCC entspricht theoretisch einem Schritt für Schritt-Geschehen, beginnend mit Epithelzellen über unterschiedlich graduierte Dysplasien (gering, mäßig, schwer), Carcinoma in situ und schließlich die Invasion (Johnson et al., 2020). Diese Entwicklung ist begleitet bzw. verursacht von genetischen Veränderungen. Unterschiedliche Mutationen wurden bereits in Plattenepithelkarzinomen des Hals- und Kopf-Bereiches identifiziert.

Diese begleitenden genetischen Veränderungen sind die Funktionslosigkeit beziehungsweise Funktionsstörung von Tumorsuppressorgenen, hauptsächlich von TP53, das p53 codiert, und CDKN2A, das p16 codiert, beide in den frühen Stadien, und PTEN, das Phosphatase und Tensin-Homolog codiert. Der Anteil der Mundhöhlentumoren, die eine gute Prognose haben, zeigt eine Aktivierung von HRAS oder PIK3CA, gleichzeitig mit Inaktivierungsmutationen von CASP8, NOTCH1 und TP53 (Cancer Genome Atlas Network, 2015).

1.2 Epithelial-Mesenchymal-Transition (EMT)

Zur EMT gehören mehrere aufeinanderfolgende Veränderungen der Zellstruktur, wobei das Verhalten und die Aktivität der Zelle von epithelial in Richtung mesenchymal verändert wird, sodass die Zelle einfacher wandern und invadieren kann (Yang et al., 2020).

Die EMT wurde als vielseitiger Mechanismus angesehen, der die Relokalisierung und Umverteilung von Zellen während der Embryonalentwicklung, den Wiederaufbau von Gewebe nach Verletzungen, die Karzinogenese und die Metastasierung von Tumoren ermöglicht (Tarin et al., 2005). In Tumoren können sich die Zellen, die EMT entwickelt haben, mehr ausbreiten und wandern sowie besser gegenüber Immunsystem und Therapien resistieren (Usman et al., 2021). Hanahan und Weinberg nennen EMT als Teil der „next Generation-Hallmarks of Cancer“, da die EMT-induzierenden Transkriptionsfaktoren alle Schritte der Kaskade von Invasion/Metastasierung unter Aussparung der Kolonisation orchestrieren können (Hanahan et al., 2011).

Da die Veränderung während Metastasierung in mehreren Karzinomen eher einer Dedifferenzierung und nicht einer Transdifferenzierung (in mesenchymales Gewebe) entspricht, sollte laut (Klymkowsky et al. 2009), statt des Begriffes „EMT“ eher der Begriff „EMT-ähnliche Veränderungen“ verwendet werden. Klymkowsky und seine Kollegen (Klymkowsky et al., 2009) haben diese EMT-ähnlichen Veränderungen der Karzinome in verschiedene Phänotypen unterteilt:

0-Phänotyp: Differenzierte Tumorzellen mit erhaltener Epithelstruktur und Zellpolarität.

1-Phänotyp: Mehrheit der Tumorzellen mit Polaritätsverlust jedoch mit erhaltener Zell-Zell-Adhäsion und Keratinexpression.

2-Phänotyp: Verlust der Zell-Zell-Adhäsion mit erhaltener Keratinexpression

3-Phänotyp: Verlust der Zell-Zell-Adhäsion und der Keratinexpression mit Entwicklung einer Expression von Vimentin.

Im Bereich der allgemeinen Plattenepithelkarzinome zeigen einige Zellen spezifische Merkmale, die nur in den Neoplasien erfasst sind. Diese Zellen werden als tumorspezifische Keratinozyten bezeichnet und zeigen Kennzeichen der EMT, wie z. B.

eine Vimentin-Positivität (Ji et al., 2020). Von diesen Kennzeichen (sogenannte EMT-Marker) haben wir zwei Marker ausgewählt: (1) einen klassischen EMT-Marker (E-Cadherin) (Peindl et al., 2022), dessen Expressionsverlust als EMT-Zeichen beobachtet wird, und (2) CK7, das ganz normal in einigen benignen Epithelien und deren malignen Tumoren exprimiert wird, jedoch in den normalerweise CK7-negativen Tumoren (z.B. Kolontumoren) exprimiert wird. Diese Expression ist laut der Studie (Fei et al., 2019) verbunden mit einer Tendenz zu metastasieren und eine größere Tumorgroße aufzuweisen und ist somit auch als möglicher EMT-begleitender Marker zu beobachten (Fei et al., 2019). Die CK7-positiven kolorektalen Tumorzellen liegen laut der Studie an der Invasionsfront sowie im Bereich von tumorösen Emboli. Dies weist darauf hin, dass die CK7-positiven Zellen invasions- und metastasierungsfähig sind und somit einem EMT-Prozess entsprechen können.

1.3 Biomarker der Studie

1.3.1 Zytokeratine

Die Zytokeratine sind Intermediärfilamente, die die stabilsten Komponenten des Zytoskeletts formen. Sie sind äußerst vielfältig und korrelieren in der Regel mit dem histologischen Subtyp, da in fast allen Zelltypen ein einziger Typ von Intermediärfilament (IF) zu finden ist. Die Zytokeratine, die spezifisch für Epithelien sind, stellen die größte und vielfältigste Klasse von Intermediärfilamenten dar. Die Anzahl der exprimierten Zytokeratin-Polypeptiden reicht von 2 bis 5 für jede Epithelzelle und von 2 bis 10 für jedes Epithel und sogar für jede Zellschicht innerhalb eines bestimmten Epithels. Derzeit ist ein breites Spektrum von Antizytokeratin-Antikörpern mit Untergruppen- oder Einzelpolypeptid-Spezifität verfügbar (Sawaf et al., 1992). Die Zytokeratine sind in azidische Keratine und basische Keratine sowie niedriggewichtige und hochgewichtige Keratine unterteilt. Die hochgewichtigen Keratine befinden sich in den squamösen Epithelien (Plattenepithelien), Urothelien und Myoepithelzellen und in den Basalzellen der Ausführungsgänge, wobei sich die niedriggewichtigen in glandulären Epithelien befinden (Rekhtman et al., 2019).

1.3.2 Zytokeratin 7

Zytokeratin 7 (CK7) ist ein Protein, das durch das Gen kRT7 codiert ist. Dieses Gen befindet sich im Chromosom 12 in der Lokalisation 12q14 (Rosenberg et al., 1991). CK7

wird in einer Gruppe der glandulären und kolumnaren Epithelien sowie in den mesothelialen und urothelialen Zellen bzw. auch in ihren Tumoren exprimiert. In normaler Kolonschleimhaut, den Hepatozyten und Plattenepithelien wird CK7 nicht exprimiert (Ramaekers et al., 1987). Im Gegensatz zum Normalgewebe zeigen einzelne Karzinome, die sich aus Kolonschleimhaut oder Plattenepithelien entwickeln, eine Expression von CK7. Beispielweise wurde ein Anteil der Plattenepithelkarzinome der Haut erfasst, der unterschiedlich starke Positivität für CK7 aufweist. Dieser Anteil betraf besonders schlecht differenzierte Karzinome (Pulitzer et al., 2010). Auch in Plattenepithelkarzinomen des Hals- und Kopf-Bereiches wurde die Expression von CK7 analysiert. Zwei Studien zeigten widersprüchliche Ergebnisse. In der Studie (Woods et al., 2017) wurde bemerkt, dass eine CK7-Positivität mit bestimmten Karzinomlokalisationen (häufiger im Oropharynx, besonders in den Tonsillen) und einem positiven HPV-Status verbunden ist (Woods et al., 2017). Hier wurden auch aktuell und vom gleichen Zentrum CK7 und CK19 untersucht, was ähnliche Ergebnisse zeigte (Woods et al., 2022). In einer anderen Studie (Mehrad et al., 2018) wurde keine Beziehung zwischen CK7 und Karzinomlokalisation, HPV-Status oder Überlebensrate nachgewiesen.

Die Studie von Hojung Lee et al., zeigte eine positive Korrelation zwischen CK7 und HPV-Replikation (Lee et al., 2017).

1.3.3 E-Cadherin

E-Cadherin ist ein transmembranäres Glykoprotein, dessen Hauptfunktion darin besteht, Epithelzellen an Adhärenzverbindungen zu binden.

Die Expression von E-Cadherin beginnt im Zwei-Zell-Stadium (Larue et al., 1994; Riethmacher et al., 1995). Die Morulakompaktion wird durch das Einsetzen der E-Cadherin- und Myosin-vermittelten Adhäsion von Filopodien und deren Zugkraft auf benachbarte Blastomere definiert (Fierro-González et al., 2013).

Normalerweise übt E-Cadherin seine tumorsuppressive Funktion vor allem dadurch aus, dass es die Bindung von β -Catenin an den lymphoiden Verstärkungsfaktor (lymphoid enhancer factor) LEF / T-Zell-Faktor (T cell factor) TCF verhindert, das der Transkription von Genen des Wnt-Signalwegs dient. Es ist noch nicht bekannt, ob der Verlust von E-

Cadherin eine Ursache oder eine Auswirkung des epithelial-mesenchymalen Übergangs (EMT) ist, aber der Funktionsverlust von E-Cadherin und die Dysregulation seiner Expression wurden häufig mit einer schlechten Prognose und Überlebensrate bei Patienten mit verschiedenen Tumorentitäten in Verbindung gebracht (Wong et al., 2018).

Die Expression von E-Cadherin wird mit verschiedenen zellulären Prozessen in Verbindung gebracht, z. B. mit der Verringerung der Invasivität, der Wachstumshemmung, der Apoptose, dem Stillstand des Zellzyklus und der Differenzierung, die alle unabhängig voneinander stattfinden (Wong et al., 2018).

Die E-Cadherin-vermittelte Adhäsion wird während der Blastozystenbildung in erster Linie durch die Proprotein-Convertase 7 (PC7) und verwandte PCs, Furin und Pace4, reguliert (Bessonard et al., 2015). In epithelialen Geweben mit hoher E-Cadherin-Expression wird β -Catenin normalerweise an der Membran fixiert, was seine Freisetzung ins Zytoplasma und den Eintritt in den Zellkern verhindert (Jeanes et al., 2008). Dadurch wird β -Catenin daran gehindert, an ein Mitglied der DNA-bindenden Proteinfamilie LEF/TCF im Zellkern zu binden. Infolgedessen wird der Wnt-Signalweg nicht aktiviert und ein Faktor der Karzinogenese verhindert (Pećina-Slaus 2003). Es ist erwiesen, dass Wnt-Gene und andere Komponenten des Wnt-Signalwegs zum Entstehen von Krebs beitragen können (Peifer und Polakis 2000). Dazu gehören der Verlust der Zell-Zell-Adhäsion, erhöhte Motilität und Invasivität, Invasion und Überleben in der Blutbahn, Ausbreitung in entfernte anatomische Stellen, Paravasation und Kolonisierung einiger dieser Stellen (Gupta und Massagué 2006).

Die Signalwege, die das Fortschreiten der Metastasierung steuern, sind weit weniger gut erforscht als die molekularen Veränderungen, die am Wachstum des Primärtumors beteiligt sind. E-Cadherin steht in engem Zusammenhang mit der Invasivität von Tumoren, der Ausbreitung von Metastasen und einer schlechten Prognose (Oka et al., 1993; Schipper et al., 1991; Umbas et al., 1994).

Es sollte jedoch darauf hingewiesen werden, dass die aggressiven und metastasierten Karzinome oft keine EMT-Zeichen bzw. keinen E-Cadherin-Verlust aufweisen (Whittle et al., 2015). Einige Tumoren weisen jedoch einen E-Cadherin-Verlust auf. Bei Mammakarzinomen konnte gezeigt werden, dass das Vorhandensein von E-Cadherin

in den NST-Mammakarzinomen eine Rolle im Überleben und Metastasieren von Tumorzellen spielt (Padmanaban et al., 2019). Im Gegensatz dazu ist der Verlust von E-Cadherin sehr wichtig für der Entstehung und auch die Ausbreitung der invasiv-lobulären Mammakarzinome (Berx et al., 1995). Weitere Beispiele für einen E-Cadherin-Verlust in Neoplasien sind Melanome, Pankreaskarzinome, Magen- und Colonkarzinome (Siegelringkarzinome) sowie Karzinome der Prostata (Merzoug-Larabi et al., 2017; Arévalo et al., 2007; An et al., 2021; Olson et al., 2019). Diese E-Cadherin-negativen Tumoren haben durchschnittlich eine schlechtere Prognose als andere äquivalente Tumoren (Zhang et al., 2023).

1.4 Fragestellung der Arbeit

Mithilfe der immunhistochemischen Methoden verfolgt die Arbeit diese Zielsetzungen:

1. Wie groß ist die CK7-positive Sektion der Plattenepithelkarzinome des Kopf- und Hals-Bereiches.
2. Wie prognostisch relevant ist die Ck7-Positivität und gibt es eine Korrelation mit den anderen biologischen Prognosefaktoren oder mit der Überlebensrate.
3. Wie groß ist die E-Cadherin-Verlust-aufweisende Sektion der Plattenepithelkarzinome des Kopf- und Hals-Bereiches.
4. Wie prognostisch relevant ist der E-Cadherin-Verlust und gibt es eine Korrelation mit den anderen biologischen Prognosefaktoren oder mit der Überlebensrate.

2. Material und Methoden

2.1 Material der Studie

Die immunhistochemischen Färbungen wurden auf Tissue-Microarrays (TMAs) der Bonner HNSCC-Kohorte (vgl. (Müller et al., 2017)) von Frau Susanne Steiner, Medizinisch-technische Assistentin des Instituts für Pathologie, Universitätsklinikum Bonn, auf Immunhistochemiefärbeautomaten (Ventana, MEDAC) angefertigt.

Tabelle 1: Angaben zu den verwendeten Antikörpern und den Färbeprotokollen

Antikörpername	Herstellerfirma	Verdünnung	Vorbehandlung/ Puffer
CK7: Clone OV-TL 12/30	Agilent	1:500	0,01% Protease
E-Cadherin: Clone G-10	Santa Cruz	1:100	pH6 Citratpuffer

2.2 Beurteilung der CK7-Expression

Das Zytokeratin 7 wurde sowohl nach dem H-Score als auch gesamthaft als positiv/negativ beurteilt. Bei dem H-Score handelt es sich um die Ratio der positiven Tumorzellen multipliziert mit der Färbeintensität (geringe Färbeintensität 1, mäßige Färbeintensität 2, starke Färbeintensität 3), sodass sich der Score zwischen 0 und 300 bewegt.

Aufgrund der geringen Anzahl von CK7-positiven Fällen und der geringen Menge an beurteilbarer Tumorfläche in den TMAs wurde auch CK7 weiterhin als positiv und negativ bewertet, wobei positiv als sichere immunhistochemische Reaktivität mindestens in einer tumorösen Zelle berücksichtigt wurde (Abb. 1B und 1C).

Als interne positive Kontrolle haben wir die Epithelien der Ausführungskanäle der sekundären Speicheldrüsen angenommen (Abb. 1A).

Einige Tumoren zeigen eine starke und diffuse Positivität für CK7 sowie zum Teil membranös betont (Abb. 1D).

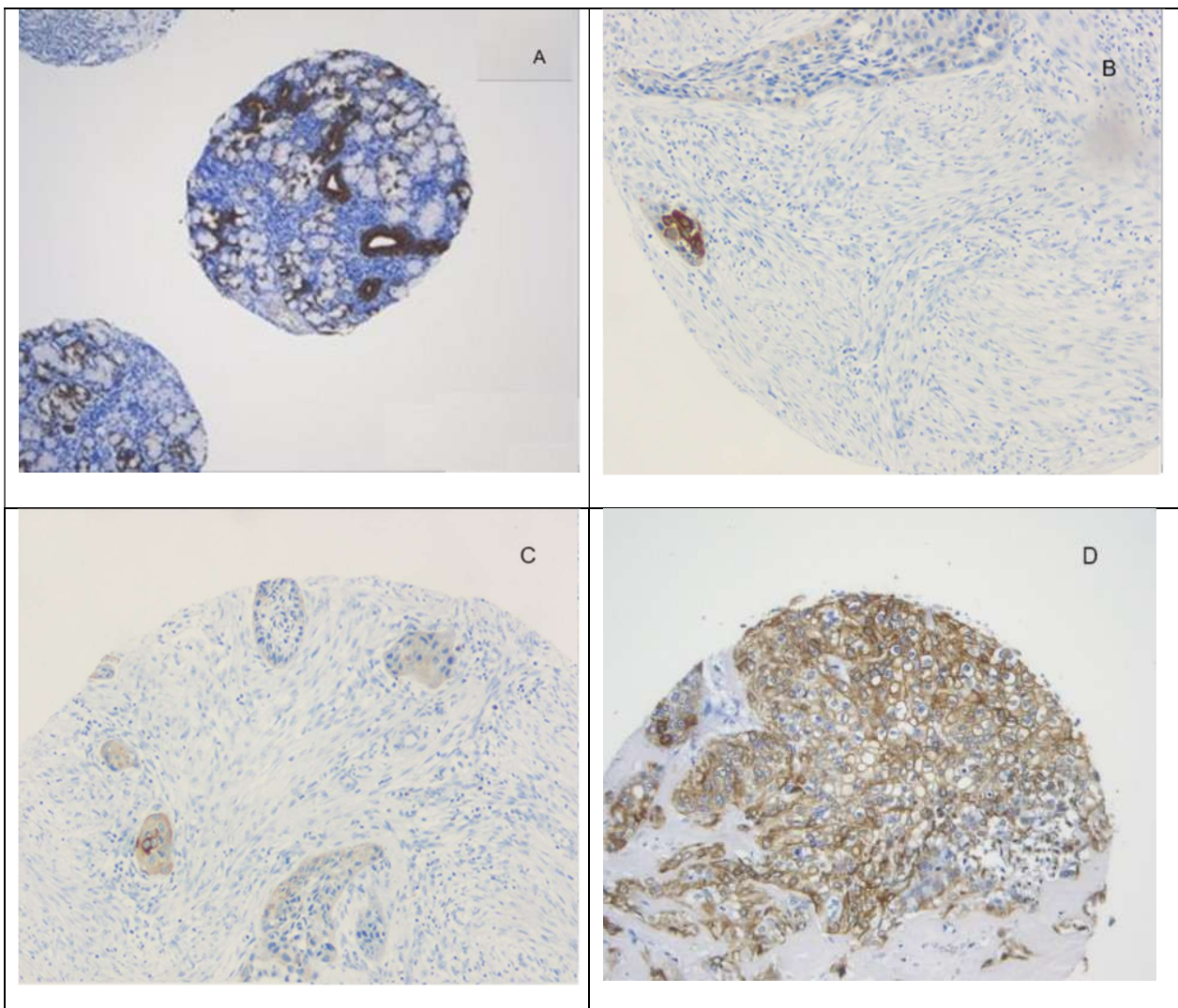


Abbildung 1: CK7-Expressionstypen: A CK7 in den Ausführungsgängen der sekundären Speicheldrüsen der Mundhöhlenschleimhaut (IHC-Schnitt x200), B Fokale Reaktivität für CK7 in einem einzelnen kleinen Tumorzellverband (ICH-Schnitt x400), C In mehreren Tumorzellen schwache und in einer Tumorzelle stark, D Ein Tumor mit starker und diffuser Reaktivität für CK7 (IHC-Schnitt x200).

2.3 Die Beurteilung der E-Cadherin-Expression:

Das E-Cadherin wird laut einem anderen Score beurteilt:

Die Ratio:

0 bis 5% der Zellen sind positiv: 0

5 bis 33% der Tumorzellen positiv: 1

34 bis 65% der Tumorzellen positiv: 2

66 bis 100% der Tumorzellen positiv: 3.

Diese Ratio wird multipliziert bei der Färbeintensität (geringe Färbeintensität 1, mäßige Färbeintensität 2, starke Färbeintensität 3).

Der Score des E-Cadherin wurde wie folgt beurteilt:

0 und 1 entsprechen schwachen Expression (weniger als im normalen Gewebe; negativ)

2, 3 und 4: mäßige Expression (ähnlich zum normalen Gewebe; positiv)

6 und 9: starke Expression (mehr als im normalen Gewebe; positiv)

Die Scores von 2 bis 9 wurden als erhaltene Expression (positiv) berücksichtigt und die Scores 0 und 1 wurden als schwache Expression (negativ) berücksichtigt. Dieser Score wurde aus folgenden Gründen erstellt: Der E-Cadherin-Marker wird in den normalen und zum größten Teil in neoplastischen Plattenepithelzellen (anders als CK7) exprimiert. Außerdem ist die typische morphologische Positivität von E-Cadherin spezifisch membranös (ähnlich zu Her2/neu) und nicht allgemein zytoplasmatisch wie bei CK7. Deshalb haben wir versucht, einen Score auszumachen, der ähnlich dem Her2-Score Anwendung finden kann. Beim Her2-Score ist ein Cut-Off-Wert von 10% der Tumorzellen zu beachten (in alten Klassifikationen 30%). Ein weiterer Fokus der Untersuchung von E-Cadherin liegt auf dem Expressionsverlust.

Die vertraute Beurteilung von E-Cadherin ist nur der vollständige Expressionsverlust, auch wenn mehrere aberrante Expressionsmuster zu bemerken sind (Schepper et al., 2022). In unserem Score wurde versucht, einige dieser aberranten Expressionstypen (Score 1) in Fällen mit Expressionsverlust zu zählen.

Die Korrelationen zwischen den Expressionen von Ck7 und E-Cadherin und den weiteren Risikofaktoren wurden statistisch studiert. Die Risikofaktoren sind pT-Status (pathologischer primärer Tumor; ein Anteil der TNM-Klassifikation, der der Größe oder der Infiltration des primären Tumors in der pathologisch untersuchten Resektion entspricht), pN-Status (pathologische regionale Lymphknoten; Anteil der TNM-Klassifikation, der der Ausbreitung in die regionalen Lymphknoten entspricht), histologische Graduierung, p16-Status (Assoziation mit HPV), und die Überlebensrate.

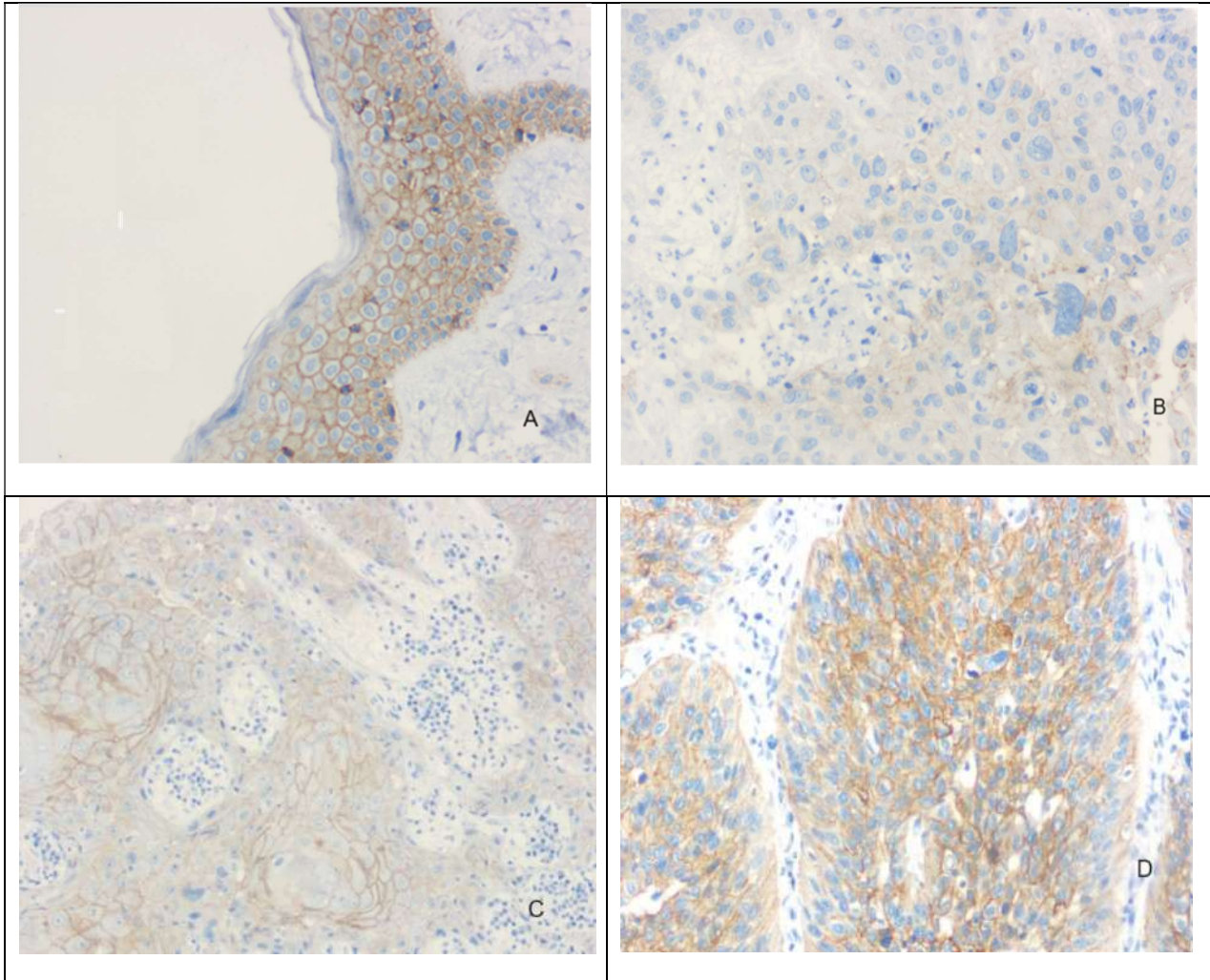


Abbildung 2: Expressionstypen von E-Cadherin: A: in normalem Plattenepithel einer Tonsille (IHC-Schnitt x400), B: Schwache Expression für E-Cadherin (Score: $2 \times 1 = 2$; IHC-Schnitt x200), C: Mäßige Expression für E-Cadherin ($2 \times 2 = 4$; IHC-Schnitt x200), D: Starke Expression von E-Cadherin ($3 \times 3 = 9$; IHC-Schnitt x400).

2.4 Statistische Auswertungen

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Statistikprogramm IBM SPSS Statistics 26. Die Untersuchungen auf Unterschiede wurden mit dem Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Unterschiede in Überlebenszeiten wurden mithilfe des Log-Rank-Tests und Kaplan-Meier-Schätzers dargestellt. Dabei wurde das Gesamtüberleben als Zeit zwischen Erstdiagnose und Versterben beziehungsweise letzter klinischer Nachuntersuchung definiert. Weiter wurde das Überleben auch anhand von Cox-Regressionsmodellen

unter Angleichen von klinischen Kovariablen auf Unterschiede getestet. Außerdem wurden Korrelationen mithilfe des Spearman-Rho untersucht. Alle statistischen Tests waren zweiseitig und eine statistische Signifikanz wurde bei P-Werten $<0,05$ angenommen.

2.5 Das Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv setzt sich aus einer Kohorte von Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom des Kopf-/Hals-Bereiches zusammen. Die Kohorte besteht aus ursprünglich 293 Patienten mit Tumoren der Mundhöhle, des Oropharynx, des Hypopharynx oder des Larynx, die am Universitätsklinikum Bonn zwischen 2011 und 2016 behandelt wurden. Dabei wurden Patienten mit lokalisierten oder lokal fortgeschrittenen Stadien in die Studie eingeschlossen. Alle Patienten wurden kurativ intendierend operiert mit optionaler adjuvanter Radiochemotherapie oder definitiver Radiochemotherapie. Die Studie wurde anonym durchgeführt und von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Bonn genehmigt (#148/11).

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkohorte

Im Studienteil CK7 haben wir 288 Patienten/Patientinnen untersucht. Das durchschnittliche Alter liegt bei 63,38 Jahren. Davon sind ca. 74% männlichen und 26% weiblichen Geschlechts. Fast die Hälfte der Fälle betreffen oropharyngeale Plattenepithelkarzinome (48%). Die oralen Plattenepithelkarzinome und laryngealen Plattenepithelkarzinome machen jeweils ungefähr ein Fünftel der Fälle aus (23% aus der Mundhöhle und 20% aus dem Larynx).

Die Fälle zeigen einen pT-Status (Tumorgroße) von beschränkter lokaler Invasion (pT1 und pT2 zusammen) in ca. 62% und einen fortgeschrittenen Invasionsstatus (pT3 und pT4 zusammen) in ca. 38%.

Gering über die Hälfte der Fälle (56%) sind nodal positiv und ca. 27% der Fälle sind p16-positiv. Ungefähr ein Drittel der Fälle (ca. 35%) zeigen eine geringe Differenzierung (G3), die meisten Fälle sind mäßig differenziert (G2) und wenige gut differenziert (G1 in 3%).

Im anderen Studienteil zu E-Cadherin wurden 164 Patienten/Patientinnen untersucht. Das durchschnittliche Alter liegt bei 64,31 Jahren. Ca. 83% davon sind männlichen und 17% weiblichen Geschlechts. Über die Hälfte der Fälle betreffen oropharyngeale Plattenepithelkarzinome (58%). Laryngeale Plattenepithelkarzinome machen ungefähr ein Viertel (28%) und Plattenepithelkarzinome der Mundhöhle und des Hypopharynx machen jeweils 7% aus.

Die Fälle zeigen einen pT-Status von beschränkter lokaler Invasion (pT1 und pT2 zusammen) in ca. 61% und einen fortgeschrittenen Invasionsstatus (pT3 und pT4 zusammen) in ca. 39%.

Über die Hälfte der Fälle (57%) sind nodal positiv (pN-Status von 1, 2 oder 3). Ca. 27% der Fälle sind p16-positiv.

Ca. 40% der Fälle zeigen eine geringe Differenzierung (G3) und die meisten Fälle sind mäßig differenziert (G2) und wenige Fälle gut differenziert (G1 in 2%).

Tabelle 2: Patientenkohorte

	CK7	E-Cadherin
Gesamtzahl	288	164
der Patienten		
Geschlecht		
Männlich	165 (73,7%)	83 (83,0%)
Weiblich	59 (26,3%)	17 (17,0%)
Unbekannt	64	64
Alter Mittelwert [SD]	63,38 [10,77]	64,31 [9,37]
Lokalisation		
Primarius		
Mundhöhle	51 (22,8%)	7 (7%)
Oropharynx	107 (47,8%)	58 (58%)
Hypopharynx	20 (8,9%)	7 (7%)
Larynx	46 (20,5%)	28 (28%)
Unbekannt	64	64
Rauchen		
Nicht-Raucher	17 (13,2%)	6 (13%)
Raucher	112 (86,8%)	40 (87%)
Unbekannt	159	118

	CK7	E-Cadherin
Alkohol		
Kein Alkohol	29 (24,2%)	3 (7,1%)
Gelegentlich	43 (35,8%)	26 (61,9%)
Alkoholiker	48 (40,0%)	13 (31,0%)
Unbekannt	168	122
HPV-Status/p16		
Positiv	41 (26,8%)	43 (27,3%)
Negativ	112 (73,2%)	114 (62,7%)
Unbekannt	135	7
pT-Stadium		
pTis	1 (0,5%)	1 (1%)
pT1	52 (23,5%)	22 (22,2%)
pT2	82 (37,1%)	37 (37,4%)
pT3	58 (26,2%)	27 (27,3%)
pT4	28 (12,7%)	12 (12,1%)
Unbekannt	67	65
pN-Stadium		
pN0	91 (43,8%)	40 (42,6%)
pN1	35 (16,8%)	14 (14,9%)

	CK7	E-Cadherin
pN2	79 (38,0%)	38 (40,4%)
pN3	3 (1,4%)	2 (2,1%)
Unbekannt	80	70
M-Stadium		
M0	189 (97,9%)	68 (98,6%)
M1	4 (1,4%)	1 (1,4%)
Unbekannt	95	95
Grading		
G1	6 (3,0%)	2 (2,1%)
G2	124 (62,3%)	55 (57,3%)
G3	69 (34,7%)	39 (40,6%)
Unbekannt	89	68

3.2 Ergebnisse von CK7

Insgesamt weisen 34 (11,8%) der untersuchten Patientenproben eine Expression von CK7 auf, wobei die meisten eine geringe Expression von CK7 zeigen (Abbildung 1B und 1C). CK7-positive Plattenepithelkarzinome waren signifikant häufiger p16-positiv (p-Wert 0,049).

Die CK7-Expression zeigte keinen signifikanten Zusammenhang mit dem pT-Status, pN-Status, der Graduierung, dem Tabak- und Alkoholkonsum sowie dem Alter (Tab. 3).

In Korrelationsanalysen (Spearman- Rho-Test, (Tab. 4) zeigt sich eine Korrelation zwischen CK7-Positivität und pT-Status (p=0,019), zwischen CK7-Positivität und

erhaltener Expression von E-Cadherin ($p=0,010$) sowie zwischen CK7-Positivität und p16-Status ($p=0,049$).

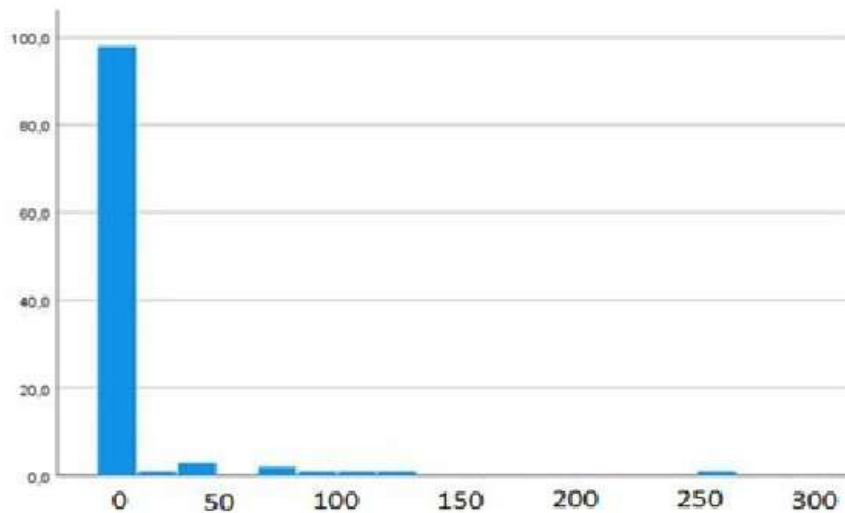


Abbildung 3: Die Ergebnisse von Ck7 beurteilt mittels H-Score, wobei die X-Achse den Werten von H-Score entspricht und die Y-Achse der Anzahl der Fälle entspricht. Die Einheit der Y-Achse ist Fall. Hier ist dargestellt, dass die Mehrheit der Fälle (hier ca.98) den Score 0 aufweisen (Links) und geringere Anzahl der Fälle Scores zwischen 0 und 50 sowie Scores zwischen 65 und 135 zeigen. Ein Fall zeigt einen Score von 250.

3.3 E-Cadherin

Die E-Cadherin-Scores zeigen geringer Variabilität der Häufigkeit (Abb. 4).

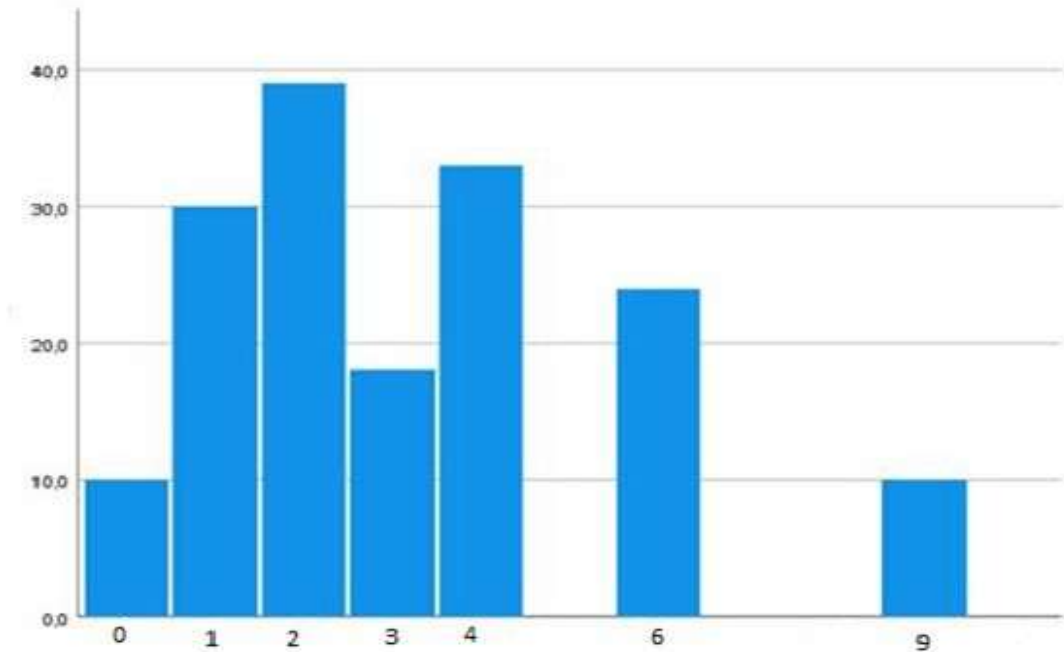


Abbildung 4: Die Ergebnisse von E-Cadherin mittels des beschriebenen Scores, wobei 10 Fälle den Score 0, 30 Fälle den Score 1 und 39 Fälle den Score 2 aufweisen

Insgesamt zeigen 40 Fälle (24,4%) eine schwache Expression von E-Cadherin (Tab. 3). Die E-Cadherin-Expression zeigt keinen statistisch signifikanten Zusammenhang mit dem pT-Status, p16-Status oder Nodalstatus, sowie Tabak-, Alkoholkonsum oder dem Alter bei der Erstdiagnose (Tab. 3) im Pearson-Chi-Quadrat-Test, sondern nur die oben genannte Korrelation mit der CK7-Positivität im Spearman-Rho-Test.

Tabelle 3: Expression von CK7 und E-Cadherin in Korrelation mit klinisch-pathologischen Daten

	CK7 negativ	CK7 positiv	p-Wert	E-Cadherin erhaltene Expression	E-Cadherin schwache Expression	p-Wert
Gesamtzahl	249 (86,5%)	34 (11,8%)		124 (75,6%)	40 (24,4%)	
Geschlecht						
Männlich	139 (48,2%)	26 (15,8%)	0,164	64 (77,1%)	19 (22,9%)	
Weiblich	54 (91,5%)	5 (8,5%)		12 (70,6%)	5 (29,4%)	0,566
Alter [Mittelwert]	63,2	61,90	0,427	65,05	61,96	0,176
Lokalisation						
Mundhöhle	47 (82,2%)	4 (7,8%)		4 (57,2%)	3 (42,8%)	0,613
Oropharynx	90 (84,1%)	17 (15,9%)	0,57	46 (79,3%)	12 (20,7%)	
Hypopharynx	20 (100%)	0 (0%)		5 (71,4%)	2 (28,6%)	
Larynx	36 (79,9%)	10 (21,7%)		21 (75%)	7 (25%)	
Rauchen						
Nicht-Raucher	15 (88,2%)	2 (11,8%)	0,780	6 (100%)	0 (0%)	0,228
Raucher	96 (85,7%)	16 (14,3%)		32 (80%)	8 (20%)	
Alkohol						
Kein Alkohol	27	2	0,375	3	0	0,691

	CK7 negativ	CK7 positiv	p-Wert	E-Cadherin erhaltene Expression	E-Cadherin schwache Expression	p-Wert
	(93,1%)	(6,9%)		(100%)	(0%)	
Gelegentlich	35 (81,4%)	8 (18,6%)		21 (80,8%)	5 (19,2%)	
Alkoholiker	41 (85,4%)	7 (14,6%)		11 (81,8%)	2 (18,2%)	
HPV Status/p16						
Positiv	32 (78%)	9 (22%)	0,049	34 (79,1%)	9 (20,9%)	0,486
Negativ	101 (90,2%)	11 (9,8%)		84 (73,7%)	30 (26,3%)	
Unbekannt						
pT-Stadium						
pTis	1 (100%)	0 (0%)	0,127	0 (0%)	1 (100%)	0,195
pT1	47 (90,4%)	5 (9,6%)		19 (86,4%)	3 (13,6%)	
pT2	75 (91,5%)	7 (8,5%)		28 (75%)	9 (25%)	
pT3	47 (91%)	11 (19%)		18 (66,7%)	9 (%33,3)	
pT4	21 (75%)	7 (25%)		10 (83,3%)	2 (16,7%)	
pTx						
pN-Stadium						
pN0	80 (87,9%)	11 (12,1%)		28 (68,4%)	12 (31,6%)	0,546

	CK7 negativ	CK7 positiv	p-Wert	E-Cadherin erhaltene Expression	E-Cadherin schwache Expression	p-Wert
pN1	32 (91,4%)	3 (8,6%)	0,477	10 (71,4%)	4 (28,6%)	
pN2	66 (83,5%)	13 (16,5%)		31 (81,6%)	7 (18,4%)	
pN3	2 (66,7%)	1 (33,3%)		1 (50%)	1 (50%)	
pNx						
M-Stadium						
M0	164 (86,8%)	25 (13,2%)	0,436	50 (73,5%)	18 (26,5%)	0,550
M1	4 (100%)	0 (0%)		1 (100%)	0 (0%)	
Grading						
G1	5 (83,3%)	1 (16,7%)	0,882	2 (100%)	0 (0%)	0,478
G2	110 (87,7%)	14 (11,3%)		44 (80%)	11 (20%)	
G3	60 (87%)	9 (13%)		28 (71,8%)	11 (28,2%)	

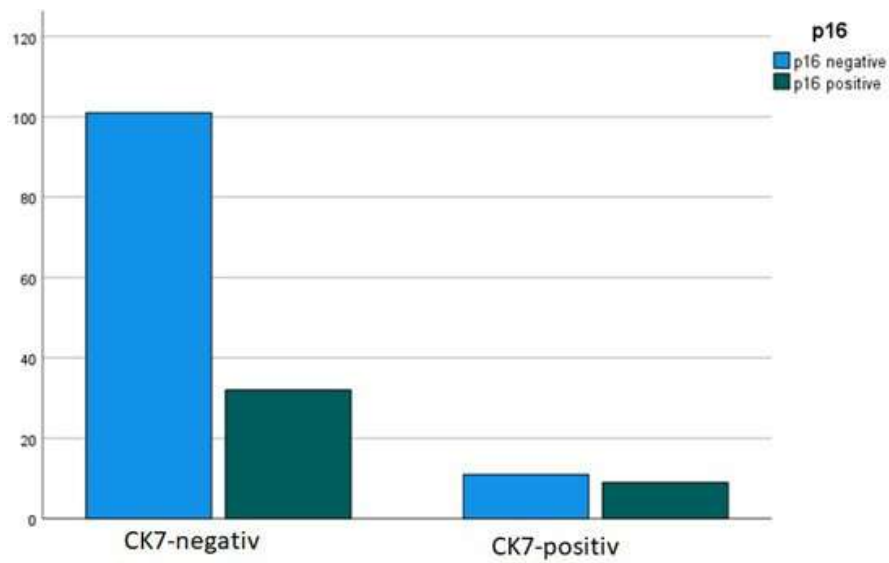


Abbildung 5: Darstellung des statistischen Zusammenhanges zwischen Ck7 und p16, sodass die p16-positiven Karzinome fast die Hälfte der Ck7-positiven Plattenepithelkarzinome (9 aus 20) formen (rechts) und nur ca. das Viertel der Ck7 negativen (32 aus 133) positiv sind (links).

Tabelle 4: Korrelationen von Ck7 und E-Cadherin miteinander und mit pT- und Nodalstatus nach Spearman-Rho:

		CK7 negativ/p ositiv	E-Cadherin negativ/po sitiv	P16	pT	Nodalstat us negativ/p ositiv
CK7	Korrelations- koeffizient	1,000	0,208*	0,159*	0,158*	0,035
	Sig. (2-Seitig)	.	0,010	0,049	0,019	0,611
	N	288	152	153	221	208
E- Cadherin	Korrelations- koeffizient	0,208*	1,000	0,056	-0,060	0,088
	Sig. (2-Seitig)	0,010	.	0,489	0,556	0,398
	N	152	164	157	99	94
P16	Korrelations- koeffizient	0,159*	0,056	1,000	0,014	0,191
	Sig. (2-Seitig)	,049	0,489	.	0,893	0,062
	N	153	157	162	101	96
pT	Korrelationsk oeffizient	0,158*	-0,060	0,014	1,000	0,323**
	Sig. (2-Seitig)	0,019	0,556	0,893	.	0,000
	N	221	99	101	623	597
Nodalsta tus	Korrelations- koeffizient	0,035	0,088	0,191	0,323**	1,000
	Sig. (2-Seitig)	0,611	0,398	0,062	0,000	.
	N	208	94	96	597	603

*. Die Korrelation ist auf dem 0,05-Niveau signifikant (zweiseitig).

**. Die Korrelation ist auf dem 0,01-Niveau signifikant (zweiseitig).

- Die Überlebensrate

Patienten mit einer Expression von CK7 in den Plattenepithelkarzinomen zeigten ein schlechteres Gesamtüberleben mit einem p-Wert von 0,031 im Log-Rank-Test (Abbildung 6).

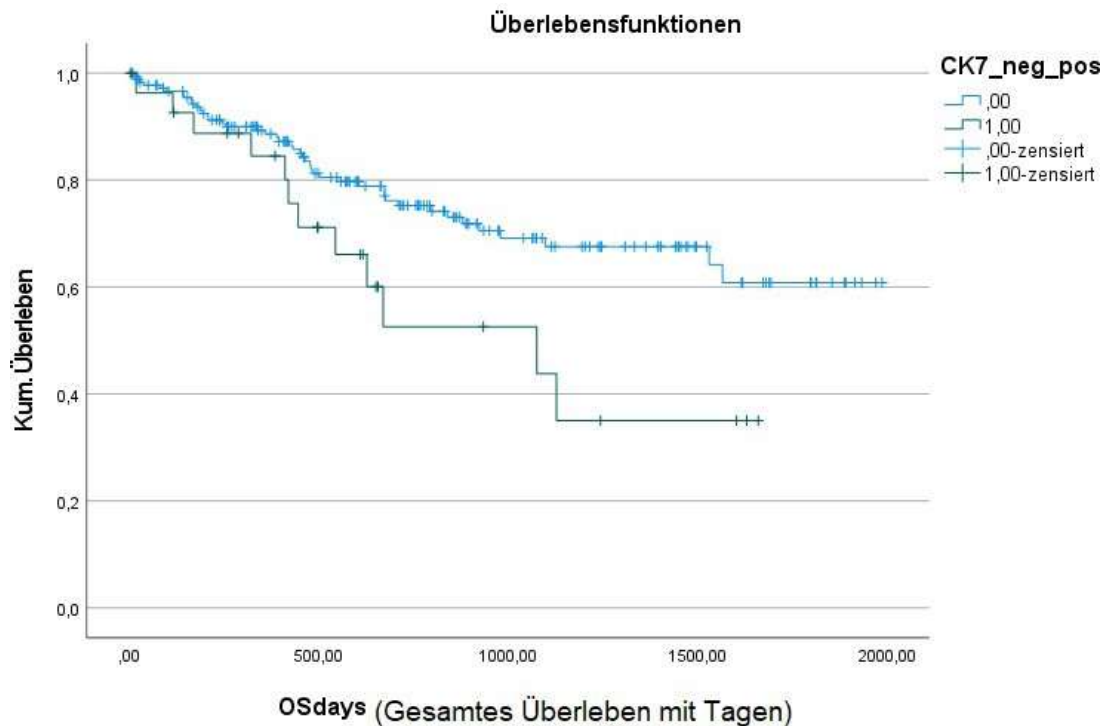


Abbildung 6: Kaplan-Meier-Kurven mit Log Rank Test. Hier ist es dargestellt, dass die Ck7 positiven Fälle (grüne Linie) eine geringere Überlebensrate als die Ck7 negativen Fälle (blaue Linie) zeigen. Log-Rank-test $p=,031$. Die X-Achse entspricht Zeit des Überlebens gemessen mit Tagen und die Y-Achse entspricht dem kumulativen Überleben (Überlebenswahrscheinlichkeit), wobei 1 (100%) oben ist und 0 (0%) unten ist.

Mit dem Log-Rank-Test (Mantel-Cox) zeigen die CK7-positiven Plattenepithelkarzinome des Kopf- und Hals-Bereiches einen statistisch relevanten Zusammenhang mit einem schlechterem Gesamtüberleben mit einem p-Wert von 0,031.

Es zeigt sich keine statistisch relevante Korrelation zwischen dem Verlust der E-Cadherin-Expression und der Überlebensrate (Abbildung 7).



Abbildung 7: Kaplan-Meier-Kurven mit Log Rank Test. Hier zeigt sich kein statistisch relevanter Unterschied zwischen E-Cadherin positiven (grüne Linie) und negativen (blaue Linie) Karzinome. Die X- und Y-Achsen wurden in CK7-Histogramm erklärt.

Mit dem Log-Rank-Test (Mantel-Cox) zeigen die E-Cadherin-positiven und -negativen Plattenepithelkarzinome des Kopf- und Hals-Bereiches keinen statistisch relevanten Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben mit einem p-Wert von 0,860.

4. Diskussion

4.1 Diskussion der CK7-Ergebnisse

In der untersuchten Patientenkohorte fanden sich Expression von CK7 in HNSCC in 13,9% (Tab. 3 und Abb. 3). Die Expression von CK7 in den HNSCC war mit einer p16-Expression assoziiert sowie mit einem schlechteren Gesamtüberleben.

Die positive Verbindung zwischen CK7-Positivität und p16-Positivität ist ähnlich wie in den Ergebnissen von (Woods et al., 2017), stellt sich jedoch eine Diskrepanz zu den Ergebnissen der Studie von (Mehrad et al., 2018) dar, bei der keine Verbindung zwischen CK7- und HPV-Status gezeigt wurde (Mehrad et al., 2018).

Die Verbindung zwischen HPV- und CK7-Positivität könnte beispielweise unter Berücksichtigung der Tatsache interpretiert werden, dass die meisten HPV-positiven Plattenepithelkarzinome eine basaloide Differenzierung aufweisen (Rahimi 2020). Diese basaloid differenzierten Plattenepithelkarzinome zeigen häufig eine Reaktivität für CK7 laut der Studie von Winters et al., 2008 (Winters et al., 2008). Diese beiden Studien (Winters et al., 2008 und Rahimi et al., 2020) zeigen Verbindungen zwischen dem HPV-Status, von basaloider Differenzierung und einer Positivität für CK7.

Diese Theorie unterstützt auch die Annahme einer verschlechterten Prognose und Überlebensrate von Patienten/Patientinnen mit CK7-positiven Plattenepithelkarzinomen, da die basaloiden Plattenepithelkarzinome eine schlechte Prognose aufweisen, wenn sie HPV-negativ sind (Pereira et al., 2007).

Weiterhin sind HPV-assoziierte Plattenepithelkarzinome der Cervix uteri auch zu vergleichen. Diese zeigen laut Shi, Shao et al., 2020, dass basaloid differenzierte Plattenepithelkarzinome der Cervix uteri eine höhere Expression von CK7 und Ber-EP4 zeigen (Shi et al., 2020). Auch die Studie Lee, Lee et al., 2017 zeigt, dass alle (100%) In-situ-Karzinome der Cervix uteri (CIN III) und ca. 67% der invasiven zervikalen Plattenepithelkarzinome eine CK7-Positivität aufweisen (Lee et al., 2017).

In dieser Studie machen die HPV-positiven Karzinome ca. ein Viertel (26%) der gesamten Karzinome aus. Im Vergleich zu Studien anderer Länder machen diese HPV-

assoziierten Tumoren einen kleineren Anteil der gesamten HNSCC aus. Zum Beispiel machen die HPV-positiven Karzinome laut der Studie (Schache et al 2016) die Hälfte der HNSCC im Vereinigten Königreich (Schache et al., 2016) und laut der Studie Chaturvedi ca. 71% der HNSCC in den USA aus (Chaturvedi et al., 2011). Laut einer europäischen Studie (Woods et al 2017) formen die HPV-positiven Plattenepithelkarzinome ca. 31% der gesamten HNSCC in der südländischen Bevölkerung (Woods et al., 2017).

Weiterhin wurde eine Korrelation zwischen CK7-Positivität und dem T-Status festgestellt. In den vorliegenden Ergebnissen weisen die CK7-positiven Plattenepithelkarzinome einen fortgeschritteneren pT-Status (größeren Tumoren) als die CK7-negativen auf. Diese Korrelation zwischen CK7-Positivität und der Tumorgroße konnte in anderen Studien nicht gezeigt werden.

Die Studie (Woods et al., 2017) zeigt eine Prädisposition für eine CK7-Positivität in den Tonsillenkrypten und auch in den tonsillären Plattenepithelkarzinomen. Allerdings ist darauf hinzuweisen, dass die Studie (Woods et al., 2017) auf oropharyngeale Karzinome beschränkt ist und unsere Studie alle Kopf- und Hals-Schleimhäute beteiligt. Ein weiterer Unterschied besteht darin, dass bei (Woods et al., 2017) die CK7-Positivität mit einem jüngeren Alter und auch mit einem geringeren Tabakkonsum verbunden ist, wobei unsere Studie keine Zusammenhänge mit dem Alter oder dem Tabakkonsum zeigt. Der Grund dafür könnte methodisch bedingt sein, da bei (Woods et al., 2017) der H-Score und die Menge des Tabakkonsums zugrunde gelegt werden, allerdings Unterteilungen in CK7-Positivität/CK7-Negativität und in Raucher/Nichtraucher (wie in unserer Studie) keine Berücksichtigung finden.

CK7-positive Plattenepithelkarzinome zeigen in unserer Studie ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben als Patienten/Patientinnen mit Plattenepithelkarzinomen ohne CK7-Expression.

Diese Ergebnisse unterscheiden sich zum Teil von vorherigen Studien: (Woods et al., 2017) und (Mehrad et al., 2018) konnten keine statistisch relevanten prognostischen Unterschiede zeigen, auch wenn bei (Woods et al., 2017) eine Korrelation mit der Lokalisation (was im Gegensatz zu dieser Studie steht) zu bemerken ist. Diese

Unterschiede sind auf die Studienmethoden zurückzuführen, Diese Unterschiede sind auf die Studiendesign zurückzuführen. Außerdem ist die Lokalisation in unserer Studie in Oropharynx, Larynx und Hypopharynx sowie Mundhöhle unterteilt, während bei (Wood et al., 2017) eine Unterteilung in Sublokalisationen erfolgt (z.B. Tonsillen, Zungengrund, Stimmbänder und Stimmfalten).

Eine andere Studie (Shahabinejad et al., 2021) zeigt jedoch ähnliche Ergebnisse. Hier wurde eine Verbindung zwischen CK7-Positivität in den oralen Tumoren und einem fortgeschrittenen Stadium des Tumors (TNM-Stadium) und weiterhin auch zwischen CK7 und geringer histologischer Differenzierung (G1 zeigt keine CK7-Positivität und G3 zeigt vermehrte CK7-Positivität) (Shahabinejad et al., 2021) gezeigt. In dieser Studie fanden sich ähnliche Ergebnisse für CK20 wie für CK7. Diese Studie war aber auf die Mundhöhlenschleimhaut begrenzt. Andere Lokalisationen der HNSCC (Pharynx, Larynx usw.) wurden nicht beteiligt.

Studien zu Plattenepithelkarzinomen in anderen Organen zeigen ähnliche Ergebnisse: Laut Johansson et al., zeigt ein Anteil der bronchialen Plattenepithelkarzinome eine partielle Reaktivität für CK7 (Johansson 2004). 33% der Plattenepithelkarzinome der Lunge waren in dieser Studie CK7-positiv.

In der Haut zeigen einige primäre kutane Plattenepithelkarzinome eine fokale oder partielle Reaktivität für CK7 (Pulitzer et al., 2010). Diese CK7-Positivität ist laut Pulitzer et al., 2010 betont in gering differenzierten Plattenepithelkarzinomen nachzuweisen. Auch Plattenepithelkarzinome des Oesophagus sind immunhistochemisch im Hinblick auf die Reaktivität für CK7 untersucht. Die Studie Xu et al., 2018 zeigt eine Positivität für CK7 in 10% der ösophagealen Plattenepithelkarzinome und zeigt auch, dass CK7 ein unabhängiger Prognosefaktor ist, da CK7-positive Karzinome eine schlechtere Prognose und geringere Überlebensrate aufweisen (Xu et al., 2018).

Plattenepithelkarzinome und auch andere Karzinome unterschiedlicher Organe wurden in der Studie Chu et al., 2000 mit CK7 und auch CK20 untersucht. Hier zeigen die Plattenepithelkarzinome des Kopf- und Hals-Bereiches eine Positivität für CK7 in ca. 27% der Fälle (deutlich mehr als in unserer hiesigen Studie) und 21% der ösophagealen

Plattenepithelkarzinome (Chu et al., 2000). In den Kolonkarzinomen ist CK7 laut dieser Studie (Chu et al., 2000) in 5% der Fälle positiv, eine Korrelation mit der Prognose fand nicht statt.

Mit dem Nodalstatus (Lymphknotenmetastasen) zeigt die CK7-Positivität in der hiesigen Studie keine Korrelation. Die Verbindung zwischen CK7-Positivität mit der Tumorgroße, (jedoch ohne Korrelation von CK7-Positivität und dem Nodalstatus) kann darauf hindeuten, dass die CK7-Positivität in den Plattenepithelkarzinomen eine Auswirkung auf die lokale Invasionintensität hat, jedoch nicht eine lymphonodale Metastasierung bewirken kann. In einer Studie von (Mehrad et al., 2018) konnte ebenfalls kein Zusammenhang zwischen CK7-Expression und dem Nodalstatus beobachtet werden. Auch die Unterteilung nach Geschlecht und Alkoholkonsum der Probanden zeigt wie die Studie (Woods et al., 2017) keine statistische Relevanz.

4.2 Diskussion der E-Cadherin-Ergebnisse

Nach unserem Score zeigen 40 Fälle eine verminderte Expression von E-Cadherin (Score 0-1) in 164 untersuchten Fällen (ca. 25%, Tab. 3). Des Weiteren konnten wir keine statistisch relevanten Zusammenhänge weder im Hinblick auf die Überlebensrate noch auf weitere Prognosefaktoren zeigen.

Ähnlich zu unseren Ergebnissen konnten Pereira et al., keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Expression von E-Cadherin und der Überlebensrate oder einem der weiteren prognostischen Faktoren zeigen. Diese Studie war allerdings auf die Invasionsfront der Tumoren konzentriert und auf die oralen Plattenepithelkarzinome beschränkt (Pereira et al., 2016). Es wurde jedoch bemerkt, dass die Expression von E-Cadherin eine Delokalisation aufweist, sodass die klassischen Plattenepithelkarzinome und weniger die basaloiden Plattenepithelkarzinome E-Cadherin im Zytoplasma und nicht in der Zellmembran exprimieren.

Auch die Studie Goyal et al konnte keine signifikanten Zusammenhänge zwischen E-Cadherin-Verlust und klinisch-pathologischen Prognosefaktoren herstellen (Goyal et al., 2021).

Im Vergleich zeigen einige andere Studien statistisch relevante Zusammenhänge. Zum Beispiel hat die Studie (Wu et al., 2000) mehrere Plattenepithelkarzinome aus unterschiedlichen Organen mit E-Cadherin untersucht. Hier wurde eine erhaltene

Expression von E-Cadherin in benignen Plattenepithelzellen und auch in gut differenzierten Plattenepithelkarzinomen nachgewiesen. Die gering differenzierten Plattenepithelkarzinome zeigen in dieser Studie einen Verlust oder eine Verminderung der Expression für E-Cadherin (Wu et al., 2000). Es wurde davon ausgegangen, dass die Expression von E-Cadherin dem Differenzierungsprozess der Plattenepithelien entsprechen kann.

In dieser Studie sehen wir keinen signifikanten Zusammenhang zwischen E-Cadherin-Expression und Tumorgrading. Dies könnte daran liegen, dass es kein universell akzeptiertes Graduierungssystem für Plattenepithelkarzinome gibt und sich in bislang publizierten Kohorten keine prognostische Signifikanz zeigt (Dik et al), bzw. diese eine hohe Interobserver-Variabilität aufweisen (Naumann et al., 2009). Außerdem wurden in dieser Studie deutlich weniger Patienten untersucht.

Eriksen et al., konnten für Plattenepithelkarzinome des Kopf-/Hals-Bereichs einen signifikanten Zusammenhang zwischen Expressionsverlust von E-Cadherin und positivem Nodalstatus (Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen) zeigen. Zusätzlich konnte hier festgestellt werden, dass die Expression von E-Cadherin mit einer gesteigerten Verhornung (vermehrtes extra- und intrazelluläres Keratin) einhergeht (Eriksen et al., 2004). Anders als in unserer Studie, welche TMAs genutzt hat, wurden in der Studie von Eriksen et al., die konventionellen Paraffinblöcke (FFPE) für die immunhistochemischen Färbungen genutzt, sodass eine breitere Tumoorfläche zur Verfügung stand und zentrale und periphere Anteile separat untersucht werden konnten. Hierbei konnte festgestellt werden, dass die Expression von E-Cadherin in den randlichen (peripheren) Anteilen verloren ging, im Gegensatz zu unterschiedlich starker Expression in zentralen Anteilen des Tumors. Diese Methode kann aufgrund der beschränkten Gewebemenge in den TMAs in unserer Studie daher nicht zur Anwendung kommen.

Eine weitere Studie hat sich ebenfalls auf periphere Tumoranteile bei Plattenepithelkarzinomen konzentriert. Diese peripheren Anteile wurden in der Studie von Costa et al., 2015 als Invasionsfront bezeichnet. Die Tumorzellen in diesen Bereichen zeigen ebenfalls eine Verminderung bzw. einen Verlust der Expression von E-Cadherin im Gegensatz zu zentralen und oberflächlichen Tumoranteilen. Zusätzlich

exprimieren die hochinvasiven Tumoren E-Cadherin geringer als die niedrig invasiven Tumoren (Costa et al., 2015).

Eine Studie zu Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhlenschleimhaut unter Verwendung von TMAs wurde von Hakim et al., durchgeführt. Hier zeigen sich statistisch relevante Korrelationen, wonach ein Verlust der E-Cadherin-Expression mit einer verminderten Überlebensrate einhergeht. Auch die Rezidiv-freien Intervalle sind bei Expressionsverlust von E-Cadherin kürzer als bei E-Cadherin-exprimierenden Tumoren (Hakim et al., 2023). Der methodische Unterschied zwischen Hakim et al., 2023 und unserer Studie besteht darin, dass die TMAs bei Hakim et al spezifisch aus der Invasionsfront stammen, während in der hiesigen Studie TMAs mit Gewebe aus unterschiedlichen Bereichen der Tumoren untersucht wurden. Eine Untersuchung, getrennt nach Tumorgewebe aus der Invasionsfront und zentralen Tumoranteilen, konnte daher nicht stattfinden.

Im Vergleich zu anderen Tumoren zeigt die Studie Karube et al., eine invertierte Korrelation (negative Verbindung) zwischen der Expression von E-Cadherin in den Lebermetastasen mehrerer Karzinome und der Tumorgröße, sodass die Tumoren mit einem Verlust der Expression von E-Cadherin ein höheres T-Stadium (größere Lebermetastasen) aufweisen (Karube et al., 2002).

Ein Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse könnte in der Verwendung unterschiedlicher Antikörperklone begründet liegen. Eine Studie von Schlepper et al., beschäftigt sich mit der Auswirkung unterschiedlicher Klone von E-Cadherin: Schepper et al., konnten eine hohe internationale Variabilität zwischen den Instituten in der Diagnose des invasiv-lobulären Mammakarzinoms zeigen. Als Grund gaben Schepper und seine Kollegen die unterschiedlichen Färbungsprotokolle (einschließlich der verwendeten unterschiedlichen Klone) und die hieraus resultierenden unterschiedlichen Interpretationen an (Schepper et al., 2022).

Zu diskutieren ist hier die Relevanz eines Erhalts der Expression von E-Cadherin für die Metastasierung und die Invasivität, wie zum Beispiel in invasiv-duktalem Mamakarzinomen [46]. Dabei könnte hier sowohl die Tumorfläche der TMAs (wie bei CK7) als auch der zugrunde gelegte Score berücksichtigt werden. Die statistische Korrelation zwischen E-Cadherin und CK7 kann die Theorie stützen,

dass E-Cadherin bei einigen Tumoren eine erhöhte Invasivität bewirkt wie im beschriebenen Beispiel der invasiv-duktaalen Mammakarzinome.

Die Theorie, dass Expression von CK7 in den häufig CK7-negativen Tumoren ein EMT-Marker darstellt, kann nur durch die Korrelation zwischen CK7-Positivität und fortgeschrittenem pT-Status und nicht durch die Korrelation mit E-Cadherin gestützt werden, auch wenn E-Cadherin von mehreren Studien als EMT-Marker definiert wurde. Der Grund dafür kann darin liegen, dass der EMT-Prozess, wie bewiesen, von einem Expressionsverlust von E-Cadherin begleitet wird. In der hiesigen Studie ist die CK7-Positivität mit einer erhaltenen Expression von E-Cadherin verbunden und nicht mit einem Verlust der Expression von E-Cadherin.

Im Vergleich zu den Studien zu Mammakarzinomen, die zeigen konnten, dass die EMT nicht in jedem Fall notwendig für die Metastasierung der Karzinome ist (Cheung et al., 2011), spielt die EMT in den Plattenepithelkarzinomen im Allgemeinen und insbesondere in Plattenepithelkarzinomen des Kopf- und Hals-Bereiches keine Rolle in Bezug auf Tumorausbreitung oder Metastasierung. Ein partieller EMT-Prozess kann jedoch in Plattenepithelkarzinomen vorkommen, wie einige Studien gezeigt haben (Kisoda et al., 2020). Hier zeigen nur die peripheren Tumoranteile (Invasionsfront) eine morphologisch nachweisbare EMT (Ingruber et al., 2022 und Puram et al., 2019).

Beispielerweise ist die CK7-Positivität bei Plattenepithelkarzinomen der Cervix uteri im Zusammenhang mit dem Ansprechen auf die konkomitante Radiochemotherapie untersucht. Die Studie (Lambaudie et al., 2014) zeigt, dass die CK7-negativen zervikalen Plattenepithelkarzinome häufiger Residuen nach der Radiochemotherapie aufweisen, sodass die CK7-Positivität einen prognostischen Hinweis gibt im Hinblick auf ein zu erwartendes Therapieansprechen.

Im Gegensatz zu unserer Studie zeigt die Studie (Hashiguchi et al., 2019), dass die verminderte CK7-Positivität in den Plattenepithelkarzinomen der Cervix uteri mit einer schlechteren Prognose verbunden ist.

Insgesamt sprechen die Ergebnisse nach der Diskussion dafür, dass CK7 bei HNSCC als Prognosefaktor fungieren kann, aufgrund des Zusammenhanges mit einer niedrigeren Überlebensrate und einem positiven p16-Status sowie wegen der

Korrelation mit dem pT-Status. Als EMT-Marker kann CK7 nicht fungieren, da eine CK7-Positivität auch auf eine basaloide Differenzierung zurückgeführt werden kann und auch CK7 in dieser Studie mit erhaltener (und nicht EMT-klassisch verlorener) Expression von E-Cadherin einhergeht.

4.3 Ausblick

Diese Studie zeigt eine schlechtere Prognose der CK7-positiven Plattenepithelkarzinome des Kopf- und Hals-Bereiches. Für zukünftige Studien kann auf immunhistochemische Untersuchungen breiterer Tumorflächen hingewiesen werden. Bei der Untersuchung von TMAs sollte sichergestellt sein, dass diese zahlreiche Tumorzylinder mit Konzentration auf die Invasionsfront enthalten.

Diese Studie zeigt CK7 als prognostischen Marker unabhängig von der Therapie. Weitere Studien sollten ebenso die Rolle von CK7 in Plattenepithelkarzinomen im Hinblick auf Therapieauswahl/Therapieansprechen in den Fokus nehmen.

Darüber hinaus sollten sich weitere Studien zu E-Cadherin auf die Invasionsfront konzentrieren bzw. das Gewebe aus Tumorzentrum und Invasionsfront separat untersuchen. Da der EMT-Prozess partiell stattfinden kann, kann bei der Untersuchung von nur wenigen Tumorzellverbänden fälschlicherweise ein gesamthafter Verlust von E-Cadherin angenommen werden. Daher sollte bei zukünftigen Studien eine breitere Tumorfläche als bei TMAs für die Untersuchungen zur Verfügung stehen, um einen partiellen bzw. mikroskopischen Verlust von E-Cadherin nachweisen zu können (als Alternative zu Scores für die gesamten Tumorzellen). Mit der Untersuchung von Zellen aus Tumormetastasen (z.B. aus Lymphknotenmetastasen) könnte ein Fokus auf die metastasierungsfähigen Tumoranteile bzw. auf den hier stattfindenden EMT-Prozess gelegt werden.

Als weitere Marker zum Vergleich, um die EMT besser zu verstehen, können Vimentin und die anderen Cadherine (N-Cadherin und P-Cadherin) zur Anwendung kommen.

5. Zusammenfassung

Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereichs gehören weltweit zu den häufigsten malignen Tumoren dieser Region und sind durch hohe Rezidivraten und eine oft ungünstige Prognose gekennzeichnet. In dieser Arbeit wurde die Expression von Ck7 und E-Cadherin immunhistochemisch in TMAs untersucht, um mögliche Zusammenhänge mit tumorbiologischen Eigenschaften, Prognosefaktoren und Hinweisen auf eine epithelial-mesenchymale Transition (EMT) zu analysieren. Die Studie belegt CK7 als Prognosefaktor bei Plattenepithelkarzinomen des Kopf- und Hals-Bereiches. Eine CK7-Expression zeigt einen Zusammenhang mit niedriger Überlebensrate und mit einem positiven HPV-Status sowie eine Korrelation mit einer erhaltenen Expression von E-Cadherin und der Tumorgroße (T-Status).

Die Expression von E-Cadherin war in dieser Studie kein prognostischer Marker und zeigte keinen signifikanten Zusammenhang mit der Überlebensrate, der Tumorgroße, dem Nodalstatus oder mit dem HPV-Status. Zwar zeigt die Expression von CK7 in der hiesigen Studie eine Korrelation mit einem höheren Tumorstadium, doch da sich keine Korrelation mit dem Grading fand und überdies positiv mit dem klassischen anti-EMT-Marker E-Cadherin korreliert ist, gehen wir davon aus, dass die Expression von CK7 sich nicht als EMT-Marker in HNSCC eignet.

Für zukünftige Studien wird eine Analyse breiterer Tumorfläche mit Fokus auf Invasionsfront zu empfehlen. Die Untersuchung mit weiteren Markern, wie Vimentin und N-Cadherin, kann auch neue Erkenntnisse liefern.

6. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: CK7-Expressionstypen: A: CK7 in den Ausführungsgängen der Speicheldrüsen (IHC-Schnitt x200), B: Fokale Reaktivität für CK7 in einem einzelnen kleinen Tumorzellverband (ICH-Schnitt x400), C: In mehreren Tumorzellen schwache und in einer Tumorzelle stark, D: Ein Tumor mit starker und diffuser Reaktivität für CK7 (IHC-Schnitt x200).....	15
Abbildung 2: Expressionstypen von E-Cadherin: A: in normalem Plattenepithel (IHC-Schnitt x400), B: Schwache Expression für E-Cadherin (Score: 2x1=2; IHC-Schnitt x200), C: Mäßige Expression für E-Cadherin (2x2=4; IHC-Schnitt x200), D: Starke Expression von E-Cadherin (3x3=9; ICH-Schnitt x400).....	17
Abbildung 3: H-Score-Verteilung bei Untersuchung von CK7	23
Abbildung 4: E-Cadherin-Score-Verteilung	24
Abbildung 5: Zusammenhang zwischen CK7 und p16.....	28
Abbildung 6: Gesamtüberleben in Korrelation mit CK7. log rank-test p=,031	30
Abbildung 7: Überlebensrate in Korrelation mit E-Cadherin.....	31

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Angaben zu den verwendeten Antikörpern und den Färbeprotokollen	14
Tabelle 2: Patientenkohorte.....	20
Tabelle 3: Expression von CK7 und E-Cadherin in Korrelation mit klinischpathologischen Daten.....	25
Tabelle 4: Korrelationen von Ck7 und E-Cadherin miteinander und mit pT- und Nodalstatus nach Searman-Rho.....	29

8. Literaturverzeichnis

- Almangush A, Mäkitie AA, Triantafyllou A, Bree R de, Strojan P, Rinaldo A, Hernandez-Prera JC, Suárez C, Kowalski LP, Ferlito A, Leivo I. Staging and grading of oral squamous cell carcinoma: An update. *Oral Oncology* 2020; 107: 104799
- An Y, Zhou J, Lin G, Wu H, Cong L, Li Y, Qiu X, Shi W. Clinicopathological and Molecular Characteristics of Colorectal Signet Ring Cell Carcinoma: A Review. *Pathol Oncol Res* 2021; 27: 1609859
- Arévalo F, Monge E, Morales D. E-cadherina: expresión molecular en carcinomas de estómago de tipo difuso y tipo intestinal. Estudio realizado en Lima, Perú. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 325–329
- Berx G, Cleton-Jansen AM, Nollet F, Leeuw WJ de, van de Vijver M, Cornelisse C, van Roy F. E-cadherin is a tumour/invasion suppressor gene mutated in human lobular breast cancers. *EMBO J* 1995; 14:6107–6115
- Bessonnard S, Mesnard D, Constam DB. PC7 and the related proteases Furin and Pace4 regulate E-cadherin function during blastocyst formation. *J Cell Biol* 2015; 210:1185–1197
- Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, Austin DF, Greenberg RS, Preston-Martin S, Bernstein L, Schoenberg JB, Stemhagen A, Fraumeni JF. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res* 1988; 48: 3282–3287
- Brierley JD. *TNM Classification of Malignant Tumours*. Chicester, John Wiley & Sons, Incorporated, 2017
- Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM, Hernandez BY, Xiao W, Kim E, Jiang B, Goodman MT, Sibug-Saber M, Cozen W, Liu L, Lynch CF, Wentzensen N, Jordan RC, Altekruze S, Anderson WF, Rosenberg PS, Gillison ML. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *J Clin Oncol* 2011;29: 4294–4301
- Cheung KJ, Gabrielson E, Werb Z, Ewald AJ. Collective invasion in breast cancer requires a conserved basal epithelial program. *Cell*. 2013;155(7):1639–1652. 10.1016/j.cell.2013.11.029

Chu P, Wu E, Weiss LM. Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: a survey of 435 cases. *Mod Pathol* 2000; 13:962–972.

Costa, Liana Cristina Melo Carneiro; Leite, Camila Ferreira; Cardoso, Sérgio Vitorino; Loyola, Adriano Mota; Faria, Paulo Rogério de; Souza, Paulo Eduardo Alencar; Horta, Martinho Campolina Rebello (2015): Expression of epithelial-mesenchymal transition markers at the invasive front of oral squamous cell carcinoma. In: *Journal of applied oral science: revista FOB* 23 (2), S. 169–178

Cruz IB, Snijders PJ, Steenbergen RD, Meijer CJ, Snow GB, Walboomers JM, van der Waal I. Age-dependence of human papillomavirus DNA presence in oral squamous cell carcinomas. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1996; 32B: 55–62

Dhull AK, Atri R, Dhankhar R, Chauhan AK, Kaushal V. Major Risk Factors in Head and Neck Cancer: A Retrospective Analysis of 12-Year Experiences. *World J Oncol* 2018; 9: 80–84

Dik EA, Ipenburg NA, Kessler PA, van Es RJJ, Willems SM. The value of histological grading of biopsy and resection specimens in early-stage oral squamous cell carcinomas. *J Craniomaxillofac Surg* 2018; 46: 1001–1006

Eriksen, J. G.; Steiniche, T.; Søgaaard, H.; Overgaard, J. (2004): Expression of integrins and E-cadherin in squamous cell carcinomas of the head and neck. In *APMIS* 112 (9), S. 560–568

Fakhry C, Krapcho M, Eisele DW, D'Souza G. Head and neck squamous cell cancers in the United States are rare and the risk now is higher among white individuals compared with black individuals. *Cancer* 2018; 124: 2125–2133

Fei F, Li C, Cao Y, Liu K, Du J, Gu Y, Wang X, Li Y, Zhang S. CK7 expression associates with the location, differentiation, lymph node metastasis, and the Dukes' stage of primary colorectal cancers. *J Cancer* 2019; 10: 2510–2519

Fierro-González JC, White MD, Silva JC, Plachta N. Cadherin-dependent filopodia control preimplantation embryo compaction. *Nat Cell Biol* 2013; 15:1424–1433

Goyal, Neelakshi; Singh, Meeta; Sagar, Nishant; Khurana, Nita; Singh, Ishwar (2021): Association of E-cadherin & vimentin expression with clinicopathological parameters in

lingual squamous cell carcinomas & their role in incomplete epithelial mesenchymal transition. In: The Indian journal of medical research 153 (4), S. 484–491

Gupta GP, Massagué J. Cancer metastasis: building a framework. Cell 2006; 127 :679–695

Hakim, Samer George; Taubitz, Clara; Hoppe, Steffen; Steller, Daniel; Rades, Dirk; Ribbat-Idel, Julika et al., (2023): Prognostic impact of the loss of E-cadherin and de novo expression of N-cadherin at the invasive front of primary and recurrent oral squamous cell carcinoma. In: Front Oncol. (2023); 13, S. 1151879

Hashiguchi, Mariko; Masuda, Masanori; Kai, Keita; Nakao, Yoshifumi; Kawaguchi, Atsushi; Yokoyama, Masatoshi; Aishima, Shinichi (2019): Decreased cytokeratin 7 expression correlates with the progression of cervical squamous cell carcinoma and poor patient outcomes. In: J Obstet Gynaecol. Res. 2019; 45 (11), S. 2228–2236

Ingruber J, Dudas J, Sprung S, Lungu B, Mungenast F. Interplay between Partial EMT and Cisplatin Resistance as the Drivers for Recurrence in HNSCC. Biomedicines. 2022;10(10): 2482

Jeanes A, Gottardi CJ, Yap AS. Cadherins and cancer: how does cadherin dysfunction promote tumor progression? Oncogene 2008; 27: 6920–6929

Ji AL, Rubin AJ, Thrane K, Jiang S, Reynolds DL, Meyers RM, Guo MG, George BM, Mollbrink A, Bergenstråhle J, Larsson L, Bai Y, Zhu B, Bhaduri A, Meyers JM, Rovira-Clavé X, Hollmig ST, Aasi SZ, Nolan GP, Lundeberg J, Khavari PA. Multimodal Analysis of Composition and Spatial Architecture in Human Squamous Cell Carcinoma. Cell 2020; 182: 497-514.e22

Johansson L. Histopathologic classification of lung cancer: Relevance of cytokeratin and TTF-1 immunophenotyping. Ann Diagn Pathol 2004; 8: 259–267

Johnson DE, Burtneß B, Leemans CR, Lui VWY, Bauman JE, Grandis JR. Head and neck squamous cell carcinoma. Nat Rev Dis Primers 2020; 6: 92

Joshi P, Dutta S, Chaturvedi P, Nair S. Head and neck cancers in developing countries. Rambam Maimonides Med J 2014; 5: e0009

Karabajakian A, Toussaint P, Neidhardt E-M, Paulus V, Saintigny P, Fayette J. Chemotherapy for localized head and neck squamous cell cancers. *Anticancer Drugs* 2017; 28: 362–368

Karube H, Masuda H, Ishii Y, Takayama T. E-cadherin expression is inversely proportional to tumor size in experimental liver metastases. *J Surg Res.* 2002;106(1):173–178

Klymkowsky, M. W., & Savagner, P. (2009). Epithelial-mesenchymal transition: A cancer researcher's conceptual friend and foe. *The American Journal of Pathology*, 174(5), 1588–1593b

Kisoda S, Shao W, Fujiwara N, Mouri Y, Tsunematsu T, Jin S, et al. Prognostic value of partial EMT-related genes in head and neck squamous cell carcinoma by a bioinformatic analysis. *Oral Dis.* 2020;26(6):1149–1156.10.1111/odi.13351

Lambaudie E, Chereau E, Pouget N, Thomassin J, Minsat M, Charafe-Jauffret E, et al. Cytokeratin 7 as a predictive factor for response to concomitant radiochemotherapy for locally advanced cervical cancer: a preliminary study. *Anticancer Res.* 2014;34(1):177–181

Larue L, Ohsugi M, Hirchenhain J, Kemler R. E-cadherin null mutant embryos fail to form a trophectoderm epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 8263–8267

Lee H, Lee H, Cho YK. Cytokeratin7 and cytokeratin19 expression in high grade cervical intraepithelial neoplasm and squamous cell carcinoma and their possible association in cervical carcinogenesis. *Diagn Pathol* 2017; 12:18

Lee Y-G, Kang EJ, Keam B, Choi JH, Kim J-S, Park KU, Lee KE, Kwon JH, Lee K-W, Kim MK, Ahn HK, Shin SH, Kim HR, Kim S-B, Yun HJ. Treatment strategy and outcomes in locally advanced head and neck squamous cell carcinoma: a nationwide retrospective cohort study (KCSG HN13-01). *BMC Cancer* 2020; 20 :813

Li Q, Tie Y, Alu A, Ma X, Shi H. Targeted therapy for head and neck cancer: signaling pathway and clinical studies. *Sig Transduct Target Ther* 2023; 8: 31

Mehrad M, Dupont WD, Plummer WD, Lewis JS. Expression and Significance of Cytokeratin 7, a Squamocolumnar Junction Marker, in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Head Neck Pathol* 2018; 12: 448–454

Merzoug-Larabi M, Spasojevic C, Eymard M, Hugonin C, Auclair C, Karam M. Protein kinase C inhibitor Gö6976 but not Gö6983 induces the reversion of E- to N-cadherin switch and metastatic phenotype in melanoma: identification of the role of protein kinase D1. *BMC Cancer* 2017; 17:12

Mostov KE, Newgreen DF, Nieto MA, Puisieux A, Runyan R, Savagner P, Stanger B, Stemmler MP, Takahashi Y, Takeichi M, Theveneau E, Thiery JP, Thompson EW, Weinberg RA, Williams ED, Xing J, Zhou BP, Sheng G. Guidelines and definitions for research on epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020; 21: 341–352

Naumann, Carsten M.; Alkatout, Ibrahim; Hamann, Moritz F.; Al-Najar, Amr; Hegele, Axel; Korda, Joanna B. et al., (2009): Interobserver variation in grading and staging of squamous cell carcinoma of the penis in relation to the clinical outcome. In: *BJU int.* 103 (12), S. 1660–1665

Oka H, Shiozaki H, Kobayashi K, Inoue M, Tahara H, Kobayashi T, Takatsuka Y, Matsuyoshi N, Hirano S, Takeichi M. Expression of E-cadherin cell adhesion molecules in human breast cancer tissues and its relationship to metastasis. *Cancer Res* 1993; 53:1696–1701

Olson A, Le V, Aldahl J, Yu E-J, Hooker E, He Y, Lee D-H, Kim WK, Cardiff RD, Geradts J, Sun Z. The comprehensive role of E-cadherin in maintaining prostatic epithelial integrity during oncogenic transformation and tumor progression. *PLoS Genet* 2019; 15 e100845

Padmanaban V, Krol I, Suhail Y, Szczerba BM, Aceto N, Bader JS, Ewald AJ. E-cadherin is required for metastasis in multiple models of breast cancer. *Nature* 2019; 573:439–444

Pećina-Slaus N. Tumor suppressor gene E-cadherin and its role in normal and malignant cells. *Cancer Cell Int* 2003;3 :17

Peindl M, Göttlich C, Crouch S, Hoff N, Lüttgens T, Schmitt F, Pereira JGN, May C, Schliermann A, Kronenthaler C, Cheufou D, Reu-Hofer S, Rosenwald A, Weigl E, Walles

T, Schöler J, Dandekar T, Nietzer S, Dandekar G. EMT, Stemness, and Drug Resistance in Biological Context: A 3D Tumor Tissue/In Silico Platform for Analysis of Combinatorial Treatment in NSCLC with Aggressive KRAS-Biomarker Signatures. *Cancers (Basel)* 2022;14

Peifer M, Polakis P. Wnt signaling in oncogenesis and embryogenesis--a look outside the nucleus. *Science* 2000; 287:1606–1609

Pereira, Carlos Henrique; Morais, Marília Oliveira; Martins, Allisson Filipe Lopes; Soares, Mariana Quirino Silveira; Alencar, Rita de Cássia Gonçalves; Batista, Aline Carvalho et al., (2016): Expression of adhesion proteins (E-cadherin and β -catenin) and cell proliferation (Ki-67) at the invasive tumor front in conventional oral squamous cell and basaloid squamous cell carcinomas. In: *Archives of oral biology* 61, S. 8–15

Pereira MC, Oliveira DT, Landman G, Kowalski LP. Histologic subtypes of oral squamous cell carcinoma: prognostic relevance. *J Can Dent Assoc* 2007; 73: 339–344

Pulitzer M, Desman G, Busam KJ. CK7 expression in primary cutaneous squamous cell carcinoma. *J Cutan Pathol* 2010; 37: 966–972

Puram SV, Tirosh I, Parikh AS, et al. Partial EMT in head and neck cancer biology: A spectrum instead of a switch. *Oncogene*. 2019;38(28):5643–5650.10.1038/s41388-019-0849-2

Rahimi S. HPV-related squamous cell carcinoma of oropharynx: a review. *J Clin Pathol* 2020; 73: 624–629

Ramaekers F, Huysmans A, Schaart G, Moesker O, Vooijs P. Tissue distribution of keratin 7 as monitored by a monoclonal antibody. *Exp Cell Res* 1987; 170: 235–249

Ren Z-H, Lei J-S, Yang Z-M, Zhang S, Yu J-J, Wu H-J. Postoperative radiotherapy may not be necessary for locally advanced head and neck squamous cell carcinoma: a case-match multicentre study. *BMC Oral Health* 2022; 22: 253

Rekhtman MP, Baine MPK, Bishop MA. Quick reference handbook for surgical pathologists. Cham, Switzerland, Springer, 2019

Riethmacher D, Brinkmann V, Birchmeier C. A targeted mutation in the mouse E-cadherin gene results in defective preimplantation development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 855–859

Robert Koch-Institut. Epidemiologie von Krebserkrankungen – Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016. Berlin: Robert Koch-Institut; 2016

Rosenberg M, Fuchs E, Le Beau MM, Eddy RL, Shows TB. Three epidermal and one simple epithelial type II keratin genes map to human chromosome 12. *Cytogenet Cell Genet* 1991; 57: 33–38

Sawaf MH, Ouhayoun JP, Shabana AH, Forest N. Les cytokératines, marqueurs de la différenciation des cellules épithéliales: expression dans les épithéliums sains. *Pathol Biol (Paris)* 1992; 40: 655–665

Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS, Robinson M, Leary S, Mehanna H, Rapozo D, Long A, Cubie H, Junor E, Monaghan H, Harrington KJ, Nutting CM, Schick U, Lau AS, Upile N, Sheard J, Brougham K, West CML, Oguejiofor K, Thomas S, Ness AR, Pring M, Thomas GJ, King EV, McCance DJ, James JA, Moran M, Sloan P, Shaw RJ, Evans M, Jones TM. HPV-Related Oropharynx Cancer in the United Kingdom: An Evolution in the Understanding of Disease Etiology. *Cancer Res* 2016; 76: 6598–6606

Schepper, Maxim de; Vincent-Salomon, Anne; Christgen, Matthias; van Baelen, Karen; Richard, François; Tsuda, Hitoshi et al., (2022): Results of a worldwide survey on the currently used histopathological diagnostic criteria for invasive lobular breast cancer. In: *Modern Pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.*, Jg. 35, H. 12 (2022), S. 1812–1820

Schipper JH, Frixen UH, Behrens J, Unger A, Jahnke K, Birchmeier W. E-cadherin expression in squamous cell carcinomas of head and neck: inverse correlation with tumor dedifferentiation and lymph node metastasis. *Cancer Res* 1999; 59: 6328–6337

Shahabinejad M, Zare R, Mohajertehran F, Amouzad Mahdiraji A. Cytokeratins (CK7 and CK20) Genes Expression Association with Clinicopathological Indices in Oral Squamous Cell Carcinoma and Dysplastic Oral Epithelium. *Rep Biochem Mol Biol* 2021; 10: 126–134

Shi H, Shao Y, Liu Q, Wang S, Lu W, Lu B. A clinicopathological and molecular analysis of cervical carcinomas with basaloid features. *Histopathology* 2020; 76: 283–295

Shibata H, Saito S, Uppaluri R. Immunotherapy for Head and Neck Cancer: A Paradigm Shift From Induction Chemotherapy to Neoadjuvant Immunotherapy. *Front Oncol* 2021; 11: 727433

Tarin D, Thompson EW, Newgreen DF. The fallacy of epithelial mesenchymal transition in neoplasia. *Cancer Res* 2005; 65: 5996-6000; Diskussion 6000-6001

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

Umbas R, Isaacs WB, Bringuier PP, Schaafsma HE, Karthaus HF, Oosterhof GO, Debruyne FM, Schalken JA. Decreased E-cadherin expression is associated with poor prognosis in patients with prostate cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 3929–3933

Usman S, Waseem NH, Nguyen TKN, Mohsin S, Jamal A, Teh M-T, Waseem A. Vimentin Is at the Heart of Epithelial Mesenchymal Transition (EMT) Mediated Metastasis. *Cancers (Basel)* 2021;13

Vigneswaran N, Williams MD. Epidemiologic trends in head and neck cancer and aids in diagnosis. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2014; 26: 123–141

Whittle MC, Hingorani SR. Disconnect between EMT and metastasis in pancreas cancer. *Oncotarget* 2015; 6:30445–30446

Winters R, Naud S, Evans MF, Trotman W, Kasznica P, Elhosseiny A. Ber-EP4, CK1, CK7 and CK14 are useful markers for basaloid squamous carcinoma: a study of 45 cases. *Head Neck Pathol* 2008; 2: 265–271.

Wong SHM, Fang CM, Chuah L-H, Leong CO, Ngai SC. E-cadherin: Its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications. *Crit Rev Oncol Hematol* 2018; 121: 11–22

Woods RSR, Keegan H, White C, Tewari P, Toner M, Kennedy S, O'Regan EM, Martin CM, Timon CVI, O'Leary JJ. Cytokeratin 7 in Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma: A Junctional Biomarker for Human Papillomavirus-Related Tumors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2017; 26: 702–710

Woods RSR, Callanan D, Jawad H, Molony P, Werner R, Heffron C, Feeley L, Sheahan P. Cytokeratin 7 and 19 expression in oropharyngeal and oral squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2022; 279: 1435–1443.

Wu, H.; Lotan, R.; Menter, D.; Lippman, S. M.; Xu, X. C. (2000): Expression of E-cadherin is associated with squamous differentiation in squamous cell carcinomas. In: *Anticancer Res.* 2000;20(3A):1385–1390

Xu Y, Wang W, Li L, Liu J, Wu X, Yu J, Wang H, Cui W, Zhang R. FOXA1 and CK7 expression in esophageal squamous cell carcinoma and its prognostic significance. *Neoplasma* 2018; 65: 469–476

Yang J, Antin P, Berx G, Blanpain C, Brabletz T, Bronner M, et al. Guidelines and definitions for research on epithelial–mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020;21(6):341–352. doi:10.1038/s41580-020-0237-9

Yu SS, Cirillo N. The molecular markers of cancer stem cells in head and neck tumors. *J Cell Physiol* 2020; 235: 65–73

Zhang F, Xu B, Peng Y, Mao Z. Clinicopathologic and prognostic factors of patients with T3/T4 colorectal signet ring cell carcinoma: a population-based study. *J Cancer Res Clin Oncol* 2023; 149:9747–9756

9. Erklärung zum Eigenanteil

Diese Arbeit wurde im Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Bonn unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. med Glen Kristiansen durchgeführt. Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit der Zweitbetreuerin Frau Dr. med Christine Sanders. Die immunhistochemischen Färbungen wurden im Immunlabor des Institutes und die Auswertung wurde eigenständig von mir durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig nach Beratung durch die Zweitbetreuerin. Das zur Auswertung verwendete Datenmaterial wurde von mir eigenständig generiert und zusammengestellt.

Ich versichere, die Dissertationsschrift selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben. du möchtest, kann ich dir den Text direkt in ein Word-Dokument formatieren – sag einfach Bescheid! Und gib mir ggf.

10. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen Dank den folgenden Personen entgegenbringen, ohne deren Mithilfe die Anfertigung dieser Promotionsschrift niemals zustande gekommen wäre:

Mein vorrangiger Dank gilt zunächst meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Glen Kristiansen für die Überlassung des Promotionsthemas, für die Betreuung dieser Arbeit und die stets sehr gute und freundliche Zusammenarbeit.

Meiner Zweitbetreuerin Frau Dr. med. Christine Sanders danke ich vom Herzen für die Unterstützung, Ratschläge und die produktiven Ideen.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des E-Labors, des Sekretariates und der Abteilung für Immunhistochemie des Institutes für Pathologie der Universitätsklinik Bonn danke ich für ihre große Hilfe und ebenso Frau Mechthilde Krebsbach, Herrn Dr. Dietmar Hoffmann und Frau Cornelia Becker, für die allgemeine und große Unterstützung.

Des Weiteren möchte ich mich herzlich bei meiner Schwester Lina Aboudan bedanken, die mich mit ihrer großen technischen Erfahrung sehr unterstützt hat.

Außerordentlich bedanke ich mich bei meinen Eltern Radwan Aboudan und Iman Kudsi sowie meinem Bruder Firas Aboudan für die uneingeschränkte Unterstützung bei meiner Niederlassung in Deutschland. Ebenso bedanke ich mich für die vielfältige Unterstützung meines Cousins Sami Kudsi.

Schlussendlich gilt ein großes Dankeschön meiner Ehefrau Nour Moukayed für Ihre Geduld und Ihre Bereitschaft, die familiären Belange während des Verfassens der Dissertation alleine zu tragen. Sie hat mich in jedem Moment motiviert und in den jeweiligen Arbeitsphasen wirkungsvoll unterstützt.