

Aus der I. Medizinische Klinik und Poliklinik
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Das Magenkarzinom – Die prognostische Bedeutung der Expression von CD44 und
CXCR4 hinsichtlich ihres Einflusses auf Malignität, Therapie und Überleben

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Cara Johanna Thiel
aus Homburg

Mainz, 2024

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Hansjörg Schild

Tag der Promotion: 29.01.2025

für
meine Familie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	VI
1. Einleitung	1
2. Literaturdiskussion	3
2.1. Epidemiologie	3
2.2. Ätiologie und Pathogenese	6
2.2.1. <i>Helicobacter pylori</i>	6
2.2.2. Genetische Prädisposition	6
2.2.3. Weitere Risikofaktoren.....	7
2.2.4. Vorsorge und Screening	7
2.2.5. Prävention.....	8
2.3. Lokalisation und Metastasierung	8
2.4. Klassifikation und Grading	9
2.4.1. WHO Klassifikation	9
2.4.2. Laurén-Klassifikation	9
2.4.3. TNM Klassifikation	9
2.4.4. Grading	10
2.4.5. Siewert Klassifikation.....	10
2.4.6. TCGA Klassifikation.....	10
2.5. Diagnostik und Staging	11
2.6. Therapie	13
2.6.1. Endoskopische Resektion	13
2.6.2. Operative Resektion	13
2.6.3. Perioperative und neoadjuvante Therapie.....	15
2.6.4. Adjuvante Therapie.....	17
2.6.5. Zielgerichtete Therapie	17
2.6.6. Immuntherapie.....	18

2.6.7.	Palliative Therapie	19
2.7.	Tumorstroma.....	20
2.8.	CD44.....	21
2.9.	CXCR4.....	24
3.	Patienten, Material und Methoden.....	26
3.1.	Patientenkollektiv und Datenerhebung.....	26
3.2.	Material.....	27
3.3.	Methoden	29
3.3.1.	Immunhistochemie im Allgemeinen	29
3.3.2.	Immunhistochemische Färbungen CD44 und CXCR4	30
3.3.3.	Auswertung der immunhistochemischen Färbungen.....	32
3.3.4.	Statistische Auswertung	35
4.	Ergebnisse.....	36
4.1.	Allgemeine deskriptive Statistik des Gesamtkollektivs	36
4.2.	Geschlechtsanalyse des Kollektivs.....	41
4.3.	Auswertung der immunhistochemischen Färbungen	43
4.4.	Deskriptive Statistik der Färbeergebnisse.....	49
4.5.	Zusammenhänge zwischen den erhobenen Patientendaten und den Färbeergebnissen.....	52
4.5.1.	CD44.....	52
4.5.2.	CXCR4.....	56
4.5.2.1.	Zusammenhänge zwischen der CXCR4 und den Patientendaten.....	56
4.5.	Überlebenszeitanalysen	61
4.6.1.	Überlebenszeitanalysen des Gesamtkollektivs	61
4.6.2.	Überlebenszeitanalysen der Färbeergebnisse	64
4.6.4.	Multivariate Überlebenszeitanalyse	70
5.	Diskussion.....	71
5.1.	Das Studienkollektiv im Vergleich zur Literatur	71
5.1.1.	Geschlecht und Altersverteilung	71
5.1.2.	Tumorlokalisation.....	72
5.1.3.	Histopathologische Einflussfaktoren.....	73

5.1.4.	Perioperative Chemotherapie	75
5.1.5.	Prognose	77
5.2.	CD44 als molekularer Prognosefaktor	79
5.3.	CXCR4 als molekularer Prognosefaktor	86
5.4.	Zusammenhänge zwischen CD44 und CXCR4	90
5.5.	Limitationen.....	91
6.	Zusammenfassung	92
7.	Literaturverzeichnis	VII
8.	Anhang.....	VII
8.1.	TNM Klassifikation und Stadieneinteilung des Magenkarzinoms.....	VII
Danksagung.....		VIII
Lebenslauf		Fehler! Textmarke nicht definiert.

Abkürzungsverzeichnis

5JÜ	5-Jahres-Überlebensrate
AEG	Adenokarzinom des gastroösophagealen Übergangs
AIO	Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie
BMI	Body Mass Index
BRCA2	Breast Cancer 2
CA	Carbohydrate-Antigen
CD44	Cluster of Differentiation 44
CDH1	Cadherin 1
CEA	Carcinoembryonales Antigen
CIN	Chromosomale Instabilität
COX-2	Cyclooxygenase 2
CSCs	Cancer Stem Cells
CT	Computer Tomographie
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4
DAB	Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid
EBV	Epstein-Barr-Virus
ECF	Epirubicin, Cisplatin, 5-Fluoruracil
ECX	Epirubicin, Cisplatin, Capecitabine
EMR	endoskopische Mukosaresektion
ESD	endoskopische Submukosadisektion

Abkürzungsverzeichnis

et al.	et alii (und andere)
EZM	extrazelluläre Matrix
FAP	familiäre adenomatöse Polyposis
FLO/FOLFOX	Folinsäure, 5-Fluoruracil, Oxaliplatin
FLOT	Docetaxel, Oxaliplatin und Fluoruracil/Leucovorin
G T	umor-Grading
GERD	Gastroesophageal reflux disease
GS	genomisch stabil
HA	Hyaluronsäure
HDGC	Hereditary diffuse gastric cancer
HER2/neu	human epidermal growth factor receptor 2
HNPCC	Hereditäres non-polypöses kolorektales Karzinom
HR	Hazard Ratio
IHC	Immunhistochemie
LAD	Lymphadenektomie
MAGIC	Medical Research Council Adjuvant Gastric Infusional Chemotherapy
MIF	Macropage Migration Inhibitory Factors
min	Minute
MMPs	Metalloproteinasen
Mo.	Monate
MSC	mesenchymale Stromazelle
MSI	Mikrosatelliten Instabilität

Abkürzungsverzeichnis

n.s.	nicht signifikant
NCDB	National Cancer Database
ÖGD	Ösophagogastroduodenoskopie
OPN	Osteopontin
PD-L1	Programmed Cell Death Liganden 1
PJS	Peutz-Jeghers Syndrom
PLF	Cisplatin, Leucovorin, 5-Fluoruracil
präop.	präoperativ
R	Vorhandensein eines Residualtumors
SAP	Systeme, Anwendungen und Produkte der Datenverarbeitung
SDF-1α	stromal cell-derived factor-1
SOX	Tegafur, Gimeracil, Oteracil und Oxaliplatin
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
TCGA	The Cancer Genome Atlas
TNM	Tumor Node Metastasis
cTNM	klinisches TNM-Stadium
pTNM	histopathologisches TNM-Stadium
uTNM	sonografisches TNM-Stadium
ToGA	Trastuzumab for gastric cancer
TS	Tumorstroma
UICC	Union for International Cancer Control
ÜLZ	Überlebenszeit
WHO	World Health Organization
XELOX	Capecitabin, Oxaliplatin

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose und 5JÜ der Patienten in Abhängigkeit von dem Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose in den USA in den Jahren 2011 bis 2017	4
Abbildung 2: Häufigkeitsverteilung des Magenkarzinoms in der Welt.....	5
Abbildung 3: Anatomie des Magens.....	8
Abbildung 4: Schematische Darstellung der Subtypen des gastroösophagealen Karzinoms	10
Abbildung 5: Entfernte Lymphknoten bei der D1 Lymphadenektomie (a) und zusätzlich entfernte Lymphknoten bei der D2 Lymphadenektomie (b).....	14
Abbildung 6: Genomstruktur von CD44 und seiner Isoformen.....	21
Abbildung 7: CD44 Protein Struktur	22
Abbildung 8: Dreidimensionale Struktur des Chemokinrezeptors CXCR4 und seiner Liganden CXCL12 und MIF.....	24
Abbildung 9: Direkte und indirekte Immunhistochemie	30
Abbildung 10: Berechnung des CD44-Membranfärbungsscores.....	34
Abbildung 11: Lokalisationen des Karzinoms.....	37
Abbildung 12: Therapiealgorithmus des Patientenkollektivs.....	40
Abbildung 13: Altersverteilung (in Jahren) des Gesamtkollektivs bei Erstdiagnose aufgeteilt nach dem Geschlecht	41
Abbildung 14: Geschlechterverteilung in Abhängigkeit von Alter bei Erstdiagnose (links) und Lokalisation des Karzinoms (rechts).....	42
Abbildung 15: starke, positive Membranfärbung (links) und negativer Tumor (rechts).....	43
Abbildung 16 (A-D): Ausschnitte leichter CD44 Färbeintensitäten	44
Abbildung 17 (A-B): Ausschnitte leichter CXCR4 Färbeintensitäten	44
Abbildung 18 (A-D): Ausschnitte moderater CD44 Färbeintensitäten.....	45
Abbildung 19 (A-B): Ausschnitte moderater CXCR4 Färbeintensitäten.....	45
Abbildung 20 (A-D): Ausschnitte starker CD44 Färbeintensitäten.....	46
Abbildung 21 (A-B): Ausschnitte starker CXCR4 Färbeintensitäten	46
Abbildung 22: Heterogenität der Färbungseigenschaften der einzelnen Zellen innerhalb eines Karzinoms.....	47
Abbildung 23: Tumorstromafärbungen.....	48
Abbildung 24: Anteile der CD44 in der Zellmembran (links) und im Tumorstroma (rechts) exprimierender Zellen am Gesamtkollektiv	50

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 25: Anteile der CXCR4 exprimierender Zellen in der Zellmembran (links) und im Tumorstroma (rechts) am Gesamtkollektiv	51
Abbildung 26: Verteilung der Tumoren auf die Lokalisation bzw. auf das Vorliegen von LK Metastasen in Abhängigkeit ihrer CD44 Expression.....	55
Abbildung 27: Gesamtüberleben des Kollektivs ab dem Zeitpunkt der Operation bis zum letzten Kontakt	61
Abbildung 28: Überlebenszeiten in Abhängigkeit von dem Geschlecht.....	63
Abbildung 29: Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Tumoreindringtiefe (A), der Lymphknotenmetastasierung (B), der Fernmetastasierung (C) und der Lokalisation des Karzinoms (D)	64
Abbildung 30: Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der CD44 Membranfärbeintensität...	64
Abbildung 31: Überleben in Abhängigkeit von Lymphknotenmetastasierung und CD44 Membranfärbung ($p < 0,001$)	66
Abbildung 32: Überleben in Abhängigkeit von dem Therapieprotokolls und der CD44 Membranexpression.....	68

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Werte des CD44-Membranfärbungsscores und ihre Bedeutung.....	34
Tabelle 2: allgemeine Patientencharakteristika	36
Tabelle 3: Histopathologische Tumorcharakteristika.....	39
Tabelle 4: Zusammenhang zwischen dem Alter und dem Geschlecht ($p=0,028$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeiten in %)).....	41
Tabelle 5: Zusammenhang zwischen einer Lymphknotenbeteiligung und dem Geschlecht ($p=0,005$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeiten in %)).....	41
Tabelle 6: Zusammenhang zwischen der Tumorlokalisation und dem Geschlecht ($p<0,001$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeiten in %)).....	42
Tabelle 7: Zusammenhang zwischen der Laurén-Klassifikation und dem Geschlecht ($p=0,097$).....	42
Tabelle 8: Deskriptive Statistik der CD44 Färbeergebnisse.....	49
Tabelle 9: Deskriptive Statistik der CXCR4 Färbeergebnisse.....	50
Tabelle 10: Auflistung der 11 CXCR4 membranpositiven Patienten und Auszügen ihrer untersuchten Patienten- und Tumorcharakteristika	51
Tabelle 11: Zusammenhang zwischen dem Nikotinkonsum ($p=0,025$), der Adipositas ($p=0,018$) und der Besiedlung mit <i>Helicobacter pylori</i> ($p=0,044$) mit der CD44 Expression im Tumorstroma. (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeiten in %))....	53
Tabelle 12: Zusammenhänge zwischen Tumorcharakteristika und membranständiger CD44 Färbung, p-Werte nach exaktem Fisher-Test	54
Tabelle 13: Zusammenhang zwischen einer Lymphknotenbeteiligung und dem CD44-Score (Membranfärbung, $p=0,031$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))	54
Tabelle 14: Zusammenhang zwischen der Tumorlokalisation und dem CD44-Score (Membranfärbung, $p=0,054$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))	54
Tabelle 15: Zusammenhang zwischen der Laurén-Klassifikation und der CD44 Tumorstromafärbung ($p=0,036$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %)) ..	55
Tabelle 16: Zusammenhang zwischen der Laurén-Klassifikation und der CXCR4 Tumorstromafärbung ($p=0,002$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %)) ..	55
Tabelle 17: Zusammenhang zwischen einer neoadjuvante Therapie und dem CD44 Score (Membranfärbung, $p=0,077$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))	56
Tabelle 18: Zusammenhang zwischen dem Geschlecht ($p=0,043$) und dem Vorliegen eines erhöhten Blutdrucks ($p<0,001$) mit der CXCR4 Expression im Tumorstroma (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %)).....	57

Tabellenverzeichnis

Tabelle 19: Zusammenhänge der Tumorcharakteristika mit membranständiger CXCR4 Färbung, Werte nach exaktem Fisher-Test	p- 57
Tabelle 20: Zusammenhang zwischen dem Differenzierungsgrad des Tumors und der Expression von CXCR4 im Tumorstroma ($p < 0,001$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %)).....	58
Tabelle 21: Zusammenhang zwischen der Tumorlokalisation und der Expression von CXCR4 im Tumorstroma ($p = 0,09$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))	58
Tabelle 22: Zusammenhang zwischen dem CD44 Membranfärbungsscore und der CXCR4 Membranfärbung ($p = 0,014$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))	59
Tabelle 23: Zusammenhang zwischen der CD44 Tumorstromafärbung und der CXCR4 Tumorstromafärbung ($p < 0,001$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %)) ..	59
Tabelle 24: Zusammenhang zwischen dem CD44 Membranfärbungsscore und der CD44 Tumorstromafärbung ($p = 0,281$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %)) ..	60
Tabelle 25: Zusammenhang zwischen der CXCR4 Membranfärbung und der CXCR4 Tumorstromafärbung ($p = 0,4$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))	60
Tabelle 26: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit von Patienten-, Tumor-, und Therapiecharakteristika (. bedeutet, dass die mediane ÜLZ nicht erreicht wurde).....	62
Tabelle 27: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit von der CD44 Membranfärbeintensität	64
Tabelle 28: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit der Färbeergebnisse	65
Tabelle 29: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit von der Kombination aus Lymphknotenmetastasierung und CD44 Membranfärbung ($p < 0,001$).....	66
Tabelle 30: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit von der Kombination aus Lymphknotenmetastasierung und CD44 Tumorstromafärbung ($p < 0,001$).....	67
Tabelle 31: Ergebnisse des Log- Rank Tests der Lokalisation und der Färbeergebnisse	67
Tabelle 32: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit der Lokalisation des Karzinoms und der Färbeergebnisse	68
Tabelle 33: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit des Therapieprotokolls und der CD44 Membranexpression ($p = 0,022$).....	69
Tabelle 34: Ergebnisse der Cox-Regression in Bezug auf das Gesamtüberleben	70
Tabelle 35: TNM Klassifikation maligner Tumoren der UICC.....	VII
Tabelle 36: UICC Stadieneinteilung	VII

1. Einleitung

Das Magenkarzinom bleibt auf globaler Ebene mit über einer Million Neuerkrankungen im Jahr 2020 eine der häufigsten Krebserkrankungen (5). Mit schätzungsweise 769 000 Todesfällen im Jahr, was in etwa jedem 13. Todesfall weltweit entspricht, gilt diese Erkrankung als vierthäufigste Krebs-assoziierte Todesursache (5, 6). Trotz rückläufiger Inzidenzen, aufgrund verbesserter Lebensmittelkonservierungsmethoden, *Helicobacter-pylori*-Eradikationen, verbesserter Diagnostik und neuer Therapieansätze, bleibt die Prognose ungünstig und die Überlebenszeit meist auf einige Monate begrenzt (7, 8). Dies ist überwiegend auf das lange asymptomatische Wachstum des Karzinoms zurückzuführen, wodurch die Diagnose oft erst in einem weit fortgeschrittenen Stadium gestellt werden kann. Infolgedessen wurde das beste Zeitfenster für die Behandlung in vielen Fällen bereits überschritten (9).

Aufgrund der oft infausten Prognose wurde der Fokus der Forschung der letzten Jahre auf die Ausarbeitung neuer Therapiestrategien gelegt. Hierbei konnten bereits mit dem monoklonalen Antikörper Trastuzumab Behandlungserfolge verzeichnet werden. Dieser richtet sich gegen den humanen epidermalen Wachstumsfaktor HER2/neu und konnte in mehreren Studien mit einem Anstieg der Überlebenszeit bei Magenkarzinompatienten in Verbindung gebracht werden (10, 11).

Auch CD44 und CXCR4 sind in diesem Kontext Gegenstand der Forschung, da ihre Überexpression in mehreren Studien auf Magenkarzinomzellen nachgewiesen werden konnte (12, 13). Ziel ist die Markierung von Krebszellen, um sie so vom umgebenden gesunden Gewebe abgrenzen zu können. Hierfür soll die Identifizierung von Krebszellmarkern dienen. Die Idee ist, über das zielgerichtete Angreifen der Marker die Krebszellen spezifisch ausschalten zu können.

Darüber hinaus kommt dem Verständnis der Beteiligung von CD44 und CXCR4 an molekularen Pathogenese-, Resistenzentwicklungs- und Metastasierungsmechanismen eine besondere Bedeutung zu. So scheint der Stammzellmarker CD44 Einfluss auf die Karzinogenese und Steuerung zellulärer Kommunikation und Motilität auszuüben. Zusätzlich führt die Interaktion mit seinem Hauptliganden Hyaluronsäure und weiteren Bestandteilen der Extrazellulären Matrix zu einer Steigerung von Invasivität, Metastasierung, vermehrter Zellproliferation und Entwicklung von Zytostatikaresistenzen (14-16).

Einleitung

Zu den Hauptaufgaben des Chemokinrezeptors CXCR4 zählt die Steuerung von Adhäsions- und Migrationsprozessen durch das Zusammenspiel mit seinem Liganden CXCL12. Mittlerweile konnte in mehreren Studien eine Beteiligung der CXCR4/CXCL12-Achse an Metastasierungsprozessen und der Überlebenssicherung mehrerer solider Tumoren belegt werden (17, 18).

Die zugrundeliegenden Mechanismen sind jedoch noch nicht vollständig geklärt und die Rolle der Rezeptoren in der Pathogenese des Magenkarzinoms bleibt widersprüchlich. Auch Ergebnisse der Literatur bezüglich des Einflusses der Rezeptoren auf die Malignität und die Resistenzentwicklung der Magenkarzinome und das Überleben der erkrankten Patienten sind kontrovers (12, 19). Daher wird die Bedeutung von CD44 und CXCR4 im vorliegenden Kollektiv untersucht.

Zudem fand in den letzten Jahren ein Umdenken in der Krebsforschung statt. Anstatt nur die Krebszellen für die Erkrankungsprogression verantwortlich zu machen, ist die Beteiligung des Tumorstromas in das Zentrum der Aufmerksamkeit gerückt. Dieses Gewebe, das die Krebszellen umgibt, setzt sich aus einem zellulären und einem nicht zellulären Anteil zusammen und hat wichtige Aufgaben der Überlebenssicherung und des Schutzes der Krebszellen vor dem Immunsystem inne. Die Regulierung des Tumormikromilieus ist ein komplexer Prozess, der noch nicht vollständig verstanden ist. Wie in einigen Studien gezeigt werden konnte, scheinen der Stammzellmarker CD44 und die CXCR4/CXCL12-Achse an diesen Prozessen in diversen Tumorerkrankungen beteiligt zu sein (20, 21). Die Datenlage zum Vorkommen der Rezeptoren im Mikromilieu von Magenkarzinomen ist jedoch eher unzureichend. Infolgedessen soll in der folgenden Untersuchung ebenfalls die Rolle der Expression der beiden Oberflächenproteine im Tumorstroma untersucht und diskutiert werden.

In dieser Arbeit wird das Expressionsmuster von CD44 und CXCR4 in resezierten Magenkarzinomen und gastroösophagealen Übergangskarzinomen unter Verwendung der Immunhistochemie analysiert. Das untersuchte Kollektiv setzt sich aus Patienten zusammen, die in den Jahren 2003 bis 2015 eine operative Therapie des Magenkarzinoms an der Universitätsmedizin Mainz erhielten. Hierbei liegt der Schwerpunkt auf der Identifizierung prognosebestimmender Einflussfaktoren, die im Zusammenhang mit der CD44 und CXCR4 Rezeptorexpression stehen und zum Ansetzen zielgerichteter Therapien dienen könnten.

2. Literaturdiskussion

2.1. Epidemiologie

Im Jahr 2020 stellte das Magenkarzinom mit über 1 Million neu diagnostizierter Fälle pro Jahr die weltweit fünfthäufigste Krebsentität dar und umfasst somit 5,6 % aller diagnostizierten Krebserkrankungen in der Welt. Obwohl sich die Inzidenzen im Verlauf der letzten 50 Jahre rückläufig zeigten, starben im Jahr 2020 etwa 769 000 Menschen aufgrund eines Magenkarzinoms, womit dieses die Stelle der vierthäufigsten Krebs-assoziierten Todesursache einnimmt (5, 6).

Dabei sind die Inzidenzen bei Männern im Durchschnitt doppelt so hoch wie bei Frauen (5). Im Altersvergleich zeigen sich niedrige Inzidenzen bei Menschen unter 50 Jahren. Mit steigendem Alter nehmen auch die Inzidenzen zu. Die meisten Magenkarzinome werden im Alter zwischen 55 und 80 Jahre diagnostiziert (6), wobei das mittlere Erkrankungsalter bei 74 Jahren liegt (22, 23).

Trotz Verbesserung und Ausbau der Therapie in den letzten Jahren zeichnet sich die Erkrankung am Magenkarzinom durch geringe Überlebensraten aus. Die EUROCORE-5 Studie verzeichnete in Europa im Zeitraum von 1999 bis 2007 eine durchschnittliche 5-Jahres-Überlebensrate (5JÜ) beim Magenkarzinom von 25 % (8). In den letzten Jahren war ein leichter Anstieg der 5JÜ zu beobachten, welcher sich in einer 2017/18 in Deutschland gemessenen 5JÜ bei Frauen von 37 % und bei Männern von 34 % widerspiegelt (7) (**Abb. 1**).

Die Prognose ist dabei immer stark abhängig vom Stadium bei der Diagnose, weswegen der Früherkennung eine herausragende Bedeutung zugeschrieben wird. Auch in den, vom Robert Koch-Institut veröffentlichten, Krebsregisterdaten ist ein Abfall der Überlebenszeit mit fortgeschrittenem Erkrankungsstadium zu beobachten. So wiesen Männer beim Vorliegen eines UICC-Stadiums von I eine 5JÜ von 81 % auf, wohingegen diese sich bei einem Stadium von III lediglich auf 27 % und bei einem Stadium von IV auf 4 % belief (7).

Literaturdiskussion

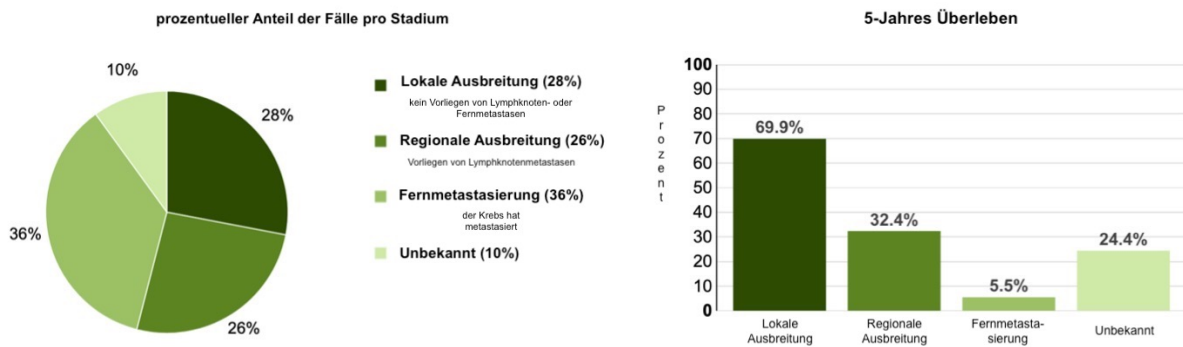


Abbildung 1: Erkränkungsstadium bei Erstdiagnose und 5JÜ der Patienten in Abhängigkeit von dem Erkränkungsstadium bei Erstdiagnose in den USA in den Jahren 2011 bis 2017

Entnommen und übersetzt aus (2)

Es wird nach der anatomischen Lage des Karzinoms zwischen dem distalen Magenkarzinom (auch Nicht-Kardia-Karzinom) und dem Karzinom des gastroösophagealen Übergangs (AEG, auch Kardia-Karzinom) unterschieden. Die Kardia bezeichnet die Übergangszone zwischen Speiseröhre und Magen und besitzt daher besondere anatomische Eigenschaften (24). Aufgrund ihrer anatomischen Unterschiede unterscheiden sich die beiden Subtypen unter anderem in ihrer Karzinogenese, ihrem Risikoprofil und ihrer Epidemiologie (5). Insgesamt verzeichnet das distale Magenkarzinom höhere Inzidenzen als das AEG. 2012 erkrankten 8,8 pro 100 000 Personen am distalen Magenkarzinom und im Vergleich dazu nur 3,3 pro 100 000 Personen am AEG (25).

Es lassen sich starke geografische Unterschiede der Inzidenz und Mortalität in der Welt feststellen (5). So trat im Jahr 2018 der überwiegend größte Anteil an Magenkarzinomen in Ländern mit einem hohen Human Development Index auf (85,6 % aller Fälle (6)). Über 60 % aller Magenkarzinome weltweit traten in Ost- und Zentralasien, sowie Osteuropa und Südamerika auf. In mehreren Ländern Zentralasiens, darunter Iran, Afghanistan, Turkmenistan und Kirgistan, ist das Magenkarzinom der führende Todesgrund und die am häufigsten diagnostizierte Krebsart (5). Die Inzidenzen liegen in Ostasien bei 32,1 pro 100 000 Männern und 13,2 pro 100 000 Frauen. Im Vergleich dazu erkrankten in Deutschland in den Jahren 2017/18 nur 9,5 pro 100 000 Männer und 6,1 pro 100 000 Frauen (7, 26).

Aufgrund der hohen Fallraten in Ostasien kam es zur Einführung von Screening-Programmen in u.a. Japan und Südkorea. Daraus folgte ein Anstieg des Anteils an erkannten Frühkarzinomen von 15 % auf 57 % (27). In mehreren Migrationsstudien konnte ein verminderter Einfluss der ethnischen Herkunft auf das vermehrte Auftreten von Magenkarzinomen nachgewiesen werden, wohingegen exogene Faktoren wie Umwelt,

Ernährung, sozioökonomischer Status und Besiedlung mit *Helicobacter pylori* den größten Einfluss ausüben (5, 28).

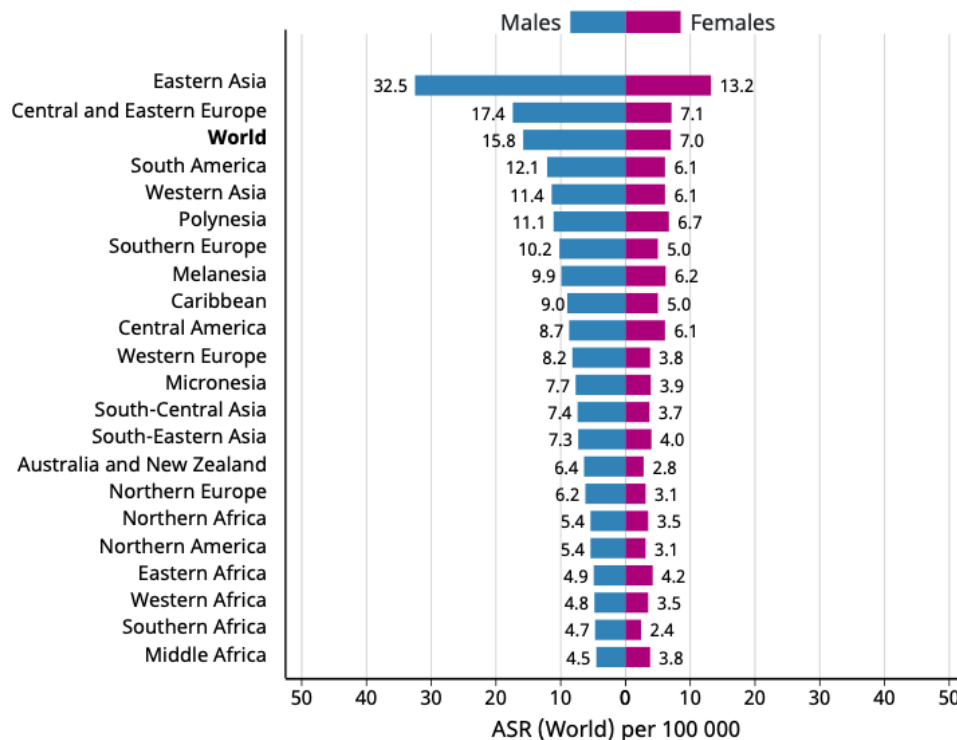


Abbildung 2: Häufigkeitsverteilung des Magenkarzinoms in der Welt
Entnommen aus (1)

Die Inzidenz- und Mortalitätsraten des distalen Magenkarzinoms verzeichnen in den letzten 50 Jahren in den meisten Populationen einen stetigen Rückgang. Bei jungen Erwachsenen (<50 Jahren) lässt sich eine gegenläufige Bewegung beobachten: in den letzten Jahren kam es vermehrt unter weißen Menschen aus wohlhabenden Ländern zu einer paradoxen Zunahme der Magenkarzinome (29). Die Ursachen dafür sind noch nicht abschließend geklärt. Diskutiert werden unter anderem, dass die Dysbiose des Mikrobioms des Magens zusammen mit der modernen Lebensweise zu einem Anstieg der Prävalenz autoimmuner Gastritis und daraus resultierenden Raten an distalen Magenkarzinomen führt (30). Außerdem wird auch der zunehmende Antibiotikagebrauch als auch die langfristige Verwendung von magensäurehemmenden Medikamenten mit dem Anstieg der Magenkarzinome in jungen Generationen in Verbindung gebracht.

2.2. Ätiologie und Pathogenese

Das Magenkarzinom ist eine multifaktorielle Erkrankung. Seine Genese ist von mehreren unterschiedlichen Risikofaktoren abhängig. Dazu zählen unter anderem genomische, epigenetische, metabolische, infektiöse, entzündliche und onkologische Einflüsse (31).

2.2.1. *Helicobacter pylori*

Die Hauptursache des distalen Magenkarzinoms stellen chronische *H. pylori* Infektionen dar, die beim Menschen eine chronisch aktive Typ-B-Gastritis induziert. Durch Einwirkung unterschiedlicher Umwelt- und Patienten-abhängiger Faktoren entwickelt ein Teil der Patienten eine atrophische Gastritis und eine intestinale Metaplasie bis hin zu einem Magenkarzinom (32). Die Entstehungen 89 % aller distalen Magenkarzinome können diesem Bakterium zugeschrieben werden (33, 34). Daher wurde *H. pylori* von der „International Agency for Research on Cancer“ der Weltgesundheitsorganisation als Klasse-I-Karzinogen anerkannt (35). Bei *H. pylori* handelt es sich um ein gramnegatives Stäbchenbakterium, dessen Lebensraum die Magenschleimhaut des Menschen ist. Mithilfe des Enzyms Urease spaltet es Harnstoff in Ammoniak und CO₂ und schafft sich so eine Überlebensnische im sauren Magenmilieu (36). 50 % der Bevölkerung in Industrienationen ist mit *H. pylori* infiziert und es lässt sich ein Zusammenhang zwischen der Prävalenz der Infektionen und der Inzidenz von distalen Magenkarzinome herstellen (37). Dahingegen sind Karzinome des gastroösophagealen Übergangs nicht generell mit *H. pylori* assoziiert. In den meisten Fällen erfolgt die Infektion während der Kindheit (meistens vor dem 10. Lebensjahr) und persistiert ein Leben lang, außer sie wird vorher behandelt.

2.2.2. Genetische Prädisposition

Ein weiterer wichtiger Einflussfaktor ist die Genetik. Es wurden mehrere genetische Erkrankungen identifiziert, die zu erhöhter familiärer Häufung an Magenkarzinomen führen. Zu den wichtigsten Vertretern gehören das hereditäre diffuse Magenkarzinom (HDGC) und das Lynch-Syndrom (HNPCC). Darüber hinaus sind die familiäre adenomatöse Polyposis (FAP), Li-Fraumeni-Syndrom, das Peutz-Jeghers-Syndrom (PJS), und Träger von Breast Cancer 2-Mutationen (BRCA2) zu nennen (38). Patienten der genannten Syndrome werden Früherkennungsmaßnahmen wie Ösophagogastroduodenoskopie und prophylaktische Maßnahmen wie die antibiotische Behandlung von *H. pylori*-Infektionen empfohlen.

1-3 % aller Magenkarzinome können auf das HDGC zurückgeführt werden, welches durch eine Keimbahnmutation des Cadherin-1-Gens (CDH1) entsteht und für das Membranprotein

E-Cadherin kodiert (39). Bei dem HDGC handelt es sich um eine autosomal dominante, sehr seltene Form des Magenkarzinoms, welche hoch invasiv und diffus wächst und daher eine sehr schlechte Prognose aufweist (40). Aufgrund des hohen Lebenszeitriskos für die Entwicklung eines Magenkarzinoms wird Trägern dieser Mutation zu einer prophylaktischen totalen Gastrektomie geraten (32).

2.2.3. Weitere Risikofaktoren

Bis zu 10 % der Magenkarzinome können auf weniger häufigere Ursachen zurückgeführt werden. Dazu zählen u.a. das Epstein-Barr-Virus (EBV), die Autoimmungastritis und das Ménétrier-Syndrom (41). Darüber hinaus stellen außerdem Tabakrauch, geringe körperliche Aktivität, männliches Geschlecht, höheres Alter sowie Strahlenbelastung für beide Subtypen gleichermaßen ein erhöhtes Risiko dar (22).

Als Hauptrisikofaktoren für die Entstehung eines AEGs wurden vor allem Übergewicht und gastroösophagealer Reflux (GERD) identifiziert.

Beim distalen Magenkarzinom üben dahingegen niedriger sozioökonomischer Status und Ernährungsfaktoren einen größeren Einfluss auf die Karzinogenese aus. Dementsprechend begünstigt ein hoher Alkoholkonsum, sowie Konsum salzhaltiger und geräucherter Speisen (v.a. Fleisch und Fisch) die Entstehung eines distalen Magenkarzinoms (22, 42). In neueren Studien wurde darüber hinaus ein synergetisches Zusammenspiel zwischen Salz und *H. pylori* Infektionen festgestellt, was zu einer Hochregulation der induzierbaren Stickstoffmonoxid-Synthase (iNOS) und der Cyclooxygenase 2 (COX-2) in der Magenschleimhaut führt und somit das Risiko noch zusätzlich steigert (43, 44). Dahingegen wirken sich ein hoher Frucht- und Gemüsekonsum, eine ballaststoffreiche Ernährung, sowie die Zufuhr von Aspirinen oder anderen nichtsteroidalen Antiphlogistika und Statinen protektiv auf die Onkogenese aus (22).

2.2.4. Vorsorge und Screening

Mehrere Länder mit hohen Magenkarzinominzidenzen, zu denen u.a. Japan, Südkorea und Chile gehören, haben schon unterschiedliche Screening-Programme etabliert und somit die Rate an entdeckten Frühkarzinomen um einen wesentlichen Anteil gesteigert (9).

Aufgrund der geringen Magenkarzinominzidenzen und niedrigen *H. pylori*-Durchseuchungsrate wird ein Massenscreening der Gesellschaft in Deutschland nicht empfohlen (32).

2.2.5. Prävention

Die Prävention von Magenkarzinomen setzt an der Vermeidung von Risikofaktoren an. Da die chronischen *H. pylori*-Infektionen als größter Risikofaktor gelten, wird schon seit einiger Zeit die Bedeutung der Eradikation im Rahmen der Prävention diskutiert. Eine Meta-Analyse sieben randomisierter Studien zeigt, dass die Eradikation infizierter Patienten das Krebsrisiko um 35 % senkt (45). Darauf basierend empfehlen amerikanische und europäische Leitlinien die Eradikation von *H. pylori* für alle Patienten mit Atrophie und/oder intestinalen Metaplasien sowie für alle Verwandten ersten Grades von Magenkarzinompatienten (46).

2.3. Lokalisation und Metastasierung

Die meisten Magenkarzinome finden sich im Antrum- und Pylorusbereich (35 %). An der kleinen Kurvatur finden sich ca. 30 % aller Magenkarzinome und im Kardiabereich ca. 25 %.

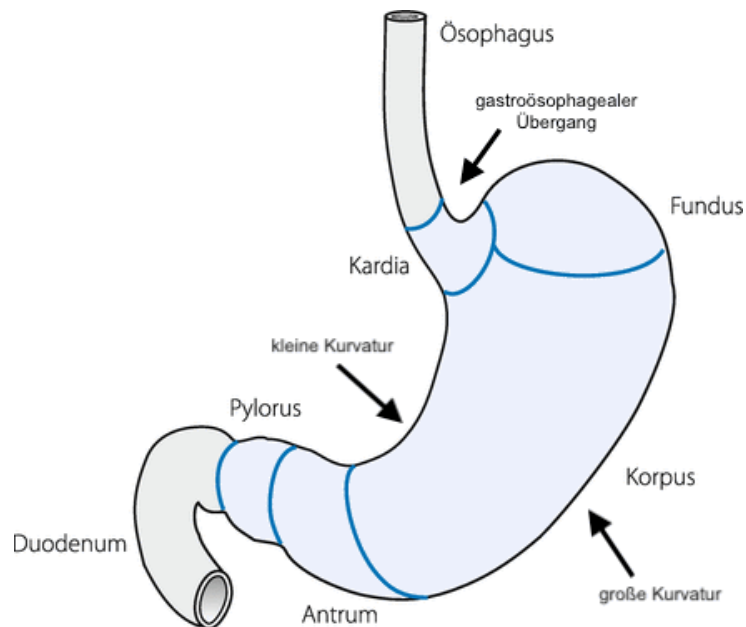


Abbildung 3: Anatomie des Magens
Entnommen und überarbeitet aus (47)

Die Metastasierung erfolgt sowohl lymphogen in die, den Magen umgebenden Lymphknoten, hämatogen in Leber, Lunge, Knochen und Gehirn als auch per continuitatem in Ösophagus, Duodenum, Kolon, Pankreas oder ins Peritoneum (48).

2.4. Klassifikation und Grading

2.4.1. WHO Klassifikation

Die WHO klassifiziert die Magenkarzinome aufgrund histologischer Kriterien (9). Der häufigste Subtyp ist das Adenokarzinom mit 90 %, welches in papilläres, tubuläres und muzinöses Adenokarzinom und Siegelringzellkarzinom unterteilt werden kann. Die weiteren Subtypen: Plattenepithelkarzinom (Squamöses Karzinom), Adenosquamöses Karzinom und undifferenzierten Karzinom sind aufgrund ihrer Seltenheit zu vernachlässigen (49).

2.4.2. Laurén-Klassifikation

Laurén untergliederte die Magenkarzinome nach ihren Wachstumsmustern in einen intestinalen, einen diffusen und einen gemischten Wachstumstyp.

Der intestinale Typ zeichnet sich durch ein verdrängendes, polypöses Wachstum aus und lässt sich gut von seiner Umgebung abgrenzen. Dieser Typ ist überwiegend im distalen Magen zu finden und betrifft oft ältere, männliche Personen (50). Der diffuse Typ hingegen wächst infiltrierend ins Gewebe ein, ist schlecht abzugrenzen und meist im Korpus lokalisiert. Diese Tumoren weisen eine schlechtere Prognose auf und betreffen häufiger jüngere Personen, insbesondere Frauen. Als Mischtyp gelten Tumoren, die sowohl Merkmale des intestinalen als auch des diffusen Typs vereinen. Der Laurén-Klassifikation wird eine große Bedeutung sowohl für die präoperative Auswahl des Resektionsverfahrens (49) als auch für die prognostische Einstufung zugeschrieben (51).

2.4.3. TNM Klassifikation

Das TNM Klassifikationssystem wird durch die Union for International Cancer Control (UICC) festgelegt und gilt auf der ganzen Welt als Standard zur Klassifizierung solider Tumoren. Dabei beschreibt T die Infiltrationstiefe bzw. die Tumogröße, N wie viele lokoregionäre Lymphknoten befallen sind und M das Vorhandensein von Fernmetastasen. Darüber hinaus kann über den Buchstaben R aufgezeigt werden, ob nach einer Operation ein Resttumor zurückgeblieben ist. Zusätzlich kann durch einen Kleinbuchstaben die Informationsgewinnung angegeben werden. So kann das Staging anhand klinischer Kriterien (cTNM) erhoben, durch eine postoperative histopathologische Untersuchung (pTNM) oder mithilfe einer endosonografischen Untersuchung (uTNM) vorgenommen worden sein. Handelt es sich um ein Rezidiv, wird rTNM verwendet und das Präfix „y“ impliziert eine erfolgende neoadjuvante Therapie.

Aus der Kombination der TNM Einteilung kann das UICC-Stadium errechnet werden, welches von I bis IV reicht. Hierbei steht UICC I für das am wenigsten fortgeschrittene Stadium und UICC IV für das am weitesten fortgeschrittene Stadium (**siehe Anhang, Tab. 1 und 2**).

2.4.4. Grading

Unter Grading versteht man die Einteilung anhand des Differenzierungsgrades. Dabei steht G1 für hochdifferenzierte, G2 für mäßig differenzierte, G3 für gering differenzierte Karzinome und G4 für eine fehlende Differenzierung (48). Hochdifferenziertes Tumorgewebe entspricht dabei weitestgehend dem Aussehen des Ursprungsgewebes. Je geringer die Differenzierung, desto weniger Ähnlichkeit besteht zum Ursprungsgewebe und desto höher ist der Malignitätsgrad des Tumors (48).

2.4.5. Siewert Klassifikation

Die Karzinome des gastroösophagealen Übergangs, welcher den Bereich 5 cm oral bis 5 cm aboral der Kardie einschließt, werden nach Siewert anhand ihrer Lokalisation in drei Gruppen eingeteilt: AEG I beinhaltet alle Adenokarzinome des distalen Ösophagus im Bereich von 1 cm bis 5 cm oral der Kardie. In diesem Bereich findet man häufig Barrett-Karzinome. Die zweite Gruppe AEG II beinhaltet alle Kardie-Karzinome, die unter 1 cm oral und 2 cm aboral der Kardie auftreten. Alle weiter unten entstehenden Karzinome, die bis 5 cm aboral der Kardie entstehen, werden als subkardiale Magenkarzinome bezeichnet und gehören der Gruppe AEG III an (48).

2.4.6. TCGA Klassifikation

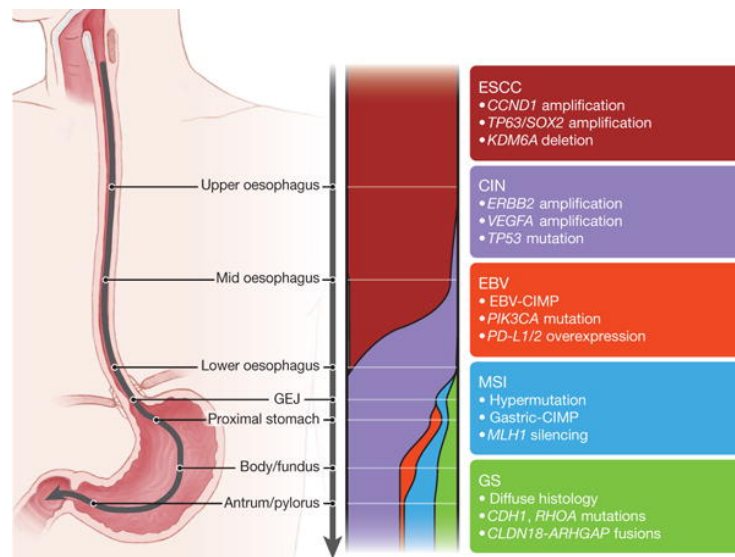


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Subtypen des gastroösophagealen Karzinoms
Die Breite der Farbbänder gibt den Anteil der Subtypen innerhalb der anatomischen Regionen an.

Entnommen aus (3)

Bei der TCGA (The Cancer Genome Atlas) Klassifikation handelt es sich um eine molekularbiologische Einteilung, die auf der Grundlage von genetischen Untersuchungen vorgenommen wird. Molekularbiologischen und genetischen Befunden wird eine immer größer werdende Bedeutung bei Prognose und Therapiewahl zugeschrieben. Es werden vier Subgruppen unterschieden. Dazu gehören: Epstein-Barr-Virus-positive Tumoren, Tumoren mit Mikrosatelliteninstabilität (MSI), Genomstabile Tumoren (GS) und Chromosomeninstabile Tumoren (CIN) (52). Diese verteilen sich, wie in **Abb. 4** dargestellt, unterschiedlich auf die einzelnen Magenabschnitte und werden in Bezug auf ihre prognostische und prädiktive Bedeutung sowie auf mögliche Therapieentscheidungen intensiv diskutiert.

2.5. Diagnostik und Staging

Das Magenkarzinom zeichnet sich durch einen sehr langen asymptomatischen Verlauf aus, weswegen es meist erst im Spätstadium diagnostiziert wird. Erst bei voranschreitender Erkrankung kommt es zu unspezifischen Symptomen wie Dysphagie, abdominellen Schmerzen, Völlegefühl und Unwohlsein im Oberbauch, Reflux und Brechreiz (9, 48).

Je weiter fortgeschritten das Tumorstadium ist, desto schlechter die Prognose. So hat ein Patient mit einem Karzinom im Stadium I eine 5JÜ von 90 %, ein im Stadium II von 50 bis 60 % und im Stadium III nur noch von 10 bis 15 % (49). Daraus folgt eine herausragende Bedeutung der Früherkennung.

Der „Goldstandard“ der Magenkarzinomdiagnostik stellt die Videoendoskopie dar. Laut der aktuellen Leitlinie sollte bei Patienten mit persistierenden Alarmsymptomen und Verdacht auf Ösophagus- oder Magenkarzinom eine Ösophagogastroduodenoskopie (ÖGD) durchgeführt werden. Dabei ist es wichtig, dass sowohl Ösophagus als auch Magen vollständig endoskopisch untersucht und aus allen verdächtigen Bereichen Biopsien zur histopathologischen Untersuchung entnommen werden (32).

Im Fall einer bestätigten Diagnose sollte eine vollständige Analyse des Ausmaßes des Tumorbefalls angefertigt werden. Dies wird auch als Staging bezeichnet und wird im Fall des Magenkarzinoms mithilfe der EUS und der Computertomografie (CT) von Thorax und Abdomen vollzogen. Dies ist bedeutsam für die Unterscheidung zwischen einem kurativen und einem palliativen Therapieansatz, sowie bei der Entscheidung für oder gegen den Beginn einer multimodalen Behandlung.

Die EUS dient der Beurteilung der Tiefenausdehnung (T-Staging) der Läsion und somit der Differenzierung zwischen Läsionen der Mukosa und Submukosa (53). Die Beurteilung des Lymphknotenbefalls (N-Staging) ist nur eingeschränkt möglich (54).

Nach der Beurteilung der lokalen Ausbreitung beinhaltet der zweite Teil des Stagings den Ausschluss bzw. die Detektion von Fernmetastasen. Dies wird mittels CT von Thorax und Abdomen, sowie Abdomenultraschall zum Ausschluss von Lebermetastasen realisiert (55). Liegt ein Karzinom des gastroösophagealen Übergangs vor, wird über CT und Sonografie hinaus zusätzlich eine Hals Sonografie durchgeführt (32).

Wenn ein kurativer Therapieansatz angestrebt wird, ist das Standardverfahren zur Detektion von Fernmetastasen ein CT von Thorax und Abdomen mit intravenöser Kontrastmittelgabe, wobei eine Distension des Magens durchgeführt wird. Hierbei wird der Magen durch eine Befüllung mit Wasser ausgedehnt, wodurch eine bessere Abgrenzbarkeit des lokalen Befundes erreicht wird (54).

In den letzten Jahren ist der Stellenwert der Laparoskopie für das Staging des Magenkarzinoms beträchtlich gewachsen. So wird nach der aktualisierten Leitlinie aus dem Jahr 2019 zur Laparoskopie vor Beginn der neoadjuvanten Therapie geraten, sobald ein fortgeschrittenes distales Magenkarzinom oder ein AEG vorliegt. Dies lässt sich durch die Möglichkeit des Ausschließens von Leber- und Peritonealmetastasen und durch die verbesserte Genauigkeit beim Staging erklären (32).

Laborchemische Parameter zum Nachweis eines Magenkarzinoms sind nach wie vor Gegenstand zahlreicher Studien. Sogenannte Tumormarker sind Stoffe, die entweder von Tumorzellen selbst gebildet oder als Reaktion des Körpers auf den Krebs ausgeschüttet werden. Diese Substanzen können im Blut nachgewiesen werden und Hinweise auf spezielle Krebserkrankungen geben. Als bekannte und oft verwendete Tumormarker für das Magenkarzinom sind vor allem CEA (Carcinoembryonales Antigen), CA 19-9 (Carbohydrate-Antigen 19-9) und CA72-4 (Cancer Antigen 72-4) zu nennen, wobei letzteres die höchste Spezifität für das Magenkarzinom besitzt. Momentan werden noch andere Tumormarker untersucht wie z.B. Pepsinogen I/II (56). Diese Tumormarker werden jedoch nicht nur bei Magenkarzinomen ausgeschüttet, sondern viele interstitielle Erkrankungen führen zu erhöhten Werten im Blut. Daher sind sie für die Primärdiagnostik und zur Verwendung als Prognosefaktor ungeeignet (32).

2.6. Therapie

Die Wahl der Therapie erfolgt bei jedem Patienten individuell unter Einbeziehung von Tumorausbreitung, Fernmetastasierung und Patientenzustand (Vorerkrankungen, Allgemeinzustand u.a.) und Besprechung des Falls im interdisziplinären Tumorboard (57).

Liegt bei dem Patienten keine Fernmetastasierung vor, kann der Patient einer kurativen Therapie zugeführt werden, wohingegen die Therapie bei Vorliegen von Fernmetastasen mit palliativer Absicht erfolgt. Die kurative Therapie des lokal fortgeschrittenen Magenkarzinoms ist nur mittels chirurgischer Entfernung möglich. Diese beinhaltet die vollständige Tumorentfernung (R0) sowie die Entfernung aller befallenen Lymphknoten in diesem Gebiet. Die einzige Ausnahme bildet die endoskopische Entfernung von Frühkarzinomen (32).

2.6.1. Endoskopische Resektion

Unter Magenfrühkarzinomen versteht man oberflächliche Läsionen des Lumens, die sich nur auf die Mukosa beschränken. Aufgrund der geringen Eindringtiefe der Karzinome bietet sich eine Abtragung mittels Endoskopie an. Hierbei stehen laut der aktuellen S3-Leitlinien zwei Verfahren zur Verfügung: die endoskopische Mukosaresektion (EMR) und die endoskopische Submukosadisektion (ESD). Voraussetzung für die Anwendung der endoskopischen Verfahren ist die Erfüllung der „Guideline Criteria“, die sich an der japanischen Klassifikation orientieren (32). Diese Kriterien werden von Läsionen erfüllt, die einen hohen bis mäßigen Differenzierungsgrad (G1 oder G2) aufweisen, deren Invasion auf die Mukosa begrenzt ist, die keine makroskopisch erkennbaren Ulzerationen aufweisen, die en-bloc entfernt werden können und die im Falle einer erhabenen Läsion kleiner als 2 cm oder im Falle einer flachen Läsion kleiner als 1 cm sind (9).

2.6.2. Operative Resektion

Die Gastrektomie mit D2 Lymphadenektomie (LAD) stellt das Standardverfahren zur Therapie bei Vorliegen eines T1b oder T2 Stadiums ohne Fernmetastasen und mit Möglichkeit der Resektabilität dar. In dem weiter fortgeschrittenen Stadium T3NxM0 liegt bereits eine Serosainfiltration vor und eine Behandlung mit neoadjuvanter Chemotherapie vor Durchführung der Operation ist indiziert.

Bei der Gastrektomie gibt es drei verschiedene Varianten. Bei der subtotalen Gastrektomie (distale Magenresektion) werden 4/5 des Magens entnommen, was eine Restmagenfunktion gewährleistet. Wird eine totale Gastrektomie durchgeführt, bleibt kein Magen erhalten, die

Resektionsränder erstrecken sich vom distalen Ösophagus bis zum proximalen Teil des Duodenums. Die dritte Variante stellt die erweiterte Gastrektomie dar, wobei neben dem Magen auch die Milz oder ein Teil des Pankreasschwanzes entfernt wird.

Wichtig bei der Resektion des Karzinoms ist, dass der Resektionsabstand eingehalten wird. Dieser beläuft sich beim intestinalen Typ nach Laurén auf 5 cm nach oral und beim diffusen Typ auf 8 cm in situ. Intraoperativ werden Schnellschnitte durchgeführt, um die Tumorfreiheit der Schnittränder zu beurteilen (32).

Aufgrund der frühzeitigen Lymphknotenmetastasierung (**Abb. 5**) wird zusätzlich zur Gastrektomie immer eine Entfernung der Lymphknoten durchgeführt (58). Unter einer D1 Lymphknotendissektion versteht man die Entfernung der perigastrischen Lymphknoten. In einer deutschen Magenkarzinomstudie konnte ein Prognosevorteil v.a. für Tumoren der Gruppen II und IIIA bei der D2 LAD im Vergleich zur D1 Resektion nachgewiesen werden. Daher ist die D2 LAD heutzutage in Deutschland als Standardverfahren festgelegt. Hierbei werden zusätzlich zur D1 LAD die Lymphknoten entlang der großen Gefäße entnommen. In der neuesten S3-Leitlinie wird die Entfernung von 25 Lymphknoten empfohlen. Die Klassifikation pN0 wird bei Nachweis 16 nicht befallener Lymphknoten vergeben (54, 57, 59, 60).

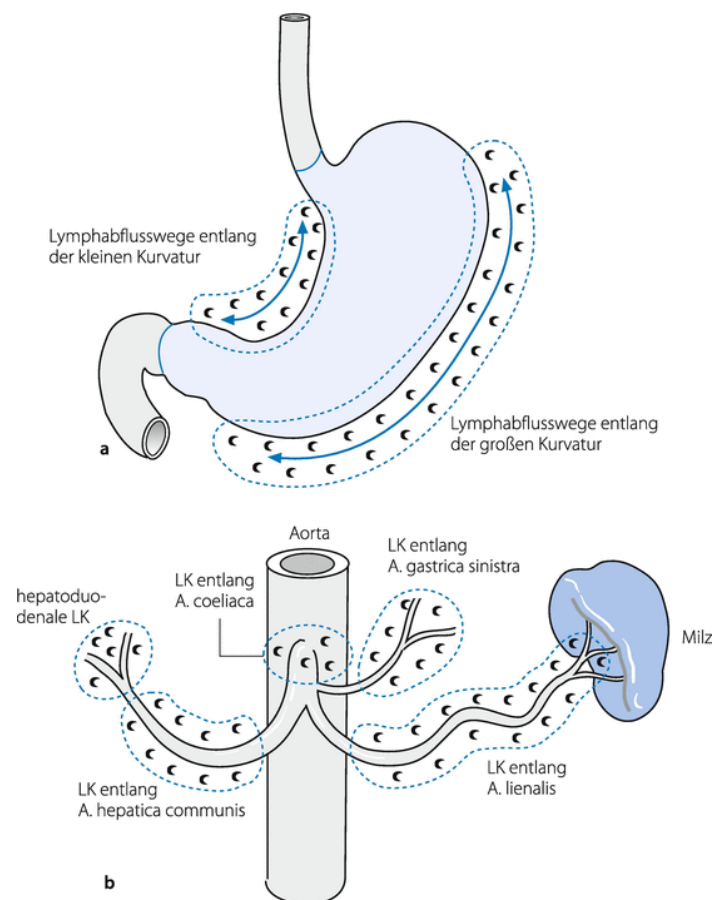


Abbildung 5: Entfernte Lymphknoten bei der D1 Lymphadenektomie (a) und zusätzlich entfernte Lymphknoten bei der D2 Lymphadenektomie (b)

Entnommen aus (47)

Neben der Gastrektomie als offene Operation besteht auch die Möglichkeit der laparoskopischen Magenkeilresektion. Dieses Verfahren erweist sich im Vergleich zur herkömmlichen totalen Gastrektomie überlegen aufgrund der geringeren Invasivität und damit u.a. einer früheren Wiederaufnahme der oralen Nahrungszufuhr, geringerer Schmerzmittelgabe, weniger Blutungsereignisse sowie niedrigerer Aufenthaltsdauer im Krankenhaus. Jedoch konnte zum jetzigen Zeitpunkt noch keine Überlegenheit der laparoskopischen Prozedur, die Überlebens- und Rezidivraten betreffend, festgestellt werden. Aufgrund dieser Ergebnisse wird die laparoskopische Magenkeilresektion in der Zukunft wohl ein wesentlicher Bestandteil der chirurgischen Therapie sein; weitere Studien sind abzuwarten (61).

2.6.3. Perioperative und neoadjuvante Therapie

Unter einer neoadjuvanten Therapie versteht man eine Therapie, die vor einer Operation durchgeführt wird. Perioperativ umfasst den Zeitraum vor, während und nach einem chirurgischen Eingriff. Die neoadjuvante Therapie beim Magenkarzinom verfolgt zwei Ziele: zum einen können sehr große Tumoren, die vorher als nicht resezierbar eingestuft wurden, mithilfe der neoadjuvanten Therapie verkleinert werden, damit sie im Nachhinein kurativ entnommen werden können. Dieses Verfahren bezeichnet man auch als Downstaging. Zum anderen ist davon auszugehen, dass fortgeschrittene Tumoren schon in unterschiedliche Lokalisationen Mikrometastasen gestreut haben, die im Moment jedoch noch zu klein sind, um im Staging erkannt zu werden. Per neoadjuvanter Behandlung werden solche Mikrometastasen reduziert und das Auftreten von Rezidiven durch Mikrometastasen nach erfolgreicher Resektion vermindert. Die aktuellen Leitlinien empfehlen eine neoadjuvante Chemotherapie bei lokal fortgeschrittenen Magenkarzinomen ab der Stufe T2 und höher (32).

2.6.3.1. Neoadjuvante Chemotherapie

Im Jahr 2006 legte die von Cunningham et al. veröffentlichte britische MAGIC Phase III Studie den Grundstein für die perioperative Chemotherapie nach dem ECF/ECX-Protokoll (Epirubicin, Cisplatin, Fluoruracil/ Capecitabin). Dabei wurde eine Patientenkohorte mit Magen-, Kardia- und Ösophaguskarzinomen, die allein chirurgisch behandelt wurde, mit einer Kohorte, die jeweils 3 Zyklen ECF prä- sowie postoperativ erhalten hatte, verglichen. Das Ergebnis der Studie zeigte, dass sowohl die operationsbezogene Komplikationsrate als auch die postoperative Letalität der beiden Kohorten übereinstimmten. In der neoadjuvant behandelten Gruppe fanden sich jedoch signifikant kleinere Tumoren (3 vs. 5 cm) und auch die Tumorstadien wurden erheblich reduziert. Darüber hinaus zeigten die Behandelten einen Anstieg der Überlebensraten um 25 %. Nach 5 Jahren lebten 13 % mehr der neoadjuvant

behandelten Patienten als der rein operativ behandelten Kohorte (62). Aufgrund der Ergebnisse dieser Studie wurde die neoadjuvante Therapie nach dem ECF-Protokoll in Deutschland als neuer Standard regional fortgeschrittener Magenkarzinome und AEGs postuliert.

Die 2017 von Al-Batran et al. veröffentlichte FLOT4-AIO-Studie bestätigte die Ergebnisse der MAGIC-Studie und wies sogar mit seiner Kombination aus 5-Fluoruracil, Leucovorin, Oxaliplatin und Docetaxel dem ECF-Protokoll überlegene Ergebnisse auf. Dahin gehend zeigten sich sowohl höhere Überlebensraten als auch stärkere histopathologische Tumorveränderungen bei der Therapie nach dem FLOT-Protokoll, was zu einem Umschwenken von der neoadjuvanten Cisplatin-basierten Chemotherapie zur Oxaliplatin-basierten Behandlung führte. Heutzutage gilt nach den aktuellen Leitlinien die FLOT-Kombination zur Therapie lokal fortgeschrittener, resektabler Magenkarzinome und AEGs als Standardverfahren (63, 64).

In östlicheren Ländern gilt das SOX-Protokoll als Standardverfahren. Dies beinhaltet Tegafur, Gimeracil, Oteracil und Oxaliplatin. In einer Studie aus dem Jahr 2020, in dem das FLOT- mit dem SOX-Protokoll verglichen wurde, konnte der SOX-Arm keine signifikanten Unterschiede gegenüber dem FLOT-Arm vorweisen, weder in Bezug auf Nebenwirkungen und postoperative Morbidität noch auf die Tumorregression (65).

Außerdem läuft im Moment noch eine Phase III ESOPEC-Studie, welche die Unterschiede einer perioperativen Chemotherapie nach dem FLOT-Schema und eine neoadjuvante Radiochemotherapie nach dem CROSS-Protokoll (41,4Gy plus Carboplatin/Paclitaxel) bei der Behandlung lokal fortgeschrittener AEGs und Ösophaguskarzinome untersucht (66).

2.6.3.2. Neoadjuvante Radiotherapie

Nach den Ergebnissen der 2012 publizierten CROSS-Studie besteht bei der Behandlung von Karzinomen des gastroösophagealen Übergangs die Möglichkeit zur präoperativen Radiochemotherapie nach dem CROSS-Konzept. In dieser Studie konnte eine Halbierung der lokoregioären Rezidive (30 % auf 14 %) und eine Erhöhung des medianen Gesamtüberlebens von 27,1 Monaten auf 43,2 Monate mit einem Hazard Ratio (HR) von 0,73 (95 % KI: 0,55-0,98, p=0,038) dokumentiert werden. Außerdem zeigten sich keine Unterschiede bei der postoperativen Morbidität und Mortalität. Das CROSS-Protokoll sieht eine Bestrahlung mit 41,4 Gy und eine Chemotherapie mit Carboplatin plus Paclitaxel vor (67).

Zum heutigen Zeitpunkt können diese Ergebnisse nicht auf die Magenkarzinome distal des gastroösophagealen Übergangs übertragen werden. Es liegen zwar Hinweise auf eine gute Wirksamkeit vor, jedoch können aufgrund von kleinen Kontrollgruppengrößen, niedrigen Fallzahlen und unterschiedlich angewendeten Therapieprotokollen keine verlässlichen Aussagen getroffen werden (68). Daher befürwortet die aktuelle Leitlinie bei distalen Magenkarzinomen die Anwendung von Radiochemotherapie nur in Studien und noch nicht im klinischen Alltag (32).

In weiteren aktuell laufenden Studien (TOPGEAR, ARTIST 2, CRITICS) wird die Verwendung von Radiochemotherapie bei der Behandlung von distalen Magenkarzinomen untersucht (69-71). Welchen Stellenwert die neoadjuvante Radiochemotherapie in der Zukunft bei der Behandlung des Magenkarzinoms prinzipiell einnehmen wird, bleibt abzuwarten (68).

2.6.4. Adjuvante Therapie

Zum heutigen Zeitpunkt ist kein Vorteil der adjuvanten Therapie für westliche Populationen nachgewiesen. Die in asiatischen Populationen durchgeführte CLASSIC-Studie zeigte bei der adjuvanten Applikation von 8 Zyklen Capecitabin und Oxaliplatin nach erfolgter D2-Gastrektomie einen Anstieg der 3-Jahresüberlebensrate von 59 % auf 74 %. Die Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf die europäische Population bleibt jedoch fraglich (32, 72).

2.6.5. Zielgerichtete Therapie

Einen vielversprechenden Ansatz stellt die Behandlung des Magenkarzinoms mit dem humanisierten Antikörper Trastuzumab dar, der auch unter dem Handelsnamen Herceptin® bekannt ist. Dieser richtet sich gegen den epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2/neu), welcher u.a. auf der Oberfläche von Krebszellen präsentiert wird. Eine Aktivierung des HER2/neu Rezeptors bewirkt die Sicherung des Überlebens und eine Steigerung des Wachstums und somit eine schnelle Vermehrung der Zelle.

In mehreren Studien konnte nachgewiesen werden, dass bei ca. 22 % aller Magenkarzinome eine Überexpression dieser Wachstumsrezeptoren vorliegt (73).

In der ToGA-Studie konnte gezeigt werden, dass Patienten mit lokal fortgeschrittenem Magenkarzinom und positivem HER-2-Status (Überexpression und/oder Amplifikation) eine signifikante Verbesserung des progressionsfreien Überlebens und des Gesamtüberlebens aufwiesen, wenn die Chemotherapie durch Trastuzumab ergänzt wurde. Das mediane

Gesamtüberleben der Patienten konnte von 11,8 Monaten mit alleiniger Chemotherapie auf 16 Monate bei Kombination von Chemotherapie mit Trastuzumab erhöht werden (10).

Als Folge der ToGA-Studie erhielt Trastuzumab 2010 eine Zulassung in Europa zur Behandlung metastasierter Her2/neu positiver Magenkarzinome. Zur Indikationsstellung ist ein dreifach positiver Nachweis der HER-2-Expression in der Immunhistochemie (IHC3+) nötig (10).

Ein neuer Ansatzpunkt stellen die aktuell in mehreren Studien untersuchten Antikörper-Wirkstoff-Konjugate dar. Trastuzumab-Deruxtecan gehört zu dieser Gruppe und besteht aus einem monoklonalen HER2-Antikörper, der an einen zytotoxischen Topoisomerase-I-Inhibitor gebunden ist. Das Wirkprinzip besteht darin, dass Trastuzumab die spezifische Bindung an HER2/neu exprimierende Zellen vermittelt und so Deruxtecan in das Zellinnere einschleust, wo dieses im Zellkern die Topoisomerase inhibiert und zum Zelltod führt. In den USA, Israel und Japan wurde Trastuzumab-Deruxtecan bereits für Patienten mit fortgeschrittenem oder metastasierten Magenkarzinom als Zweitlinientherapie zugelassen, da eine bessere Wirksamkeit im Vergleich zur Chemotherapie aufgezeigt werden konnte (74, 75). Die aktuelle S3-Leitlinie sieht keine neoadjuvante Verwendung von Trastuzumab außerhalb klinischer Studien vor. Die Ergebnisse laufender Studien sind abzuwarten (32).

Gegenstand laufender Studien ist ein neuer monoklonaler Antikörper: Pertuzumab. Dieser zeichnet sich durch eine, im Vergleich zu Trastuzumab, effizientere und stärkere Inhibition der Dimerisierung des HER-2-Rezeptors aus. In aktuellen Studien wird die Ergänzung von Chemotherapie und Trastuzumab mit zusätzlich Pertuzumab untersucht und zum jetzigen Zeitpunkt wird sein Einsatz als optimistisch und sicher eingestuft (76).

2.6.6. Immuntherapie

Die Immuncheckpoint-Inhibition stellt einen neuen Therapieansatz dar, der in den letzten Jahren Einzug in die Behandlung des fortgeschrittenen Magenkarzinoms genommen hat und durch die Kombination mit konventioneller Chemotherapie zu einer Bereicherung und Veränderung der Therapiemöglichkeiten geführt hat. Unter Checkpoints versteht man Kontrollpunkte des Immunsystems, die zur Regulation der Immunantwort fungieren. Krebszellen können sich dieser Regulationsstellen bedienen und sich mit deren Hilfe vor dem Immunsystem verstecken. Die Immuncheckpoint-Inhibition ermöglicht durch gezielte Blockade der Kontrollpunkte, dass die Krebszellen für das Immunsystem sichtbar werden und somit bekämpft werden können.

Anhand der Untersuchung der TCGA-Subtypen konnten mehrere therapeutische Ansätze herausgestellt werden. So zeigen sowohl EBV positive Tumoren als auch Tumoren mit Mikrosatelliteninstabilität eine Überexpression des Programmed cell death Liganden 1 (PD-L1). Bei PD-L1 handelt es sich um einen solchen Kontrollpunkt, der als Therapieangriffspunkt genutzt werden kann, um die Immunantwort gegen Tumorzellen zu forcieren (77). Diesen Angriffspunkt nutzen die neu zugelassenen monoklonalen Antikörper Nivolumab und Pembrolizumab.

In ihrer 2021 publizierte Phase III Studie konnten Janjigian et. al. einen Überlebensvorteil der mit Nivolumab plus Chemotherapie behandelten Patienten im Vergleich zu den Patienten, die ausschließlich mit Chemotherapie behandelt wurden, nachweisen (78). Aufgrund dieser Ergebnisse erlangte Nivolumab eine Zulassung für die Behandlung PD-L1-positiver Adenokarzinome des Magens in Europa und den USA u.a. (79). Auch Pembrolizumab erhielt seine Zulassung in den USA für PD-L1-positive Tumoren, da seine Anwendung die Dauer des Ansprechens erhöhte (80). Darüber hinaus stellt die Immuntherapie mittlerweile in den USA die Erstlinientherapie für HER2-exprimierende Tumoren dar. Die Kombination aus Pembrolizumab mit Trastuzumab und Chemotherapie verbesserte das progressionsfreie Überleben signifikant bei Patienten mit metastasierten HER2-positiven Magenkarzinomen (81).

2.6.7. Palliative Therapie

Wird bei der Erstdiagnose die Existenz von Absiedlungen bösartiger Tumorzellen an entfernten Orten im Körper festgestellt, wird dies als Fernmetastasierung bezeichnet und der Tumor erhält die TNM-Klassifikation M1. Ein Vorliegen von Fernmetastasen geht mit einer schlechten Prognose einher. So lag bei M1-klassifizierten Magenkarzinomen im Jahr 2020 die 5JÜ lediglich bei 5,5 % (2). In diesem Fall wird eine palliative Therapie eingeleitet. Hierbei liegt der Fokus nicht auf der Heilung der Erkrankung, sondern das Ziel ist die Milderung der Symptome, die Erhaltung der Lebensqualität und die Verlängerung des Überlebens.

Zum Erreichen dieser Ziele konnte die Wirksamkeit einer palliativen Chemotherapie bestätigt werden. Diese kann bei Patienten mit gutem Allgemeinzustand sowohl zu einer verbesserten Lebensqualität, zu einem längeren Überleben und zu einer Verbesserung des Allgemeinzustandes beitragen (54, 82). Zusätzlich sollte vor Beginn der medikamentösen Therapie der HER2-Status ermittelt werden. Beim Vorliegen HER-2-überexprimierender Tumoren kann die Chemotherapie durch den monoklonalen Antikörper Trastuzumab ergänzt werden, um einen Überlebensvorteil zu erreichen (10).

2.7. Tumorstroma

Unter Tumorstroma (TS) versteht man das, die Krebszellen unmittelbar umgebende, Gewebe, welches durch sein eigenes Gefäßsystem versorgt wird und einen Teil des Tumors bildet. Es besteht zum einen aus unterschiedlichen Zellentitäten, zu denen u.a. Fibroblasten, Endothelzellen und Immunzellen gehören, sowie einem nicht zellulären Anteil aus u.a. Komponenten der extrazellulären Matrix (EZM), Zytokinen, Wachstumsfaktoren und Hormonen (83).

Das TS übt einen modellierenden Einfluss auf die Karzinogenese und die Metastasierung von Tumoren aus und spielt darüber hinaus neusten Studien zufolge eine relevante Rolle bei der Entwicklung von Therapieresistenzen. Hierbei sind die dynamischen Wechselwirkungen zwischen den Krebszellen und ihrer Mikroumgebung essenziell (84). Die Mikroumgebung des Tumors bildet also per se eine Nische für maligne Zellen, die die perfekten Wachstumsbedingungen für Krebszellen sicherstellt.

Zur Bildung des Tumor-Mikromilieus werden normale Zellen aus der Umgebung und auch aus dem Knochenmark mithilfe von Wachstumsfaktoren und Zytokinen sowie durch Zell-Zell-Interaktionen rekrutiert und anschließend einer Umerzierung zu Tumorstromazellen unterzogen. Tumorstromazellen sind also nicht maligne Zellen, die die Bedürfnisse der malignen Zellen erfüllen (85). Hier könnten daher zukünftige Therapien ansetzen. Durch das Durchbrechen der reziproken Signalweitergabe und das Anvisieren des Tumorstromas neben den Tumorzellen könnten Therapieresistenzen und Rezidive vermindert werden (84).

2.8. CD44

Cluster of Differentiation 44 (CD44) ist ein ubiquitär vorkommendes transmembranäres Glykoprotein, welches wichtige physiologische Funktionen bei Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktionen ausübt. Diese Funktionen beinhalten Signaltransduktion, Adhäsion, Proliferation, Migration, Hämatopoese und Lymphozytenaktivierung (86).

Das CD44-Oberflächenprotein setzt sich aus sieben extrazellulären Domänen, einer Transmembrandomäne und einer zytoplasmatischen Domäne zusammen (**Abb. 8**). Sein Gen besteht aus 20 Exons, wobei die Exons 1-5 und 16-20 bei allen CD44 Isoformen konstant sind und die N- bzw. C-terminalen Regionen bilden. Durch posttranslationale Modifikation und alternatives Splicing der mittleren 10 Exons entsteht eine große Anzahl variabler CD44 Isoformen (CD44v) (**Abb. 7**) (87).

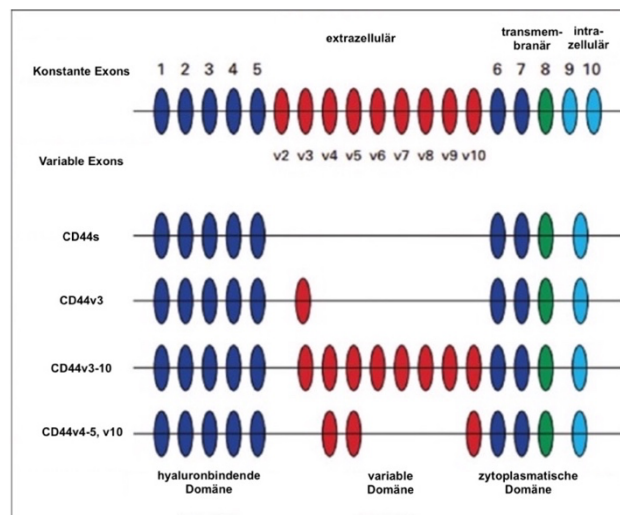


Abbildung 6: Genomstruktur von CD44 und seiner Isoformen

Entnommen aus (4)

CD44 besteht aus 4 Regionen: der extrazellulären Region, diese besteht aus sieben extrazellulären Domänen inklusive des N-terminalen Anteils, der für die Bindung des Liganden zuständig ist, der Stammregion, welche sich bei den Isoformen durch alternatives Splicing unterschiedlich darstellt, der Transmembranregion, sowie der C-terminalen zytoplasmatischen Region.

Die CD44s-Isoform ist die kleinste und am häufigsten auftretende Isoform. Sie entsteht ohne alternatives Splicing aus den 10 konstanten Exons und kommt ubiquitär im Gewebe vor (4). Im Gegensatz dazu kommen die CD44v-Isoformen im gesunden Gewebe nur auf speziellen Zellen vor. Sie konnte u.a. auf Keratinozyten, aktivierten Lymphozyten, Makrophagen und einigen epithelialen Zellen nachgewiesen werden (88). Eine pathologische Hochregulation der

CD44-Expression zeigte sich bei vielen Tumorzellen epithelialen Ursprungs (89), darunter das Mammakarzinom (15), das Pankreaskarzinom (90) und mehrere gastrointestinale Tumoren (91).

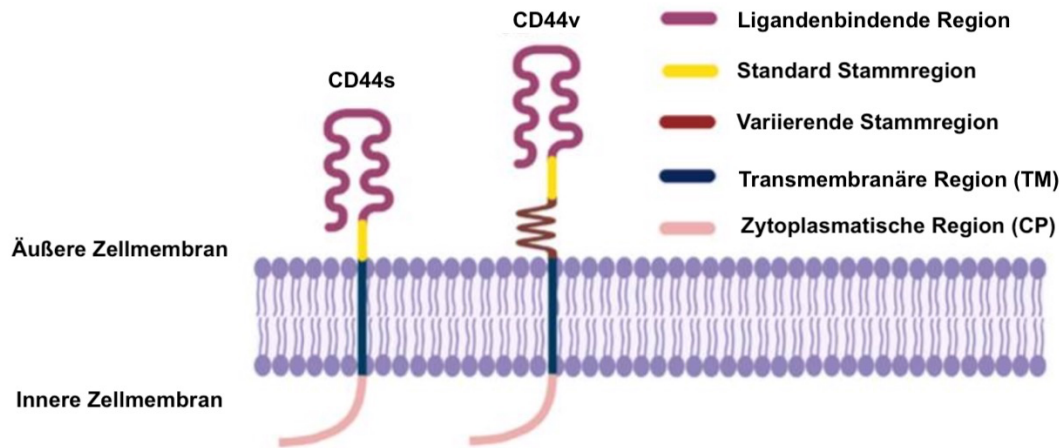


Abbildung 7: CD44 Protein Struktur
Entnommen und übersetzt aus (14)

CD44 gilt als weit verbreiteter Biomarker für Krebsstammzellen. Krebsstammzellen (CSCs) werden über ihre Fähigkeiten definiert, sich selbst zu erneuern (*in vivo* als auch *in vitro*), das Krebswachstum zu initiieren, weitere tumorinduzierende und nicht tumorinduzierende Zellen zu produzieren, sowie sich zu differenzieren (92). Darüber hinaus weisen Krebsstammzellen häufig Therapieresistenzen auf, was oft in Rezidiven und Metastasen resultiert (14) (**Abb. 9**).

Den Großteil seiner Funktionen vollzieht CD44 über die Interaktion mit seinem Hauptliganden Hyaluronsäure (HA), einem Glykosaminoglykan, welches als ein Hauptbestandteil der EZM gilt. Durch die Bindung von CD44 an HA werden intrazelluläre Signalwege induziert, die mit einer vermehrten Zellproliferation, Zytoskelettveränderungen und der Regulation des Überlebens der Zelle einhergehen und generell eine erhöhte Motilität der Zelle bewirken. Der CD44-HA-Komplex ist maßgeblich an der Steuerung von Kontakten zwischen Zellen und der extrazellulären Matrix beteiligt, was CD44-tragenden Zellen die transendotheliale Migration erleichtert und somit die Neigung zur gesteigerten Invasivität und Metastasierung CD44-exprimierender Krebszellen erklärt.

Neben HA dienen CD44 weitere extrazelluläre Matrixbestandteile als Liganden, wozu u.a. Osteopontin (OPN), Metalloproteinasen (MMPs), Fibronectin, Laminin, Kollagen und Chondroitinsulfat zählen (93). Durch die Interaktion von CD44 mit diesen Liganden wird die Ablösung CD44 exprimierender Tumorzellen aus ihrer Verankerung und die Veränderung des tumorumgebenden Zytoskeletts induziert. Dies führt dazu, dass die Translokation der

Krebszellen und die Entstehung von Metastasen erleichtert und weitere krebsfördernde Signalwege aktiviert werden. Des Weiteren können CD44 exprimierende Tumorzellen durch die Fähigkeiten HA und weitere Matrixbestandteile abzubauen, in Hyaluronsäure-reiches Gewebe vordringen und durch die Aussendung Apoptose-hemmender und wachstumsfördernder Signale das Tumorwachstum vorantreiben. Die CD44-OPN-Verbindung unterstützt die Neubildung von Blutgefäßen, wodurch die notwendige Versorgung des Tumors gesichert ist. In mehreren Studien konnte eine hohe CD44-Expression mit erhöhter Invasivität, vermehrter Zellproliferation und Metastasierung und Zytostatikaresistenz in Verbindung gebracht werden (14-16).

Takaishi et al. konnten im Jahr 2009 zum ersten Mal die Existenz von CD44 positiven Zellen mit Stammzeleigenschaften in menschlichen Magenkarzinomzelllinien nachweisen. Diese Zellen besaßen die Fähigkeiten der Selbsterneuerung, der Bildung differenzierter Nachkommen, der Produktion CD44 negativer Zellen und der erhöhten Resistenz gegenüber dem, durch Chemotherapie und Bestrahlung ausgelösten, Zelltod (94, 95). Folglich kommt dem Nachweis von CD44 eine herausragende Bedeutung bei der Früherkennung von Tumoren als auch bei der Unterscheidung zwischen gesunden Zellen und Tumorzellen zu (96, 97). Des Weiteren könnte CD44 als Angriffspunkt für maßgeschneiderte Therapien dienen. Durch die gezielte Ausschaltung der Krebsstammzellen könnte weiteres Wachstum als auch Rezidiv- und Metastasierungsverhalten unterbunden werden (98).

Auch bei gastrointestinalen Tumoren zeigten sich Zusammenhänge zwischen vermehrter CD44-Expression und Lymphknotenmetastasen, Tumorinvasivität und Patientenüberleben (99). In einer Metaanalyse aus dem Jahr 2014 wurden die Ergebnisse von 18 Studien untersucht. Hierbei konnte die Expression von CD44 im Magenkarzinom mit einem fortgeschrittenem Tumorstadium und einem vermehrten Auftreten von Lymphknotenmetastasen in Verbindung gebracht werden (12).

Nicht nur Tumorzellen selbst, sondern auch Tumorstromazellen scheinen CD44 zu exprimieren. So konnte eine Hochregulation von CD44 in mehreren Studien auf CAFs detektiert werden, v.a. in hypoxischen und Nährstoff-unterversorgten Bereichen des Tumors. Die Rolle, die CD44 im Tumorstroma innehat, ist jedoch noch nicht vollständig geklärt. Es wird davon ausgegangen, dass CD44 als Teil der Mikroumgebung an der Sicherung des Überlebens der Krebszellen beteiligt ist (20).

2.9. CXCR4

Bei CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4 (CXCR4 oder CD184) handelt es sich um ein G-Protein gekoppeltes, transmembranäres Glykoprotein. Es ist an der Zelloberfläche lokalisiert und fungiert als Chemokinrezeptor, welcher durch seinen Liganden CXCL12, auch bekannt als Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1 α), aktiviert wird.

Lange Zeit wurde davon ausgegangen, dass es sich bei CXCL12 um den alleinigen Liganden von CXCR4 handelt. In neusten Studien wurde jedoch auch die Bindung des Macrophage migration inhibitory factor (MIF), eines atypischen Chemokins, an den CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4 bestätigt. Die Hauptaufgabe von MIF besteht in der Steuerung der Migration und Infiltration mesenchymaler Stromazellen (MSC) hin zu Tumorgewebe. Generell ist über den MIF/CXCR4-Signalweg zum heutigen Stand wenig bekannt und seine Bedeutung für die Tumorentwicklung bleibt abzuwarten (100, 101).

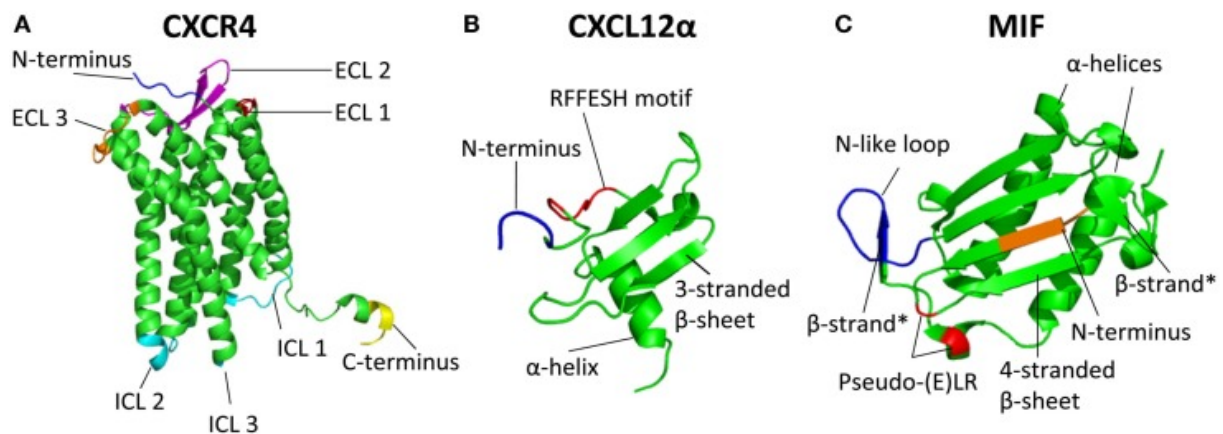


Abbildung 8: Dreidimensionale Struktur des Chemokinrezeptors CXCR4 und seiner Liganden CXCL12 und MIF
Entnommen aus (108)

Die Funktion des CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4 auf die Regulation von Zelladhäsion und -steuerung wird durch die Bindung von CXCL12 induziert. Infolgedessen kommt es zur Ausschüttung von Botenstoffen, sogenannten Chemotaxis. Diese bewirken, dass CXCR4-exprimierende Tumorzellen entlang des Konzentrationsgradienten zu Orten mit hohem CXCL12 Vorkommen migrieren, wozu unter anderem Lymphknoten, Lunge, Leber und Knochenmark gehören (17). In der Zielregion wird die Krebszelle durch die Bindung von CXCR4 an CXCL12 verankert und über die Aussendung antiapoptotischer Signale der Tod der Krebszelle verhindert (102). Außerdem generieren die, die Krebszellen umgebenden Stromazellen, eine gute Wachstums Umgebung für den Tumor, indem sie durchgehend parakrin CXCL12 sezernieren (103). Dieses CXCL12 reiche Tumorumfeld bedingt ebenfalls die Hochregulation der Angiogenese, die wiederum das Tumorstadium fördert (104, 105). Die Vaskulogenese wird durch das Anlocken CXCR4 positiver Vorläuferzellen aus dem

Knochenmark zum Tumor entlang des Konzentrationsgradienten zusätzlich gesteigert, indem diese die Bildung neuer Blutgefäße induzieren und zur Anlockung weiterer Vorläuferzellen beitragen (21, 106-108) (**Abb. 11**). Durch diese Eigenschaften lassen sich der Einfluss der CXCL12/CXCR4-Achse auf den Tumorprogress, die Tumorangiogenese, die Entstehung von Metastasen und das Überleben erklären (17, 18).

In über 23 soliden menschlichen Krebsentitäten konnte mittlerweile eine Überexpression von CXCR4/CXCL12 nachgewiesen werden (109-111). Zu diesen gehören unter anderen das Mammakarzinom (112), das Pankreaskarzinom (113) und das kolorektale Karzinom (110, 114). Beim Magenkarzinomen konnten erhöhte CXCR4 und CXCL12 Werte mit vermehrter Lymphknoten- und Lebermetastasierung in Verbindung gebracht werden (13). Generell konnte eine Assoziation hoher CXCR4 und CXCL12 Expression mit niedrigeren Überlebensraten, vermehrter Metastasierung und schlechterer Prognose festgestellt werden. Darauf aufbauend wurden mehrere Studien designt, die das CXCR4-Vorkommen in gastrointestinalen Tumoren als prognostischen Biomarker untersuchten. Eine 2015 von Lim et al. publizierte Studie konnte demzufolge eine 92,8 % Spezifität und eine 75 % Sensitivität bei der Vorhersage von Fernmetastasen bei Magenkarzinomen vorzeigen, indem eine Serumprobe auf das Vorhandensein von CXCL5, CXCL12 und CEA untersucht wurde (115, 116). Fujita et al. beschreibt in seiner Studie aus dem Jahr 2015 ebenfalls CXCR4 als neuartigen Marker für hochgradig metastasierende Magenkrebsstammzellen. In seinem Mausmodell zeigte er, dass CXCR4 positive Magenkrebszellen Fähigkeiten zum Wachstum ohne Verankerung, zur Tumorinduktion in der Maus, zur Produktion differenzierter Tochterzellen und zur Resistenz gegenüber zytotoxischen Medikamenten aufwiesen (117). Auch eine Meta-Analyse aus dem Jahr 2019 von 24 unabhängigen Studien, bei denen insgesamt 3637 Patienten mit gastrointestinalen Tumoren untersucht wurden, konnte eine Verbindung zwischen der übermäßigen CXCR4 Expression und einer daraus resultierenden schlechteren Prognose herstellen (19).

Mit dem Wissen über die Bedeutung des CXCR4/CXCL12 Signalweges für die Metastasierung und die Prognose des Magenkarzinoms wird durch das Eingreifen an dieser Stelle ein möglicher neuer therapeutischer und diagnostischer Ansatzpunkt geschaffen (108). Das zum aktuellen Zeitpunkt am meisten verwendete Medikament zur Anvisierung des beschriebenen Signalwegs stellt der CXCR4-Inhibitor AMD3100 (Plerixafor) dar (102). Durch Inhibition der Signalweitergabe wird das Tumorstadium und die Vermehrung der Tumorzellen unterbunden (17). Zum jetzigen Zeitpunkt ist Plerixafor zu dieser Anwendung in Deutschland nicht zugelassen. In aktuellen Studien werden weitere monoklonale Antikörper und Small Molecules zum Eingriff in den CXCR4/CXCL12 Signalweg untersucht (102).

3. Patienten, Material und Methoden

3.1. Patientenkollektiv und Datenerhebung

Das hier analysierte Kollektiv umfasst Patienten, die im Zeitraum von September 2003 bis April 2015 an der Universitätsmedizin Mainz an einem Magenkarzinom operiert wurden. Die Studie schließt ausschließlich operativ behandelte Patienten ein. Patienten, die eine alleinige Chemotherapie oder anderweitige Therapie erhielten, werden bei dieser Untersuchung nicht beachtet. Das Kollektiv setzt sich aus 173 Patienten zusammen, wovon bei 159 Patienten eine immunhistochemische Untersuchung des Tumormaterials durchgeführt wurde. 14 Präparate mussten von der Auswertung ausgeschlossen werden aufgrund von nicht nachweisbarem, nicht auffindbarem oder nicht für die Beurteilung ausreichendem Tumormaterial. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem reduzierten Patientenkollektiv.

Die Patientendaten wurden aus einer bereits bestehenden Tabelle übernommen, die anhand der digitalen Krankenakte der Universitätsmedizin Mainz mittels SAP-Suchanfrage erstellt wurde. Im April 2021 wurde die bereits bestehende Tabelle aktualisiert. Somit erstreckt sich der Beobachtungszeitraum bis April 2021.

Die bereits bestehende SPSS-Tabelle beinhaltet folgende Patienten-, Tumor- und Therapiecharakteristika:

- Allgemeine Patientendaten
 - Alter, Geschlecht
 - ggf. Todesdatum, Datum des letzten Kontaktes
 - Körpergröße und Gewicht
 - Begleiterkrankungen und Risikofaktoren

- Tumordaten
 - uTNM-Stadium
 - pTNM-Stadium
 - Grading
 - R-Stadium
 - Lokalisation des Karzinoms
 - Laurén-Klassifikation
 - Tumorinfiltration in Lymphgefäße, Venen und Perineuralscheiden

- Therapiedaten
 - Operationsdatum
 - Chemotherapie (neoadjuvant und adjuvant)
 - Bestrahlung (neoadjuvant und adjuvant)

- Verlauf
 - Auftreten Rezidiv/Fernmetastasen
 - Tumormarker (prä- und postoperativ)

Die Tumorpräparate wurden aus dem Archiv des Institutes für Pathologie der Universitätsmedizin Mainz bezogen. Hierbei handelt es sich ausschließlich um OP-Großpräparate, die anschließend geschnitten und immunhistochemisch auf die Rezeptoren CD44 und CXCR4 gefärbt und mikroskopisch ausgewertet wurden.

3.2. Material

Im Folgenden sind alle für diese Studie verwendeten Geräte und Materialien aufgelistet.

1. Arbeitsgeräte

- Brutschrank, Memmert
- Kühlschrank, Liebherr KBes 4260
- Laborwaage, Sartorius LC 4200
- Dampfgarer, Braun 3216
- Färbeautomat, DAKO Cytomation Autostainer Plus
- Mikrotom, Zeiss Rotationsmikroskop Hyrax M55
- Lichtmikroskop Olympus CX21
- Lichtmikroskopkamera Olympus CX50

2. Verbrauchsmaterialien und Glaswaren

- Objektträger, Gerhard Menzel GmbH
- Deckgläser 24x50mm, Gerhard Menzel GmbH
- Messzylinder (50ml), VWR International
- Glasküvetten, VWR International
- Metallbügel, VWR International
- Hitzebeständige Küvetten, VWR International
- Pipetten, Eppendorf SE

3. Chemikalien

- EnVision Antibody Diluent, Dako Denmark A/S
- EnVision FLEX Substrate Working Solution, Dako Denmark A/S
- Sekundärreagenz: EnVision FLEX + Rabbit (LINKER), Dako Denmark A/S
- Tertiärreagenz: EnVision FLEX HRP (horseradish peroxidase detection system), Dako Denmark A/S
- EnVision Wash Buffer (20x), Dako Denmark A/S
- EnVision FLEX Target Retrieval Solution (50x), Dako Denmark A/S
- EnVision FLEX Block, Dako Denmark A/S
- Chromogen: FLEX DAB, Dako Denmark A/S
- 100% Ethanol (reinst), Carl Roth GmbH
- 96% Ethanol (40ml A. dest. + 960ml 100% Ethanol)
- 70% Ethanol (300ml A. dest. + 700ml 100% Ethanol)
- 50% Ethanol (500ml A. dest. + 100% Ethanol)
- Xylol, Carl Roth GmbH
- Leitungswasser, Stadtwerke Mainz
- Destilliertes Wasser, B. Braun Melsungen AG
- Hämatotoxylin, Dako Denmark A/S
- Entellan, Eukitt, Sigma Aldrich

4. Antikörper

- CXCR4 Primärantikörper Verdünnung 1:100 (Klon UMB2 (ab 124824), 1µl CXCR4 + 99µl EnVision Antibody Diluent), Abcam Berlin
- CD44 Primärantikörper (Verdünnung 1:100 (Klon DF1485), 1µl CXCR4 + 99µl EnVision Antibody Diluent), Dako Denmark A/S

5. Tumorpräparate

Die Paraffinblöcke wurden vom pathologischen Institut der Universitätsmedizin Mainz bezogen. Die Operation aller Patienten erfolgte an der genannten Klinik.

6. Verwendete Software

- I. Microsoft Word 356
- II. Microsoft Excel 365
- III. SAP-Patientenversorgung
- IV. SPSS 27.0 für Mac

3.3. Methoden

3.3.1. Immunhistochemie im Allgemeinen

Bei der Immunhistochemie (IHC) handelt es sich um eine histologische Methode zum Nachweis spezieller Strukturen im Präparat unter Verwendung einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Der Molekülabschnitt eines Antigens, der durch den Antikörper gebunden wird, wird als Epitop bezeichnet. Bei der immunhistochemischen Reaktion wird der Antikörper, der an das Epitop bindet, als Primärantikörper bezeichnet. Er sollte eine hohe Spezifität und Bindungsstärke gegenüber dem gesuchten Antigen aufweisen, um die Entstehung von Kreuzreaktionen mit anderen Antigenen zu reduzieren. Es kann zwischen einer direkten und einer indirekten Methode unterschieden werden.

Bei der **direkten Methode** ist das Enzym direkt an den Primärantikörper gebunden. Nach erfolgter Bindung des Antigens durch den Primärantikörper werden alle nicht gebundenen Antikörper abgewaschen. Durch Umsetzung des zugegebenen Substrates durch das Enzym entsteht ein brauner Farbumschlag an der Stelle des Epitops, welcher unter dem Lichtmikroskop beurteilt werden kann. Da es nur zu genau so vielen Farbumschlägen kommt, wie Epitope gebunden werden, stößt die direkte Methode bei einer geringen Anzahl an Antigenen an ihre Grenzen (**Abb. 12**).

In dieser Arbeit wurde zum Nachweis der Zielstrukturen die **indirekte Methode** verwendet. Sie wird heute standardmäßig eingesetzt und unterscheidet sich von der direkten Methode durch die Verwendung eines Sekundärantikörpers. Der Primärantikörper bindet im ersten Schritt an das Epitop. Anschließend wird dieser durch den Sekundärantikörper gebunden, der bei dieser Methode das Enzym trägt, welches mit dem Substrat interagiert und dessen Farbspektrum verändert. Ein Primärantikörper kann durch mehrere Sekundärantikörper gebunden werden. Dadurch wird eine Signalamplifikation erreicht, was den Nachweis geringer Antigenmengen erlaubt (**Abb. 12**).

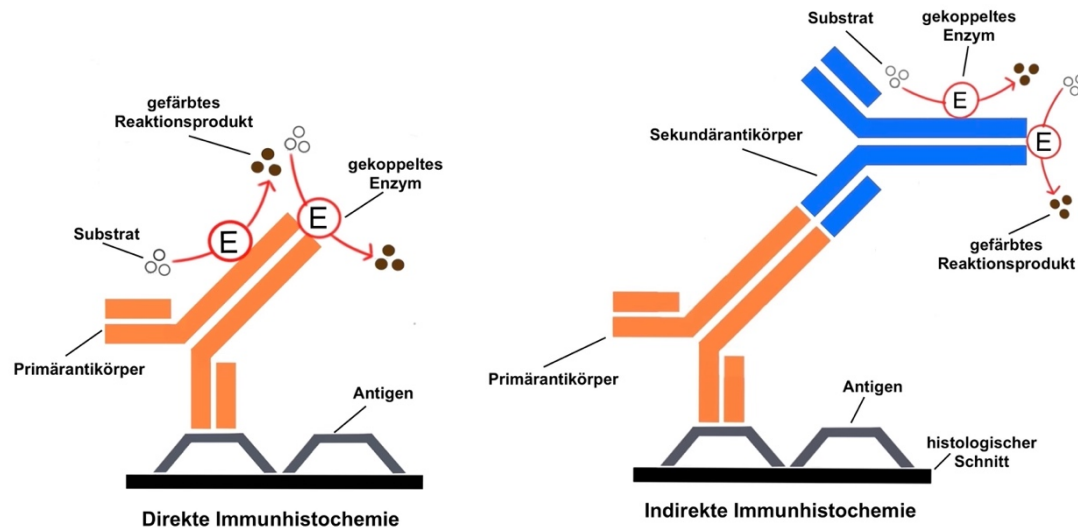


Abbildung 9: Direkte und indirekte Immunhistochemie

3.3.2. Immunhistochemische Färbungen CD44 und CXCR4

3.3.2.1. Vorbereitung der Präparate

Im ersten Schritt der Vorbereitung erfolgt das Schneiden der paraffinierten Tumorblöcke mithilfe eines Mikrotoms in 4 µm dicke Schnitte und das Aufziehen der fertigen Schnitte auf einen Objektträger. Anschließend müssen die paraffinierten Schnitte entparaffiniert und rehydriert werden, was durch die Gabe in ein Xylolbad und die Führung durch eine absteigende Alkoholreihe geschieht. Das Schema sieht wie folgt aus und erfolgt bei Raumtemperatur:

1. 3 x 5min. reines Xylol
2. 2 x 5min. 100%iges Ethanol
3. 2 x 5 min. 96%iges Ethanol
4. 2 x 5min. 70%iges Ethanol
5. 2 x 5min. 50%iges Ethanol

Nachfolgend werden die Schnitte in destilliertem Wasser gespült und in die Dako EnVision Target Retrieval Solution Pufferlösung (Citratpuffer, pH 6,1) gelegt. Hier erfolgt die Epitop-Demaskierung durch Hitze im Dampfgarer bei 95 °C für 35 min. Dies ist notwendig, da die Konservierung der Schnitte in Formalin zu Veränderungen der Struktur der Epitope führt, wodurch die Antikörper nicht binden können. Durch Hitze werden diese Vernetzungen aufgebrochen und die Antikörperbindung an die Epitope wieder ermöglicht.

Abschließend werden die Schnitte im Leitungswasser für 7 min abgekühlt und nachfolgend in der Pufferlösung FLEX Wash Buffer für 5 min aufbewahrt. Im weiteren Verlauf es ist wichtig, das Austrocknen der nun rehydrierten Präparate zu verhindern.

3.3.2.2. Ablauf der Färbung

Um jedes Präparat unter den gleichen Bedingungen zu färben, wurden die IHC mithilfe des Färbeautomaten „DAKO Cytomation Autostainer Plus“ durchgeführt. Hierbei wurde sich am Färbeprotokoll des Herstellers orientiert, die Reagenzien in ihre vorgesehenen Haltevorrichtungen eingefügt und die Objektträger an den dafür vorgesehenen Stellen eingelegt.

Es wurde ein eindeutig stark positiv gefärbtes Präparat als Positivkontrolle eingesetzt und eine Negativkontrolle mithilfe desselben Präparats ohne Behandlung mit Erstantikörpern durchgeführt.

1. Schritt: Enzyblockierung

Durch Zugabe von 100 µl Flex Peroxidase Blocking Reagent wurden die im Gewebe vorkommenden Peroxidasen blockiert. Dies ist notwendig, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch unspezifische Bindungen und Enzymreaktionen zu vermeiden und somit eine Hintergrundfärbung zu minimieren. Die Inkubation erfolgt bei jedem Schritt für 5 min. Anschließend werden die Schnitte mit TRS-Puffer gewaschen.

2. Schritt: Zugabe des Primärantikörpers

Als Nächstes erfolgt die Applikation der Primärantikörper. Hierzu werden sowohl die CXCR4- als auch die CD44-Antikörper in Dosierungen von je 100 µl pro Schnitt aufgetragen und für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend werden die Schnitte mit TRS-Puffer gewaschen.

3. Schritt: Zugabe des Sekundärantikörpers

Im nächsten Schritt wird der Sekundärantikörper (FLEX+ Rabbit (LINKER)) hinzugegeben, welcher 15 min bei Raumtemperatur auf den Schnitten verbleibt. Anschließend werden die Schnitte mit TRS-Puffer gewaschen.

4. Schritt: Polymerreaktion

Im vierten Schritt erfolgt die Zugabe von 100 µl Tertiärreagenz (EnVision FLEX HRP) pro Schnitt. Dieses mit HRP markierte Polymer bindet an den Sekundärantikörper und wird für 20 min auf den Schnitten belassen, bis wieder eine Reinigung der Schnitte mit TRS-Puffer erfolgt.

5. Sichtbarmachen durch DAB-Chromogen Farbumschlag

Durch das Auftragen des Chromogens Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid (DAB) auf die Präparate wird die Antigen-Antikörperreaktion sichtbar gemacht. DAB fungiert als Substrat der Meerrettichperoxidase (horseradish peroxidase, HRP) und wird durch diese zu einem braunen Farbstoff umgewandelt. Die Inkubation des DABs erfolgt jeweils für 5 min. Anschließend werden die Schnitte mit TRS-Puffer gewaschen. Es erfolgt eine erneute Wiederholung des fünften Schritts.

6. Gegenfärbung mit Hämatotoxylin

Zur Darstellung des restlichen Gewebes und zum Erreichen eines besseren Kontrastes erfolgt eine Gegenfärbung mit 100 µl Hämatotoxylin für jeweils 3 min pro Schnitt bei Raumtemperatur. Nachfolgend werden die Präparate unter fließendem Leitungswasser für 10 min gespült und anschließend für 5 min in destilliertem Wasser geschwenkt.

Zur Durchführung der Dehydrierung werden die Schnitte jeweils 5 min nacheinander durch die aufsteigende Alkoholreihe befördert. Die Dehydrierung wird durch ein dreifaches Tauchen in Xylol beendet, was die Schnitte erneut reinigt und entfettet. Das Schema lautet wie folgt:

1. 2 x 5min. 50%iges Ethanol
2. 2 x 5 min. 70%iges Ethanol
3. 2 x 5min. 96%iges Ethanol
4. 2 x 5min. 100%iges Ethanol
5. 3 x 5min. reines Xylol

Im letzten Schritt werden die fertigen Schnitte mit Entellan auf einem Objektträger positioniert und mit einem Deckglas unter Ausstreichen möglicher Luftbläschen eingedeckelt.

3.3.3. Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

Es wurden 159 histologische Großpräparate immunhistochemisch gefärbt und ausgewertet. Die Auswertung der Schnitte erfolgte mithilfe des Lichtmikroskops der Firma Olympus, wobei die 10xer, 20xer und 40xer Vergrößerung verwendet wurde. Eine unabhängige Kontrolle erfolgte durch Herrn Dr. med. Arno Schad des Instituts für Pathologie der Universitätsmedizin Mainz. Dabei fand die Beurteilung der gefärbten Schnitte verblindet statt, ohne Wissen über die dazugehörigen Patienten und deren Charakteristika.

Bei der Beurteilung der Schnitte waren große Unterschiede der Intensitäten der Färbungen auffällig. In der Literatur erfolgt die Einteilung der Färbintensität meist in 4 Kategorien: (0),

schwach (1), moderat (2) und stark (3). Hierbei bedeutet ein negatives Färbeergergebnis, dass die gesuchte Struktur nicht vorhanden ist und daher keine Bindung des Primärantikörpers an die gesuchte Struktur stattgefunden hat. Infolgedessen ist kein Farbumschlag als Nachweis der Proteinexpression erkennbar. Ein schwaches Färbeergergebnis bedeutet eine geringe Proteindichte. Der Nachweis eines moderaten oder starken Farbumschlags wird als hohe oder Überexpression beschrieben. Nach dieser Methode erfolgte ebenfalls die Einteilung der Färbeergergebnisse unseres Kollektivs.

Die Heterogenität der Tumoren beschränkte sich jedoch nicht nur auf die unterschiedlichen Stärkegrade der Färbung, sondern auch der Anteil an gefärbten Zellen innerhalb eines Tumors variiert stark. So zeigten viele Tumoren nur punktuell gefärbte Zellareale und waren nicht gleichmäßig im gesamten Tumorzellverband gefärbt. Dies veranlasste zur Einteilung der Tumoren in weitere vier Kategorien anhand ihres Anteils positiver Zellen, um dadurch eine bessere Vergleichbarkeit der Präparate untereinander zu gewährleisten. Bei einem gefärbten Anteil zwischen 1 bis 20 % erhielt das Präparat die Kategorie 1, bei einem Anteil von 21 bis 50 % die Kategorie 2 und bei einem Anteil von über 50 % die Kategorie 3. Nicht gefärbte Tumoren wurden als Kategorie 0 eingestuft. Bei dieser Einstufung wurden auch Tumoren mit sehr geringem gefärbten Tumoranteil als positiv gewertet.

Um die beschriebene Heterogenität der gefärbten Areale innerhalb eines Tumors stärker zu gewichten, wurde zur Beurteilung der CD44 Expression in der Membran in Anlehnung an den vom Remmele et al. 1987 beschriebene Immunreaktive Score (IRS) hinzugezogen (118). Dieser berechnet sich nach der folgenden Formel:

$$\text{IRS} = \text{Färbeintensität} * \text{gefärbter Anteil}$$

Dazu wurde eine neue Variable kreiert, die die Färbeintensität (negativ=0, schwach=1, moderat=2 und stark=3) mit dem gefärbten Anteil (0 %=0, 1–20 %=1, 21-50 %=2 und > 50 %=3) multipliziert. Die entstandenen Werte haben eine Spannweite von 0 (negativ) bis 9 (über 50% stark gefärbt). Wie im untenstehenden Schaubild dargestellt (**Abb. 13**), wurden im nächsten Schritt die Tumoren mit negativer bzw. schwacher Färbung und einem geringen gefärbten Anteil (0-2) verglichen mit Tumoren moderater und starker Expression, die einen großen gefärbten Anteil aufzeigten (3,4,6,9). Im Folgenden wird zur Untersuchung der CD44 Membranfärbung immer der berechnete Score zur Anwendung gebracht (**Tab. 4**). Bei der CXCR4 Membranfärbung wurde aufgrund der geringen Anzahl gefärbter Präparate auf die Verwendung des IRS verzichtet.

Patienten, Material und Methoden

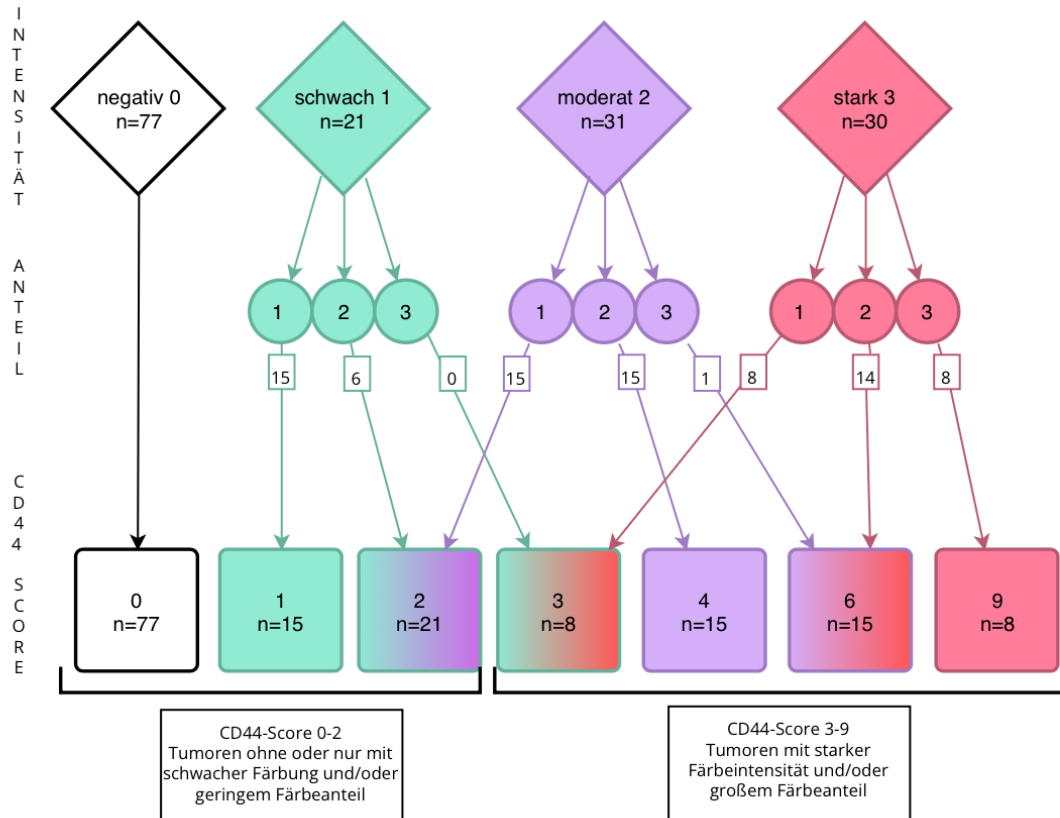


Abbildung 10: Berechnung des CD44-Membranfärbungsscores

CD44 Bedeutung Score

0	negativer Tumor, kein gefärbter Anteil
1	geringer Teil des Tumors ist schwach gefärbt
2	mittlerer Teil des Tumors ist schwach gefärbt oder kleiner Teil des Tumors ist moderat gefärbt
3	großer Teil des Tumors ist schwach gefärbt oder ein kleiner Teil des Tumors ist stark gefärbt
4	mittlerer Teil des Tumors ist moderat gefärbt
6	großer Teil des Tumors ist moderat gefärbt oder mittlerer Teil des Tumors ist stark gefärbt
9	großer Teil des Tumors ist stark gefärbt

Tabelle 1: Werte des CD44-Membranfärbungsscores und ihre Bedeutung

Zusätzlich wurde die Färbung des Tumorstromas beurteilt. Auch hier gab es eine große Variabilität zwischen den Präparaten. In manchen Präparaten war ausschließlich das Tumorstroma gefärbt und der Tumor zeigte sich komplett negativ (s. **Abbildung 23**), in anderen waren sowohl Tumorstroma als auch Tumor gefärbt. Dies ist gut in der **Abbildung 22 B** zu sehen. Hier ist auf der rechten Bildseite keine Färbung der Krebszellen zu erkennen, das Tumorstroma weist jedoch eine Färbung auf. Auf der linken Seite des Bildes sind sowohl

Tumor als auch Tumorstroma gefärbt und es ist schwierig diese beiden voneinander abzugrenzen.

3.3.4. Statistische Auswertung

Die statistische Analyse der erhobenen Daten erfolgte mithilfe der Statistiksoftware SPSS Statistics (Statistical Package for Social Sciences, Softwareversion: 27.0). Die bereits bestehende SPSS-Tabelle wurde mit den erhobenen Färbeergebnissen vervollständigt und aktualisiert. Herr Dr. Manuel Herbst vom Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik (IMBEI) der Johannes Gutenberg-Universität Mainz begleitete die Auswertung beratend.

Zunächst wurde eine deskriptive Statistik des Gesamtkollektivs angefertigt, wobei die Häufigkeiten aller Patienten-, Tumor- und Therapievariablen berücksichtigt wurden. Anschließend erfolgte eine deskriptive Darstellung der immunhistochemischen Färbeergebnisse in tabellarischer, grafischer und geschriebener Form. Mittels Kreuztabellen und dem exakten Fisher-Test wurden die Expression von CD44 und CXCR4 und die vorher untersuchten klinischen Daten auf Übereinstimmungen überprüft. Die Beurteilung der Gesamtüberlebenszeit (ÜLZ) erfolgte anhand von Kaplan-Meier-Kurven. Auf der x-Achse ist das Überleben in Monaten dargestellt und auf der y-Achse lassen sich die kumulativen Überlebenszeitraten ablesen. Zur Untersuchung möglicher Unterschiede zwischen den Gruppen wurde der Log-Rank-Test durchgeführt. Hierbei wurden Patienten, die im Laufe des Beobachtungszeitraums den festgelegten Endpunkt (hier: Tod) noch nicht erreicht haben, als zensierte Fälle mit einbezogen.

Abschließend erfolgte eine Analyse mehrerer Variablen auf das Gesamtüberleben mittels Cox-Regressionsmodellen. Das Signifikanzniveau wurde generell auf 5 % ($p < 0,05$) festgelegt.

4. Ergebnisse

4.1. Allgemeine deskriptive Statistik des Gesamtkollektivs

Die im Folgenden aufgeführten Ergebnisse der statistischen Auswertung beziehen sich ausschließlich auf die immunhistochemisch untersuchten 159 Patienten.

4.1.1. Patientendaten

	Patientencharakteristik	Anzahl, n=	Häufigkeit in %
Gesamtzahl		159	100
Geschlecht	männlich	109	68,6
	weiblich	50	31,4
Alter bei Erstdiagnose	Minimum	30	
	Maximum	84	
	Mittelwert	63,6	
	Std.-Abweichung (SD)	12,3	
Adipositas (ab BMI 25)	nein	64	40,3
	ja	85	53,5
	fehlend	10	6,3
<i>Helicobacter pylori</i>	nein	83	52,2
	ja	27	17
	fehlend	49	30,8
Nikotinkonsum	nein	38	23,9
	ja	72	45,3
	fehlend	49	30,8
Diabetes mellitus	nein	106	66,7
	ja	36	22,6
	fehlend	17	10,7
Hypertonie	nein	56	35,2
	ja	87	54,7
	fehlend	16	10,1
Refluxösophagitis/Gastritis	nein	51	32,1
	ja	85	53,5
	fehlend	23	14,5

Tabelle 2: allgemeine Patientencharakteristika

Ergebnisse

Das untersuchte Patientenkollektiv setzt sich aus 68,6 % Männern (n=109) und 31,4 % Frauen (n=50) zusammen. Somit liegt das Verhältnis der Geschlechterverteilung bei knapp 2:1. Das Durchschnittsalter bei Erstdiagnose beläuft sich auf 63,6 Jahre (SD 12,3), wobei der jüngste Patient im Alter von 30 Jahren und der älteste Patient im Alter von 84 Jahren diagnostiziert wurden.

In Bezug auf die Risikofaktoren wurde bei 53,5 % der beurteilten Patienten ein Body-Mass-Index (BMI) von über 25 festgestellt (n=85). Außerdem gaben 45,3 % (n=72) einen Nikotinkonsum an, 22,6 % (n=36) litten an Diabetes mellitus und 54,7 % (n=87) an arterieller Hypertonie. Darüber hinaus wurden nur bei 17 % (n=27) eine Besiedlung mit *Helicobacter pylori* (30 % ohne Angaben) nachgewiesen.

4.1.2. Tumorcharakteristika

4.1.2.1. Tumorlokalisation

Bei der Beurteilung der Lokalisation des Magenkarzinoms wurden mit Abstand die meisten Karzinome in der Kardia detektiert (39 %, n=62). Insgesamt war ziemlich genau die Hälfte aller Karzinome im Mageneingang bzw. im gastroösophagealen Übergang lokalisiert (50,3 %, n=80), die übrigen 49,7 % (n=79) im Magen. Die zweit- und dritthäufigsten Karzinomlokalisationen waren Korpus und Antrum mit 23,3 % und 21,4 %. Nur 1 Patient zeigte ein Karzinomwachstum im Fundus und 3 Patienten im Pylorus.

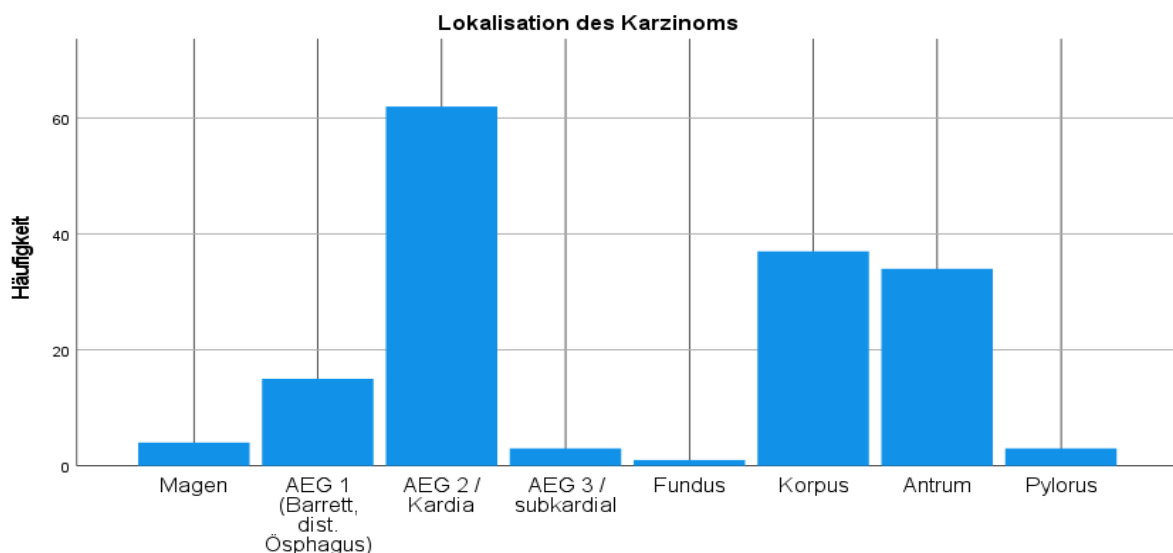


Abbildung 11: Lokalisationen des Karzinoms

4.1.2.2. Präoperatives Staging

Nur etwa die Hälfte der Patienten durchlief ein präoperatives Staging, wobei bei 53 Patienten (33,3 %) ein uT3 oder uT4 Status festgestellt wurde. Auch der Befall der Lymphknoten wurde endoskopisch beurteilt. Hier zeigten 25,2 % (n=40) Patienten keinen Befall und 32,1 % (n=51) einen N1 Befall oder höher. Ebenso wurde präoperativ bei 51 Patienten das Vorliegen von Tumormarkern untersucht. Im Zuge dessen wurde bei 26 Patienten (16,1 %) u.a. erhöhte Werte von CA 72-4, CA 19-9 und CEA nachgewiesen. Bei den restlichen untersuchten 25 Patienten (15,7 %) konnten keine erhöhten Werte festgestellt werden.

4.1.2.3. Postoperatives Staging

Eine postoperative Beurteilung der Tumorcharakteristika wurde bei fast allen im Kollektiv eingeschlossenen Patienten durchgeführt. Die Beurteilung erfolgte u.a. anhand der TNM-Klassifikation. Hierbei wurden knapp die Hälfte, 44,6 % (n=71), der Tumoren als Tumoren kleiner Größe in die Stadien T1 und T2 eingestuft und die anderen 54 % (n=86) in die Stadien T3 und T4. Der größte Teil der Tumoren wies zum Zeitpunkt der Operation bereits eine größere Ausdehnung auf und wurde daher in das Stadium T3 eingeteilt (42,1 %, n=67). Insgesamt wurde kein Tumor ins Stadium T0 klassifiziert. Bei der Beurteilung der Lymphknoten wiesen 39,6 % (n=63) keine Lymphknotenmetastasen auf. Bei 58,4 % (n=93) konnten Lymphknotenmetastasen nachgewiesen werden, wobei jeweils 20,1 % Stadium N1 und N2 (je n=32) und 18,2 % (n=29) mit über 7 befallenen Lymphknoten Stadium N3 zeigten. In 26 Fällen (16,4 %) wurden Fernmetastasen nachgewiesen, wobei das Peritoneum bei 11 Patienten, die Leber bei 4 Patienten und die Knochen bei 3 Patienten befallen waren. Bei der Beurteilung des Differenzierungsgrades wurde bei 39 % (n=62) eine gute Differenzierung bestimmt (Stadium G1 und G2). Zum Zeitpunkt der Beurteilung zeigte sich bei 55,3 % bereits ein schlechter Differenzierungsgrad (G3 und G4). Bei 150 Patienten des Kollektivs wurde das Wachstumsmuster nach Laurén bestimmt. Hierbei zeigten die meisten Tumoren ein intestinales Wachstumsmuster mit 37,1 %. Des Weiteren konnte bei 26,4 % ein diffuses Wachstum nachgewiesen werden. Nur 5,7 % wiesen einen Mischtyp auf. In 89,3 % (n=142) der Fälle konnte der Tumor ohne Rückstände in den Rändern entfernt werden. Bei lediglich 7,5 % (n=12) der Patienten blieben Tumorreste zurück (R1+R2). (**Tab. 7**)

Ergebnisse

		Anzahl n=	Häufigkeit in %
Laurén-Klassifikation	Intestinal	59	37,1
	Diffus	42	26,4
	Mischtyp	9	5,7
	fehlend	49	30,8
T-Status	pT1	36	22,6
	pT2	35	22
	pT3	67	42,1
	pT4	19	11,9
	fehlend	2	1,3
N-Status	pN0	63	39,6
	pN1	32	20,1
	pN2	32	20,1
	pN3	29	18,2
	fehlend	3	1,9
M-Status	pM0	101	63,5
	pM1	26	16,4
	fehlend	32	20,1
Grading	G1	7	4,4
	G2	55	34,6
	G3	88	55,3
	fehlend	9	5,7
R-Status	R0	142	89,3
	R1	12	7,5
	fehlend	5	3,1

Tabelle 3: Histopathologische Tumorcharakteristika

4.1.3. Therapie

Da das untersuchte Probenmaterial bei der Operation entnommen wurde, stellt die Operation das zentrale Element jeder Therapie dar, die bei den 159 eingeschlossenen Patienten durchgeführt wurde. Es lassen sich jedoch Unterschiede der neoadjuvanten und adjuvanten Therapie feststellen. Der Therapiealgorithmus bezogen auf die Chemotherapie des Patientenkollektivs ist in der **Abbildung 12** dargestellt.

Eine neoadjuvante Targeted Therapy wurde einzig in 8 Fällen vollzogen. Dahingegen erhielten 68 Patienten eine neoadjuvante Chemotherapie (42,8 %). Dabei kann unterschieden werden zwischen 23,9 %, die das PLF oder ECX/ECF-Protokoll erhielten und 18,9 %, die Oxaliplatin-basiert therapiert wurden. Nur 4,4 % der eingeschlossenen Patienten wurden neoadjuvant bestrahlt.

Ergebnisse

Etwas über die Hälfte der Patienten wurde im Anschluss an die Operation nicht mit einer adjuvanten Chemotherapie weiterbehandelt. Lediglich 68 Patienten erhielten eine adjuvante Chemotherapie, wobei bei 25 das PLF oder ECX/ECF Protokoll angewendet wurde, 17 mit dem FLOT-Protokoll therapiert wurden und 14 entweder mit FLO/FOLFOX, mit Oxaliplatin und Epirubicin oder mit XELOX versorgt wurden. 9 weitere Patienten erhielten andere Chemotherapiekombinationen.

Nach der adjuvanten Therapie wurden bei 42 Patienten die Tumormarker noch einmal bestimmt. Dabei zeigten 12,6 % (n=20) keine erhöhten Tumormarker. Bei den restlichen 22 Patienten konnten u.a. erhöhte CA 19-9, CEA und CA 72-4-Werte nachgewiesen werden. Im Verlauf wurde bei 35,2 % (n=56) das Auftreten von Rezidiven oder Metastasen registriert. 24 Patienten (15,1 %) blieben dagegen metastasenfrei. Für die Hälfte der Fälle lagen zum Zeitpunkt der Datenerfassung keine Informationen vor.

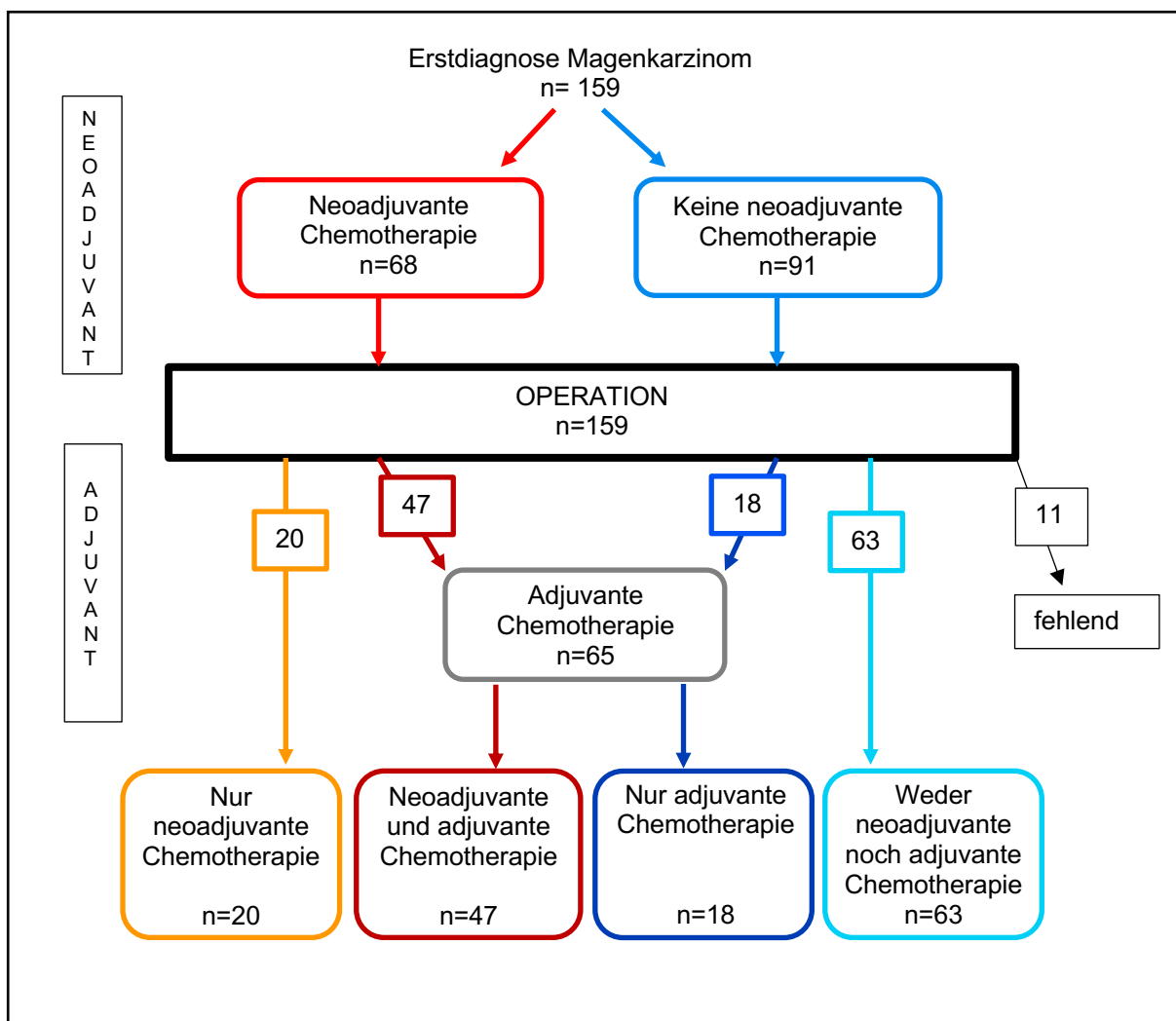


Abbildung 12: Therapiealgorithmus des Patientenkollektivs

4.2. Geschlechtsanalyse des Kollektivs

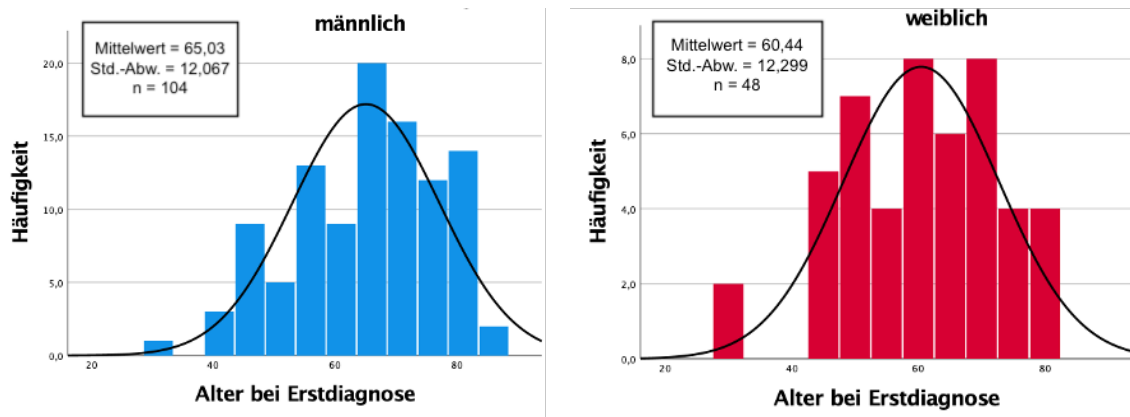


Abbildung 13: Altersverteilung (in Jahren) des Gesamtkollektivs bei Erstdiagnose aufgeteilt nach dem Geschlecht

Abhängig vom Geschlecht der Patienten konnten auffällige Unterschiede bei der Ausprägung diverser Tumorcharakteristika detektiert werden (**Abb. 16**). Bei deutlich mehr Frauen wurde die Erstdiagnose des Magenkarzinoms vor Vollendung des 65. Lebensjahrs gestellt ($p=0,028$). 64 % ($n=31$) aller Frauen wurden vor Vollendung des 65. Lebensjahrs diagnostiziert, im Vergleich zu 45 % ($n=49$) aller Männer, die generell eine spätere Diagnose erhielten (**Tab. 8**).

	Alter <= 65	Alter >65	gesamt
männlich	49 (45%)	60 (55%)	109
weiblich	32 (64%)	18 (36%)	50
gesamt	81	78	159

Tabelle 4: Zusammenhang zwischen dem Alter und dem Geschlecht ($p=0,028$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeiten in %))

Bei Betrachtung der Lymphknotenmetastasierung war es deutlich erkennbar, dass diese öfter bei Männern nachweisbar war (**Tab. 9**). So zeigten bei Erstdiagnose bereits 73 der insgesamt 109 männlichen Patienten Lymphknotenmetastasen (67 %), wohingegen nur bei 20 der insgesamt 47 Frauen (42,6 %) Lymphknotenmetastasen zum Zeitpunkt der Operation nachgewiesen werden konnten.

	N0	N1+N2+N3	fehlend	gesamt
männlich	36 (33%)	73 (67%)	0	109
weiblich	27 (57,4%)	20 (42,6%)	3	50
gesamt	63	93	3	159

Tabelle 5: Zusammenhang zwischen einer Lymphknotenbeteiligung und dem Geschlecht ($p=0,005$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeiten in %))

Ergebnisse

Bei der Lokalisation des Karzinoms stellte sich die Geschlechtsverteilung ähnlich dar. 61,5 % Karzinome, die bei männlichen Patienten nachgewiesen wurden, befanden sich am gastroösophagealen Übergang, wohingegen nur 26 % (n=13) aller Magenkarzinome bei weiblichen Patienten als AEG kategorisiert wurden (**Tab. 10**).

	Magen	AEG	gesamt
männlich	42 (38,5%)	67 (61,5%)	109
weiblich	37 (74%)	13 (26%)	50
gesamt	79	80	159

Tabelle 6: Zusammenhang zwischen der Tumorlokalisation und dem Geschlecht ($p < 0,001$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeiten in %))

Ein weiterer möglicher Zusammenhang lässt sich im Hinblick auf die Laurén-Klassifikation vermuten. Tendenziell zeigten Männer häufiger einen intestinalen (65,1 %) als einen diffusen Wachstumstyp nach Laurén (34,9 %). Der Zusammenhang konnte mit dem exakten T-Test nach Fischer im untersuchten Kollektiv jedoch nicht als signifikant bestätigt werden ($p = 0,097$, **Tab. 11** und **Abb. 17**).

	intestinal	diffus	fehlend	gesamt
männlich	41 (65,1%)	22 (34,9%)	46	109
weiblich	18 (47,4%)	20 (52,6%)	12	50
gesamt	59	42	58	101

Tabelle 7: Zusammenhang zwischen der Laurén-Klassifikation und dem Geschlecht ($p = 0,097$)

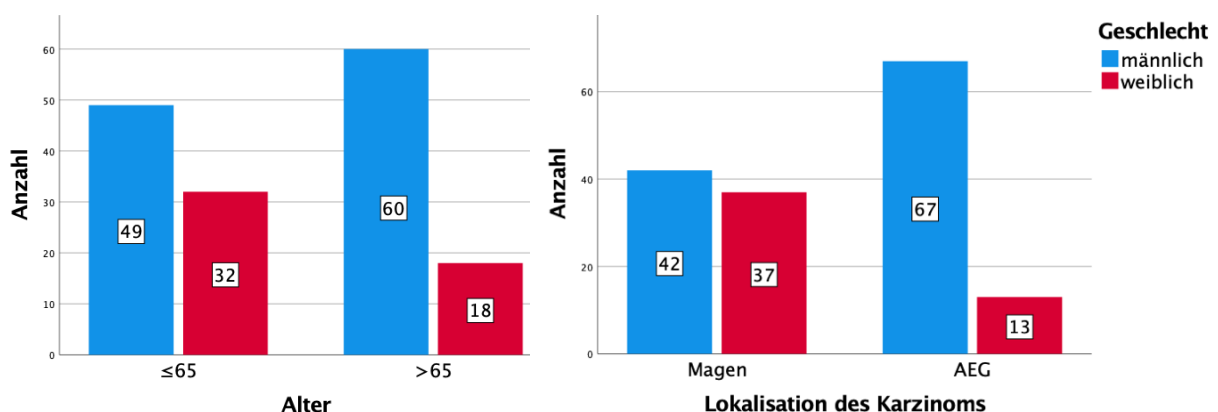


Abbildung 14: Geschlechterverteilung in Abhängigkeit von Alter bei Erstdiagnose (links) und Lokalisation des Karzinoms (rechts)

4.3. Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

In den folgenden Abbildungen (**Abb. 15-23**) sind die Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung mit Antikörpern gegen CXCR4 und CD44 dargestellt. Die Expression der Oberflächenproteine ist durch eine braune Färbung der Zellmembran zu erkennen (**Abb. 15, links**). Bei Nichtexpression tritt dieser Farbumschlag nicht auf und das Präparat wird als negativ gewertet (**Abb. 15, rechts**).

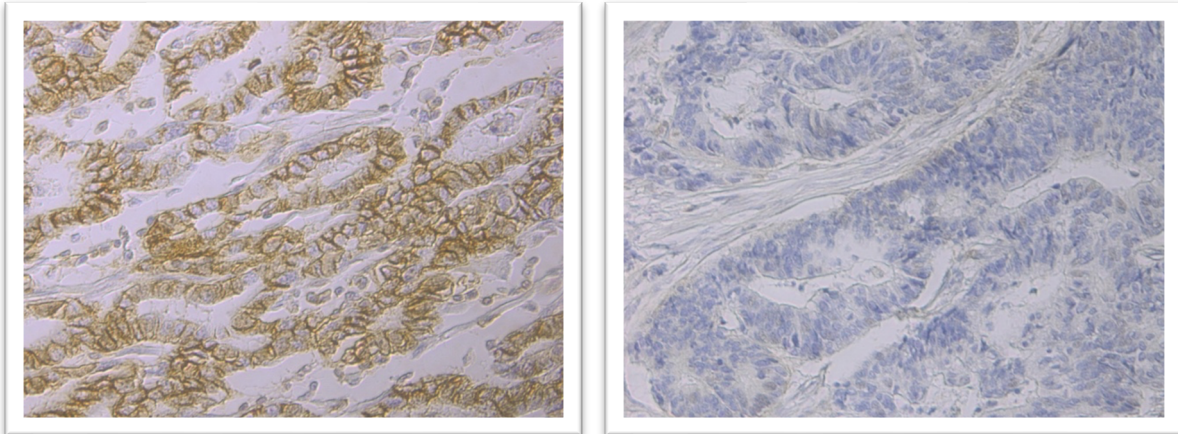


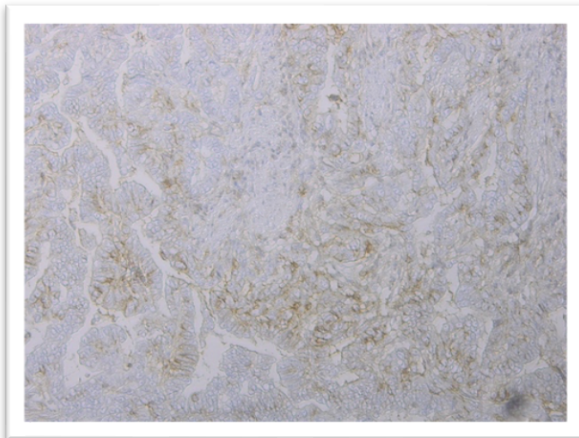
Abbildung 15: starke, positive Membranfärbung (links) und negativer Tumor (rechts)

Bei der Einteilung des Tumorgewebes wurde zwischen leicht, moderat und stark gefärbten Tumorzellen unterschieden. Die Einteilung der Färbung des Tumorstromas erfolgte nur in positiv oder negativ. Tumorzellen wurden als positiv gewertet, wenn sie eine vollständige und ausschließliche Membranfärbung aufzeigten. Neben der membrangebundenen Färbung der Tumorzellen wiesen zum Teil gesunde Zellen des Magengewebes eine positive Farbreaktion auf. Diese Färbungen fanden keine Berücksichtigung in der Auswertung.

Im Vergleich zur leichten Membranfärbung (**Abb. 16, 17**) lassen sich bei den moderaten und starken Färbungen (**Abb. 18-21**) die Tumorzellen durch die intensive Färbung sehr gut voneinander abgrenzen. Bei nicht gefärbten Präparaten zeigen sich die Zellwände gräulich bzw. sind optisch schlecht von dem Zytoplasma zu trennen (**Abb. 15**). Die stark gefärbten Zellen weisen im Vergleich zu den moderat gefärbten Zellen eine sehr prominente Membranfärbung auf.

Darüber hinaus war eine große Heterogenität des Färbeverhaltens erkennbar. Zum Teil zeigte sich eine homogene, durchgehende Färbung in einer Intensität des gesamten Tumors. In anderen Präparaten zeigte sich der Tumor nur punktuell gefärbt. Zur Veranschaulichung dieser Heterogenität dient die **Abbildung 22**. Auf der linken Seite ist in einem Präparat stark gefärbtes Tumorgewebe direkt neben komplett negativen Tumorzellen erkennbar. In derselben Abbildung auf der rechten Seite zeigt sich ein Farbumschlag ausschließlich in der Wachstumsfront des Tumors, was bedeutet, dass dieser ausschließlich dort CD44 exprimiert.

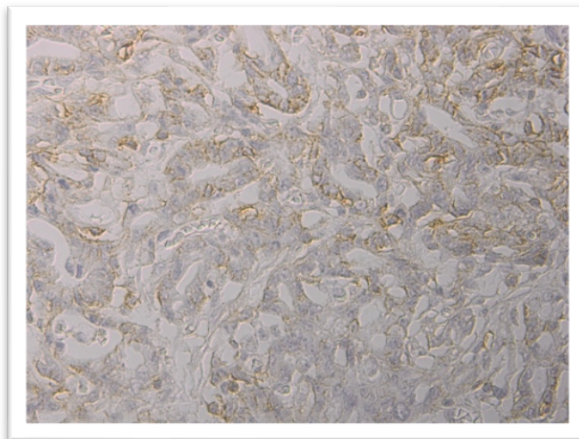
1. Leichte Färbeintensität CD44



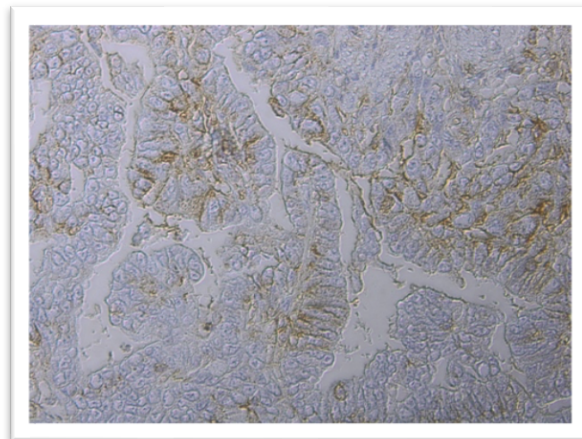
A



B



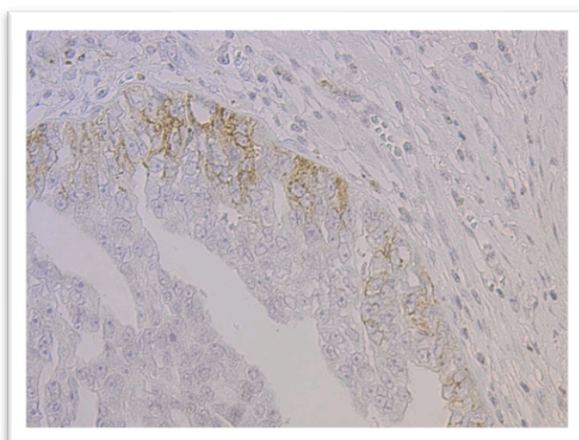
C



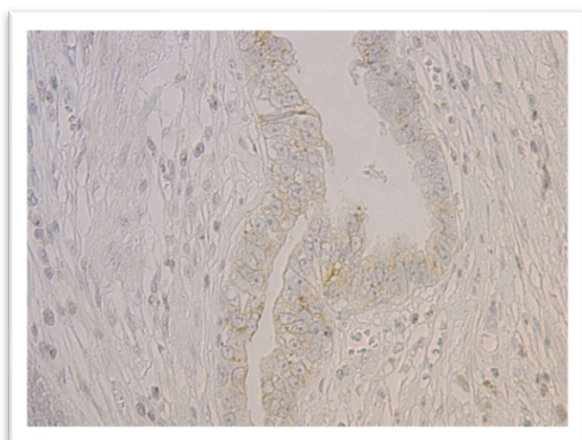
D

Abbildung 16 (A-D): Ausschnitte leichter CD44 Färbeintensitäten

2. Leichte Färbeintensität CXCR4



A



B

Abbildung 17 (A-B): Ausschnitte leichter CXCR4 Färbeintensitäten

3. Mittlere/Moderate Färbeintensität CD44

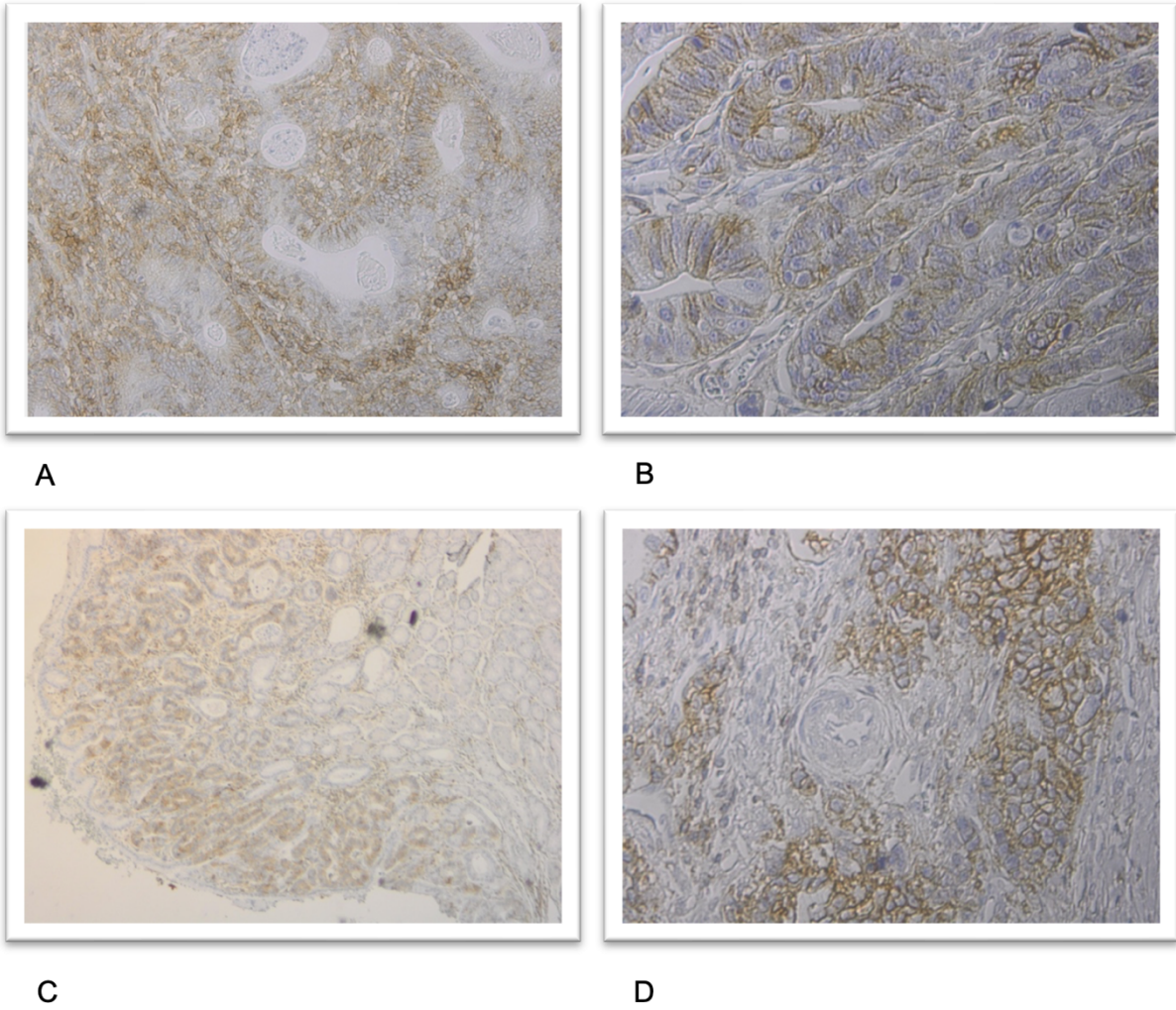


Abbildung 18 (A-D): Ausschnitte moderater CD44 Färbeintensitäten

4. Mittlere/Moderate Färbeintensität CXCR4

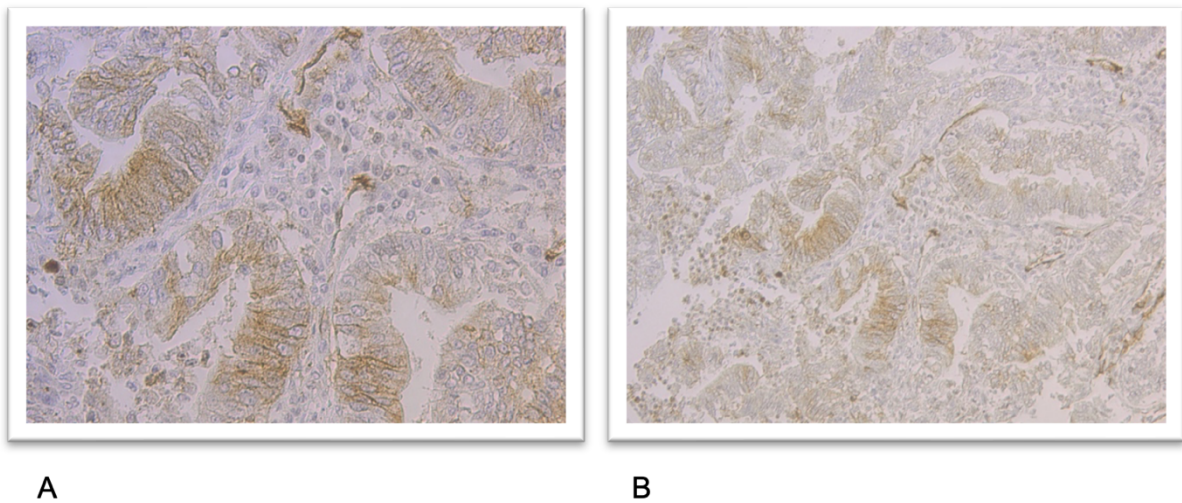
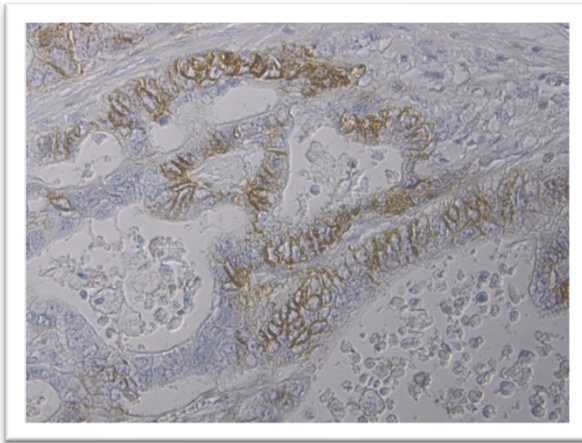
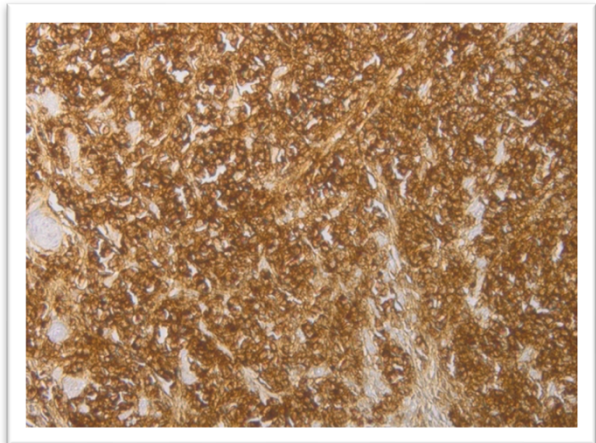


Abbildung 19 (A-B): Ausschnitte moderater CXCR4 Färbeintensitäten

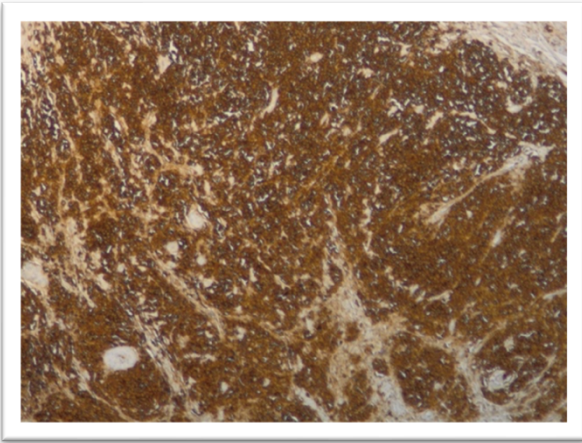
5. Starke Färbeintensität CD44



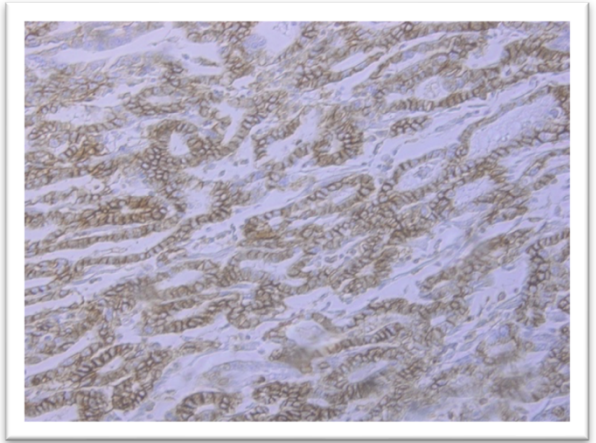
A



B



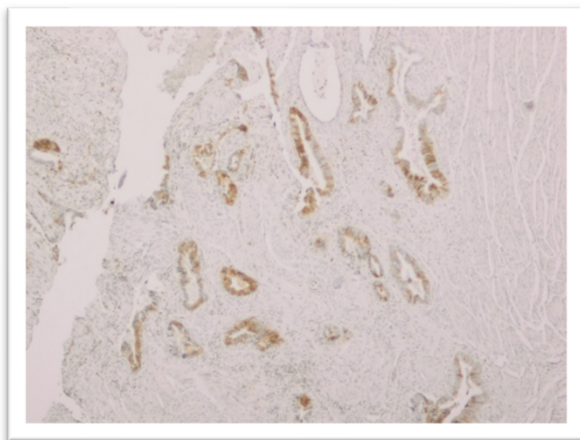
C



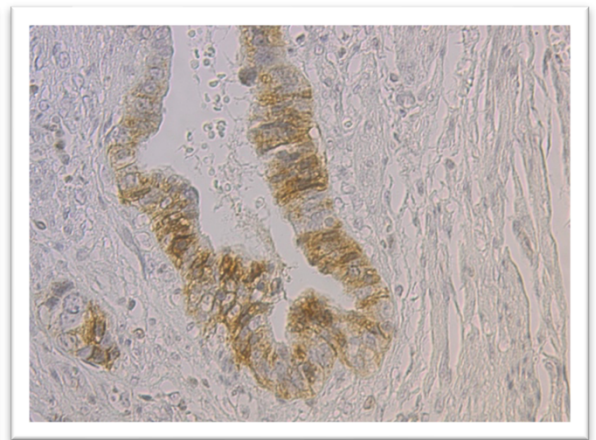
D

Abbildung 20 (A-D): Ausschnitte starker CD44 Färbeintensitäten

6. Starke Farbintensität CXCR4



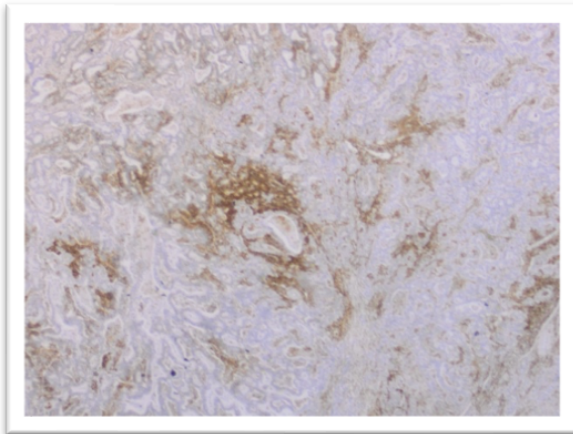
A



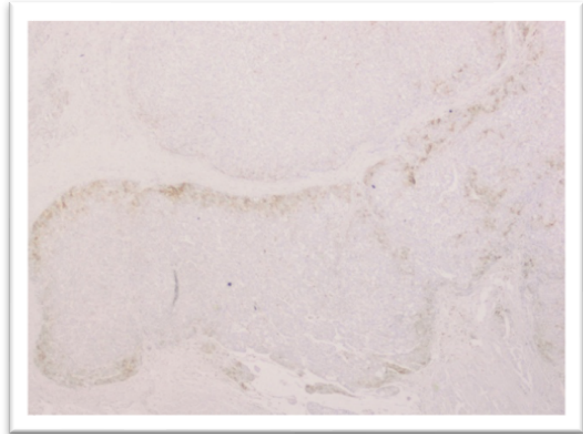
B

Abbildung 21 (A-B): Ausschnitte starker CXCR4 Färbeintensitäten

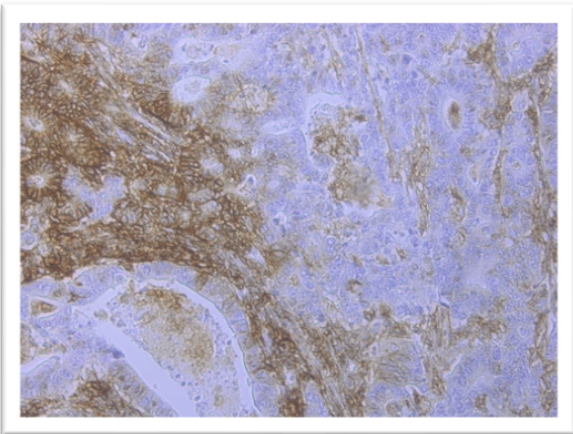
7. Heterogenität der Färbeintensitäten in einem Präparat



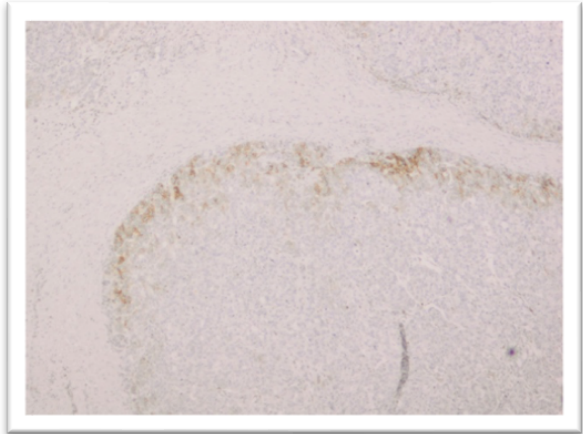
A



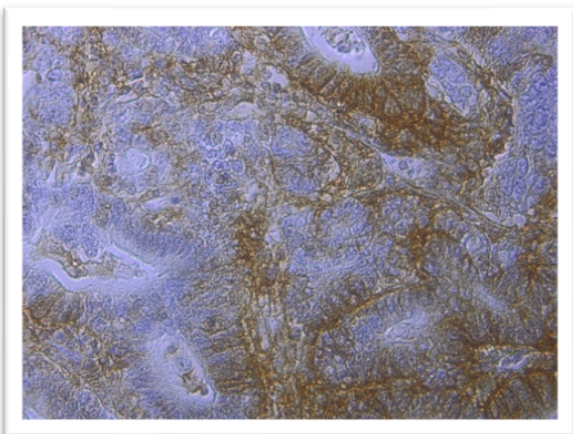
D



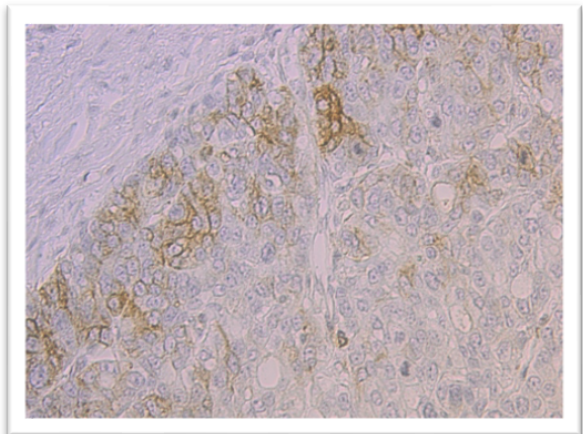
B



E



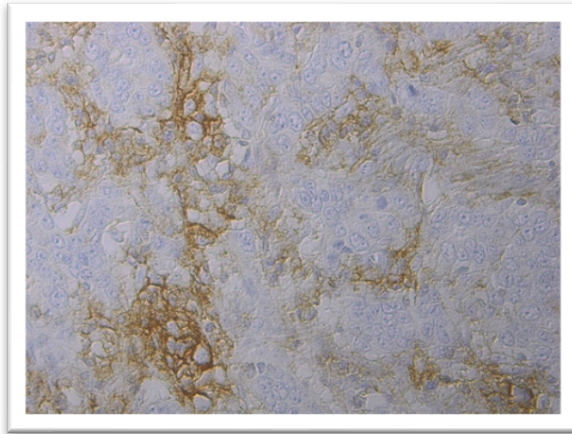
C



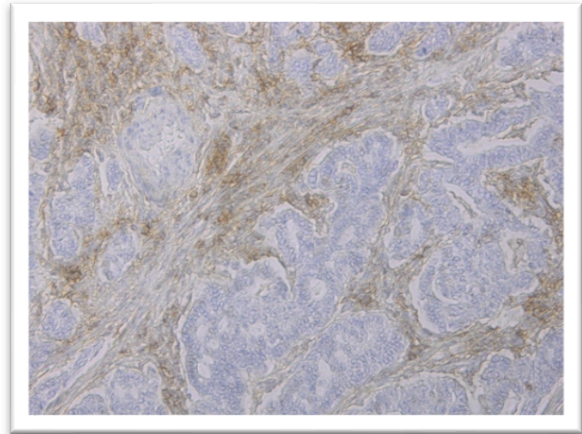
F

Abbildung 22: Heterogenität der Färbungseigenschaften der einzelnen Zellen innerhalb eines Karzinoms

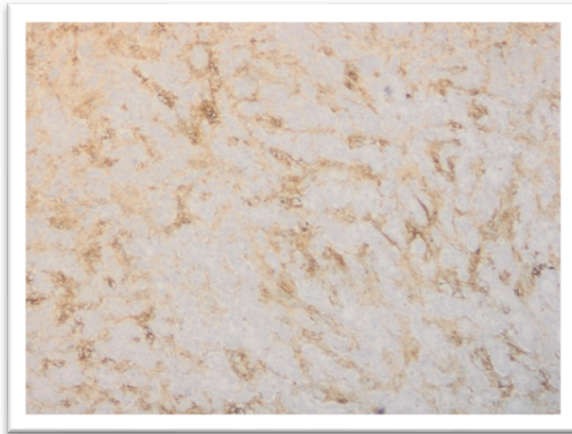
8. Tumorstroma



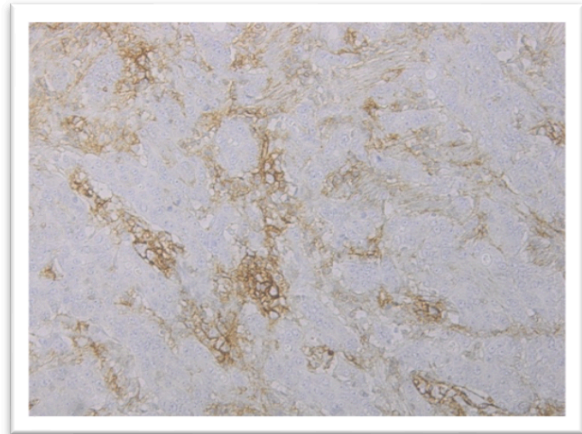
A



B



C



D

Abbildung 23: Tumorstromafärbungen

4.4. Deskriptive Statistik der Färbeergebnisse

4.4.1. Deskriptive Statistik der CD44 Färbungen

In etwas mehr als der Hälfte der Präparate (51,6 %) konnte eine CD44-Membranfärbung nachgewiesen werden. Davon war der größte Anteil moderat (19,5 %) oder stark (18,9 %) gefärbt. In den meisten Fällen (23,9 %) lag der gefärbte Anteil zwischen 1 und 20 %, nur in 5,7 % (n=9) wurde ein Anteil von über 50 % des Gesamttumors als gefärbt eingestuft (**Abb. 24**). Beim Tumorstroma wurden nur 38,4 % als positiv detektiert, die restlichen 98 Präparate zeigten ungefärbtes Tumorstroma (**Tab. 8**).

CD44 Anteil	n=	%	CD44 Score	n=	%
0%	77	48,4	0	77	48,40
1-20%	38	23,9	1	15	9,40
20-50%	35	22,0	2	21	13,20
>50%	9	5,7	3	8	5,0
			4	15	9,40
			6	15	9,40
			9	8	5,0
			negativ/schwach (0-2)	113	71,10
			stark/großer Anteil (3-9)	46	28,90
CD44 Intensität	n=	%			
negativ	77	48,4			
schwach	21	13,2			
moderat	31	19,5			
stark	30	18,9			
CD44 Tumorstroma	n=	%			
nicht gefärbt	98	61,6			
gefärbt	61	38,4			

Tabelle 8: Deskriptive Statistik der CD44 Färbeergebnisse

Ergebnisse

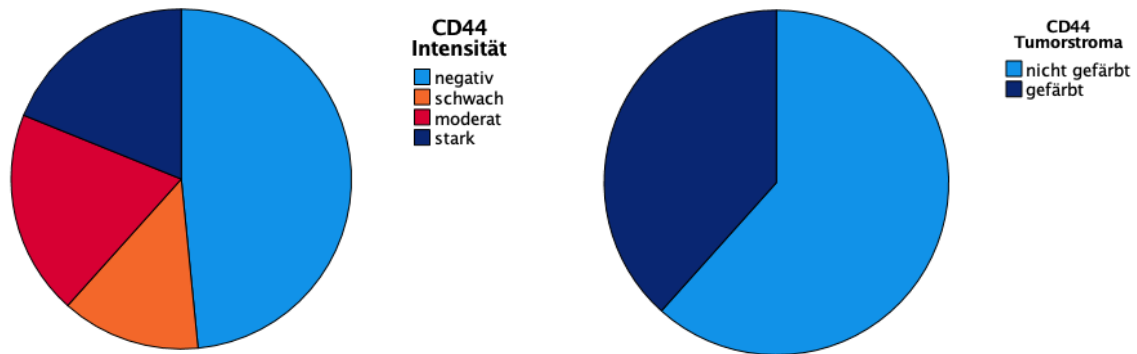


Abbildung 24: Anteile der CD44 in der Zellmembran (links) und im Tumorstroma (rechts) exprimierender Zellen am Gesamtkollektiv

4.4.2. Deskriptive Statistik der CXCR4 Färbungen

Im Vergleich zur Färbung mit CD44 weisen die Färbungen mit CXCR4 deutlich seltener eine positive Membranfärbung auf. Es konnte nur in 11 Fällen eine positive Membranfärbung nachgewiesen werden. Dies entspricht nur 6,9 % des gesamten Kollektivs (**Abb. 25**). Insgesamt waren 93,1 % nicht gefärbt (negativ). Die Färbung des Tumorstromas ist wiederum in 17 % aller Fälle vorhanden (positiv), was einer Anzahl von 27 Präparaten entspricht.

CXCR4 Intensität	n=	%
negativ	148	93,1
schwach	3	1,9
moderat	3	1,9
stark	5	3,1

CXCR4 Anteil	n=	%
0%	148	93,1
1-20%	4	2,5
20-50%	5	3,1
>50%	2	1,3

CXCR4 Tumorstroma	n=	%
nicht gefärbt	132	83
gefärbt	27	17

Tabelle 9: Deskriptive Statistik der CXCR4 Färbeergebnisse

Ergebnisse

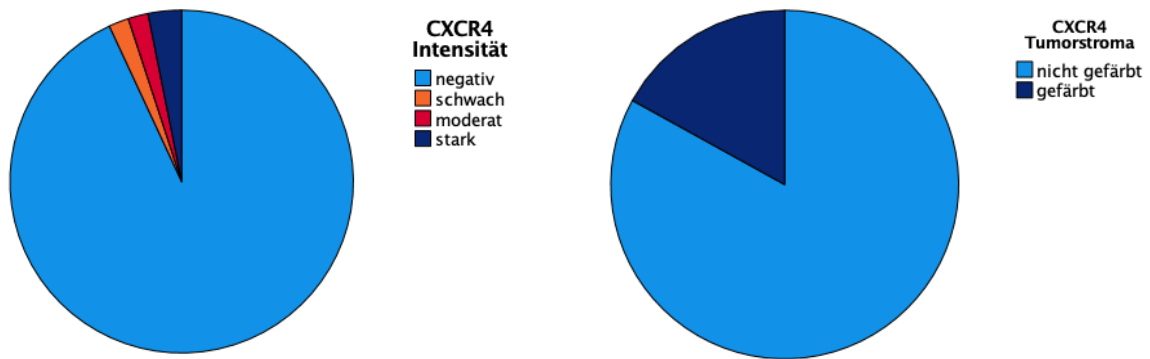


Abbildung 25: Anteile der CXCR4 exprimierender Zellen in der Zellmembran (links) und im Tumorstroma (rechts) am Gesamtkollektiv

Da es sich mit 11 von 159 Patienten um einen sehr kleinen Teil des Kollektivs handelt, können anhand der bei der Untersuchung der CXCR4 positiven Patienten ergebenden Ergebnisse keine signifikanten Rückschlüsse gezogen werden. Um trotzdem einen Einblick in die Charakteristika dieser Patienten zu erhalten, sind Ausschnitte ihrer wichtigsten Patienten- und Tumorcharakteristika in **Tabelle 10** aufgeführt.

CXCR4 positive Patienten	Alter bei Erstdiag nose	Geschlecht	pT	pN	pM	Laurén-Klassifikation	Grading	Lokalisation	Intensität
1	67	männlich	3	1	0	intestinal	G2	Korpus	2
2	80	männlich	4	3	0	intestinal	G2	AEG2	3
3	84	männlich	4	3	1	diffus	G3	Korpus	1
4	65	männlich	3	3	0	.	G2	AEG1	3
5	63	weiblich	2	2	0	.	G3	AEG2	2
6	54	männlich	3	1	.	.	G2	AEG2	1
7	46	männlich	2	0	0	intestinal	G2	Antrum	2
8	54	männlich	3	0	0	intestinal	G2	AEG2	3
9	44	männlich	3	2	1	intestinal	G2	AEG2	1
10	64	männlich	3	2	.	Mischtyp	G3	AEG2	3
11	66	männlich	3	2	0	.	G2	AEG1	3

Tabelle 10: Auflistung der 11 CXCR4 membranpositiven Patienten und Auszügen ihrer untersuchten Patienten- und Tumorcharakteristika

Die 11 Patienten des Kollektivs, die CXCR4 in der Membran exprimieren, sind fast ausschließlich männlich (10 der 11 Patienten). Außerdem sind die CXCR4 exprimierenden Tumoren überwiegend im gastroösophagealen Übergang lokalisiert (nur 3 finden sich im restlichen Magen) und weisen eine größere Invasivität/ Eindringtiefe auf (9 von 11 haben ein pT Stadium von 3 und höher). Zudem konnte bei 9 der 11 CXCR4 exprimierenden Patienten eine Lymphknotenmetastasierung nachgewiesen werden.

4.5. Zusammenhänge zwischen den erhobenen Patientendaten und den Färbeergebnissen

Nachfolgend werden nun die Ergebnisse der Färbungen mit den Patientendaten des untersuchten Kollektivs korreliert. Zuerst wurde ein Zusammenhang zwischen der Expression von CD44 und CXCR4 im Tumorgewebe und den allgemeinen Charakteristika der Patienten untersucht. Dabei erfolgte die Unterscheidung der Färbeergebnisse bei der membranständigen und der Tumorstromafärbung nur zwischen gefärbt und nicht gefärbt. Zur Untersuchung der CD44 Tumorzellmembranfärbung wurde durchgehend der beschriebene Multiplikationsscore verwendet. Infolgedessen werden schwach gefärbte Tumoren und Tumoren mit einem geringen gefärbten Anteil (CD44 Score 0-2) auch als negativ gewertet und alle restlichen Tumoren als positiv.

4.5.1. CD44

4.5.1.1. Zusammenhang zwischen der CD44 Expression und den Patientendaten

In Bezug auf das Geschlecht, das Alter (≤ 65 vs. > 65 Jahre) und die vorliegenden Risikofaktoren wie die Besiedlung mit *Helicobacter pylori*, den Nikotinkonsum, die Erkrankung an Diabetes mellitus, Hypertonie und Refluxösophagitis war im untersuchten Kollektiv mittels exaktem Fisher-Test kein statistisch nachweisbarer Zusammenhang mit der Expression von CD44 im Tumorgewebe festzustellen.

Im Gegensatz dazu korrelierte die Expression von CD44 im Tumorstroma mit mehreren Patienteneigenschaften (**Tab. 11**).

So exprimierten deutlich weniger Patienten CD44 im Tumorstroma, wenn sie einen $BMI < 25$ hatten ($p = 0,018$). Bei adipösen Patienten (mit einem $BMI > 25$) lagen in etwa in einem gleichen Verhältnis gefärbtes und nicht gefärbtes Tumorstroma vor. Ähnliches war bei dem Risikofaktor Rauchen zu beobachten. Im Vergleich zu den Rauchern lag bei Nichtrauchern nachweislich weniger gefärbtes Tumorstroma vor ($p = 0,025$). Auch hier war das Vorhandensein oder Nicht-Vorhandensein der Färbung bei Rauchern in etwa gleich verteilt. Betrachtet man die Besiedlung mit *Helicobacter pylori* wurde bei *H. pylori* positiv getesteten Patienten deutlich weniger CD44 im Tumorstroma exprimiert ($p = 0,044$). Es wiesen nur 22 % der Patienten mit einer Besiedlung mit *H. pylori* eine Tumorstromafärbung auf, im Vergleich zu 44 % der Patienten, bei denen keine Besiedlung nachgewiesen worden war.

Ergebnisse

Nikotinkonsum	Keine Expression von CD44 im Tumorstroma	Expression von CD44 im Tumorstroma	gesamt
Nichtraucher	29 (76,3%)	9 (23,7%)	38
Raucher	39 (54,2%)	33 (45,8%)	72
fehlend	30	19	49
gesamt	98	61	159

Adipositas	Keine Expression von CD44 im Tumorstroma	Expression von CD44 im Tumorstroma	gesamt
BMI≤25	46 (71,9%)	18 (28,1%)	64
BMI>25	44 (51,8%)	41 (48,2%)	85
fehlend	8	2	10
gesamt	98	61	159

Helicobacter pylori	Keine Expression von CD44 im Tumorstroma	Expression von CD44 im Tumorstroma	gesamt
nein	46 (55,4%)	37 (44,6%)	83
ja	21 (77,8%)	6 (22,2%)	27
fehlend	31	18	49
gesamt	98	61	159

Tabelle 11: Zusammenhang zwischen dem Nikotinkonsum ($p=0,025$), der Adipositas ($p=0,018$) und der Besiedlung mit *Helicobacter pylori* ($p=0,044$) mit der CD44 Expression im Tumorstroma. (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeiten in %))

4.5.1.2. Zusammenhänge zwischen der CD44 Expression und den Tumorcharakteristika

Bei der Untersuchung der Tumorcharakteristika konnte kein Zusammenhang zwischen der CD44 Membranfärbung und der Tumorgroße und -ausdehnung (T-Status), dem Vorliegen von Fernmetastasen (M-Status), dem Wachstumsmuster nach Laurén und dem Vorhandensein von Resttumor nach der Operation (R-Status) festgestellt werden. Zudem wiesen auch die erhobenen Tumormarker keine Wechselbeziehung zu den Färbeausprägungen auf (**Tab.12**).

Weiterhin wurden Zusammenhänge der Färbungen mit der Infiltration der Tumoren in Lymphgefäße, Venen und Perineuralscheiden untersucht. Aufgrund der Vielzahl an fehlenden Patientendaten konnten diese Beurteilungen nicht in die Ergebnisdarstellung mit eingeschlossen werden.

Ergebnisse

Tumorcharakteristika	CD44-Score
Tumorgröße - T	p=0,219
Lymphknotenbefall - N	p=0,031
Fernmetastasierung - M	p=0,151
Grading G	p=0,715
Wachstumsmuster (intestinal vs. diffus)	p=1
Resttumor R	p=0,34
Lokalisation (Magen vs. AEG)	p=0,054

Tabelle 12: Zusammenhänge zwischen Tumorcharakteristika und membranständiger CD44 Färbung, p-Werte nach exaktem Fisher-Test

Zwischen der Expression von CD44 in der Zellmembran und dem Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen konnte mittels exaktem Fisher-Test eine Assoziation nachgewiesen werden (p=0,031, **Tab. 13**). Ein größerer Teil der Patienten, die bereits Lymphknotenmetastasen aufwiesen, exprimierte ebenfalls CD44 in der Membran.

	CD44-Score (0-2)	CD44-Score (3-9)	gesamt
N0	51 (81%)	12 (19%)	63
N1+N2+N3	60 (64,5%)	33 (35,5%)	93
fehlend	2	1	3
gesamt	113	46	159

Tabelle 13: Zusammenhang zwischen einer Lymphknotenbeteiligung und dem CD44-Score (Membranfärbung, p=0,031) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))

Außerdem zeigte sich ein tendenzieller Zusammenhang zwischen CD44-Membranfärbung und der Lokalisation des Karzinoms. Bei Tumoren des gastroösophagealen Übergangs im Vergleich zu Tumoren des restlichen Magens war tendenziell ein größerer Anteil gefärbt und die Färbung war stärker ausgeprägt (p=0,054, **Tab. 14, Abb. 26**).

	CD44 Score (0-2)	CD44 Score (3-9)	gesamt
Magen	62 (78,5%)	17 (21,5%)	79
AEG	51 (63,7%)	29 (36,3%)	80
gesamt	113	46	159

Tabelle 14: Zusammenhang zwischen der Tumorlokalisation und dem CD44-Score (Membranfärbung, p=0,054) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))

Ergebnisse

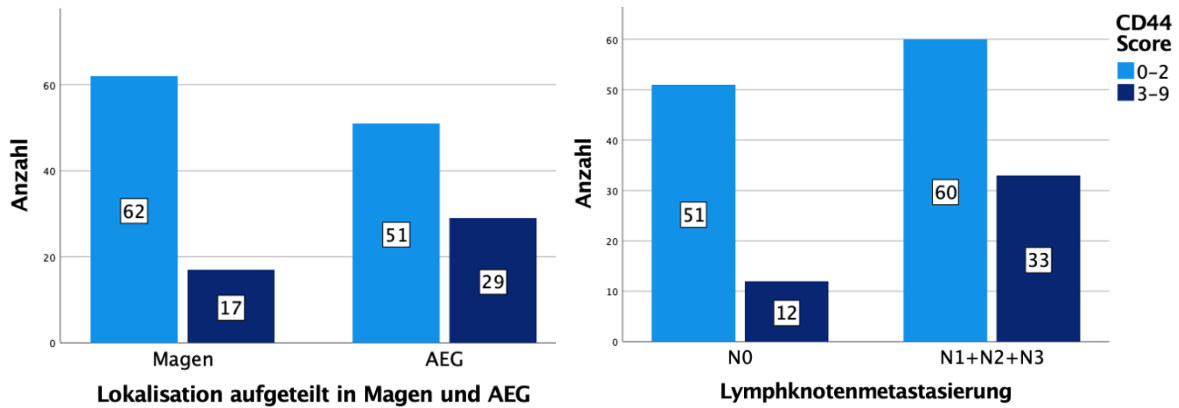


Abbildung 26: Verteilung der Tumoren auf die Lokalisation bzw. auf das Vorliegen von LK Metastasen in Abhängigkeit ihrer CD44 Expression

Des Weiteren konnten signifikant weniger Färbungen des Tumorstromas bei diffus wachsenden Tumoren festgestellt werden (Tab. 15, 16).

Laurén-Klassifikation	Keine Expression von CD44 im Tumorstroma	Expression von CD44 im Tumorstroma	gesamt
intestinal	32 (54,2%)	27 (45,8%)	59
diffus	32 (76,2%)	10 (23,8%)	42
fehlend	34	24	58
gesamt	98	61	159

Tabelle 15: Zusammenhang zwischen der Laurén-Klassifikation und der CD44 Tumorstromafärbung ($p=0,036$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))

Laurén-Klassifikation	Keine Expression von CXCR4 im Tumorstroma	Expression von CXCR4 im Tumorstroma	gesamt
intestinal	44 (74,6%)	15 (25,4%)	59
diffus	41 (97,6%)	1 (2,4%)	42
fehlend	47	11	58
gesamt	132	27	159

Tabelle 16: Zusammenhang zwischen der Laurén-Klassifikation und der CXCR4 Tumorstromafärbung ($p=0,002$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))

4.5.1.3. Zusammenhänge zwischen der CD44 Expression und der Therapie

Für die Klärung möglicher prädiktiver Eigenschaften von CD44 wurde der Zusammenhang mit der verabreichten Therapie näher beleuchtet. Hier zeigten sich Tendenzen dafür, dass eine vorausgegangene neoadjuvante Chemotherapie mit einer vermehrten Expression von CD44 auf der Krebszelloberfläche einhergeht ($p=0,077$, Tab. 17). Bei der genaueren Untersuchung stellte sich heraus, dass diese Wechselbeziehung auf kein bestimmtes Chemotherapeutikum

Ergebnisse

zurückzuführen ist, sondern das Verabreichen von sowohl Cisplatin als auch von Oxaliplatin womöglich zu einer erhöhten Expression führt.

Neoadjuvante Therapie	CD44 Score 0-2	CD44 Score 3-9	gesamt
nein	70 (76,9%)	21 (23,1%)	91
ja	43 (63,2%)	25 (36,8%)	68
gesamt	113	46	159

Tabelle 17: Zusammenhang zwischen einer neoadjuvante Therapie und dem CD44 Score (Membranfärbung, $p=0,077$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))

4.5.2. CXCR4

4.5.2.1. Zusammenhänge zwischen der CXCR4 und den Patientendaten

Bei der Untersuchung der oben beschriebenen Risikofaktoren konnten keine Wechselbeziehungen mit der membranständigen CXCR4 Expression dokumentiert werden.

Die Expression von CXCR4 im Tumorstroma geht mit mehreren Risikofaktoren einher.

Es war ein eindeutiger Unterschied im Expressionsmuster beim Vergleich der Geschlechter auffällig. Hierbei waren nachweislich weniger positive Tumorstromafärbungen bei Frauen zu sehen ($p=0,043$). Gleichzeitig war ein Zusammenhang zwischen Diabetes mellitus und der CXCR4 Expression zu beobachten. Bei an Diabetes Mellitus erkrankten Personen des Kollektivs war das Tumorstroma in deutlich mehr Fällen positiv gefärbt als bei nicht Erkrankten (33 % im Vergleich zu 11 %). Gleichermaßen verteilte sich die Färbung bei den Patienten mit einer arteriellen Hypertonie. 25 % aller an Hypertonie erkrankten Patienten wiesen einen Farbumschlag im Stroma auf, im Gegensatz zu 3,6 % aller nicht an Hypertonie Erkrankten (Tab. 18).

Ergebnisse

Geschlecht	Keine Expression von CXCR4 im Tumorstroma	Expression von CXCR4 im Tumorstroma	gesamt
männlich	86 (78,9%)	23 (21,1%)	109
weiblich	46 (92%)	4 (8%)	50
gesamt	132	27	159

Hypertonie	Keine Expression von CXCR4 im Tumorstroma	Expression von CXCR4 im Tumorstroma	gesamt
nein	54 (96,4%)	2 (3,6%)	56
ja	65 (74,7%)	22 (25,2%)	87
fehlend	13	3	16
gesamt	132	27	159

Tabelle 18: Zusammenhang zwischen dem Geschlecht ($p=0,043$) und dem Vorliegen eines erhöhten Blutdrucks ($p<0,001$) mit der CXCR4 Expression im Tumorstroma (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))

4.5.2.2. Zusammenhänge zwischen der CXCR4 Expression und den Tumorcharakteristika

Tumorcharakteristika	CXCR4 Membranfärbung
Tumorgröße - T	$p=0,113$
Lymphknotenbefall - N	$p=0,201$
Fernmetastasierung - M	$p=0,666$
Grading G	$p=0,052$
Wachstumsmuster (intestinal vs. diffus)	$p=0,396$
Resttumor R	$p=1$
Lokalisation (Magen vs. AEG)	$p=0,21$

Tabelle 19: Zusammenhänge der Tumorcharakteristika mit membranständiger CXCR4 Färbung, p-Werte nach exaktem Fisher-Test

Es konnte keine nachweisbare Assoziation zwischen der Expression von CXCR4 in der Membran und der Tumorgröße (p_T), dem Lymphknotenbefall (p_N), der Fernmetastasierung (p_M), dem Wachstumsmuster nach Laurén, dem Vorhandensein von Resttumor und der Lokalisation hergestellt werden (**Tab. 19**). Nur bei der Untersuchung des Differenzierungsgrades des Tumors (Grading, G) lässt sich ein tendenzieller Zusammenhang mit der CXCR4 Membranfärbung vermuten ($p=0,052$). Dieser Zusammenhang ist jedoch im Kontext der geringen Anzahl an positiven Färbeargebnissen bei der CXCR4 Färbung kritisch zu hinterfragen.

Ergebnisse

Auch bei der Existenz von CXCR4 im Tumorstroma konnte eine Verbindung zum Wachstumsmuster hergestellt werden ($p < 0,001$). So exprimierten 30 % der gut differenzierten Tumoren (G1 und G2) CXCR4 im Tumorstroma, wohingegen bei den schlecht differenzierten Tumoren (G3 und G4) nur 8 % CXCR4 aufwiesen (**Tab. 19**). Darüber hinaus zeichnete sich auch bei der CXCR4-Tumorstromafärbung, genau wie bei der CD44-Membranfärbung, eine Tendenz zur Assoziation zwischen der Lokalisation des Karzinoms und der Färbung ab. Auch hier war eine deutlich vermehrte Färbung des TS bei AEGs im Vergleich zu Karzinomen des Magens erkennbar (**Tab. 21**).

Grading	Keine Expression CXCR4 im Tumorstroma	Expression CXCR4 im Tumorstroma	gesamt
G1+G2	43 (69,4%)	19 (30,6%)	62
G3+G4	81 (92%)	7 (8%)	88
fehlend	8	1	9
gesamt	132	27	159

Tabelle 20: Zusammenhang zwischen dem Differenzierungsgrad des Tumors und der Expression von CXCR4 im Tumorstroma ($p < 0,001$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))

Lokalisation	Keine Expression CXCR4 im Tumorstroma	Expression CXCR4 im Tumorstroma	gesamt
Magen	70 (88,6%)	9 (11,4%)	79
AEG	62 (77,5%)	18 (22,5%)	80
gesamt	132	27	159

Tabelle 21: Zusammenhang zwischen der Tumorlokalisation und der Expression von CXCR4 im Tumorstroma ($p = 0,09$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))

4.5.2.3. Zusammenhänge zwischen der CXCR4 Expression und der Therapie

Bei der Beurteilung der neoadjuvanten Therapie waren sowohl bei der Membran- als auch bei der Stromafärbung mit CXCR4 keine nachweisbaren Zusammenhänge detektierbar.

4.5.3. Zusammenhänge zwischen den Färbungen untereinander

Weiterführend wurden Färbeergebnisse auf gemeinsame Expressionsmuster geprüft. Dabei konnte sowohl bei der Membranfärbung als auch bei der Tumorstromafärbung Koexpressionen aufgedeckt werden. So zeigten Patienten mit einer CD44-Membranfärbung vermehrt ebenfalls eine CXCR4-Membranfärbung ($p=0,014$, **Tab. 22**) und Patienten mit positiver CD44-Tumorstromafärbung vermehrt ebenfalls eine CXCR4-Tumorstromafärbung ($p<0,001$, **Tab. 23**).

	CXCR4 Membranfärbung negativ	CXCR4 Membranfärbung positiv	gesamt
CD44 Membranfärbung negativ/schwach (0-2)	109 (96,5%)	4 (3,5%)	113
CD44 Membranfärbung stark (3-9)	39 (84,8%)	7 (15,2%)	46
gesamt	148	11	159

Tabelle 22: Zusammenhang zwischen dem CD44 Membranfärbungsscore und der CXCR4 Membranfärbung ($p=0,014$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))

	CXCR4 Tumorstroma negativ	CXCR4 Tumorstroma positiv	gesamt
CD44 Tumorstroma negativ	94 (95,9%)	4 (4,1%)	98
CD44 Tumorstroma positiv	38 (62,3%)	23 (37,7%)	61
gesamt	132	27	159

Tabelle 23: Zusammenhang zwischen der CD44 Tumorstromafärbung und der CXCR4 Tumorstromafärbung ($p<0,001$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))

Bei der Untersuchung mittels Kreuztabellen konnte kein Zusammenhang zwischen der CD44-Expression in der Tumorzellmembran und der Expression im Tumorstroma dokumentiert werden ($p=0,281$, **Tab. 24**). Dasselbe gilt für die Expression von CXCR4 in Zellmembran und Stroma ($p=0,4$, **Tab. 25**).

Ergebnisse

	CD44 Tumorstroma negativ	CD44 Tumorstroma positiv	gesamt
CD44 Score 0-2 (negativ/schwach)	73 (64,6%)	40 (35,4%)	113
CD44 Score 3-9 (stark/großer Anteil)	25 (54,3%)	21 (45,7%)	46
gesamt	98	61	159

Tabelle 24: Zusammenhang zwischen dem CD44 Membranfärbungsscore und der CD44 Tumorstromafärbung ($p=0,281$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))

	CXCR4 Tumorstroma negativ	CXCR4 Tumorstroma positiv	gesamt
CXCR4 Membranfärbung negativ	124 (83,8%)	24 (16,2%)	148
CXCR4 Membranfärbung positiv	8 (72,7%)	3 (27,3%)	11
gesamt	132	27	159

Tabelle 25: Zusammenhang zwischen der CXCR4 Membranfärbung und der CXCR4 Tumorstromafärbung ($p=0,4$) (Angaben in der Tabelle in Anzahl (Häufigkeit in %))

4.5. Überlebenszeitanalysen

4.6.1. Überlebenszeitanalysen des Gesamtkollektivs

Im Zeitraum von September 2003 bis April 2015 erhielten alle Patienten des Kollektivs eine operative Therapie des Magenkarzinoms an der Universitätsmedizin Mainz. Die Überlebensanalysen wurden zum letzten Mal im April 2021 aktualisiert. Von den 159 eingeschlossenen Patienten sind zu diesem Zeitpunkt offiziell 71 (44,7 %) als tot gemeldet, 88 (55,3 %) leben noch oder es liegen keine Informationen über ihren Lebensstatus vor. Das mediane Überleben des Gesamtkollektivs liegt bei 46,8 Monaten (3,9 Jahren).

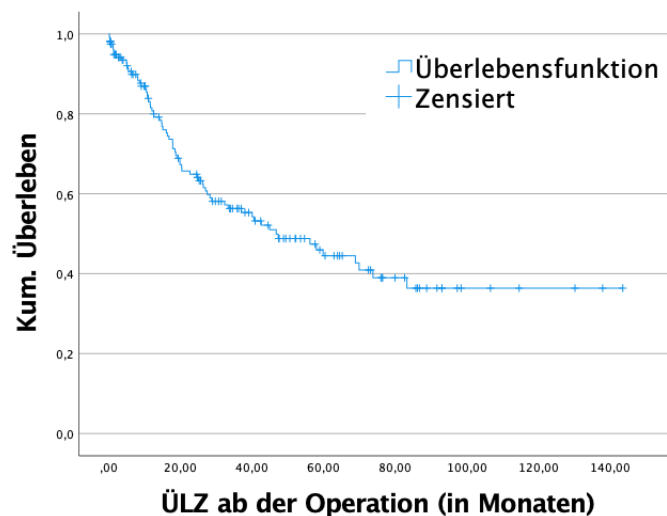


Abbildung 27: Gesamtüberleben des Kollektivs ab dem Zeitpunkt der Operation bis zum letzten Kontakt

Bei der Analyse des Gesamtüberlebens konnte bezogen auf Patienten-, Tumor- und Therapieeigenschaften deutliche Überlebensvorteile in Abhängigkeit von Tumoreindringtiefe, Lymphknotenmetastasierung, Fernmetastasierung, erhöhter prä- und postoperativer Tumormarkerwerte, R-Status und Lokalisation festgestellt werden.

Demzufolge zeigten Patienten sowohl mit einer höheren Tumoreindringtiefe (T3 und T4) als auch mit bestehender Metastasierung in die Lymphknoten (N1, N2, N3) oder in andere Organe (M1) eine kürzere Überlebensdauer als Patienten mit geringerer Tumoreindringtiefe (T1 und T2) oder noch nicht erfolgter Metastasierung (M0). Auch eine nicht vollständige Tumorentfernung korreliert mit einer kürzeren Überlebensdauer. Patienten mit nachweislichen Tumorresten in den Schnitträndern des Präparats (R1-Resektion) lebten im Median nur 12,09 Monate im Vergleich zu 58,05 Monaten, die Patienten mit vollständig entferntem Tumor überlebten (**Tab. 26**).

Des Weiteren überlebten Patienten mit vor der Operation erhöhten Tumormarkerwerten kürzer. So konnte bei über der Hälfte der Patienten mit Werten im Normalbereich noch kein Todeszeitpunkt festgestellt werden, wohingegen Patienten mit präoperativ erhöhten

Ergebnisse

Tumormarkern im Median nur 40,69 Monate überlebten. Diese Tendenz verstärkt sich bei der Betrachtung der Patienten mit postoperativ erhöhten Tumormarkern. Die Patienten mit erhöhten Werten lebten im Median nur 19,87 Monate und damit deutlich kürzer.

Auch die Lokalisation des Karzinoms hat Einfluss auf das Überleben. Die Patienten unseres Kollektivs mit einem AEG haben eine mediane Überlebenszeit von 27,07 Monaten im Vergleich zur medianen Überlebenszeit von 73,85 Monaten, wenn das Karzinom in einem anderen Bereich des Magens lokalisiert war ($p=0,008$).

Variable		n=	%	davon tot	mediane ÜLZ [Monate]	Signifikanz (log rank)
Alter	≤65	81	50,9	39	44,98	n.s.
	>65	78	49,1	32	58,05	($p=0,856$)
Geschlecht	m	109	68,6	52	37,13	n.s.
	w	50	31,4	19	73,85	($p=0,073$)
T-Stadium	T1+T2	71	44,7	19	.	$p<0,001$
	T3+T4	86	54,1	50	20,37	
N-Stadium	N0	63	39,6	17	.	$p<0,001$
	N1+N2+N3	93	58,5	51	26,45	
M-Stadium	M0	101	63,5	43	68,93	$p<0,001$
	M1	26	16,4	16	12,09	
präoperative Tumormarker	normal	25	15,7	10	.	$p=0,027$
	erhöht	26	16,4	17	40,69	
postoperative Tumormarker	normal	20	12,6	1	.	$p<0,001$
	erhöht	22	13,8	18	19,87	
Grading	G1+G2	62	39	22	83,35	n.s.
	G3+G4	88	55,3	42	44,97	($p=0,125$)
Residualtumor	R0	142	89,3	61	58,05	$p=0,02$
	R1	12	7,5	9	12,09	
Lokalisation	Magen	79	49,7	27	73,85	$p=0,008$
	AEG	80	50,3	44	27,07	
Laurén- Klassifikation	intestinal	59	37,1	23	69,98	n.s.
	diffus	42	26,4	18	73,86	($p=0,724$)
Neoadjuvante Therapie	nein	91	57,2	36	58,05	n.s.
	ja	68	42,8	35	42,64	($p=0,941$)
Adjuvante Therapie	nein	83	52,2	30	83,35	n.s.
	ja	65	40,9	39	33,38	($p=0,109$)

Tabelle 26: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit von Patienten-, Tumor-, und Therapiecharakteristika (. bedeutet, dass die mediane ÜLZ nicht erreicht wurde)

Ergebnisse

Bei der Altersuntersuchung der Patienten konnte keine Gruppe ein nachweislich besseres Überleben vorweisen, wobei jüngere Patienten (≤ 65 Jahre) ein wenig schlechter zu überleben scheinen als ältere (>65 Jahre). Bei dem Vergleich von Männern und Frauen bezüglich ihres Überlebens zeigten Männer ein tendenziell schlechteres Überleben mit 37,13 Monaten im Median im Vergleich zu Frauen mit 73,85 Monaten ($p=0,073$, **Abb. 28**).

Darüber hinaus scheinen im untersuchten Kollektiv Patienten mit einem niedrigeren Differenzierungsgrad des Krebsgewebes (G3 und G4) im Median kürzer zu überleben (44,97 Monate) als Patienten mit gut differenzierten Tumoren (83,85 Monate). Es besteht jedoch kein signifikanter Zusammenhang ($p=0,125$). Das Wachstumsmuster erweist sich als nicht ausschlaggebender Faktor auf die Überlebensdauer mit ähnlichen medianen Überlebenszeiten des diffusen und intestinalen Typs nach Laurén.

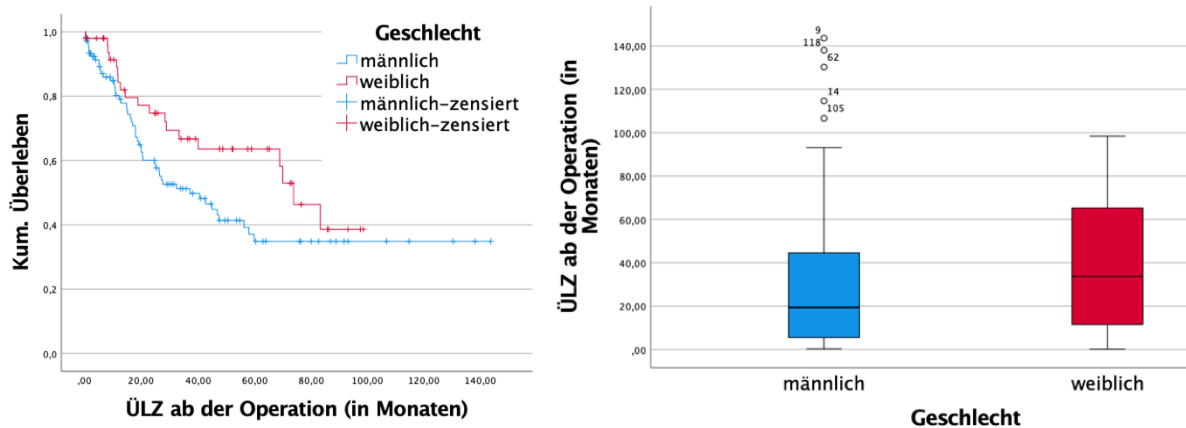


Abbildung 28: Überlebenszeiten in Abhängigkeit von dem Geschlecht

Sowohl die Durchführung einer neoadjuvanten als auch einer adjuvanten Chemotherapie hatte keine Auswirkungen auf das Überleben der Patienten im Kollektiv, wobei Patienten, die nicht neoadjuvant behandelt wurden, im Median 14,4 Monate länger überlebten als Patienten, die eine neoadjuvante Therapie erhielten. Ähnliche Tendenzen lassen sich bei adjuvant behandelten Patienten vermuten. Hier lag die mediane Überlebenszeit nicht adjuvant behandelter Patienten bei 52,2 Monaten im Vergleich zu 40,9 Monaten der adjuvant behandelten Patienten.

Ergebnisse

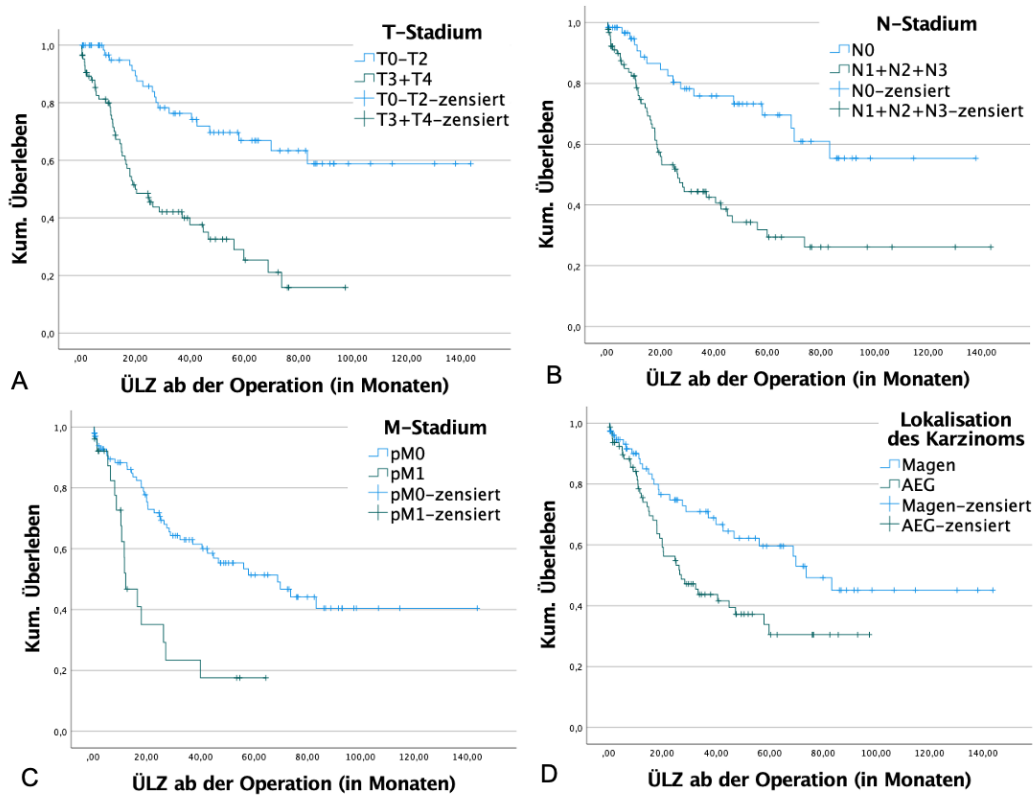


Abbildung 29: Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Tumoreindringtiefe (A), der Lymphknotenmetastasierung (B), der Fernmetastasierung (C) und der Lokalisation des Karzinoms (D)

4.6.2. Überlebenszeitanalysen der Färbergebnisse

Mit Zunahme der Intensität der CD44-Membranfärbung scheint die Überlebenszeit der Patienten abzunehmen. Patienten mit schwacher Membranfärbung überlebten hierbei ähnlich lange wie Patienten ohne Membranfärbung. Sowohl die Gruppe mit moderater als auch mit stark gefärbter Krebszellmembran überlebten im Vergleich dazu deutlich kürzer. Mit einem p-Wert von 0,072 sind die Unterschiede der einzelnen Gruppen nicht statistisch belegbar, es lässt sich jedoch ein Trend vermuten (**Tab. 27, Abb. 30**).

Färbungsintensität	n=	%	davon tot	Mediane ÜLZ [Monate]
negativ	77	48,4	30	59,92
schwach	21	13,2	7	69,97
moderat	31	19,5	15	28,32
Stark	30	18,9	19	19,88

Tabelle 27: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit von der CD44 Membranfärbintensität

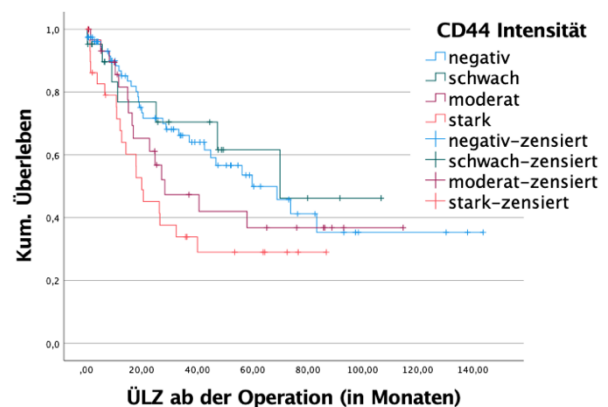


Abbildung 30: Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der CD44 Membranfärbintensität

Ergebnisse

Dieser beobachtete Trend bestätigt sich bei der Analyse der Überlebenszeiten unter Betrachtung des CD44-Membranfärbungsscores. Hier ergibt sich im Log Rank Test ein nachweislicher Überlebensvorteil der Gruppe, die Tumoren ohne CD44 Membranfärbung und schwach gefärbte Tumoren beinhaltet (mediane ÜLZ: 59,92 Monate) im Vergleich zu der Gruppe, die alle stark gefärbten Tumoren mit einem großen gefärbten Anteil umfasst. Diese Gruppe weist eine mediane Überlebenszeit von nur 20,43 Monaten auf.

Die Färbung des Tumorstromas hat im analysierten Kollektiv keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben, wobei Patienten mit fehlender Färbung im Tumorstroma im Median etwas besser zu überleben scheinen (56,25 Monate) als Patienten mit gefärbtem Tumorstroma (40,64 Monate, **Tab. 28**).

Aufgrund der geringen Anzahl positiver CXCR4 Färbeergebnisse sind die Ergebnisse der Überlebenszeitanalyse nicht repräsentativ und lassen daher keine verlässliche Aussage zu. Bei Betrachtung des Überlebens der 11 Patienten mit positiver CXCR4 Membranfärbung scheinen diese mit einer medianen Überlebenszeit von 10,55 Monaten deutlich kürzer zu überleben als die restlichen Patienten, die eine mediane Überlebenszeit von 56,25 Monaten aufwiesen.

Der p-Wert von 0,925 im durchgeführten Log Rank Test legt nahe, dass die Expression von CXCR4 im Tumorstroma keinen Einfluss auf das Überleben hat.

Variable		n=	%	davon tot	mediane ÜLZ [Monate]	Signifikanz (log rank)
CD44 Score (Membranfärbung)	negativ	113	71,1	44	59,92	p=0,034
	positiv	46	28,9	27	20,43	
CD44 Tumorstroma	negativ	98	61,6	42	56,25	n.s. (p=0,253)
	positiv	61	38,4	29	40,64	
CXCR4 Membranfärbung	negativ	148	93,1	62	56,25	p<0,001
	positiv	11	6,9	9	10,55	
CXCR4 Tumorstroma	negativ	132	83,0	62	46,817	n.s. (p=0,925)
	positiv	27	17,0	9	.	

Tabelle 28: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit der Färbeergebnisse

4.6.3. Überlebenszeitanalysen ausgewählter Tumorcharakteristika

4.6.3.1. Lymphknotenmetastasierung

Bei der Prüfung der Auswirkung von Lymphknotenmetastasen auf das Überleben, konnte eine Verbindung zwischen dem Vorliegen von Lymphknotenmetastasen und einer kürzeren Überlebenszeit identifiziert werden. Dieser Unterschied soll im Folgenden genauer untersucht werden durch Einbezug der CD44 Färbeergebnisse und deren Einfluss auf die Überlebenszeit. Da die Gruppe der CD44 membranständig exprimierenden Patienten mit N0 Status nur 12 Patienten (7,5 %) umfasst, lässt sich in diesem Fall keine verlässliche Aussage treffen. Patienten aus diesem Kollektiv überleben scheinbar besser im Vergleich zu Patienten mit fehlender Färbung und N0 Status.

Bei der Betrachtung des Schätzers des medianen Überlebens der Gruppe der Patienten mit Lymphknotenmetastasen wiesen Patienten mit fehlender CD44 Membranfärbung mit 83,35 Monaten eine dreifach längere Überlebenszeit auf als Patienten mit positiver Membranfärbung (16,43 Monate, **Tab. 29, Abb. 31**).

CD44 Membranfärbungsscore	Anzahl, n	Häufigkeit in %	davon tot	Mediane ÜLZ [Monate]
negativ und N0	51	32,1	15	83,35
positiv und N0	12	7,5	2	.
negativ und N1+2+3	60	37,7	27	44,98
positiv und N1+2+3	33	20,8	24	16,43

Tabelle 29: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit von der Kombination aus Lymphknotenmetastasierung und CD44 Membranfärbung ($p < 0,001$)

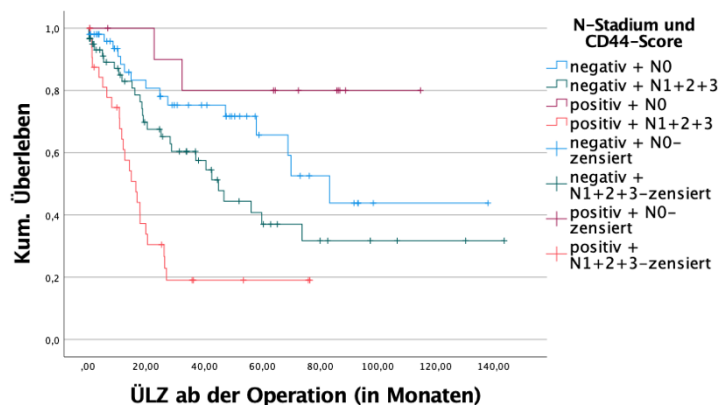


Abbildung 31: Überleben in Abhängigkeit von Lymphknotenmetastasierung und CD44 Membranfärbung ($p < 0,001$)

Ergebnisse

CD44 Tumorstromafärbung	n	%	davon tot	Mediane ÜLZ [Monate]
negativ und N0	41	25,8	13	.
positiv und N0	22	13,8	4	.
negativ und N1+2+3	55	34,6	27	37,13
positiv und N1+2+3	38	23,9	24	19,88

Tabelle 30: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit von der Kombination aus Lymphknotenmetastasierung und CD44 Tumorstromafärbung ($p < 0,001$)

Ein ähnlicher Trend lässt sich bei der Untersuchung der Expression von CD44 im Tumorstroma beobachten. Bei Vorliegen von Lymphknotenmetastasen zeigen die Patienten mit fehlender Tumorstromafärbung ein annähernd doppelt so langes medianes Überleben (37,13 Monate) im Vergleich zu Patienten mit CD44 Expression im Tumorstroma (19,88 Monate, **Tab. 30**).

4.6.3.2. Laurén-Klassifikation

Weder die Expression von CD44 noch von CXCR4 im Tumorstroma konnte mit einem Überlebensvorteil in Abhängigkeit der Laurén-Klassifikation in Verbindung gebracht werden.

4.6.3.3. Lokalisation des Karzinoms

Patienten mit einer Lokalisation des Karzinoms im gastroösophagealen Übergang überlebten deutlich kürzer (27,07 Monate) als Patienten mit einer Lokalisation im restlichen Magen (73,85 Monate). Beim zusätzlichen Einbezug der Expression der Stammzellmarker in diese Analyse konnte eine Verstärkung der Unterschiede beobachtet werden (**Tab. 31, 32**).

So wiesen Patienten mit einem CD44 in der Membran exprimierendem AEG nur eine mediane Überlebenszeit von 16,43 Monaten auf, im Falle fehlender CD44 Expression im AEG dahingegen eine mediane Überlebenszeit von 58,05 Monaten. Des Weiteren ist auffällig, dass bei Patienten mit positiver CXCR4 Tumorstromafärbung sowohl bei Lokalisation im Magen als auch bei Lokalisation im gastroösophagealen Übergang ein längeres medianes Überleben nachgewiesen werden konnte (**Tab. 31, 32**).

Kreuztabelle Lokalisation und	Signifikanz (log rank)
CD44 Membranfärbung	p<0,001
CD44 Tumorstromafärbung	n.s. ($p=0,051$)
CXCR4 Membranfärbung	p<0,001
CXCR4 Tumorstromafärbung	n.s. ($p=0,067$)

Tabelle 31: Ergebnisse des Log- Rank Tests der Lokalisation und der Färbeargebnisse

Ergebnisse

Variable		n=	%	davon tot	mediane ÜLZ [Monate]
Magen	keine Färbung	79	49,7	27	73,85
	AEG keine Färbung	80	50,3	44	27,07
Magen	CD44 negativ	62	39	23	69,98
	Membranfärbung positiv	17	10,7	4	.
	CD44 negativ	53	33,3	17	83,35
	Tumorstroma positiv	26	16,4	10	73,85
	CXCR4 negativ	76	47,8	25	83,35
	Membranfärbung positiv	3	1,9	2	6,44
	CXCR4 negativ	70	44	25	73,85
	Tumorstroma positiv	9	5,7	2	112
AEG	CD44 negativ	51	32,1	21	58,05
	Membranfärbung positiv	29	18,2	23	16,43
	CD44 negativ	45	28,3	17	28,32
	Tumorstroma positiv	35	22	19	26,45
	CXCR4 negativ	72	45,3	37	56,05
	Membranfärbung positiv	8	5,0	7	25,92
	CXCR4 negativ	62	39	37	54,29
	Tumorstroma positiv	18	11,3	7	60,42

Tabelle 32: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit der Lokalisation des Karzinoms und der Färbeergebnisse

4.6.3.4. Therapie

Neoadjuvante Therapie				Keine Neoadjuvante Therapie			
keine adjuvante Therapie		Adjuvante Therapie		Adjuvante Therapie		keine adjuvante Therapie	
CD44 neg	CD44 pos	CD44 neg	CD44 pos	CD44 neg	CD44 pos	CD44 neg	CD44 pos
n=12	n=8	n=31	n=16	n=14	n=4	n=46	n=17
ÜLZ: über Hälfte lebt	ÜLZ: 12,65 Mo.	ÜLZ: 44,98 Mo.	ÜLZ: 26,25 Mo.	ÜLZ: 28,78 Mo.	ÜLZ: 12,09 Mo.	ÜLZ: 83,35 Mo.	ÜLZ: über Hälfte lebt

Abbildung 32: Überleben in Abhängigkeit von dem Therapieprotokolls und der CD44 Membranexpression

Ergebnisse

Bei der Untersuchung des Überlebens der einzelnen Therapiearme ist zu bemerken, dass Patienten ohne chemotherapeutische Behandlung mit 83,35 Monaten (Mo.) die längste mediane Überlebenszeit aufweisen und Patienten mit alleiniger adjuvanter Chemotherapie mit 18,76 Monate die geringste mediane Überlebenszeit. Bei Aufteilung der erfolgten Therapiestrategien, wie in der obenstehenden Abbildung aufgeführt nach sowohl erfolgter neoadjuvanter und adjuvanter Chemotherapie als auch der Expression von CD44 in der Membran, zeigen sich signifikante Überlebensunterschiede in den einzelnen Subgruppen bezogen auf ihr Überleben ($p=0,022$, **Tab. 33**). Hierbei weisen Patienten, die nur neoadjuvant oder nur adjuvant behandelt wurden und CD44 exprimieren, mit etwas mehr als 12 Monaten die geringste mediane Überlebenszeit auf. Insbesondere bei den alleinig neoadjuvant behandelten Patienten ist ein sehr deutlicher Überlebensvorteil der nicht CD44 exprimierenden Gruppe feststellbar. Ähnliche Unterschiede zeigen sich auch in den anderen Subgruppen.

Variable		Anzahl,	Häufigkeit	davon	mediane ÜLZ
		n=	in %	tot	[Monate]
Weder neoadjuvante noch adjuvante Therapie	Keine Färbung	63	39,6	20	83,35
	CD44 negativ	46	28,9	14	83,35
	CD44 positiv	17	10,7	6	.
Nur adjuvante Therapie	Keine Färbung	18	11,3	15	18,76
	CD44 negativ	14	8,8	11	28,78
	CD44 positiv	4	2,5	4	12,09
Nur neoadjuvante Therapie	Keine Färbung	20	12,6	10	47,38
	CD44 negativ	12	7,5	4	.
	CD44 positiv	8	5	6	12,65
Neoadjuvante und adjuvante Therapie	Keine Färbung	47	29,6	24	40,64
	CD44 negativ	31	19,5	14	44,97
	CD44 positiv	16	10,1	10	26,25

Tabelle 33: Potenzielle Prognosefaktoren in Abhängigkeit des Therapieprotokolls und der CD44 Membranexpression ($p=0,022$)

4.6.4. Multivariate Überlebenszeitanalyse

Der letzte Schritt der Überlebenszeitanalyse umfasst die multivariate Analyse, wobei der Einfluss mehrerer Eigenschaften gleichzeitig auf das Gesamtüberleben untersucht werden soll. Gegenstand dieser Studie war die Detektion einer prognosebestimmenden Eigenschaftskombination, weswegen in der folgenden multivariaten Analyse die in diesem Kollektiv identifizierten vielversprechendsten Prognosefaktoren auf ihre Unabhängigkeit voneinander geprüft werden sollen. Unter Durchführung der Methode „Einschluss“ wurden der CD44 Membranfärbungsscore, die Färbung des Tumorstromas, die Lymphknotenmetastasierung, die erfolgte neoadjuvante Therapie und die Lokalisation des Karzinoms in die Analyse mit aufgenommen.

	n	HR	95%-KI	p
CD44 Score 0-2 vs. 3-9	156	0,6	0,36-1,01	n.s. (0,052)
CD44 Tumorstroma negativ vs. positiv	156	0,819	0,5-1,37	n.s. (0,425)
N-Status N0 vs. N1/2/3	156	0,363	0,21-0,64	<0,001
Neoadjuvante Therapie nein vs. ja	156	1,7	0,98-3,08	n.s. (0,057)
Lokalisation Magen vs. AEG	156	0,523	0,29-0,93	0,028

Tabelle 34: Ergebnisse der Cox-Regression in Bezug auf das Gesamtüberleben

Hierbei konnte eine Beeinflussung des Gesamtüberlebens durch die Lymphknotenmetastasierung und die Lokalisation des Karzinoms festgestellt werden. So haben Patienten mit einer Lokalisation des Karzinoms im Magen ein 48 % geringeres Risiko zu sterben als Patienten mit einem AEG. Patienten ohne Lymphknotenmetastasen haben im Vergleich zu Patienten, bei denen bereits eine Lymphknotenmetastasierung festgestellt wurde, ein 64 % niedrigeres Risiko. Darüber hinaus lassen sich bei der Expression von CD44 in der Membran als auch bei neoadjuvanten Therapiestrategien im untersuchten Kollektiv Zusammenhänge mit der Überlebenszeit vermuten. Lediglich die Expression von CD44 im Tumorstroma scheint keinen Einfluss auf die Überlebenszeit auszuüben.

5. Diskussion

In dieser Studie wurden die Expressionen von CD44 und CXCR4 auf der Tumorzellmembran und im Tumorstoma von Magenkarzinomen untersucht und ihre prognostischen Bedeutungen analysiert. Es wurde nach Zusammenhängen zwischen der Expression der Oberflächenproteine und Patienten-, Tumor- und Therapieeigenschaften gesucht und deren Einfluss auf das Gesamtüberleben geprüft, um mögliche prognosebestimmende Eigenschaften zu identifizieren. Es folgt eine kritische Diskussion dieser Ergebnisse und eine Gegenüberstellung mit der aktuellen Studienlage.

5.1. Das Studienkollektiv im Vergleich zur Literatur

5.1.1. Geschlecht und Altersverteilung

In der Literatur wird beschrieben, dass Männer doppelt so häufig am Magenkarzinom erkranken wie Frauen (5). Diese Geschlechtsverteilung deckt sich mit der Verteilung der Geschlechter in unserem Kollektiv. 109 Patienten des Kollektivs sind Männer und 50 Frauen.

Anders sieht es bei der Altersverteilung aus. Hier liegt das beschriebene mittlere Erkrankungsalter bei durchschnittlichen 74 Jahren (22, 23). Auch das in Deutschland in den Jahren 2017/2018 gemessene mittlere Erkrankungsalter wird vom Robert Koch-Institut im selben Bereich angegeben. Mit einem durchschnittlichen Erkrankungsalter von 63,6 Jahren sind die in dieser Studie eingeschlossenen Patienten im Schnitt 10 Jahre jünger. Bei Frauen zeigt sich diese Abweichung noch deutlicher. Hier ist im Krebsregister ein mittleres Erkrankungsalter von 76 Jahren angegeben. In dem vorliegenden Kollektiv wurde ein mittleres Erkrankungsalter bei Frauen von 60,5 Jahren gemessen, was einen Unterschied von 15,5 Jahren ausmacht. Die Männer unseres Kollektivs erhielten mit durchschnittlichen 65 Jahren ihre Diagnose. Damit weicht das Alter bei Erstdiagnose nur 6 Jahre von dem bestimmten Alter des Zentrums für Krebsregisterdaten ab, was bei durchschnittlich 71 Jahren liegt (7).

Eine Erklärung für die abweichende Altersverteilung könnte ein Ausschluss der inoperablen Patienten von dieser Studie sein. Aufgrund eines zu weit fortgeschrittenen Erkrankungsstadiums werden Patienten palliativ behandelt, was nur in Ausnahmefällen eine Operation beinhaltet. In unserer Studie sind überwiegend Patienten inbegriffen, die mit einem kurativen Ansatz behandelt wurden. Es ist zu vermuten, dass palliativ behandelte Patienten tendenziell eher den höheren Altersgruppen angehören, weswegen sie in dieser Studie nicht

mitberücksichtigt wurden. Außerdem könnten jüngere Patienten möglicherweise eine höhere Bereitschaft haben, sich in einer Uniklinik operieren zu lassen und dafür auch längere Anreisewege in Kauf zu nehmen.

Es ist auffällig, dass ein Großteil der im frühen Alter aufgetretenen Magenkarzinome bei Frauen diagnostiziert wurde. 64 % aller Frauen des Kollektivs wurden vor der Vollendung ihres 65. Lebensjahrs diagnostiziert. Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen der Studie von Kim et al., in der 4722 Patienten untersucht wurden und ebenfalls eine Assoziation zwischen jungem Erkrankungsalter und weiblichem Geschlecht festgestellt wurde (119). Der Grund für das vermehrte Erkranken junger Frauen am Magenkarzinom ist bis heute ungeklärt und sollte Gegenstand weiterer Studien sein, damit mögliche Risikofaktoren identifiziert und angegangen werden können.

5.1.2. Tumorlokalisation

Im untersuchten Kollektiv wurden sowohl Patienten mit distalen Magenkarzinomen als auch mit AEGs eingeschlossen und gleichermaßen untersucht. Obwohl sich in den letzten Jahren ein Trend zur Abnahme der distalen Magenkarzinome unter gleichzeitiger Zunahme der AEGs vollzogen hat, macht zum heutigen Zeitpunkt das distale Magenkarzinom weiterhin den größeren Anteil der Magenkarzinome aus. Im Jahr 2018 wurden weltweit 181.000 AEGs und 853.000 distale Magenkarzinome diagnostiziert, was ein 4,5 Mal höheres Vorkommen von Magenkarzinomen im Vergleich zu AEGs bedeutet (120). In dem hier vorliegenden Kollektiv weicht das Verhältnis von AEGs zu distalen Magenkarzinomen von dem vorherrschenden Verhältnis der Gesamtpopulation ab und lag ziemlich genau bei 1:1. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass Patienten mit einem Übergangskarzinom vermehrt die Uniklinik aufsuchen aufgrund der schlechten Prognose und des oft niedrigen Differenzierungsgrades, um dort die bestmögliche Behandlung zu erhalten.

Patienten mit einem Karzinom des gastroösophagealen Übergangs überlebten im vorliegenden Kollektiv nachweislich schlechter als Patienten mit einer Lokalisation des Karzinoms im distalen Magen ($p=0,008$). Die Ergebnisse der EURO CARE-5 Studie, die die Überlebenszeit von Patienten mit Magenkarzinomen in 29 Ländern untersucht, bestätigen diese Überlebensunterschiede (8). Auch in weiteren Studien konnte ein Überlebensvorteil der distalen Magenkarzinome konstatiert werden (121).

Darüber hinaus wird in der Literatur ein vermehrtes Auftreten der AEGs bei Männern beobachtet (7, 25). Diese Distribution konnte in unserem Kollektiv mit einer signifikant höheren

AEG-Rate bei Männern als bei Frauen bestätigt werden ($p < 0,001$). Wieso das Übergangskarzinom vermehrt bei Männern auftritt, ist nicht bekannt. Das männliche Geschlecht gilt sowohl beim AEG als auch beim distalen Magenkarzinom als Risikofaktor. Ein möglicher Erklärungsansatz ist das Übergewicht, welches als alleiniger Risikofaktor für das AEG gilt (22). Es existieren große Unterschiede bei der Verteilung des Fettgewebes bei Männern und Frauen. Übergewicht tritt zwar in der Bevölkerung vermehrt beim weiblichen Geschlecht auf, Männer weisen jedoch häufiger viszerales Fettgewebe auf, welches schon in mehreren Studien mit dem Auftreten von gastrointestinalen Tumoren assoziiert werden konnte (122-124).

Aufgrund ihrer Lokalisation in der Übergangszone vereinen die AEGs anatomische Besonderheiten von sowohl Ösophagus als auch Magen. Der Diskurs darüber, ob AEGs zu den Magenkarzinomen oder den Ösophaguskarzinomen gezählt werden sollen, hält bis heute an (125). In vielen Studien, wie auch in dieser Arbeit, werden sie zu den Magenkarzinomen oder den ösophagogastralen Karzinomen gezählt und wie eine Entität behandelt, obwohl bereits in mehreren Studien nachgewiesen werden konnte, dass die Subtypen stark voneinander abweichende Eigenschaften u.a. bezüglich ihrer Ätiologie und histologischen Differenzierung aufweisen (126). Ein möglicher Ausblick für die Zukunft wäre die Betrachtung der AEGs als eigene Entität unter Analyse der Besonderheiten der einzelnen Subgruppen.

5.1.3. Histopathologische Einflussfaktoren

Im vorliegenden Kollektiv wurde der überwiegende Teil der Patienten mit einem T3-Stadium diagnostiziert (42,1 %). Darauf folgten Diagnosen im T1- und T2-Stadium mit jeweils 22 %. Ein T4-Stadium wurde selten diagnostiziert, ist hier jedoch ohnehin zu vernachlässigen, da es sich um eine Studie mit kurativem Ansatz handelt und Patienten mit weit fortgeschrittenem Stadium daher von Beginn an nicht berücksichtigt wurden. Insgesamt gab es ein hohes Vorkommen des T3-Stadiums, was sich mit den Daten der Literatur deckt (127). Das T-Stadium gilt als wichtiger prognostischer Faktor (128). Dies konnte in unserer Studie belegt werden. Patienten mit einer niedrigen Tumoreindringtiefe (T1 und T2) lebten signifikant länger als Patienten mit einem hohen T-Stadium (T3 und T4).

Neben der Tumoreindringtiefe gilt auch die Lymphknotenbeteiligung als einer der wichtigsten prognostischen Marker des Magenkarzinoms (129). In einer Vielzahl an Studien konnte belegt werden, dass bei Erstdiagnose über die Hälfte aller Magenkarzinompatienten bereits Lymphknotenmetastasen aufwies (49, 130). Diese Zahlen decken sich mit den Ergebnissen des untersuchten Kollektivs: bei 58,4 % der Patienten wurden bereits Krebszellen in den

Diskussion

Lymphknoten gefunden (N1, N2, N3), bei 39,6 % der Patienten noch nicht. Der Anteil an Patienten mit Lymphknotenmetastasen deckt sich mit den 2015 von Röcken et al. gemessenen Werten (127). Dass viele Patienten bereits Lymphknotenmetastasen aufweisen, ist zum einen durch die späte Diagnose aufgrund des asymptomatischen Wachstums zu erklären und zum anderen auf die frühe Metastasierung zurückzuführen. So zeigen 3 % aller Patienten mit dem Stadium T1a Lymphknotenmetastasen, im Stadium T1b schon 30 %. Die Metastasierung eines Magenkarzinoms verschlechtert die Prognose erheblich. So fällt bei Nachweis von Lymphknotenmetastasen die 5JÜ von 60 bis 65 % auf 10 bis 15 % (49). Dies lässt sich mit den erhobenen Daten des Kollektivs bestätigen. Patienten, die bei Erstdiagnose bereits Lymphknotenmetastasen aufwiesen, überlebten nachweislich kürzer ($p < 0,001$). Weitere Studien belegen die Abnahme der Überlebenszeit mit Zunahme der Anzahl an Lymphknotenmetastasen (127, 131, 132).

Diese Ergebnisse sind relevant für die Wahl der Therapiestrategie. Obwohl es in den letzten Jahren große Fortschritte in der Chemo-, Immun- und Radiotherapie gab, stellt bis zum heutigen Zeitpunkt die chirurgische Resektion die einzige kurative Therapieoption dar. In diesem Kontext wird seit vielen Jahren die Mitentfernung der Lymphknotenstationen um den Magen bei der totalen Gastrektomie kontrovers diskutiert. Mittlerweile ist die D2 Lymphadenektomie seit geraumer Zeit auch in Deutschland der Standard, da ein Überlebensvorteil und eine geringere lokoregionäre Rückfallrate nachgewiesen werden konnte (57, 133).

Beim Vorliegen von Fernmetastasen wird zumeist von einer Behandlung mit kurativer Intention auf eine palliative Behandlungsstrategie umgeschwenkt, welche nur in seltenen Fällen eine operative Behandlung beinhaltet. Aufgrund des langen symptomlosen Wachstums des Magenkarzinoms weisen bei Erstdiagnose bereits um die 40 % der Patienten Fernmetastasen auf (2, 134). In unserem Kollektiv wurde ausschließlich bei 16,4 % der Patienten ein M1 Status diagnostiziert, was auf den Ausschluss palliativ behandelter Patienten, aufgrund der fehlenden Operation, zurückzuführen ist. Trotzdem konnte bei den eingeschlossenen Patienten unseres Kollektivs ein kürzeres Überleben aufgedeckt werden ($p < 0,001$), was mit den Überlebenszeiten der Literatur übereinstimmt (2, 134).

5.1.4. Perioperative Chemotherapie

In den letzten 25 Jahren verzeichnete die multimodale Therapie des Magenkarzinoms große Fortschritte. Dies ist zu einem großen Teil dem Nachweis von Therapievorteilen der neoadjuvanten und adjuvanten Chemotherapie in mehreren Phase III Studien und der daran gekoppelten Weiterentwicklung der Therapiestrategien zuzuschreiben (135). Diese Studien belegen einen Überlebensvorteil der mit Chemotherapie behandelten Patienten bei fortgeschrittenen Magenkarzinomen (62-64, 136). Infolgedessen wurde die Durchführung einer neoadjuvanten Chemotherapie bei fortgeschrittenen Magenkarzinomen ab Stufe T2 in die Leitlinien aufgenommen (32).

Bei der Beurteilung unserer Ergebnisse ist es von großer Relevanz, die Daten zeitlich zu kontextualisieren. Die Datenerhebung erfolgte im Zeitraum von 2003 bis 2015 und umfasst somit den Beginn der neoadjuvanten Chemotherapie im Jahr 2006 nach der Einführung des ECX/ECF-Protokolls durch die MAGIC-Studie (62). Basierend auf den Ergebnissen dieser und weiterer randomisierter kontrollierter Studien erfolgte die Implementierung der perioperativen bzw. neoadjuvanten Chemotherapie bei Patienten mit fortgeschrittenem Magenkarzinom in die deutsche Magenkarzinomleitlinie im Jahr 2010 (137).

Erst nach der Beendigung der Datenerhebung erfolgte der Umschwung zur Oxaliplatin-basierten Chemotherapie im Jahr 2017 durch die FLOT-Studie, welche bis heute die Grundlage der neoadjuvanten Chemotherapie in Deutschland bildet (63, 64).

Insgesamt erhielten im vorliegenden Kollektiv 53,5 % der Patienten eine perioperative Chemotherapie. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Daten der National Cancer Database (NCDB) aus den Jahren 2004 bis 2016.

Die NCDB ist eine klinisch onkologische Datenbank, die die Daten von bis zu 70 % aller diagnostizierten Krebsfälle in den USA einbezieht und aus der Zusammenarbeit des American College of Surgeons und der American Cancer Society entstanden ist (138, 139). In den Jahren 2004 bis 2016 verzeichnete die NCDB 108.150 Magenkarzinomdiagnosen in den USA, wovon 53.321 eine operative Therapie erhielten. Ausschließlich operativ wurden von diesen Patienten 44,4 % behandelt. Die restlichen 55,6 % erhielten zusätzlich zur Operation eine perioperative Therapie mit Zytostatika.

Noch deutlicher wird der vollzogene Wandel der Therapiekonzepte in diesem Zeitintervall bei Betrachtung der neoadjuvanten Chemotherapie.

In dem untersuchten Kollektiv wurden 42,8 % der Patienten eine neoadjuvante Chemotherapie zugeführt, wovon 55,8 % eine Cisplatin-basiert und 44,2 % eine Oxaliplatin-basiert therapiert wurden. In der neuen S3-Leitlinie wird die Durchführung einer neoadjuvanten, Oxaliplatin-

basierten Chemotherapie allen Patienten mit einem pT2-Stadium oder höher empfohlen (137). Insgesamt können 76 % der Patienten des Kollektivs in diese Kategorie gezählt werden, es wurden jedoch nur 42,8 % neoadjuvant behandelt. Dies könnte auf mehrere Gründe zurückgeführt werden. Zum einen hatte die neoadjuvante Chemotherapie zum untersuchten Zeitraum kürzlich erst begonnen, Einzug in die Therapie des Magenkarzinoms zu nehmen. Dies wird durch die Analyse der NCDB-Daten durch das American College of Surgeons deutlich. So wurden im Jahr 2004 lediglich 15 % der Patienten mit Magenkarzinomdiagnose in den USA mit einer neoadjuvanten Chemotherapie behandelt. Im Vergleich dazu liegt der Anteil der neoadjuvant mit Chemotherapie behandelten Patienten im Jahr 2017 bereits bei 60 %. Dies bedeutet einen Anstieg der Applikation von Zytostatika um 45 % im betrachteten Zeitraum. Die Implementierung eines neuen Therapiekonzepts in der klinischen Praxis nach Veröffentlichung einer richtungsgebenden Studie nimmt eine gewisse Zeit in Anspruch. Dieses Phänomen wurde schon von Morris beschrieben, der diesen Zeitraum mit 17 Jahren bemisst (140). Demzufolge ist zu vermuten, dass bei Wiederholung der Studie zum jetzigen Zeitpunkt ein deutlich größerer Anteil an Patienten einer neoadjuvanten Chemotherapie unterzogen worden wäre. Zusätzlich ist die Diskrepanz zwischen 42,8 % neoadjuvant behandelten Patienten und 76 % mit hoher Tumoreindringtiefe durch persönliche Voraussetzungen und Motive zu erklären. Nicht alle Patienten möchten eine Therapie mit Zytostatika durchführen, sind dazu körperlich in der Lage oder vertragen diese Art von Therapie (138).

Bei den Patienten des untersuchten Kollektivs, die keine perioperative Chemotherapie erhielten, wurde mit 83,35 Monaten das längste mediane Gesamtüberleben dokumentiert. Betrachtet man die Intentionen für die Durchführung einer perioperativen Chemotherapie, beinhalten diese u.a. das Downstaging eines inoperablen Tumors zu einer resezierbaren Tumorgroße und die Vernichtung bereits gestreuter Mikrometastasen. Die Gruppe der ausschließlich operierten Patienten umfasste folglich mehrheitlich Patienten niedriger T-Stadien, die von vornherein, in Bezug auf das Gesamtüberleben, als prognostisch überlegen eingestuft werden können.

Im Vergleich dazu überlebten Patienten, die alleinig adjuvant chemotherapeutisch behandelt wurden, am kürzesten. Die Durchführung einer ausschließlich adjuvanten Chemotherapie wird in Deutschland nicht empfohlen, da bis zum heutigen Zeitpunkt lediglich in asiatischen Populationen in diesem Kontext eine Überlegenheit postuliert werden konnte (141, 142). Sie wird in Deutschland nur bei nicht erfolgtem präoperativem Staging und hohem Rezidivrisiko durchgeführt. Demzufolge gehörten der Gruppe adjuvant behandelten Patienten bereits vor der Durchführung der Therapie überwiegend Patienten mit infauster Prognose an.

Im Großen und Ganzen zeigte sich in der Analyse des Kollektivs kein signifikanter Überlebensvorteil in Abhängigkeit von der chemotherapeutischen Behandlung, sondern die neoadjuvante Chemotherapie scheint eher mit einer kürzeren Überlebensdauer einherzugehen. Die Studienlage zu diesem Thema ist kontrovers. Während in mehreren Studien (u.a. MAGIC, FNCLCC/FFCD, FLOT) eine Assoziation von neoadjuvanter Chemotherapie mit einer längeren Überlebenszeit hergestellt werden konnte (62-64, 143, 144), konnten andere Studien keine Überlebensvorteile der kombiniert neoadjuvant und operativ behandelten Patienten mit distalen Magenkarzinomen dokumentieren (145-147). Patienten mit AEGs profitieren hingegen nachgewiesenermaßen von einer neoadjuvanten Chemotherapie (145). Weitere randomisierte, multizentrische Studien in größerem Umfang sind nötig. Diese sollten insbesondere Unterscheidungen zwischen AEGs und distalen Magenkarzinomen vornehmen als auch die neuesten Therapieprotokolle mit einbeziehen.

Ähnlich sieht die Studienlage bei der adjuvanten Therapie aus. Auch hier zeigen die Patienten des vorliegenden Kollektivs einen Trend zur kürzeren Überlebensdauer. Die japanische ACTS-GC-Studie und die koreanische CLASSIC-Studie belegen einen Vorteil der adjuvanten Chemotherapie in asiatischen Populationen (141, 142). Studien in westlichen Populationen sind ausstehend. Der Nachweis für die Überlegenheit der perioperativen Chemotherapie und ihre Bedeutung für die Therapie des Magenkarzinoms in der Zukunft bleibt abzuwarten.

5.1.5. Prognose

Trotz verbesserter Operationstechniken, gezielterer Therapiestrategien, steigender 5-Jahresüberlebensrate und rückläufiger Inzidenzen bleibt die Prognose des Magenkarzinoms schlecht. Dies ist zu einem großen Teil auf das lange symptomlose Wachstum des Adenokarzinoms zurückzuführen, was eine frühe Diagnostik erschwert. Eine möglichst frühzeitige Detektion ist notwendig, um die bereits früh stattfindende lokoregionäre Ausbreitung des Magenkarzinoms zu unterbinden und somit auch die Prognose zu verbessern. In mehreren Studien konnte nachgewiesen werden, dass ein frühes Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose mit einer höheren 5JÜ einhergeht (2, 6, 7, 27, 139).

In den letzten Jahrzehnten wurde ein Anstieg der 5JÜ verzeichnet. Betrachtet man den Zeitraum von 1991 bis 2010 in den USA, konnte ein Abfall der Magenkarzinom-assoziierten Todesrate um 20 % beobachtet werden (22, 148). Die Analyse der NCDB-Daten aus den Jahren 2004 bis 2017 stützt dieses Phänomen (139). Trotz dieses marginalen Anstiegs bleibt die 5JÜ allumfassend gering. So lag diese im Jahr 2017/18 laut der Daten des deutschen Krebsregisters bei Männern bei 34 % und bei Frauen bei 37 %. Diese Ergebnisse decken sich

Diskussion

tendenziell mit den Ergebnissen des untersuchten Kollektivs. Nach 5 Jahren lebten noch etwas mehr als 40 % der eingeschlossenen Patienten. Bei der Interpretation dieser Ergebnisse muss beachtet werden, dass v.a. kurativ intendiert behandelte Patienten in unsere Studie mit aufgenommen wurden und somit die Patienten mit den wahrscheinlich kürzesten 5JÜ ausgeschlossen wurden. Dies könnte die leicht erhöhte durchschnittliche Überlebenszeit unseres Kollektivs erklären. Weiterführend ist für die Prognose auch die durchgeführte Behandlung essenziell. So konnte anhand der NCDB-Daten gezeigt werden, dass Patienten, die keine leitliniengerechte Therapie erhielten, signifikant kürzer überlebten. Da das Einschlusskriterium unserer Studie die Operation war, sind nur therapierte Patienten in unserem Kollektiv inbegriffen. Dies ist ebenfalls ein Faktor, der zu der höheren 5JÜ im Vergleich zu den 2017/18 in Deutschland gemessenen Daten beiträgt (7, 139).

Der Anstieg der 5JÜ kann auf den Abfall der Magenkarzinominzidenzen der letzten Jahre zurückgeführt oder durch die verbesserten Therapiemöglichkeiten erklärt werden. Trotzdem bleibt die Prognose aufgrund der fortgeschrittenen Erkrankungsstadien bei Diagnose marginal. Eine Möglichkeit zur Verbesserung der Überlebenszeiten stellt der Ausbau der Früherkennung dar. Da eine fortgeschrittene Erkrankung mit einem kürzeren Überleben assoziiert ist, müssen die Screening- und Vorsorgemethoden erweitert bzw. zunächst in der westlichen Welt etabliert werden, um die Patienten im optimalen Behandlungsfenster therapieren und somit die Überlebenszeit in die Höhe treiben zu können. Als mögliche Vorbilder könnten hierfür Japan oder Korea dienen, die schon seit vielen Jahren Möglichkeiten zum Magenkarzinomscreening anbieten (9, 149, 150). Das Screeningverfahren müsste hierbei auf die Gegebenheiten unserer Population angepasst werden. Hierfür sind weitere randomisierte kontrollierte Studien notwendig, um mögliche Ansatzpunkte zu detektieren.

5.2. CD44 als molekularer Prognosefaktor

Bei der Beurteilung der Färbeergebnisse wurde zwischen einer Färbung der Zellmembran und des Tumorstromas unterschieden. Sowohl Zellkerne als auch Zytoplasma sollten nicht gefärbt sein, da dies auf einen Defekt der Zellmembran oder den Tod der Zelle hinweist. Auch die positive Färbung des gesunden Magengewebes wurde von der Beurteilung ausgeschlossen.

Zählt man alle CD44 positiven Färbeergebnisse zusammen, exprimierten 67,3 % des untersuchten Kollektivs CD44 im Tumor. Differenziert man diese Ergebnisse nach der Lokalisation der CD44 Expression, wiesen 51,6 % eine positive Membranfärbung und 38,4 % eine positive Tumorstromafärbung auf. Der immunhistochemisch nachgewiesene Anteil CD44 positiver Zellen variiert in der Literatur zwischen 17,7 % und 72 % (12, 151-154). Hierbei bleibt in vielen Studien unklar, ob bei der Beurteilung der Schnitte eine Unterscheidung zwischen Membranfärbung und Tumorstromafärbung vorgenommen wurde. In einigen Studien wurde nur die Färbung der Krebszellmembran als positiv gewertet. Mit 67,3 % exprimieren in unserer Studie verhältnismäßig viele Magenkarzinomzellen CD44.

Die Variabilität des Anteils CD44-exprimierender Tumoren in den Kollektiven kann auf diverse Gründe zurückgeführt werden. Hierbei spielen u.a. die Größe der Studie, die persönlichen Faktoren der eingeschlossenen Patienten (u.a. Geschlecht, Alter, Herkunft) und deren Tumoreigenschaften, die erfolgten Therapien als auch die Orte der Durchführung der Studien eine Rolle. In dem untersuchten Kollektiv wurden verhältnismäßig viele Patienten mit Tumoren des gastroösophagealen Übergangs eingeschlossen, als auch nahezu die Hälfte der Patienten mit neoadjuvanter Chemotherapie behandelt. Diese Faktoren können zu der vermehrten CD44-Expression beitragen. Dies soll im Folgenden weiter untersucht werden.

5.2.1. Geschlechts- und Altersverteilung

In dem untersuchten Kollektiv konnten keine Zusammenhänge zwischen der Expression von CD44 und dem Alter oder dem Geschlecht nachgewiesen werden. Dies deckt sich mit den Ergebnissen anderer Studien (12, 151, 152).

5.2.2. Risikofaktoren

Die Studienlage zu Zusammenhängen zwischen patientenbezogenen Risikofaktoren und der Expression von CD44 beim Magenkarzinom ist schwach. Nur Cao et al. untersuchen in ihrer Studie die Zusammenhänge zwischen der Expression von CD44 und dem Vorliegen einer *H. pylori*-Infektion, konnten jedoch keine Zusammenhänge detektieren (151). Ähnlich sieht es im

vorliegenden Kollektiv aus. Die Expression von CD44 in der Membran konnte mit keinem bestimmten Risikoprofil in Verbindung gebracht werden. Betrachtet man jedoch die Expression von CD44 im Tumorstroma ist auffällig, dass Patienten ohne Risikofaktoren vermehrt CD44 exprimieren. So wiesen vermehrt Nichtraucher und Normalgewichtige als auch Patienten ohne *H. pylori* Besiedlung eine positive Tumorstromafärbung auf. Dies lässt die Vermutung zu, die CD44-Expression im Tumorstroma könnte, im Vergleich zu CD44-Expression in der Membran, ein positiver Prognosefaktor sein.

5.2.3. Tumorlokalisation

Eine vermehrte CD44-Expression konnte im vorliegenden Kollektiv bei Karzinomen des gastroösophagealen Übergangs festgestellt werden. 36,3 % aller AEGs exprimierten CD44 in der Membran, wohingegen nur 21,5 % aller distalen Magenkarzinome CD44 aufwiesen. Diese Ergebnisse decken sich sowohl mit denen von Brungs et al. 2019 veröffentlichten Daten (155), als auch mit den Resultaten einer Metaanalyse, die 1346 Patienten mit Ösophaguskarzinomen untersuchte und bei 35,7 % der Patienten eine CD44-Expression aufzeigte (156).

AEGs sind in der Übergangszone von Speiseröhre zu Magen lokalisiert, welche sich durch den Übergang vom Plattenepithel des Ösophagus zum Zylinderepithel des Magens auszeichnet und somit über eine einzigartige zelluläre Zusammensetzung verfügt. Solche epithelialen Übergangszonen sind prädestiniert für die Entstehung von Karzinomen (157-159). Die genauen Mechanismen, die zur Karzinogenese in diesen Bereichen führen, sind jedoch noch unzureichend geklärt. Die 2020 veröffentlichte Studie von Fu et al. liefert einen Erklärungsansatz für die Entstehung von Magenkarzinomen in der gastroösophagealen Übergangszone. Es wird die Entstehung bösartiger Transformationen durch sich in der Übergangszone befindende Ansammlungen unreifer CD44-positiver Zellen beschrieben, die für Erneuerungsprozesse zuständig sind. Diese Zellen besitzen hochgradig proliferative Eigenschaften und können entstandene Mutationen so leicht an ihre Nachkommen weitergeben. Zusätzlich fördert die Interaktion von CD44 mit seinem Liganden OPN die Transformation der Epithelien der gastroösophagealen Übergangszone und begünstigt so die Karzinogenese (159).

Wie oben beschrieben, weisen AEGs im vorliegenden Kollektiv als auch in der Literatur eine kürzere mediane Überlebenszeit auf. Exprimieren die Patienten zusätzlich CD44 in der Membran, scheint das die mediane Überlebenszeit zusätzlich zu verkürzen. Patienten mit AEG und ohne nachweisbare CD44-Färbung überlebten im Median 58,05 Monate, wohingegen die mediane Überlebenszeit bei positiver Membranfärbung 16,43 Monate beträgt. Dahingegen scheint die Expression von CD44 im Tumorstroma weniger Auswirkungen auf die

Überlebenszeit zu haben. Die medianen Überlebenszeiten bei positiver und negativer CD44-Tumorstromafärbung sind annähernd gleich.

5.2.4. Histopathologische Einflussfaktoren

In ihrer 2014 veröffentlichten Metaanalyse, die 18 untersuchte Studien mit einschließt, konnten Wang et al. keinen Nachweis über Zusammenhänge zwischen der CD44-Expression und dem Differenzierungsgrad und dem Wachstumstyp nach Laurén erbringen (12). Dies lässt sich mit den Ergebnissen des untersuchten Kollektivs weitestgehend belegen. Nur im Tumorstroma konnte eine verminderte Expression bei Karzinomen des diffusen Typs dokumentiert werden. Dies stützt ebenfalls die Vermutung einer Assoziation von CD44 im Tumorstroma mit einer verbesserten Prognose, da diffuse Tumoren, im Vergleich zu intestinal wachsenden Tumoren, vermehrt mit einer schlechteren Prognose einhergehen (50, 51).

Zusätzlich wurde in den Ergebnissen der Metaanalyse ein vermehrter Farbumschlag bei höheren T-Stadien und dem Vorliegen von Fernmetastasen dokumentiert (152, 153). Diese Ergebnisse stimmen nicht mit denen des untersuchten Kollektivs überein, da weder die Tumoreindringtiefe noch die Fernmetastasierung mit der CD44 Ausprägung in Verbindung gebracht werden konnten. Die Interaktion mit seinen Liganden Hyaluronsäure, Osteopontin, extrazellulären Matrixmetalloproteinasen und weiteren EZM-Bestandteilen ermöglicht CD44 exprimierenden Tumorzellen durch Zytoskelettveränderungen und Ablösen aus ihrer Verankerung tiefer in das umgebende Gewebe einzudringen und Krebszellabsiedlungen zu bilden (93). Aufgrund dieser Fähigkeiten des CD44-Oberflächenproteins zur Induktion von Adhäsions- und Migrationsprozessen wurde hier ein abweichendes Ergebnis erwartet (86). Mögliche Gründe für die divergierenden Ergebnisse könnten in der geringen Studiengröße des untersuchten Kollektivs und Unterschieden in den Zusammensetzungen der untersuchten Studien liegen.

Im Gegensatz dazu stimmen die Ergebnisse der Lymphknotenmetastasierung mit den Ergebnissen der Metaanalyse von Wang et al. überein (12). Beim Vorliegen von Lymphknotenmetastasen trugen die Tumorzellen nachweislich vermehrt CD44 in der Membran ($p=0,031$). In einer Vielzahl an Studien konnte eine Verbindung zwischen der CD44-Expression und der Metastasierung in Lymphknoten aufgezeigt werden (151, 154, 160). Insbesondere dem Auftreten der CD44-Variante 6 wird ein erhöhtes Metastasierungspotenzial nachgesagt. In einer Metaanalyse aus dem Jahr 2018 wurden die Ergebnisse von 18 Studien analysiert und die Bedeutung der CD44-Ausprägung im Magenkarzinom untersucht. Hierbei konnte sowohl ein signifikanter Zusammenhang zwischen CD44 generell und der Entstehung

von Lymphknotenmetastasen als auch der Ausprägung von CD44v6 mit einer Lymphknoten- als auch Lymphgefäßinvasion identifiziert werden (12, 161, 162). Die verwendeten Antikörper lassen jedoch keine Unterscheidung zwischen den Isoformen wie CD44v6 zu, weshalb hier nur zwischen CD44 positiv und negativ unterschieden werden kann.

Das Vorliegen von Lymphknotenmetastasen gilt als ein Prognosefaktor für eine kürzere Überlebenszeit. Bei Vorliegen einer Lymphknotenmetastasierung, gleichzeitiger Expression von CD44 in der Membran oder im Tumorstroma verkürzt sich das mediane Überleben, nach den hier vorliegenden Ergebnissen des Kollektivs, zusätzlich. Die Expression von CD44 scheint also nicht nur mit der Metastasierung in die Lymphknoten einherzugehen, sondern die Prognose zugleich maßgeblich zu verschlechtern. Mehrere Studien beschreiben CD44 als unabhängigen prognostischen Marker zusammen mit der Lymphknoteninvasion und dem T-Stadium (151). Beim kolorektalen Karzinom konnte die Überexpression von CD44 auf CAF bereits in Verbindung mit einem erhöhten Metastasierungspotenzial des Karzinoms gebracht werden (163).

In der Zukunft könnte eine Bestimmung der CD44-Expression sowohl die Entstehung von Lymphknotenmetastasen als auch die damit einhergehende Verkürzung der Überlebenszeit prognostizieren. Aufgrund der frühen Streuung in Lymphknoten und der zum Teil daraus resultierenden schlechten Prognose des Magenkarzinoms spielt die Früherkennung und die mögliche gezielte Ausschaltung von Tumorzellen eine zentrale Rolle in der aktuellen Forschung des Magenkarzinoms. Weitere Studien in großem Umfang sind erforderlich.

Bei dem vorliegenden Kollektiv ist kein Zusammenhang zwischen der Membranfärbung und dem Wachstumstyp nach Laurén erkennbar. Dies deckt sich mit den Ergebnissen weiterer Studien (152, 153). Anders als bei der Membranfärbung konnte eine CD44 positive Tumorstromafärbung überwiegend beim intestinalen Wachstumstyp detektiert werden. Diese Erkenntnis stützt wiederum die These, die CD44-Expression im Tumorstroma könnte einen positiven prognostischen Einfluss ausüben.

5.2.5. Perioperative Chemotherapie

Die Krebsstammzellhypothese geht davon aus, dass ein Anteil der Krebszellen Stammzellfähigkeiten besitzen, die die Resistenz gegenüber Chemotherapeutika beinhaltet. Infolgedessen sollen diese Zellen die Chemotherapie überleben und anschließend zu Rückfällen und Metastasierung führen (95). Die Studienlage zur Wirkung der Chemotherapie auf die Stammzellen ist kontrovers. Während in einigen Studien eine Vergrößerung der Stammzellpopulation (gemessen über die Expression der Stammzellmarker CD44, CD24 und CD133) aufgezeigt werden konnte (164, 165), weisen andere Studien eine Reduktion der

CSC-Marker nach erfolgter Chemotherapie auf (166, 167). Diese Studienergebnisse beziehen sich auf Mamma- und Kolonkarzinome. Zu Auswirkungen der neoadjuvanten Therapie auf die Expression von CD44 bei Magenkarzinomen liegen wenige Studienergebnisse vor (168, 169).

Eine dieser Studien ist die 2021 von Jogo et al. veröffentlichte Studie, welche die Auswirkungen untersucht, die eine perioperative Chemotherapie auf die Expression der Isoform CD44v9 in der Membran von Magenkarzinomzellen ausübt. Hierbei wiesen 48,3 % der präoperativ mit Chemotherapie behandelten Patienten eine CD44v9 Expression auf, wohingegen nur 26,4 % der nicht präoperativ behandelten Patienten CD44v9 exprimierten. Diese Ergebnisse weisen, ähnlich den Ergebnissen des untersuchten Kollektivs, eine Tendenz zur vermehrten Expression von CD44 in der Membran nach erfolgter neoadjuvanter Therapie auf. 36,8 % aller neoadjuvant vorbehandelten Patienten des untersuchten Kollektivs exprimierten CD44 in der Membran, wohingegen nur 23,1 % der nicht neoadjuvant behandelten Patienten CD44 exprimierten. Die Zunahme des CD44-Vorkommens nach erfolgter neoadjuvanter Chemotherapie lässt eine Induktion von Veränderungsmechanismen in der Zelle durch die applizierte Chemotherapie vermuten. Möglich wäre eine Ausbildung des CD44-Oberflächenmerkmals durch die Krebszelle, um diese vor der angreifenden Chemotherapie zu schützen und sie dadurch resistenter zu machen. Ein weiterer möglicher Erklärungsansatz geht mit der Stammzelltheorie einher. Nach erfolgter radikaler Chemotherapie bleiben nur die Zellen mit Stammzeleigenschaften zurück und können im Folgenden zu Rückfällen und Metastasierung führen. Bei Resektion des Tumors werden daher bei diesen Tumoren zu großen Teilen CD44-positive Zellen detektiert (169).

Die Unterschiede zwischen den Ergebnissen der oben beschriebenen Studie und den Ergebnissen dieser Dissertation können auf die geringen Anzahlen perioperativ behandelter Patienten der Studie von Jogo et al. zurückgeführt werden. So wurden nur 29 Patienten neoadjuvant Chemotherapie verabreicht, im Vergleich zu 68 Patienten in der vorliegenden Studie. Außerdem wurde einzig die Isoform CD44v9 untersucht, da es Hinweise zur Assoziation dieser Isoform mit erhöhter Rückfallrate und Zytostatikaresistenz gibt (170). Diese Vermutungen konnten Jogo et al. in ihrer Studie belegen. Patienten mit CD44v9 Expression wiesen sowohl Zusammenhänge mit schlechteren klinisch-pathologischen Faktoren, als auch schlechteres Ansprechen auf Chemotherapie und infolgedessen eine schlechtere Prognose auf (169). Dies bestätigt die Vermutungen zur Ausbildung resistenter CD44-positiver Zellen mit Stammzeleigenschaften.

Weitere Studien mit einer größeren Patientenzahl und unterschiedlichen CD44-Splicevarianten sind nötig, um diesen Verdacht endgültig zu bestätigen. Diese Ergebnisse

geben jedoch einen Ausblick auf die mögliche gezielte Ausschaltung CD44-positiver Stammzellen, zur Effektivitätssteigerung der Chemotherapie als auch zur Verhinderung von Rückfällen. Darüber hinaus könnte CD44 als prognostischer Marker verwendet werden, um die Wahrscheinlichkeit von Rückfällen, Entwicklung von Zytostatikaresistenzen und Mortalität abzuschätzen.

5.2.6. Prognose

Im Gegensatz zu der Uneinigkeit der Literatur in Bezug auf die oben beschriebenen Parameter ist die Studienlage zur Überlebenszeit in Abhängigkeit von der CD44-Färbung eindeutiger. Dementsprechend konnte in mehreren Studien eine Assoziation von CD44 im Tumorgewebe und einer kürzeren Überlebenszeit dokumentiert werden (151, 152). Dieser Trend lässt sich ebenfalls in dem untersuchten Kollektiv beobachten. Die Zunahme der CD44-Färbungsintensität geht mit einer deutlichen Abnahme der medianen Überlebenszeit einher, wobei Patienten mit schwacher CD44 Färbung, im Vergleich zu Patienten mit medianer und starker Färbung, ähnliche mediane Überlebenszeiten wie Patienten ohne CD44-Expression aufwiesen. Diese Ergebnisse bestätigen die Vermutung, dass schwach gefärbte Tumoren ähnliche Eigenschaften wie negative Tumoren zu haben scheinen. Hierbei scheint vor allem die Expression in der Tumorzellmembran von Bedeutung zu sein. Der Expression von CD44 im Tumorstroma kommt in Bezug auf das Überleben scheinbar eine geringere Bedeutung zu.

Die Ergebnisse dieser Studie suggerieren, dass die CD44 Überexpression in Magenkarzinomzellmembranen nicht nur hochgradig metastasierende Eigenschaften mit sich bringt, sondern auch an der Ausbildung von Zytostatikaresistenzen beteiligt ist. Daher stellt sich die Frage, ob CD44 als möglicher Prognosefaktor für die Metastasierung in Lymphknoten, die Entwicklung von Zytostatikaresistenzen und zur Vorhersage der Überlebenszeit verwendet werden kann.

Durch die Durchführung von Cox-Regressionen konnte die CD44 Überexpression in mehreren Studien als unabhängiger prognostischer Marker für ein kürzeres Gesamtüberleben der Patienten identifiziert werden (151-153, 171). Ähnliche Tendenzen sind im vorliegenden Kollektiv ebenfalls erkennbar. Sowohl die CD44 Expression ($p=0,052$), als auch die erfolgte neoadjuvante Chemotherapie ($p=0,052$) üben vermutlich Einfluss auf das Gesamtüberleben der Patienten aus. Zusätzlich konnten N-Status und auch die Lokalisation des Karzinoms als unabhängige prognostische Marker identifiziert und somit als prädiktive Faktoren gewertet werden. Dahingegen scheint die Expression von CD44 im Tumorstroma keine Wirkung auf das Überleben zu haben und ist daher als Vorhersagewert unbrauchbar.

Diskussion

Insgesamt ist der Vergleich des untersuchten Kollektivs mit den Studien aus der Literatur aus mehreren Gründen nur eingeschränkt möglich. Zum einen verfügten die vorliegenden Studien teilweise über sehr kleine Patientenkohorten, wodurch lediglich eine geringe Anzahl CD44 positiver Magenkarzinome untersucht wurde. Darüber hinaus wurden die Studien in unterschiedlichen Ländern durchgeführt, wodurch die Patienten unterschiedliche Risikoprofile und Grundvoraussetzungen mitbrachten. So erfolgte die Studiendurchführung von Chen et al. als auch die von Wakamatsu et al. in einem japanischen Kollektiv. Japan zählt zu den Ländern mit den höchsten Magenkarzinominzidenzen weltweit (5). Aufgrund abweichender Essgewohnheiten, höherer *H. pylori*-Durchseuchungsraten und weiteren exogenen Faktoren bringen die untersuchten Patienten andere Voraussetzungen mit und sind somit nicht direkt mit dem hier untersuchten Kollektiv vergleichbar (28).

Trotz verbesserter und aggressiverer Therapiestrategien bleibt die Prognose des Magenkarzinoms schlecht. Molekulare Prognosefaktoren könnten in der Zukunft in die Klassifizierung der Tumoren mit einbezogen werden und so die Möglichkeit bieten, die Rückfallwahrscheinlichkeit und Überlebenszeit der betroffenen Patienten besser abzuschätzen. Darüber hinaus könnte das Screening der Patienten nach molekularen Prognosefaktoren zur Detektion solcher Patienten führen, die von gezielten Therapien profitieren könnten.

Um dies zu erreichen, ist die Validierung der molekularen Rolle von CD44 in einem größeren und unabhängigen Datensatz erforderlich. Hierbei sollten AEGs und Magenkarzinome als zwei unterschiedliche Entitäten behandelt werden. Darüber hinaus könnte CD44 in der Zukunft als Angriffspunkt neuer zielgerichteter Therapien dienen. Durch gezieltes Ausschalten der CD44 exprimierenden Zellen mit Stammzeleigenschaften könnte das Metastasierungspotenzial reduziert und das Gesamtüberleben gesteigert werden.

5.3. CXCR4 als molekularer Prognosefaktor

Wie bei der Beurteilung der immunhistochemischen CD44-Färbeergebnisse, wurde bei der CXCR4-Färbung auch sowohl die vollständige Membranfärbung als auch die Färbung des Tumormikromilieus evaluiert. In dem untersuchten Kollektiv exprimierten lediglich 6,9 % der Patienten CXCR4 in der Tumorzellmembran und 17 % im umgebenden Tumorstroma. Insgesamt ergibt sich eine CXCR4-positive Färbung des Tumorgewebes von 22 %, was einem sehr geringen Anteil entspricht. Diese Ergebnisse weichen deutlich von den Verhältnissen der Literatur ab, welche zwischen 30,6 % und 44,3 % variieren (172-175). Wieso in dem vorliegenden Kollektiv verhältnismäßig wenige Patienten CXCR4 im Tumorgewebe exprimierten, bleibt fraglich. Mögliche Ursachen könnten in den genetischen Hintergründen der Patienten, der Studienzusammensetzung und den kleinen Größen der Studien liegen, die in einer geringeren Vergleichbarkeit der Studienergebnisse untereinander resultieren.

In Folge des geringen Anteils an Tumoren mit membranständiger CXCR4-Expression im untersuchten Kollektiv sind die erhobenen Ergebnisse nur geringfügig repräsentativ und müssen mit Vorsicht interpretiert werden. Weiterführende Untersuchungen mit zahlenmäßig größeren Kollektiven könnten zu vielversprechenden Daten führen.

5.3.1. Geschlechts- und Altersverteilung

Bei der Beurteilung der membranständigen CXCR4-Färbung in Hinblick auf die altersabhängige Verteilung im Kollektiv konnten keine Zusammenhänge erkannt werden. Dies deckt sich mit den Ergebnissen mehrerer Studien (172, 173, 176).

Anders verhält es sich bei der geschlechtsabhängigen Verteilung des Chemokinrezeptors im untersuchten Kollektiv. Betrachtet man die 11 CXCR4 membranständig exprimierenden Karzinompatienten ist auffällig, dass diese überwiegend dem männlichen Geschlecht angehören. Diese Tendenzen lassen sich zum jetzigen Zeitpunkt durch keine vorliegende Magenkarzinomstudie bestätigen. Bei der Untersuchung von Kolonkarzinomen konnte Yopp et al. im Jahr 2012 jedoch ebenfalls ein vermehrtes Vorkommen der CXCR4 Expression beim männlichen Geschlecht verzeichnen (177). Zahlenmäßig größere Studien sind nötig, um diese möglichen Tendenzen weiter zu untersuchen. Das Geschlecht sollte bei der möglichen Verwendung CXCR4s als prognostischen Marker nicht außer Acht gelassen werden.

Auch bei der Tumorstromafärbung wurden Unterschiede in Bezug auf das Geschlecht deutlich. Hier konnte eine nachweislich vermehrte CXCR4-Färbungen bei weiblichen Patienten aufgezeigt werden.

Grundsätzlich ist die Studienlage zur Expression von CXCR4 im Tumorstroma des Magenkarzinoms unzureichend. Es ist bekannt, dass CXCR4 auf unterschiedlichen, dem Tumormikromilieu zugehörigen, Zellen exprimiert wird, zu denen u.a. Fibroblasten, Endothelzellen, Epithelzellen und Lymphozyten zählen (116). Diese Zellen werden durch hohe CXCL12 Konzentrationen in der Umgebung der Krebszellen angelockt, um dort als Teil des Tumorstromas das Krebswachstum zu unterstützen (21, 178). Das Vorkommen des Chemokins CXCL12, welches als Ligand von CXCR4 agiert und nachgewiesenermaßen auf CAFs und im Tumormikromilieu vorkommt und so das Tumorwachstum und die Metastasenentstehung begünstigt, wurde in mehreren Studien untersucht und belegt (102, 179).

5.3.2. Tumorlokalisation

Darüber hinaus konnte eine vermehrte CXCR4-Färbung im Tumorstroma bei Tumoren des gastroösophagealen Übergangs festgestellt werden und auch 8 der 11 CXCR4 in der Membran exprimierenden Tumoren waren in diesem Bereich lokalisiert. Spezielle Studien, die Unterschiede in CXCR4-Expressionsmustern bei Übergangskarzinomen und distalen Magenkarzinomen vergleichen, liegen zum jetzigen Zeitpunkt nicht vor. In ihrer 2015 publizierten Studie untersuchten Sugihara et al. die Ausprägungen des CXCR4 Liganden CXCL12 in 123 AEG-Patienten. Hierbei konnte gezeigt werden, dass bei über die Hälfte der Patienten CXCL12 vermehrt auf Krebszellen und Stromazellen exprimiert und dass dieses vermehrte Vorkommen über die Interaktion mit CXCR4 mit einem deutlich schlechteren Überleben der Patienten einherging (180).

Bei der Analyse der Überlebenszeiten des Kollektivs zeigt sich in Bezug auf die CXCR4-Membranfärbung sowohl beim distalen Magenkarzinom als auch bei dem AEG eine deutliche Abnahme der Überlebenszeit bei CXCR4 tragenden Patienten. So wiesen Patienten mit einem Übergangskarzinom ohne CXCR4-Färbung eine Überlebenszeit von 56 Monaten auf, wohingegen diese sich bei CXCR4-Färbung auf unter die Hälfte reduziert. Dahingegen lebten die Patienten mit CXCR4 positivem Tumorstroma sowohl beim distalen Magenkarzinom als auch beim Übergangskarzinom im Median tendenziell länger. Diese Beobachtung zeigte sich verstärkt beim distalen Magenkarzinom. Patienten ohne Tumorstromafärbung lebten im Median 73,85 Monate und bei positiver Färbung 112 Monate. Hierbei muss jedoch erwähnt werden, dass bei so speziellen Subgruppenanalysen sehr geringe Gruppengrößen entstehen, wodurch die Ergebnisse nicht unbeschränkt auf das Gesamtkollektiv übertragbar sind. Diese Tendenzen bestätigen jedoch die Vermutungen, dass CXCR4-Expression im Tumorstroma ein möglicher positiver prädiktiver Faktor sein könnte. Hierzu sind weitere Studien notwendig.

5.3.3. Histopathologische Einflussfaktoren

Bei der Untersuchung des Tumorstromas konnten keine Zusammenhänge mit einer erhöhten Eindringtiefe festgestellt werden. Dahingegen wiesen bei Betrachtung der Membranfärbung 9 der 11 Tumoren mit Farbumschlag mindestens ein pT3-Stadium auf. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der Studie von Chen et al. aus dem Jahr 2021, in der ein nachweislich erhöhtes Vorkommen des Chemokinrezeptors bei Tumoren der T3 und T4 Stadien gezeigt werden konnte (174). Dies legt die Vermutung nahe, dass die Expression von CXCR4 in der Membran mit ungünstigeren Tumoreigenschaften einhergeht.

Erwiesenermaßen hängt das Metastasierungspotenzial mehrerer solider Tumoren eng mit der Expression des CXCR4-Chemokinrezeptors zusammen (110, 112, 114, 181) und auch beim Magenkarzinom konnten Iwasa et al. eine Verbindung zwischen der CXCR4-Expression und der Entstehung von Lymphknoten- und Fernmetastasen herstellen (13). Durch das Zusammenspiel mit seinem Liganden CXCL12 verleiht CXCR4 den Krebszellen pleiotrope Effekte und reguliert Migrationsbewegungen entlang des CXCL12 Konzentrationsgradienten. In mehreren Studien konnte durch eine gezielte Ausschaltung des CXCR4/CXCL12-Signalweges eine Reduktion der Metastasenlast erzielt werden (182).

Auch im vorliegenden Kollektiv scheinen die CXCR4 membranständig exprimierenden Krebszellen Metastasierungstendenzen zu besitzen. So wiesen 9 der 11 Patienten, bei denen der Chemokinrezeptor in der Membran nachgewiesen werden konnte, bereits Lymphknotenmetastasen zum Zeitpunkt der Diagnose auf. Dies untermauert zusätzlich die Ergebnisse der 2021 veröffentlichten Studie von Chen et al., der ebenfalls einen Zusammenhang der CXCR4 Überexpression mit der Metastasierung in Lymphknoten und darüber hinaus in weitere Organe belegen konnte (174).

Trotzdem liegen ebenfalls Studien vor, die keine Verbindung zwischen CXCR4 und der Metastasierung in Lymphknoten herstellen konnten (172, 173).

Diese Unterschiede sind möglicherweise auf abweichenden Studiengrößen und Unterschiede in der Studienzusammensetzung zurückzuführen, die in einer unzureichenden Vergleichbarkeit der Studien untereinander resultiert. Zusätzlich schränkt die niedrige Anzahl CXCR4-positiver Präparate des untersuchten Kollektivs die Vergleichbarkeit mit der Literatur ein. Weitere Studien sind unerlässlich, um die beobachteten Tendenzen zu bestätigen.

Prinzipiell ist die Metastasierung von Karzinomen ein hochgradig organisierter Prozess und die Beteiligung und Auswirkungen des Chemokinrezeptors CXCR4 sind bis heute nicht abschließend geklärt (21, 183).

Diskussion

Bei der Beurteilung der CXCR4-Expression im Tumorstroma konnte keine Assoziation mit der Metastasierung in Lymphknoten dokumentiert werden.

Darüber hinaus deuten die Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung auf einen Zusammenhang der CXCR4-Expression mit einem hohen Differenzierungsgrad hin. So wiesen speziell Tumoren des G1 und G2 Typs CXCR4 in der Membran und im Tumorstroma auf. Ebenso wie Chen et al. im Jahr 2021 beschrieben auch Kwak et al. im Jahr 2005 diesen Zusammenhang (174, 176). Zu Beginn der Krebsentstehung behält das Karzinom seinen epithelialen Charakter. Erst im Verlauf gehen diese Eigenschaften verloren und die Krebszellen weichen immer mehr von ihrem ursprünglichen Phänotyp ab. Satomura et al. beschreiben in ihrer Studie eine gleichzeitige Verminderung der CXCL12 Expression mit der Abnahme des Differenzierungsgrades (173). Dies passt mit den beobachteten Tendenzen des untersuchten Kollektivs überein. Es liegen jedoch noch weitere Studien vor, die hinsichtlich der differenzierungsabhängigen Expression des Chemokinrezeptors Uneinigkeit postulieren. So dokumentierten Zhao et al. eine vermehrte CXCR4-Expression bei schlecht differenzierten Tumoren und Satomura et al. konnten keine Zusammenhänge mit dem Grading aufdecken (173).

Ähnlich kontrovers stellt sich die Studienlage in Bezug auf die Laurén-Klassifikation dar (184). Hier konnte im untersuchten Kollektiv ein vermehrtes CXCR4-Vorkommen im Tumorstroma beim intestinalen Wachstumstyp festgestellt werden. Dieselben Tendenzen deckten Kwak et al. und Iwasa et al. in ihren Studien auf (13, 176). Hierbei wurde jedoch nicht die Färbung des Tumorstromas, sondern die der Tumorzellen selbst untersucht, bei welcher im untersuchten Kollektiv kein vermehrtes Vorkommen des Chemokinrezeptors dokumentiert werden konnte.

Möglicherweise ist das vermehrte Vorkommen von CXCR4 im Tumorstroma bei sowohl guter Differenzierung als auch bei intestinale Wachstumstyp auf den Verankerungsmechanismus der Zellen über die Bindung CXCR4-tragender Zellen an ihren Liganden CXCL12 zurückzuführen (21). Es ist möglich, dass die Downregulation des CXCR4/CXCL12-Signalweges bei schlecht differenzierten und diffus wachsenden Tumoren mit der gesteigerten Invasivität dieser Tumoren in Verbindung gebracht werden kann, aufgrund einer verminderten Verankerung. Infolgedessen ist die Expression von CXCR4, wie oben schon einmal erwähnt, im Tumorstroma möglicherweise als potenziell positiver Prognosefaktor zu werten. Um diese These zu validieren, sind weitere Untersuchungen nötig.

5.3.4. Prognose

In der Literatur wird eine Assoziation der CXCR4-Krebszellfärbung mit einer schlechteren Prognose (19, 185) und einer kürzeren Überlebenszeit beschrieben (172, 174, 186). Dies kann mit den Ergebnissen dieser Arbeit belegt werden, wobei an dieser Stelle noch einmal auf den geringen Anteil CXCR4 membranständig tragender Magenkarzinome hingewiesen werden muss, die die Aussagekraft der Ergebnisse des untersuchten Kollektivs einschränken. Unter Berücksichtigung dessen suggerieren die erhobenen Daten, dass eine weiterführende Untersuchung mit einem größeren Kollektiv zu vielversprechenden Daten führen könnte, da die 11 Patienten mit positiver CXCR4-Membranfärbung mit einem medianen Überleben von 10,55 Monaten deutlich kürzer überlebten als die restlichen Patienten mit einem medianen Überleben von 56,25 Monaten. Die Expression des Chemokinrezeptors im Tumorstroma scheint hingegen keine relevanten Auswirkungen auf das Überleben zu haben und ist daher als potenzieller Prognosefaktor ungeeignet.

Zusammenfassend bleibt die Bedeutung des Chemokinrezeptors als molekularer Prognosefaktor unklar. Aufgrund der wider Erwarten geringen Anzahl positiver CXCR4 exprimierender Magenkarzinome des untersuchten Kollektivs waren keine weitreichenden Untersuchungen möglich. Die Tendenzen weisen jedoch auf einen Zusammenhang zwischen der CXCR4-Expression und einem fortgeschrittenem Tumorstadium, einem hohen Differenzierungsgrad und einer kürzeren Überlebenszeit und damit einhergehend schlechteren Prognose hin. Hierzu sind weitere Studien in einem größeren Umfang nötig, um diesen Trend zu validieren.

5.4. Zusammenhänge zwischen CD44 und CXCR4

Insgesamt deuten die Daten darauf hin, dass sowohl CD44 als auch CXCR4 entscheidende Rollen in der Tumorentstehung, -progression und Metastasenbildung spielen und daraus resultierend signifikante Auswirkungen auf das Überleben der exprimierenden Patienten ausüben. Sowohl in der Literatur als auch im untersuchten Kollektiv treten CD44 und CXCR4 in der Krebszellmembran als prognostische Faktoren für einen aggressiven Phänotyp des Magenkarzinoms auf, insbesondere in Hinblick auf das TNM-Stadium und das Überleben.

Daher erfolgte zusätzlich eine Analyse der Zusammenhänge zwischen den beiden Stammzellmarkern. Hierbei konnte aufgezeigt werden, dass bei vorliegender CD44 auch vermehrt CXCR4 exprimiert wurde. Dies betraf sowohl die Ausprägung in der Zellmembran als auch im Tumorstroma. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen auch Fanelli et al. in ihrer Studie aus dem Jahr 2012, in der sie eine gesteigerte CXCR4-Expression bei CD44v6

tragenden Magenkarzinomen aufzeigten (186). Auch die Ergebnisse von Bao et al. bestätigen die des vorliegenden Kollektivs. So zeigten sie in ihrer Studie, dass CD44 über die Interaktion mit HER2 die CXCR4 Expression hochregulieren und so die Invasivität von Magenkrebszellen steigern kann (183).

Diese Erkenntnisse könnten in der Zukunft der Ausarbeitung neuer Therapiestrategien dienen. Möglicherweise könnte durch das gleichzeitige Anvisieren von CD44 und CXCR4 mehrere unterschiedliche Signalwege unterdrückt und so das Wachstums- und Metastasierungspotenzial von Magenkarzinomen effektiver gesenkt werden. Auch eine Verwendung der Kombination beider Marker zur Abschätzung der Prognose, der Lymphknotenmetastasierung und der Entstehung einer Zytostatikaresistenz ist denkbar. Hier wäre die Untersuchung von Magenkarzinombiopsien in Bezug auf die Expression der Marker interessant, da dies neue Möglichkeiten zur frühzeitigen Diagnostik eröffnen könnte. Einen limitierenden Faktor könnte hierbei jedoch die Heterogenität der Präparate darstellen, da in einem Großteil der untersuchten Gewebeschnitte nur kleine Teile des Karzinoms eine Färbung aufwiesen, welche durch eine Biopsie möglicherweise nicht detektiert werden könnten.

5.5. Limitationen

Diese Studie weist einige Limitationen auf, welche berücksichtigt werden müssen. Zum einen handelt es sich um eine retrospektive Studie einer einzelnen Institution. Die Kriterien zum Einschluss in die Studie bestanden in der Diagnose eines Magenkarzinoms, welches operativ an der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität behandelt wurde. Infolgedessen können mögliche Verzerrungen nicht ausgeschlossen werden. Darüber hinaus war die CXCR4-Membranexpression der untersuchten Patienten im Vergleich zur Literatur sehr gering, weswegen hier keine eindeutigen Rückschlüsse gezogen werden können. Die Expression von CD44 und CXCR4 stellte sich in den immunhistochemischen Schnitten sehr heterogen dar, was eine standardisierte Beurteilung erschwert. Weitere Studien in einem größeren Umfang sind notwendig, um die Ergebnisse dieser Studie zu validieren.

6. Zusammenfassung

Obwohl sich die Inzidenzen in den letzten Jahren rückläufig zeigten, bleibt das Magenkarzinom die fünfthäufigste Krebserkrankung der Welt. Trotz verbesserter Diagnostik- und Therapieverfahren ist die Prognose schlecht und die Lebenszeit limitiert. Daher kommt dem Herausarbeiten unabhängiger, für die Karzinogenese relevanter Prognosefaktoren zur Abschätzung der Rückfallwahrscheinlichkeit und Überlebenszeit der betroffenen Patienten eine besondere Bedeutung zu. Molekulare Prognosefaktoren könnten zudem zum Ansatzpunkt personalisierter Therapieverfahren werden und zur Identifizierung von Patienten mit schlechter Prognose beitragen, die von personalisierten Therapieverfahren profitieren könnten.

Dementsprechend wurden in der vorliegenden Arbeit 159 Magenkarzinompatienten auf die Expression von CD44 und CXCR4 untersucht und die Rezeptoren auf ihre Verwendbarkeit als molekulare Prognoseparameter geprüft.

Mit den Ergebnissen dieser Arbeit konnten der Einfluss bereits bekannte Einflussfaktoren wie der Tumoreindringtiefe, der Lymph- und Fernmetastasierung, des Vorliegens von Residualtumor nach der Operation, Therapie und der Lokalisation des Karzinoms auf das Überleben belegt werden.

Auf Grundlage dieser Studie konnten die membranständige CD44 Expression, die Karzinomlokalisierung, die Lymphknotenmetastasierung und die neoadjuvante Chemotherapie als potenzielle prognostische Marker identifiziert werden. So waren CD44 positive Krebszellen gehäuft im gastroösophagealen Übergang lokalisiert und traten vermehrt in Verbindung mit einer Lymphknotenmetastasierung auf. Dies bestätigt die Ergebnisse mehrerer Studien. Zudem wiesen Patienten, die neoadjuvant mit einer Chemotherapie behandelt wurden, anteilmäßig mehr CD44 Färbungen in der Krebszellmembran auf.

Im Hinblick auf das Gesamtüberleben konnten die Lymphknotenmetastasierung und die Karzinomlokalisierung als unabhängige prognostische Marker identifiziert werden. Die membranständige CD44 Expression und die erfolgte neoadjuvante Therapie zeigten ähnliche Tendenzen auf. Insgesamt ging die Expression von CD44 in der Zellmembran mit einer eindeutig reduzierten Überlebenszeit einher.

Zusammenfassung

Die Untersuchung der Bedeutung von Chemokinen und ihren Rezeptoren hat in der Krebsforschung in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Vor allem der Chemokinrezeptor CXCR4 scheint im Rahmen des Magenkarzinoms eine besondere Rolle einzunehmen. Daher war die lediglich bei 6,9 % der Patienten gemessene Expression des Rezeptors im vorliegenden Kollektiv wider Erwarten niedrig. Trotzdem konnten in der Literatur beschriebene Tendenzen zur erhöhten Tumoreindringtiefe, vermehrten Lymphknotenmetastasierung, Lokalisation im gastroösophagealen Übergang, Vorkommen beim männlichen Geschlecht und reduziertem Überleben mit einer CXCR4-Überexpression bestätigt werden. Weitere Studien sind nötig, um diese vermuteten Zusammenhänge zu validieren.

Mit den Ergebnissen dieser Arbeit konnte das Vorkommen von CD44 und CXCR4 im Tumorstroma von Magenkarzinomen belegt werden. In dem vorliegenden Kollektiv konnte keine Reduktion der Überlebenszeit mit der Expression der Marker im Tumorstroma in Verbindung gebracht werden. Die prinzipielle Bedeutung der Expression im Tumorstroma für die Malignität des Karzinoms bleibt jedoch unklar und sollte weiter exploriert werden.

Insgesamt scheinen sowohl CD44 als auch CXCR4 Potenzial als molekulare Prognosefaktoren aufzuweisen. Insbesondere die Zusammenhänge der beider Rezeptoren mit einer verminderten Überlebenszeit der exprimierenden Patienten ist auffällig und scheint erfolgversprechend. Zudem könnte die beobachtete simultane Expression der beiden Marker als Ansatzpunkt neuer Therapiestrategien dienen. In der Zukunft sind weitere groß angelegte Studien notwendig, um die erzielten Ergebnisse zu validieren und auf ihrer Grundlage neue Therapieverfahren zu entwickeln.

7. Literaturverzeichnis

1. The Global Cancer Observatory. GLOBOCAN Cancer Fact Sheets: Stomach cancers.: World Health [WHO]: International Agency for Research on Cancer; 2020.
2. National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology, and End Result Program. Cancer Stat Facts: Stomach Cancer. Zitiert am: 28.01.2022.2021.
3. Integrated genomic characterization of oesophageal carcinoma. *Nature*. 2017;541(7636):169-75.
4. Rall CJ, Rustgi AK. CD44 isoform expression in primary and metastatic pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res*. 1995;55(9):1831-5.
5. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209-49.
6. Thrift AP, Nguyen TH. Gastric Cancer Epidemiology. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2021;31(3):425-39.
7. Zentrum für Krebsregisterdaten und Gesellschaft der Epidemiologischen Krebsregister in Deutschland E.V. Krebs in Deutschland für 2017/2018. 13 ed. Berlin: Robert Koch-Institut; 2021. Chapter 3.4, Magen (C16); p. 41-3.
8. Anderson LA, Tavilla A, Brenner H, Luttmann S, Navarro C, Gavin AT, et al. Survival for oesophageal, stomach and small intestine cancers in Europe 1999-2007: Results from EURO CARE-5. *Eur J Cancer*. 2015;51(15):2144-57.
9. Messmann H. Klinische Gastroenterologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2012. Chapter 4.7.2, Magenkarzinom; p. 258-72.
10. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*. 2010;376(9742):687-97.
11. Viani GA, Afonso SL, Stefano EJ, De Fendi LI, Soares FV. Adjuvant trastuzumab in the treatment of her-2-positive early breast cancer: a meta-analysis of published randomized trials. *BMC Cancer*. 2007;7:153.
12. Wang W, Dong LP, Zhang N, Zhao CH. Role of cancer stem cell marker CD44 in gastric cancer: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(12):5059-66.
13. Iwasa S, Yanagawa T, Fan J, Katoh R. Expression of CXCR4 and its ligand SDF-1 in intestinal-type gastric cancer is associated with lymph node and liver metastasis. *Anticancer Res*. 2009;29(11):4751-8.
14. Hassn Mesrati M, Syafruddin SE, Mohtar MA, Syahir A. CD44: A Multifunctional Mediator of Cancer Progression. *Biomolecules*. 2021;11(12).
15. Hiscox S, Baruha B, Smith C, Bellerby R, Goddard L, Jordan N, et al. Overexpression of CD44 accompanies acquired tamoxifen resistance in MCF7 cells and augments their sensitivity to the stromal factors, heregulin and hyaluronan. *BMC Cancer*. 2012;12:458.
16. Hiraga T, Ito S, Nakamura H. Cancer stem-like cell marker CD44 promotes bone metastases by enhancing tumorigenicity, cell motility, and hyaluronan production. *Cancer Res*. 2013;73(13):4112-22.

17. Teicher BA, Fricker SP. CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer. *Clin Cancer Res.* 2010;16(11):2927-31.
18. Pozzobon T, Goldoni G, Viola A, Molon B. CXCR4 signaling in health and disease. *Immunol Lett.* 2016;177:6-15.
19. Jiang Q, Sun Y, Liu X. CXCR4 as a prognostic biomarker in gastrointestinal cancer: a meta-analysis. *Biomarkers.* 2019;24(6):510-6.
20. Kinugasa Y, Matsui T, Takakura N. CD44 expressed on cancer-associated fibroblasts is a functional molecule supporting the stemness and drug resistance of malignant cancer cells in the tumor microenvironment. *Stem Cells.* 2014;32(1):145-56.
21. Domanska UM, Kruizinga RC, Nagengast WB, Timmer-Bosscha H, Huls G, de Vries EG, et al. A review on CXCR4/CXCL12 axis in oncology: no place to hide. *Eur J Cancer.* 2013;49(1):219-30.
22. Karimi P, Islami F, Anandasabapathy S, Freedman ND, Kamangar F. Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014;23(5):700-13.
23. Florea A, Brown HE, Harris RB, Oren E. Ethnic Disparities in Gastric Cancer Presentation and Screening Practice in the United States: Analysis of 1997-2010 Surveillance, Epidemiology, and End Results-Medicare Data. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2019;28(4):659-65.
24. von Rahden BH, Feith M, Stein HJ. Carcinoma of the cardia: classification as esophageal or gastric cancer? *Int J Colorectal Dis.* 2005;20(2):89-93.
25. Colquhoun A, Arnold M, Ferlay J, Goodman KJ, Forman D, Soerjomataram I. Global patterns of cardia and non-cardia gastric cancer incidence in 2012. *Gut.* 2015;64(12):1881-8.
26. Warsinggih, Syarifuddin E, Marhamah, Lusikooy RE, Labeda I, Sampetoding S, et al. Association of clinicopathological features and gastric cancer incidence in a single institution. *Asian J Surg.* 2022;45(1):246-9.
27. Song Z, Wu Y, Yang J, Yang D, Fang X. Progress in the treatment of advanced gastric cancer. *Tumour Biol.* 2017;39(7):1010428317714626.
28. Correa P. Gastric cancer: two epidemics? *Dig Dis Sci.* 2011;56(5):1585-6; author reply 6.
29. Arnold M, Park JY, Camargo MC, Lunet N, Forman D, Soerjomataram I. Is gastric cancer becoming a rare disease? A global assessment of predicted incidence trends to 2035. *Gut.* 2020;69(5):823-9.
30. Anderson WF, Rabkin CS, Turner N, Fraumeni JF, Jr., Rosenberg PS, Camargo MC. The Changing Face of Noncardia Gastric Cancer Incidence Among US Non-Hispanic Whites. *J Natl Cancer Inst.* 2018;110(6):608-15.
31. Toh JWT, Wilson RB. Pathways of Gastric Carcinogenesis, Helicobacter pylori Virulence and Interactions with Antioxidant Systems, Vitamin C and Phytochemicals. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17).
32. Moehler M, Al-Batran SE, Andus T, Arends J, Arnold D, Baretton G, et al. S3-Leitlinie Magenkarzinom – Diagnostik und Therapie der Adenokarzinome des Magens und des ösophagogastralen Übergangs. *Z Gastroenterol.* 2019;57(12):1517-632.
33. González CA, Megraud F, Buissonniere A, Lujan Barroso L, Agudo A, Duell EJ, et al. Helicobacter pylori infection assessed by ELISA and by immunoblot and noncardia gastric cancer risk in a prospective study: the Eurgast-EPIC project. *Ann Oncol.* 2012;23(5):1320-4.
34. Lochhead P, El-Omar EM. Helicobacter pylori infection and gastric cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2007;21(2):281-97.

35. Wang F, Meng W, Wang B, Qiao L. Helicobacter pylori-induced gastric inflammation and gastric cancer. *Cancer Lett.* 2014;345(2):196-202.
36. DGVS-Guideline Committee. S2k-Guideline Helicobacter pylori and gastroduodenal ulcer disease. *Z Gastroenterol.* 2017;55(2):167-206.
37. Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, et al. Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology.* 2017;153(2):420-9.
38. Röcken C, Warneke V. [Molecular pathology of gastric cancer]. *Pathologe.* 2012;33 Suppl 2:235-40.
39. Lynch HT, Grady W, Suriano G, Huntsman D. Gastric cancer: new genetic developments. *J Surg Oncol.* 2005;90(3):114-33; discussion 33.
40. Kaurah P, MacMillan A, Boyd N, Senz J, De Luca A, Chun N, et al. Founder and recurrent CDH1 mutations in families with hereditary diffuse gastric cancer. *Jama.* 2007;297(21):2360-72.
41. Camargo MC, Anderson WF, King JB, Correa P, Thomas CC, Rosenberg PS, et al. Divergent trends for gastric cancer incidence by anatomical subsite in US adults. *Gut.* 2011;60(12):1644-9.
42. Clinton SK, Giovannucci EL, Hursting SD. The World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research Third Expert Report on Diet, Nutrition, Physical Activity, and Cancer: Impact and Future Directions. *J Nutr.* 2020;150(4):663-71.
43. Toyoda T, Tsukamoto T, Hirano N, Mizoshita T, Kato S, Takasu S, et al. Synergistic upregulation of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in gastric mucosa of Mongolian gerbils by a high-salt diet and Helicobacter pylori infection. *Histol Histopathol.* 2008;23(5):593-9.
44. Loh JT, Torres VJ, Cover TL. Regulation of Helicobacter pylori cagA expression in response to salt. *Cancer Res.* 2007;67(10):4709-15.
45. Fuccio L, Zagari RM, Eusebi LH, Laterza L, Cennamo V, Ceroni L, et al. Meta-analysis: can Helicobacter pylori eradication treatment reduce the risk for gastric cancer? *Ann Intern Med.* 2009;151(2):121-8.
46. Nagini S. Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. *World J Gastrointest Oncol.* 2012;4(7):156-69.
47. Stöver I, Feyer P. *Praxismanual Strahlentherapie [E-Book] 2., vollständig überarbeitete und aktualisierte Auflage* Berlin: Springer-Verlag GmbH Deutschland; 2018.
48. Herold G. *Innere Medizin 2021.* Berlin, Boston: De Gruyter; 2021. p. 449-52.
49. Sehdev A, Catenacci DV. Gastroesophageal cancer: focus on epidemiology, classification, and staging. *Discov Med.* 2013;16(87):103-11.
50. Chen YC, Fang WL, Wang RF, Liu CA, Yang MH, Lo SS, et al. Clinicopathological Variation of Lauren Classification in Gastric Cancer. *Pathol Oncol Res.* 2016;22(1):197-202.
51. Petrelli F, Berenato R, Turati L, Mennitto A, Steccanella F, Caporale M, et al. Prognostic value of diffuse versus intestinal histotype in patients with gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Gastrointest Oncol.* 2017;8(1):148-63.
52. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature.* 2014;513(7517):202-9.
53. Mehmedović A, Mesihović R, Saray A, Vanis N. Gastric cancer staging: EUS and CT. *Med Arch.* 2014;68(1):34-6.
54. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Forschungsgesellschaften (AWMF). *Onkologisches Leitlinienprogramm. S3-Leitlinie Magenkarzinom. „Diagnostik und*

Therapie der Adenokarzinome des Magens und des ösophagogastralen Übergangs“. Langversion 2.0.2019.

55. Oldenburg A, Albrecht T. [Baseline and contrast-enhanced ultrasound of the liver in tumor patients]. *Ultraschall Med.* 2008;29(5):488-98.
56. Yanaoka K, Oka M, Mukoubayashi C, Yoshimura N, Enomoto S, Iguchi M, et al. Cancer high-risk subjects identified by serum pepsinogen tests: outcomes after 10-year follow-up in asymptomatic middle-aged males. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(4):838-45.
57. Coburn N, Cosby R, Klein L, Knight G, Malthaner R, Mamazza J, et al. Staging and surgical approaches in gastric cancer: A systematic review. *Cancer Treat Rev.* 2018;63:104-15.
58. Messmann H, Tannapfel A, Werner J. *Gastrointestinale Onkologie.* Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2018. Chapter 3, Magenkarzinom; p. 134-74.
59. Meyer HJ, Wilke H. Treatment strategies in gastric cancer. *Dtsch Arztebl Int.* 2011;108(41):698-705; quiz 6.
60. Tan Z. Recent Advances in the Surgical Treatment of Advanced Gastric Cancer: A Review. *Med Sci Monit.* 2019;25:3537-41.
61. Nunobe S, Kumagai K, Ida S, Ohashi M, Hiki N. Minimally invasive surgery for stomach cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 2016;46(5):395-8.
62. Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, et al. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med.* 2006;355(1):11-20.
63. Al-Batran SE, Hofheinz RD, Pauligk C, Kopp HG, Haag GM, Luley KB, et al. Histopathological regression after neoadjuvant docetaxel, oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin versus epirubicin, cisplatin, and fluorouracil or capecitabine in patients with resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4-AIO): results from the phase 2 part of a multicentre, open-label, randomised phase 2/3 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(12):1697-708.
64. Al-Batran SE, Homann N, Pauligk C, Goetze TO, Meiler J, Kasper S, et al. Perioperative chemotherapy with fluorouracil plus leucovorin, oxaliplatin, and docetaxel versus fluorouracil or capecitabine plus cisplatin and epirubicin for locally advanced, resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4): a randomised, phase 2/3 trial. *Lancet.* 2019;393(10184):1948-57.
65. Sah BK, Zhang B, Zhang H, Li J, Yuan F, Ma T, et al. Neoadjuvant FLOT versus SOX phase II randomized clinical trial for patients with locally advanced gastric cancer. *Nat Commun.* 2020;11(1):6093.
66. Hoepfner J, Lordick F, Brunner T, Glatz T, Bronsert P, Röthling N, et al. ESOPEC: prospective randomized controlled multicenter phase III trial comparing perioperative chemotherapy (FLOT protocol) to neoadjuvant chemoradiation (CROSS protocol) in patients with adenocarcinoma of the esophagus (NCT02509286). *BMC Cancer.* 2016;16:503.
67. van Hagen P, Hulshof MC, van Lanschot JJ, Steyerberg EW, van Berge Henegouwen MI, Wijnhoven BP, et al. Preoperative chemoradiotherapy for esophageal or junctional cancer. *N Engl J Med.* 2012;366(22):2074-84.
68. Ohri N, Garg MK, Aparo S, Kaubisch A, Tome W, Kennedy TJ, et al. Who benefits from adjuvant radiation therapy for gastric cancer? A meta-analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2013;86(2):330-5.
69. Park SH, Lim DH, Sohn TS, Lee J, Zang DY, Kim ST, et al. A randomized phase III trial comparing adjuvant single-agent S1, S-1 with oxaliplatin, and postoperative chemoradiation

with S-1 and oxaliplatin in patients with node-positive gastric cancer after D2 resection: the ARTIST 2 trial(☆). *Ann Oncol.* 2021;32(3):368-74.

70. Leong T, Smithers BM, Haustermans K, Michael M, GebSKI V, Miller D, et al. TOPGEAR: A Randomized, Phase III Trial of Perioperative ECF Chemotherapy with or Without Preoperative Chemoradiation for Resectable Gastric Cancer: Interim Results from an International, Intergroup Trial of the AGITG, TROG, EORTC and CCTG. *Ann Surg Oncol.* 2017;24(8):2252-8.

71. de Steur WO, van Amelsfoort RM, Hartgrink HH, Putter H, Meershoek-Klein Kranenbarg E, van Grieken NCT, et al. Adjuvant chemotherapy is superior to chemoradiation after D2 surgery for gastric cancer in the per-protocol analysis of the randomized CRITICS trial. *Ann Oncol.* 2021;32(3):360-7.

72. Paoletti X, Oba K, Burzykowski T, Michiels S, Ohashi Y, Pignon JP, et al. Benefit of adjuvant chemotherapy for resectable gastric cancer: a meta-analysis. *Jama.* 2010;303(17):1729-37.

73. Van Cutsem E, Bang YJ, Feng-Yi F, Xu JM, Lee KW, Jiao SC, et al. HER2 screening data from ToGA: targeting HER2 in gastric and gastroesophageal junction cancer. *Gastric Cancer.* 2015;18(3):476-84.

74. Shitara K, Bang YJ, Iwasa S, Sugimoto N, Ryu MH, Sakai D, et al. Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Positive Gastric Cancer. *N Engl J Med.* 2020;382(25):2419-30.

75. Janjigian YY, Oh D-Y, Rha SY, Lee KW, Steeghs N, Chao Y, et al. Dose-escalation and dose-expansion study of trastuzumab deruxtecan (T-DXd) monotherapy and combinations in patients (pts) with advanced/metastatic HER2+ gastric cancer (GC)/gastroesophageal junction adenocarcinoma (GEJA): DESTINY-Gastric03. *Journal of Clinical Oncology.* 2022;40(4_suppl):295-.

76. Janjigian YY, Maron SB, Chatila WK, Millang B, Chavan SS, Alterman C, et al. First-line pembrolizumab and trastuzumab in HER2-positive oesophageal, gastric, or gastro-oesophageal junction cancer: an open-label, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2020;21(6):821-31.

77. Kawazoe A, Kuwata T, Kuboki Y, Shitara K, Nagatsuma AK, Aizawa M, et al. Clinicopathological features of programmed death ligand 1 expression with tumor-infiltrating lymphocyte, mismatch repair, and Epstein-Barr virus status in a large cohort of gastric cancer patients. *Gastric Cancer.* 2017;20(3):407-15.

78. Janjigian YY, Shitara K, Moehler M, Garrido M, Salman P, Shen L, et al. First-line nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric, gastro-oesophageal junction, and oesophageal adenocarcinoma (CheckMate 649): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet.* 2021;398(10294):27-40.

79. Högner A, Moehler M. Immunotherapy in Gastric Cancer. *Curr Oncol.* 2022;29(3):1559-74.

80. Sun JM, Shen L, Shah MA, Enzinger P, Adenis A, Doi T, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for first-line treatment of advanced oesophageal cancer (KEYNOTE-590): a randomised, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet.* 2021;398(10302):759-71.

81. Janjigian YY, Kawazoe A, Bai Y, Xu J, Lonardi S, Metges JP, et al. Pembrolizumab plus trastuzumab and chemotherapy for HER2-positive gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma: interim analyses from the phase 3 KEYNOTE-811 randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2023;402(10418):2197-208.

82. Wagner AD, Syn NL, Moehler M, Grothe W, Yong WP, Tai BC, et al. Chemotherapy for advanced gastric cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;8(8):Cd004064.
83. Wu T, Dai Y. Tumor microenvironment and therapeutic response. *Cancer Lett.* 2017;387:61-8.
84. Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med.* 2013;19(11):1423-37.
85. Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell.* 2012;21(3):309-22.
86. Jordan AR, Racine RR, Hennig MJ, Lokeshwar VB. The Role of CD44 in Disease Pathophysiology and Targeted Treatment. *Front Immunol.* 2015;6:182.
87. Loh TJ, Moon H, Cho S, Jang H, Liu YC, Tai H, et al. CD44 alternative splicing and hnRNP A1 expression are associated with the metastasis of breast cancer. *Oncol Rep.* 2015;34(3):1231-8.
88. Mishra MN, Chandavarkar V, Sharma R, Bhargava D. Structure, function and role of CD44 in neoplasia. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2019;23(2):267-72.
89. Thapa R, Wilson GD. The Importance of CD44 as a Stem Cell Biomarker and Therapeutic Target in Cancer. *Stem Cells Int.* 2016;2016:2087204.
90. Wei HJ, Yin T, Zhu Z, Shi PF, Tian Y, Wang CY. Expression of CD44, CD24 and ESA in pancreatic adenocarcinoma cell lines varies with local microenvironment. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2011;10(4):428-34.
91. Mattheolabakis G, Milane L, Singh A, Amiji MM. Hyaluronic acid targeting of CD44 for cancer therapy: from receptor biology to nanomedicine. *J Drug Target.* 2015;23(7-8):605-18.
92. Rahman M, Deleyrolle L, Vedam-Mai V, Azari H, Abd-El-Barr M, Reynolds BA. The cancer stem cell hypothesis: failures and pitfalls. *Neurosurgery.* 2011;68(2):531-45; discussion 45.
93. Naor D, Wallach-Dayana SB, Zahalka MA, Sionov RV. Involvement of CD44, a molecule with a thousand faces, in cancer dissemination. *Semin Cancer Biol.* 2008;18(4):260-7.
94. Takaishi S, Okumura T, Tu S, Wang SS, Shibata W, Vigneshwaran R, et al. Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44. *Stem Cells.* 2009;27(5):1006-20.
95. Nagano O, Okazaki S, Saya H. Redox regulation in stem-like cancer cells by CD44 variant isoforms. *Oncogene.* 2013;32(44):5191-8.
96. Chen Y, Fu Z, Xu S, Xu Y, Xu P. The prognostic value of CD44 expression in gastric cancer: a meta-analysis. *Biomed Pharmacother.* 2014;68(6):693-7.
97. Baumann M, Krause M. CD44: a cancer stem cell-related biomarker with predictive potential for radiotherapy. *Clin Cancer Res.* 2010;16(21):5091-3.
98. Chen C, Zhao S, Karnad A, Freeman JW. The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *J Hematol Oncol.* 2018;11(1):64.
99. Li Z, Chen K, Jiang P, Zhang X, Li X, Li Z. CD44v/CD44s expression patterns are associated with the survival of pancreatic carcinoma patients. *Diagn Pathol.* 2014;9:79.
100. Pawig L, Klasen C, Weber C, Bernhagen J, Noels H. Diversity and Inter-Connections in the CXCR4 Chemokine Receptor/Ligand Family: Molecular Perspectives. *Front Immunol.* 2015;6:429.
101. Lourenco S, Teixeira VH, Kalber T, Jose RJ, Floto RA, Janes SM. Macrophage migration inhibitory factor-CXCR4 is the dominant chemotactic axis in human mesenchymal stem cell recruitment to tumors. *J Immunol.* 2015;194(7):3463-74.

102. Daniel SK, Seo YD, Pillarisetty VG. The CXCL12-CXCR4/CXCR7 axis as a mechanism of immune resistance in gastrointestinal malignancies. *Semin Cancer Biol.* 2020;65:176-88.
103. Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC, Arenzana-Seisdedos F, Delaunay T, Naeem R, et al. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell.* 2005;121(3):335-48.
104. Raz E, Mahabaleshwar H. Chemokine signaling in embryonic cell migration: a fisheye view. *Development.* 2009;136(8):1223-9.
105. Dambly-Chaudière C, Cubedo N, Ghysen A. Control of cell migration in the development of the posterior lateral line: antagonistic interactions between the chemokine receptors CXCR4 and CXCR7/RDC1. *BMC Dev Biol.* 2007;7:23.
106. Meads MB, Hazlehurst LA, Dalton WS. The bone marrow microenvironment as a tumor sanctuary and contributor to drug resistance. *Clin Cancer Res.* 2008;14(9):2519-26.
107. Du R, Lu KV, Petritsch C, Liu P, Ganss R, Passegué E, et al. HIF1alpha induces the recruitment of bone marrow-derived vascular modulatory cells to regulate tumor angiogenesis and invasion. *Cancer Cell.* 2008;13(3):206-20.
108. Schimanski CC, Galle PR, Moehler M. Chemokine receptor CXCR4-prognostic factor for gastrointestinal tumors. *World J Gastroenterol.* 2008;14(30):4721-4.
109. Chatterjee S, Behnam Azad B, Nimmagadda S. The intricate role of CXCR4 in cancer. *Adv Cancer Res.* 2014;124:31-82.
110. Maderer A, Fiteni F, Tanis E, Mauer M, Schmitt T, Aust DE, et al. CXCR4 and hif-1 α as prognostic molecular markers for stage 3 colon cancer patients: post hoc analysis of the randomized, multicenter phase 3 PETACC-2 trial dataset. *Acta Oncol.* 2021;60(11):1543-7.
111. Thomaidis T, Maderer A, Al-Batran SE, Kany J, Pauligk C, Steinmetz K, et al. VEGFR-3 and CXCR4 as predictive markers for treatment with fluorouracil, leucovorin plus either oxaliplatin or cisplatin in patients with advanced esophagogastric cancer: a comparative study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie (AIO). *BMC Cancer.* 2014;14:476.
112. Liu F, Lang R, Wei J, Fan Y, Cui L, Gu F, et al. Increased expression of SDF-1/CXCR4 is associated with lymph node metastasis of invasive micropapillary carcinoma of the breast. *Histopathology.* 2009;54(6):741-50.
113. Thomas RM, Kim J, Revelo-Penafiel MP, Angel R, Dawson DW, Lowy AM. The chemokine receptor CXCR4 is expressed in pancreatic intraepithelial neoplasia. *Gut.* 2008;57(11):1555-60.
114. Gao Y, Li C, Nie M, Lu Y, Lin S, Yuan P, et al. CXCR4 as a novel predictive biomarker for metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. *Tumour Biol.* 2014;35(5):4171-5.
115. Lim JB, Chung HW. Serum ENA78/CXCL5, SDF-1/CXCL12, and their combinations as potential biomarkers for prediction of the presence and distant metastasis of primary gastric cancer. *Cytokine.* 2015;73(1):16-22.
116. Guo F, Wang Y, Liu J, Mok SC, Xue F, Zhang W. CXCL12/CXCR4: a symbiotic bridge linking cancer cells and their stromal neighbors in oncogenic communication networks. *Oncogene.* 2016;35(7):816-26.
117. Fujita T, Chiwaki F, Takahashi RU, Aoyagi K, Yanagihara K, Nishimura T, et al. Identification and Characterization of CXCR4-Positive Gastric Cancer Stem Cells. *PLoS One.* 2015;10(6):e0130808.
118. Remmele W, Stegner HE. [Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]. *Pathologe.* 1987;8(3):138-40.

119. Kim HW, Kim JH, Lim BJ, Kim H, Kim H, Park JJ, et al. Sex Disparity in Gastric Cancer: Female Sex is a Poor Prognostic Factor for Advanced Gastric Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2016;23(13):4344-51.
120. Arnold M, Ferlay J, van Berge Henegouwen MI, Soerjomataram I. Global burden of oesophageal and gastric cancer by histology and subsite in 2018. *Gut*. 2020;69(9):1564-71.
121. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2006;12(3):354-62.
122. Fried SK, Lee MJ, Karastergiou K. Shaping fat distribution: New insights into the molecular determinants of depot- and sex-dependent adipose biology. *Obesity (Silver Spring)*. 2015;23(7):1345-52.
123. Collaboration NCDRF. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. *Lancet*. 2016;387(10026):1377-96.
124. Heo JW, Kim SE, Sung MK. Sex Differences in the Incidence of Obesity-Related Gastrointestinal Cancer. *Int J Mol Sci*. 2021;22(3).
125. Karstens KF, Ghadban T, Sawez S, Konczalla L, Woestemeier A, Bachmann K, et al. Comparison of the 8th UICC staging system for esophageal and gastric cancers in Siewert type II junctional adenocarcinomas. *Eur J Surg Oncol*. 2020;46(4 Pt A):638-43.
126. Siewert JR, Feith M, Stein HJ. Biologic and clinical variations of adenocarcinoma at the esophago-gastric junction: relevance of a topographic-anatomic subclassification. *J Surg Oncol*. 2005;90(3):139-46; discussion 46.
127. Röcken C, Behrens HM. Validating the prognostic and discriminating value of the TNM-classification for gastric cancer - a critical appraisal. *Eur J Cancer*. 2015;51(5):577-86.
128. Liu X, Xu Y, Long Z, Zhu H, Wang Y. Prognostic significance of tumor size in T3 gastric cancer. *Ann Surg Oncol*. 2009;16(7):1875-82.
129. Deng JY, Liang H. Clinical significance of lymph node metastasis in gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20(14):3967-75.
130. Wu H, Wang L, He YL, Xu JB, Cai SR, Ma JP, et al. [Impact of clinicopathological features and extent of lymph node dissection on the prognosis in early gastric cancer patients]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2013;35(7):509-13.
131. Zhang M, Wang J, Shi W, Chen W, Li W, Shu Y, et al. Prognostic significance of metastatic lymph nodes ratio in patients with gastric adenocarcinoma after curative gastrectomy. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127(10):1874-8.
132. Coburn NG, Swallow CJ, Kiss A, Law C. Significant regional variation in adequacy of lymph node assessment and survival in gastric cancer. *Cancer*. 2006;107(9):2143-51.
133. Songun I, Putter H, Kranenbarg EM, Sasako M, van de Velde CJ. Surgical treatment of gastric cancer: 15-year follow-up results of the randomised nationwide Dutch D1D2 trial. *Lancet Oncol*. 2010;11(5):439-49.
134. Zhang Y, Lin Y, Duan J, Xu K, Mao M, Wang X. A Population-Based Analysis of Distant Metastasis in Stage IV Gastric Cancer. *Med Sci Monit*. 2020;26:e923867.
135. Choi AH, Kim J, Chao J. Perioperative chemotherapy for resectable gastric cancer: MAGIC and beyond. *World J Gastroenterol*. 2015;21(24):7343-8.
136. Lordick F, Siewert JR. [Perioperative chemotherapy vs. surgery alone in resectable gastroesophageal carcinomas. Results of the MAGIC study]. *Chirurg*. 2006;77(12):1166-7.
137. Moehler M, Al-Batran SE, Andus T, Anthuber M, Arends J, Arnold D, et al. [German S3-guideline "Diagnosis and treatment of esophagogastric cancer"]. *Z Gastroenterol*. 2011;49(4):461-531.

138. American College of Surgeons. National Cancer Database [Internet]. Zitiert am: 12.03.2022. URL: <https://www.facs.org/quality-programs/cancer/ncdb> .
139. Stahl KA, Olecki EJ, Dixon ME, Peng JS, Torres MB, Gusani NJ, et al. Gastric Cancer Treatments and Survival Trends in the United States. *Curr Oncol*. 2020;28(1):138-51.
140. Morris ZS, Wooding S, Grant J. The answer is 17 years, what is the question: understanding time lags in translational research. *J R Soc Med*. 2011;104(12):510-20.
141. Bang YJ, Kim YW, Yang HK, Chung HC, Park YK, Lee KH, et al. Adjuvant capecitabine and oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): a phase 3 open-label, randomised controlled trial. *Lancet*. 2012;379(9813):315-21.
142. Sakuramoto S, Sasako M, Yamaguchi T, Kinoshita T, Fujii M, Nashimoto A, et al. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine. *N Engl J Med*. 2007;357(18):1810-20.
143. Ychou M, Boige V, Pignon JP, Conroy T, Bouche O, Lebreton G, et al. Perioperative chemotherapy compared with surgery alone for resectable gastroesophageal adenocarcinoma: an FNCLCC and FFCD multicenter phase III trial. *J Clin Oncol*. 2011;29(13):1715-21.
144. Cocolini F, Nardi M, Montori G, Ceresoli M, Celotti A, Cascinu S, et al. Neoadjuvant chemotherapy in advanced gastric and esophago-gastric cancer. Meta-analysis of randomized trials. *Int J Surg*. 2018;51:120-7.
145. Reddavid R, Sofia S, Chiaro P, Colli F, Trapani R, Esposito L, et al. Neoadjuvant chemotherapy for gastric cancer. Is it a must or a fake? *World J Gastroenterol*. 2018;24(2):274-89.
146. Xu AM, Huang L, Liu W, Gao S, Han WX, Wei ZJ. Neoadjuvant chemotherapy followed by surgery versus surgery alone for gastric carcinoma: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One*. 2014;9(1):e86941.
147. Wu AW, Xu GW, Wang HY, Ji JF, Tang JL. WITHDRAWN: Neoadjuvant chemotherapy versus none for resectable gastric cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007(4):CD005047.
148. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin*. 2014;64(1):9-29.
149. Ford AC, Forman D, Hunt RH, Yuan Y, Moayyedi P. Helicobacter pylori eradication therapy to prevent gastric cancer in healthy asymptomatic infected individuals: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Bmj*. 2014;348:g3174.
150. Hamashima C, Shibuya D, Yamazaki H, Inoue K, Fukao A, Saito H, et al. The Japanese guidelines for gastric cancer screening. *Jpn J Clin Oncol*. 2008;38(4):259-67.
151. Cao X, Cao D, Jin M, Jia Z, Kong F, Ma H, et al. CD44 but not CD24 expression is related to poor prognosis in non-cardia adenocarcinoma of the stomach. *BMC Gastroenterol*. 2014;14:157.
152. Chen S, Hou JH, Feng XY, Zhang XS, Zhou ZW, Yun JP, et al. Clinicopathologic significance of putative stem cell marker, CD44 and CD133, in human gastric carcinoma. *J Surg Oncol*. 2013;107(8):799-806.
153. Wakamatsu Y, Sakamoto N, Oo HZ, Naito Y, Uraoka N, Anami K, et al. Expression of cancer stem cell markers ALDH1, CD44 and CD133 in primary tumor and lymph node metastasis of gastric cancer. *Pathol Int*. 2012;62(2):112-9.
154. Qiu Y, Hu Y, Zhang ZY, Ye L, Xu FH, Schneider ME, et al. Genetic association of osteopontin (OPN) and its receptor CD44 genes with susceptibility to Chinese gastric cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014;140(12):2143-56.

155. Brungs D, Lochhead A, Iyer A, Illemann M, Colligan P, Hirst NG, et al. Expression of cancer stem cell markers is prognostic in metastatic gastroesophageal adenocarcinoma. *Pathology*. 2019;51(5):474-80.
156. Kamil Mohammed Al-Mosawi A, Cheshomi H, Hosseinzadeh A, M MM. Prognostic and Clinical Value of CD44 and CD133 in Esophageal Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2020;19(2):105-16.
157. Herfs M, Yamamoto Y, Laury A, Wang X, Nucci MR, McLaughlin-Drubin ME, et al. A discrete population of squamocolumnar junction cells implicated in the pathogenesis of cervical cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(26):10516-21.
158. Quante M, Bhagat G, Abrams JA, Marache F, Good P, Lee MD, et al. Bile acid and inflammation activate gastric cardia stem cells in a mouse model of Barrett-like metaplasia. *Cancer Cell*. 2012;21(1):36-51.
159. Fu DJ, Wang L, Chouairi FK, Rose IM, Abetov DA, Miller AD, et al. Gastric squamous-columnar junction contains a large pool of cancer-prone immature osteopontin responsive Lgr5(-)CD44(+) cells. *Nat Commun*. 2020;11(1):84.
160. Cao L, Hu X, Zhang J, Liang P, Zhang Y. CD44(+) CD324(-) expression and prognosis in gastric cancer patients. *J Surg Oncol*. 2014;110(6):727-33.
161. Okayama H, Kumamoto K, Saitou K, Hayase S, Kofunato Y, Sato Y, et al. CD44v6, MMP-7 and nuclear Cdx2 are significant biomarkers for prediction of lymph node metastasis in primary gastric cancer. *Oncol Rep*. 2009;22(4):745-55.
162. Liang YZ, Fang TY, Xu HG, Zhuo ZQ. Expression of CD44v6 and Livin in gastric cancer tissue. *Chin Med J (Engl)*. 2012;125(17):3161-5.
163. Zhang R, Qi F, Shao S, Li G, Feng Y. Human colorectal cancer-derived carcinoma associated fibroblasts promote CD44-mediated adhesion of colorectal cancer cells to endothelial cells by secretion of HGF. *Cancer Cell Int*. 2019;19:192.
164. Li X, Lewis MT, Huang J, Gutierrez C, Osborne CK, Wu MF, et al. Intrinsic resistance of tumorigenic breast cancer cells to chemotherapy. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100(9):672-9.
165. Creighton CJ, Li X, Landis M, Dixon JM, Neumeister VM, Sjolund A, et al. Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(33):13820-5.
166. Aulmann S, Waldburger N, Penzel R, Andrulis M, Schirmacher P, Sinn HP. Reduction of CD44(+)/CD24(-) breast cancer cells by conventional cytotoxic chemotherapy. *Hum Pathol*. 2010;41(4):574-81.
167. Hongo K, Tanaka J, Tsuno NH, Kawai K, Nishikawa T, Shuno Y, et al. CD133(-) cells, derived from a single human colon cancer cell line, are more resistant to 5-fluorouracil (FU) than CD133(+) cells, dependent on the beta1-integrin signaling. *J Surg Res*. 2012;175(2):278-88.
168. Wang T, Ong CW, Shi J, Srivastava S, Yan B, Cheng CL, et al. Sequential expression of putative stem cell markers in gastric carcinogenesis. *Br J Cancer*. 2011;105(5):658-65.
169. Jogo T, Oki E, Nakanishi R, Ando K, Nakashima Y, Kimura Y, et al. Expression of CD44 variant 9 induces chemoresistance of gastric cancer by controlling intracellular reactive oxygen species accumulation. *Gastric Cancer*. 2021;24(5):1089-99.
170. Zavros Y. Initiation and Maintenance of Gastric Cancer: A Focus on CD44 Variant Isoforms and Cancer Stem Cells. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2017;4(1):55-63.
171. Lu G, Wu X, Zhou L, Yu L, Wu S. [Expressions of CD133 and CD44 in gastric adenocarcinoma and their relationship with E-cadherin expression]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2013;33(11):1632-7.

172. He H, Wang C, Shen Z, Fang Y, Wang X, Chen W, et al. Upregulated expression of C-X-C chemokine receptor 4 is an independent prognostic predictor for patients with gastric cancer. *PLoS One*. 2013;8(8):e71864.
173. Satomura H, Sasaki K, Nakajima M, Yamaguchi S, Onodera S, Otsuka K, et al. Can expression of CXCL12 and CXCR4 be used to predict survival of gastric cancer patients? *Anticancer Res*. 2014;34(8):4051-7.
174. Chen G, Zhou Z, Jin J, Zhou Y, Liu Y, Wang W. CXCR4 is a prognostic marker that inhibits the invasion and migration of gastric cancer by regulating VEGF expression. *Oncol Lett*. 2021;22(2):587.
175. Xiang Z, Zhou ZJ, Xia GK, Zhang XH, Wei ZW, Zhu JT, et al. A positive crosstalk between CXCR4 and CXCR2 promotes gastric cancer metastasis. *Oncogene*. 2017;36(36):5122-33.
176. Kwak MK, Hur K, Park DJ, Lee HJ, Lee HS, Kim WH, et al. Expression of chemokine receptors in human gastric cancer. *Tumour Biol*. 2005;26(2):65-70.
177. Yopp AC, Shia J, Butte JM, Allen PJ, Fong Y, Jarnagin WR, et al. CXCR4 expression predicts patient outcome and recurrence patterns after hepatic resection for colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol*. 2012;19 Suppl 3:S339-46.
178. Shi Y, Riese DJ, 2nd, Shen J. The Role of the CXCL12/CXCR4/CXCR7 Chemokine Axis in Cancer. *Front Pharmacol*. 2020;11:574667.
179. Yu Y, Xiao CH, Tan LD, Wang QS, Li XQ, Feng YM. Cancer-associated fibroblasts induce epithelial-mesenchymal transition of breast cancer cells through paracrine TGF- β signalling. *Br J Cancer*. 2014;110(3):724-32.
180. Sugihara H, Ishimoto T, Yasuda T, Izumi D, Eto K, Sawayama H, et al. Cancer-associated fibroblast-derived CXCL12 causes tumor progression in adenocarcinoma of the esophagogastric junction. *Med Oncol*. 2015;32(6):618.
181. Sobolik T, Su YJ, Wells S, Ayers GD, Cook RS, Richmond A. CXCR4 drives the metastatic phenotype in breast cancer through induction of CXCR2 and activation of MEK and PI3K pathways. *Mol Biol Cell*. 2014;25(5):566-82.
182. Hassan S, Buchanan M, Jahan K, Aguilar-Mahecha A, Gaboury L, Muller WJ, et al. CXCR4 peptide antagonist inhibits primary breast tumor growth, metastasis and enhances the efficacy of anti-VEGF treatment or docetaxel in a transgenic mouse model. *Int J Cancer*. 2011;129(1):225-32.
183. Bao W, Fu HJ, Xie QS, Wang L, Zhang R, Guo ZY, et al. HER2 interacts with CD44 to up-regulate CXCR4 via epigenetic silencing of microRNA-139 in gastric cancer cells. *Gastroenterology*. 2011;141(6):2076-87.e6.
184. Xue LJ, Mao XB, Ren LL, Chu XY. Inhibition of CXCL12/CXCR4 axis as a potential targeted therapy of advanced gastric carcinoma. *Cancer Med*. 2017;6(6):1424-36.
185. Schimanski CC, Bahre R, Gockel I, Müller A, Frerichs K, Hörner V, et al. Dissemination of hepatocellular carcinoma is mediated via chemokine receptor CXCR4. *Br J Cancer*. 2006;95(2):210-7.
186. Fanelli MF, Chinen LT, Begnami MD, Costa WL, Jr., Fregnami JH, Soares FA, et al. The influence of transforming growth factor- α , cyclooxygenase-2, matrix metalloproteinase (MMP)-7, MMP-9 and CXCR4 proteins involved in epithelial-mesenchymal transition on overall survival of patients with gastric cancer. *Histopathology*. 2012;61(2):153-61.
187. Wittekind C. *TNM - Klassifikation maligner Tumoren*, 8. Auflage.: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2020.

8. Anhang

8.1. TNM Klassifikation und Stadieneinteilung des Magenkarzinoms

T – Primärtumor	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ: intraepithelialer Tumor ohne Infiltration der Lamina propria, hochgradige Dysplasie
T1a	Tumor infiltriert Lamina propria oder Muscularis mucosae
T1b	Tumor infiltriert Submukosa
T2	Tumor infiltriert Muscularis propria
T3	Tumor infiltriert Subserosa
T4a	Tumor perforiert Serosa (viszerales Peritoneum)
T4b	Tumor infiltriert benachbarte Strukturen
N – Regionäre Lymphknoten	
NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastasen in 1 bis 2 regionären Lymphknoten
N2	Metastasen in 3 bis 6 regionären Lymphknoten
N3a	Metastasen in 7 bis 15 regionären Lymphknoten
N3b	Metastasen in 16 oder mehr regionären Lymphknoten
M - Fernmetastasen	
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Tabelle 35: TNM Klassifikation maligner Tumoren der UICC
Entnommen und formatiert aus (187)

Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1, T2	N0	M0
Stadium IIA	T1, T2	N1, N2, N3	M0
Stadium IIB	T3, T4a	N0	M0
Stadium III	T3, T4a	Jedes N	M0
Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1

Tabelle 36: UICC Stadieneinteilung
Entnommen und formatiert aus (187)

Danksagung

Zunächst gilt mein besonderer Dank meinem Doktorvater für das Vertrauen, dass er mir mit der Vergabe dieses Themas entgegengebracht hat und für seine kontinuierliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Ein besonders herzlicher Dank geht an meine Betreuerin für die hervorragende Betreuung während der gesamten Zeit. Ich schätze besonders ihr großes Engagement, ihre fachliche Unterstützung, ihre beständige Hilfsbereitschaft und ihr offenes Ohr.

Im Translationalen Forschungslabor habe ich mich sehr willkommen gefühlt und ich möchte insbesondere für die Hilfe bei den immunhistochemischen Färbungen danken.

Des Weiteren möchte ich dem Institut für Pathologie in Mainz für die Unterstützung bei der Auswertung der immunhistochemischen Färbungen und der Klärung pathologischer Fragestellungen danken.

Ich danke dem Institut für medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik für die Unterstützung bei der Planung und statistischen Analyse dieser Arbeit.

Zuletzt bedanke ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden für die kontinuierliche Unterstützung und die Geduld, die sie mir in dieser Zeit entgegengebracht haben.