

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

Evaluierung EGFR - assoziierter Marker im Rahmen der POWER-Studie

D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Doktorgrades der Humanmedizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Karina Müller
aus Heidenheim an der Brenz

Mainz, 2021

Wissenschaftlicher Vorstand:

1. Gutachter

2. Gutachter:

Tag der Promotion: 07. Dezember 2021

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--------------|---|
| % | Prozent |
| °C | Grad Celcius |
| 5-FU | 5-Floururacil |
| Abb. | Abbildung |
| AG | Arbeitsgemeinschaft |
| Akt | Proteinkinase B |
| c-Met | Hepatozyten-Wachstumsfaktor-Rezeptor |
| ca. | circa |
| CT | Computertomographie |
| CXCL12 | CXC-Motiv-Chemokin 12 |
| CXCR4 | CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4 |
| EGF-Rezeptor | EGFR |
| EGFR | Epithelialer Wachstumsfaktorrezeptor |
| ErbB | Rezeptor-Tyrosin-Kinase |
| et al. | et alii |
| EUS | Endoskopische Sonographie |
| FAK | Fokale Adähsionskinase |
| HGF/SF | Hepatozyten-Wachstumsfaktor/ |
| FDG-PET | Fluor-Desoxy-Glucose-Positronen-Emissions-Topographie |
| FFPE | Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes Gewebe |
| g | Gramm |
| ggf. | gegebenenfalls |
| HER2/neu | Humaner epithelialer Wachstumsfaktorrezeptor-2 |
| HPV | Humane Papillomaviren |
| IgG2 | Immunglobulin G2 |
| IHC | Immunhistochemie |
| KI | Konfidenzintervall |
| MAPK | Mitogen-aktivierte Proteinkinase |
| MRT | Magnetresonanztomographie |
| n | Anzahl der Merkmalsausprägungen |
| ÖGD | Ösophagogastrroduodenoskopie |
| PET | Positronenemissionstopographie |
| pH | pondus Hydrogenii |
| PI3K | Phosphoinositid-3-Kinase |
| PIP2 | Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat |
| PR | Partial response |

| | |
|-----------------------|--|
| PTEN | Phosphatase- und Tensin- Homolog |
| pTNM | Pathologischer Primärtumor (T), Lymphknotenbefall (N) und Metastasen (M) |
| RAS (wild-typ) | Rat sarcoma (wild-typ) |
| Ras/Raf | Rat sarcoma/ Raf fibrosarcoma |
| RCT | Definitive Radiochemotherapie |
| SD | Stable disease |
| SDF-1alpha | Stromazell-abgeleiteter Faktor- 1alpha |
| Src-Signalweg | von Sarcoma-Signalweg |
| STAT | Signalwandler und Aktivatoren der Transkription |
| Syn. | Synonym |
| Tab. | Tabelle |
| TGF | Transformierender Wachstumsfaktor |
| TNF | Tumornekrosefaktor |
| u. a. | unter anderem |
| UICC | International Union against Cancer |
| VEGFR | Vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktorrezeptor |
| vs. | versus |
| WHO | World health organization |
| z. B. | zum Beispiel |
| µm | Mikrometer |

1 Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabellenverzeichnis | vi |
| 1 Einleitung | 1 |
| 2 Literatur | 1 |
| 2.1 Epidemiologie | 1 |
| 2.2 Ätiologie | 1 |
| 2.2.1 Risikofaktoren | 1 |
| 2.3 Eigenschaften und Einteilung des Plattenepithelkarzinoms des Ösophagus | 3 |
| 2.4 Diagnostik | 9 |
| 2.5 Therapie | 11 |
| 2.6 Prognose | 15 |
| 2.7 Maligne Transformation | 16 |
| 2.8 Biomarker | 17 |
| 2.8.1 EGFR und dessen Signalwege | 17 |
| 2.8.2 c-Met | 20 |
| 2.8.3 CXCR4 | 20 |
| 2.8.4 HER2/neu | 21 |
| 2.9 Zielgerichtete Therapien | 22 |
| 2.9.1 Panitumumab | 23 |
| 2.10 Die POWER-Studie | 24 |
| 3 Material und Methoden | 26 |
| 3.1 Material | 26 |
| 3.2 Methoden | 26 |
| 3.3 Histologische Analyse | 31 |

| | | |
|---------|---|----|
| 3.4 | Statistische Analyse | 31 |
| 4 | Ergebnisse | 33 |
| 4.1 | Allgemeine statistische Analysen des Patientenkollektivs und Bedeutung der klinisch-pathologischen Parameter | 33 |
| 4.2 | Untersuchtes Subkollektiv | 36 |
| 4.3 | Immunhistochemische Färbeergebnisse..... | 37 |
| 4.3.1 | EGFR | 37 |
| 4.3.2 | CXCR4 | 39 |
| 4.3.3 | c-Met | 41 |
| 4.3.4 | HER2/neu..... | 43 |
| 4.4 | Statistische Analysen | 44 |
| 4.4.2 | Korrelation der IHC-Ergebnisse mit den TNM-Stadien | 44 |
| 4.4.2.1 | EGFR | 45 |
| 4.4.2.2 | CXCR4..... | 47 |
| 4.4.2.3 | c-Met..... | 48 |
| 4.4.3 | Co-Expressionen..... | 49 |
| 4.4.3.1 | EGFR und CXCR4..... | 49 |
| 4.4.3.2 | EGFR und c-Met..... | 49 |
| 4.4.3.3 | c-Met und CXCR4..... | 49 |
| 4.4.4 | Überlebenszeitanalysen im Gesamtkollektiv und den Behandlungsarmen | 50 |
| 4.4.4.1 | Überlebenszeitanalyse in Bezug auf die EGFR-Expression..... | 50 |
| 4.4.4.2 | Überlebenszeitanalyse in Bezug auf die c-Met-Expression..... | 52 |
| 4.4.4.3 | Überlebenszeitanalyse in Bezug auf die CXCR4-Expression..... | 53 |
| 4.4.5 | Multivariate Analyse | 55 |
| 4.5 | Zusammenfassung..... | 56 |

| | | |
|-------|---|---|
| 5 | Diskussion..... | 57 |
| 5.1 | Biomarker..... | 57 |
| 5.1.1 | EGFR..... | 57 |
| 5.1.2 | c-Met..... | 60 |
| 5.1.3 | CXCR4..... | 62 |
| 5.1.4 | HER2/neu..... | 64 |
| 5.1.5 | Panitumumab..... | 65 |
| 5.2 | Diskussion des Studiendesigns..... | 67 |
| 6 | Zusammenfassung..... | 68 |
| 7 | Literaturverzeichnis..... | 70 |
| 8 | Anhang..... | 81 |
| 8.1 | Veröffentlichungen..... | 81 |
| 8.2 | Färbeprotokolle..... | 82 |
| 8.3 | Expressionsverteilung der Biomarker in Abhängigkeit der TNM-Stadien.... | 86 |
| 8.3.1 | EGFR-Expression..... | 86 |
| 8.3.2 | CXCR4-Expression..... | 87 |
| 8.3.3 | c-Met-Expression..... | 88 |
| 8.4 | Kaplan-Meier-Kurven..... | 89 |
| 8.5 | Danksagung..... | 99 |
| 8.6 | Lebenslauf..... | Fehler! Textmarke nicht definiert. |

Tabellenverzeichnis

| | |
|---|----|
| Tabelle 1: TNM/pTNM Klassifikation des Ösophaguskarzinoms (UICC 2009)..... | 5 |
| Tabelle 2: Stadieneinteilung des Ösophaguskarzinoms als auch der Karzinome des gastroösophagealen Übergangs (UICC 2009) | 7 |
| Tabelle 3: Gesamtkollektiv der POWER-Studie | 34 |
| Tabelle 4: Übersicht des Subkollektivs | 36 |
| Tabelle 5: Anzahl und prozentuale Verteilung der Färbung des EGF-Rezeptors..... | 38 |
| Tabelle 6: Anzahl und prozentuale Verteilung der CXCR4-Färbungen..... | 40 |
| Tabelle 7: Anzahl und prozentuale Verteilung der c-Met-Färbungen | 42 |
| Tabelle 8: Häufigkeitsverteilung der TNM-Stadien im IHC-Subkollektiv..... | 44 |
| Tabelle 9: p-Werte für die TNM-Stadien im IHC-Subkollektiv der EGFR-Expression | 45 |
| Tabelle 10: p-Werte für die TNM-Stadien im IHC-Subkollektiv der CXCR4-Expression..... | 47 |
| Tabelle 11: p-Werte für die TNM-Stadien im IHC-Subkollektiv der c-Met-Expression | 48 |
| Tabelle 12: Kreuztabelle EGF-Rezeptor / CXCR4..... | 49 |
| Tabelle 13: Kreuztabelle EGF-Rezeptor / c-Met..... | 49 |
| Tabelle 14: Kreuztabelle c-Met / CXCR4..... | 49 |
| Tabelle 15: p-Werte der Biomarker für das Gesamtüberleben | 54 |
| Tabelle 16: Ergebnisübersicht der multiplen Cox-Regression im IHC-Subkollektiv .. | 55 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 1: Risikofaktoren des Plattenepithelkarzinoms des Ösophagus..... | 3 |
| Abbildung 2: Vergleich beider Tumorentitäten in Deutschland von 1992 bis 2012 | 5 |
| Abbildung 3: Tumorlokalisierung des Ösophaguskarzinoms im Querschnitt..... | 6 |
| Abbildung 4: Tumorstadien im Längsschnitt..... | 8 |
| Abbildung 5: Ausschnitt der Signalkaskade des EGF-Rezeptors..... | 18 |
| Abbildung 6: EGFR-Signalkaskade durch Blockade von Panitumumab | 24 |
| Abbildung 7: Studiendesign der POWER-Studie..... | 25 |
| Abbildung 8: Direkte und indirekte immunhistochemische Methode | 28 |
| Abbildung 9: Kaplan-Meier-Kurve. Darstellung des Gesamtüberlebens beider Behandlungsarme im Vergleich..... | 33 |
| Abbildung 10: EGFR-Färbung (negativ bis stark), 400x Vergrößerung..... | 37 |
| Abbildung 11: CXCR4-Färbung (negativ bis stark), 400x Vergrößerung..... | 39 |
| Abbildung 12: c-Met Färbung (negativ bis stark), 400x Vergrößerung | 41 |
| Abbildung 13: HER2/neu Färbung, 400x Vergrößerung..... | 43 |
| Abbildung 14: EGFR-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien im IHC- Subkollektiv..... | 45 |
| Abbildung 15: CXCR4-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien im IHC- Subkollektiv..... | 47 |
| Abbildung 16: c-Met-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien im IHC- Subkollektiv..... | 48 |
| Abbildung 17: Kaplan-Meier-Kurve. Gesamtüberleben in Abhängigkeit der EGFR- Expression im IHC-Subkollektiv..... | 50 |
| Abbildung 18: Kaplan-Meier-Kurve. Gesamtüberleben in Abhängigkeit der c-Met- Expression im IHC-Subkollektiv..... | 52 |
| Abbildung 19: Kaplan-Meier-Kurve. Gesamtüberleben in Abhängigkeit de CXCR4- Expression im IHC-Subkollektiv..... | 53 |
| Abbildung 20: Färbeprotokoll EGFR..... | 82 |
| Abbildung 21: Färbeprotokoll CXCR4..... | 83 |
| Abbildung 22: Färbeprotokoll c-Met..... | 84 |
| Abbildung 23: Färbeprotokoll HER2/neu | 85 |
| Abbildung 24: EGFR-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien für den Behandlungsarm A | 86 |

| | |
|--|----|
| Abbildung 25: EGFR-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien für den Behandlungsarm B | 86 |
| Abbildung 26: CXCR4-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien in Behandlungsarm A | 87 |
| Abbildung 27: CXCR4-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien in Behandlungsarm B | 87 |
| Abbildung 28: c-Met-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien in Behandlungsarm A | 88 |
| Abbildung 29: c-Met-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien in Behandlungsarm B | 88 |
| Abbildung 30: Kaplan-Meier-Kurve. Gesamtüberleben in Abhängigkeit der EGFR-Expression in Behandlungsarm A..... | 89 |
| Abbildung 31: Kaplan-Meier-Kurve. Gesamtüberleben in Abhängigkeit der EGFR-Expression in Behandlungsarm B..... | 90 |
| Abbildung 32: Überlebenskurve in Abhängigkeit des Geschlechts | 91 |
| Abbildung 33: Überlebenskurve in Abhängigkeit des Alters | 92 |
| Abbildung 34: Überlebenskurve in Abhängigkeit des T-Stadiums..... | 93 |
| Abbildung 35: Überlebenskurve in Abhängigkeit des N-Stadiums | 94 |
| Abbildung 36: Überlebenskurve in Abhängigkeit des M-Stadiums..... | 95 |
| Abbildung 37: Überlebenskurve in Abhängigkeit der EGFR-Expression..... | 96 |
| Abbildung 38: Überlebenskurve in Abhängigkeit der CXCR4-Expression..... | 97 |
| Abbildung 39: Überlebenskurve in Abhängigkeit der c-Met-Expression..... | 98 |

1 Einleitung

Das Ösophaguskarzinom stellt ein globales Gesundheitsproblem dar. Im Jahr 2012 wurden weltweit 455 800 Fälle neu diagnostiziert, 400 200 Patienten starben [1]. Es gehört zu den am wenigsten untersuchten und tödlichsten Krebsarten weltweit. Beschrieben wird das Ösophaguskarzinom als sehr aggressiv und weist eine schlechte Überlebensrate auf [2]. Das Plattenepithelkarzinom des Ösophagus wird in der Literatur als epithelialer Tumor mit Plattenzellendifferenzierung definiert [3].

In frühen Stadien verhält sich das Ösophaguskarzinom meist asymptomatisch, sodass die Diagnose oftmals erst spät gestellt wird [4]. Aufgrund der fehlenden Serosa kommt es zu einer frühen Infiltration von Nachbarstrukturen, sodass die Mehrzahl der Patienten vor Diagnosestellung bereits an Dysphagie und Gewichtsverlust leidet [5]. Die Behandlung ist abhängig vom Ausmaß der Erkrankung und beinhaltet unter anderem die Chirurgie, Chemotherapie, Bestrahlung sowie weitere unterstützende Maßnahmen [4]. Die Prognose des Ösophaguskarzinoms bleibt schlecht, das 5-Jahresüberleben liegt bei circa 20-30% [4, 6].

Die Bestimmung prädiktiver Biomarker nimmt heutzutage einen immer größeren Stellenwert ein [7, 8]. In den vergangenen Jahren nahm das Interesse an einer molekular zielgerichteten Therapie zu; insbesondere die Identifizierung prädiktiver Biomarker mit dem Ziel, das Nutzen-Risiko-Verhältnis zu erhöhen. Eine in der Literatur beschriebene Gruppe ist die Rezeptorfamilie des epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptors (EGFR). Der Familie sind vier Mitglieder zugehörig, unter anderem EGFR und HER2/neu (Humaner epithelialer Wachstumsfaktor-Rezeptor 2). Eine Überexpression beider ist häufig im Ösophaguskarzinom vorzufinden [9]. In diesem Zusammenhang wurden c-Met (Hepatozyten-Wachstumsfaktor-Rezeptor) und CXCR4 (CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4) als potentielle Marker beschrieben [10, 11].

Ziel dieser Studie war es, die prognostische und prädiktive Bedeutung der Expressions-Level der Biomarker EGFR, c-Met, CXCR4 und HER2/neu zu evaluieren und sie anschließend mit den klinisch-pathologischen Parametern zu vergleichen. Hierzu wurde von 83 Patienten mit einem fortgeschrittenen, metastasierten oder nicht mehr kurativ behandelbarem Plattenepithelkarzinom des Ösophagus primär gewonnenes Tumormaterial mittels Immunhistochemie angefärbt.

2 Literatur

2.1 Epidemiologie

Männer sind vom Plattenepithelkarzinom häufiger betroffen als Frauen [12, 13]. Das Plattenepithelkarzinom ist der dominierendste histologische Subtyp weltweit und kommt in unterentwickelten Ländern häufiger vor [2, 14]. Die Häufigkeitsrate ist bei der dunkelpigmentierten Bevölkerung dreimal höher als bei der Hellen [14].

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung liegen beim Plattenepithelkarzinom des Ösophagus oftmals auch noch weitere operative Risiken, wie zum Beispiel eine Leberfunktionsstörung bis hin zur Zirrhose vor. Hinzu kommt häufig eine Malnutrition oder eine obstruktive Lungenfunktionsstörung, die in Verbindung zum chronischen Nikotinabusus stehen [15].

Bevor es zu einer Tumorzellstreuung im ganzen Körper kommt, expandiert das Karzinom zunächst in die lokale Umgebung und metastasiert lymphogen [5].

Eine Metastasierung über die Lymphbahnen erfolgt orientierend an der Embryonalentwicklung des Ösophagus; oberhalb der Trachealbifurkation kranialwärts und unterhalb kaudalwärts [15, 16]. Für das Plattenepithelkarzinom ist zudem eine submuköse, intramurale Ausdehnung sowohl nach oral wie aboral, als auch eine longitudinale lymphogene Schleimhautmetastasierung typisch [15].

Am häufigsten sind Fernmetastasen in supraklavikulären, retroperitonealen Lymphknoten sowie im Skelettsystem und anderen Organen vorzufinden [15, 17].

2.2 Ätiologie

Das Ösophaguskarzinom entwickelt sich beginnend aus Hyperplasien über Dysplasien der Basalzellschicht, bis hin zum Carcinoma in situ [18]. Diese sogenannten Vorläuferläsionen sowie das Ösophaguskarzinom selbst sind mit verschiedenen Risikofaktoren in Zusammenhang gebracht worden; dabei sind chemische (siehe 2.3.1) die Hauptrisikofaktoren, die zusammen synergistisch Wirkung zeigten [19].

2.2.1 Risikofaktoren

Als Hauptrisikofaktoren für das Entstehen des Ösophaguskarzinoms sind der Konsum von Alkohol und Tabak (chemische Risikofaktoren) zu nennen [12, 14, 20-

24]. Um das 8,5-fache ist das Risiko bei Personen, die mehr als 14g Tabak pro Tag rauchen und in größeren Mengen Alkohol konsumieren erhöht [15, 21]. In der Nahrung enthaltene Karzinogene und ein Mangel an Mikronährstoffen, sowie die geringe Aufnahme von Obst und Gemüse wurden in bestimmten Regionen als wichtige Risikofaktoren genannt [19]. Polyzyklischer aromatischer Wasserstoff, ein Umweltkarzinogen, welcher vor allem bei unvollständigen Verbrennungen wie zum Beispiel von Holz und Kohle entsteht, stellt ebenso ein großes Risiko dar [22]. Zudem wurde der Konsum von heißen Getränken und Speisen als Risikofaktor beschrieben [12]. Obwohl die Achalasie selten vorkommt, ist sie dennoch als wichtiger Faktor zu nennen [14]. Auf genetischer Ebene können Missense-Mutationen im Gen RHBDF2 eine Entstehung begünstigen, ebenso wie die autosomal-dominant vererbte Tylose [17]. Die nichtepidermolytische palmoplantare Keratodermie (Tylosis) ist eine seltene autosomal dominant vererbte Störung, die als einziges anerkanntes familiäres Syndrom prädisponierend für die Entstehung eines Plattenepithelkarzinoms des Ösophagus ist [25]. In bis zu 50% der Fälle erkranken Menschen mit einer Tylose noch vor dem 50. Lebensjahr am Plattenepithelkarzinom des Ösophagus [15, 21, 26]. Die Risikofaktoren in China sind ähnliche, insbesondere ein hoher Gehalt an N-Nitrosaminen, sowie stark gesalzenes Fleisch [27].

Humane Papillomaviren (HPV) sind möglicherweise prädisponierend für das Entstehen des Plattenepithelkarzinoms des Ösophagus. Typ 16 und 18 verursachen einen Großteil des Plattenepithelkarzinoms der Cervix und stehen in enger Beziehung zu den Tumoren im Kopf-Hals-Bereich [28]. Oropharyngeale Tumoren konnten insbesondere mit HPV Typ 16 in Verbindung gebracht werden [29].

Bei vorausgegangenem Hals-Kopf-Karzinom beträgt das Risiko 5-14% an einem Plattenepithelkarzinom als Zweitmalignom zu erkranken [17, 21]. Die Früherkennung von Zweitmalignomen und die daraus folgende kurative Therapie kann durch endoskopische Vorsorgeuntersuchungen gewährleistet werden, jedoch wird die Diagnose oft erst im fortgeschrittenen Stadium gestellt [21, 30]. Früher stattgefundenene Bestrahlung im Hals-Kopf-Bereich kann für die Entwicklung eines später zustande kommenden Ösophaguskarzinoms verantwortlich sein. Ein weiteres strahleninduziertes Risiko stellt das Mammakarzinom dar [21].

Bislang wurde jedoch das Fortschreiten der Dysplasie bis hin zum Ösophaguskarzinom nicht ausreichend untersucht [18].

In Deutschland wird eine allgemeine Früherkennungsmaßnahme nicht empfohlen, da die Risikofaktoren zwar bekannt sind, jedoch als unspezifisch beschrieben werden. Weiterhin ist im Vergleich zu anderen Tumoren, wie das Mammakarzinom die Inzidenzrate gering [13, 31].

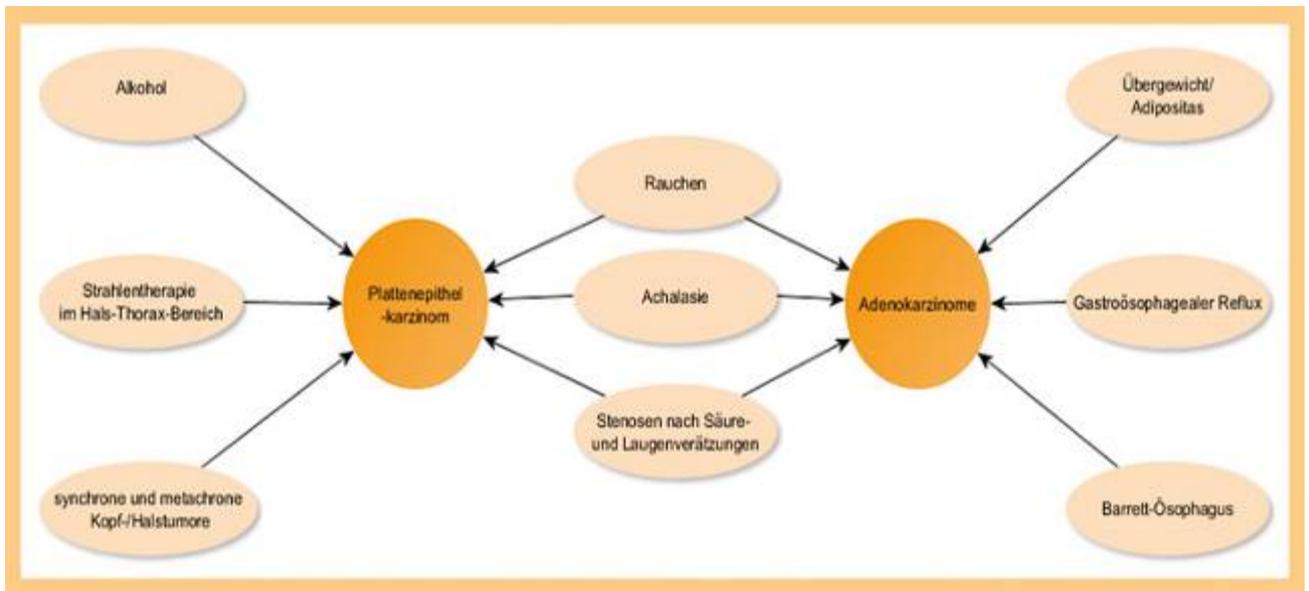


Abbildung 1: Risikofaktoren des Plattenepithelkarzinoms des Ösophagus [21]

Bei bis zu 90% tritt die Dysphagie bei Patienten mit einem Ösophaguskarzinom auf. Gewöhnlicherweise macht sie sich bemerkbar, wenn das Ösophaguslumen um mehr als 50% beeinträchtigt ist [32].

Obwohl die Dysphagie durch zum Beispiel Stents gelindert werden kann, haben diese jedoch keine Auswirkungen auf das Gesamtüberleben; vielmehr steigt das Risiko an Komplikationen bei diesen Therapien mit dem Gesamtüberleben an [33].

2.3 Eigenschaften und Einteilung des Plattenepithelkarzinoms des Ösophagus

Das Ösophaguskarzinom ist weltweit die sechst häufigste Todesursache unter Malignomen [2, 34].

Es lässt sich in 2 Subtypen unterteilen, das Plattenepithel- und Adenokarzinom [15, 35]. Beide werden aufgrund ihrer Tumorbioogie, Ätiologie und Lokalisation in unterschiedliche Symptomenkomplexe eingeordnet [15]. Bei beiden Entitäten sind

Männer von der Erkrankung häufiger betroffen als Frauen. Das mediane Erkrankungsalter liegt für Männer bei 67 und für Frauen bei 71 Jahren [13].

Die weltweit höchsten Raten des Plattenepithelkarzinoms sind in Asien (Nordchina), Südafrika, der Türkei und im Iran zu finden [27, 34]. Plattenepithelkarzinome treten entlang des gesamten Ösophagus auf, sind jedoch vor allem im proximalen bis mittleren Drittel lokalisiert [15, 17, 36]. Sie gehören zusammen mit den Adenokarzinomen zu den epithelialen Tumoren des Ösophagus [15]. Das Wachstumsverhalten des Plattenepithelkarzinoms wird als submukös infiltrierend und exulzierend beschrieben [15, 36].

Das Plattenepithelkarzinom des zervikalen Ösophagus steht in Bezug auf die Lokalisation sowie die Prognose, Behandlung und Pathologie in einem engen Zusammenhang mit den Karzinomen des Kopfes und Halses [35].

Die Prävalenz des Plattenepithelkarzinoms war in der Vergangenheit in Westeuropa höher als die des Adenokarzinoms; in den letzten Jahren hat jedoch die Inzidenzrate des Adenokarzinoms stetig zugenommen [31, 37]. Sie hat sich in Deutschland innerhalb der letzten 20 Jahre versiebenfacht [38]. Als ursächlich hierfür wird die Zunahme der gastroösophagealen Refluxkrankheit sowie die Zunahme an Fettleibigkeit beschrieben [39].

Obwohl die Inzidenzrate des Adenokarzinoms in Nordamerika und Europa zunimmt, bleibt das Plattenepithelkarzinom der am häufigsten vorkommende histologische Subtyp weltweit [40].

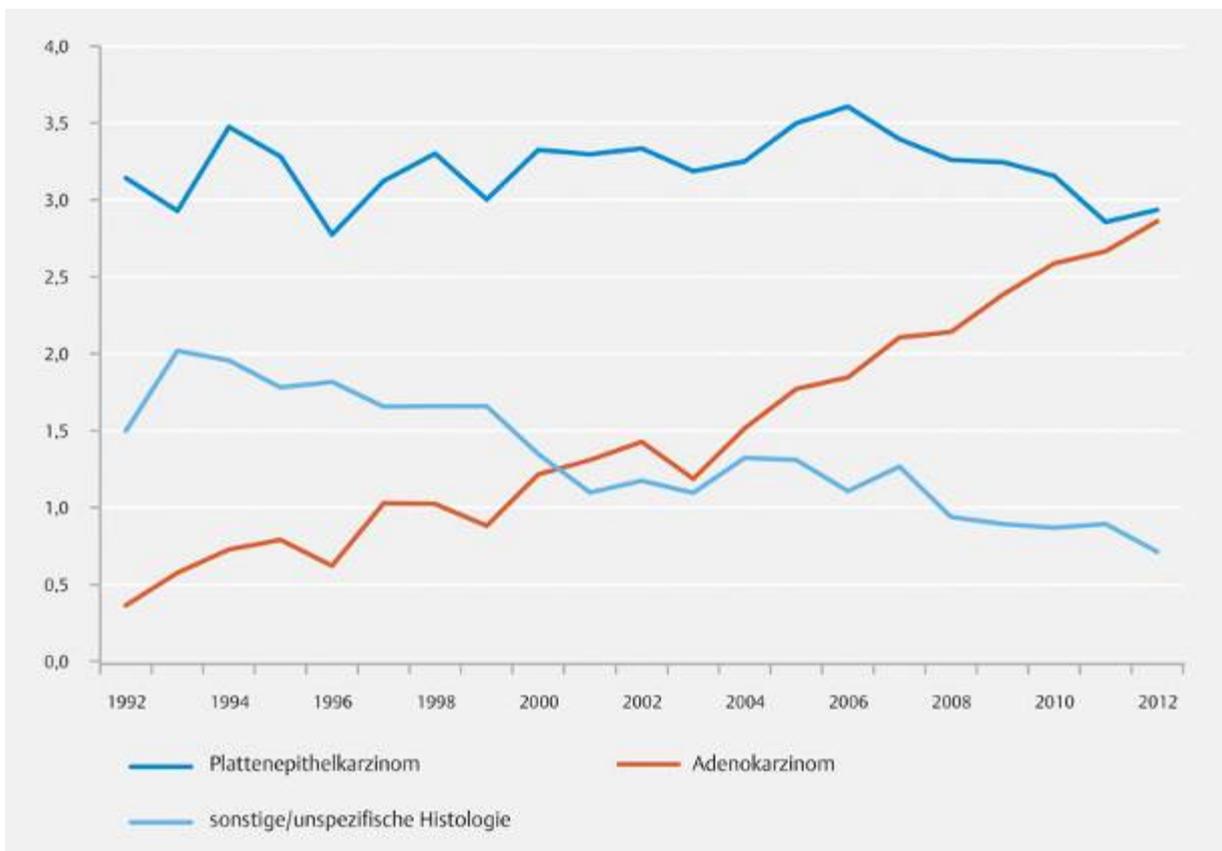


Abbildung 2: Vergleich beider Tumorentitäten in Deutschland von 1992 bis 2012 nach Hoepfner et al. [38]

Zur Klassifikation des Primärtumors, der Lymphknotenmetastasierungsausbreitung als auch der Fernmetastasierung wird die UICC (International Union against Cancer) herangezogen [15].

Tabelle 1: TNM/pTNM Klassifikation des Ösophaguskarzinoms (UICC 2009) nach Siewert et al. [15]

| T | Primärtumor |
|----------|---|
| TX | Primärtumor nicht beurteilbar |
| T0 | Kein Anhalt für Primärtumor |
| Tis | Carcinoma in situ |
| T1 | Tumor infiltriert Lamina propria, Muscularis mucosae oder Submukosa |
| T1a | Tumor infiltriert Lamina propria oder Muscularis mucosae |
| T1b | Tumor infiltriert Submukosa |
| T2 | Tumor infiltriert Muscularis propria |
| T3 | Tumor infiltriert Adventitia |
| T4 | Infiltration von Nachbarstrukturen |

| | |
|----------|--|
| T4a | Tumorinfiltration in Pleura, Perikard oder Zwerchfell |
| T4b | Tumorinfiltration in andere Nachbarstrukturen wie Aorta, Trachea oder Wirbelkörper |
| N | Regionäre Lymphknoten |
| NX | Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden |
| N0 | Keine regionären Lymphknoten |
| N1 | Metastasen in 1-2 regionären Lymphknoten |
| N2 | Metastasen in 3-6 regionären Lymphknoten |
| N3 | Metastasen in 7 oder mehr regionären Lymphknoten |
| M | Fernmetastasen |
| MX | Fernmetastasen können nicht beurteilt werden |
| M0 | Keine Fernmetastasen |
| M1 | Fernmetastasen |

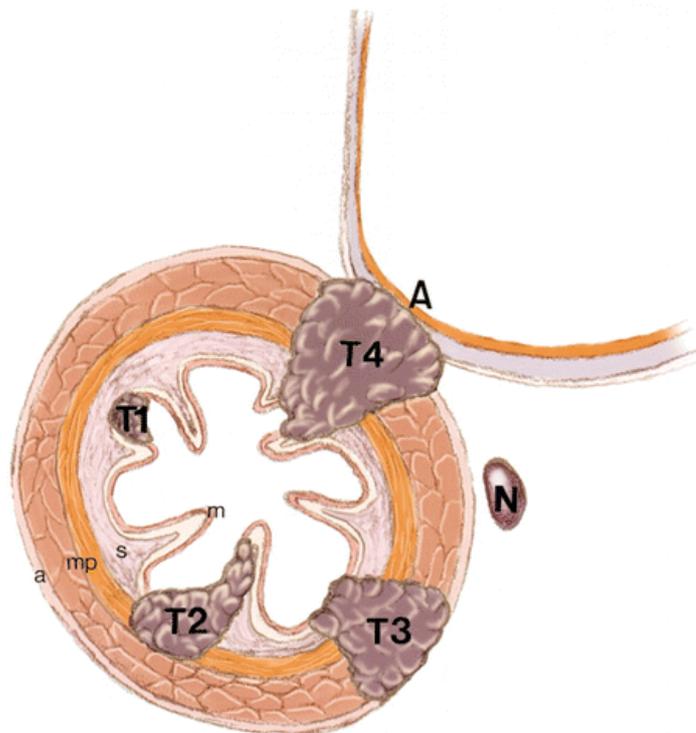


Abbildung 3: Tumorlokalisierung des Ösophaguskarzinoms im Querschnitt nach Iyer et al. [41].

T1-4: Invasionstiefe, m: Mucosa, s: Submucosa, mp: Muscularis propria, a: Adventitia, A: benachbarte Organe, N: Befallene Lymphknoten

Die Tumorf infiltration sowie die Lymphknotenbeteiligung sind wichtige prognostische Indikatoren. Patienten deren Tumore mindestens ein T3-Stadium aufweisen, haben ein geringeres 5-Jahresüberleben. Möglicherweise ursächlich wegen der fehlenden serosalen Oberfläche und der daraus resultierenden leichteren Ausbreitung [41]. Mit zunehmendem T-Stadium steigt die Wahrscheinlichkeit der Lymphknotenmetastasierung an. Daraus resultiert eine schlechtere Prognose [17, 31, 41].

Nach UICC erfolgt neben der TNM-Klassifikation, auch die Stadieneinteilung (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Stadieneinteilung des Ösophaguskarzinoms als auch der Karzinome des gastroösophagealen Übergangs (UICC 2009) [15]

| Stadium | Primärtumor | Regionäre Lymphknoten | Fernmetastasen |
|----------------|--------------------|------------------------------|-----------------------|
| Stadium 0 | Tis | N0 | M0 |
| Stadium IA | T1 | N0 | M0 |
| Stadium IB | T2 | N0 | M0 |
| Stadium IIA | T3 | N0 | M0 |
| Stadium IIB | T1, T2 | N1 | M0 |
| Stadium IIIA | T4 | N0 | M0 |
| | T3 | N1 | M0 |
| | T1, T2 | N2 | M0 |
| Stadium IIIB | T3 | N2 | M0 |
| | T4a | N1, N2 | M0 |
| Stadium IIIC | T4b | Jedes N | M0 |
| | Jedes T | N3 | M0 |
| Stadium IV | Jedes T | Jedes N | M1 |

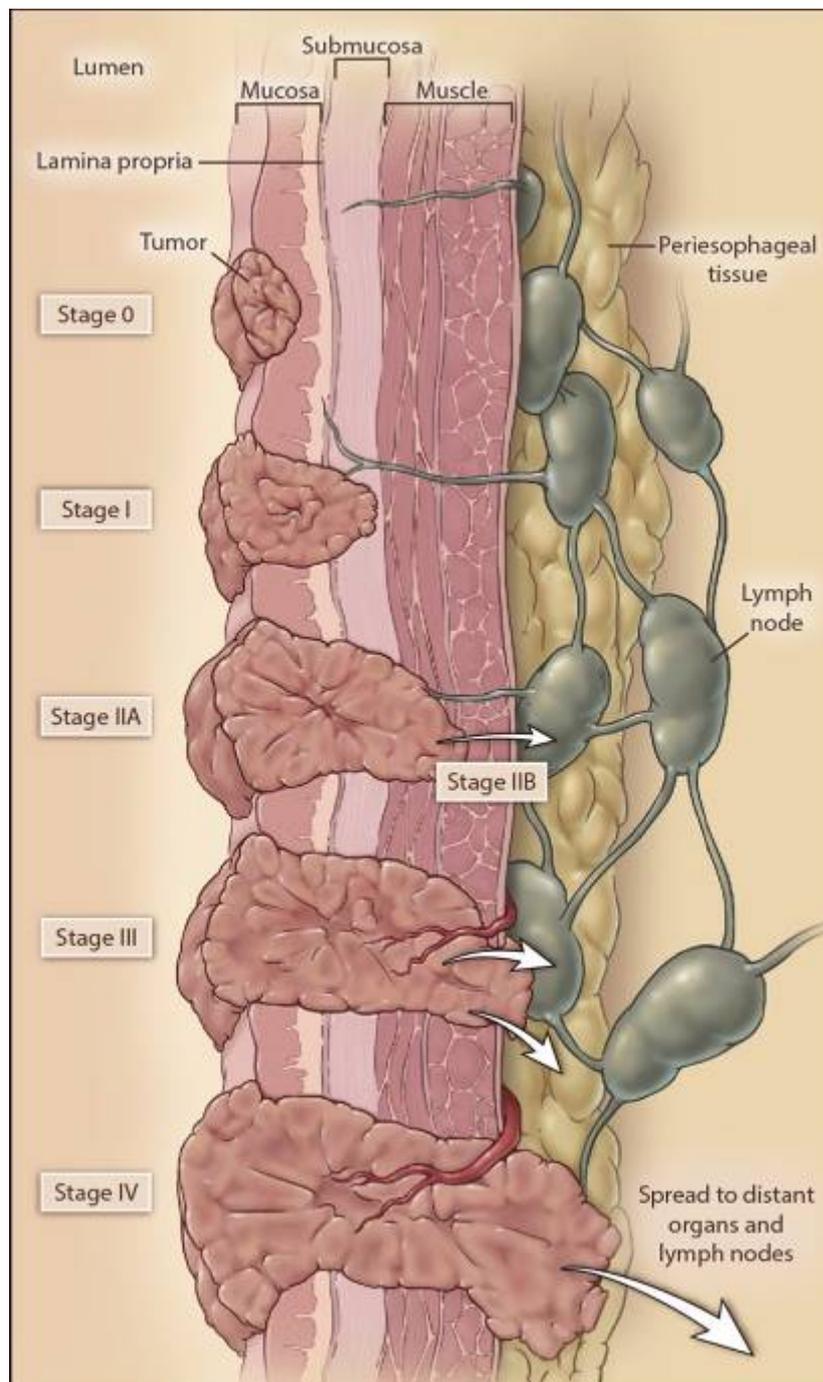


Abbildung 4: Tumorstadien im Längsschnitt nach Rustgi et al. [17].

Stage 0: Stadium 0, Stage I: Stadium 1, Stage IIA: Stadium 2A, Stage IIB: Stadium 2B, Stage III: Stadium 3, Stage IV: Stadium 4, Muscle: Muskulatur, Periesophageal tissue: Periösophageales Gewebe, Lymphnode: Lymphknoten, Spread to distant organs and lymph nodes: Metastasierung in weitere Organe und Lymphknoten

2.4 Diagnostik

Die Ösophagogastroduodenoskopie (ÖGD) ist das Standardverfahren zur Detektion von Malignomen im oberen Gastrointestinaltrakt [42].

Bei Auftreten einer ösophagealen Dysphagie sollte eine Abklärung mittels Endoskopie erfolgen. Differentialdiagnostisch kommen mehrere Ursachen hierfür infrage, wie z. B. Fremdkörper, Infektionen aber auch Neoplasien. Die Anamnese kann wichtige Hinweise für die Dysphagie liefern. Zum Nachweis von entzündlichen oder tumorösen Veränderungen sollte eine ÖGD mit Biopsieentnahme und anschließender histologischer Untersuchung erfolgen [43].

Für die Therapieplanung ist die Durchführung einer ÖGD essentiell, da durch sie die endoskopische Tumorausdehnung mit den oralen und aboralen Tumorgrenzen untersucht werden kann [38, 44].

Trotz Unterschieden bezüglich Risikofaktoren und Demographie ist das klinische Erscheinungsbild von Plattenepithel- und Adenokarzinom des Ösophagus ähnlich. Ähnlichkeiten gibt es zudem auch im endoskopischen Erscheinungsbild [17]. Die Diagnosestellung sollte mittels Biopsie und histologischer Untersuchung erfolgen [45]. Zur Diagnostik von Neoplasien wird als Goldstandard die Chromoendoskopie genutzt; sie ermöglicht es, pathologische Veränderungen sichtbar zu machen [44, 46].

Hierfür wird 1%ige Lugol-Lösung verwendet, die jodhaltig ist und nichtneoplastisches Epithel braun färbt [18, 46]. Die Untersuchung mittels Lugol'scher Lösung beruht auf einer Reaktion zwischen dem in der Lösung enthaltenen Jod und dem Glykogen, welches in normalen Epithelzellen enthalten ist. Mithilfe der Lugol'schen Lösung wird die Detektion von tumorösen Geweben verbessert und stellt eine häufig verwendete Form des Screenings der Frühkarzinome dar [47-49]. In den 30er Jahren beschrieb Schiller diese Methode erstmals in der Früherkennung des Zervixkarzinoms. Etwa 30 Jahre später fand die Schiller-Probe nach Anpassung Verwendung in der Detektion des Plattenepithelkarzinoms des Ösophagus. Regionen mit einem normalen Anteil an Glykogen werden durch die Reaktion intensiv gefärbt, wohingegen dysplastische Bereiche eine verringerte oder fehlende Färbung aufweisen [49].

Jedoch deuten nicht alle ungefärbten Areale auf Krebs oder Dysplasien hin. Bei einem Barrett-Ösophagus oder einer Ösophagitis können ungefärbte Areale ebenso vorkommen [50].

2.4.1 Staging

Das Staging sollte mehrere klinische Untersuchungen enthalten, u. a. Testungen des Blutbildes sowie der Nieren- und Lungenfunktion, CT-Thorax und -Abdomen und schließlich die Endoskopie [45]. Zur Begutachtung der Resektabilität des Tumors sollte vor der Operation ein Staging mittels CT-Thorax und -Abdomen sowie ein FDG-PET (F-Fluor-desoxyglukose-Positronenemissionstomographie) und eine EUS (Endoskopische Sonographie) durchgeführt werden [34].

2.4.1.1 Endoskopische Sonographie (EUS)

Die EUS wird beim Ösophaguskarzinom zum Staging empfohlen [42]. An der Endoskopspitze befindet sich ein integrierter Ultraschalltransducer der ein sonografisches Bild der Schleimhaut erzeugt und die unterschiedlichen Wandschichten definiert. Damit kann die Tiefeninfiltration (T-Stadium) und der lokale Lymphknotenstatus (N-Stadium) beurteilt werden [44, 51]. Mithilfe der EUS lassen sich sowohl der Tumor- als auch Lymphknotenstatus mit einer Genauigkeit von circa 80% bestimmen [17, 31, 51, 52]. Die Limitation der EUS besteht jedoch darin, dass nur Lymphknoten in der Nähe von Ösophagus- und Magenwand sichtbar gemacht werden können, da die Eindringtiefe auf ca. 5cm beschränkt ist, sodass weiter entfernte Lymphknoten häufig nicht erkannt werden können [53]. Mit zusätzlichem Einsetzen einer Feinnadelaspiration lässt sich die Sensitivität des Lymphknotenstatus verbessern, sowie die Möglichkeit, Läsionen zu differenzieren. Es lassen sich pathologische Veränderungen biopsieren und diese im Anschluss zytologisch untersuchen [17, 42, 44, 53]. Obwohl die EUS durch dieses Verfahren den anderen Untersuchungsmethoden wie CT, PET oder MRT überlegen ist, so ist ihre Aussagekraft bei stenotischen Tumoren aufgrund der erschwerten Passierbarkeit der Engstelle limitiert [31, 38].

2.4.1.2 CT-Abdomen/Thorax

Mittels CT-Untersuchung lässt sich das T-Stadium nicht gut differenzieren. Bezüglich der Invasion von Nachbarorganen hat die CT-Untersuchung jedoch eine gute Aussagekraft [51].

Sowohl die CT als auch das FDG-PET können zur Erkennung von Fernmetastasen eingesetzt werden, um über die kurative Behandlungsmöglichkeit zu entscheiden [53].

Die CT liefert prätherapeutische Informationen über die distante und lokale Metastasierung des Tumors, jedoch mit einer limitierten Aussagekraft in Bezug auf lokoregionäre Lymphknoten [31, 38].

2.5 Therapie

Vor Therapiebeginn sollte interdisziplinär mit Viszeralchirurgen, Strahlentherapeuten, Gastroenterologen und Onkologen ein Therapiekonzept erarbeitet werden. Dieses ist individuell und abhängig vom TNM-Stadium, der Histologie, der Tumorlokalisation sowohl als auch vom Gesundheitszustand und den Vorerkrankungen des Patienten [31].

Das Ösophaguskarzinom ist ein aggressiver Tumor, der mit einer schlechten Prognose einhergeht [31, 40]. Das Ausmaß der Erkrankung bei Vorstellung und der Gesundheitszustand des Patienten sind für das Heilungspotential von essentieller Bedeutung [54]. Chirurgisch potentiell kurativ behandelt werden können bei Diagnosestellung weniger als 50% der Patienten [52]. Wichtige Therapieziele für diese Patienten sind das progressionsfreie Überleben sowie die palliativmedizinische Betreuung [31]. Das Vorgehen ist sowohl beim Plattenepithel- als auch beim Adenokarzinom ähnlich. Unterschiede gibt es bei der Operation und Chemotherapie [17]. Die Anwesenheit von Lymphknotenmetastasen bestimmt die Behandlungsstrategie sowie die zu erwartende Prognose [48]. Minimalinvasive Techniken garantieren eine geringere Erholungszeit, sowie geringere postoperative Komplikationen [45]. Um den Verlauf und die Wirksamkeit der Therapie zu verfolgen, ist die Bildgebung wichtig, da sowohl die endoskopischen als auch die bariumhaltigen Darstellungen limitiert sind [41].

Der chirurgische Zugang ist durch die enge Lagebeziehung des Ösophagus zur Wirbelsäule und der Trachea erschwert [55].

2.5.1 Therapieoptionen

2.5.1.1 Voraussetzungen für einen kurativen Ansatz

Die chirurgische Resektion ist im Hinblick auf einen kurativen Ansatz essentiell. Hierbei ist die Abwesenheit von Fernmetastasen wichtig [56].

In kurativer Absicht kann eine chirurgische Resektion mittels en bloc Resektion und zugehörigen Lymphknoten erfolgen [41]. Bei Patienten in einem frühen Stadium ist die Ösophagektomie die Therapie der Wahl und stellt einen potentiell kurativen Ansatz dar [57]. Bei Tumoren, die im Bereich der Halswirbelsäule und im Brustwirbelsäulenbereich liegen, wird zusätzlich eine begleitende Radiochemotherapie empfohlen [51].

Für Patienten mit fortgeschrittenem Stadium und ohne Aufweisen von Fernmetastasen stellt die Ösophagektomie ebenfalls einen potentiellen kurativen Ansatz dar. Voraussetzung hier ist eine vorangegangene neoadjuvante Chemo- und Strahlentherapie, worunter der Patient keine Fernmetastasen entwickeln darf [57].

2.5.1.2 Endoskopische Resektion des Ösophaguskarzinom

In spezialisierten Zentren kann bei Frühkarzinomen und geeigneten Patienten eine endoskopische Therapie durchgeführt werden [42, 44]. Die Methode wurde als Alternative zur konventionellen Chirurgie entwickelt, um oberflächliche Tumore mit kurativer Absicht zu entfernen [33]. Hierbei ist jedoch eine präinterventionelle Diagnostik erforderlich, da bei T1a-Stadien in 20% der Fälle ein multifokales Karzinom vorliegt [42].

2.5.1.3 Chirurgische Resektion

Die Therapie ist von der Tumorlokalisierung, dem Tumorstadium sowie den Begleiterkrankungen des Patienten abhängig [31, 58, 59]. Hierbei ist besonders der Bezug zum Tracheobronchialsystem von Wichtigkeit [60].

Bei Plattenepithelkarzinomen bis T2 N1, d.h. der Tumor infiltriert die Muscularis propria und hat bereits 1-2 regionäre Lymphknoten befallen, ist die Chirurgische Resektion die Therapie der Wahl [42]. Voraussetzung hierfür ist ein guter gesundheitlicher Zustand sowie keine Fernmetastasen [53]. Die Chirurgische Intervention ist ein wichtiger Bestandteil in der Behandlung des Ösophaguskarzinoms [34]. Diese erfolgt mittels Ösophagektomie und

Magenhochzug für resektable Tumoren [52, 58]. Innerhalb des letzten Jahrzehnts verbesserten sich die Operationsergebnisse. Folglich kam es zu einer erhöhten Rate an kurativen Resektionen, verringerte postoperative Sterbefälle sowie ein besseres 5-Jahresüberleben. Der Anteil an Patienten mit einem erhöhten 5-Jahresüberleben bleibt jedoch gering, er beträgt in etwa nur 5-15% trotz verbesserter chirurgischer Therapien [52, 58].

In der Literatur wird eine signifikante Verlängerung des krankheitsfreien Überlebens bei Patienten, die vor der Resektion eine Radiochemotherapie erhielten, beschrieben [58].

Beim zervikalen Ösophaguskarzinom, führt die radikale Tumorentfernung meist zu einer zusätzlichen Laryngektomie, mit Verschlechterung der Lebensqualität [61]. Nur bei T1-Tumoren kann hier eine primäre Resektion erfolgen [60]. Sodass die definitive Radiochemotherapie (RCT) oftmals die einzige Therapiemöglichkeit darstellt [52].

Die Ösophagektomie allein ist mit einer hohen Rezidivrate und einer geringen 5-Jahres-Überlebensrate von 5 bis 34% verbunden. Ein wichtiger Fortschritt war die Einführung der neoadjuvanten Therapie für Patienten, die sich einer Ösophagektomie unterziehen [17].

Die neoadjuvante Therapie dient dem Prinzip des „Down-staging“ für lokal fortgeschrittene Tumoren, um möglichst eine kurative Resektion, auch R0-Resektion genannt, zu erzielen. Es ist zwischen einer präoperativen Chemo- und Radiochemotherapie zu unterscheiden [52, 62].

Die definitive Radiochemotherapie und die Radiochemotherapie mit anschließender Operation sind in der kurativen Behandlung von Patienten mit lokalisiertem Ösophaguskrebs gut etabliert [63].

Eine alleinige Radiochemotherapie sollte sich auf die Patienten beschränken, deren gesundheitlicher Zustand nicht gut genug ist, um sich einer Ösophagektomie zu unterziehen [17, 64].

Die am häufigsten verwendeten Wirkstoffe der Chemotherapie sind 5-Fluoruracil (5-FU) und Cisplatin. Andere Wirkstoffe wie Taxane und Oxaliplatin haben gegenüber den hier Genannten keine Überlegenheit gezeigt [65]. Es basieren fast alle Chemotherapien des Ösophaguskarzinom auf Cisplatin [66].

Nach den aktuellen Leitlinien soll bei Patienten nach Abschluss der präoperativen Therapie erneut ein Ausschluss von Fernmetastasen vor operativer Therapie erfolgen [21].

2.5.1.4 Palliativtherapie

Beim Vorliegen von Fernmetastasen eines Tumorrezidivs oder eines nicht resektablen Tumors besteht häufig keine Aussicht auf Heilung [67]. Handelt es sich um solch einen Palliativzustand, so ist es wichtig, Probleme wie die Dysphagie und Schmerzen zu vermindern, eine Aspiration zu verhindern und die Ernährung zu gewährleisten [67-69]. Die Entscheidung für die jeweilige Therapie sollte individuell und interdisziplinär getroffen werden [70]. Patienten mit einem unheilbaren Ösophaguskarzinom stehen mehrere Verfahren zur Verfügung, die sich sowohl in tumorspezifische als auch symptombezogene Maßnahmen unterteilen lassen [67, 68, 71]. Mit tumorspezifischen Verfahren wird versucht, das Überleben zu verlängern und die Symptome zu verbessern. Hierzu zählen unter anderem die Radiochemotherapie, die Brachytherapie sowie die perkutane Strahlentherapie. Ziel aller ist es die Dysphagie zu lindern [67, 72, 73].

Bypass-Operationen oder palliative Resektionen mit dem Ziel den Tumor zu verkleinern sind mit einer hohen postoperativen Letalität verbunden und häufig nicht indiziert [67].

Symptombezogene Verfahren beschäftigen sich mit der Behandlung der Dysphagie und Ösophagusfisteln. Hierzu werden Stents verwendet, die endoskopisch oder radiologisch implantiert werden [67]. Verwendet werden meist Metallstents, die teilweise mit einer Ummantelung, auch „covered stents“ genannt, versehen sind. Sie führen in über 90% der Fälle zu einer Besserung. Es ist möglich, dass es nach Einsetzen eines Stents zu einer erneuten Dysphagie kommt. Grund hierfür sind u.a. das Einwachsen von malignem oder entzündlichem Gewebe oder eine Stentmigration. Tritt eine Dysphagie infolgedessen erneut auf, so sind weitere endoskopische Maßnahmen und ggf. das Einsetzen eines zusätzlichen Stents erforderlich [33, 60, 67].

Endoskopische Verfahren stehen im Vordergrund, da operative Verfahren bei Patienten mit einer von wenigen Monaten beschränkten Lebenserwartung aufgrund des hohen Risikos nur noch in Ausnahmefällen indiziert sind [67].

Entsprechend der individuellen Situation ist die Auswahl des Verfahrens zu treffen. Zum Beispiel ist die Bestrahlung bei inoperablen Patienten mit kleinen Tumoren

sowie bei proximalem Sitz eine Alternative zur Stenteinlage. Hingegen kommt die Lasertherapie zum Einsatz wenn die anderen beiden Verfahren scheitern [52].

2.5.2 Komplikationen

Eine Fistelbildung zwischen dem Tracheobronchialsystem und dem Ösophagus aber auch in die Pleura und ins Mediastinum ist beim fortschreitenden Ösophaguskarzinom möglich. Sie präsentiert sich klinisch durch eine zunehmende Dysphagie und Atemnot sowie durch Hustenanfälle nach dem Essen und Trinken. Um einer Aspirationspneumonie vorzubeugen ist eine Fistelabdichtung indiziert, welche mithilfe eines ummantelten Metallstents erfolgt. Zusätzlich kann in Abhängigkeit des Befindens des Patienten und Tumorausdehnung eine Radiochemotherapie durchgeführt werden [67, 74].

Eine ernstzunehmende Komplikation nach Stentimplantation ist die Kompression der Trachea. Hierbei ist eine gleichzeitige Implantation eines Trachealstents notwendig. Nicht zu vernachlässigen ist die erhöhte Komplikationsrate bei diesem Vorgehen. Dennoch führt diese Maßnahme zur Verbesserung der Lebensqualität [33, 67, 74].

Das Risiko von Lymphknotenmetastasen ist bei Plattenepithelkarzinomen groß. Es steigt mit der Invasionstiefe des Tumors an und beträgt nahezu 45% wenn es zu einer Invasion im unteren Drittel der Submukosa kommt [75, 76].

Bei Patienten, die langfristig überleben und einen Stent eingesetzt bekommen haben, tritt bei der Mehrzahl eine Stent-Okklusion auf. Diese ist bedingt durch das Einwachsen des Tumors und durch Bildung von Granulationsgewebe, sowie der reaktiven Hyperplasie oder Fibrose [33].

Nach einer Radiochemotherapie in einem hohen Strahlendosisbereich können Metastasen in der Leber als auch strahleninduzierte Leberschäden resultieren. Man sollte deshalb differentialdiagnostisch einen strahleninduzierten Schaden bedenken, um kein Overstaging zu begünstigen [77].

2.6 Prognose

Das Überleben ist abhängig vom Stadium zum Diagnosezeitpunkt [78]. Ein Großteil der Patienten leidet zum Diagnosezeitpunkt bereits unter Dysphagie, ein weiterer Teil an Odynophagie [25]. Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose befindet sich ein Großteil der

Erkrankten in einem fortgeschrittenen Stadium des Ösophaguskarzinoms und kann nicht mehr kurativ behandelt werden [79, 80]. Wird das Ösophaguskarzinom in einem frühen, oberflächlichen Stadium entdeckt, ist die Prognose besser, als in einem fortgeschrittenen Stadium [48]. Obwohl die Methoden zur Diagnosestellung fortgeschritten sind, spielt die lymphogene Metastasierung eine wichtige Rolle in der Prognose. Selbst bei oberflächlichen Karzinomen kann es zu einer frühen lymphogenen Metastasierung kommen [48].

Die 5-Jahresüberlebensrate des Plattenepithelkarzinoms liegt bei ca. 20-30% [81-83]. Patienten mit einem Rezidiv weisen ein 5-Jahresüberleben von nur ca. 12% auf [79].

Die Identifizierung von prognostischen Faktoren kann hier für das Überleben entscheidend sein [84]. Es ist wichtig, die Patienten zu ermitteln, bei denen nach kurativem Ansatz ein Rezidivrisiko besteht [85]. Selbst nach einer radikalen kurativen Resektion sind die Fernmetastasierungsraten und Rezidive hoch [86]. Mehrere Faktoren, wie z. B. die Tumorlokalisierung, Invasionstiefe, aber auch die lymphatische Invasion sind für das Überleben, sowie für das Wiederauftreten des Karzinoms verantwortlich [83, 84, 87].

2.7 Maligne Transformation

Die Vorläuferläsion des Plattenepithelkarzinoms des Ösophagus ist die Dysplasie. Patienten mit solch einer Dysplasie haben ein erhöhtes Risiko an einem Karzinom zu erkranken. Das Risiko bei einer leichten Dysplasie ist um den Faktor 3 erhöht, bei einer mittelschweren um den Faktor 10 und bei einer schweren Dysplasie liegt ein 30-fach erhöhtes Risiko vor zu erkranken [17]. Die Krebsforschung zeigte, dass Mutationen in Signalwegen Bestandteil der Tumorentstehung sind [88]. Krebszellen besitzen verschiedene Mechanismen, um ihr Überleben zu verlängern indem sie u. a. die Apoptose hemmen [89]. Eine Deregulierung der Signalkaskade kann zu einer malignen Transformation führen [90]. Für die Krebstherapie als Angriffspunkt erzielt der EGF-Rezeptor (EGFR, epidermale Wachstumsfaktorrezeptor) große Aufmerksamkeit [91, 92].

2.8 Biomarker

Veränderungen die häufiger in Tumorzellen auftreten, lassen sich durch Biopsien oder Körperflüssigkeiten nachweisen und als molekulare Marker verwenden [93]. Sie spielen eine wichtige Rolle. Mit deren Hilfe kann Krebs in einem frühen Stadium erkannt werden und sowohl die Tumorprogression als auch das Therapieansprechen überwacht werden [93, 94]. Jedoch existieren Limitierungen, weshalb sie keine ausreichende Sensitivität und Spezifität erreichen um für klinische Tests akzeptiert zu werden [95].

Immunhistochemische Techniken ermöglichen den Nachweis in histologischen Gewebsschnitten. Sie beruhen auf spezifischen monoklonalen Antikörpern [96].

2.8.1 EGFR und dessen Signalwege

Der epidermale Wachstumsfaktorrezeptor (EGFR) ist eine Rezeptortyrosinkinase, die eine Schlüsselrolle in der Regulierung von normalen zellulären Prozessen einnimmt. Eine EGFR-Überexpression konnte in mehreren Tumoren epithelialen Ursprungs festgestellt werden, vor allem in Kopf-/Hals-Tumoren, dem metastasierten kolorektalen Karzinom, der Lunge, im Ovar sowie in Magen- und Ösophaguskarzinomen. Die Überexpression ist stets mit einer schlechten Prognose assoziiert [28, 97-103].

Der Rezeptor ist der ErbB-Familie zugehörig. Sie stellt eine Gruppe von Transmembrannglykoprotein-Tyrosinkinaserzeptoren dar, welche in verschiedenen Zelltypen normaler Gewebe sowie auch in Hepatozyten exprimiert werden [98, 99, 104, 105].

Bindet der Ligand EGF, so führt dies zur Homo - oder Heterodimerbildung und im Weiteren zu einer Phosphorylierung von Tyrosinresten auf dem intrazellulären Teil des Rezeptors [90, 104, 106]. Die Phosphorylierung führt zu Signalkaskaden, die eine Vielzahl an zellulären Reaktionen hervorrufen; u. a. Zellwachstum, Adhäsionsvorgänge und Angiogenese [90, 98, 99, 104, 107, 108].

Der Ras/Raf-Kaskadeweg (Rat sarcoma/ Raf fibrosarcoma) stellt einen entscheidenden Weg dar; er ist für die Regulation der Zellproliferation und -überleben zuständig [88, 98].

Der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K)-Signalweg ist an Zellwachstum, Apoptose, Migration und Invasion beteiligt [89, 98]. PI3K kann die Kinase Akt (Proteinkinase B) binden und somit aktivieren. Akt ist ein Protoonkogen und kann viele Abläufe in der Zelle beeinflussen, indem Substrate aktiviert oder inhibiert werden. Zu ihnen gehören u. a. die Hemmung der Apoptose oder die Zellproliferation. [89, 98].

Die Phosphatase PTEN (Phosphatase- und Tensin- Homolog) ist der Gegenspieler zu PI3K und verhindert durch Dephosphorylierung von PIP3 zu PIP2 die Aktivierung von Akt. Dieser Signalweg ist in einigen Tumoren aktiv und führt so zu einer verminderten Apoptose und vermehrten Proliferation. Diese Aktivierung resultiert häufig aus einer loss-of-function-Mutation von PTEN, sodass eine Aktivierung von Akt nicht mehr unterdrückt wird. Akt kann auch direkt mutiert sein und so seine Aktivität erlangen [98]. Akt wirkt auf einem anti-apoptotischen Weg [89].

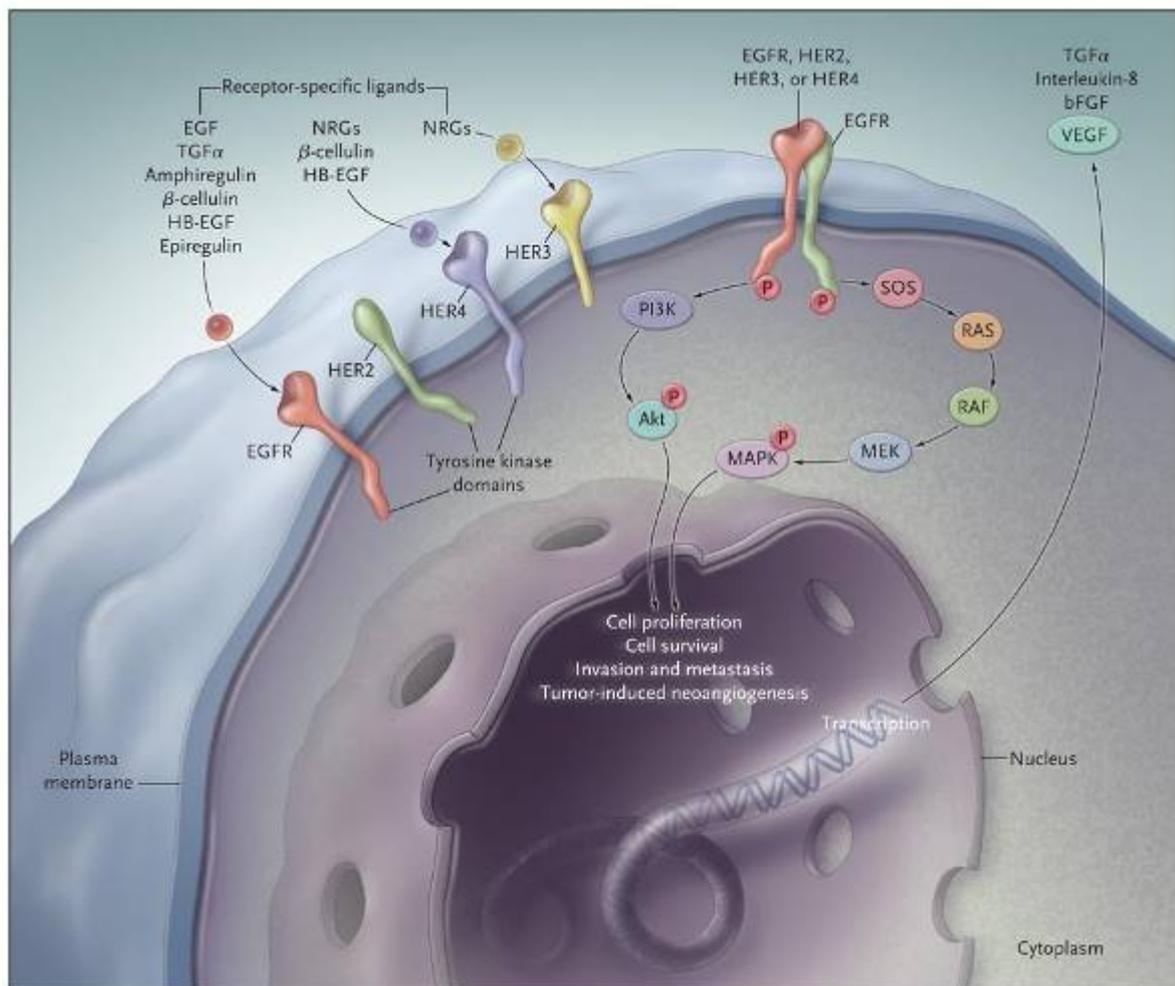


Abbildung 5: Ausschnitt der Signalkaskade des EGF-Rezeptors [110]

STATs (Signalwandler und Aktivatoren der Transkription) sind Transkriptionsfaktoren. Über mehrere vorgeschaltete Abläufe kommt es zunächst zu einer Bildung eines Dimers aus beiden STATs. Diese machen sich schließlich auf den Weg zum Zellkern und beeinflussen dort die Transkription von Genen, welche sowohl für die adaptive Immunantwort, die Zellproliferation als auch für andere physiologische Prozesse von Wichtigkeit sind [109, 110].

Eine erhöhte Aktivität von HER2/neu oder EGFR kann die STAT3-Aktivierung fördern und somit zur Tumorprogression und Onkogenese beitragen [98].

Der Src-Signalweg (von Sarcoma) spielt eine Rolle in der Regulierung unterschiedlicher Prozesse wie Zellproliferation und -migration; aber auch in der Angiogenese und Adhäsion sowie bei der Migration [98]. Src führt zur Aktivierung der fokalen Adhäsionskinase (FAK) sowie der STAT-Proteine und der PI3K. Des Weiteren dient Src einerseits der Signalverstärkung der EGFR-Aktivierung, andererseits ist es jedoch auch durch Assoziation mit anderen Rezeptoren an der Resistenz gegen EGFR-Therapien beteiligt [98].

Der EGF-Rezeptor spielt beim Plattenepithelkarzinom des Ösophagus eine potentiell wichtige Rolle. In über 50% der Fälle kommt es hier zu einer Überexpression des EGF-Rezeptors [111, 112]. Diese ist mit einer schlechten Prognose assoziiert [113, 114].

Der EGF-Rezeptor wird durch Liganden, wie z. B. EGF bei Bindung aktiviert und initiiert zahlreiche Signalwege. Die höhere Expression von EGFR korreliert mit dem Metastasierungsgrad und der Invasionstiefe vieler Tumore. In der Folge kommt es zu verschiedenen Reaktionen, die ausgelöst werden, u. a. Apoptose, Proteinsekretion, sowie zur Differenzierung als auch Dedifferenzierung [92, 100, 115-119].

Durch die Besetzung der Bindungsstelle am Rezeptor wird seine Aktivierung verhindert und die Signalkaskade nicht in Gang gesetzt. Cetuximab ist ein Beispiel für einen monoklonalen Antikörper, der an eine solche Bindungsstelle am EGF-Rezeptor binden kann. Er spielt bei der Behandlung des Kolonkarzinoms eine entscheidende Rolle [116, 120]. Der EGF-Rezeptor sowie seine nachgeschalteten Signalwege sind wichtige Ansatzpunkte für die zielgerichtete Therapie bei Karzinomen [115].

2.8.2 c-Met

Bei c-Met (c-mesenchymal-epithelialer Transitionsfaktor) handelt es sich um eine Transmembran-Tyrosinkinase, die vor allem in Epithelzellen exprimiert wird. Die Aktivierung erfolgt über den Liganden HGF/SF (Hepatozyten-Wachstumsfaktor) [84, 121]. Das hierfür codierende Gen ist ein Protoonkogen [122].

Aktivierte Signalwege durch c-Met sind die intrazellulären PI3K/Akt- und Ras/Raf/MAPK-Signalkaskaden [123]. C-Met ist an zahlreichen Signalkaskaden beteiligt, die einen wichtigen Ansatzpunkt in der Therapie eines Karzinoms darstellen. Unter anderem ist es in dem Signalweg für EGFR und VEGFR (vaskulärer epithelialer Wachstumsfaktorrezeptor) involviert [123].

Eine Dysregulation des Signalweges kann für die Tumorentstehung an einer Vielzahl von Krebsarten beteiligt sein [121, 124]. Eine Herunterregulierung von c-Met und seiner Liganden verringert deren malignes Potenzial [121].

Es spielt bei Erwachsenen bei der Wundheilung oder bei Organschäden eine Rolle; ebenso bei Zirrhose sowie Nieren- und Lungenfibrose [125]. In verletzten Geweben konnte eine erhöhte Expression von c-Met und seinem Liganden HGF beobachtet werden [121]. Durch die Aktivierung der Kinase kommt es zu einer Aktivierung nachgeschalteter Signalübertragungswege [125].

Onkogene, wie z. B. aktiviertes Ras, sind in der Lage eine c-Met Überexpression durch Transkriptionsmechanismen induzieren zu können [121].

HGF kann die Migration und Proliferation von Endothelzellen stimulieren. Es wird in mesenchymalen Zellen produziert und liegt zunächst in der inaktiven Form vor. Die inaktive Form ist an Heparinprotoglykane in der extrazellulären Matrix gebunden. Um HGF in die aktive Form zu überführen ist eine in der Leber gebildete Serinprotease als Aktivator notwendig [122, 126, 127].

Der c-Met Signalweg ist komplex und in unterschiedliche Kaskaden unterteilt, die untereinander interagieren [121].

2.8.3 CXCR4

Der Chemokinrezeptor 4 (CXCR4) ist der C-X-C-Chemokinrezeptorfamilie zugehörig, die in Assoziation zu mehreren Krebsarten steht [4, 128, 129]. Sein Ligand CXCL12 wird auch als Stromazell-abgeleiteter Faktor-1alpha (SDF-1 α) bezeichnet und wird in

Leber, Lunge und Knochenmark exprimiert [130, 131]. Der Rezeptor interagiert ausschließlich mit dem Liganden CXCL12. Diese Interaktion ist vor allem während der embryonalen Organogenese, Vaskularisation sowie der Hämatopoese essentiell [132].

Es konnte gezeigt werden, dass CXCR4 in vielen Tumoren erhöht exprimiert ist [28, 133]. Durch die Wechselwirkungen mit dem Liganden CXCL12 ist der Rezeptor an verschiedenen Vorgängen beteiligt. Hierzu gehören Entzündungen, Tumorwachstum und Tumormetastasierung [28, 134, 135]. Zudem spielt der Rezeptor auch eine wichtige Rolle in der Behandlungsresistenz von Tumorzellen [132, 133, 136]. Die Interaktion von CXCL12 mit CXCR4 kann das Überleben und die Invasion von Tumorzellen fördern sowie das Wiederauftreten und die Metastasierung erleichtern [132].

Normalerweise wird CXCR4 von B- und T-Zellen sowie von myeloiden Zellen exprimiert [137, 138]. Er wird mit dem Immun- und Nervensystem assoziiert [4].

In Studien konnte gezeigt werden, dass ein CXCR4-Antagonismus Tumorzellen für Chemotherapeutika sensibilisiert und somit sowohl das Tumorwachstum als auch die -metastasierung verringert. Dadurch stellt er einen therapeutischen Nutzen dar und könnte als Marker für die Progression des Tumors hilfreich sein [132].

2.8.4 HER2/neu

Der humane epidermale Wachstumsrezeptor-2 (HER2/neu) ist ein Protoonkogen und wird als HER2/neu oder c-erbB-2 bezeichnet [39, 139, 140]. Her2 ist eine Transmembranrezeptor-Tyrosinkinase und der Familie des epidermalen Wachstumsrezeptors zugehörig [141, 142]. Nach Ligandenbindung kommt es durch die Tyrosinkinaseaktivität zur intrazellulären Signalkaskade und schließlich zur Gentranskription. Dies ist für die Zelldifferenzierung, das Überleben sowie das Zellwachstum von Bedeutung [139, 141]. Eine Überexpression des Rezeptors kann zur Entstehung von Krebs führen [143].

Eine HER2/neu-Überexpression spielt unter anderem auch beim Mammakarzinom eine entscheidende Rolle [140, 141]. Tumoren, die eine solche Überexpression aufweisen sind im Vergleich zu denen, die diese nicht aufweisen, aggressiver [141].

Trastuzumab ist ein humanisierter Antikörper, der gegen HER2/neu gerichtet ist und für die Therapie von HER2/neu positivem Brustkrebs und dem HER2/neu positiven Magenkarzinom zugelassen ist [39, 144].

2.9 Zielgerichtete Therapien

Antikörper, die auf den EGFR-vermittelten Signalweg abzielen, werden zunehmend in der Behandlung von Kopf-/Halstumoren, fortgeschrittenen Lungentumoren sowie Kolonkarzinomen eingesetzt [145].

Die molekular zielgerichtete Therapie zeichnet sich durch eine hohe Spezifität aus. [107, 116, 146, 147]. Sie führt dazu, dass Signale, die malignen Zellen dazu verhelfen zu wachsen und sich unkontrolliert zu teilen, geblockt werden. Weiterhin kann durch Induktion der Apoptose der Zelltod hervorgerufen und u. a. auch das Immunsystem stimuliert werden [148].

Panitumumab gehört zusammen mit Cetuximab zu der Gruppe der EGF-Rezeptor-Inhibitoren [146]. Anti-EGFR-Antikörper (Cetuximab, Panitumumab) erkennen ausschließlich den EGF-Rezeptor und sind somit hoch selektiv [116]. Die spezifische Blockierung des Rezeptors hat zu einem verringerten Auftreten systemischer Nebenwirkungen geführt; sie wirken spezifischer auf Tumorzellen als Chemotherapeutika [145, 149].

Die Fähigkeit des epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors Epithelzellen zu transformieren, die die Überexpression von EGFR und seinen Liganden fördern, wurde mit einer beschleunigten Tumorprogression assoziiert. Aus diesem Grund wurde EGFR als Ziel für eine selektive Tumorthherapie eingesetzt [147].

2.9.1 Panitumumab

Bei Panitumumab handelt es sich um einen vollständig humanisierten monoklonalen IgG2 Antikörper, der auch unter dem Handelsnamen Vectibix bekannt ist. Er bindet an die externe Domäne von EGFR mit hoher Affinität [104, 116, 150-152]. Cetuximab hingegen ist ein chimärer monoklonaler Antikörper [153].

Die Affinität von Panitumumab ist achtmal höher als die von Cetuximab; er konkurriert mit den physiologischen EGFR-Liganden um die Bindungsstelle [154].

Durch Bindung von Panitumumab wird die nachgeschaltete Signalübertragung durch Herunterregulierung der EGFR-Expression gehemmt. Es kommt folglich zur Rezeptorinternalisierung und Verhinderung der EGFR-Tyrosin-Autophosphorylierung [151, 154-156]. Dies führt zu einem verringerten Zellwachstum, sowie verringerter Metastasierungsrate und Angiogenese der Tumorzelle [157]. Die am häufigsten auftretenden Nebenwirkungen sind, bedingt durch die EGFR-Blockade u. a. Hauterscheinungen sowie Probleme im Magen-Darm-Trakt und an den Augen [158]. Dennoch sind die Überempfindlichkeitsreaktionen geringer als im Vergleich zu Cetuximab [159].

Panitumumab und Cetuximab binden trotz gleichem Angriffspunkt an zwei unterschiedlichen Bindungsstellen des EGFR. Dies könnte auf eine Wirksamkeit von Panitumumab nach Versagen einer Cetuximabtherapie hinweisen [160, 161].

Aktuell finden anti-EGFR Antikörper wie Panitumumab ihren Einsatz in der Therapie des metastasierten Kolonkarzinoms mit RAS wild-typ [149, 150]. Hier ist der Wirkstoff in Kombination mit Chemotherapie sowie als Monotherapie bei chemorefraktären Patienten zugelassen. Unter Therapie kann es zu einer hautbedingten Toxizität, einer akneähnlichen Hautveränderung (Psoriasis) kommen. Die Lebensqualität und die Compliance können dadurch vermindert werden [150, 162]. Der Hautausschlag deutet jedoch auch auf ein Therapieansprechen hin [163].

Da EGFR an der Physiologie der Epidermis beteiligt ist, sind Hautreaktionen, die nach einer anti-EGFR-Therapie auftreten nicht ungewöhnlich. Triggerfaktoren die das Auftreten begünstigen sind übermäßige Sonneneinstrahlung, unzureichende Hautfeuchtigkeit oder gleichzeitige Strahlentherapie [149].

Panitumumab wurde in mehreren klinischen randomisierten Studien untersucht [164].

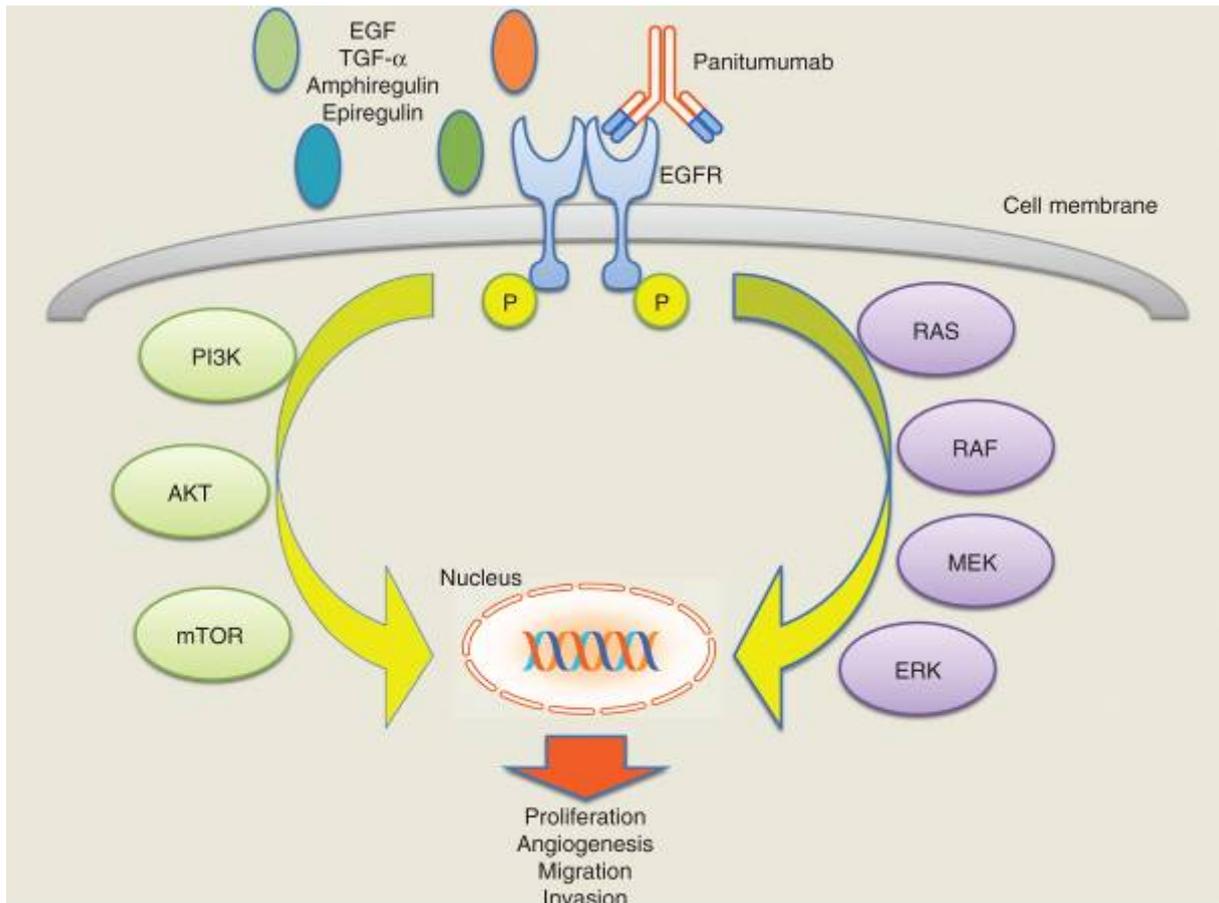


Abbildung 6: EGFR-Signalkaskade durch Blockade von Panitumumab nach Stremtizer et al. [155]

2.10 Die POWER-Studie

Bei der POWER-Studie handelt es sich um eine offene, randomisierte, multizentrische, internationale Phase III-Studie. In die Studie eingeschlossen wurden Patienten mit einem diagnostizierten, jedoch nicht resektablen, fortgeschrittenen oder metastasierten Plattenepithelkarzinom des Ösophagus. Klinisch untersucht werden sollte die Zugabe der Chemotherapeutika Cisplatin und 5-FU mit oder ohne Panitumumab. Initial sollten 300 Patienten eingeschlossen werden, die in einem Verhältnis 1:1 randomisiert wurden. Die Studienpopulation wurde in zwei Behandlungsarme aufgeteilt und erhielt gemäß Behandlungsschema die jeweilige Therapie.

Die Behandlung erfolgte bis zur Tumorprogression oder solange, bis ein anderer Grund für einen Behandlungsabbruch vorlag, wie z. B. mangelnde Compliance der Patienten.

Das Tumormaterial stammte von Patienten die im Zeitraum von 2012 bis 2015 in insgesamt 19 Zentren (Mainz, Frankfurt, Uni Hamburg-Eppendorf, Onkologische Schwerpunktpraxis Hamburg-Eppendorf, Mannheim, Schweinfurt, Leer, Bochum, Uni Dresden, Berlin, Essen, Hannover, Flensburg, St. Franziskus, Ulm, Chaerleroi, Innsbruck, Barcelona, Zaragoza und Israel) behandelt wurden. Erste Ergebnisse der klinischen Studie wurden 2019 veröffentlicht (Publikation).

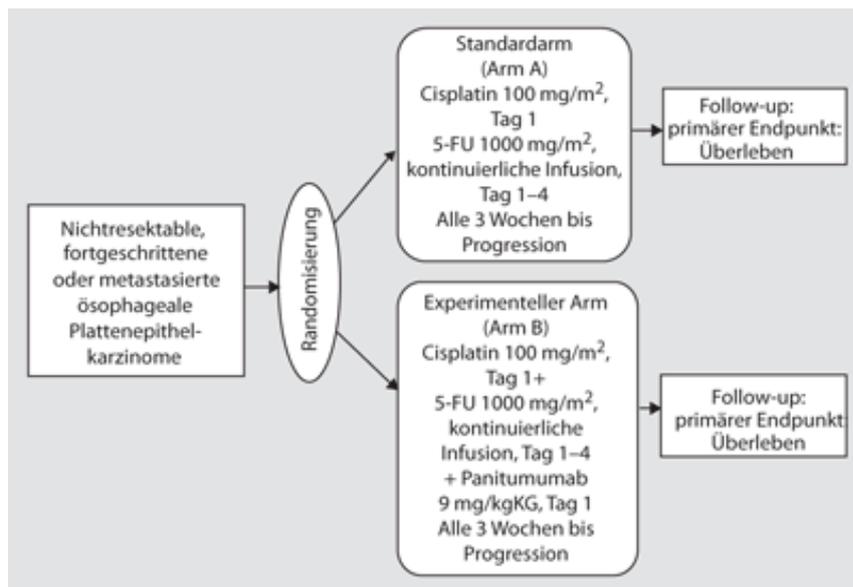


Abbildung 7: Studiendesign der POWER-Studie nach Kiesslich et al. [31]

3 Material und Methoden

3.1 Material

Von 83 Patienten mit einem diagnostizierten Plattenepithelkarzinom des Ösophagus wurde Tumormaterial untersucht, bei dem es sich um Biopsien handelte. Diese wurden bei Erstdiagnose oder während einer früheren Intervention entnommen.

Das Material lag als FFPE (Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes Gewebe) in Tumorblöcken vor und wurde im Labor der AG Möhler in der Universitätsmedizin Mainz aufbereitet. Alle Patienten wurden vor Eintritt in die POWER-Studie über ihre Teilnahme aufgeklärt.

3.2 Methoden

Es erfolgte die Auf- und Vorbereitung des Tumormaterials für den immunhistochemischen Färbeprozess. Im Anschluss wurde die Expression von EGFR, c-Met, CXCR4 und HER2/neu mittels Lichtmikroskopie untersucht.

3.2.1 Immunhistochemische Färbung

Die Immunhistochemie (IHC) beinhaltet drei Disziplinen; die Immunologie, die Histologie und die Chemie. Das Ziel ist es, Antigene mittels spezifischer Antikörper in Gewebeschnitten nachzuweisen. Kommt es zu einer Antigen-Antikörper-Bindung, entsteht eine histochemische Reaktion, die als Braunfärbung im Präparat erkennbar ist.

Die Immunhistochemie findet ihre Anwendung vor allem in der Tumordiagnostik. Der Antikörper ist mit einem Detektionssystem gekoppelt, sodass seine Existenz im Präparat durch eine Färbereaktion sichtbar gemacht werden kann.

Im Wesentlichen werden zwei Färbemethoden unterschieden, die als direkte und indirekte Methode bezeichnet werden.

Bei der direkten und zugleich ältesten Methode reagiert das zu untersuchende Antigen mit einem hierfür spezifischen Antikörper. Der Antikörper ist unmittelbar mit einem Enzym verbunden, welches als Katalysator der Antigen-Antikörper-Reaktion

(Farbreaktion) dient. Zu Beginn bindet der Antikörper an das hierfür komplementäre Antigen, wodurch dem Enzym in einem weiteren Reaktionsschritt ein Substrat angeboten wird; Enzym und Substrat reagieren unter Bildung eines Farbstoffes miteinander. Der Farbstoff ist nun makroskopisch als auch mikroskopisch sichtbar und kennzeichnet den Ort, an dem die Immunhistochemische Reaktion stattgefunden hat.

Als Gleichung formuliert entsteht folgendes:

Antigen + Primärantikörper (gekoppeltes Enzym) + Substrat = Färbung

Der Vorteil dieser Methode ist, dass nur ein Antikörper genutzt werden muss. Die Durchführung wird dadurch wesentlich beschleunigt. Jedoch kommt es wegen Nutzung des einen Antikörpers zu einer geringen bzw. keinen Signalverstärkung. Heutzutage findet diese Methode keine Anwendung mehr, da sie nicht ausreichend sensitiv ist.

Im Gegensatz dazu wird heutzutage die indirekte beziehungsweise Zwei-Schritt-Methode angewandt. Ein unmarkierter spezifischer Antikörper (Primärantikörper) wird auf das zu untersuchende Gewebe gegeben. Anschließend wird ein zweiter Antikörper (Sekundärantikörper) aufgetragen, der sich nun gegen den ersten richtet und das eigentliche Antigen darstellt. Der Sekundärantikörper ist mit einem Enzym gekoppelt, welches durch die Enzym-Substrat-Reaktion die Farbentstehung auslöst. Es kommt zu einer Signalverstärkung, die deutlich sichtbar ist. Diese Vorgehensweise ist flexibler und sensitiver als die direkte Methode [165-168].

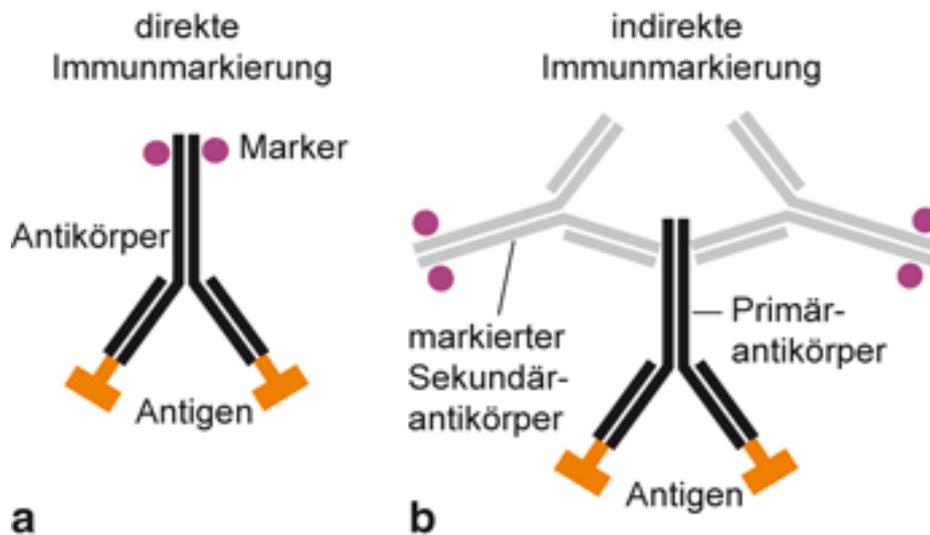


Abbildung 8: Direkte und indirekte immunhistochemische Methode nach Mulisch et al. [169]

3.2.2 Probenaufbereitung

Das in Paraffineingebettete Tumormaterial der teilnehmenden Patienten wurde in der AG Möhler nach deren Einverständnis gesammelt und zur Untersuchung zur Verfügung gestellt.

Zur eigenen Sicherheit wurden die Arbeiten mit Alkohol und weitere flüchtige Stoffe, die für die Färbung notwendig waren unter dem Abzug durchgeführt.

Die Gewebeproben wurden für die vorliegende Arbeit mit der indirekten Methode gefärbt. Die Verarbeitung erfolgte in folgender Reihenfolge:

Schnittanfertigung: Vom fertiggestellten Paraffinblock wurden mithilfe des Mikrotoms 2-4 μm dünne Schnitte angefertigt. Diese wurden anschließend in ein warmes Wasserbad gegeben und auf beschriftete Superfrost-Objektträger aufgezogen. Die Paraffinschnitte wurden letztlich im Wärmeschrank bei 37°C getrocknet.

Als nächstes wurden die Objektträger zunächst in einen Brutschrank mit einer Temperatur von 60°C gestellt, damit sich das darauf befindliche Paraffin löst.

Vor der eigentlichen immunhistochemischen Färbung wurden die Präparate in Xylol für dreimal 5 Minuten entparaffiniert. Im Anschluss erfolgte die Rehydrierung mit Abnahme der Alkoholkonzentration in folgender Reihenfolge:

1. 2 x Ethanol 100% für 5 Minuten
2. 2 x Ethanol 96% für 5 Minuten
3. 1 x Ethanol 70% für 5 Minuten
4. 1 x Ethanol 50% für 5 Minuten
5. 1 x Aqua destilliert für 5 Minuten

Letztlich wurden die Präparate für zweimal 5 Minuten mit destilliertem Wasser gewaschen. Der ganze Vorgang wurde unter dem Abzug durchgeführt, um das Einatmen der Alkoholdämpfe zu unterbinden. Die Rehydrierung ist für die Antikörperbindung essentiell. Da Antikörper ebenfalls einer wässrigen Verbindung gleichen, können diese somit besser auf den Präparaten binden und zu einer Farbreaktion führen, welche als braune Färbung sichtbar wird.

Als nächster Schritt folgte die Antigenmaskierung. Hierbei werden die Präparate im Wasserbad (Dampfgerar) inkubiert und für 35 Minuten in einem Citratpuffer mit pH 6 bei 100 °C gekocht.

Nun wurden die Präparate für 10 Minuten unter laufendem Leitungswasser abgekühlt und schließlich für weitere 5 Minuten in den Waschpuffer (Flex Wash Buffer) gegeben.

Die Antikörper wurden schließlich mit Envision Flex Antibody Diluent in verschiedenen Verdünnungen angefertigt.

| | |
|----------|---|
| c-Met | 1:50 (Clone polyclonal, Zytomed, Berlin, Deutschland) |
| EGFR | 1:50 (Clone E30, DAKO, Glostrup, Dänemark) |
| CXCR4 | 1:100 (Clone UMB2, abcam, Cambridge, England) |
| HER2/neu | 1:200 (Clone SP3, Zytomed, Berlin, Deutschland) |

Die eigentliche Färbung wurde mit dem DAKO Autostainer durchgeführt. Die hinzugegebenen Antikörper wurden sorgfältig und unter definitiver positiver Kontrollfärbung validiert.

Es wurden folgende Materialien (Chemikalien) in angegebener Menge im Gerät vorbereitet:

1. Flex-Block (5,2 ml)
2. Flex Rb (5,2 ml)

3. FlexEnV (5,2 ml)
4. FlexDAB (10,2 ml) zuzüglich Chromogen pro
5. Hämatoxylin (7,7 ml) 3+9
(3 Teile Hämatoxylin ; 9 Teile Aqua Desk)
6. Antikörper (5,2 ml), in entsprechenden Verdünnungen in Antibody Diluent

Für die Färbedurchläufe wurde das Programm Master HR verwendet. Im Autostainer erfolgten nach jedem Schritt ein oder mehrere Spülvorgänge mit Flex Wash Buffer.

Zu Beginn wurde Flex PeroxidaseBlocking Reagent für 5 Minuten aufgetragen, um mögliche interne Peroxidasen im Gewebe zu blockieren. Anschließend erfolgte die Bindung des Erstantikörpers am Antigen. Hierfür wurde der jeweilige verdünnte Antikörper für 20 Minuten auf die Objektträger gegeben.

Für die Signalverstärkung der Färbung wurde Flex Mouse/Rabbit hinzugegeben und verblieb für 15 Minuten auf den Objektträgern. Im zweiten Schritt wird für die Detektion HRP gekoppelt über Flex Envision HRP („horseradish peroxidase detection system“, Meerrettich-Peroxidase Detektionssystem). Dies verblieb für 20 Minuten auf den Objektträgern. Als vorletzter Schritt wurden 2 ml Flex DAB-Lösung für 5 Minuten hinzugegeben und schließlich für weitere 3 Minuten Hämalaun für die Gegenfärbung.

Nach dem Färbeprozess wurden die Objektträger entnommen und unter fließendes Wasser zum Bläuen gestellt. Die Alkoholreihe wurde nun in entgegengesetzter Reihenfolge, wie zu Beginn, durchlaufen. Dieser Schritt wird als Dehydrierung bezeichnet.

1. 1 x Ethanol 50% für 5 Minuten
2. 1 x Ethanol 70% für 5 Minuten
3. 2 x Ethanol 96% für 5 Minuten
4. 2 x Ethanol 100 % für 5 Minuten
5. 3 x Xylol für 5 Minuten

Zum Abschluss erfolgt schließlich die Eindeckelung mit Entellan und einem Deckglas unter dem Abzug; sowie die Aufbewahrung über Nacht, sodass das restliche Xylol entweichen konnte.

3.3 Histologische Analyse

Die histologische Auswertung erfolgte durch zwei voneinander unabhängige und verblindete Untersucher, unter einem Lichtmikroskop.

Die Bewertungskriterien wurden gemeinsam mit einem Pathologen für folgende 4 Kategorien festgelegt: negativ (0%), schwach (10-30%), moderat (31-70%) und stark (>70%). Beurteilt wurde die Intensität der Braunfärbung im Präparat. Bei allen Färbungen galt ein Präparat als positiv, wenn eine Membranfärbung zu beobachten war. Je nach Farbtintensität wurde das Präparat einer der drei oben genannten Kategorien zugeordnet. War keine Membranfärbung zu erkennen, so wurde die Zuordnung negativ gewählt. Präparate, auf denen kein Tumormaterial zu finden war oder zu wenig Gewebematerial für eine aussagekräftige Bewertung vorlag, wurden in die Kategorie „keine Wertung“ eingeteilt.

Die Färbungen für c-Met und CXCR4 überwogen im negativen Anteil, sodass Präparate mit einer schwachen positiven Braunfärbung bereits als positiv gewertet wurden. D. h. die schwach, moderat und stark gefärbten Präparate wurden als positiv gewertet und den negativen gegenübergestellt. Für EGFR und c-Met wurden 83 Präparate, für CXCR4 80 Präparate analysiert.

3.4 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software Statistical Package for the Social Sciences (IBM SPSS Statistics 23).

Die Auswertungen wurden vom Institut für medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik (IMBEI) der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz unterstützt.

Das Kollektiv als auch das Subkollektiv wurde deskriptiv beschrieben und mittels Excel-Tabelle dargestellt.

Für die statistische Analyse wurden die Färbeergebnisse in zwei Gruppen geteilt. Für die EGFR-Färbung wurden hierzu negativ und schwach gefärbte (Negativ-Gruppe) sowie moderat und stark gefärbte (Positiv-Gruppe) Präparate zusammengefasst und gegenübergestellt. Bei den Färbungen von CXCR4 und c-Met wurde aufgrund der unter Kapitel 3.3 beschriebenen mäßigen Anfärbung, die negativen mit den positiv gefärbten verglichen.

Der Fisher's Exact Test und die Vierfeldertafel wurden für die Berechnung der Korrelation zwischen der Biomarker Expressionshäufigkeit beider Behandlungsarme sowie für die Untersuchungen der TNM-Stadien und der Co-Expression verwendet. Sie dienten der Darstellung der Beziehungen zwischen EGFR, c-Met und CXCR4 mit den klinisch-pathologischen Parametern. Die statistische Auswertung für das Gesamtüberleben wurde mit dem Log Rank Test untersucht.

Mittels Kaplan-Meier-Kurve und der zeitunabhängigen Cox-Regression erfolgte die Darstellung der Überlebenszeitanalysen in beiden Behandlungsarmen.

Mit der Kaplan-Meier Kurve lassen sich Gesamtüberleben sowie das Progressionsfreie Überleben darstellen. Ab Diagnosezeitpunkt wird bis zum Eintreffen eines Ereignisses (Tod oder Ende des Beobachtungszeitraumes) die Zeit in Tagen dokumentiert. Zu einer Rechtszensierung kommt es, wenn Patienten nicht mehr unter Beobachtung stehen.

P-Werte von $<0,05$ wurden als statistisch signifikant gewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Allgemeine statistische Analysen des Patientenkollektivs und Bedeutung der klinisch-pathologischen Parameter

Die Probanden (n=146) wurden in der POWER-Studie wie in Kapitel 2.10 beschrieben in zwei Behandlungsarme aufgeteilt. Diese erhielten entweder 5-FU und Cisplatin (Behandlungsarm A, active comp. mit n=73) oder 5-FU, Cisplatin und Panitumumab (Behandlungsarm B, experimental mit n=73). Abbildung 9 zeigt das mittlere Überleben beider Behandlungsarme. Dabei konnte für das Gesamtkollektiv ein medianes Überleben von 292 Tagen beobachtet werden. Das mediane Progressionsfreie Überleben lag bei 172 Tagen. Patienten in Behandlungsarm B zeigten gegenüber Behandlungsarm A kein erhöhtes Gesamtüberleben [169].

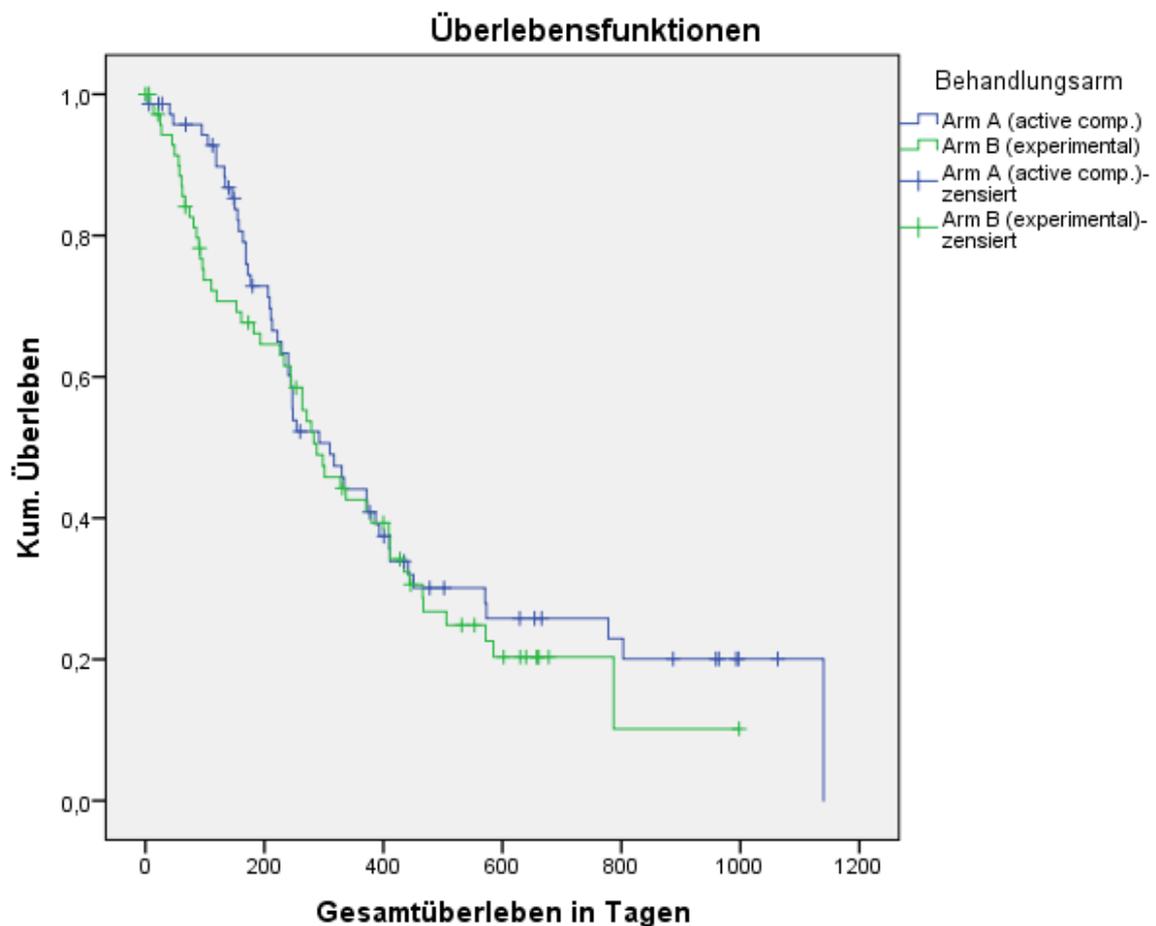


Abbildung 9: Kaplan-Meier-Kurve. Darstellung des Gesamtüberlebens beider Behandlungsarme im Vergleich (active comp. = Standardarm, experimental = experimenteller Arm).

Tabelle 3: Gesamtkollektiv der POWER-Studie

| | | Alle | | Arm A | | Arm B | |
|-------------------|---------------|---------|------|---------|------|---------|------|
| | | #146 | % | #73 | % | #73 | % |
| Alter | | 61 | | 59,58 | | 62,4 | |
| | | (30-82) | | (30-78) | | (49-82) | |
| Geschlecht | | | | | | | |
| | m | 117 | 80,1 | 58 | 79,5 | 59 | 80,8 |
| | w | 29 | 19,9 | 15 | 20,5 | 14 | 19,2 |
| Grading | | | | | | | |
| | GX | 16 | 11 | 7 | 9,6 | 9 | 12,3 |
| | G1 | 6 | 4,1 | 1 | 1,4 | 5 | 6,8 |
| | G2 | 64 | 43,8 | 33 | 45,2 | 31 | 42,5 |
| | G3 | 56 | 38,4 | 30 | 41,1 | 26 | 35,6 |
| | na | 4 | 2,7 | 2 | 2,7 | 2 | 2,7 |
| T Stadium | | | | | | | |
| | TX | 29 | 19,9 | 15 | 20,5 | 14 | 19,2 |
| | T0 | 2 | 1,4 | 1 | 1,4 | 1 | 1,4 |
| | T1 | 6 | 4,1 | 3 | 4,1 | 3 | 4,1 |
| | T2 | 12 | 8,2 | 7 | 9,6 | 5 | 6,8 |
| | T3 | 62 | 42,5 | 31 | 42,5 | 31 | 42,5 |
| | T4a | 22 | 15,1 | 10 | 13,7 | 12 | 16,4 |
| | T4b | 11 | 7,5 | 6 | 8,2 | 5 | 6,8 |
| | na | 2 | 1,4 | 0 | 0 | 2 | 2,7 |
| N Stadium | | | | | | | |
| | N0 | 11 | 7,5 | 5 | 6,8 | 6 | 8,2 |
| | N1 | 49 | 33,6 | 25 | 34,2 | 24 | 32,9 |
| | N2 | 27 | 18,5 | 12 | 16,4 | 15 | 20,5 |
| | N3 | 19 | 13 | 9 | 12,3 | 10 | 13,7 |
| | NX | 38 | 26 | 22 | 30,1 | 16 | 21,9 |
| | na | 2 | 1,4 | 0 | 0 | 2 | 2,7 |
| M Stadium | | | | | | | |
| | M0 | 42 | 28,8 | 24 | 32,9 | 18 | 24,7 |
| | M1 | 102 | 69,9 | 49 | 67,1 | 53 | 72,6 |
| | na | 2 | 1,4 | 0 | 0 | 2 | 2,7 |
| Response | | | | | | | |
| | SD | 35 | 24 | 21 | 28,8 | 14 | 19,2 |
| | PD | 23 | 15,8 | 13 | 17,8 | 10 | 13,7 |
| | PR | 53 | 36,6 | 27 | 37 | 26 | 35,6 |
| | CR | 1 | 0,7 | 0 | 0 | 1 | 1,4 |
| | NON-CR/NON-PD | 6 | 4,1 | 2 | 2,7 | 4 | 5,5 |
| | NE | | | | | | |
| | na | 28 | 19,2 | 10 | 13,7 | 18 | 24,7 |
| OS | | | | | | | |
| | (0-1140) | #145 | | #73 | | #73 | |
| | median | 292 | | 310 | | 288 | |
| | MW | 433 | | 463,5 | | 375 | |
| PFS | | | | | | | |
| | (4-848) | #136 | | #68 | | #68 | |
| | median | 172 | | 177 | | 161 | |
| | MW | 216 | | 232 | | 199 | |

Das Alter aller Patienten des Gesamtkollektivs reichte vom 30. bis zum 82. Lebensjahr bei Erstdiagnose. Das durchschnittliche Alter lag bei 61 Lebensjahren. Es nahmen 117 männliche und 29 weibliche Patienten an der Studie teil.

Beim Großteil der Patienten war das Ösophaguskarzinom mäßig (G2) und schlecht (G3) differenziert. Auch handelte es sich vermehrt um fortgeschrittene Tumore, die bereits die Adventitia infiltrierten (T3) und Metastasen in 1-2 regionären

Lymphknoten (N1) aufwiesen. 102 der 146 Patienten wiesen zudem Fernmetastasen (M1) auf, bei 42 Patienten handelte es sich um einen M0-Befund (keine Fernmetastasen).

Betrachtet man das Therapieansprechen, so zeigte die Mehrheit (37%, 53 Patienten) ein teilweises Ansprechen (PR), d. h. mindestens 50% der Tumormasse zeigten sich zurückgebildet. Wohingegen die zweitgrößte Anzahl (24%, 35 Patienten) eine stabile Erkrankung (SD) aufwiesen, d. h. weder eine Zu- noch Abnahme der Tumorgröße beobachtet werden konnte. Das mediane Gesamtüberleben betrug 292 Tage, wohingegen das mediane progressionsfreie Überleben mit 172 Tagen beschrieben wurde.

Die Aufteilung in die jeweiligen Behandlungsarme A (Cisplatin + 5-FU) und B (Cisplatin + 5-FU + Panitumumab) erfolgte randomisiert zu gleichen Anteilen mit jeweils 73 Patienten.

4.2 Untersuchtes Subkollektiv

Tabelle 4 zeigt eine Übersicht über das immunhistochemisch untersuchte Subkollektiv (n= 83). Die Aufteilung erfolgte im Behandlungsarm A mit n=43 und im Behandlungsarm B mit n=40. Das Subkollektiv unterscheidet sich nicht wesentlich vom Gesamtkollektiv der Studie.

Tabelle 4: Übersicht des Subkollektivs

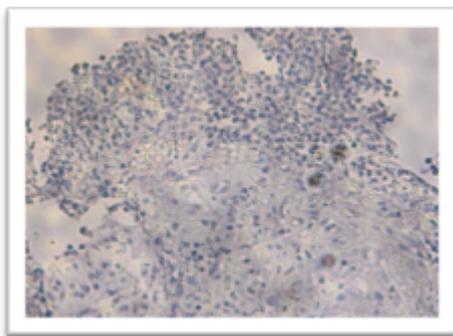
| | | IHC | | Arm A | | Arm B | |
|-------------------|--------------------------|------------------|------|------------------|------|-----------------|------|
| | | #83 | % | #43 | % | #40 | % |
| Alter | | 61,31 (30-82) | | 60,21 (30-78) | | 62,5 (50-82) | |
| Geschlecht | | | | | | | |
| | m | 67 | 80,7 | 34 | 79,1 | 33 | 82,5 |
| | w | 16 | 19,3 | 9 | 20,9 | 7 | 17,5 |
| Grading | | | | | | | |
| | GX | 6 | 7,2 | 2 | 4,7 | 4 | 10 |
| | G1 | 4 | 4,8 | 0 | 0 | 4 | 10 |
| | G2 | 35 | 42,2 | 20 | 46,5 | 15 | 37,5 |
| | G3 | 37 | 44,6 | 20 | 46,5 | 17 | 42,5 |
| | na | 1 | 1,2 | 1 | 2,3 | 0 | 0 |
| T Stadium | | | | | | | |
| | TX | 10 | 12 | 6 | 14 | 4 | 10 |
| | T0 | 1 | 1,2 | 1 | 2,3 | 0 | 0 |
| | T1 | 5 | 6 | 2 | 4,7 | 3 | 7,5 |
| | T2 | 7 | 8,4 | 3 | 7 | 4 | 10 |
| | T3 | 46 | 55,4 | 23 | 53,5 | 23 | 57,5 |
| | T4a | 9 | 10,8 | 4 | 9,3 | 5 | 12,5 |
| | T4b | 5 | 6 | 4 | 9,3 | 1 | 2,5 |
| | na | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| N Stadium | | | | | | | |
| | N0 | 9 | 10,8 | 4 | 9,3 | 5 | 12,5 |
| | N1 | 28 | 33,7 | 13 | 30,2 | 15 | 37,5 |
| | N2 | 18 | 21,7 | 8 | 18,6 | 10 | 25 |
| | N3 | 8 | 9,6 | 7 | 16,3 | 1 | 2,5 |
| | NX | 20 | 24,1 | 11 | 25,6 | 9 | 22,5 |
| | na | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M Stadium | | | | | | | |
| | M0 | 26 | 31,3 | 17 | 39,5 | 9 | 22,5 |
| | M1 | 57 | 68,7 | 26 | 60,5 | 31 | 77,5 |
| | na | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Response | | | | | | | |
| | PD | 16 | 19,3 | 9 | 20,9 | 7 | 17,5 |
| | SD | 18 | 21,7 | 12 | 27,9 | 6 | 15 |
| | PR | 29 | 34,9 | 17 | 39,5 | 12 | 30 |
| | CR | 1 | 1,2 | 0 | 0 | 1 | 2,5 |
| | missing or not evaluated | 19 | 22,9 | 5 | 11,6 | 14 | 35 |
| OS (Tage) | | | | | | | |
| | (5-1063) | #82 | | #42 | | #40 | |
| | median | 373 | | 373 | | 371 | |
| | MW | 494 | | 532,8 | | 426,7 | |
| PFS (Tage) | | | | | | | |
| | (14-848) | #78 | | #40 | | #38 | |
| | median | 188 | | 203 | | 110 | |
| | MW | 227,78 | | 257,4 | | 193,9 | |

4.3 Immunhistochemische Färbeergebnisse

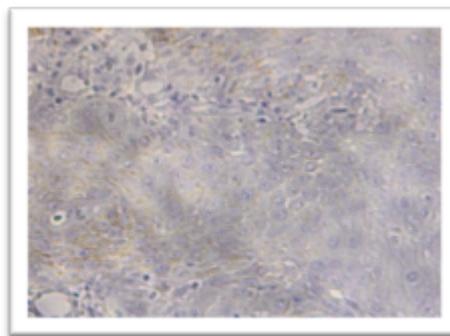
Die Analyse der Immunhistochemisch gefärbten Präparate erfolgte wie in Kapitel 3.3 beschrieben von n=83 Patienten.

4.3.1 EGFR

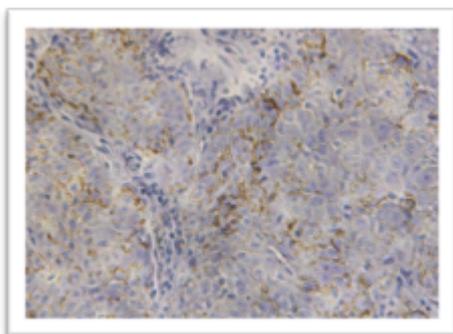
Abbildungen A-D zeigen die Immunhistochemische Färbung (IHC) für den EGF-Rezeptor.



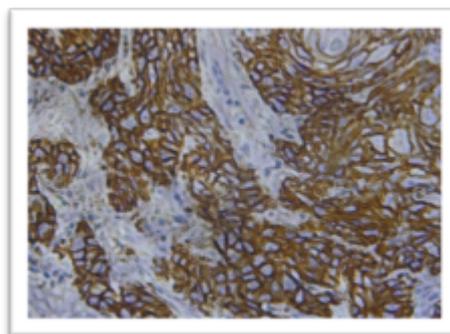
A. negativ



B. schwach



C. moderat



D. stark

Abbildung 10: EGFR-Färbung (negativ bis stark), 400x Vergrößerung

Insgesamt zeigten 59 der untersuchten Schnitte (71,7%) eine positive EGFR-Membranfärbung. 21 Präparate (25,3%) waren negativ und 3 Präparate (3,6%) konnten nicht gewertet werden.

Im Behandlungsarm A konnten 29 Probanden (67,5%) mit positiver Färbung vs. 13 Probanden (30,2%) mit ausbleibender Färbung beobachtet werden.

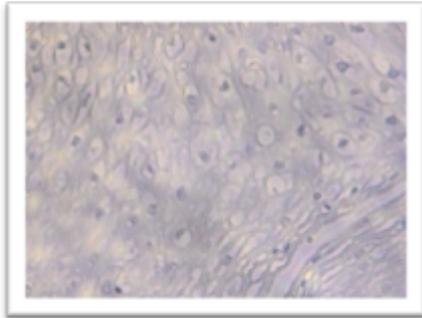
Gegenüber standen im Behandlungsarm B 30 Tumorpräparate (75%) mit positiver Färbung vs. 8 (20%) mit fehlender Färbung. Tabelle 5 zeigt das Färbergebnis des EGF-Rezeptors.

Tabelle 5: Anzahl und prozentuale Verteilung der Färbung des EGF-Rezeptors

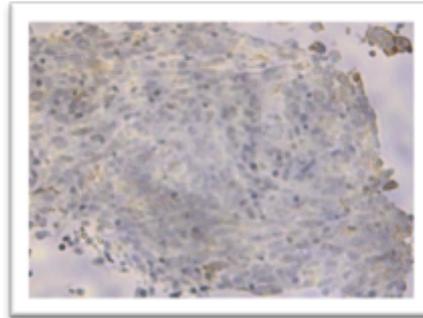
| Färbeergebnis | Arm A (n=43) | Arm B (n=43) | Insgesamt (n=83) |
|----------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|
| | Anzahl (%) | Anzahl (%) | Anzahl (%) |
| Keine Wertung | 1 (2,3%) | 2 (5,0%) | 3 (3,6%) |
| Negativ | 8 (18,6%) | 4 (10,0%) | 12 (14,5%) |
| Schwach | 5 (11,6%) | 4 (10,0%) | 9 (10,8%) |
| Moderat | 7 (16,3%) | 11 (27,5%) | 18 (21,7%) |
| Stark | 22 (51,2%) | 19 (47,5%) | 41 (49,4%) |

4.3.2 CXCR4

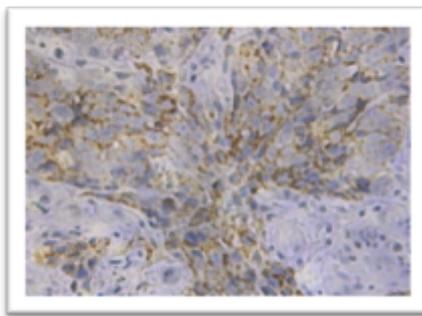
Abbildungen A-D zeigen die Ergebnisse der IHC-Färbung für CXCR4.



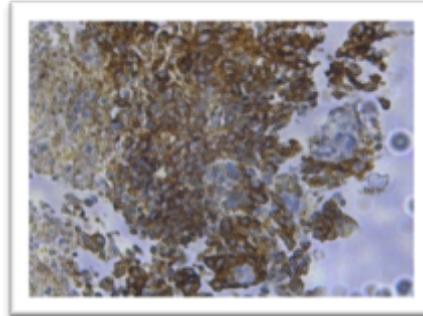
A. negativ



B. schwach



B. moderat



D. stark

Abbildung 11: CXCR4-Färbung (negativ bis stark), 400x Vergrößerung

Insgesamt zeigten 52 der untersuchten Schnitte (62,7%) eine positive CXCR4-Membranfärbung. 26 Präparate (31,3%) waren negativ und 5 (6%) konnten nicht gewertet werden.

Im Behandlungsarm A konnten 28 Tumorpräparate (65,1%) mit positiver Färbung vs. 12 (27,9%) mit fehlender Färbung beobachtet werden.

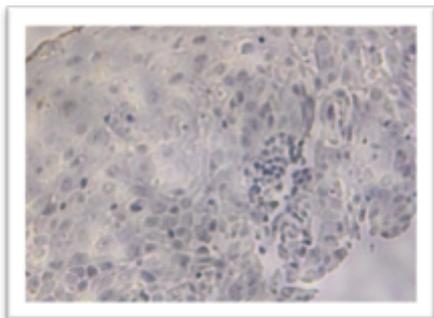
Gegenüber standen im Behandlungsarm B 24 Probanden (60%) mit positiver Färbung vs. 14 Probanden (35%) ohne Färbung. Tabelle 6 zeigt das Färberegebnis für CXCR4.

Tabelle 6: Anzahl und prozentuale Verteilung der CXCR4-Färbungen

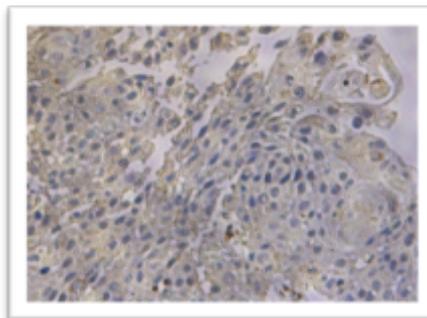
| Färbeergebnis | Arm A (n=43) | Arm B (n=40) | Insgesamt (n=83) |
|---------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | Anzahl (%) | Anzahl (%) | Anzahl (%) |
| Keine Wertung | 3 (7,0%) | 2 (5,0%) | 5 (6,0%) |
| Negativ | 12 (27,9%) | 14 (35,0%) | 26 (31,3%) |
| Schwach | 21 (48,8%) | 14 (35,0%) | 35 (42,2%) |
| Moderat | 5 (11,6%) | 6 (15,0%) | 11 (13,3%) |
| Stark | 2 (4,7%) | 4 (10,0%) | 6 (7,2%) |

4.3.3 c-Met

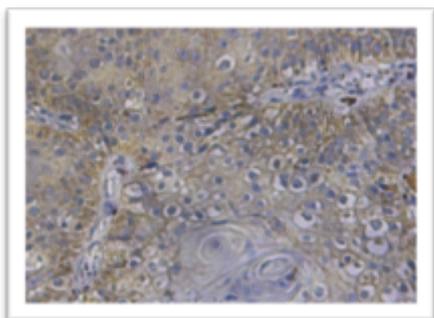
Abbildungen A-D zeigen die Ergebnisse der IHC-Färbung für c-Met.



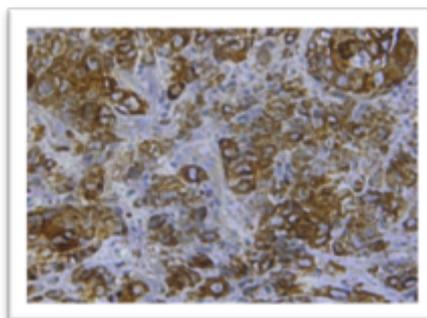
A. negativ



B. schwach



C. moderat



D. stark

Abbildung 12: c-Met Färbung (negativ bis stark), 400x Vergrößerung

Insgesamt zeigten 45 der untersuchten Schnitte (54,2%) eine positive c-Met-Membranfärbung. 36 Präparate (43,4%) waren negativ und 2 (2,4%) konnten nicht gewertet werden.

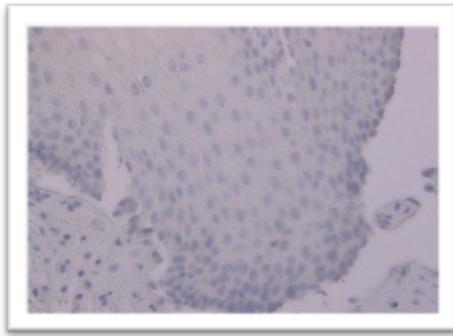
Im Behandlungsarm A konnten 25 Probanden (58,2%) mit positiver Färbung vs. 17 Probanden (39,5%) ohne Färbung im Tumor beobachtet werden.

Gegenüber standen im Behandlungsarm B 20 Präparate (50%) mit positiver Färbung vs. 19 (47,5%) mit fehlender Färbung. Tabelle 7 zeigt eine Übersicht der Färbungen für c-Met.

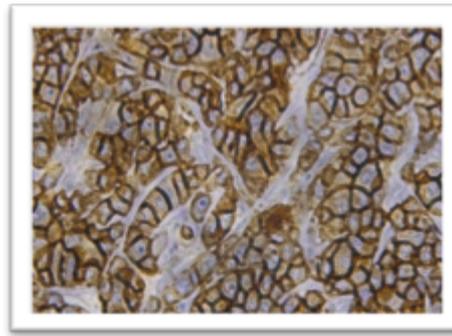
Tabelle 7: Anzahl und prozentuale Verteilung der c-Met-Färbungen

| Färbeergebnis | Arm A (n=43) | Arm B (n=40) | Insgesamt (n=83) |
|----------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|
| | Anzahl (%) | Anzahl (%) | Anzahl (%) |
| Keine Wertung | 1 (2,3%) | 1 (2,5%) | 2 (2,4%) |
| Negativ | 17 (39,5%) | 19 (47,5%) | 36 (43,4%) |
| Schwach | 16 (37,2%) | 13 (32,5%) | 29 (34,9%) |
| Moderat | 6 (14,0%) | 5 (12,5%) | 11 (13,3%) |
| Stark | 3 (7,0%) | 2 (5,0%) | 5 (6,0%) |

4.3.4 HER2/neu



A. negativ



B. Positivkontrolle

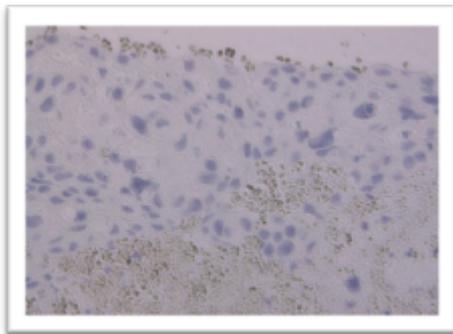
C. Tumormaterial mit diffuser
Braunfärbung*Abbildung 13: HER2/neu Färbung, 400x Vergrößerung*

Abbildung A stellt ein negatives Präparat dar. Eine Positivkontrolle mit brauner Membranfärbung ist in Abbildung B deutlich zu erkennen. In Abbildung C ist eine schwache Braunfärbung des umliegenden Gewebes zu sehen; das Tumorgewebe selbst wurde nicht angefärbt. Dies war im überwiegenden Teil der HER2/neu Färbungen festzustellen, sodass eine adäquate Bewertung nicht möglich war.

4.4 Statistische Analysen

4.4.1 Korrelation beider Behandlungsarme und der Biomarker-Expressionen

Die Berechnung der Korrelation zwischen der Expressionshäufigkeit von EGFR, c-Met und CXCR4 beider Behandlungsarme (n=83) wurde mittels Fisher`s-Test durchgeführt. Ein zum Niveau 5% signifikanter Unterschied zwischen den Behandlungsarmen hinsichtlich EGFR konnte nicht nachgewiesen werden (p=0,528). Die Expression von EGFR, c-Met (p=0,751) und CXCR4 (p=0,765) sind unabhängig der randomisierten Behandlungsarme.

4.4.2 Korrelation der IHC-Ergebnisse mit den TNM-Stadien

In unten stehender Tabelle (Tab.: 8) sind die absoluten als auch prozentuale Häufigkeiten des Subkollektivs zu den TNM-Stadien mit der Aufteilung in die jeweiligen Behandlungsarme dargestellt.

T3 und T4 Tumore kommen im IHC-Subkollektiv als auch in den jeweiligen Behandlungsarmen am häufigsten vor. Auch handelt es sich vermehrt um ein lymphogen- als auch fernmetastasiertes Kollektiv, bedingt durch die Einschlusskriterien der Studie.

Tabelle 8: Häufigkeitsverteilung der TNM-Stadien im IHC-Subkollektiv, n=83

| T-Stadium | IHC-Subkollektiv (%) | Arm A (%) | Arm B (%) |
|------------------|-----------------------------|------------------|------------------|
| T0 | 1 (1,2%) | 1 (2,3%) | 0 (0,0%) |
| T1/2 | 12 (14,5%) | 5 (11,6%) | 7 (17,5%) |
| T3/4 | 60 (72,3%) | 31 (72,1%) | 29 (72,5%) |
| TX / fehlende | 10 (12,0%) | 6 (14,0%) | 4 (10,0%) |
| | | | |
| N-Stadium | | | |
| N0 | 9 (10,8%) | 4 (9,3%) | 5 (12,5%) |
| N1-3 | 54 (65,1%) | 28 (65,1%) | 26 (65,0%) |
| NX / fehlende | 20 (24,1%) | 11 (25,6%) | 9 (22,5%) |
| | | | |
| M-Stadium | | | |
| M0 | 26 (31,3%) | 17 (39,5%) | 9 (22,5%) |
| M1 | 57 (68,7%) | 26 (60,5%) | 31 (77,5%) |

4.4.2.1 EGFR

Betrachtet man das gesamte IHC-Subkollektiv, so ergibt sich für den EGF-Rezeptor und die TNM-Stadien kein statistischer Zusammenhang, jedoch lässt sich tendenziell bei zunehmendem T-Stadium eine vermehrte Expression erkennen (Abb.: 14).

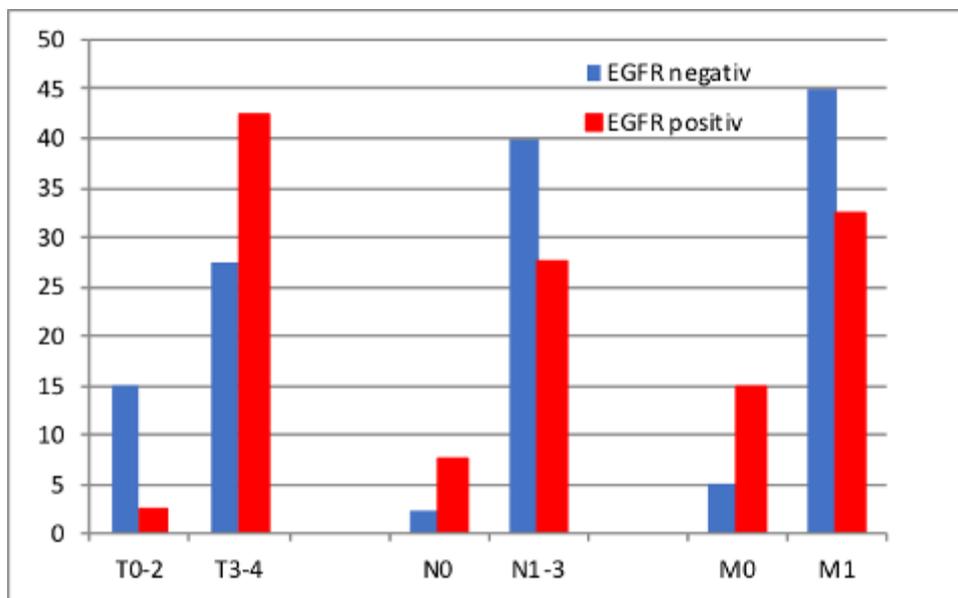


Abbildung 14: EGFR-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien im IHC-Subkollektiv, $n=83$ (Tumorstadium (T) 10 fehlende, Lymphknotenstatus (N) 20 fehlende, Fernmetastasierung (M) vollständig)

Bei der Auswertung der TNM-Stadien (T0-2 vs. T3/4, N0 vs. N1-3, M0 vs. M1, Tab.: 9) zeigte sich im Chemotherapie-Arm A eine Korrelation zwischen T-Stadium und EGFR; die Tumorgöße scheint einen Einfluss auf die EGFR-Expression zu haben, größere Tumore haben eine stärkere EGFR-Expression. Auf die Lymphknoten- und Fernmetastasierung zeigte sich kein Einfluss.

Tabelle 9: p-Werte für die TNM-Stadien im IHC-Subkollektiv der EGFR-Expression ($n=83$), Behandlungsarm A ($n=43$) und Behandlungsarm B ($n=40$)

| | Subkollektiv | Behandlungsarm A | Behandlungsarm B |
|------------------|--------------|---------------------|---------------------|
| T-Stadium | 0,144 | 0,023 | 0,840 |
| N-Stadium | 0,576 | 0,656 | 0,935 |
| M-Stadium | 0,161 | 0,176 | 0,377 |

Auch graphisch lässt sich im Arm A erkennen, dass die EGFR-Expression bei steigendem T-Stadium zunimmt, insbesondere für das T3-Stadium zeigt sich eine erhöhte Expression (Abbildung 25 im Anhang).

Im experimentellen Kombinationsarm B zeigten sich keine statistischen Korrelationen zwischen den TNM-Stadien und dem EGFR-Level. Graphisch zeigt sich wie im Behandlungsarm A tendenziell eine zunehmende EGFR-Expression bei zunehmender Tumorgroße (Abbildung 26 im Anhang).

4.4.2.2 CXCR4

Für die Expressionen von CXCR4 zeigten sich keine Korrelationen mit den TNM-Stadien (T01-2 vs. T3/4, N0 vs. N1-3, M0 vs. M1, Tab.: 10). In untenstehender Grafik (Abb.: 15) nimmt die CXCR4-Expression mit zunehmender Tumorgöße zu. Auch bei zunehmender fern- und lymphogenmetastasierter Situation kommt es zu einer vermehrten Expression.

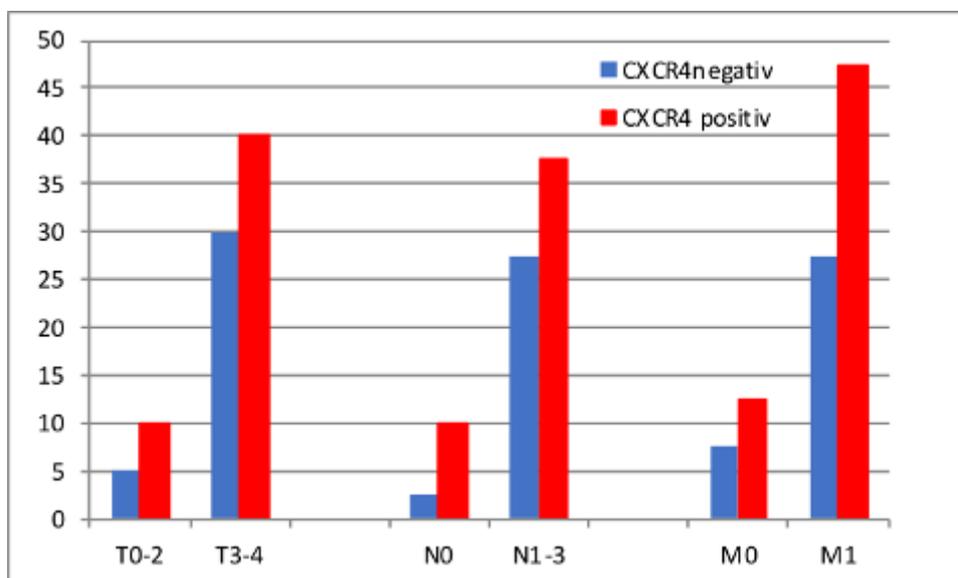


Abbildung 15: CXCR4-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien im IHC-Subkollektiv, n=83 (Tumorstadium (T) 10 fehlende, Lymphknotenstatus (N) 20 fehlende, Fernmetastasierung (M) vollständig)

Tabelle 10: p-Werte für die TNM-Stadien im IHC-Subkollektiv der CXCR4-Expression (n=83), Behandlungsarm A (n=43) und Behandlungsarm B (n=40)

| | Subkollektiv | Behandlungsarm A | Behandlungsarm B |
|------------------|--------------|---------------------|---------------------|
| T-Stadium | 0,533 | 0,194 | 0,328 |
| N-Stadium | 0,836 | 0,887 | 0,606 |
| M-Stadium | 0,490 | 0,172 | 0,550 |

4.4.2.3 c-Met

In Betrachtung auf das gesamte IHC-Kollektiv lässt sich für das T-Stadium ein leichter Zusammenhang mit der c-Met-Expression feststellen, der statistisch jedoch nicht klar belegbar ist ($p=0,054$). Es scheint einen Trend zur Expression von c-Met in größeren Tumoren zu geben.

Im Behandlungsarm A und B konnte keine Korrelation zwischen den TNM-Stadien und der c-Met-Expression nachgewiesen werden (Tab.: 11). Insgesamt scheint eine c-Met Expression tendenziell auch mit weiter fortgeschrittenen Tumoren assoziiert zu sein (Abb.: 16).

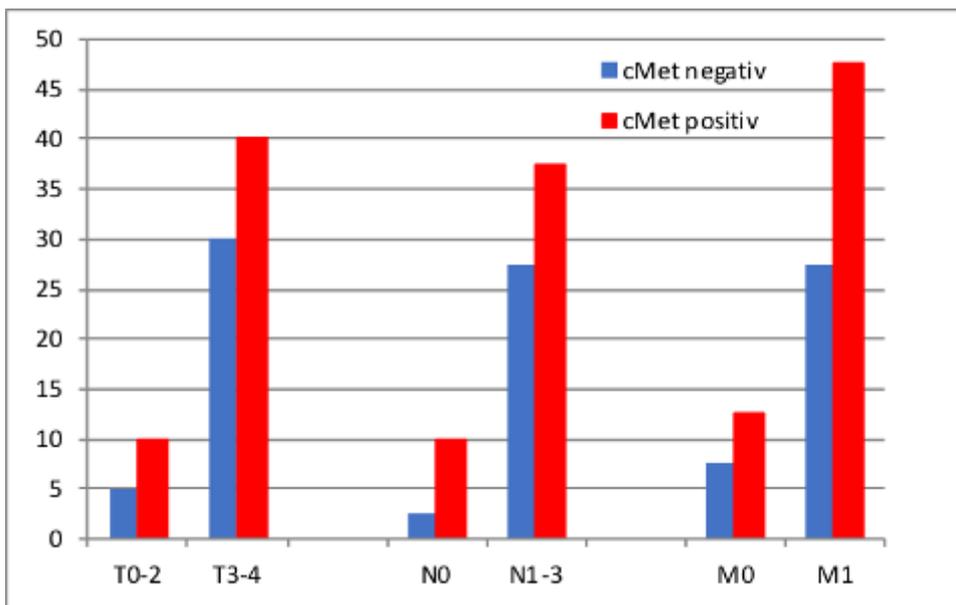


Abbildung 16: c-Met-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien im IHC-Subkollektiv, $n=83$ (Tumorstadium (T) 10 fehlende, Lymphknotenstatus (N) 20 fehlende, Fernmetastasierung (M) vollständig)

Tabelle 11: p-Werte für die TNM-Stadien im IHC-Subkollektiv der c-Met-Expression ($n=83$), Behandlungsarm A ($n=43$) und Behandlungsarm B ($n=40$)

| | Subkollektiv | Behandlungsarm A | Behandlungsarm B |
|------------------|--------------|---------------------|---------------------|
| T-Stadium | 0,054 | 0,339 | 0,183 |
| N-Stadium | 0,287 | 0,500 | 0,310 |
| M-Stadium | 0,233 | 0,410 | 0,255 |

4.4.3 Co-Expressionen

4.4.3.1 EGFR und CXCR4

Ein Zusammenhang in der Co-Expression zwischen dem EGF-Rezeptor und CXCR4 konnte nicht nachgewiesen werden ($p=0,344$, Tab.: 12).

Tabelle 12: Kreuztabelle EGF-Rezeptor / CXCR4

| EGFR / CXCR4 | negativ | schwach/moderat/stark |
|-----------------|------------|-----------------------|
| negativ/schwach | 9 (12,0%) | 11 (14,7%) |
| moderat/stark | 15 (20,0%) | 40 (53,3%) |

4.4.3.2 EGFR und c-Met

Die EGFR-Expression zeigt eine Korrelation mit der c-Met-Expression ($p=0,039$, Tab.: 13). Beide Marker scheinen im untersuchten Kollektiv co-exprimiert zu stehen.

Tabelle 13: Kreuztabelle EGF-Rezeptor / c-Met

| EGFR / c-Met | negativ | schwach/moderat/stark |
|-----------------|------------|-----------------------|
| negativ/schwach | 13 (65,0%) | 7 (35,0%) |
| moderat/stark | 22 (37,3%) | 37 (62,7%) |

4.4.3.3 c-Met und CXCR4

Die Tabelle 14 zeigt die Kreuztabelle für die Auswertung der Expression von c-Met und CXCR4. Mit $p=0,298$ ergibt sich kein Zusammenhang.

Tabelle 14: Kreuztabelle c-Met / CXCR4

| c-Met / CXCR4 | negativ | schwach/moderat/stark |
|-----------------------|------------|-----------------------|
| negativ | 9 (26,5%) | 25 (73,5%) |
| schwach/moderat/stark | 15 (35,7%) | 27 (64,3%) |

4.4.4 Überlebenszeitanalysen im Gesamtkollektiv und den Behandlungsarmen

4.4.4.1 Überlebenszeitanalyse in Bezug auf die EGFR-Expression

Patienten, die eine fehlende bis schwache EGFR-Expression aufwiesen, hatten ein medianes Überleben von 244 Tagen (95% KI 84,446 – 403,633). Hingegen betrug das Überleben der Patienten mit einer moderaten bis starken Expression 387 Tage (95% KI 241,612 – 532,388). Mit einem $p=0,556$ gibt es keinen nachweisbaren Unterschied in der EGFR-Expression und dem Gesamtüberleben, eine stärkere Expression führt nicht zu einem geringeren Überleben.

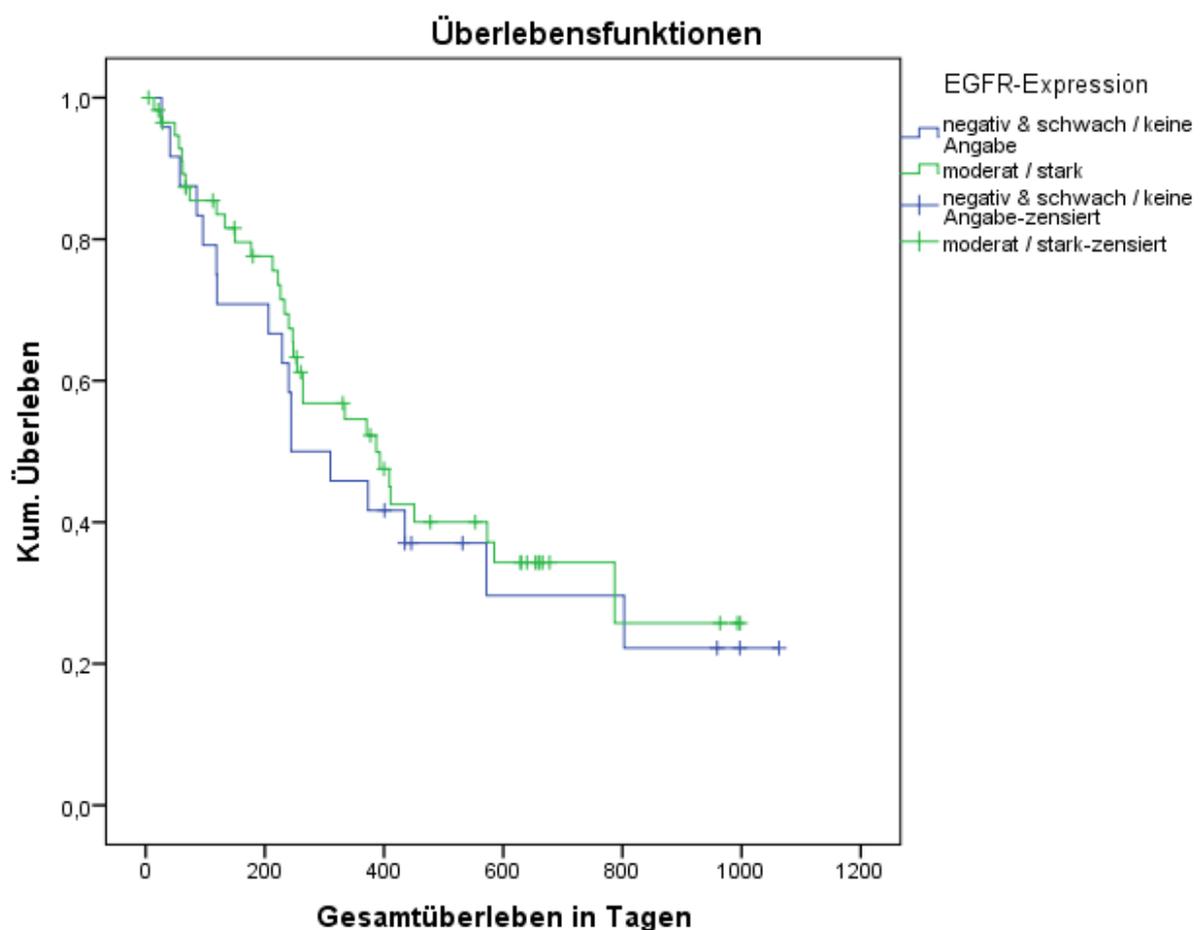


Abbildung 17: Kaplan-Meier-Kurve. Gesamtüberleben in Abhängigkeit der EGFR-Expression im IHC-Subkollektiv, $p=0,556$.

Im Behandlungsarm A betrug das mediane Gesamtüberleben für Patienten mit einer fehlenden bis schwachen EGFR-Expression 310 Tage (95% KI 73,49 – 546, 51), mit

einer moderaten bis starken Expression lag es unwesentlich höher bei 387 Tagen (95% KI 196,65 – 577,349), $p=0,973$.

Graphisch betrachtet, weisen Patienten mit einer fehlenden und schwachen Expression ein tendenziell längeres Gesamtüberleben auf (siehe Abbildung 30 im Anhang).

In Behandlungsarm B war das mediane Gesamtüberleben im Vergleich zu Behandlungsarm A geringer. Es betrug 120 Tage (95% KI 0 – 349,328). Hingegen lag es für Patienten mit einer moderaten bis starken Expression bei 409 Tagen (95% KI 199,292 – 618,708) und damit deutlich höher wie in Behandlungsarm A, $p=0,269$. Graphisch zeigen Patienten mit einer moderaten bis starken Expression ein längeres Überleben. (siehe Abbildung 31 im Anhang).

Statistisch lässt sich jedoch für Behandlungsarm A und den experimentellen Arm B kein nachweisbarer Unterschied darstellen (A: $p= 0,973$; B: $p= 0,269$).

4.4.4.2 Überlebenszeitanalyse in Bezug auf die c-Met-Expression

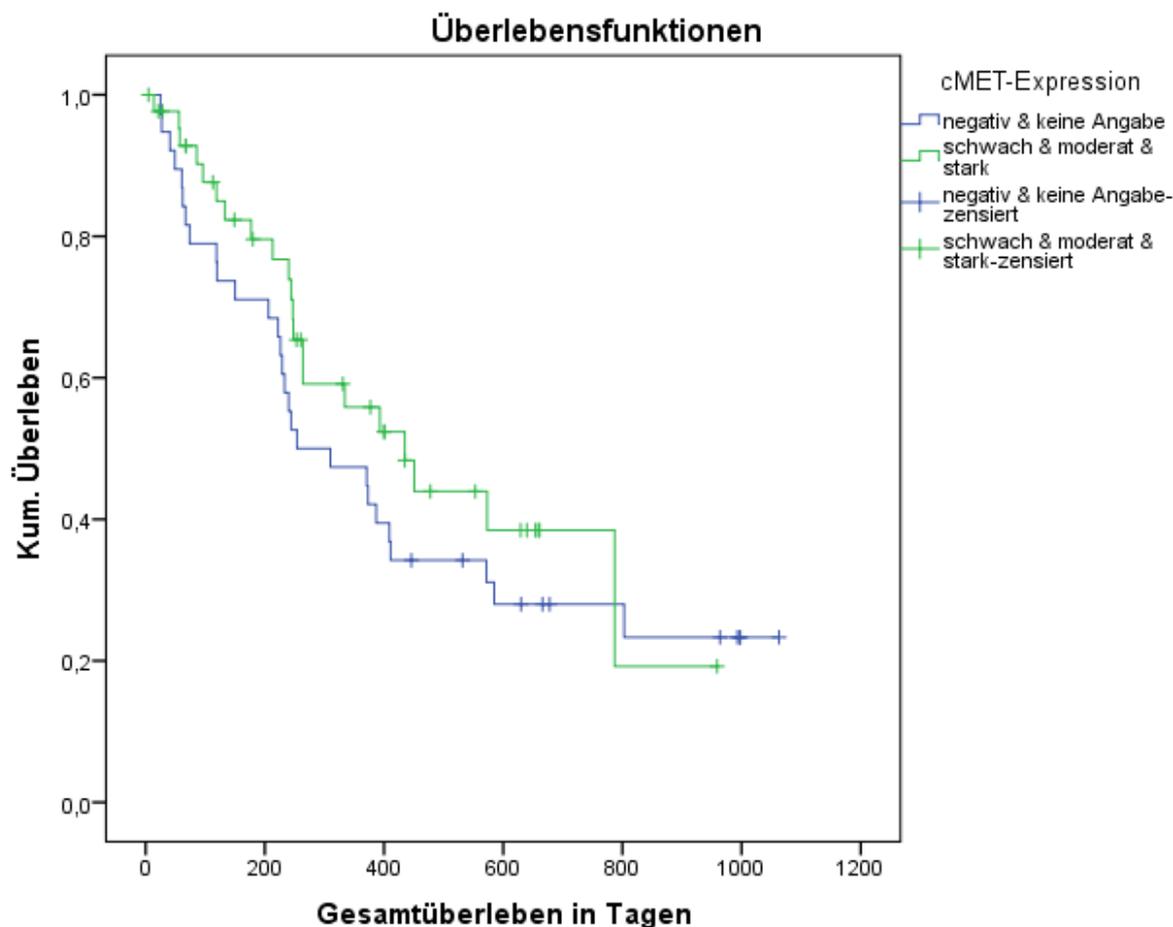


Abbildung 18: Kaplan-Meier-Kurve. Gesamtüberleben in Abhängigkeit der c-Met-Expression im IHC-Subkollektiv, $p=0,286$.

Für Patienten mit fehlender c-Met-Expression lag das mediane Gesamtüberleben bei 254 Tagen (95% KI 56,153 – 451,847). Eine schwache bis starke Expression zeigte ein Gesamtüberleben von 435 Tagen (95% KI 265,391 – 604,609), Abb.: 18.

Betrachtet man das mediane Gesamtüberleben separiert nach Behandlungsarmen, so beträgt für Behandlungsarm A das mediane Gesamtüberleben für Patienten mit einer fehlenden c-Met-Expression 254 Tage (95% KI 116,793 – 391,207), mit einer nachgewiesenen c-Met-Expression 451 Tage (95% KI 259,499 – 642,501), $p=0,485$.

Auch in Behandlungsarm B war das mediane Gesamtüberleben für Patienten mit einer nachgewiesenen Expression mit 435 Tagen (95% KI 212,162 – 657,838) länger

als mit einer fehlenden Expression. Hier betrug es 233 Tage (95% KI 0-550,745); $p=0,409$.

4.4.4.3 Überlebenszeitanalyse in Bezug auf die CXCR4-Expression

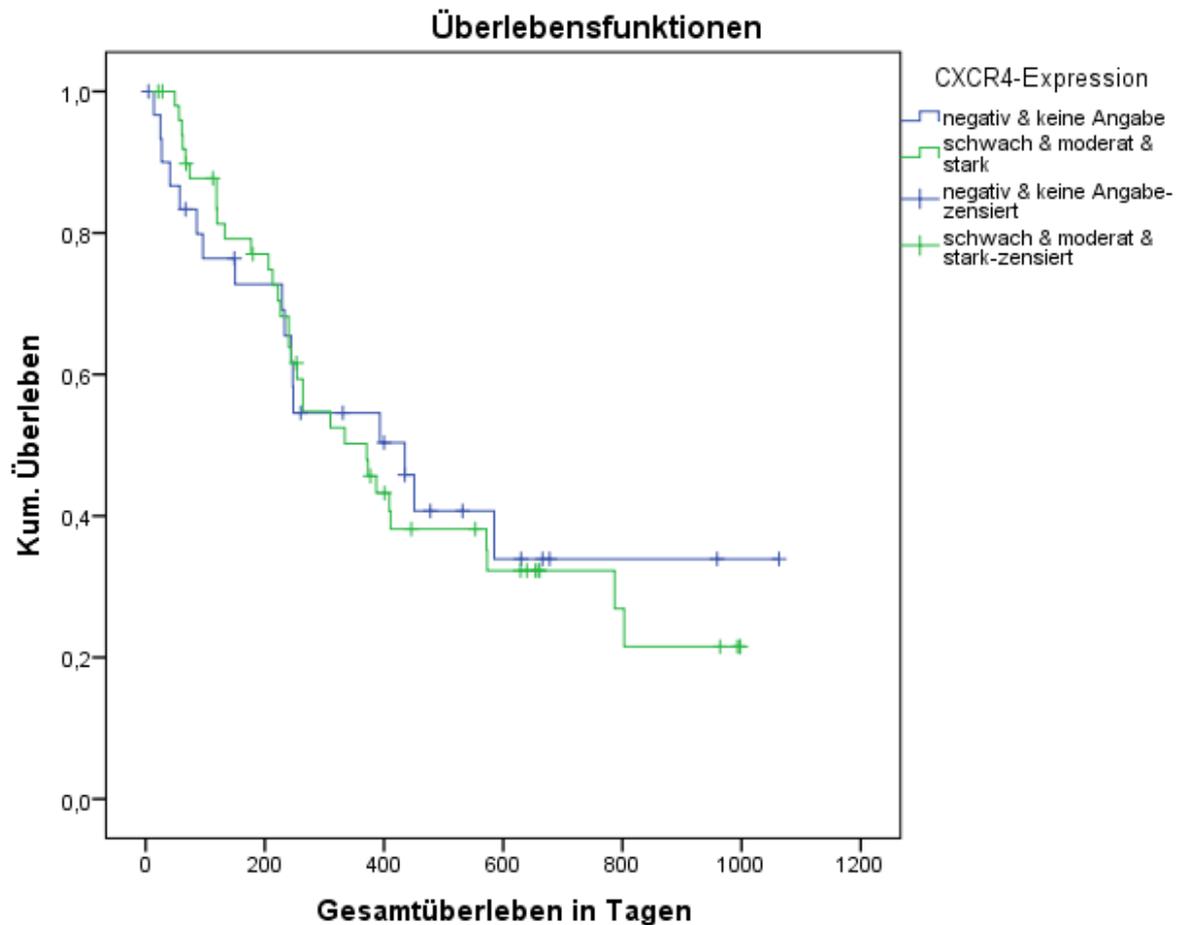


Abbildung 19: Kaplan-Meier-Kurve. Gesamtüberleben in Abhängigkeit der CXCR4-Expression im IHC-Subkollektiv, $p=0,810$.

Die Expression von CXCR4 zeigte für beide Expressionslevel nahezu gleiche Überlebenszeiten. Für Patienten mit einer fehlenden CXCR4-Expression betrug das mediane Gesamtüberleben 435 Tage (95% KI 213,082 – 656,918). Das mediane Gesamtüberleben für eine schwache bis starke Expression lag tendenziell niedriger bei 371 Tagen (95% KI 250,788 – 491,212), $p=0,810$, Abb.: 19.

Die Überlebenszeiten verglichen in den Behandlungsarmen sind nahezu ähnlich. Das mediane Überleben in Behandlungsarm A lag bei 393 Tagen (95% KI 92,578 –

693,422) für eine fehlende Expression, wohingegen das Gesamtüberleben für eine nachgewiesene Expression bei 334 Tagen (95% KI 149,363 – 518,637), $p=0,569$ lag. In Behandlungsarm B betrug das Gesamtüberleben für eine fehlende Expression 435 Tage (95% KI 0-965,53), für eine nachgewiesene Expression lag es bei 371 Tagen (95% KI 188,366 – 553,635), $p=0,823$.

Tabelle 15: p-Werte der Biomarker für das Gesamtüberleben

| Biomarker | p-Wert |
|------------------|---------------|
| EGFR | 0,556 |
| c-Met | 0,286 |
| CXCR4 | 0,810 |

Insgesamt lässt sich für die untersuchten Biomarker zusammenfassen, dass keiner der untersuchten Biomarker eine prädiktive Aussage im untersuchten Kollektiv hat.

4.4.5 Multivariate Analyse

Zur Prüfung des Zusammenhangs des Gesamtüberlebens mit den Co-Variablen (Geschlecht, Alter, TNM-Stadien, EGFR-, c-Met- und CXCR4-Expression) wurde eine Cox-Regression unter Annahme proportionaler Hazards gerechnet.

Tabelle 16: Ergebnisübersicht der multiplen Cox-Regression im IHC-Subkollektiv

| Variable | HR | 95% KI | p-Wert | Log-Rank p |
|------------------|-----------|---------------|---------------|-------------------|
| Geschlecht | 0,838 | 0,373-1,882 | 0,669 | 0,211 |
| Alter | 2,010 | 1,094-3,691 | 0,024 | 0,011 |
| T-Stadium | 1,024 | 0,428-2,450 | 0,998 | 0,722 |
| N-Stadium | 1,666 | 0,506-5,484 | 0,657 | 0,170 |
| M-Stadium | 1,822 | 0,899-3,691 | 0,096 | 0,118 |
| EGFR-Expression | 1,694 | 0,219-13,125 | 0,833 | 0,556 |
| c-Met-Expression | 1,170 | 0,638-2,145 | 0,867 | 0,286 |
| CXCR4-Expression | 0,824 | 0,438-1,550 | 0,681 | 0,810 |

In den Graphiken (siehe Anhang, Abb.: 32-39) sind Effekte zu sehen, bei denen jedoch der beobachtete Effekt nicht signifikant ist, mit Ausnahme des Alters ($p=0,011$). Die Nichtsignifikanz kann möglicherweise auf die geringe Fallzahl zurückzuführen sein. Bei der EGFR- und c-Met-Expression ist ein möglicher Zusammenhang am größten, sodass man mutmaßen kann, dass diese beiden Expressionen einen Trend zum Gesamtüberleben darstellen.

4.4.5.1 Multivariate Analyse

Zusammenfassend zeigte die multivariate Analyse, dass lediglich die Co-Variable Alter einen nachgewiesenen Einfluss auf das Gesamtüberleben hat ($p=0,011$). Für die anderen Variablen (TNM-Stadien, EGFR, c-Met, CXCR4 und Geschlecht) konnte dies nicht nachgewiesen werden.

4.5 Zusammenfassung

Für den Biomarker EGFR lies sich im Subkollektiv eine vermehrte Expression bei zunehmender Tumorgröße als auch bei noch fehlender Metastasierung nachweisen. Dies zeigte sich auch in Behandlungsarm A.

Eine stärkere Expression stellte rechnerisch kein geringeres Überleben dar, eine fehlende EGFR-Expression hingegen tendenziell ein längeres Überleben.

Für den CXCR4 ergab sich kein statistischer Zusammenhang mit der TNM-Klassifikation, er ist jedoch bei fortgeschrittenen Tumoren häufiger exprimiert. Insgesamt stellte dieser Biomarker keinen prädiktiven Wert dar.

Weiterhin zeigte sich bei zunehmender Tumorgröße und Metastasierung ein Trend für die c-Met-Expression. Eine geringe Expression steht in einem Zusammenhang mit einem längeren Überleben. Ein zusätzlicher Zusammenhang ergab sich in der Co-Expression von EGFR und c-Met ($p=0,039$).

5 Diskussion

Biomarker treten in der Diagnostik von Karzinomen zunehmend in den Vordergrund [8]. Da bislang kein immunhistochemisch untersuchter Biomarker in die klinische Prognose für das Plattenepithelkarzinom des Ösophagus etabliert wurde, gewinnen diese Untersuchungen immer mehr an Bedeutung [40].

Das Ziel dieser retrospektiven Arbeit war es, die Expressionen von EGFR, c-Met, CXCR4 und HER2/neu im Plattenepithelkarzinom des Ösophagus immunhistochemisch zu untersuchen und diese mit den klinisch-pathologischen Parametern zu vergleichen.

5.1 Biomarker

5.1.1 EGFR

Der epidermale Wachstumsfaktorrezeptor (EGFR) ist nicht nur für die Regulierung von Zellprozessen zuständig, sondern auch als Schlüsselregulator an der Krebsentstehung beteiligt [118, 170]. Er ist mit der Pathogenese einer Vielzahl verschiedener Krebsarten assoziiert und häufig hochreguliert [97, 171]. Die Überproduktion von EGFR stellt einen wichtigen Prozess in der Tumorinduktion dar; die Aktivierung der Signalkaskade von EGFR führt zu einem autonomen Wachstum von Krebszellen [172]. Galizia et al. führten dies auf unterschiedliche Ursachen zurück: eine erhöhte Konzentration an Liganden, die erhöhte Expression an EGFR oder aber eine Veränderung im EGFR-Gen und der daraus resultierende abweichende Rezeptor [172]. 2003 deuteten Mendelsohn et al. bereits an, dass EGFR ein vielversprechendes Ziel für die Krebstherapie darstelle [90]. Yang et al. kamen zu der Vermutung, dass ein Blockieren des EGF-Rezeptors zu einer Unterbindung der Wechselwirkungen zwischen dem Rezeptor und den Wachstumsfaktoren führt. Dies könnte somit zum Stillstand des Tumorwachstums führen und das Tumorüberleben beeinflussen [155].

Wang et al. äußerten, dass die EGFR-Expression mit einer schlechten Prognose korreliere und als Prognoseparameter in Adenokarzinomen des Ösophagus sowie des gastroösophagealen Übergangs Verwendung finden könne [103]. Jedoch zeigte diese und auch andere Studien, dass die immunhistochemische EGFR-Expression

möglicherweise keine ausreichende Aussage im Hinblick auf das Gesamtüberleben des Tumors liefere [173, 174].

Weitere Studien setzten eine hohe Expression in Verbindung mit einem schlechteren Überleben [175-178]. Baselga et al. beschrieben zusätzlich ein schlechtes Ansprechen auf die Behandlung und eine Progression der Erkrankung [176].

In der hier vorliegenden Dissertation konnte eine Korrelation zwischen der EGFR-Expression und dem Gesamtüberleben nicht gezeigt werden. Smilek et al. konnten ebenso keinen statistischen Zusammenhang zwischen der EGFR-Positivität und dem Gesamtüberleben zeigen [174].

Weiterhin konnte in dieser Studie ein positives immunhistochemisches Ergebnis des EGFR in 81,9% der Fälle festgestellt werden, welches mit einer positiven Korrelation für beide Behandlungsarme belegt werden konnte. Durch die Blockade mittels des anti-EGFR-Antikörpers Panitumumab und der oben beschriebenen positiven EGFR-Expression, hätte ein Therapieansprechen und resultierend daraus ein längeres Gesamtüberleben in Behandlungsarm B erwartet werden können. Das mediane Gesamtüberleben reichte in beiden Gruppen von 120 bis 409 Tagen. In der großen SPECTRUM-Studie von Vermorken et al. wurden 657 Patienten mit einem rezidivierenden und/oder metastasierten Kopf-/Halstumor einer simultanen Therapie mit Cisplatin, 5-FU und Panitumumab untersucht. Auch hier zeigte sich kein signifikant besseres Gesamtüberleben. Jedoch konnte ein besseres progressionsfreies Überleben und somit eine Antitumoraktivität von Panitumumab bestätigt werden [179]. Auch Lordick et al. beobachteten in ihrer Studie unter Zugabe des anti-EGFR-Antikörpers Cetuximab (EXPAND) ein verbessertes klinisches Ergebnis bei Patienten mit einem metastasierenden Plattenepithelkarzinom des Kopfes und Halses [102].

Ebenso beschäftigten sich Lörz et al. mit der EGFR-Expression im Plattenepithelkarzinom im Kopf-Hals-Bereich. Sie wiesen nicht nur eine EGFR-Expression in unbehandelten Tumoren nach, sondern auch bei jenen die z. B. eine Vorbehandlung in Form einer Radiatio oder neoadjuvanten Chemotherapie erhielten. Jedoch konnte für EGFR kein prognostischer Wert ermittelt werden [180].

In dieser Arbeit lies sich eine vermehrte EGFR-Expression bei zunehmender Tumorgröße als auch bei noch fehlender Metastasierung nachweisen. Weitere Zusammenhänge mit den klinisch-pathologischen Parametern oder der Prognose konnten nicht gezeigt werden.

Es konnte jedoch eine Co-Expression zwischen EGFR und c-Met evaluiert werden.

Mutationen im EGF-Rezeptor führen dazu, dass Resistenzmechanismen gegen eine EGFR-Inhibition entstehen können [181]. Hierbei wurde c-Met als möglicher Indikator für das Anspringen auf eine anti-EGFR-Therapie beschrieben [182]. Weiterhin wird die Co-Expression beider für das Mammakarzinom als wichtige Rolle, vor allem in der Entwicklung von Resistenzen gegen zielgerichtete Therapien beschrieben [183]. Chan et al. konnten eine Co-Expression von c-Met und EGFR im Adenokarzinom des gastroösophagealen Übergangs nachweisen, den Rezeptorstatus jedoch nicht als prognostischen Faktor assoziieren [184].

In einer von Ko B et al. untersuchten Studie, konnte jedoch auch gezeigt werden, dass das Blockieren beider Rezeptoren keinen Erfolg verspricht [185].

Auch Sweeny et al. konnten für das Plattenepithelkarzinom im Kopf-Hals-Bereich keine Korrelation zwischen der EGFR-Expression und den klinisch-pathologischen Parametern aufzeigen [186].

Eine Überexpression von EGFR im Plattenepithelkarzinom des Kopf-Hals-Bereiches beschreibt Zimmermann et al. in 80-90% der Fälle und somit wird dieser Marker als erstes therapeutisches Ziel beschrieben [187].

Wang et al. zeigten in ihrer Studie zum Adenokarzinom des Ösophagus, dass die EGFR-Expression statistisch mit einem höheren T-Stadium, einem jüngeren Alter, dem Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen sowie einem höheren TNM-Stadium korreliere [103]. Nach Kiesslich et al. korreliere das Überleben der erkrankten Patienten unabhängig der Histologie stark mit dem initial bestehenden Tumorstadium [31].

Ursachen für die derzeit unterschiedlichen Meinungen zur EGFR-Expression und dem Gesamtüberleben kann die Heterogenität der Studienpopulation und das Fehlen standardisierter Vorgehensweisen zur Bestimmung des EGFR-Status sein [9]. EGFR

war der erste Biomarker, der als potentieller Prognosemarker untersucht wurde. Jedoch konnten die Mehrzahl der Studien bislang keine Beziehung zwischen der Expression und der klinischen Aktivität von anti-EGFR-Arzneimitteln zeigen [116, 172].

5.1.2 c-Met

Die Aktivierung der Rezeptortyrosinkinase c-Met ist im normalen Gewebe u. a. für Zellwachstum, Angiogenese und Zelldifferenzierung zuständig [84].

Eine Vielzahl an großen Studien konnte zeigen, dass c-Met mit seinen Liganden HGF/SF in Karzinomen höher exprimiert ist [188]. Die Überexpression korrelierte nach Birchmeier et al. häufig mit einer schlechteren Prognose. Der Ligand wird oftmals nicht vom Tumor selbst, sondern vom Stroma exprimiert, sodass bei diesen Tumoren die Aktivierung auf parakriner Ebene erfolgt sein könnte [121].

In der vorliegenden Dissertation wurde keine Korrelation zwischen den klinisch-pathologischen Parametern der Patienten und der c-Met Expression nachgewiesen. Es zeigte sich jedoch ein Trend zur Expression bei zunehmender TumorgroÙe und Metastasierung. Das Tumormaterial wies bei insgesamt 54,2% eine Färbung auf. Eine geringe Expression steht im Zusammenhang mit einem längeren Überleben.

In der Literatur finden sich zahlreiche Studien, die eine erhöhte c-Met-Expression mit einer schlechteren Prognose, erhöhten pathologischen Stadien und tieferen Tumordinfiltrationen assoziieren [189-191]. Da der Rezeptor sowohl in physiologischen, als auch in Tumorzellen für invasives Wachstum steht, macht es Sinn, ihn als prognostisches Mittel und therapeutisches Ziel einzusetzen [192]. Nach Davis et al. könne sogar eine Hemmung von c-Met die Metastasierung und Tumordinvasion reduzieren [193].

Es stellt sich jedoch die Frage, inwieweit c-Met im Zusammenhang mit der Tumorgenese steht. Die Signalwege von c-Met sind vielfältig. So regulieren die MAPK-Kaskade und der PI3K/Akt-Signalweg hauptsächlich die Zellproliferation, wohingegen der Weg über STAT3 zur Transformation dient [194, 195]. Ein wichtiger Bestandteil der c-Met Aktivierung ist ebenfalls der Hepatozyten-Wachstumsfaktor (HGF). Ein erhöhter Level des Liganden ist mit dem Einleiten der Tumordinvasion assoziiert [196].

Die oben genannten Punkte lassen auf ein Mitwirken von c-Met in der Tumorgenese schließen, jedoch ist bis heute die genaue Rolle und die Signaltransduktion nicht geklärt [197].

Weiterhin wurde in dieser Studie eine signifikante Co-Expression von c-Met mit EGFR gefunden. Einen Zusammenhang stellten auch Mesteri I et al. dar. Hier zeigte sich, dass c-Met sowohl in Adeno-, als auch Plattenepithelkarzinomen des Ösophagus überexprimiert war. Jedoch korrelierte die c-Met mit der EGFR-Expression nur für Patienten mit Adenokarzinomen [198].

Die Signalwege von EGFR und c-Met sind miteinander verbunden, da die Aktivierung von c-Met zu einer erhöhten Aktivierung von EGFR führt und umgekehrt [199].

Durch Hemmung von EGFR mit Panitumumab könnten die Signalwege durch c-Met dennoch aktiviert werden, sodass nach Yingying Xu et al. die c-Met-Expression als möglicher prognostischer Faktor für die Wirksamkeit der anti-EGFR-Therapie angesehen werden kann [200]. Dennoch ist c-Met, wie bereits erwähnt, mit der Tumorgenese wie auch EGFR assoziiert, sodass eine kombinierte Therapie mit einer anti-EGFR und anti-c-Met-Medikation Sinn ergeben könnte, um die Wirksamkeit zu erhöhen und einen möglichen Resistenzmechanismus zu überwinden. Chae et al. sahen die Doppelblockade beider Rezeptoren als eine mögliche Methode für Patienten mit einem Mammakarzinom an [183].

Beim Ösophaguskarzinom hingegen fanden Ya-Ping Xu et al., dass c-Met als unabhängiger Marker für eine schlechtere Prognose eingesetzt werden kann [188]. Ozawa Y et al. bestätigten die Ergebnisse [189]. Diverse anti-c-Met-Therapien wurden in den letzten Jahren entwickelt und getestet, jedoch ohne signifikanten Erfolg [201].

Ob nun als Therapieansatz oder als prognostischer Faktor, c-Met gilt als vielversprechender Biomarker in der Tumorforschung des Ösophaguskarzinoms.

5.1.3 CXCR4

Der CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4 (CXCR4) wurde zuvor als prognostischer Marker bei vielen Tumoren einschließlich des Plattenepithelkarzinoms des Ösophagus beschrieben [135, 202-205]. CXCR4 und sein Ligand SDF-1 α sind u. a. zuständig für Zellmigration, Zellproliferation sowie für die Stammzellenregulierung [206, 207].

Chatterjee et al. identifizierten eine erhöhte CXCR4-Expression als Biomarker für eine schlechte Prognose zahlreicher Karzinome; speziell beim Ösophaguskarzinom sind 85% der Tumore CXCR4 positiv und korrelieren mit der Metastasierungsrate [132]. Auch Schimanski et al. zeigten, dass CXCR4 eine Rolle in der Metastasierung verschiedener gastrointestinaler Tumore spielt. Insbesondere für das Ösophaguskarzinom konnte gezeigt werden, dass das mediane Gesamtüberleben für Patienten mit einem CXCR4 exprimierenden Tumor ein geringeres ist, als für CXCR4 negative Tumore [207].

Ferner beschrieben De-Colle et al., dass bei CXCR4-Positivität ein höheres Metastasierungspotenzial sowie ein schlechteres Outcome bei Plattenepithelkarzinomen von Kopf und Hals vorhanden sei, konnten dieses jedoch nicht in ihrer eigenen Studie belegen. Gründe hierfür seien oftmals die widersprüchlichen und begrenzten Aussagen aufgrund einer geringen Patientenzahl, sowie unterschiedliche Nachweismethoden, als auch Tumor- und Patienteneigenschaften [136]. Die Untersuchung der CXCR4-Expression in Bezug auf das Gesamtüberleben erzielte in dieser Studie keine relevanten Ergebnisse.

In einer weiteren Studie (Gockel et al. 2006) konnte jedoch gezeigt werden, dass für Patienten mit einem CXCR4 exprimierenden Tumor ein niedrigeres medianes Gesamtüberleben im Vergleich zu CXCR4 negativen Tumoren besteht; es unterschied sich um 56 Monate. Weiterhin konnten sie eine Gesamtexpressionsrate von 94,1% für CXCR4 nachweisen, sowohl für das Plattenepithel- als auch für das Adenokarzinom des Ösophagus [6].

In der vorliegenden Dissertation konnte für das Plattenepithelkarzinom des Ösophagus eine Gesamtexpressionsrate von 62,7% für CXCR4 nachgewiesen werden. Zudem kam es bei fortgeschrittenen Tumoren häufiger zu einer Expression. Goto et al. zeigten eine Expressionsrate von 75,6% und assoziierten CXCR4 als Marker für eine schlechte Prognose [208].

Mit 55% wurde die CXCR4-Expression bei Kaifi et al. beschrieben. Es waren sowohl Patienten die an einem Plattenepithel- als auch an einem Adenokarzinom erkrankt waren inkludiert und wurden als Ösophaguskarzinome zusammengefasst. Eine positive Expression war statistisch signifikant mit einem schlechteren Gesamtüberleben assoziiert. Ferner kamen Kaifi et al. zum Schluss, dass CXCR4 und sein Ligand SDF-1 α die Zellproliferation von Tumorzellen beeinflussen [130].

Weiterhin ist zu beachten, dass SDF-1 α nicht nur der Ligand für CXCR4 ist, sondern auch für CXCR7. Bei einer möglichen Therapie mittels Antagonist für CXCR4, wäre der Rezeptor CXCR7 nicht betroffen und der Signalweg könnte ohne Blockade ausgeführt werden. Da CXCR4 und CXCR7 nahezu gleiche Funktionen besitzen, müsste man bei einer Therapie die Blockade beider Rezeptoren oder des Liganden beachten [209]. Neve et al. fanden heraus, dass beim hepatozellulären Karzinom die CXCR7-Expression nicht als prognostischer Faktor in Frage kommt; die Verbindung CXCR4/SDF-1 α /CXCR7 sei jedoch ein therapeutischer Ansatzpunkt [210].

Yang et al. untersuchten in ihrer Studie die Beziehungen zwischen CXCR4 und den klinisch-pathologischen Parametern an 101 Patienten, die an einem Plattenepithelkarzinom des Ösophagus erkrankten. 37,6% zeigten eine hohe Expression von CXCR4 in Tumorzellen; hingegen zeigte das benachbarte Gewebe keine Anfärbung. Eine vorhandene Expression korrelierte mit einem fortgeschrittenen Stadium sowie einer schlechten Differenzierung [4].

Wie in den oben erwähnten Studien ist davon auszugehen, dass CXCR4 und seine Liganden eine Rolle in der Tumorgenese spielen. Man würde daher eher von einer sehr hohen Expressionsrate im Tumorgewebe ausgehen. Ein Grund für eine schwache Expression könnte nach González-Arriagada et al. sein, dass der Rezeptor zu Beginn der Tumorgenese deutlich stärker aktiv ist und während der Progression abschwächt [211]. Dies würde das Ergebnis dieser Studie erklären, da Tumore im fortgeschrittenen Stadium untersucht worden sind.

Die spezielle Funktion des Markers als Teil der Stammzellregulierung macht ihn zu einem komplexen Ansatzpunkt in der Therapie. Die Verbindung CXCR4/SDF-1 α /CXCR7 stellt hierbei einen entscheidenden Faktor dar. CXCR4 ist ein vielversprechender Biomarker, sodass Therapieansätze mithilfe von kleinmolekularen Antagonisten und monoklonalen Antikörpern bereits in klinischen Studien sind [212].

5.1.4 HER2/neu

HER2/neu steht wie auch EGFR im Zusammenhang mit der Metastasierung, der Proliferation sowie der Tumorinvasion und -angiogenese [213].

In dieser Dissertation konnte keine Expression für HER2/neu nachgewiesen werden. Die prognostische Bedeutung von HER2/neu beim Ösophaguskarzinom ist bisher noch unklar. Es wurde eine positive Korrelation zwischen der Expression sowie der Lymphknotenmetastasierung und der Tumorinvasion beschrieben; diese war mit einer schlechten Prognose assoziiert [34].

Es existieren bislang keine Hinweise dafür, dass die Expression von HER2/neu bei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom des Ösophagus als unabhängiger prognostischer Faktor angesehen werden könnte; obwohl gezeigt werden konnte, dass Patienten ohne Expression eine höhere Überlebensrate aufwiesen als diejenigen mit einer HER2/neu-Expression [40]. Weiterhin zeigten Stahl et al. für Adenokarzinome, dass eine Expression von HER2/neu mit einem kürzeren Gesamt- als auch progressionsfreiem Überleben einhergeht [178].

Auch Gowryshanker et al. beschrieben ein verringertes Überleben bei HER2/neu-Positivität [214]. Nach Jaffer et al. trete eine HER2/neu-Positivität eher in Adeno- als in Plattenepithelkarzinomen des Ösophagus auf [34]. Auch Jiang et al. beschrieben eine Überexpression in Adenokarzinomen [9].

Im Kontrast hierzu äußerten Lote et al., dass sich eine HER2/neu-Überexpression nicht auf das Überleben in gastroösophagealen Tumoren auswirkt [215]. HER2/neu steht hauptsächlich mit dem Brustkrebs in Verbindung, jedoch konnte eine Überexpression u. a. sowohl in Magen-, Hals- und Kopf-, als auch in Lungenkarzinomen festgestellt werden [216].

So fanden Ling Shan et al. heraus, dass HER2/neu stärker in einem Karzinom des gastroösophagealen Übergangs exprimiert wird als in Magenkarzinomen [217]. Zudem ist eine erhöhte HER2/neu-Expression mit einer schlechteren Prognose assoziiert [218]. Jedoch ist die jetzige Studienlage nicht eindeutig; Woo-Ho Kim et al. kamen zu dem Ergebnis, dass es keine Korrelation zwischen den Tumorstadien und der HER2/neu-Expression gab [219]. Ebenso hielten Y. Janjigian et al. HER2/neu für keinen prognostischen Marker für ein Karzinom des gastroösophagealen Übergangs [220].

Die Studienlage bei Kopf-Halstumoren und HER2/neu ist ähnlich. So fanden Soheil Pardis et al. heraus, dass Her2/neu keine Assoziation mit den klinisch-pathologischen Merkmalen des Tumors aufweist [221].

Hingegen sind Bijan Khademi et al. der Meinung, HER2/neu könnte ein potenzieller Marker sein. Jedoch ist die Therapie gegen diesen Marker bei Kopf-Halstumoren umstritten und bedarf noch weiterer Studien [222, 223].

Die in dieser Dissertation beschriebenen fehlenden Expressionen könnten vermuten lassen, dass anlehnend an die Entität und Histologie keine Anfärbung möglich war. Diese Aussage bedarf jedoch weiterer Untersuchungen.

5.1.5 Panitumumab

Panitumumab ist ein humaner monoklonaler anti-EGFR-Antikörper, der als reiner Antagonist wirkt und nach Bindung an EGFR eine Internalisierung des Rezeptors induziert [158]. EGFR und seine Signalkaskade spielen wie schon beschrieben in mehreren Tumoren eine wichtige Rolle. Da sich Panitumumab bei der Therapie des kolorektalen Karzinoms (CRC) bereits als positiv erwiesen hatte [152], wurde dieser Antikörper nun für das bisher noch wenig untersuchte Plattenepithelkarzinom des Ösophagus als Medikation in dieser Studie eingesetzt. Es stellte sich heraus, dass Panitumumab kein längeres Gesamtüberleben im Vergleich zum Referenzarm aufwies.

Vermorken et al. zeigten, wie schon bereits beschrieben, bei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom des Kopf- und Halses ein längeres progressionsfreies Überleben unter Panitumumab; ein längeres Gesamtüberleben konnte nicht beschrieben werden [179].

Moehler et al. nahmen an, dass Panitumumab die Sekretion von löslichem EGFR im Serum verstärkt, sodass eine erhöhte Serum-Konzentration mit einer fortschreitenden Erkrankung sowie einem schlechten progressionsfreien Überleben assoziiert ist [169].

Chung et al. untersuchten in ihrer Studie die Cetuximab-Aktivität gemessen an der EGFR-Expression mittels Immunhistochemie. Die Intensität der EGFR-Expression korrelierte nicht mit der klinischen Aktivität des Antikörpers [224]. Cetuximab ist wie Panitumumab ein anti-EGFR-Antikörper. Panitumumab ist jedoch im Gegensatz zu Cetuximab der erste vollständige humane monoklonale Antikörper gegen EGFR

[158]. Die Hypothese, dass auch EGFR-negative Patienten auf eine Therapie mit dem Antikörper Cetuximab ansprechen können, konnte in der Studie von Chung et al. nachgewiesen werden [224].

Weiterhin beschrieben Saif et al. beim kolorektalen Karzinom Panitumumab als mögliche Alternative bei Therapien, die mit Cetuximab scheiterten. Als Grund wurden unterschiedliche Antitumoraktivitäten beider Antikörper am EGF-Rezeptor beschrieben [157]. Anlehnend an diese Dissertation könnte die EGFR-Positivität nicht entscheidend für eine Wirkung des Antikörpers Panitumumab sein.

Des Weiteren ist zu bedenken, dass Panitumumab nur am intakten EGF-Rezeptor und den davon regulierbaren Signalkaskaden wirken kann [225]. Es lässt sich nur mutmaßen, ob Panitumumab aufgrund einer Mutation am EGF-Rezeptor nicht wirken konnte oder ob andere Gründe verantwortlich waren. Denkbar wären in Bezug auf den EGF-Rezeptor weitere Untersuchungen auf Mutationen wie es bisher beim Kolonkarzinom mit der *all-RAS* oder *BRAF*-Mutation vor Therapiebeginn gehandhabt wird. Kirchner et al. beschrieben den Nachweis einer *KRAS*-Mutation als negativ prädiktiven Biomarker, um so Patienten identifizieren zu können die auf eine anti-EGFR-Therapie nicht ansprechen werden [225].

Douillard et al. zeigten in ihren Untersuchungen, dass es beim Vorliegen einer *KRAS*-Mutation zu keinem Therapieansprechen beim CRC mit Panitumumab komme [226]. Des Weiteren lieferten Tabasinezhad et al. Ergebnisse von EGFR-Mutationen, die für eine mögliche Resistenz gegen Panitumumab verantwortlich sein könnten [181]. Ferner äußerten Moehler et al. in der POWER-Studie, dass kein therapeutischer Nutzen mit Zugabe von Panitumumab gezeigt werden konnte [169]. Ob in dieser Arbeit ebenfalls eine Mutation am EGF-Rezeptor für die ausbleibende Panitumumabwirkung verantwortlich war oder die Co-Expression von EGFR und *c-Met* als möglicher Resistenzmechanismus, lässt sich nur mutmaßen und bedarf weiterer Untersuchungen.

5.2 Diskussion des Studiendesigns

In diese Studie wurden Patienten mit lokal fortgeschrittenem, nicht kurativ resektablem oder metastasiertem Plattenepithelkarzinom des Ösophagus eingeschlossen. Das Gesamtkollektiv enthielt 146 Patienten, in dem hier untersuchten Subkollektiv konnten 83 Patienten erfasst werden.

Eine Fehlerquelle in dieser Dissertation könnte die Immunhistochemie darstellen. Sie ist von 3 wichtigen Faktoren abhängig: der Beschaffenheit des Gewebes, dem Antikörper und der Gewebefixierung, sowie der histologischen Auswertung.

Bei dem für die Untersuchungen gewonnenen Tumormaterial handelte es sich fast ausschließlich um Biopsien, die ein punktuell gewonnenes Material darstellen. Es ist schwer, Standards in der Gewinnung der Tumorproben zu erlangen. Nach Gewebeentnahme sollte unmittelbar danach mit der Fixierung begonnen werden, um den enzymatischen Stopp sicherzustellen [7].

De Graeff et al. schilderte als Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse in Studien, die einen Zusammenhang zwischen Expression von EGFR und den klinisch-pathologischen Parametern, dem Ansprechen auf die Chemotherapie, sowie dem Gesamtüberleben beschreiben, die methodische Variabilität. Es variieren die Techniken zur Bestimmung der Marker-Expression, die Antikörper an sich, sowie die Bewertungssysteme für die Immunhistochemie [119]. So untersuchten zum Beispiel Jiang et al. sechs Bewertungssysteme der EGFR-Expression, wovon nur eines überzeugte [9]. Ein wichtiger Ansatzpunkt sollte sein, diese Systeme so gut es geht zu vereinheitlichen [227]. Die Verfügbarkeit standardisierter IHC-Protokolle für die pathologische Bewertung könnte das Design für klinische Studien verbessern [193].

Die Probanden waren unterschiedlichen Zentren Deutschlands als auch dem Ausland zugeteilt, sodass unterschiedliche Chirurgen und Pathologen das Tumormaterial bearbeiteten.

Adäquat gewonnenes Material ist eine wichtige Voraussetzung für ein gutes Färbeergebnis, dass unter anderem von der Beschaffenheit des Präparates sowie vom Antikörper für die Färbung selbst abhängig ist. Eine gute Gewebefixierung ist wichtig, da diese sonst zu falsch positiven oder falsch negativen Ergebnissen führen

kann [39]. Die anschließende histologische Auswertung erfolgt semiquantitativ mithilfe eines Bewertungssystems, basierend auf der Farbintensität der Biomarker. In der Literatur finden sich prozentuale Angaben für die Zuteilung in die jeweilige Färbekategorie [39]. Jedoch fehlen hier die genauen Definitionen und Standards wie bereits beschrieben [228].

Obwohl eine internationale Standardisierung wünschenswert wäre, ist diese doch sehr schwer durchführbar, da nicht alle Schritte von ein und derselben Person durchgeführt werden können [229]. Vielmehr bleibt die Beurteilung ein subjektives Vorgehen, das von Pathologen durchgeführt wird, die die Färbung individuell interpretieren [230]. Denkbar wäre hierfür ein Computerprogramm, welches die Auswertung mittels eines geeichten Bewertungssystems übernehmen könnte, um mehr Homogenität im Auswertungsverfahren zu erlangen. Digitale Bildanalyseverfahren sind im Zusammenhang mit der onkologischen Immunhistochemie bereits im Aufkommen [231].

Und dennoch stellt die Immunhistochemie eine schnelle und gute Untersuchungsmethode dar, mithilfe derer ein Überblick über das Expressionslevel von Biomarkern sowie eine hohe Sensitivität und Spezifität erlangt werden kann [230].

6 Zusammenfassung

Das Plattenepithelkarzinom des Ösophagus wird mit einer schlechten Prognose, mit einem 5-Jahresüberleben von 20-30%, in der Literatur beschrieben; eine späte Diagnosestellung ist oftmals dafür verantwortlich. Das Rauchen und der Alkoholkonsum als Hauptrisikofaktor sind vermeidbar, sodass die Inzidenz des Tumors dadurch verringert werden könnte; präventive Früherkennungsuntersuchungen existieren in der Praxis bisher nicht.

Das Tumormaterial von 83 Patienten mit einem fortgeschrittenen und/oder metastasierten, nicht resektablem Plattenepithelkarzinom des Ösophagus aus der POWER Studie wurde an der Universitätsmedizin Mainz untersucht. Die Patienten wurden zuvor zwei Behandlungsarmen zugeteilt; zusätzlich zur Chemotherapie erhielt ein Behandlungsarm den anti-EGFR-Antikörper Panitumumab.

Diese retrospektive Studie war nach meinem Kenntnisstand die bisher größte, die mit einer Studienpopulation von fortgeschrittenem oder metastasiertem Plattenepithelkarzinom des Ösophagus durchgeführt worden ist. Ziel war es, die Expression der Biomarker EGFR, c-Met, CXCR4 und HER2/neu immunhistochemisch zu evaluieren.

Es konnte in dieser Studie gezeigt werden, dass EGFR eine Rolle in der Tumorgenese des Ösophaguskarzinoms spielt. Panitumumab konnte als anti-EGFR-Medikation nicht überzeugen. Jedoch stellte sich c-Met, aufgrund seiner Co-Expression mit EGFR, als möglicher Indikator für die anti-EGFR-Therapie heraus.

Obwohl in dieser Arbeit keiner der Biomarker einen prognostischen Wert aufwies, sollten EGFR und c-Met in weiteren größeren Studien untersucht und validiert werden.

Die molekulare Definition der passenden Subgruppe ist hier essentiell, auch neue Therapieoptionen, wie z. B. Checkpoint-Inhibition unter Inbezugnahme des Immunsystems gewinnt immer mehr an Bedeutung. Eine Kombination von anti-EGFR und Checkpoint-Blockade in zuvor selektierten Patienten ist ein möglicher zukünftiger Ansatzpunkt.

7 Literaturverzeichnis

1. Hirano, H. and K. Kato, *Systemic treatment of advanced esophageal squamous cell carcinoma: chemotherapy, molecular-targeting therapy and immunotherapy*. Japanese Journal of Clinical Oncology, 2019. **49**(5): p. 412-420.
2. Zhang, Y., *Epidemiology of esophageal cancer*. World journal of gastroenterology, 2013. **19**(34): p. 5598-5606.
3. Wittekind, C., *Pathologie und Klassifikation des Ösophaguskarzinoms*. Der Onkologe, 2014. **20**(12): p. 1180-1186.
4. Yang, X., et al., *Clinicopathologic significance of CXCR4 expressions in patients with esophageal squamous cell carcinoma*. Pathology - Research and Practice, 2020. **216**(1): p. 152787.
5. Feldmann, H.J., A. Grosu, and M. Molls, *PALLIATION OF ESOPHAGEAL CANCER: Endoluminal brachytherapy*. Diseases of the Esophagus, 1996. **9**(2): p. 90-97.
6. Gockel, I., et al., *Expression of chemokine receptor CXCR4 in esophageal squamous cell and adenocarcinoma*. BMC cancer, 2006. **6**: p. 290-290.
7. Förster, S. and A. Tannapfel, *Einsatz monoklonaler Antikörper in der pathologischen Diagnostik*. Der Internist, 2019. **60**(10): p. 1021-1031.
8. Zhou, Q., H.G. Hu, and L. Hou, *Discover, Develop & Validate--Advance and Prospect of Tumor Biomarkers*. Clin Lab, 2015. **61**(11): p. 1589-99.
9. Jiang, D., et al., *The prognostic value of EGFR overexpression and amplification in Esophageal squamous cell Carcinoma*. BMC cancer, 2015. **15**: p. 377-377.
10. Wu, H., et al., *Coexpression of EGFR and CXCR4 predicts poor prognosis in resected pancreatic ductal adenocarcinoma*. PloS one, 2015. **10**(2): p. e0116803-e0116803.
11. Koshizuka, K., et al., *Dual-receptor (EGFR and c-MET) inhibition by tumor-suppressive miR-1 and miR-206 in head and neck squamous cell carcinoma*. Journal of Human Genetics, 2017. **62**(1): p. 113-121.
12. Abnet, C.C., M. Arnold, and W.Q. Wei, *Epidemiology of Esophageal Squamous Cell Carcinoma*. Gastroenterology, 2018. **154**(2): p. 360-373.
13. Kaatsch, P., et al., *Krebs in Deutschland 2011/2012*. 2015, Robert Koch-Institut.
14. Torres-Aguilera, M. and J.M. Remes Troche, *Achalasia and esophageal cancer: risks and links*. Clin Exp Gastroenterol, 2018. **11**: p. 309-316.
15. Siewert, J.R., H.J. Stein, and F. Lordick, *Ösophaguskarzinom*, in *Praxis der Viszeralchirurgie Onkologische Chirurgie*, J.R. Siewert, M. Rothmund, and V. Schumpelick, Editors. 2010, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 473-507.
16. Sahm, S. and W.F. Caspary, *Gastroenterologische Onkologie: klinischer Leitfaden für Diagnostik und Therapie; mit 13 Tabellen und 41 Therapieschemata*. 2003: Schattauer Verlag.
17. Rustgi, A.K. and H.B. El-Serag, *Esophageal Carcinoma*. New England Journal of Medicine, 2014. **371**(26): p. 2499-2509.
18. Smyth, E.C., et al., *Oesophageal cancer*. Nat Rev Dis Primers, 2017. **3**: p. 17048.
19. Yang, C.S., X. Chen, and S. Tu, *Etiology and Prevention of Esophageal Cancer*. Gastrointest Tumors, 2016. **3**(1): p. 3-16.
20. Kitagawa, Y., et al., *Esophageal cancer practice guidelines 2017 edited by the Japan Esophageal Society: part 1*. Esophagus, 2019. **16**(1): p. 1-24.
21. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, D.K., AWMF): S3-Leitlinie Diagnostik und Therapie der Plattenepithelkarzinome und Adenokarzinome des Ösophagus, Langversion 2.0, 2018, AWMF Registernummer: 021/023OL, <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Leitlinien.7.0.html> (Zugriff am: 15.05.2019).

22. Murphy, G., et al., *International cancer seminars: a focus on esophageal squamous cell carcinoma*. Ann Oncol, 2017. **28**(9): p. 2086-2093.
23. Lundell, L.R., *Etiology and risk factors for esophageal carcinoma*. Dig Dis, 2010. **28**(4-5): p. 641-4.
24. Mork, J., et al., *Human Papillomavirus Infection as a Risk Factor for Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck*. New England Journal of Medicine, 2001. **344**(15): p. 1125-1131.
25. Enzinger, P.C. and R.J. Mayer, *Esophageal Cancer*. 2003. **349**(23): p. 2241-2252.
26. Stein, H., et al., *Ösophaguskarzinom*, in *Therapie gastrointestinaler Tumoren*. 2000, Springer. p. 187-207.
27. Leichman, L. and C.R. Thomas, Jr., *Squamous cell cancer of the esophagus: the forgotten one*. Gastrointestinal cancer research : GCR, 2011. **4**(1): p. 22-23.
28. Cao, F., et al., *HPV infection in esophageal squamous cell carcinoma and its relationship to the prognosis of patients in northern China*. ScientificWorldJournal, 2014. **2014**: p. 804738.
29. D'Souza, G., et al., *Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer*. N Engl J Med, 2007. **356**(19): p. 1944-56.
30. Thuss-Patience, P., M. Biebl, and C.J.D.O. Stromberger, *Multimodale Therapie des Ösophaguskarzinoms*. 2017. **23**(9): p. 771-788.
31. Kiesslich, R., et al., *Diagnostik und Therapie des Ösophaguskarzinoms*. Der Internist, 2012. **53**(11): p. 1315-1329.
32. Nash, C.L. and H. Gerdes, *Methods of palliation of esophageal and gastric cancer*. Surgical Oncology Clinics of North America, 2002. **11**(2): p. 459-483.
33. Leiper, K. and A.I. Morris, *Treatment of Oesophago-Gastric Tumours*. Endoscopy, 2002. **34**(02): p. 139-145.
34. Jaffer, A.A., et al., *Esophageal and Esophagogastric Junction Cancers, Version 2.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology*. Journal of the National Comprehensive Cancer Network J Natl Compr Canc Netw, 2019. **17**(7): p. 855-883.
35. Campbell, N.P. and V.M. Villaflor, *Neoadjuvant treatment of esophageal cancer*. World journal of gastroenterology, 2010. **16**(30): p. 3793-3803.
36. Siewert, J.R., M. Feith, and H.J. Stein, *Ösophagektomie als chirurgisches Therapieprinzip beim Plattenepithelkarzinom des Ösophagus*. Der Chirurg, 2005. **76**(11): p. 1033-1043.
37. Islami, F., et al., *Alcohol drinking and esophageal squamous cell carcinoma with focus on light-drinkers and never-smokers: A systematic review and meta-analysis*. International Journal of Cancer, 2011. **129**(10): p. 2473-2484.
38. Hoepfner, J., et al., *Das Adenokarzinom des Ösophagus–Bestandsaufnahme einer drastisch zunehmenden Erkrankung*. 2017. **142**(19): p. 1453-1460.
39. Moelans, C.B., et al., *Her-2/neu testing and therapy in gastroesophageal adenocarcinoma*. Pathology research international, 2010. **2011**: p. 674182-674182.
40. Wang, C., et al., *Immunohistochemical prognostic markers of esophageal squamous cell carcinoma: a systematic review*. Chinese journal of cancer, 2017. **36**(1): p. 65-65.
41. Iyer, R.B., et al., *Diagnosis, Staging, and Follow-Up of Esophageal Cancer*. American Journal of Roentgenology, 2003. **181**(3): p. 785-793.
42. Giese, A., J.J.T. Schweinfurth, and Therapie, *Übersicht–Endoskopische Diagnostik von Malignomen des Ösophagus und des Magens*. 2013. **34**(04): p. 195-197.
43. Fried, M. and W. Schwizer, *10 Dysphagie und Singultus*.
44. Kerker, J. and A. Schäfer, *Endoskopie und Endosonografie*. Im Focus Onkologie, 2012. **15**(4): p. 47-53.
45. Stahl, M., et al., *Oesophageal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†*. Annals of Oncology, 2013. **24**(suppl_6): p. vi51-vi56.
46. Behrens, A., et al., *Präkanzerosen im Ösophagus*. Der Internist, 2013. **54**(6): p. 683-690.
47. Dubuc, J., et al., *Endoscopic screening for esophageal squamous-cell carcinoma in high-risk patients: a prospective study conducted in 62 French endoscopy centers*. Endoscopy, 2006. **38**(7): p. 690-5.

48. Tanioka, Y., et al., *Matrix metalloproteinase-7 and matrix metalloproteinase-9 are associated with unfavourable prognosis in superficial oesophageal cancer*. British Journal of Cancer, 2003. **89**(11): p. 2116-2121.
49. Mansour, N.M. and S. Anandasabapathy, *Lugol's Chromoendoscopy in the Screening of Esophageal Squamous Cell Carcinoma: Time to Take a Closer Look?* Clinical Gastroenterology and Hepatology, 2018. **16**(10): p. 1562-1563.
50. Kaneko, K., et al., *Study of p53 gene alteration as a biomarker to evaluate the malignant risk of Lugol-unstained lesion with non-dysplasia in the oesophagus*. Br J Cancer, 2007. **96**(3): p. 492-8.
51. Tirumani, H., et al., *Esophageal Carcinoma: Current Concepts in the Role of Imaging in Staging and Management*. Canadian Association of Radiologists Journal, 2015. **66**(2): p. 130-139.
52. Menges, M., *Therapeutic progress in oesophageal and gastric cancer*. Dtsch Med Wochenschr, 2003. **128 Suppl 2**: p. S61-3.
53. van Vliet, E.P.M., et al., *Staging investigations for oesophageal cancer: a meta-analysis*. British Journal of Cancer, 2008. **98**(3): p. 547-557.
54. Wong, R.K.S., et al., *Combined modality radiotherapy and chemotherapy in nonsurgical management of localized carcinoma of the esophagus: A practice guideline*. International Journal of Radiation Oncology*Biophysics, 2003. **55**(4): p. 930-942.
55. Liebermann-Meffert, D., *Anatomy and innervation*. Diseases of the Esophagus, 1995. **8**(4): p. 242-251.
56. Noordman, B.J., et al., *Accuracy of Detecting Residual Disease After Cross Neoadjuvant Chemoradiotherapy for Esophageal Cancer (preSANO Trial): Rationale and Protocol*. JMIR research protocols, 2015. **4**(2): p. e79-e79.
57. Bruzzi, J.F., et al., *PET/CT of Esophageal Cancer: Its Role in Clinical Management*. RadioGraphics, 2007. **27**(6): p. 1635-1652.
58. Bosset, J.-F., et al., *Chemoradiotherapy Followed by Surgery Compared with Surgery Alone in Squamous-Cell Cancer of the Esophagus*. New England Journal of Medicine, 1997. **337**(3): p. 161-167.
59. Boone, J., et al., *International survey on esophageal cancer: part I surgical techniques*. Dis Esophagus, 2009. **22**(3): p. 195-202.
60. Halm, U. and H. Witzigmann, *Ösophagustumoren*, in *Therapie gastroenterologischer Krankheiten*. 2005, Springer. p. 24-30.
61. Siewert, J.R., et al., *Esophageal Cancer: Surgery of squamous cell carcinoma of the esophagus* *. Annals of Oncology, 1994. **5**(suppl_3): p. S1-S7.
62. van Hagen, P., et al., *Preoperative chemoradiotherapy for esophageal or junctional cancer*. New England Journal of Medicine, 2012. **366**(22): p. 2074-2084.
63. Stahl, M., et al., *Chemoradiation With and Without Surgery in Patients With Locally Advanced Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus*. Journal of Clinical Oncology, 2005. **23**(10): p. 2310-2317.
64. Morgan, M.A., et al., *Stage-for-stage comparison of definitive chemoradiotherapy, surgery alone and neoadjuvant chemotherapy for oesophageal carcinoma*. BJS (British Journal of Surgery), 2009. **96**(11): p. 1300-1307.
65. Tepper, J., et al., *Phase III trial of trimodality therapy with cisplatin, fluorouracil, radiotherapy, and surgery compared with surgery alone for esophageal cancer: CALGB 9781*. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology, 2008. **26**(7): p. 1086-1092.
66. Fritz, P., et al., *[Concurrent chemotherapy and radiation therapy for unresectable locally advanced carcinoma of the esophagus. Phase II study and clinical review on literature]*. Strahlenther Onkol, 2003. **179**(5): p. 328-36.
67. Junginger, T., et al., *[Palliative care for patients with oesophageal cancer]*. Zentralbl Chir, 2010. **135**(6): p. 541-6.

68. Kawamoto, T., et al., *Palliative radiotherapy and chemoradiotherapy in stage IVA/B esophageal cancer patients with dysphagia*. International Journal of Clinical Oncology, 2018. **23**(6): p. 1076-1083.
69. Suzuki, G., et al., *Palliative Radiotherapy in the Local Management of Stage IVB Esophageal Cancer: Factors Affecting Swallowing and Survival*. Anticancer Res, 2017. **37**(6): p. 3085-3092.
70. Eickhoff, A., R. Jakobs, and J.F. Riemann, *[Palliative treatment options for esophageal and gastric cancer]*. Der Internist, 2004. **45**(7): p. 756-768.
71. Weigel, T.L., C. Frumiento, and E. Gaumintz, *Endoluminal palliation for dysphagia secondary to esophageal carcinoma*. The Surgical clinics of North America, 2002. **82**(4): p. 747-761.
72. Cooper, J.S., et al., *Chemoradiotherapy of Locally Advanced Esophageal Cancer Long-term Follow-up of a Prospective Randomized Trial (RTOG 85-01)*. JAMA, 1999. **281**(17): p. 1623-1627.
73. Hingorani, M., et al., *Palliative Radiotherapy in the Presence of Well-Controlled Metastatic Disease after Initial Chemotherapy May Prolong Survival in Patients with Metastatic Esophageal and Gastric Cancer*. Cancer research and treatment : official journal of Korean Cancer Association, 2015. **47**(4): p. 706-717.
74. Herth, F.J.F., et al., *Combined airway and oesophageal stenting in malignant airway-oesophageal fistulas: a prospective study*. European Respiratory Journal, 2010. **36**(6): p. 1370.
75. Lambert, R., *Treatment of Esophagogastric Tumors*. Endoscopy, 2003. **35**(02): p. 118-126.
76. Fujita, H., et al., *Optimum treatment strategy for superficial esophageal cancer: endoscopic mucosal resection versus radical esophagectomy*. World J Surg, 2001. **25**(4): p. 424-31.
77. Voncken, F.E.M., et al., *Radiation-induced liver injury mimicking liver metastases on FDG-PET-CT after chemoradiotherapy for esophageal cancer*. Strahlentherapie und Onkologie, 2018. **194**(2): p. 156-163.
78. Yu, T., et al., *Diagnostic Accuracy of Magnifying Endoscopy with Narrow Band Imaging and Its Diagnostic Value for Invasion Depth Staging in Esophageal Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Biomed Res Int, 2018. **2018**: p. 8591387.
79. Kunisaki, C., et al., *Surgical Outcomes in Esophageal Cancer Patients with Tumor Recurrence After Curative Esophagectomy*. Journal of Gastrointestinal Surgery, 2008. **12**(5): p. 802-810.
80. Lerut, T., et al., *Three-field lymphadenectomy for carcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction in 174 R0 resections: impact on staging, disease-free survival, and outcome: a plea for adaptation of TNM classification in upper-half esophageal carcinoma*. Annals of surgery, 2004. **240**(6): p. 962-974.
81. Guan, X., et al., *Survival and prognostic factors of patients with esophageal fistula in advanced esophageal squamous cell carcinoma*. Bioscience reports, 2020. **40**(1): p. BSR20193379.
82. Dipetrillo, T., et al., *Neoadjuvant paclitaxel poliglumex, cisplatin, and radiation for esophageal cancer: a phase 2 trial*. Am J Clin Oncol, 2012. **35**(1): p. 64-7.
83. Hsu, P.-K., et al., *Prognostic Factors for Post-recurrence Survival in Esophageal Squamous Cell Carcinoma Patients with Recurrence after Resection*. Journal of Gastrointestinal Surgery, 2011. **15**(4): p. 558-565.
84. Wang, Y., et al., *Increased MET gene copy number negatively affects the survival of esophageal squamous cell carcinoma patients*. BMC cancer, 2019. **19**(1): p. 240-240.
85. Osugi, H., et al., *Prognostic factors after oesophagectomy and extended lymphadenectomy for squamous oesophageal cancer*. Br J Surg, 2002. **89**(7): p. 909-13.
86. Hwang, J.Y., et al., *A Propensity-matched Analysis Comparing Survival After Esophagectomy Followed by Adjuvant Chemoradiation to Surgery Alone for Esophageal Squamous Cell Carcinoma*. Ann Surg, 2016. **264**(1): p. 100-6.
87. Shimada, H., et al., *Treatment response and prognosis of patients after recurrence of esophageal cancer*. Surgery, 2003. **133**(1): p. 24-31.

88. Shaw, R.J. and L.C. Cantley, *Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth*. Nature, 2006. **441**(7092): p. 424-430.
89. Vivanco, I. and C.L. Sawyers, *The phosphatidylinositol 3-Kinase–AKT pathway in human cancer*. Nature Reviews Cancer, 2002. **2**(7): p. 489-501.
90. Mendelsohn, J. and J. Baselga, *Status of Epidermal Growth Factor Receptor Antagonists in the Biology and Treatment of Cancer*. Journal of Clinical Oncology, 2003. **21**(14): p. 2787-2799.
91. Jungbluth, A.A., et al., *A monoclonal antibody recognizing human cancers with amplification/overexpression of the human epidermal growth factor receptor*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2003. **100**(2): p. 639.
92. Hanawa, M., et al., *EGFR protein overexpression and gene amplification in squamous cell carcinomas of the esophagus*. International Journal of Cancer, 2006. **118**(5): p. 1173-1180.
93. Sidransky, D., *Emerging molecular markers of cancer*. Nature Reviews Cancer, 2002. **2**(3): p. 210-219.
94. Hayes, D.F., et al., *Tumor Marker Utility Grading System: a Framework to Evaluate Clinical Utility of Tumor Markers*. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 1996. **88**(20): p. 1456-1466.
95. Drucker, E. and K. Krapfenbauer, *Pitfalls and limitations in translation from biomarker discovery to clinical utility in predictive and personalised medicine*. The EPMA journal, 2013. **4**(1): p. 7-7.
96. Natsugoe, S., et al., *Micrometastasis and tumor cell microinvolvement of lymph nodes from esophageal squamous cell carcinoma*. Cancer, 1998. **83**(5): p. 858-866.
97. Wee, P. and Z. Wang, *Epidermal Growth Factor Receptor Cell Proliferation Signaling Pathways*. Cancers (Basel), 2017. **9**(5).
98. Scaltriti, M. and J. Baselga, *The Epidermal Growth Factor Receptor Pathway: A Model for Targeted Therapy*. Clinical Cancer Research, 2006. **12**(18): p. 5268.
99. Sibilias, M., et al., *The epidermal growth factor receptor: from development to tumorigenesis*. Differentiation, 2007. **75**(9): p. 770-87.
100. Burgess, A.W., et al., *An Open-and-Shut Case? Recent Insights into the Activation of EGF/ErbB Receptors*. Molecular Cell, 2003. **12**(3): p. 541-552.
101. Fischer, O.M., et al., *EGFR signal transactivation in cancer cells*. Biochemical Society Transactions, 2003. **31**(6): p. 1203-1208.
102. Lordick, F., et al., *Capecitabine and cisplatin with or without cetuximab for patients with previously untreated advanced gastric cancer (EXPAND): a randomised, open-label phase 3 trial*. The Lancet Oncology, 2013. **14**(6): p. 490-499.
103. Wang, K.L., et al., *Expression of epidermal growth factor receptor in esophageal and esophagogastric junction adenocarcinomas*. Cancer, 2007. **109**(4): p. 658-667.
104. Yang, B.-B., et al., *Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Perspectives on the Clinical Drug Development of Panitumumab*. Clinical Pharmacokinetics, 2010. **49**(11): p. 729-740.
105. Citri, A. and Y. Yarden, *EGF–ERBB signalling: towards the systems level*. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2006. **7**(7): p. 505-516.
106. Jorissen, R.N., et al., *Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling*. Experimental Cell Research, 2003. **284**(1): p. 31-53.
107. Hynes, N.E. and H.A. Lane, *ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors*. Nat Rev Cancer, 2005. **5**(5): p. 341-54.
108. Anvari, K., et al., *EGFR Expression in Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma and its Association with Pathologic Response to Preoperative Chemoradiotherapy: A Study in Northeastern Iran*. Arch Iran Med, 2017. **20**(4): p. 240-245.
109. Khanna, P., et al., *The JAK/STAT signaling cascade in gastric carcinoma (Review)*. Int J Oncol, 2015. **47**(5): p. 1617-26.
110. Aaronson, D.S. and C.M. Horvath, *A Road Map for Those Who Don't Know JAK-STAT*. Science, 2002. **296**(5573): p. 1653.

111. Lorenzen, S., et al., *Cetuximab plus cisplatin–5-fluorouracil versus cisplatin–5-fluorouracil alone in first-line metastatic squamous cell carcinoma of the esophagus: a randomized phase II study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie*. *Annals of Oncology*, 2009. **20**(10): p. 1667-1673.
112. Yamaguchi, N., et al., *Usefulness of oral prednisolone in the treatment of esophageal stricture after endoscopic submucosal dissection for superficial esophageal squamous cell carcinoma*. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2011. **73**(6): p. 1115-1121.
113. Yoshioka, M., et al., *Distinct effects of EGFR inhibitors on epithelial- and mesenchymal-like esophageal squamous cell carcinoma cells*. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017. **36**(1): p. 101.
114. Ang, K.K., N.H. Andratschke, and L. Milas, *Epidermal growth factor receptor and response of head-and-neck carcinoma to therapy*. *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*, 2004. **58**(3): p. 959-965.
115. Wells, A., *EGF receptor*. *Int J Biochem Cell Biol*, 1999. **31**(6): p. 637-43.
116. Ciardiello, F. and G. Tortora, *EGFR Antagonists in Cancer Treatment*. *New England Journal of Medicine*, 2008. **358**(11): p. 1160-1174.
117. Arteaga, C.L., *The epidermal growth factor receptor: from mutant oncogene in nonhuman cancers to therapeutic target in human neoplasia*. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 2001. **19**(18 Suppl): p. 32S-40S.
118. Bianco, R., et al., *Rational bases for the development of EGFR inhibitors for cancer treatment*. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2007. **39**(7-8): p. 1416-1431.
119. de Graeff, P., et al., *The ErbB signalling pathway: protein expression and prognostic value in epithelial ovarian cancer*. *British journal of cancer*, 2008. **99**(2): p. 341-349.
120. Hubbard, S.R., *EGF receptor inhibition: Attacks on multiple fronts*. *Cancer Cell*, 2005. **7**(4): p. 287-288.
121. Birchmeier, C., et al., *Met, metastasis, motility and more*. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2003. **4**(12): p. 915-925.
122. Harshman, L.C. and T.K. Choueiri, *Targeting the hepatocyte growth factor/c-Met signaling pathway in renal cell carcinoma*. *Cancer J*, 2013. **19**(4): p. 316-23.
123. Gherardi, E., et al., *Targeting MET in cancer: rationale and progress*. *Nature Reviews Cancer*, 2012. **12**(2): p. 89-103.
124. Ghanaatgar-Kasbi, S., et al., *Targeting the C-MET/HGF Signaling Pathway in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma*. *Curr Pharm Des*, 2018. **24**(39): p. 4619-4625.
125. Scagliotti, G.V., S. Novello, and J. von Pawel, *The emerging role of MET/HGF inhibitors in oncology*. *Cancer Treatment Reviews*, 2013. **39**(7): p. 793-801.
126. Zhen, R., et al., *Hepatocyte growth factor improves bone regeneration via the bone morphogenetic protein2mediated NFkappaB signaling pathway*. *Mol Med Rep*, 2018. **17**(4): p. 6045-6053.
127. Cheng, G., X. Tang, and J. Zhang, *Hepatocyte growth factor exerts beneficial effects on mice with type II diabetesinduced chronic renal failure via the NFkappaB pathway*. *Mol Med Rep*, 2018. **18**(3): p. 3389-3396.
128. Jiang, Q., Y. Sun, and X. Liu, *CXCR4 as a prognostic biomarker in gastrointestinal cancer: a meta-analysis*. *Biomarkers*, 2019. **24**(6): p. 510-516.
129. Lin, Y., et al., *Combination of PET and CXCR4-Targeted Peptide Molecule Agents for Noninvasive Tumor Monitoring*. *Journal of Cancer*, 2019. **10**(15): p. 3420-3426.
130. Kaifi, J.T., et al., *Tumor-Cell Homing to Lymph Nodes and Bone Marrow and CXCR4 Expression in Esophageal Cancer*. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 2005. **97**(24): p. 1840-1847.
131. Scala, S., et al., *New Insights on the Emerging Genomic Landscape of CXCR4 in Cancer: A Lesson from WHIM*. *Vaccines*, 2020. **8**(2): p. 164.
132. Chatterjee, S., B. Behnam Azad, and S. Nimmagadda, *The intricate role of CXCR4 in cancer*. *Advances in cancer research*, 2014. **124**: p. 31-82.

133. Salgia, R., et al., *Prognostic and predictive value of circulating tumor cells and CXCR4 expression as biomarkers for a CXCR4 peptide antagonist in combination with carboplatin-etoposide in small cell lung cancer: exploratory analysis of a phase II study*. Investigational new drugs, 2017. **35**(3): p. 334-344.
134. Oum, Y.H., et al., *A benzenesulfonamide derivative as a novel PET radioligand for CXCR4*. Bioorg Med Chem, 2019: p. 115240.
135. Lu, C.L., et al., *Cxcr4 heterogeneous expression in esophageal squamous cell cancer and stronger metastatic potential with Cxcr4-positive cancer cells*. Diseases of the Esophagus, 2014. **27**(3): p. 294-302.
136. De-Colle, C., et al., *SDF-1/CXCR4 expression in head and neck cancer and outcome after postoperative radiochemotherapy*. Clinical and Translational Radiation Oncology, 2017. **5**: p. 28-36.
137. Fang, H.-Y., et al., *Hypoxia-inducible factors 1 and 2 are important transcriptional effectors in primary macrophages experiencing hypoxia*. Blood, 2009. **114**(4): p. 844-859.
138. Nieto, J.C., et al., *Selective loss of chemokine receptor expression on leukocytes after cell isolation*. PloS one, 2012. **7**(3): p. e31297-e31297.
139. Traina, A., et al., *HER2/neu Expression in Relation to Clinicopathologic Features of Breast Cancer Patients*. Annals of the New York Academy of Sciences, 2006. **1089**(1): p. 159-167.
140. Siddig, A., et al., *HER-2/neu Ile655Val Polymorphism and the Risk of Breast Cancer*. Annals of the New York Academy of Sciences, 2008. **1138**(1): p. 84-94.
141. Koeppen, H.K.W., et al., *Overexpression of HER2/neu in solid tumours: an immunohistochemical survey*. Histopathology, 2001. **38**(2): p. 96-104.
142. Hynes, N.E. and D.F. Stern, *The biology of erbB-2/nue/HER-2 and its role in cancer*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer, 1994. **1198**(2): p. 165-184.
143. Anido, J., et al., *Biosynthesis of tumorigenic HER2 C-terminal fragments by alternative initiation of translation*. The EMBO Journal, 2006. **25**(13): p. 3234-3244.
144. Valabrega, G., F. Montemurro, and M. Aglietta, *Trastuzumab: mechanism of action, resistance and future perspectives in HER2-overexpressing breast cancer*. Annals of Oncology, 2007. **18**(6): p. 977-984.
145. Koumaki, D., et al., *Panitumumab-Induced Eruptive Seborrhoeic Keratosis in a Patient with Metastatic Colorectal Cancer*. European journal of case reports in internal medicine, 2020. **7**(2): p. 001411-001411.
146. Kähler, K.C. and A. Hauschild, *Hautveränderungen durch „targeted therapies“ bei onkologischen Patienten*. Der Hautarzt, 2009. **60**(5): p. 433-440.
147. Arteaga, C.L., *Overview of epidermal growth factor receptor biology and its role as a therapeutic target in human neoplasia*. Seminars in Oncology, 2002. **29**(5, Supplement 14): p. 3-9.
148. Pérez-Herrero, E. and A. Fernández-Medarde, *Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2015. **93**: p. 52-79.
149. Bouché, O., et al., *Management of skin toxicities during panitumumab treatment in metastatic colorectal cancer*. World journal of gastroenterology, 2019. **25**(29): p. 4007-4018.
150. Battaglin, F., et al., *The impact of panitumumab treatment on survival and quality of life in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer*. Cancer management and research, 2019. **11**: p. 5911-5924.
151. Messersmith, W.A. and M. Hidalgo, *Panitumumab, a Monoclonal Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibody in Colorectal Cancer: Another One or the One?* Clinical Cancer Research, 2007. **13**(16): p. 4664.
152. Ketzer, S., et al., *Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of the Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitor Panitumumab in the Treatment of Colorectal Cancer*. Clinical pharmacokinetics, 2018. **57**(4): p. 455-473.

153. Xiong, H.Q., et al., *Cetuximab, a Monoclonal Antibody Targeting the Epidermal Growth Factor Receptor, in Combination With Gemcitabine for Advanced Pancreatic Cancer: A Multicenter Phase II Trial*. Journal of Clinical Oncology, 2004. **22**(13): p. 2610-2616.
154. Stremtizer, S., et al., *Panitumumab safety for treating colorectal cancer*. Expert Opinion on Drug Safety, 2014. **13**(6): p. 843-851.
155. Yang, X.D., et al., *Eradication of established tumors by a fully human monoclonal antibody to the epidermal growth factor receptor without concomitant chemotherapy*. Cancer Res, 1999. **59**(6): p. 1236-43.
156. Wadlow, R.C., et al., *Panitumumab in patients with KRAS wild-type colorectal cancer after progression on cetuximab*. The oncologist, 2012. **17**(1): p. 14-14.
157. Saif, M.W., et al., *Safety and Efficacy of Panitumumab Therapy After Progression With Cetuximab: Experience at Two Institutions*. Clinical Colorectal Cancer, 2010. **9**(5): p. 315-318.
158. Dubois, E.A. and A.F. Cohen, *Panitumumab*. British journal of clinical pharmacology, 2009. **68**(4): p. 482-483.
159. Winkeljohn, D.L.C.j.o.o.n., *Review of panitumumab: a targeted therapy*. 2008. **12**(1): p. 30.
160. Voigt, M., et al., *Functional dissection of the epidermal growth factor receptor epitopes targeted by panitumumab and cetuximab*. Neoplasia (New York, N.Y.), 2012. **14**(11): p. 1023-1031.
161. Montagut, C., et al., *Identification of a mutation in the extracellular domain of the Epidermal Growth Factor Receptor conferring cetuximab resistance in colorectal cancer*. Nature Medicine, 2012. **18**(2): p. 221-223.
162. Hofheinz, R.-D., et al., *Management of adverse events during treatment of gastrointestinal cancers with epidermal growth factor inhibitors*. Critical Reviews in Oncology/Hematology, 2017. **114**: p. 102-113.
163. Jaka, A., et al., *Predictors of Tumor Response to Cetuximab and Panitumumab in 116 Patients and a Review of Approaches to Managing Skin Toxicity*. Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition), 2015. **106**(6): p. 483-492.
164. Modest, D.P., et al., *Panitumumab-based maintenance after oxaliplatin discontinuation in metastatic colorectal cancer: A retrospective analysis of two randomised trials*. International journal of cancer, 2019. **145**(2): p. 576-585.
165. Ramos-Vara, J.A., *Technical Aspects of Immunohistochemistry*. Veterinary Pathology, 2005. **42**(4): p. 405-426.
166. Hantschke, M. and G. Palmedo, *Immunhistologische Techniken*, in *Histopathologie der Haut*, L. Cerroni, et al., Editors. 2015, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 1-28.
167. Javois, L.C., *Immunocytochemical methods and protocols*. Vol. 115. 1999: Springer.
168. Mulisch, M., *Nachweisverfahren und Detektion*, in *Verfahren der Immunlokalisation: Ein Überblick*, M. Mulisch, Editor. 2014, Springer Fachmedien Wiesbaden: Wiesbaden. p. 11-25.
169. Moehler, M., et al., *Cisplatin and 5-fluorouracil with or without epidermal growth factor receptor inhibition panitumumab for patients with non-resectable, advanced or metastatic oesophageal squamous cell cancer: a prospective, open-label, randomised phase III AIO/EORTC trial (POWER)*. Ann Oncol, 2020. **31**(2): p. 228-235.
170. Harding, J. and B. Burtness, *Cetuximab: an epidermal growth factor receptor chimeric human-murine monoclonal antibody*. Drugs of today (Barcelona, Spain : 1998), 2005. **41**(2): p. 107-127.
171. Normanno, N., et al., *Target-based agents against ErbB receptors and their ligands: a novel approach to cancer treatment*. Endocrine-related cancer Endocr Relat Cancer Endocr. Relat. Cancer, 2003. **10**(1): p. 1-21.
172. Galizia, G., et al., *Cetuximab, a chimeric human mouse anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody, in the treatment of human colorectal cancer*. Oncogene, 2007. **26**(25): p. 3654-3660.
173. Mehner, C., et al., *EGFR as a prognostic biomarker and therapeutic target in ovarian cancer: evaluation of patient cohort and literature review*. Genes & cancer, 2017. **8**(5-6): p. 589-599.

174. Smilek, P., et al., *Correlation of expression of Ki-67, EGFR, c-erbB-2, MMP-9, p53, bcl-2, CD34 and cell cycle analysis with survival in head and neck squamous cell cancer*. J Exp Clin Cancer Res, 2006. **25**(4): p. 549-55.
175. Zhang, W., et al., *Epidermal growth factor receptor is a prognosis predictor in patients with esophageal squamous cell carcinoma*. Ann Thorac Surg, 2014. **98**(2): p. 513-9.
176. Baselga, J., *Why the epidermal growth factor receptor? The rationale for cancer therapy*. The oncologist, 2002. **7 Suppl 4**: p. 2-8.
177. Azemar, M., et al., *Recombinant antibody toxins specific for ErbB2 and EGF receptor inhibit the in vitro growth of human head and neck cancer cells and cause rapid tumor regression in vivo*. International journal of cancer, 2000. **86**(2): p. 269-275.
178. Stahl, M., et al., *Perioperative chemotherapy with or without epidermal growth factor receptor blockade in unselected patients with locally advanced oesophagogastric adenocarcinoma: Randomized phase II study with advanced biomarker program of the German Cancer Society (AIO/CAO STO-0801)*. European Journal of Cancer, 2018. **93**: p. 119-126.
179. Vermorken, J.B., et al., *Cisplatin and fluorouracil with or without panitumumab in patients with recurrent or metastatic squamous-cell carcinoma of the head and neck (SPECTRUM): an open-label phase 3 randomised trial*. The Lancet Oncology, 2013. **14**(8): p. 697-710.
180. Lörz, M., R. Bettinger, and E.J.L.-R.-O. Meyer-Breiting, *Epidermal growth factor (EGF)-rezeptoren bei Plattenepithelkarzinomen aus dem Kopf-Hals-Bereich*. 1991. **70**(08): p. 438-440.
181. Tabasinezhad, M., et al., *The effects of somatic mutations on EGFR interaction with anti-EGFR monoclonal antibodies: Implication for acquired resistance*. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 2020. **88**(1): p. 3-14.
182. Xu, Y., et al., *Expression and clinical significance of c-Met in advanced esophageal squamous cell carcinoma*. BMC Cancer, 2015. **15**: p. 6.
183. Chae, Y.K., et al., *The Association between EGFR and cMET Expression and Phosphorylation and Its Prognostic Implication in Patients with Breast Cancer*. PloS one, 2016. **11**(4): p. e0152585-e0152585.
184. Chan, E., et al., *EGFR family and cMet expression profiles and prognostic significance in esophagogastric adenocarcinoma*. Journal of gastrointestinal oncology, 2016. **7**(6): p. 838-847.
185. Ko, B., et al., *MET/HGF pathway activation as a paradigm of resistance to targeted therapies*. Ann Transl Med, 2017. **5**(1): p. 4.
186. Sweeny, L., et al., *EGFR expression in advanced head and neck cutaneous squamous cell carcinoma*. Head & Neck, 2012. **34**(5): p. 681-686.
187. Zimmermann, M., et al., *The epidermal growth factor receptor (EGFR) in head and neck cancer: its role and treatment implications*. Radiation Oncology, 2006. **1**(1): p. 11.
188. Xu, Y.-P., et al., *C-Met as a Molecular Marker for Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Its Association with Clinical Outcome*. Journal of Cancer, 2016. **7**(5): p. 587-594.
189. Ozawa, Y., et al., *c-Met in esophageal squamous cell carcinoma: an independent prognostic factor and potential therapeutic target*. BMC Cancer, 2015. **15**: p. 451.
190. Wang, Y., et al., *Increased MET gene copy number negatively affects the survival of esophageal squamous cell carcinoma patients*. BMC Cancer, 2019. **19**(1): p. 240.
191. Zhou, Z.H., et al., *[Predictive value of c-met for long-term mortality in patients with esophageal squamous cell carcinoma]*. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2016. **36**(8): p. 1153-6.
192. Grugan, K.D., et al., *A common p53 mutation (R175H) activates c-Met receptor tyrosine kinase to enhance tumor cell invasion*. Cancer biology & therapy, 2013. **14**(9): p. 853-859.
193. Davies, S., et al., *High incidence of ErbB3, ErbB4, and MET expression in ovarian cancer*. International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists, 2014. **33**(4): p. 402-410.

194. Ozawa, Y., et al., *c-Met in esophageal squamous cell carcinoma: an independent prognostic factor and potential therapeutic target*. BMC cancer, 2015. **15**: p. 451-451.
195. Organ, S.L. and M.-S. Tsao, *An overview of the c-MET signaling pathway*. Therapeutic advances in medical oncology, 2011. **3**(1 Suppl): p. S7-S19.
196. Grugan, K.D., et al., *Fibroblast-secreted hepatocyte growth factor plays a functional role in esophageal squamous cell carcinoma invasion*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(24): p. 11026-31.
197. Titmarsh, H.F., et al., *The Emerging Role of the c-MET-HGF Axis in Non-small Lung Cancer Tumor Immunology and Immunotherapy*. Front Oncol, 2020. **10**: p. 54.
198. Mesteri, I., et al., *Overexpression of CMET is associated with signal transducer and activator of transcription 3 activation and diminished prognosis in oesophageal adenocarcinoma but not in squamous cell carcinoma*. Eur J Cancer, 2014. **50**(7): p. 1354-60.
199. Van Der Steen, N., et al., *The Role of c-Met as a Biomarker and Player in Innate and Acquired Resistance in Non-Small-Cell Lung Cancer: Two New Mutations Warrant Further Studies*. Molecules (Basel, Switzerland), 2019. **24**(24): p. 4443.
200. Xu, Y., et al., *Expression and clinical significance of c-Met in advanced esophageal squamous cell carcinoma*. BMC cancer, 2015. **15**: p. 6-6.
201. Gymnopoulos, M., et al., *TR1801-ADC: a highly potent cMet antibody-drug conjugate with high activity in patient-derived xenograft models of solid tumors*. Molecular oncology, 2020. **14**(1): p. 54-68.
202. Lee, J.I., et al., *Prognostic significance of CXCR4 expression in oral squamous cell carcinoma*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009. **107**(5): p. 678-84.
203. Yu, C. and Y. Zhang, *Characterization of the prognostic values of CXCR family in gastric cancer*. Cytokine, 2019. **123**: p. 154785.
204. Guo, K., et al., *CXCR4 and CXCR3 are two distinct prognostic biomarkers in breast cancer: Database mining for CXCR family members*. Molecular medicine reports, 2019. **20**(6): p. 4791-4802.
205. Yue, D., et al., *Chloroquine Inhibits Stemness of Esophageal Squamous Cell Carcinoma Cells Through Targeting CXCR4-STAT3 Pathway*. Frontiers in oncology, 2020. **10**: p. 311-311.
206. Kawaguchi, N., T.-T. Zhang, and T. Nakanishi, *Involvement of CXCR4 in Normal and Abnormal Development*. Cells, 2019. **8**(2): p. 185.
207. Schimanski, C.C., P.R. Galle, and M. Moehler, *Chemokine receptor CXCR4-prognostic factor for gastrointestinal tumors*. World J Gastroenterol, 2008. **14**(30): p. 4721-4.
208. Goto, M., et al., *CXCR4 Expression is Associated with Poor Prognosis in Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma*. Annals of Surgical Oncology, 2017. **24**(3): p. 832-840.
209. Tachezy, M., et al., *CXCR7 expression in esophageal cancer*. Journal of translational medicine, 2013. **11**: p. 238-238.
210. Neve Polimeno, M., et al., *CXCR4 expression affects overall survival of HCC patients whereas CXCR7 expression does not*. Cellular & molecular immunology, 2015. **12**(4): p. 474-482.
211. González-Arriagada, W.A., et al., *Clinicopathological significance of chemokine receptor (CCR1, CCR3, CCR4, CCR5, CCR7 and CXCR4) expression in head and neck squamous cell carcinomas*. Journal of Oral Pathology & Medicine, 2018. **47**(8): p. 755-763.
212. Mishan, M.A., N. Ahmadiankia, and A.R. Bahrami, *CXCR4 and CCR7: Two eligible targets in targeted cancer therapy*. Cell Biology International, 2016. **40**(9): p. 955-967.
213. Zhang, L., et al., *The relationship between the expression of VEGF, EGFR, and HER-2 mRNA in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and clinicopathological features of different ethnic groups in Xinjiang*. Tumour Biol, 2015. **36**(12): p. 9277-83.
214. Gowryshankar, A., V. Nagaraja, and G.D. Eslick, *HER2 status in Barrett's esophagus & esophageal cancer: a meta analysis*. Journal of gastrointestinal oncology, 2014. **5**(1): p. 25-35.

215. Lote, H., N. Valeri, and I. Chau, *HER2 inhibition in gastro-oesophageal cancer: A review drawing on lessons learned from breast cancer*. World journal of gastrointestinal oncology, 2018. **10**(7): p. 159-171.
216. Harder, J., et al., *EGFR and HER2 expression in advanced biliary tract cancer*. 2009. **15**(36): p. 4511.
217. Shan, L., J. Ying, and N. Lu, *HER2 expression and relevant clinicopathological features in gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma in a Chinese population*. Diagnostic pathology, 2013. **8**: p. 76-76.
218. Bar-Sela, G., et al., *The incidence and prognostic value of HER2 overexpression and cyclin D1 expression in patients with gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma in Israel*. Oncology letters, 2013. **5**(2): p. 559-563.
219. Kim, W.H., et al., *HER2 Status in Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: Results of the Large, Multinational HER-EAGLE Study*. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2018. **26**(4): p. 239-245.
220. Janjigian, Y.Y., et al., *Prognosis of metastatic gastric and gastroesophageal junction cancer by HER2 status: a European and USA International collaborative analysis*. Annals of Oncology, 2012. **23**(10): p. 2656-2662.
221. Pardis, S., et al., *Evaluation of Tissue Expression and Salivary Levels of HER2/neu in Patients with Head and Neck Squamous cell Carcinoma*. Iranian journal of otorhinolaryngology, 2012. **24**(69): p. 161-170.
222. Mirza, S., et al., *Expression of HER-2/neu in Oral Squamous Cell Carcinoma*. Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP, 2020. **21**(5): p. 1465-1470.
223. Singh, A., et al., *Incidence of HER2 overexpression in oral squamous cell carcinoma-A prospective study in a tertiary care centre in eastern India*. 2019.
224. Chung, K.Y., et al., *Cetuximab Shows Activity in Colorectal Cancer Patients With Tumors That Do Not Express the Epidermal Growth Factor Receptor by Immunohistochemistry*. Journal of Clinical Oncology, 2005. **23**(9): p. 1803-1810.
225. Kirchner, T. and A. Jung, *Pathologische Diagnostik für die individualisierte Therapie des Dickdarmkarzinoms*. Der Pathologe, 2010. **31**(1): p. 16-21.
226. Douillard, J.-Y., et al., *Panitumumab–FOLFOX4 Treatment and RAS Mutations in Colorectal Cancer*. New England Journal of Medicine, 2013. **369**(11): p. 1023-1034.
227. Penault-Llorca, F., et al., *Is there an immunohistochemical technique definitively valid in epidermal growth factor receptor assessment?* 2006. **16**(6): p. 1173-1179.
228. De Matos, L.L., et al., *Immunohistochemistry as an Important Tool in Biomarkers Detection and Clinical Practice*. Biomarker Insights, 2010. **5**: p. BMI.S2185.
229. Tan, P.H., et al., *Renal tumors: diagnostic and prognostic biomarkers*. The American journal of surgical pathology, 2013. **37**(10): p. 1518-1531.
230. Elling, D. and V. Pink, *Lichtmikroskopische immunhistochemische Untersuchungen von relevanten Tumormarkern bei gynäkologischen Tumoren, in Tumormarker und Immunszintigraphie in der gynäkologischen Onkologie: Grundlagen — Bestimmungsmethoden — Indikationen*, D. Elling and V. Pink, Editors. 1992, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 117-140.
231. Zielinski, D., *Digitalisierung und Multiplex-IHC als prädiktive Biomarker für neue Immuntherapeutika*. Der Pathologe, 2019. **40**(3): p. 256-263.

8 Anhang

8.1 Veröffentlichungen

In Annals of Oncology:

„Cisplatin and 5-fluorouracil with or without epidermal growth factor receptor inhibition panitumumab for patients with non-resectable, advanced or metastatic esophageal squamous cell cancer: A prospective, open-label, randomised phase 3 AIO/EORTC trial (POWER) „

8.2 Färbeprotokolle

8.2.1 EGFR

Institut: Universitätsmedizin der JGU
 Adresse: Institut fuer Pathologie
 Abt.: Forschung
 Benutzer: a

Lauf Name: ZZ100-17

Selle 1 von 1
 Gedrucktes Datum: 20.11.17
 Anzahl der Objektträger: 28
 Nr. der Folie: 28

| OT Nr. | Trochvolumen | Fall Nr. | Arztname | Gewebe | Send-Endzeitpunkt | Blockierung | Vorbereitung | Primär-Paraffin | Sekundär-Paraffin | Terzil-Paraffin | Chromogen | Chromogen | Substrat | Zusatzreagenzien |
|--------|--------------|----------|----------|--------|-------------------|--------------|------------------------|------------------------|-------------------|-----------------|----------------|--------------|--------------|------------------|
| 1 | 0 | 0 | µl | Block | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' | |
| 2 | 1 | 0 | 0 | µl | 1159/14 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 3 | 1 | 0 | 0 | µl | 2455/12 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 4 | 1 | 0 | 0 | µl | 3534/12 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 5 | 1 | 0 | 0 | µl | 19109/11 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 6 | 1 | 0 | 0 | µl | 4766/15 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 7 | 1 | 0 | 0 | µl | 5678/14 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 8 | 1 | 0 | 0 | µl | 7321/15 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 9 | 1 | 0 | 0 | µl | 10132/14 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 10 | 1 | 0 | 0 | µl | 1623/14 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 11 | 1 | 0 | 0 | µl | 4507/14 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 12 | 1 | 0 | 0 | µl | 841/16 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 13 | 1 | 0 | 0 | µl | 11560/13 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 14 | 1 | 0 | 0 | µl | 14198/14 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 15 | 1 | 0 | 0 | µl | 12453/13 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 16 | 1 | 0 | 0 | µl | 8713/14 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 17 | 1 | 0 | 0 | µl | 2324/13 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 18 | 1 | 0 | 0 | µl | 28962/11 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 19 | 1 | 0 | 0 | µl | 2217/13 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 20 | 1 | 0 | 0 | µl | 16899/11 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 21 | 1 | 0 | 0 | µl | 13854/13 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 22 | 1 | 0 | 0 | µl | 24397/10 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 23 | 1 | 0 | 0 | µl | 1725/13 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 24 | 1 | 0 | 0 | µl | 3355/12 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 25 | 1 | 0 | 0 | µl | 1613/13 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 26 | 1 | 0 | 0 | µl | 12694/14 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 27 | 1 | 0 | 0 | µl | 14370/14 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 28 | 1 | 0 | 0 | µl | 1517/12 | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |
| 29 | 1 | 0 | 0 | µl | Ko Tomslite | Dr. Schlad | FLEX Block 5 | Pepsin; (main.Schritt) | EGFR150; 60' | FLEX Mo; 15' | FLEX Envr; 20' | FLEX DAB; 5' | FLEX DAB; 5' | Haema AS; 3' |

Manueller Schritt gibt an, dass die Objektträger vor dem Laden in den Autostainer behandelt wurden

DAKO Autostainer Seriennummer 538-7420-01

Abbildung 20: Färbeprotokoll EGFR

8.2.2 CXCR4

Seite 1 von 1
Gedrucktes Datum: 14.11.17
Anzahl der Objektträger: 35
Nr. der Fällre: 35

Name: Z299-17

DAKO Autostainher Seriennummer S38-7420-01

| OT Nr. | Tropfvolumen | Fall Nr. | Arztname | Gewebe | Spend. Erythrozytenblutklöterung | Vorbehandlung | Primär-Quantikörper | Sekundär-Quantikörper | Tertiär-Quantikörper | Chromogen | Chromogen | Zusatzreagenzien | |
|--------|--------------|----------|----------|--------|----------------------------------|------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------------|---------------|-------------|------------------|-------------|
| 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | Block | | | | | | | |
| 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 24590399 3,3,20r | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | PDL1/250: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 70363398 2,4 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | PDL1/250: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 72363399 3,2 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | PDL1/250: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 34267112 4,8 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | PDL1/250: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 27823110 1,9 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | PDL1/250: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 7 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | KO Tonsille | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 8 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 11189114 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 9 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 24557112 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 10 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 3534112 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 11 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 19109111 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 12 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 47165112 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 13 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 9679114 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 14 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 7321115 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 15 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 10182014 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 16 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 162714 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 17 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 4507114 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 18 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 841115 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 19 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 11990113 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 20 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 14198114 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 21 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 13483113 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 22 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 6713114 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 23 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 23247113 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 24 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 25962111 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 25 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 2217113 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 26 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 15899111 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 27 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 13884113 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 28 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 24937110 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 29 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 17267113 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 30 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 8365112 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 31 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 819113 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 32 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 12664114 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 33 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 14370114 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 34 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 15127112 | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 35 | 1 | 0 | 0 | 0 | µl | 31103107 KO | Dr. Schad | FLEX Block: 5 | TRIS pH 6.1: (man. Schritt) | CXCR4/100: 20 | FLEX Rb: 15 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |

Manueller Schritt gibt an, dass die Objektträger vor dem Laden in den Autostainer behandelt wurden

Abbildung 21: Färbeprotokoll CXCR4

8.2.3 c-Met

Seite 1 von 1
Gedrucktes Datum: 20.11.17
Anzahl der Objektträger: 29
Nr. der Färbli: 29

DAKO Autofastliner Seriennummer 538-7420-01

Lauf Name: ZZ101-17

Institut: Universitätsmedizin der JGU
Adresse: Institut fuer Pathologie
Abt.: Forschung
Benutzer: a

| OT Nr. | Tropfvolumen | Fall Nr. | Arztname | Gewebe | Send. Enzym- blockierung | Vorbereitung | Primär- antikörper | Sekundär- reagenz | Tertiär- reagenz | Chromogen | Chromogen | Zusatzreagenzien |
|--------|--------------|----------|-------------|------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|-------------|-------------|------------------|
| 1 | 0 | 0 | 11189/14 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 2 | 1 | 0 | 2457/12 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 3 | 1 | 0 | 3534/12 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 4 | 1 | 0 | 19109/11 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 5 | 1 | 0 | 4796/16.2 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 6 | 1 | 0 | 9678/14 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 7 | 1 | 0 | 7327/15 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 8 | 1 | 0 | 10182/14 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 9 | 1 | 0 | 1623/14 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 10 | 1 | 0 | 647/12 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 11 | 1 | 0 | 4507/14.1 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 12 | 1 | 0 | 841/15 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 13 | 1 | 0 | 11580/13 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 14 | 1 | 0 | 14199/14 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 15 | 1 | 0 | 13483/13 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 16 | 1 | 0 | 8713/14.2 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 17 | 1 | 0 | 2324/11.3 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 18 | 1 | 0 | 26962/11 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 19 | 1 | 0 | 2217/13 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 20 | 1 | 0 | 15399/11 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 21 | 1 | 0 | 13984/13 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 22 | 1 | 0 | 24337/10 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 23 | 1 | 0 | 17267/13 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 24 | 1 | 0 | 83954/12.2 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 25 | 1 | 0 | 816/13 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 26 | 1 | 0 | 12864/14 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 27 | 1 | 0 | 14370/14 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 28 | 1 | 0 | 15127/12 | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |
| 29 | 1 | 0 | 24309/09 KO | Dr. Schaad | FLEX Block: 5 | TRS pH 6,1: (man. Schritt) | C-Met90: 30 | FLEX Rb: 15 | FLEX Env: 20 | FLEX DAB: 5 | FLEX DAB: 5 | Haema AS: 3 |

Manueller Schritt gibt an, dass die Objektträger vor dem Laden in den Autofastliner behandelt wurden

Abbildung 22: Färbeprotokoll c-Met

8.2.4 HER2/neu

Seite 1 von 1
 Gedruckt am Datum: 25.04.17
 Anzahl der Objektträger: 30
 Nr. der Färbung: 30

Lauf Name: Z231-17

| OT Nr. | Tropfvolumen | Fäll Nr. | Block | Arztname | Gewebe | Sensit. Enzym- bio-bleichung | Vorbehandlung | Primär- antikörper | Sekundär- reagenzien | Tertiär- reagenzien | Chromogen | Chromogen | Zusatzreagenzien |
|--------|--------------|----------|-------|------------------|-----------|---------------------------------|----------------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|-----------|-----------|------------------|
| 1 | 1 | 0 | 0 | 1890014.4 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 2 | 1 | 0 | 0 | 2295812.1 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 3 | 1 | 0 | 0 | 2493009.5.9 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 4 | 1 | 0 | 0 | 3178013.1 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 5 | 1 | 0 | 0 | 3030013.7 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 6 | 1 | 0 | 0 | 226114.001-007 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 7 | 1 | 0 | 0 | 14931003.001-008 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 8 | 1 | 0 | 0 | 1817614 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 9 | 1 | 0 | 0 | 1790014.1 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 10 | 1 | 0 | 0 | 1892513.002-004 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 11 | 1 | 0 | 0 | 25165.002-008 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 12 | 1 | 0 | 0 | 0301.28 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 13 | 1 | 0 | 0 | 0301.2C | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 14 | 1 | 0 | 0 | 0303 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 15 | 1 | 0 | 0 | 0304 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 16 | 1 | 0 | 0 | 0305 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 17 | 1 | 0 | 0 | 0801 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 18 | 1 | 0 | 0 | 0802 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 19 | 1 | 0 | 0 | 0803 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 20 | 1 | 0 | 0 | 0804 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 21 | 1 | 0 | 0 | 1103 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 22 | 1 | 0 | 0 | 1108 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 23 | 1 | 0 | 0 | 1201 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 24 | 1 | 0 | 0 | 2720512.015-001 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 25 | 1 | 0 | 0 | 1493012.015-002 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 26 | 1 | 0 | 0 | 1493012.015-003 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 27 | 1 | 0 | 0 | 1493012.015-004 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 28 | 1 | 0 | 0 | 3885113.015-004 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 29 | 1 | 0 | 0 | 58315.015-005 | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |
| 30 | 1 | 0 | 0 | HT KO | Dr. Schad | FLEX Block: 5' | TRS pH 6,1; (man. Schritt) | HER2200: 60' | FLEX Rb: 15' | FLEX Einr: 20' | 100 µl | 100 µl | Haema AS: 3' |

Manueller Schritt gibt an, dass die Objektträger vor dem Laden in dem Autostainer behandelt wurden
 DNKO Aufstainer Seriennummer 539-7430-01

Abbildung 23: Färbeprotokoll HER2/neu

8.3 Expressionsverteilung der Biomarker in Abhängigkeit der TNM-Stadien

8.3.1 EGFR-Expression

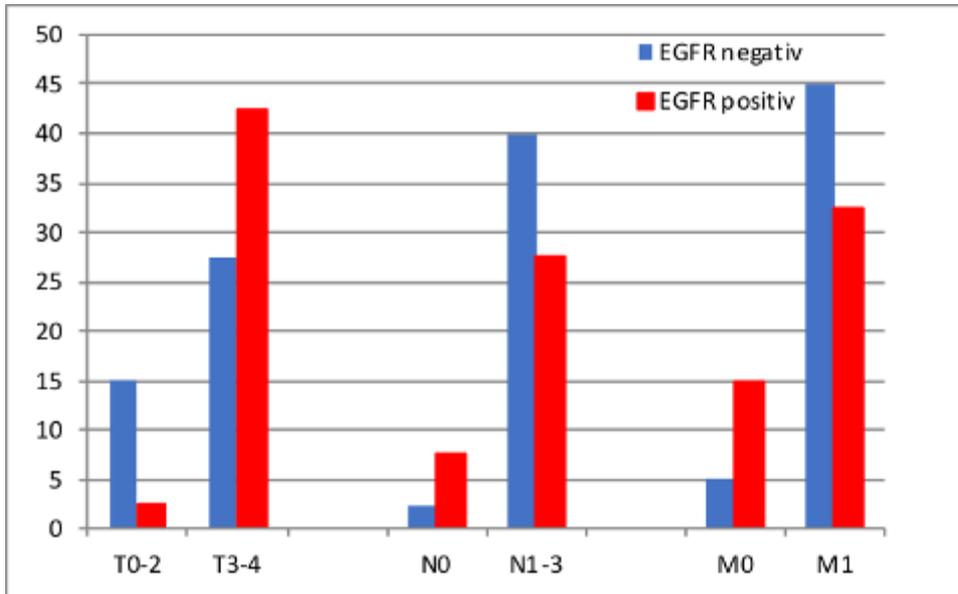


Abbildung 24: EGFR-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien für den Behandlungsarm A, n=43 (Tumorstadium (T) 6 fehlende, Lymphknotenstatus (N) 11 fehlende, Fernmetastasierung (M) vollständig)

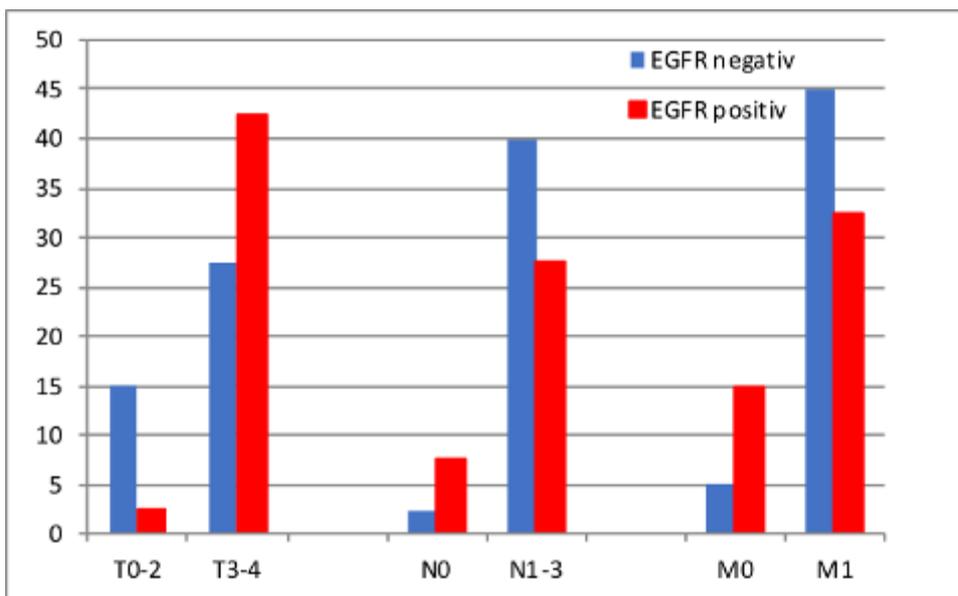


Abbildung 25: EGFR-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien für den Behandlungsarm B, n=40 (Tumorstadium (T) 4 fehlende, Lymphknotenstatus (N) 9 fehlende, Fernmetastasierung (M) vollständig)

8.3.2 CXCR4 -Expression

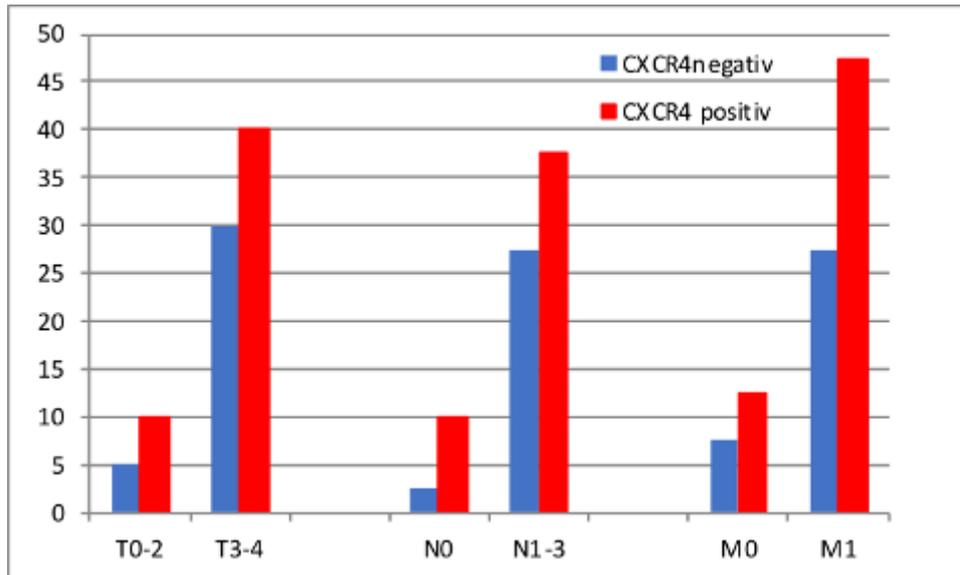


Abbildung 26: CXCR4-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien in Behandlungsarm A, n=43 (Tumorstadium (T) 6 fehlende, Lymphknotenstatus (N) 11 fehlende, Fernmetastasierung (M) vollständig)

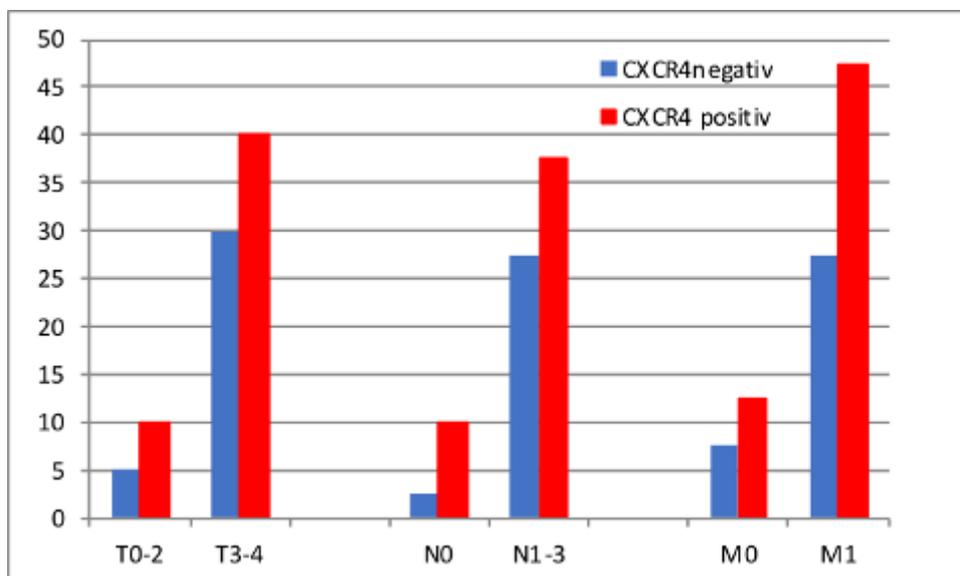


Abbildung 27: CXCR4-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien in Behandlungsarm B, n=40 (Tumorstadium (T) 4 fehlende, Lymphknotenstatus (N) 9 fehlende, Fernmetastasierung (M) vollständig)

8.3.3 c-Met-Expression

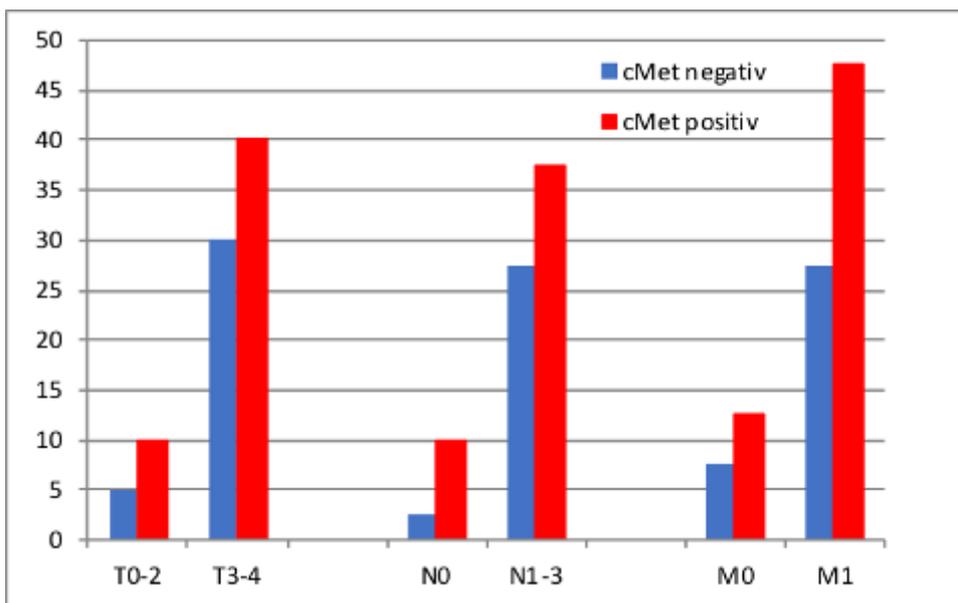


Abbildung 28: c-Met-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien in Behandlungsarm A, n=43 (Tumorstadium (T) 6 fehlende, Lymphknotenstatus (N) 11 fehlende, Fernmetastasierung (M) vollständig)

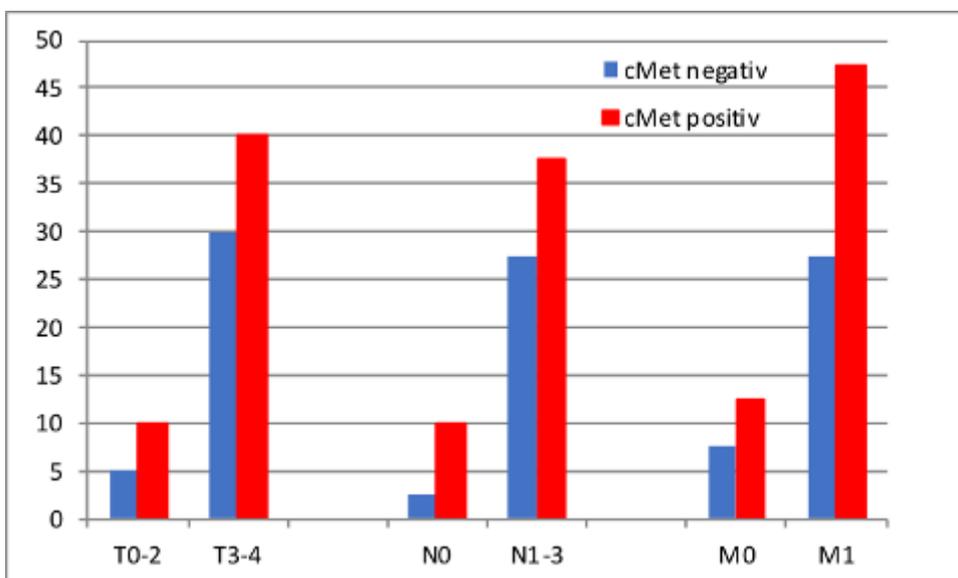


Abbildung 29: c-Met-Expressionsverteilung in den TNM-Stadien in Behandlungsarm B, n=40 (Tumorstadium (T) 4 fehlende, Lymphknotenstatus (N) 9 fehlende, Fernmetastasierung (M) vollständig)

8.4 Kaplan-Meier-Kurven

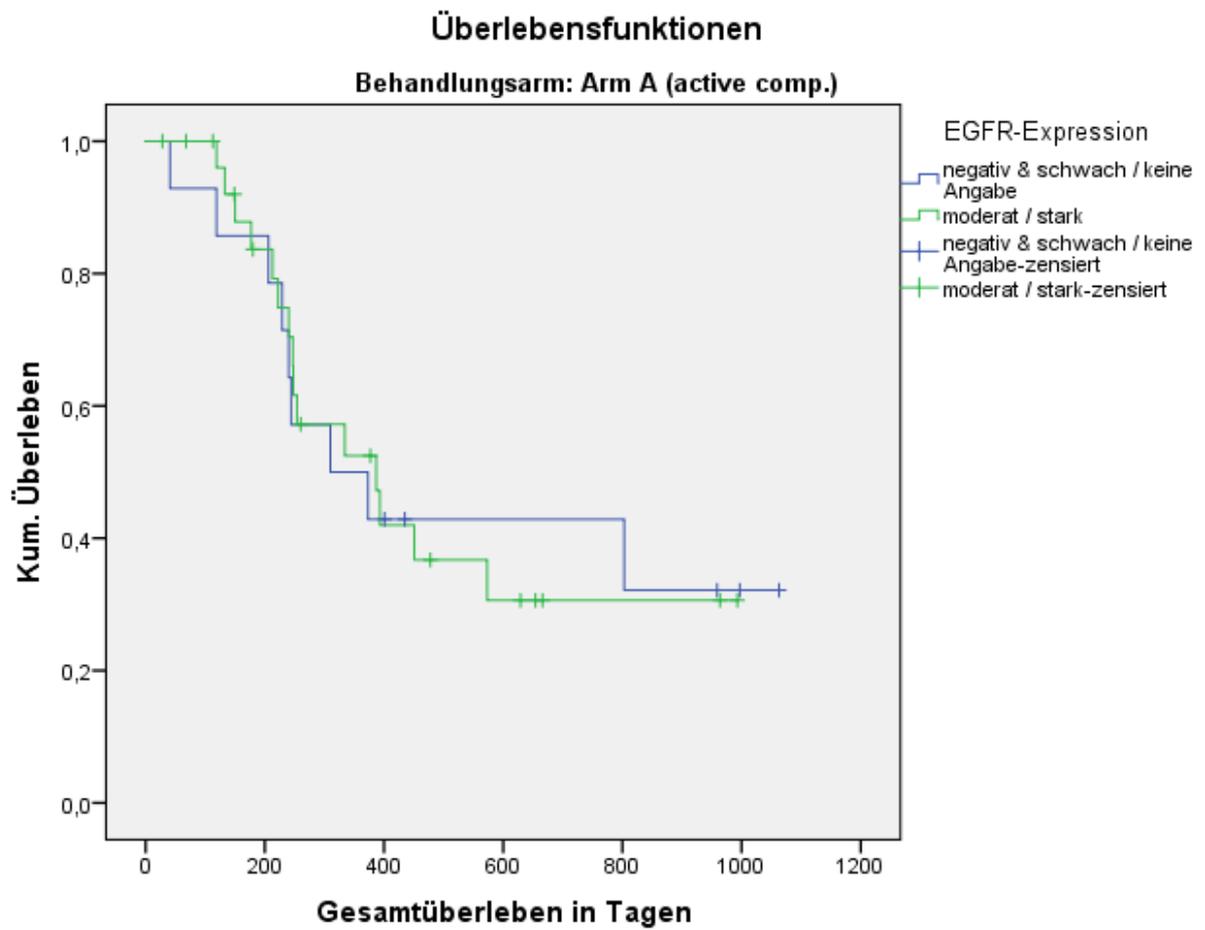


Abbildung 30: Kaplan-Meier-Kurve. Gesamtüberleben in Abhängigkeit der EGFR-Expression in Behandlungsarm A, $p=0,973$.

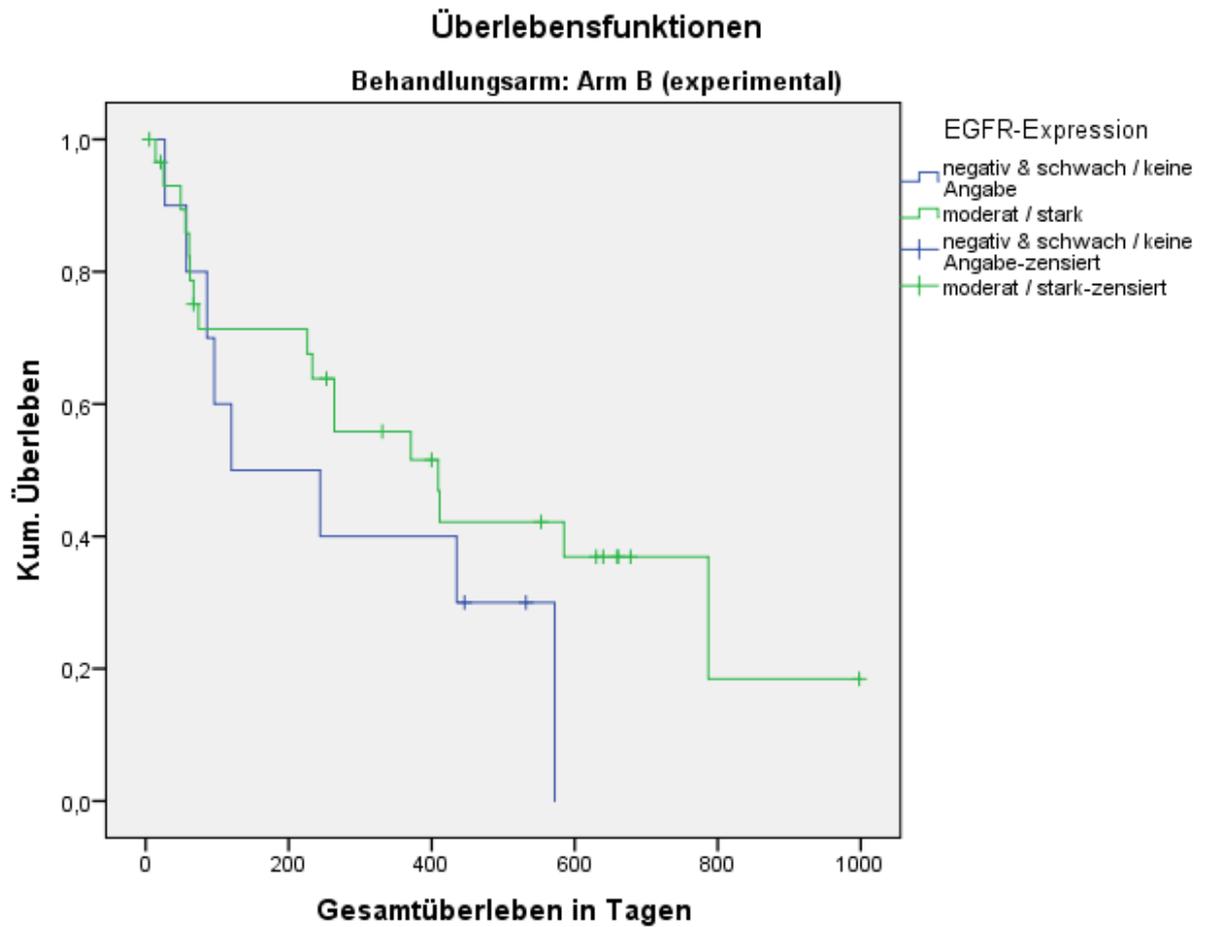


Abbildung 31: Kaplan-Meier-Kurve. Gesamtüberleben in Abhängigkeit der EGFR-Expression in Behandlungsarm B, $p=0,269$.

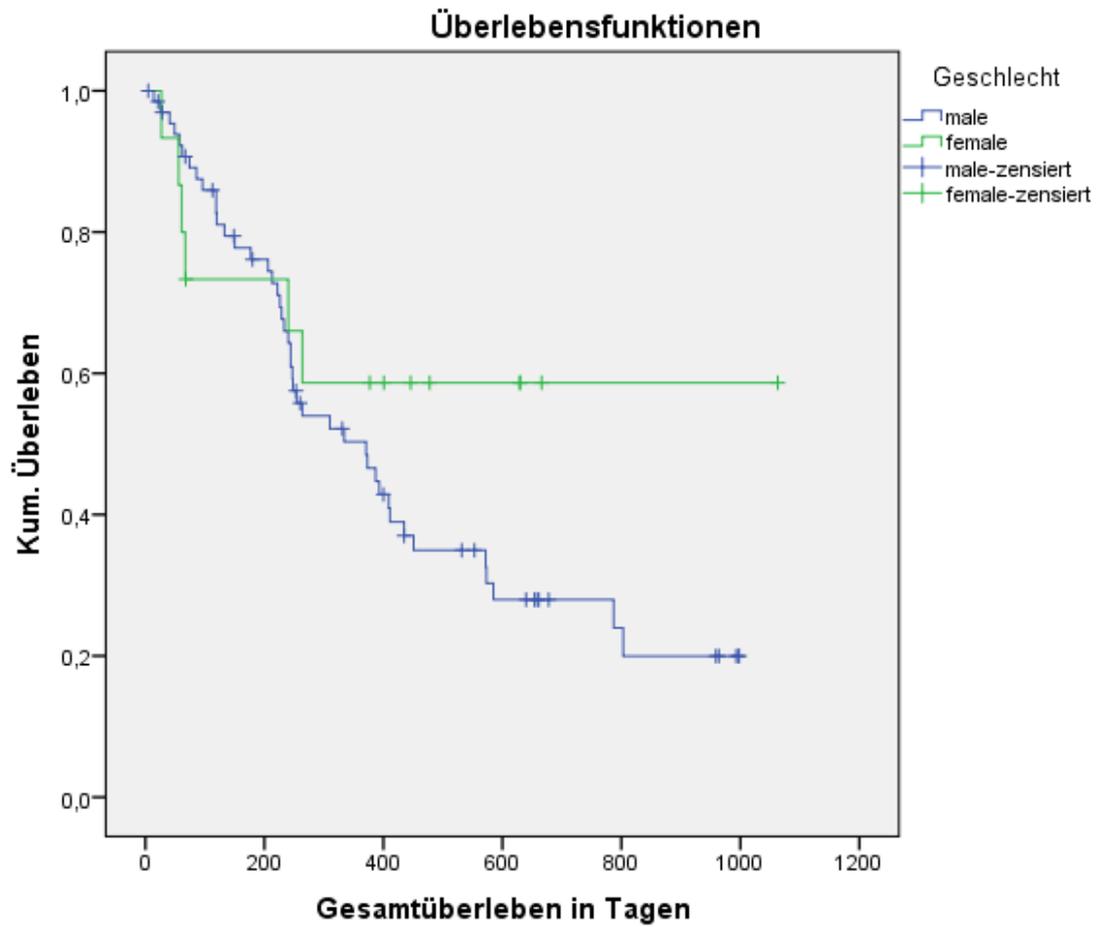


Abbildung 32: Überlebenskurve in Abhängigkeit des Geschlechts, Log Rank $p=0,211$. Cox-Regression $p=0,669$; $N=44$; HR 0,838; 95% KI 0,373-1,882.

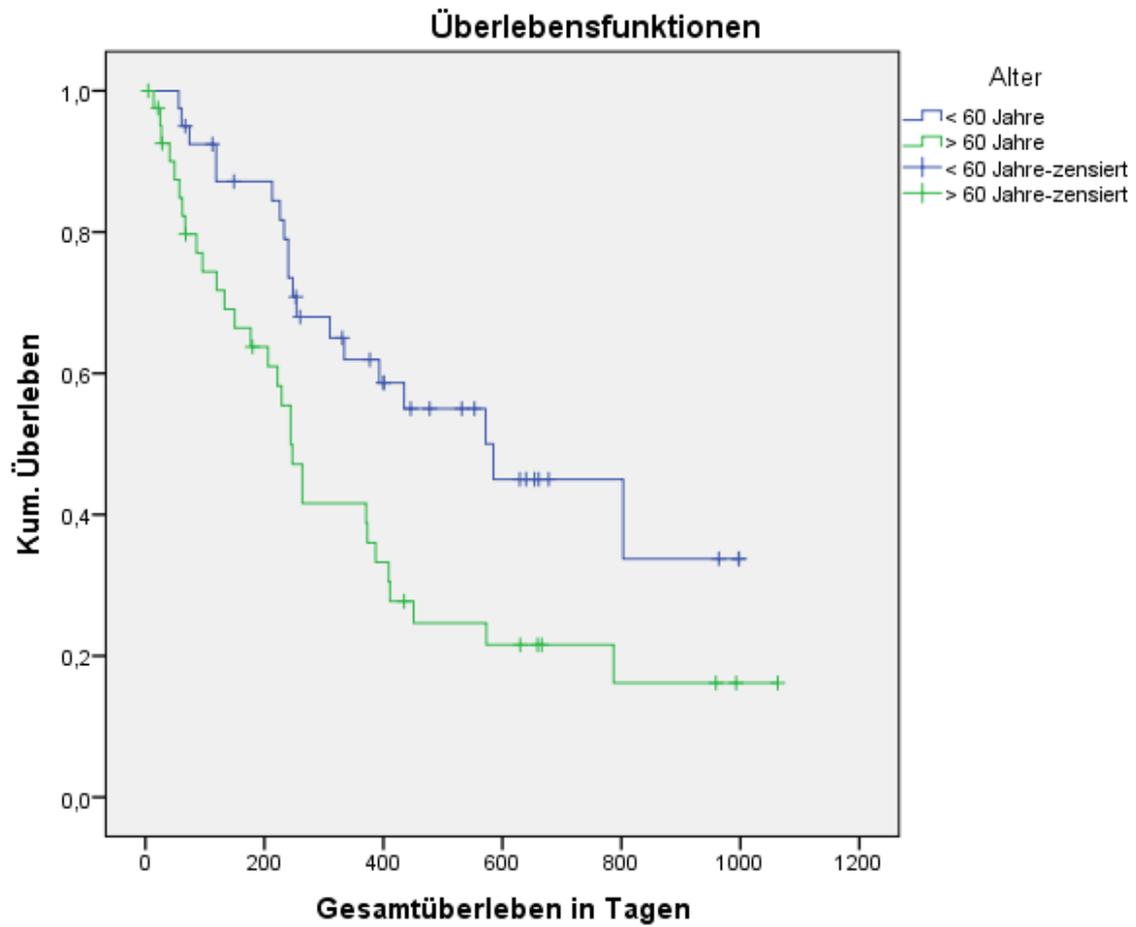


Abbildung 33: Überlebenskurve in Abhängigkeit des Alters, Log-Rank $p=0,011$. Cox-Regression $p=0,024$; $N=44$; HR 2,010; 95% KI 1,094-3,691.

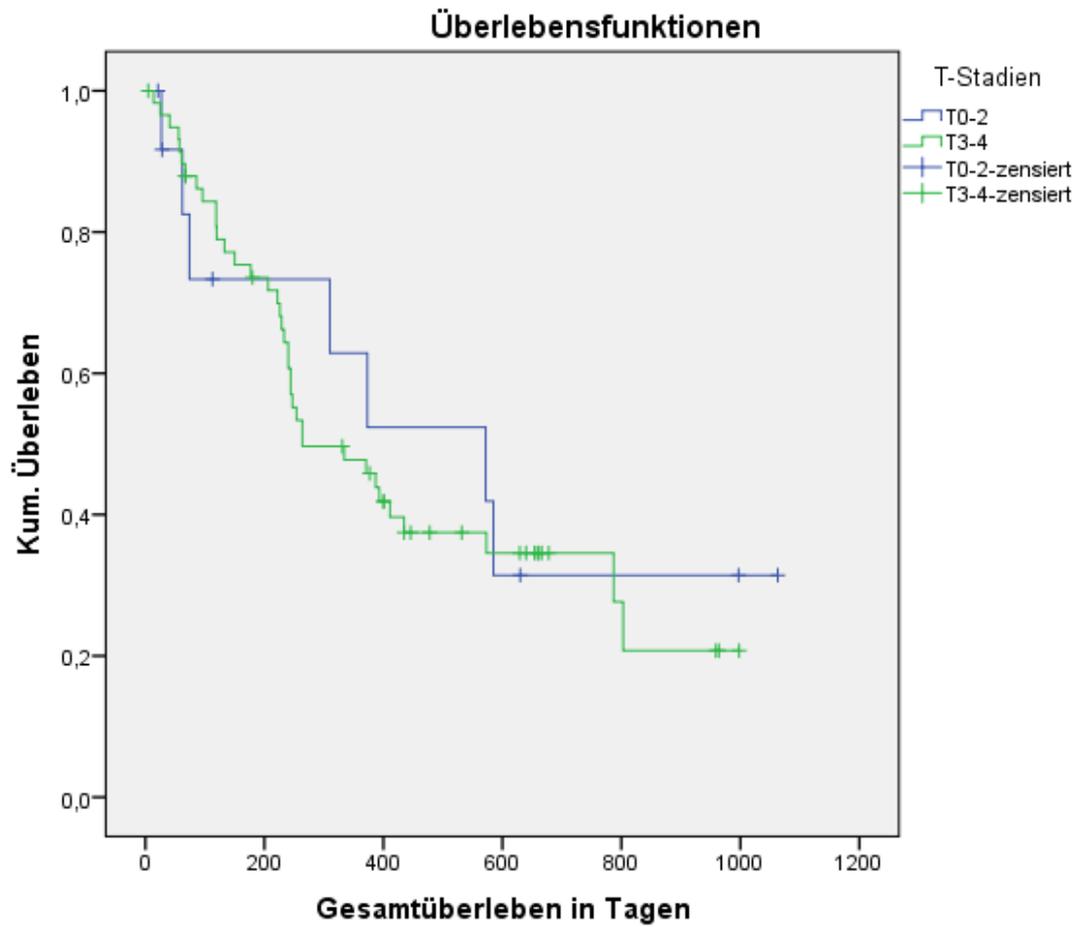


Abbildung 34: Überlebenskurve in Abhängigkeit des T-Stadiums, Log-Rank $p=0,722$. Cox-Regression $p=0,998$; $N=44$; HR 1,024; 95% KI 0,428-2,450.

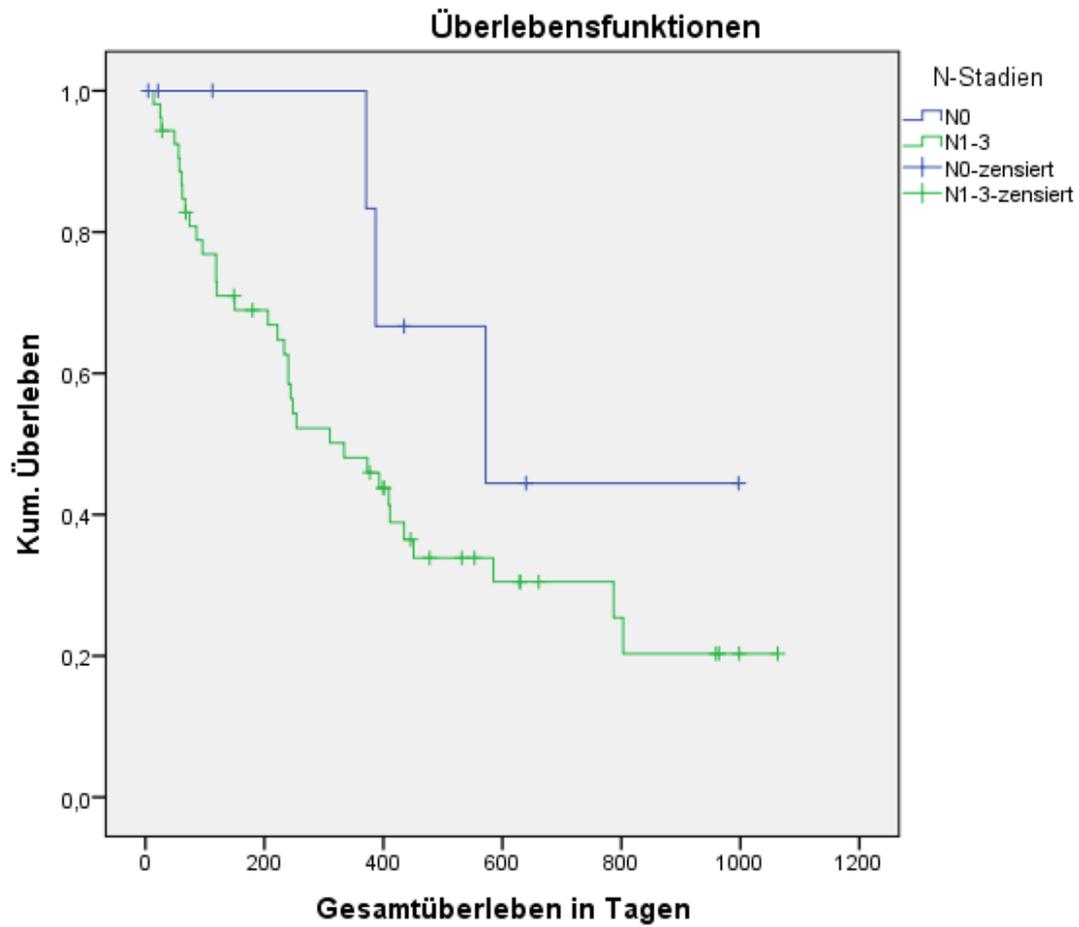


Abbildung 35: Überlebenskurve in Abhängigkeit des N-Stadiums, Log-Rank $p=0,170$. Cox-Regression $p=0,657$; $N=44$; HR 1,666; 95% KI 0,506-5,484.

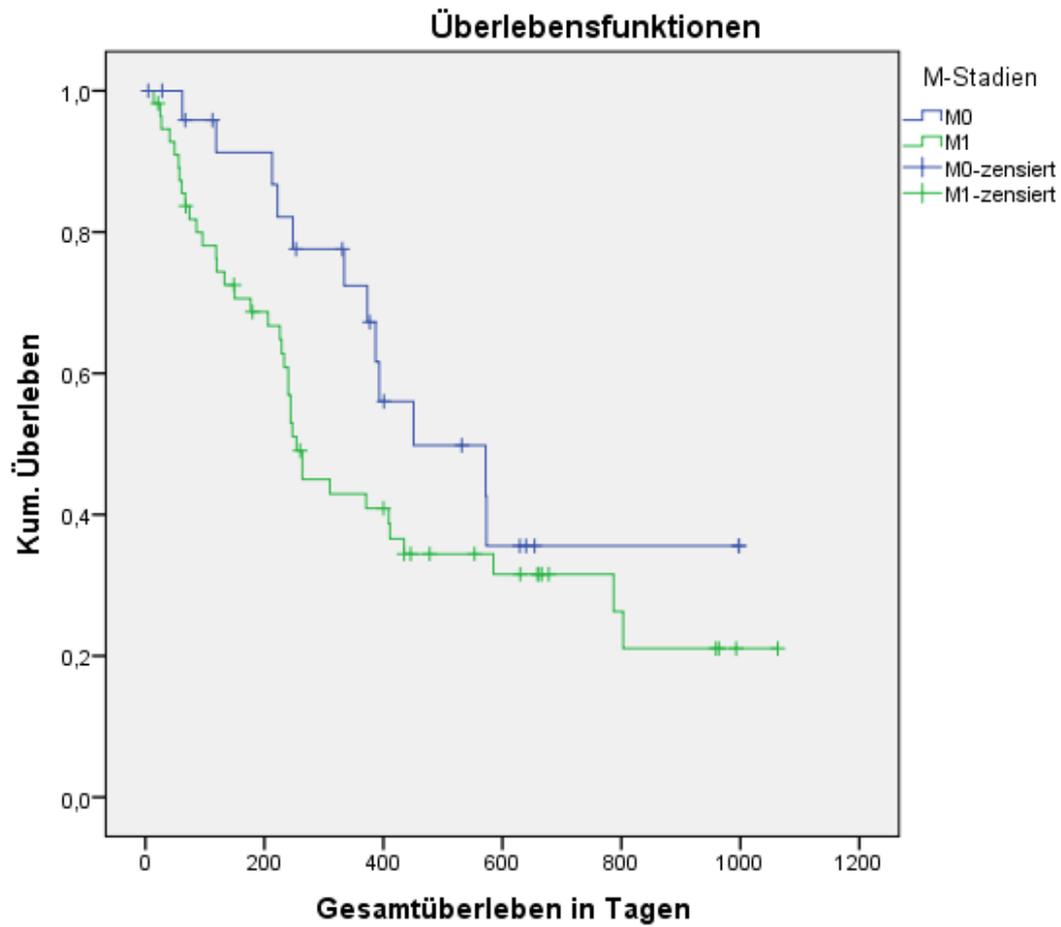


Abbildung 36: Überlebenskurve in Abhängigkeit des M-Stadiums, Log-Rank $p=0,118$.
Cox-Regression $p=0,096$; $N=44$; HR 1,822; 95% KI 0,899-3,691.

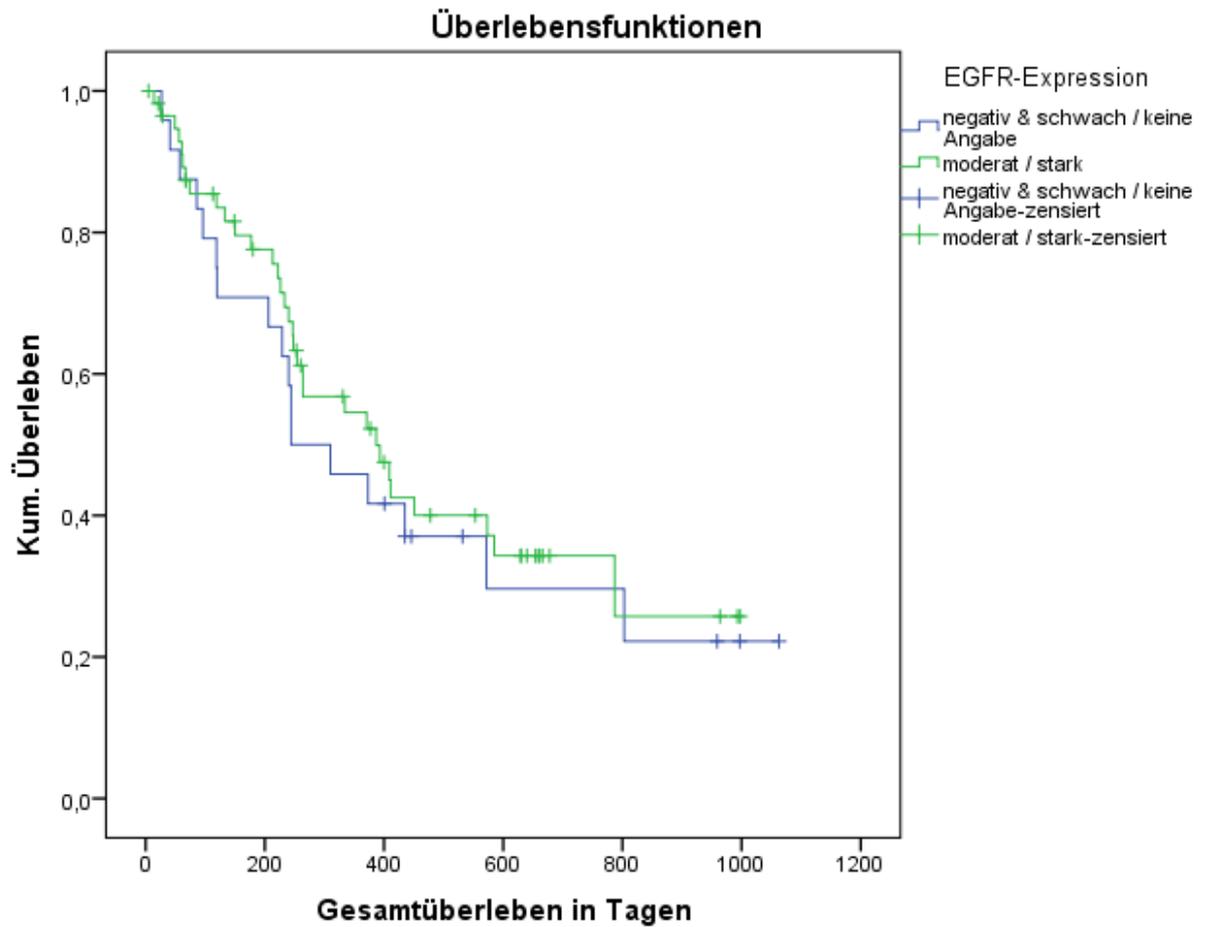


Abbildung 37: Überlebenskurve in Abhängigkeit der EGFR-Expression. Log-Rank $p=0,556$. Cox-Regression: $p=0,833$; $N=44$; HR 1,694; 95% KI 0,219-13,125.

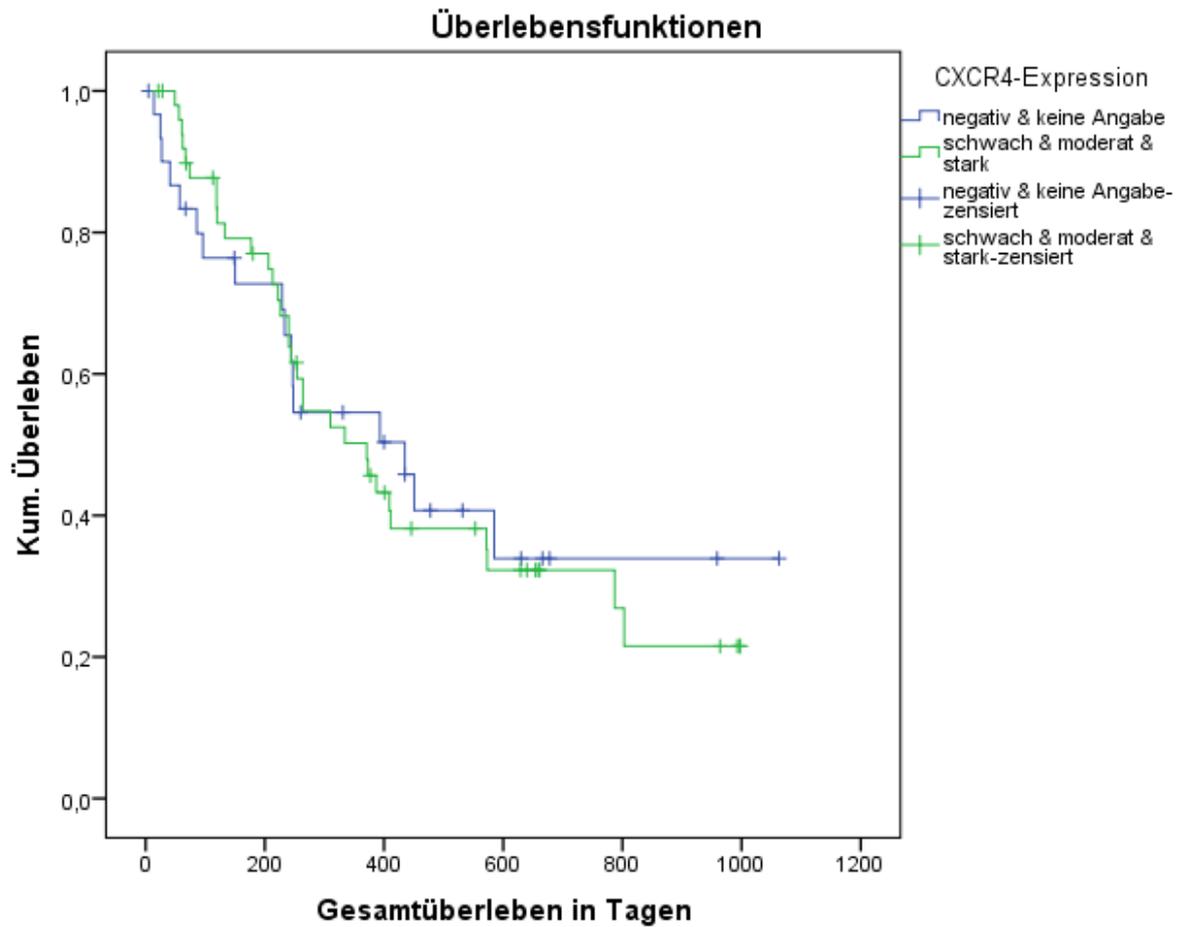


Abbildung 38: Überlebenskurve in Abhängigkeit der CXCR4-Expression. Log-Rank $p=0,810$. Cox-Regression: $p=0,681$; $N=44$; HR 0,824; 95% KI 0,438-1,550.

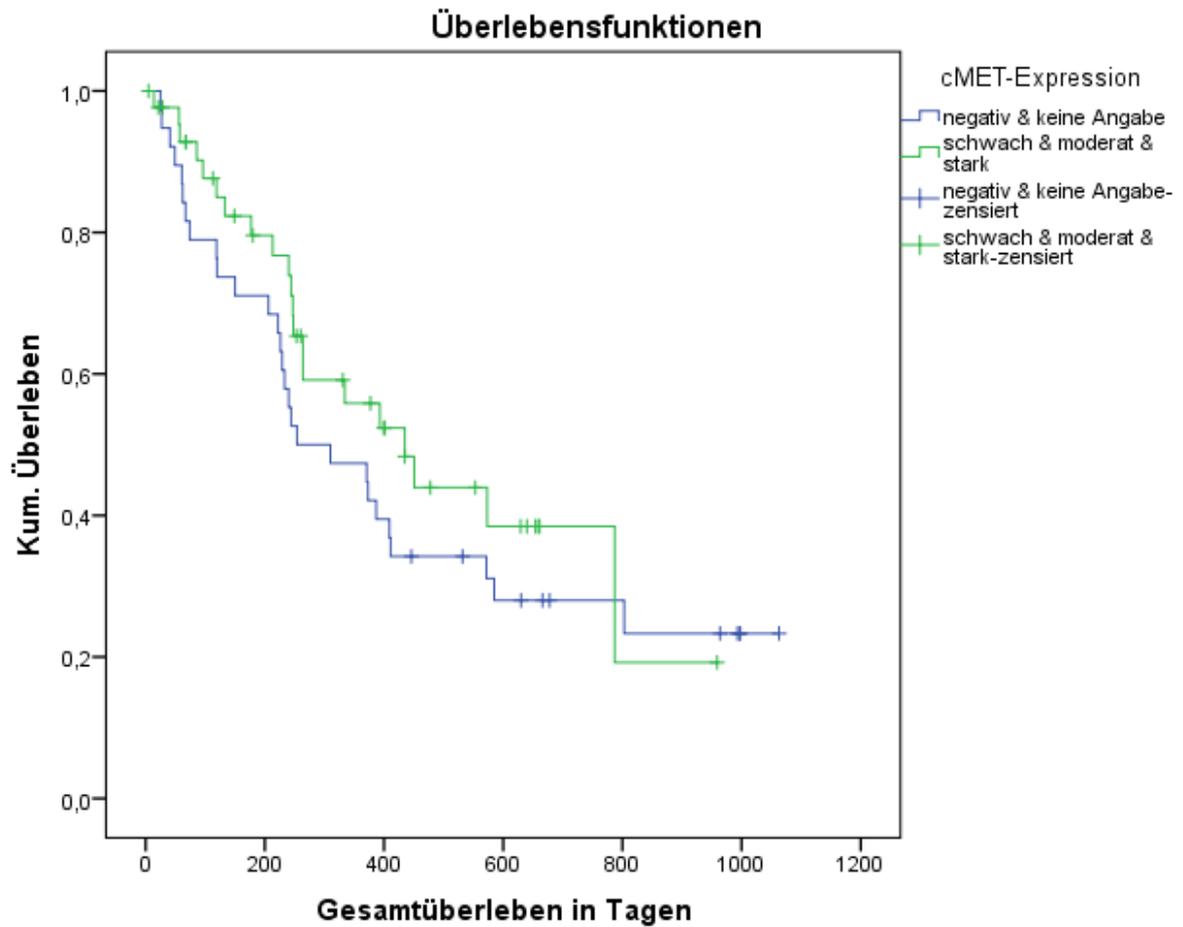


Abbildung 39: Überlebenskurve in Abhängigkeit der c-Met-Expression. Log-Rank $p=0,286$. Cox-Regression: $p=0,867$; $N=44$; HR 1,170; 95% KI 0,638-2,145.

8.5 Danksagung

Ich danke --- für die Begutachtung der hier vorliegenden Dissertation sowie für die Unterstützung bei aufkommenden Fragen und Problemen.

--- danke ich für die Überlassung des Themas, die jederzeitige Unterstützung, Ansprechbarkeit sowie die fachliche Betreuung.

--- sei für die Hilfe bei der Untersuchung der Immunhistochemie zu danken, --- für die freundliche Unterstützung im Färbeprozess der Immunhistochemie.

Dem IMBEI Mainz danke ich für die freundliche Unterstützung und Begleitung.

Ein großer Dank gebührt meinen Eltern, die mir mein Studium ermöglicht und mich zusammen mit meiner Schwester jederzeit unterschützt und zu dieser Arbeit ermutigt haben.

