

**Aus der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie  
der Universität Würzburg**

**Direktor: Professor Dr. Dr. A. Kübler**

**Vergleichende Untersuchung zum Expressionsprofil von Molekülen der  
Extrazellulärrauminteraktion und Tumorantigenen in oro-pharyngealen  
Plattenepithelkarzinomen und ihren Metastasen**

**Inaugural - Dissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der**

**Medizinischen Fakultät**

**der**

**Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von**

**Marta Tsacheva**

**aus Sofia, Bulgarien**

**Würzburg, November 2011**

**Referent:** Priv.-Doz. Dr. Dr. Urs Müller-Richter  
**Koreferent:** Prof. Dr. Andreas Rosenwald

**Dekan:** Prof. Dr. Matthias Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung: 27.11.2013**

**Die Promovendin ist Zahnärztin**

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1. Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1. Plattenepithelkarzinome im Kopf-Halsbereich .....	1
1.1.1. Epidemiologie.....	1
1.1.2. Ätiologie .....	3
1.1.3. Klassifikation.....	5
1.1.4. Therapie.....	11
1.2. MAGE-A-Antigene .....	12
1.3. E-Cadherin.....	13
1.4. Laminin-5-Gamma-2 .....	15
1.5. Matrix-Metalloproteinase-2 und -9 (MMP2; MMP9) .....	16
1.6. Ziel der Arbeit .....	17
<b>2. Material und Methoden .....</b>	<b>18</b>
2.1. Materialien.....	18
2.1.1. Patientenkollektiv .....	18
2.1.2. Puffer, Lösungen und Medien .....	20
2.1.3. Antikörper.....	22
2.2. Methoden der Immunhistochemie .....	23
2.3. Statistische Analyse.....	24
<b>3. Ergebnisse.....</b>	<b>25</b>
3.1. Expressionsmuster der MAGE-A-Antigene in den Primärtumoren und deren Metastasen .....	25
3.1.1. Korrelation des Scores mit dem Geschlecht der Patienten.....	28
3.1.2. Korrelation mit dem Alter der Patienten .....	30
3.1.3. Korrelation mit dem Entdifferenzierungsgrad des Tumors .....	33
3.1.4. Korrelation mit der pT-Klassifikation .....	34
3.1.4. Korrelation mit der pN- Klassifikation.....	35
3.1.5. Korrelation mit dem UICC Stadium.....	37
3.1.6. Korrelation mit L- und V- Klassifikation .....	38

3.2. Expressionsmuster der E-Cadherin Antigene.....	41
3.2.1. Korrelation des Scores mit dem Geschlecht der Patienten.....	43
3.2.2. Korrelation mit dem Alter der Patienten .....	44
3.2.3. Korrelation mit dem Entdifferenzierungsgrad des Tumors.....	46
3.2.4. Korrelation mit der pT-Klassifikation .....	48
3.2.5. Korrelation mit der pN-Klassifikation.....	49
3.2.6. Korrelation mit dem UICC Stadium.....	50
3.2.7. Korrelation mit pL- und pV- Klassifikation.....	52
3.3. Expressionsmuster der Laminin-5 Gamma 2-Kette Antigene.....	55
3.3.1. Korrelation des Scores mit dem Geschlecht der Patienten.....	57
3.3.2. Korrelation mit dem Alter der Patienten .....	58
3.3.3. Korrelation mit dem Entdifferenzierungsgrad des Tumors.....	60
3.3.4. Korrelation mit der pT-Klassifikation .....	62
3.3.5. Korrelation mit der pN-Klassifikation.....	63
3.3.6. Korrelation mit dem UICC Stadium.....	65
3.3.7. Korrelation mit der L- und V-Klassifikation.....	66
3.4. Expressionsmuster der MMP2 Antigene.....	69
3.4.1. Korrelation des Scores mit dem Geschlecht der Patienten.....	71
3.4.2. Korrelation mit dem Alter der Patienten .....	72
3.4.3. Korrelation mit dem Entdifferenzierungsgrad des Tumors.....	74
3.4.4. Korrelation mit der pT-Klassifikation .....	75
3.4.5. Korrelation mit der pN-Klassifikation.....	76
3.4.6. Korrelation mit dem UICC Stadium.....	78
3.4.7. Korrelation mit den L- und V- Klassifikation .....	79
3.5. Expressionsmuster der MMP9 Antigene.....	81
3.5.1. Korrelation des Scores mit dem Geschlecht der Patienten.....	83
3.5.2. Korrelation mit dem Alter der Patienten .....	84
3.5.3. Korrelation mit dem Entdifferenzierungsgrad des Tumors.....	86
3.5.4. Korrelation mit der pT-Klassifikation .....	87
3.5.5. Korrelation mit der pN-Klassifikation.....	89
3.5.6. Korrelation mit dem UICC Stadium.....	90
3.5.7. Korrelation mit der V-Klassifikation.....	91
<b>4. Diskussion.....</b>	<b>93</b>

4.1. MAGE-A-Expression und die Perspektiven für eine bessere Diagnostik, Therapie und Prognose .....	93
4.2. E-Cadherin Expression und ihre Rolle in der Prognose .....	97
4.3. Laminin-5 Gamma 2-Kette Expression und die Perspektiven für eine bessere Diagnostik, Therapie und Prognose.....	100
4.4. Matrix Metalloproteinase (MMP) Expression und die Perspektiven für eine bessere Diagnostik, Therapie und Prognose.....	102
<b>5. Zusammenfassung .....</b>	<b>111</b>
<b>6. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>113</b>
<b>7. Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>122</b>
<b>8. Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>124</b>

## 1. Einleitung

### 1.1. Plattenepithelkarzinome im Kopf-Halsbereich

#### 1.1.1. Epidemiologie

##### a) Der oralen Plattenepithelkarzinome

Die Plattenepithelkarzinome (PEC) stellen 90% der malignen Neoplasien der Mundhöhle dar [1]. Mit 405000 Erkrankten weltweit steht das orale Plattenepithelkarzinom auf Platz 6 der häufigsten Krebserkrankungen und auf Platz 8 der häufigsten krebsbedingten Todesursachen [2][3]. Die Inzidenz steigt kontinuierlich und beträgt 12 von 100000 aller krebserkrankten Männer und 3,8 von 100000 aller Frauen [4][3]. Zu den Gebieten mit einer sehr hohen Plattenepithelkarzinominzidenz zählen Süd- bzw. Südostasien, Südamerika sowie einige Pazifikstaaten (z.B. Melanesien) [1].

Männer sind häufiger betroffen als Frauen. Dies ist der Tatsache geschuldet, dass die Männer aufgrund eines höheren Alkohol- und Tabakkonsums insgesamt mehr Risiken ausgesetzt sind als die Frauen [1].

Weltweit liegt die Mortalität bei den Männern bei 3-4 / 100000 und bei den Frauen bei 1,5-2 / 100000 [2].

In Europa liegt die Zahl der neuerkrankten Männer bei 16,4 von 100000 und der Frauen bei 5,2 von 100000 [4].

Frankreich, Schweiz, Norditalien, Bulgarien, Rumänien, Tschechien, Slowakei, Ungarn und Polen zählen zu den Staaten mit der höchsten Plattenepithelkarzinom- Prävalenz in Europa [1, 2, 5]. Ebenfalls wird das Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle bei immer mehr jungen Westeuropäern diagnostiziert. Obwohl die Betroffenen hauptsächlich Personen männlichen Geschlechts sind, wird in den vergangenen Jahren eine steigende Inzidenz bei den Frauen in Nordeuropa ebenfalls beobachtet [1, 6, 7] [2, 8].

Eine erhöhte Mortalität zeigt sich in Zentral- und Osteuropa sowie in Japan bei Menschen, die ab 1930 geboren wurden [1, 9].

In Deutschland leiden etwa 3,5% der Männer und 1,5% der Frauen an einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle. Mit diesen Zahlen steht die Erkrankung auf Platz 7 aller Krebserkrankungen bei Männern und auf Platz 12 bei Frauen in Deutschland [4].

Für das Jahr 2010 gibt es in der Bundesrepublik Deutschland etwa 11400 Neuerkrankte, davon 8360 Männer und 3400 Frauen. Dabei nimmt die Inzidenz bei den Männern in den alten Bundesländern ab und in den neuen Bundesländern zu. Das Durchschnittsalter der Krebserkrankten variiert zwischen 61 und 63 Jahren. Ungefähr 4500 Menschen sterben in Deutschland an Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle, davon 75% Männer. Über alle Tumorstadien hinweg gesehen, überleben in 5 Jahren 36-45% der Männer und 50-63% der Frauen [1, 4].

#### b) Larynxkarzinome

Larynxkarzinome stellen weltweit ca. 3 bis 5% aller Karzinome dar [10]. Die Zahl liegt durchschnittlich bei 4,8 / 100000 Männer und 0,6 / 100000 Frauen. Das Verhältnis zwischen Männern und Frauen beträgt 7:1 [11, 12].

Die Larynxkarzinome zählen mit einer Inzidenz von 6,8/ 100000 bei den Männern und 0,8/100000 bei den Frauen zu den häufigsten malignen Erkrankungen im Kopf- und Halsbereich [11, 13].

Bei 1 / 150 aller deutschen Männer und 1 / 1200 aller deutschen Frauen besteht das Risiko im Laufe des Lebens an Larynxkarzinom zu erkranken [11].

Seit 1980 steigt die Inzidenz bei den Frauen kontinuierlich an, wobei die Zahl der neuerkrankten Männer unabhängig von dem Alter um 1/3 abgenommen hat (siehe Kapitel Epidemiologie der oralen Plattenepithelkarzinome) [11, 14].

Weltweit sterben jährlich 1,8 / 100000 Männer und 0,2 / 100000 Frauen an einem Larynxkarzinom. Die Mortalität hat bei den Frauen um 70% zugenommen. Hingegen ist die Zahl bei den Männern etwa gleich geblieben [11].

Die Sterberate in Europa liegt bei 2,6 / 100000 aller Männer und bei 0,4 / 100000 aller Frauen [11].

Im Jahr 2006 starben in Deutschland 1351 Männer und 226 Frauen an Larynxkarzinom [11].

Abhängig von der Lokalisation und dem Stadium variiert die relative Überlebensrate [10, 11].

### 1.1.2. Ätiologie

#### a) Der oralen Plattenepithelkarzinome

Die Ätiologie der oralen Plattenepithelkarzinome ist multifaktoriell. Tabakkonsum und Alkoholabusus gehören zu den Hauptrisikofaktoren. Ein Drittel der erkrankten Männer hat einen sehr hohen Alkoholkonsum [2, 4, 15-17].

Das Risiko bei den Rauchern ist um den Faktor 6 höher als bei den Nichtrauchern. Die Gefahr steigt mit zunehmender Dosis an [4, 18].

Nicht nur das Rauchen wird mit der Entstehung der Mundhöhlenkarzinome assoziiert. In Indien, Süd-Ost Asien, China und Taiwan werden Tabak- und Betelnusskauen sowie Tabakschnupfen als die wichtigsten Risikofaktoren betrachtet [1, 19-21].

Der Verzicht von Obst und Gemüse wird mit einer erhöhten Entstehung von Präkanzerosen und oralen Plattenepithelkarzinomen in Verbindung gebracht [2, 18, 22, 23].

Eine schlechte Mundhygiene und massive chronische Entzündungen der oralen Schleimhäute fördern die Entstehung des PEC [4, 17, 24].

Die Rolle der humanen Papillomviren in der oralen PEC Genese wird immer mehr diskutiert. Manche Stämme (16, 18, 31, 33) werden mit der Entstehung vieler Tumoren z.B. Zervixkarzinom, aber auch Tonsillen-, Larynx- und Ösophaguskarzinomen assoziiert [18, 25-29].

UVA- und UVB-Strahlen erzeugen Veränderungen der Hautoberfläche. Sehr sensibel und weniger geschützt ist das Lippenrot. Dies bedingt eine erhöhte Wahrscheinlichkeit der Entstehung von aktinischer Cheilitis oder Plattenepithelkarzinomen der Lippe. Auch bei



einer Röntgenbestrahlung in größeren Dosen (z.B. bei Radiotherapie in Kopf- und Halsbereich) ist das Krebsrisiko erhöht [2, 16].

Eisenmangelkrankungen (z.B. Plummer-Vinson bzw. Paterson-Kelly Syndrom) stehen ebenfalls in enger Beziehung zu der Entstehung von Oropharynx- bzw. Oesophaguskarzinomen [16, 17].

Die oralen Plattenepithelkarzinome entstehen fast immer auf dem Boden von Präkanzerosen. Eine Präkanzerose ist eine Zell- bzw. Gewebsveränderung, die mit einem erhöhten Entartungsrisiko einhergeht. Nach der statistischen Wahrscheinlichkeit einer Plattenepithelkarzinomentstehung werden die Vorläuferläsionen in fakultativ und obligat klassifiziert. Zu der Gruppe der fakultativen Präkanzerosen zählen bestimmte Formen des Lichen planus, sowie die homogene Leukoplakie, die chronische Ulzera und die Radiodermatitis. Die inhomogene Leukoplakie, die Erhythroplakie und das Carcinoma in situ zählen zu den obligaten Präkanzerosen [1, 18, 30].

Die aktinische Cheilitis wird als Vorstufe des Lippenkarzinoms bezeichnet [16].

#### b) Der Larynxkarzinome

Analog der oralen Plattenepithelkarzinome zählen der Tabak und der Alkohol zu den wichtigsten Risikofaktoren einer Larynxkarzinomentstehung. Besonders gefährlich ist die Kombination aus den beiden Faktoren. Mehr als 95% der Patienten mit Larynxkarzinom konsumieren Tabak und Alkohol [11, 12, 31-35].

Der soziale Status, die Ernährung und die Umwelt sind von großer Bedeutung bei der Ätiologie. Eine schützende Wirkung von Obst und Gemüse ist nachgewiesen [11, 12, 35, 36].

Der Zusammenhang zwischen der Larynxkarzinomentstehung und der beruflichen Exposition gegenüber Asbest, Nickel und polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen wird immer mehr diskutiert. Ebenfalls ist die Beziehung zwischen einer HPV-Infektion und der Refluxoesophagitis mit der Krankheitsentstehung bekannt [11, 12, 33, 36, 37].

Aus einer Dysplasie und Carcinoma in situ kann sich ein Larynxkarzinom entwickeln. Bewiesen ist aber auch, dass das Larynxkarzinom direkt ohne Vorläuferläsionen entstehen kann [38].

### 1.1.3. Klassifikation

#### a) Der oralen Plattenepithelkarzinome

Das orale PEC kann überall intraoral auftreten. Die Prädilektionsstellen sind der Zungenrand, der Zungenrund und der Mundboden. Das Wachstum des Tumors erfolgt meist schmerzlos, was zu einer verzögerten Diagnostizierung führt. Bei vielen Patienten ist es schon bei der Diagnosestellung zu einer Invasion der Lymphgefäße mit Tumorzellen gekommen. Die Metastasierung erfolgt meistens lymphogen in die regionalen Lymphknoten. Ein hämatogener Befall ist selten ein Spätsymptom und tritt meist in der Lunge, der Leber oder im Skelett auf [1, 16, 39].

Mit Hilfe von verschiedenen klinischen, radiologischen und histopathologischen Untersuchungen wird das Tumorstadium festgelegt. Die UICC fasst die wichtigsten Befunde in einem TNM-Schema für die Tumoren der Mundhöhle und des Oropharynx zusammen, wobei das klinische TNM- von dem histopathologischen TNM-System unterschieden werden sollte (Tabelle 1.1). Die wichtigsten Prognosefaktoren sind die Tumorgroße, Lymphknotenstatus, Fernmetastasenbefall und Entdifferenzierungsgrad. Läsionen mit schlechterem Entdifferenzierungsgrad haben häufiger keine tumorfreien Resektionsränder und neigen deshalb nicht selten zu Rezidiven. Dies führt zu einer Verringerung der relativen Überlebensrate [1, 18, 40-42].

**Tabelle 1. 1 Tumorstadieneinteilung nach UICC für Mundhöhlen- und Oropharynxkarzinome [40]**

<b>Tumorgröße</b>	<b>Kurzbezeichnung</b>	<b>Beschreibung</b>
	Tis	Carcinoma in situ
	T0	Kein Primärtumor vorhanden
	T1	Primärtumor mit max. Durchmesser von 2 cm
	T2	Primärtumor mit >2 <4 cm max. Durchmesser
	T3	Primärtumor >4cm im max. Durchmesser
	T4	Primärtumor mit Invasion in Nachbarorgane
	Tx	Primärtumor nicht bestimmbar
<b>Lymphknotenstatus</b>	N0	keine regionale Lymphknotenmetastasen nachweisbar
	N1	Metastasen mit einem solitären ipsilateralen Lymphknoten, <3 cm
	N2a	Metastasen mit einem solitären ipsilateralen Lymphknoten, >3, <6 cm im max. Durchmesser
	N2b	Metastasen in multiplen ipsilateralen Lymphknoten, <6 cm im max. Durchmesser
	N2c	Metastasen in bilateralen oder kontralateralen Lymphknoten, keiner mehr als 6 cm in größter Ausdehnung
	N3	eine oder mehrere Lymphknotenmetastasen, > 6 cm im max. Durchmesser
	Nx	regionale Lymphknoten nicht beurteilbar
<b>Fernmetastasen</b>	M0	keine Fernmetastasen nachweisbar
	M1	Fernmetastasen vorhanden
<b>Entdifferenzierungsgrad</b>	G1	gut differenziert
	G2	mäßig differenziert
	G3/4	schlecht differenziert/entdifferenziert
	Gx	Differenzierungsgrad nicht beurteilbar

Weitere Faktoren wie Karzinomausdehnung in die Lymph- und Blutgefäße sowie Resektionsrandstatus sind in Tabelle 1.2 zusammengefasst.

**Tabelle 1. 2 Weitere Kategorien und Zusatzgaben [40]**

Beurteilungskriterium	Kurzbezeichnung	Beshreibung
<b>Residualtumor</b>	R0	kein Residualtumor
	R1	Residualtumor mikroskopisch nachweisbar
	R2	Residualtumor makroskopisch nachweisbar
<b>Lymphgefäßen- Invasion</b>	L0	keine Lymphgefäßeninvasion
	L1	Lymphgefäßeninvasion nachweisbar
<b>Veneninvasion</b>	V0	keine Veneninvasion
	V1	Veneninvasion mikroskopisch nachweisbar
	V2	Veneninvasion makroskopisch nachweisbar

Für eine Vereinfachung der komplexen TNM-Klassifikation wird der Erkrankungsschweregrad in vier verschiedene Stadien unterteilt (Tabelle1.3). Je höher das Stadium, desto schlechter die Prognose [16].

**Tabelle 1. 3 Stadieneinteilung, entsprechend der Richtlinien der UICC [40]**

Stadium	Beschreibung
Stadium 0	Tis N0 M0
Stadium 1	T1 N0 M0
Stadium 2	T2 N0 M0
Stadium 3	T3 N0 M0
	T1,2,3 N1 M0
Stadium 4a	T4 N0 M0
	T4 N1 M0

	T1,2,3,4 N2 M0
Stadium 4b	T1,2,3,4 N3 M0
Stadium 4c	T1,2,3,4 N0,1,2,3 M1

b) der Larynxkarzinome

Der Larynx ist anatomisch in Supraglottis, Glottis und Subglottis geteilt (Tabelle 1.4).

**Tabelle 1. 4 Anatomische Einteilung [33]**

Region	Subregion
Supraglottis	Suprahyoidepiglottis
	Aryepiglottische Falte
	Arytenoid
	Infrahyoidale Epiglottis
Glottis	Ventrikuläre Falte
	Stimmbänder
	Ant. Kommissuren
	Post. Kommissuren
Subglottis	

Mehr als 95% der neoplastischen Larynxerkrankungen sind Plattenepithelkarzinome [32]. Andere maligne Phänotypen, wie das verruköse Plattenepithelkarzinom, das Adenokarzinom oder das Chondrosarkom, kommen eher selten vor [33].

Zwischen 25% und 75% der Supraglottis- und Subglottiskarzinome metastasieren in die regionalen Lymphknoten. Bei den Glottiskarzinomen hingegen tritt ein Lymphknotenbefall nur selten auf [43, 44].

Allgemein ist eine Fernmetastasierung des Larynxkarzinoms selten. Am häufigsten kommt es bei dem Subglottiskarzinom vor, gefolgt von Supraglottis und Glottiskarzinom [33].

Analog zu den oralen PEC besteht auch für Larynxkarzinome eine TNM-Klassifikation (Tabelle 1.5).

**Tabelle 1. 5 Tumorstadieneinteilung nach UICC für Larynxkarzinom [40]**

<b>Beurteilungskriterium</b>	<b>Kurzbezeichnung</b>	<b>Beschreibung</b>
<b>Tumorgröße Glottis</b>	T1	Der Tumor ist auf die Stimmbänder begrenzt (vordere oder hintere Kommissur kann mitbetroffen sein). Normale Beweglichkeit der Stimmbänder
	T1a	Ein Stimmband betroffen
	T1b	Beide Stimmbänder betroffen
	T2	Der Tumor erstreckt sich auf die Supraglottis und/oder die Infraglottis und/oder die Stimmbandbeweglichkeit ist herabgesetzt
	T3	Der Tumor ist auf dem Larynx begrenzt, mit Fixation der Stimmbänder und / oder infiltriert eine der folgenden Strukturen: den Bereich hinter der Cartilago cricoidea, das präepiglottische Gewebe, den paraglottischen Raum und/oder kleine Erosionen des Knorpels. (z.B. der inneren Rinde)
	T4a	Der Tumor durchbricht den Schildknorpel und/oder infiltriert Gewebe außerhalb des Kehlkopfes (z.B. Trachea, Weichgewebe des Halses, einschließlich des tiefen glatten Muskels der Zunge, quergestreifte Muskulatur, die Schilddrüse oder den Ösophagus)
	T4b	Der Tumor infiltriert den paravertebralen Raum, umgibt die A. carotis, oder infiltriert mediastinale Strukturen
<b>Tumorgröße Supraglottis</b>	T1	Der Tumor ist auf eine Stelle begrenzt und die Stimmbänder sind normal beweglich
	T2	Der Tumor infiltriert die Mukosa von mehr als einer Stelle der Supraglottis, der Glottis oder einer Region außerhalb der Supraglottis (z.B. Mukosa des Zugengrundes, der Vallecula, der medialen Wand des Sinus piriformis), ohne dass der Larynx in seiner Beweglichkeit eingeschränkt wird
	T3	Der Tumor ist auf den Larynx beschränkt, aber mit Fixierung der Stimmbänder
	T4a	Der Tumor durchbricht den Schildknorpel und/oder infiltriert Gewebe außerhalb des Kehlkopfes (z.B. Trachea, Weichgewebe des Halses, einschließlich des tiefen glatten Muskels der Zunge, der quergestreiften Muskulatur, der Schilddrüse oder des Ösophagus)
	T4b	Der Tumor infiltriert den paravertebralen Raum, umgibt die A. carotis, oder infiltriert mediastinale Strukturen
<b>Tumorgröße Subglottis</b>	T1	Der Tumor ist auf die Subglottis beschränkt
	T2	Der Tumor erstreckt sich auf die Stimmbänder mit normaler oder herabgesetzter Beweglichkeit

	T3	Der Tumor ist auf den Larynx beschränkt, aber mit Fixierung der Stimmbänder
	T4a	Der Tumor infiltriert den Schildknorpel oder den Ringknorpel und/oder infiltriert Gewebe außerhalb des Larynx (z.B. Trachea, Weichgewebe des Halses, einschließlich des tiefen glatten Muskels der Zunge, quergestreifte Muskulatur, die Schilddrüse oder den Ösophagus)
	T4b	Der Tumor infiltriert den paravertebralen Raum, umgibt die A. carotis, oder infiltriert mediastinale Strukturen
<b>Lymphknotenstatus</b>	Nx	Lymphknoten können nicht beurteilt werden
	N0	Keine Anzeichen für eine regionale Lymphknotenmetastase
	N1	Metastase in einem einzelnen ipsilateralen Lymphknoten, welcher eine Größe von 3 cm nicht überschreitet
	N2a	Metastase in einem einzelnen ipsilateralen Lymphknoten, welche im größten Durchmesser größer 3 cm ist, eine Größe von 6 cm aber nicht überschreitet
	N2b	Metastasen in mehreren, auf der Seite des Tumors gelegene und bis zu 6cm großer Lymphknoten
	N2c	Metastasen in bilateralen oder kontralateralen Lymphknoten, von denen keiner eine Größe von 6 cm überschreitet
	N3	Metastase in einem Lymphknoten, der eine Größe von 6 cm überschreitet
<b>Fernmetastasen</b>	Mx	Fernmetastase kann nicht beurteilt werden
	M0	Kein Anhalt für eine Fernmetastase
	M1	Fernmetastase vorhanden

Die UICC Stadien sind wie folgt zusammengefasst (Tabelle 1.6).

**Tabelle 1. 6 Stadieneinteilung von Larynxkarzinomen, entsprechend der Richtlinien der UICC [40]**

Stadium	Beschreibung
Stadium 0	Tis N0 M0
Stadium 1	T1 N0 M0
Stadium 2	T2 N0 M0
Stadium 3	T3 N0 M0
	T1,2N1 M0
Stadium 4a	T4a N0 M0
	T1,2,3 N2 M0
Stadium 4b	T4b N0,1,2,3 M0; T1,2,3,4 N3 M0
Stadium 4c	T1,2,3,4 N0,1,2,3 M1

Die Karzinomausdehnung in die Lymph- und Blutgefäße, sowie der Resektionsrandstatus sind in Tabelle 1.2 dargestellt.

#### 1.1.4. Therapie

##### a) Der oralen Plattenepithelkarzinome

Die drei wichtigsten Tumortheriesäulen sind Chirurgie, Radiatio und Chemotherapie. Die Primärtherapie erfolgt i.d.R. durch einen chirurgischen Eingriff. Bei der Tumorresektion wird ein Sicherheitsabstand von 1 cm im Gesunden angestrebt. Prophylaktisch oder bei Verdacht auf Metastasen wird eine komplette Lymphknotenausräumung durchgeführt [16, 24, 39, 45].

Nach der chirurgischen Behandlung wird, abhängig von dem histopathologischen Ergebnis, eine adjuvante Radiotherapie, ggf. bei aggressiven Tumoren oder hohen Tumorstadien in Kombination mit Chemotherapie, durchgeführt [42, 45]. Je schneller sich die Zellen teilen, desto besser ist der Effekt der Bestrahlung. Der Nachteil ist, dass die Speicheldrüsenzellen atrophieren, was zu einer Xerostomie und Mukositis führt. Diese sind für die Patienten sehr schmerzhaft und erschweren die Nahrungsaufnahme extrem [16, 24, 42].

Die Chemotherapie kann in Kombination mit Strahlentherapie bzw. nur als palliative Therapie eingesetzt werden. Sie erfolgt mit verschiedenen Zytostatika. Bekannt sind die platinhaltige Medikamente (Cis-Platin, Carbo-Platin), 5-Fluoruracil, Taxane (Paclitaxel, Docetaxel), EGFR-Antikörper (Cetuximab) [16]. Eine Kombination mehrerer Präparate kann sinnvoll sein [45].

##### b) Larynxkarzinom

Ähnlich wie bei dem oralen Plattenepithelkarzinom zählen verschiedene chirurgische Eingriffe, Radio- und Chemotherapie zu den Therapieoptionen [46-51].

Sowie bei invasiven chirurgischen Methoden als auch bei Chemo- bzw. Radiotherapie muss mit Nebenwirkungen gerechnet werden [46].



Zu den invasiven chirurgischen Verfahren zählen die laserchirurgische Resektion, die Larynxteilresektion und die Laryngektomie. Auch hier wird beim Verdacht auf Lymphknotenmetastasen eine konservative bzw. radikale Neckdissection durchgeführt. Da die radikale Halsausräumung mit mehreren Komplikationen verbunden ist, ist auch in der Larynxkarzinomtherapie die konservative Methode zu bevorzugen [52].

Die laserchirurgische Tumorentfernung erfolgt transoral mittels Endoskop und CO<sub>2</sub> LASER. Bei diesem Eingriff treten weniger postoperative Komplikationen, wie Atem- und Schluckstörungen auf, allerdings besteht eine erhöhte Rezidivgefahr aufgrund eines evtl. nicht tumorfreien Resektionsrandes [52-55].

Ist kein endoskopischer Eingriff möglich oder indiziert, wird eine transkutane Larynxteilresektion durchgeführt [52, 56].

Die Indikation für eine Laryngektomie ist gegeben, wenn das Alter bzw. der Allgemeinzustand des Patienten ein erhöhtes Aspirationsrisiko darstellt oder eine Teilresektion aufgrund einer größeren Tumorausdehnung nicht möglich ist. Der größte Vorteil dieses invasiven Eingriffs ist die vollständige lokale Tumorentfernung.

Werden Lymphknotenmetastasen in dem pathologischen Befund nachgewiesen, kann eine adjuvante Radio- bzw. Radio und Chemotherapie indiziert sein [51, 52].

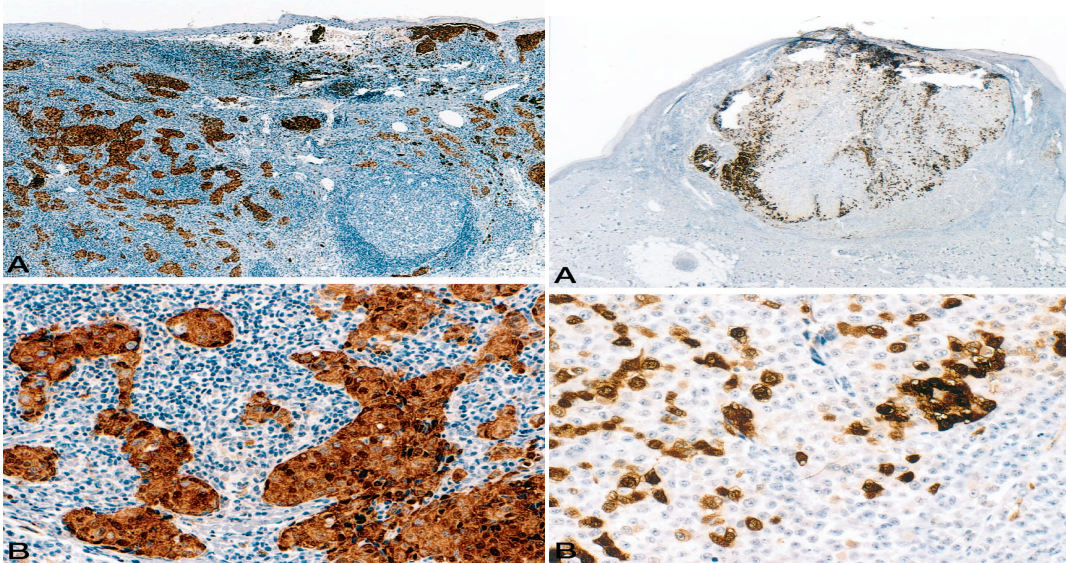
## 1.2. MAGE-A-Antigene

Zuerst wurde das MAGE-A-Antigen (Melanom assoziiertes Antigen A1) im Jahr 1991 von Thierry Boon beschrieben [57]. Hierbei wurde nachgewiesen, dass MAGE-A1 die Expression von MZ2-E-Antigen in den zytotoxischen T-Zellen eines malignen Melanoms reguliert [57].

Heute ist es bekannt, dass die MAGE-A-Antigene nicht nur im Melanom vorkommen, sondern auch in vielen anderen malignen Läsionen, z.B. im Oropharynx [58], Magen- [59], Kolorektal- [60] und Lungenkarzinom [61].

Es sind mehr als 50 Subtypen der MAGE-Antigene zu unterscheiden. Sie werden in 2 Hauptgruppen, MAGE-I und -II, unterteilt. Subtypen A, B und C gehören zur MAGE-I-Gruppe und ihre Expression wurde hauptsächlich in den malignen Tumoren nachgewiesen.

Das MAGE-Proteine konnten in Spermatozyten, Plazenta und in verschiedenen Embryonalphasen der Fötusentwicklung nachgewiesen werden [62]. Neue Studien zeigen, dass MAGE-A-Antigene auch bei fetalen Keratozyten anzutreffen sind [63].



**Abb. 1. 1 Homogene MAGE 57B Expression in malignem Melanom [64]**

**Abb. 1. 2 Heterogene MAGE 57B Expression in malignem Melanom [64]**

Kufer et al. bewiesen einen Zusammenhang zwischen dem MAGE-A-Antigen Vorkommen und einem erhöhten Metastasenrisiko bei Prostatakarzinom [65].

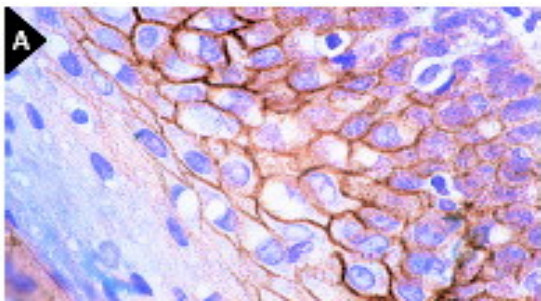
Die Demethylierung der DNA während der Tumorgenese fördert die MAGE-A-Antigenexpression. Die resultierenden neugebildeten Proteine könnten genutzt werden, um eine Immunantwort auszulösen und so den Anfang einer neuen Immuntherapie zu setzen [62].

Die MAGE II- Gruppe dagegen wurde in mehreren normalen Geweben, sowie bei einigen Tumoren nachgewiesen. Sie spielen eventuell eine Rolle in der Zellzyklusprogression und der Apoptose [66].

### 1.3. E-Cadherin

Die Cadherine sind wichtige Adhäsionsmoleküle und sind gemäß dem Gewebetyp (E-Cadherin für epithelial, N-Cadherin für neural und P-Cadherin für plazentar) zu unterscheiden [67].

E-Cadherin ist ein kalziumabhängiges transmembranes Glykoprotein, das 120-kDa groß ist und im Chromosom 16q22.1. lokalisiert ist [67]. Es kommt in den meisten Gewebsepithelien vor und ist für die Regulation der Zell-Zell-Adhäsion und der Desmosomen verantwortlich [68].



**Abb. 1. 3 E-Cadherin Expression in menschlicher Tonsille [69]**

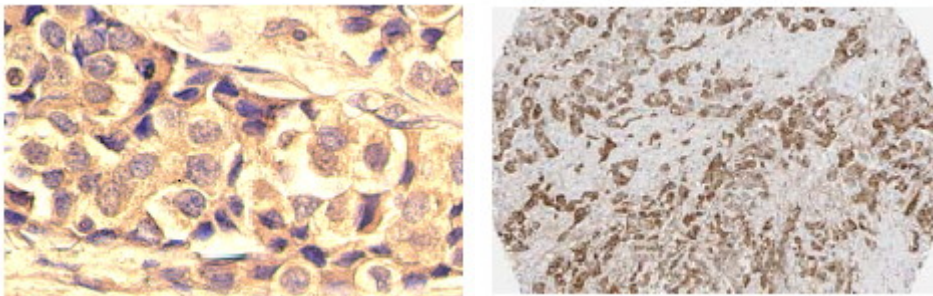
Bekannt ist, dass eine übermäßige Produktion von beta-Catenin die Entartung des Gewebes fördert. Diese Produktion wird mit Hilfe von E-Cadherin kontrolliert. Störungen dieser Regulation begünstigen die Karzinomentstehung. Eine verminderte E-Cadherin-Expression bedeutet eine verringerte Zell-Zell-Adhäsion. Dies erleichtert das Lösen der Zellen aus dem Verbund und fördert das Tumorwachstum [70].

Die geringe Konzentration von E-Cadherin in dem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle könnte vom Tumorwachstum abhängig sein und möglicherweise eine Verschlechterung der Prognose bedeuten [67].

Während E-Cadherin bislang in den Metastasen nicht nachgewiesen werden konnte, befand es sich vermehrt in den früh diagnostizierten, gut differenzierten Plattenepithelkarzinomen sowie im Normalgewebe. Das stützt die Annahme, dass eine verminderte Expression eine Metastasierung begünstigen könnte [71].

#### 1.4. Laminin-5-Gamma-2

Zusammen mit Kollagen, Fibronectin und Glykosaminglykanen ist die Gruppe der Laminine am Einbau der Extrazellulärmatrix (EZM) beteiligt. Sie sind heterotrimetrische Glykoproteine, die aus Alpha-, Beta- und Gammaketten strukturiert sind. Ihre Molekularmasse variiert zwischen 400 und 900 kDa [72]. Bis heute sind 15 Laminin-Isoformen bekannt [73]. Die erste Isoform wurde von dem Engelbert-Holm-Swarm-Tumor isoliert [74]. Die Laminine sind sowohl in Basallaminae als auch in den Basalkeratinocyten der Epidermis zu finden und sind an zahlreichen Funktionen beteiligt. Sie sind für die Zelladhäsion verantwortlich. Ihre Bindung an den verschiedenen Rezeptoren und damit die Aktivierung der Signalkaskade ermöglicht die Interaktion mit den Molekülen der EZM, die ihrerseits den Weg für die Zellmigration ebnet [72].



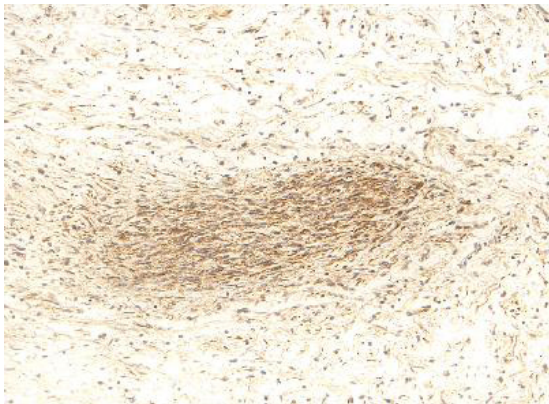
**Abb. 1. 4 Laminin-5 gamma 2-Kette Expression in Mamma (links)- und Pancreaskarzinom (rechts) [75]**

Das für das Mundhöhlenkarzinom interessanteste Laminin ist die Laminin 5 gamma 2-Isoform. Die Laminin-5 gamma 2-Kette spielt eine entscheidende Rolle bei der Zellmigration während der Tumorgenese [76]. Mehrere Studien deuten darauf hin, dass eine starke Laminin-5 gamma 2-Kette Expression positiv mit der Aggressivität und der Invasion des Tumors korreliert. Das heißt, dass in den gut differenzierten Karzinomen weniger Laminin-5 gamma 2-Kette als in den wenig differenzierten exprimiert wird [77]. Verschiedene Laminin-Isoformen sind bei der Angiogenese und dem Tumorwachstum beteiligt. Es wurde festgestellt, dass Thrombozyten verschiedene Laminin-Isoformen bilden. Die Blutplättchen haften dann an den Tumorzellen und werden zu den

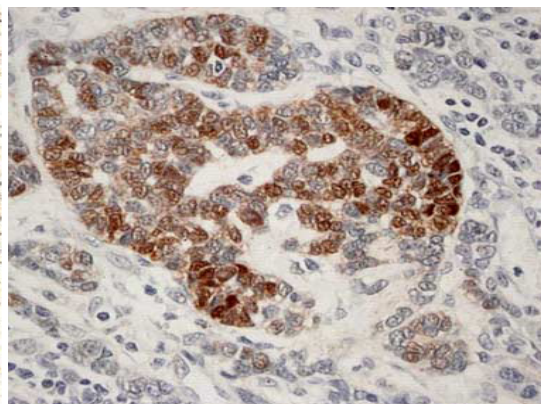
Distalorganen transportiert. So könnte möglicherweise die Laminin-Expression bei den Metastasen erklärt werden [74].

### 1.5. Matrix-Metalloproteinase-2 und -9 (MMP2; MMP9)

Über 20 Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) sind bekannt. Die MMPs sind Endopeptidasen, die bei fast allen Extrazellulärmatrixproteinen enzymatische Aktivitäten aufweisen [78]. Sie können in vier Gruppen unterteilt werden: Kollagenasen (MMP-1,-8,-13), Gelatinasen (MMP-2 und-9), Stromelysine (MMP-3,-10,-11) und Membranständige MMPs (MT-MMP) (MMP-14,-15,-16,-17,-24 und -25) [79].



**Abb. 1. 5 MMP2 Expression in menschlichem Neurofibrom [80]**



**Abb. 1. 6 MMP9 Expression in menschlichen PEC der Mundhöhle [79]**

Die MMPs sind an vielen physiologischen und pathologischen Prozessen beteiligt. Ihre Expression wurde in der Embryonalentwicklung, Wundheilung, Angiogenese, Tumorinvasion und Metastasenbildung nachgewiesen [77]. Die Expression von MT1-MMP (MMP14) ist ein entscheidender Faktor bei der Umwandlung der inaktiven MMP-2-Promotoren in ihre aktive Form [81]. Die Aktivatoren der MMP-9-Promotoren sind noch

nicht sicher geklärt [82]. Zu deren Aktivierung könnten Epstein Barr Viren beitragen [83, 84]. Die aktive Form der Gelatinase induziert dann die Absonderung der TNF-beta und anderer Wachstumsfaktoren und ermöglicht den Kollagen-IV-Abbau in der Basalmembran. Dies führt zum invasiven Karzinomwachstum und Begünstigung der Metastasierung [79, 82, 85].

#### 1.6. Ziel der Arbeit

Ziele der vorliegenden Arbeit sind Expressionshäufigkeiten von MAGE-A-Antigenen, E - Cadherin, Laminin-5-gamma-2, MMP2 und MMP9 in oro-pharyngealen Plattenepithelkarzinomen zu untersuchen. Hierbei findet der Vergleich zwischen Primärtumoren und korrespondierenden Lymphknotenmetastasen besondere Beachtung. Um die Hypothese zu verifizieren, dass die o.g. Parameter einen signifikanten Einfluss auf die Progression und Metastasierung haben, wird der Zusammenhang zwischen den in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Ergebnissen und diversen klinischen Parametern mittels Korrelationsanalyse untersucht.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Material

#### 2.1.1. Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv besteht aus 50 Patienten, 42 Männer und 8 Frauen, die in der Periode 2004-2008 an der Klinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie (MKG) sowie an der Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten (HNO) der Universität Würzburg operiert und behandelt wurden.

Bei allen Patienten wurde ein bereits in den lokoregionalen Lymphknoten metastasiertes orales Plattenepithelkarzinom bzw. Plattenepithelkarzinom des Oropharynx und Larynx diagnostiziert (Tab.2.1).

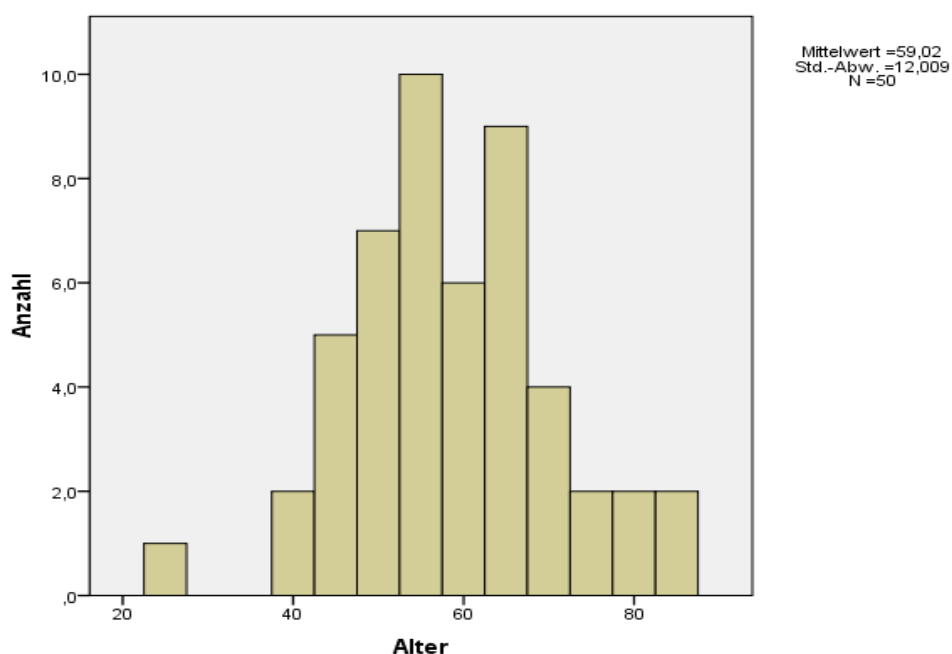
**Tabelle 2. 1 Übersicht der Verteilung der Tumorpräparate:**

<b>Oral</b> (Zunge, Mundboden, Unterkieferschleimhaut)	<b>22</b>
<b>Oropharynx</b> (Gaumen, Tonsillenloge, Zungengrund)	<b>16</b>
<b>Larynx</b>	<b>12</b>

Die Daten wurden retrospektiv aus den Archiven der Kliniken für MKG und HNO sowie des pathologischen Instituts der Universität Würzburg erhoben.

Der Durchschnittsalter in der Patientengruppe betrug 59,02 Jahre. Zwei Patienten waren unter 40 Jahre alt, neun zwischen 40 und 50, 32 zwischen 50 und 70 und sieben über 70 Jahre alt. Der jüngste Patient war 25 und der älteste 87 Jahre alt (Abb.2.1).

**Abb. 2. 1 Altersverteilung**



Bei 12 Patienten wurde ein pT1 Tumor, bei 21 ein pT2-Tumor, bei 11 ein pT3-Tumor und bei 6 ein pT4-Tumor diagnostiziert.

Der pN- Status war bei 19 der Patienten pN1 und bei 31 pN2.

Es ergaben sich insgesamt 14 Fälle, die sich in UICC Stadium III befanden, und 35 in UICC Stadium IV. Bei einem Fall konnte das klinische Stadium nicht beurteilt werden.

Zwei Tumore waren gut, 30 mäßig und 18 schlecht differenziert.

Die Tumorinvasion in den Lymphgefäßen war bei allen Patienten positiv. In 6 Fällen konnte eine Hämangiosis carcinomatosa nachgewiesen werden.



## 2.1.2. Puffer, Lösungen und Medien

### PBS pH 7,4:

72,0 g NaCl

14,8 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

4,3 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

### CS pH 6,0:

42 g Zitronensäure

20,5 g NaOH Plättchen

### Tris EDTA pH 9,0:

1,49 g EDTA

12,11 g Tris

### Target pH 6,1

500 g Citratpuffer, pH 6, 10x konzentriert

Verdünnung 1:10 mit destilliertem Wasser

### DAB, Fa. Dako, Hamburg, Deutschland

5ml 3,3'-Diaminobenzidin in Chromogenlösung

110ml Imidazol-HCl Puffer pH7,5

Verdünnung 1:50

### Hämalaun:

6 g Hämatoxylin, Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland

1 g Natriumjodat, Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland

250 g Kaliumaluminiumsulfat, Fa. AppliChem, Darmstadt, Deutschland

250 g Chloralhydrat, Fa. AppliChem, Darmstadt, Deutschland

5 g Zitronensäure

5000 ml destilliertes Wasser

Xylol 100%, Fa.Jäkle Chemie, Nürnberg, Deutschland

Ethanol 100%, 90%, 80%, 70%, Fa.Brüggemann, Heilbronn, Deutschland

Die für diese Arbeit verwendeten Geräte stammen von folgenden Firmen:

Aquabidest-Anlage Milli-Q Plus PF	Millipore, Molsheim, Frankreich
Brutschränke	Heraeus, Hanau, Deutschland
Kühl- und Gefrierschrank (-20° C)	Liebherr; Privileg; Quelle, Fürth, Deutschland
Mikroskop DMLB	Leica, Wetzlar, Deutschland
Mikrotom Hn 40	Reichert und Jung, Bensheim, Deutschland
Pipetten	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Druckkochtopf	WMF, Geislingen/Steige, Deutschland
Mikrowelle	Mikromaxx (Medion), Essen, Deutschland
Wasserbad	MEDAX Nagel KG, Kiel, Deutschland

### 2.1.3. Antikörper

Die verwendeten Primärantikörper sind in der Tabelle 2.2 dargestellt.

**Tabelle 2. 2 Primärantikörper**

<b>Antikörper</b>	<b>Verdünnung</b>	<b>Vorbehandlung</b>	<b>Aufbewahrung</b>	<b>Hersteller</b>
<b>MAGE-A (57B)</b>	1:100	EDTA Tris 9,0 4min 900W, 10min 180W	4°C	Wurde freundlicherweise von Prof. Ginlio Spagnoli, Department Biomedizin, Universitätsklinikum Basel, Schweiz zur Verfügung gestellt
<b>E-Cadherin</b>	1:10	CS 6,0 heiß, 13min	4°C	Santa Cruz, Heidelberg, Deutschland
<b>MMP2</b>	1:100	Target 6,1 kalt, 15min	-20°C	Abnova, Heidelberg, Deutschland
<b>MMP9</b>	1:100	Target 6,1 kalt, 15min	4°C	Neo Markers, Fremont, Canada
<b>Laminin 5</b>	1:50	Target 6,1 kalt 15min	4°C	Santa Cruz, Heidelberg, Deutschland

Das Advance TM HRP-Nachweissystem sowie die Sekundär- und Tertiär-Antikörper stammen von Fa. Dako, Hamburg, Deutschland. Die sekundären Anti-Maus und Anti-Kaninchen- und die tertiären Meerrettichperoxidase polymerisierten Antikörper werden in Tris-HCl-Puffer mit Stabilisatoren und einem mikrobiellen Wirkstoff aufbewahrt.

## 2.2 Methoden der Immunhistochemie

Für alle 50 Patientenfälle wurde ein Schnitt von dem Primärplattenepithelkarzinom und ein Schnitt von der Lymphknotenmetastase pro verwendeten Antikörper angefertigt. Das erfolgte mit einem Schlittmikrotom und die Schnittdicke betrug etwa 3  $\mu\text{m}$ .

Die Schnitte wurden auf silanisierte Objektträger aufgezogen und über Nacht bei Raumtemperatur zum Trocken gestellt.

Am folgenden Tag erfolgte die Entparaffinisierung. Die Schnitte wurden 25 min mit Xylol und dann 3 min mit einer absteigenden Alkoholreihe (2x100% Ethanol, 2x90% Ethanol, 2x80% Ethanol und 2x70% Ethanol) bearbeitet, dann ausreichend mit Aquadest gewässert. Anschließend wurden diejenigen, die mit E-Cadherin, Laminin-5 gamma-2, MMP2 und MMP9 inkubiert werden sollten, im Drucktopf mit dem passenden Puffer gekocht (Tabelle 2.2). Die Schnitte, die mit MAGE-A gefärbt werden sollten, wurden mit Tris/ EDTA Puffer mit pH 9 in der Mikrowelle gekocht. Die Kochzeit betrug 4 min bei 900 Watt und 10 min bei 180 Watt. Schließlich wurden die Proben wiederholt mit destilliertem Wasser gespült und unter Coverplates fixiert.

Es wurde bei jedem der folgenden Schritte 100 $\mu\text{l}$  Flüssigkeit verbraucht. Die Blasenfreiheit wurde mit PBS überprüft. Die entsprechenden Primärantikörper wurden in die passende Verdünnung pipettiert und eine Stunde inkubiert (Tab. 2.2). Die Spülung erfolgte zweimal mit PBS. Danach wurden die sekundären Antikörper eingelegt. Nach 20 min Wirkzeit wurden die Schnitte erneut zweimal mit PBS gewaschen. Als nächstes wurden die tertiären meerrettich-peroxidasepolymerisierenden Antikörper pipettiert und nach 20 min erneut zweimal mit PBS gespült. Zum Abschluss der Reaktion wurde DAB eingesetzt und genau nach zehn min zweimal mit PBS durchgespült. Die Schnitte wurden vorsichtig aus den

Coverplates entfernt und in Hämalaun drei min gegengefärbt. Die Präparate wurden zehn min mit Leitungswasser gewässert und danach kurz in Alkohol überführt. Nach 60 min Trocknen im Blutschrank wurden die fertigen Färbungen mit Entellan eingedeckt.

Die Expression der Antigene wurde mit Hilfe von einem Score-System quantifiziert. Ein Score von 0 bedeutet, dass keine der Zellen des Präparates positiv reagiert haben. Bei einem Score von 4 wurden 80-100% der Zellen angefärbt. Die Scoreverteilung wird in Tab. 2.3 dargestellt.

**Tabelle 2. 3 Scoreverteilung**

Anteil der positiven Zellen	Score
0%	0
<10%	1
11-50%	2
51-80%	3
>80%	4

### 2.3. Statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde mit Unterstützung des Lehrstuhls für Statistik der Universität Würzburg mit SPSS Statistics 17.0 angefertigt.

Mittels deskriptiver Statistiken wurden Mittelwerte, Geschlechts- und Altersverteilung dargestellt.

Um eine Unabhängigkeit zwischen den Färbeergebnissen des Primärtumors und der Metastasen zu überprüfen, wurden die Korrelationstests Spearman-Rho und den exakten Test nach Fischer durchgeführt. Mit Spearman Rho wurde ebenfalls die Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten ( $r_s$ ) zwischen den Färbungen und den Co-Faktoren erzeugt. Ob die Farbergebnisse und die verschiedenen klinischen und histopathologischen Parameter unabhängig voneinander sind, wurde mit dem exakten Test nach Fisher geprüft. Bei einem p-Wert  $<0,05$  wurden die Ergebnisse als statistisch signifikant betrachtet. Ist der p-Wert kleiner als 0,05, so kann die Nullhypothese der Gleichheit auf einem Fehlerniveau

kleiner als 5% verworfen werden und die Daten sind mit großer Wahrscheinlichkeit im Mittel unterschiedlich.

Die Diagramme wurden mit SPSS Statistics 17 und MS Excel 2007 erstellt.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1. Expressionsmuster der MAGE-A-Antigene in den Primärtumoren und deren Metastasen**

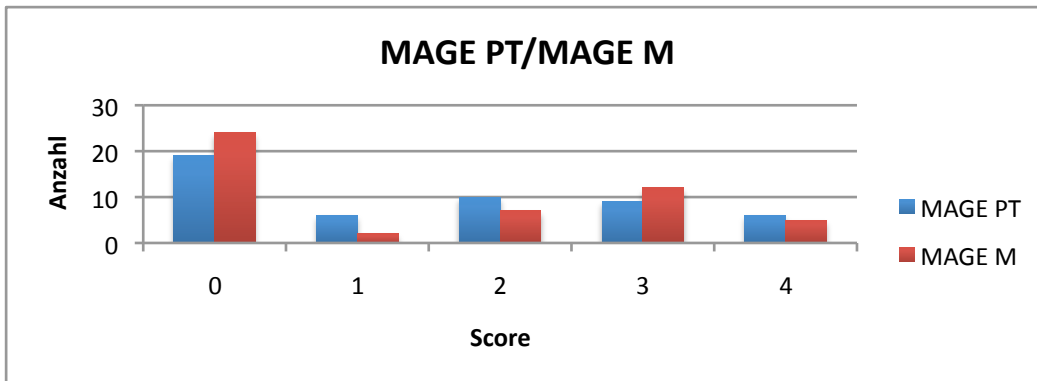
Der Score in den Primärtumoren liegt im Durchschnitt bei 1,54 und in den Metastasen bei 1,44.

Die MAGE-A-Antigenexpression wird bei 31 von 50 (62%) der Primärtumorkläsionen (PT) und bei 26 von 50 (52%) der Lymphknotenmetastasen (M) nachgewiesen.

Score 1 lässt sich bei 6/ 50 (12%) der PT und 2/ 50 (4%) der Metastasen bestimmen. 10/ 50 (20%) der PT und 7/ 50 (14%) der Metastasen werden mit Score 2 und 9/ 50 (18%) der PT und 12/ 50 (24%) der Metastasen mit Score 3 bewertet. Ein Score von 4 wird bei 6/ 50 (12%) der PT und 5/ 50 (10%) der Metastasen ermittelt.

Im Diagramm 1 ist der Zusammenhang zwischen den Färbehäufigkeiten in den Primärtumoren und den Metastasen veranschaulicht. Ein positiver monotoner Zusammenhang zwischen den beiden Variablen wurde statistisch festgestellt.

**Diagramm 1 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigen-Expression in den Primärtumoren und deren Metastasen**



Die statistischen Ergebnisse sind in Tabellen 3.1, 3.2 und 3.3 zusammengefasst.

**Tabelle 3. 1 MAGE-A Antigenexpression bei primären PEC und deren Metastasen**

Antikörper	Mittlere Scorewerte	Spearman Rho (rs)
<i>MAGE-A PT</i>	1,54	,694*
<i>MAGE-A M</i>	1,44	

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

**Tabelle 3. 2 MAGE-A Antigenexpression und die klinischen Korrelationen**

Parameter	Anzahl	Mittlerer Scorewert PT	Fisher Test PT	Spearman Rho (rs) PT	Mittlerer Scorewert M	Fisher Test M	Spearman Rho (rs) M
<b>Geschlecht</b>							
männlich	42	1,76	<b>0,05</b>	<b>,369*</b>	1,57	0,332	,206
weiblich	8	0,375			0,75		
<b>Alter</b>							
<=40	2	2			1		
41-50	9	2,3			2,1		
51-60	15	1,06	<b>0,036</b>	-,182	1,13	0,47	-,124
61-70	17	1,76			1,76		
>=71	7	0,85			0,57		

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

**Tabelle 3. 3 MAGE-A-Antigenexpression und die histopathologischen Korrelationen**

Parameter	Anzahl	Mittlerer Scorewert PT	Fisher Test PT	Spearman Rho (rs) PT	Mittlerer Scorewert M	Fisher Test M	Spearman Rho (rs) M
<b>G-Stadium</b>							
G1	2	1,5			0		
G2	30	1,4	0,398	,044	1,4	0,867	,093
G3	18	1,7			1,6		
<b>pT-Stadium</b>							
T1	12	1,3			1,4		
T2	21	1,42	0,163	,183	1,23	0,148	,134
T3	11	1,27			1,18		
T4	6	2,8			2,6		
<b>pN-Stadium</b>							
N1	19	1,51	0,429	-,003	1,31	0,857	-,073
N2	31	1,54			1,38		
<b>UICC Stadium</b>							
III	14	1,42	0,25	,030	1,42	1	,024
IV	35	1,62			1,48		



<i>v-Invasion</i>							
v0	44	1,56	0,899	-,049	1,54	0,295	-,197
v1	6	1,33			0		

### 3.1.1. Korrelation des Scores mit dem Geschlecht der Patienten

Der durchschnittliche Score bei Männern beträgt in den Primärtumorpräparaten 1,76 und in den Metastasen 1,57. Er ist bei Frauen mit einem Wert von 0,375 in den PT und 0,75 in den Metastasen niedriger.

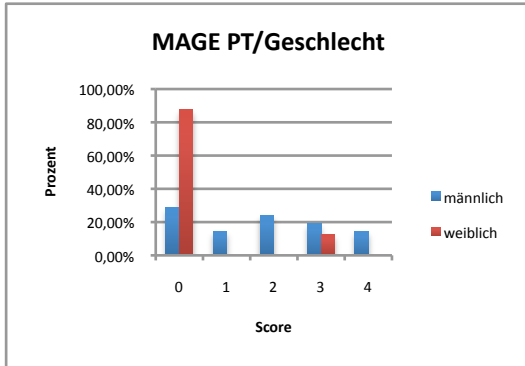
Die Diagramme 2 und 3 zeigen die Verteilung einzelner Scores bei den weiblichen und männlichen Patienten.

Bei dem männlichen Teil sind 30/ 42 (72%) der PT Präparate und 24/ 42 (58%) der Metastasen positiv. Mit Score 1 lassen sich 6/ 42 (14%) der PT und 2/ 42 (5%) der Metastasen, mit Score 2 10/ 42 (23%) der PT und 6/ 42 (14%) der Metastasen, mit Score 3 8/ 42 (19%) der PT und 12/ 42 (28%) der Metastasen und mit Score 4 6/ 42 (14%) der Primärtumorpräparate und 4/ 42 (10%) der Metastasen berechnen.

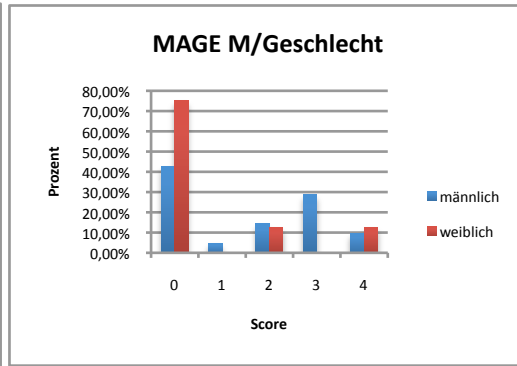
Bei den weiblichen Patienten sind 7/ 8 (88%) der PT und 6/ 8 (75%) der Metastasen negativ. Score 1 kommt sowohl in den PT Präparaten als auch in den Metastasen nicht vor. 1/ 8 der PT (12%) kann mit einem Score von 3 ausgewertet werden, allerdings wurde dieser in den Metastasenproben nicht bestätigt. Score 2 und 4 kommen in den PT nicht vor, treten jedoch bei 25% der Metastasenpräparate auf.

Die Mehrzahl der weiblichen PT Proben wurden mit dem MAGE-A- Antikörper 57B nicht gefärbt. Hingegen liegt der Score bei den männlichen PT Präparaten deutlich höher. Mit einem p-Wert von 0,01 konnte ein monotoner Zusammenhang statistisch bestätigt werden. Die Analyse zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den gefärbten Lymphknotenmetastasen und den beiden Geschlechtern (Tabelle 3.1).

**Diagramm 2 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den PT bei den Geschlechtern**



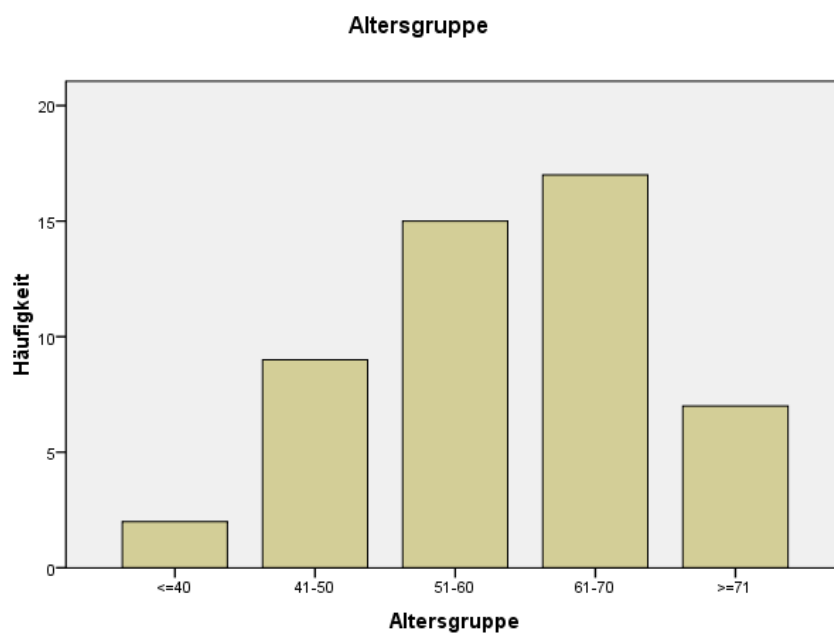
**Diagramm 3 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den Metastasen bei den Geschlechtern**



### 3.1.2. Korrelation mit dem Alter der Patienten

Eine Einteilung des Patientenkollektivs in fünf verschiedenen Altersgruppen erlaubt einen Vergleich zwischen dem Alter der Patienten und den einzelnen Scores der verschiedenen Färbungen (Diagramm 4).

**Diagramm 4 Altersverteilung in Gruppen**



Altersgruppe 1 fasst alle Patienten unter 40 Jahren und Altersgruppe 2 diejenigen zwischen 41 und 50 Jahren zusammen. Die Patienten zwischen 51 und 60 Jahren werden in Altersgruppe 3, diejenigen zwischen 61 und 70 in Altersgruppe 4 und die über 70-jährige in Altersgruppe 5 eingeteilt.

In Altersgruppe 1 erhalten die PT Präparate einen durchschnittlichen Score von 2 und die Metastasenpräparate einen von 1. In Altersgruppe 2 beträgt der Score-Mittelwert in den PT 2,3 und in den Metastasen 2,1, in Altersgruppe 3 in den PT 1,06 und in den Metastasen

1,13, in Altersgruppe 4 jeweils in den PT und Metastasen 1,76 und in Altersgruppe 5 0,85 in den PT und 0,57 in den Metastasen.

In Altersgruppe 1 sind 1/ 2 (50%) der PT und 1/ 2 (50%) der Metastasen negativ. Score 1 und 3 konnten sowohl in den PT als auch in den Metastasen nicht ermittelt werden. Mit Score 2 lässt sich ein Metastasen Präparat und mit Score 4 ein PT-Präparat auswerten.

In Altersgruppe 2 sind 8/ 9 (89%) der PT und 6/ 9 (67%) der Metastasen positiv. Score 1 wird bei einem PT (11%) Präparat bestätigt. Score 2 kommt einmal (11%) in den PT und einmal (11%) in den Metastasen, Score 3 in 6/ 9 (66%) der PT und 3/ 9 (33%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 9 (0%) der PT und 2/ 9 (22%) der Metastasen vor.

In Altersgruppe 3 sind 7/ 15 (47%) der PT und 6/ 15 (40%) der Metastasen positiv. Score 1 tritt einmal (6%) in den PT, Score 2 in 4/ 15 (26%) der PT und 2/ 15 (13%) der Metastasen und Score 3 in 1/ 15 (6%) der PT und 3/ 15 (20%) der Metastasen auf. Score 4 wird bei 1/ 15 (6%) der PT und 1/ 15 (6%) der Metastasen ermittelt.

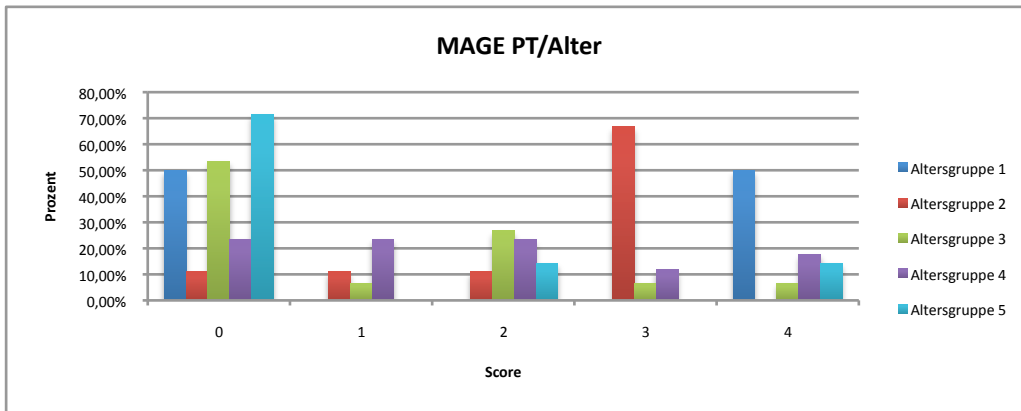
In Altersgruppe 4 sind 13/ 17 (77%) der PT und 11/ 17 (65%) der Metastasen positiv ausgefallen. Score 1 kommt in 4/ 17 (23%) der PT Proben und 2/ 17 (11%) der Metastasen vor. 4/ 17 (23%) der PT und 1/ 17 (5%) der Metastasen werden mit Score 2, 2/ 17 (12%) der PT und 6/ 17 (35%) der Metastasen mit Score 3 und 3/ 17 (17%) der PT und 2/ 17 (12%) der Metastasen mit Score 4 ausgewertet.

In Altersgruppe 5 reagieren 2/ 7 (29%) der PT und 2/ 7 (29%) der Metastasen positiv auf MAGE A Antikörper. Score 1 und 3 kommen nicht vor. Score 2 lässt sich bei 1/ 7 (14%) der PT und 2/ 7 (28%) der Metastasen und Score 4 bei einem (14%) PT Präparat nachweisen.

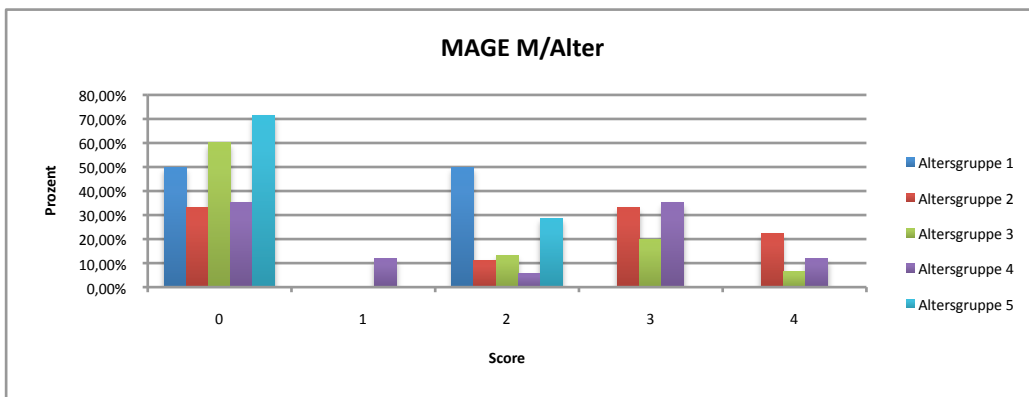
Auffällig ist, dass im Gegensatz zu Score 4, der hauptsächlich bei jüngeren Patienten vorkommt, Score 0 vorwiegend bei Patienten zutrifft, die in Altersgruppe 5 eingeteilt sind. Je älter der Patient ist, desto weniger ist die MAGE-A Expression in den PT. Die Anzahl der positiven Färbungen in den verschiedenen Altersgruppen ist in den Metastasenproben etwa gleich, ebenso die Verteilung der Ergebnisse. Die statistische Analyse ergab keinen

signifikanten Unterschied zwischen den verschiedenen Altersgruppen und der MAGE-A Expression (Tabelle 3.1).

**Diagramm 5 Die Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den PT in den Altersgruppen**



**Diagramm 6 Die Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den Metastasen in den Altersgruppen**



### 3.1.3. Korrelation mit dem Entdifferenzierungsgrad des Tumors

Der durchschnittliche Score bei den Proben mit einer G1 Diagnose beträgt 1,5 in den PT und 0 in den Metastasen. Bei mäßig differenzierten Plattenepithelkarzinomen ergibt sich ein Score- Mittelwert von 1,4 sowohl in den PT als auch in den Metastasen. Der Score in den G3 PT liegt im Durchschnitt bei 1,7 und in deren Metastasen bei 1,6.

Bei G1 Präparaten sind 1/ 2 (50%) der PT und 0/ 2 (0%) der Metastasen positiv. Score 1, 2 und 4 kommen nicht vor, während Score 3 sich bei einem (50%) PT Präparat berechnen lässt (Diagramme 7, 8).

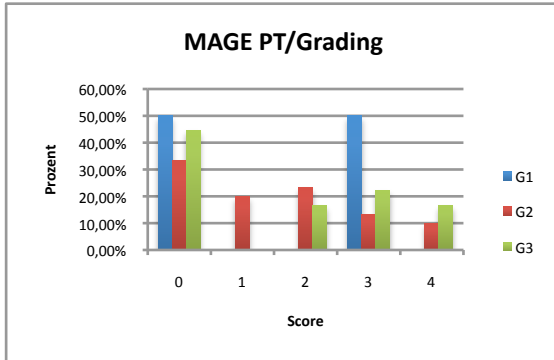
Bei G2 Tumoren sind 20/ 30 (67%) der PT und 16/ 30 (54%) der Metastasen positiv. Score 1 kommt in 6/ 30 (20%) der PT und 2/ 30 (6%) der Metastasen, Score 2 in 7/ 30 (23%) der PT und 3/ 30 (10%) der Metastasen, Score 3 in 4/ 30 (13%) der PT und 8/ 30 (27%) der Metastasen und Score 4 in 3/ 30 (10%) der PT und 3/ 30 (10%) der Metastasen vor (Diagramme 7, 8).

Bei wenig differenzierten PEC sind 10/ 18 (56%) der PT und 10/ 18 (56%) der Metastasen positiv. Score 1 tritt sowohl in den PT als auch in den Metastasen nicht auf. Score 2 kommt in 3/ 18 (17%) der PT und 4/ 18 (22%) der Metastasen, Score 3 in 4/ 18 (22%) der PT und 4/ 18 (22%) der Metastasen und Score 4 in 3/ 18 (17%) der PT und 2/ 17 (12%) der Metastasen vor (Diagramme 7, 8).

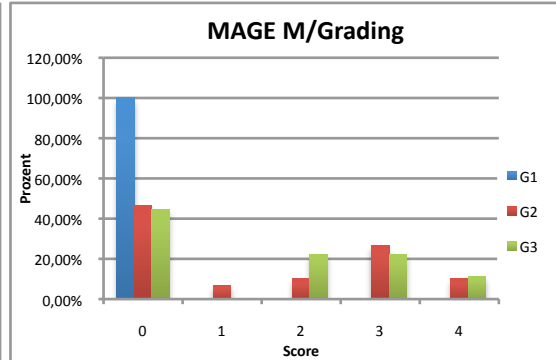
Den Ergebnissen ist es zu entnehmen, dass die mäßig differenzierten PT im Vergleich mit den Metastasenpräparaten keine negativen Ergebnisse aufweisen. Die Scoreverteilung der verschiedenen Entdifferenzierungsgrade ist etwa gleich.

Auch statistisch ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der MAGE-A Antigenexpression in den PT und Metastasen und dem Entartungsgrad des Tumors (Tabelle 3.1).

**Diagramm 7 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den PT in G1, 2, 3**



**Diagramm 8 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den Metastasen in G1, 2, 3**



### 3.1.4. Korrelation mit der pT-Klassifikation

Der durchschnittliche Score bei den T1 Tumoren ist 1,3 in den PT und 1,4 in den Metastasen, bei den T2 Tumoren 1,4 in den PT und 1,2 in den Metastasen, bei den T3 Tumoren 1,3 in den PT und 1,2 in den Metastasen und bei den T4 Läsionen 2,8 in den PT und 2,6 in den Metastasen.

Bei den T1 Präparaten sind 6/ 12 (50%) der PT und 5/ 12 (42%) der Metastasen positiv. Mit Score 1 werden 1/ 12 (8%) der PT und 0/ 12 (0%) der Metastasen, mit Score 3, 3/ 12 (25%) der PT und 3/ 12 (25%) der Metastasen und mit Score 4 1/ 12 (8%) der PT und 2/ 12 (17%) der Metastasen ausgewertet. Score 2 kommt in einem (8%) PT Präparat vor. (Diagramm 9, 10).

Bei T2 Proben reagieren 14/ 21 (67%) der PT und 11/ 21 (52%) der Metastasen positiv auf MAGE-A-Antikörper. Score 1 kommt in den 3/ 21 (14%) der PT und 2/ 21 (9%) der Metastasen, Score 2 in 8/ 21 (38%) der PT und 5/ 21 (24%) der Metastasen, Score 3 in 1/ 21 (5%) der PT und 2/ 21 (9%) der Metastasen und Score 4 in 2/ 21 (9%) der PT und 2/ 21 (9%) der Metastasen vor (Diagramm 9, 10).

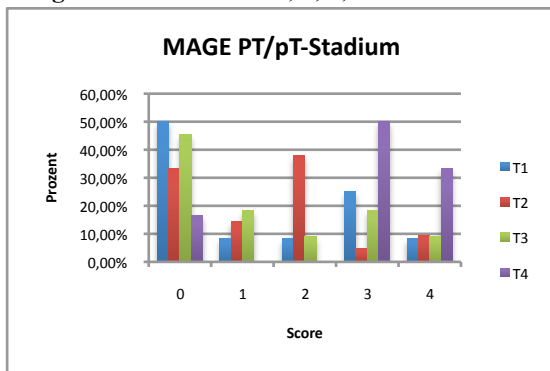
Bei den T3 Tumoren weisen 6/ 11 (54%) der PT und 5/ 11 (45%) der Metastasen positive Ergebnisse auf. Score 1 tritt in 2/ 11 (18%) der PT und in 0/ 11 (0%) der Metastasen, Score

2 in 1/ 11 (9%) der PT und 2/ 11 (18%) der Metastasen, Score 3 in 2/ 11 (18%) der PT und 3/ 11 (27%) der Metastasen und Score 4 in 1/ 11 (9%) der PT und 0/ 11 (0%) der Metastasen auf (Diagramm 9, 10).

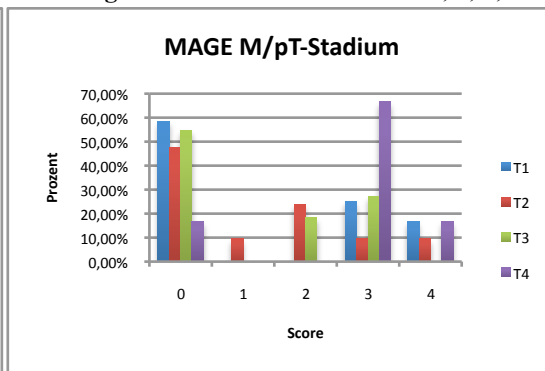
Bei den T4 Läsionen sind 5/ 6 (83%) der PT und 5/ 6 (83%) der Metastasen positiv. Score 1 und 2 kommen nicht vor. Score 3 tritt in 3/ 6 (50%) der PT und 4/ 6 (67%) der Metastasen auf. Score 4 wird in 2/ 6 (33,5%) der PT und 1/ 6 (16,5%) der Metastasen beobachtet (Diagramm 9., 10.).

Zu vermerken ist, dass der durchschnittliche Score mit der zunehmenden Größe des Tumors steigt. Ein Zusammenhang zwischen der Tumorgröße T und der MAGE-A-Antigenexpression konnte jedoch statistisch nicht bestätigt werden (Tabelle 3.1).

**Diagramm 9 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den PT in T1, 2, 3, 4**



**Diagramm 10 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den Metastasen in T1, 2, 3, 4**



### 3.1.4. Korrelation mit der pN- Klassifikation

Bei den Patienten mit einem Lymphknotenbefund pN1 ergibt sich ein durchschnittlicher Score von 1,51 in den PT und 1,31 in den Metastasen. Der Scoremittelwert liegt bei denjenigen mit pN2 Hals, bei 1,54 in den PT und 1,38 in den Metastasen.

Bei den Patienten im Stadium pN1 sind 12/ 19 (63%) der PT und 9/ 19 (47%) der Metastasen positiv. Score 1 kommt in 4/ 19 (21%) der PT, Score 2 in 2/ 19 (10%) der PT



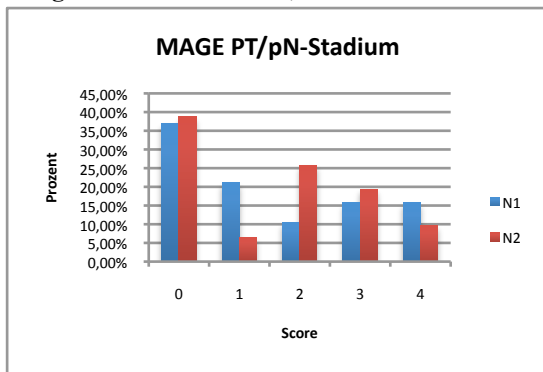
Präparate und 3/ 19 (16%) der Metastasen, Score 3 in 3/ 19 (16%) der PT und 5/ 19 (26%) der Metastasen und Score 4 in 3/ 19 (16%) der PT Proben und 1/ 19 (5%) der Metastaseprobe vor (Diagramme 11, 12).

Bei den Patienten im pN2- Stadium sind 19/ 31 (61%) PT- und 17/ 31 (55%) Metastasenfärbungen positiv. Score 1 tritt in 2/ 31 (6%) der PT und 2/ 31 (6%) der Metastasen, Score 2 in 8/ 31 (26%) der PT und 4/ 31 (13%) der Metastasen, Score 3 in 6/ 31 (19%) der PT und 7/ 31 (23%) der Metastasen und Score 4 in 3/ 31 (10%) PT und 4/ 31 (13%) Metastasen auf (Diagramme 11, 12).

Die MAGE-A-Antigenexpression ist bei pN1 und pN2 etwa gleich. Mit der statistischen Analyse konnte auch kein Unterschied zwischen den MAGE-A PT bzw. MAGE-A M Färbungen und den N-Stadien bewiesen werden (Tabelle 3.1).

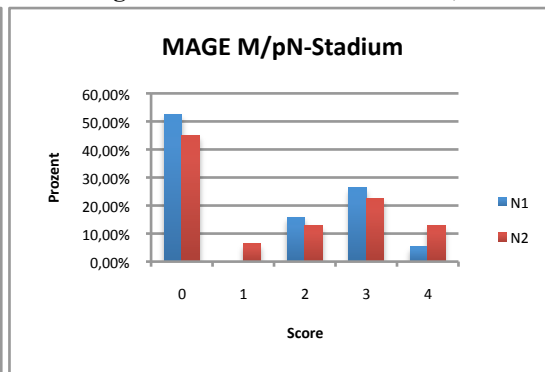
**Diagramm 11 Scoreverteilung der MAGE-A-**

**Antigene in den PT in N1,2**



**Diagramm 12 Scoreverteilung der MAGE-A-**

**Antigene in den Metastasen in N1,2**



### 3.1.5. Korrelation mit dem UICC Stadium

Die Einteilung nach UICC-Stadien ermöglicht den Vergleich des gesamten klinischen Bildes mit den Antigenen. Zunächst wird der Zusammenhang zwischen der MAGE-A-Antigen Expression und den UICC-Stadien überprüft.

Der Score im Stadium III beträgt im Durchschnitt sowohl in den PT als auch in den Metastasen 1,42. Der Score-Mittelwert liegt im Stadium IV bei 1,62 in den PT und bei 1,48 in den Metastasen.

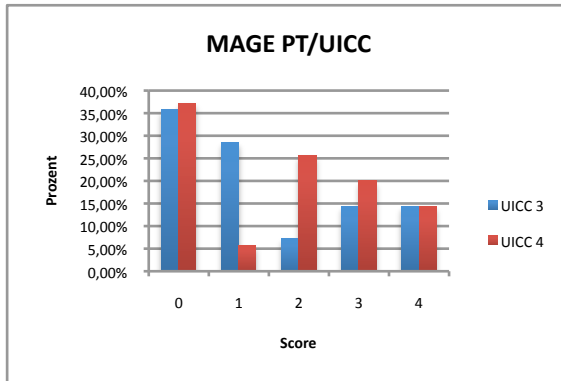
Im Stadium III sind 9/ 14 (64%) der PT und 7/ 14 (50%) der Metastasen mit MAGE-A-Antikörper 57B gefärbt. Score 1 tritt in 4/ 14 (28%) der PT, Score 2 in 1/ 14 (7%) der PT und 2/ 14 (14%) der Metastasen und Score 3 in 2/ 14 (14%) der PT und 4/ 14 (28%) der Metastasen auf. 2/ 14 (14%) der PT und 4/ 1 (14%) der Metastasen werden mit dem maximalen Score bewertet.

Im Stadium IV reagieren 22/ 35 (63%) der PT und 19/ 35 (54%) der Metastasen positiv. Score 1 wird in zwei der PT und zwei der Metastasen, Score 2 in 9/ 35 (26%) der PT Proben und 5/ 35 (14%) der Metastasen, Score 3 in 7/ 35 (20%) der PT und 8/ 35 (23%) der Metastasen und Score 4 in 4/ 35 (11%) der PT und 4/ 35 (11%) der Metastasen ermittelt.

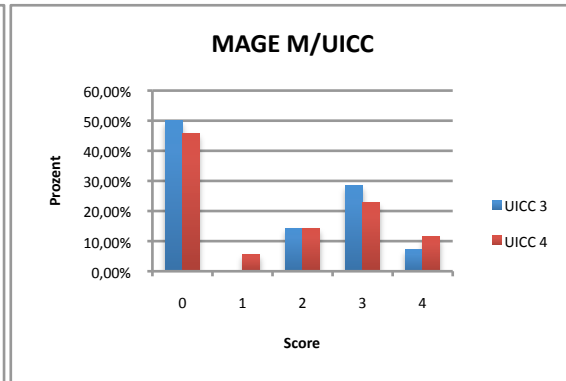
Die Diagramme 13 und 14 stellen die minimale Abweichung der MAGE-A-Antigen Expression in den beiden Stadien deutlicher dar.

Statistisch bestätigte sich keine signifikante Korrelation zwischen den Erhebungsparametern (Tabelle 3.1).

**Diagramm 13 Scoreverteilung der MAGE-A Antigenen in den PT in UICC 3,4**



**Diagramm 14 Scoreverteilung der MAGE-A Antigenen in den Metastasen in UICC 3,4**



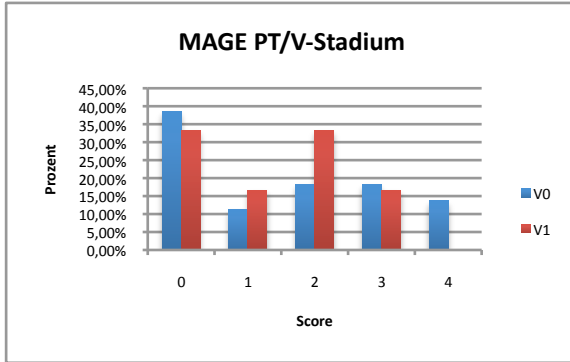
### 3.1.6. Korrelation mit L- und V- Klassifikation

Der durchschnittliche Score des L- Stadiums entspricht dem gesamten Score-Mittelwert. Das hängt mit der Tatsache zusammen, dass die Tumorzellen in der Lymphbahn aller PT Präparaten anzutreffen sind.

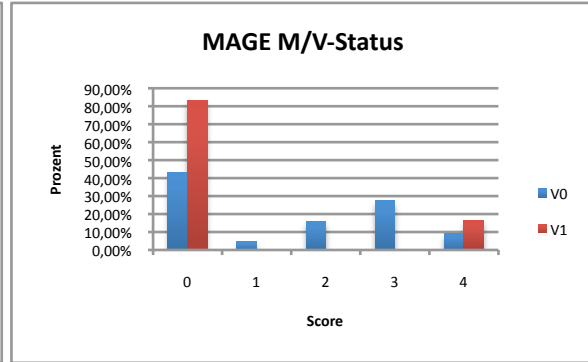
Bei 6/ 50 (12%) der Patienten wurde Hämangiosis carcinomatosa diagnostiziert. Bei V1- Stadium weisen 4/ 6 (67%) der PT MAGE-A-Antigenexpression auf. Score 1 kommt in 1/ 6 (17%) der PT, Score 2 in 2/ 6 (33%) der PT und Score 3 in 1/ 6 (17%) der PT vor. Score 4 tritt sowohl in den PT als auch in den Metastasen nicht auf (Diagramm 15).

Es fällt auf, dass bei den Patienten mit V1- Stadium alle Metastasenpräparate negativ sind (Diagramm 16). Die statistische Analyse ergab jedoch keinen Zusammenhang zwischen dem V-Stadium und der MAGE-A-Expression in den PT und Metastasen (Tabelle 3.1).

**Diagramm 15 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den PT in V0,1**



**Diagramm 16 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den Metastasen in V0,1**



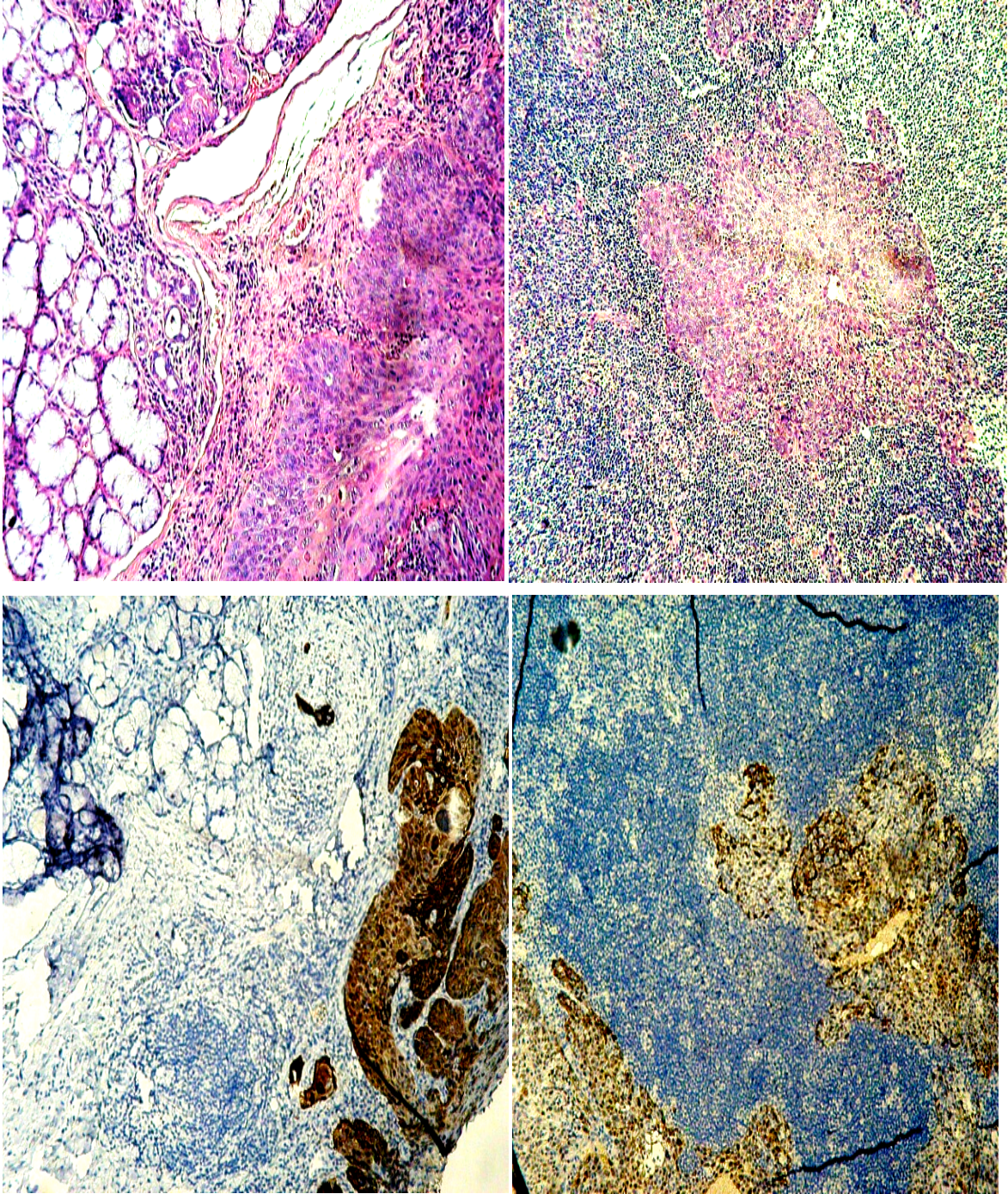


Abb.3. 1 HE Färbung PT (o, re) und Metastase (o, li); MAGE A Färbung PT (u, re) und Metastase (u, li)

### 3.2. Expressionsmuster der E-Cadherin Antigene

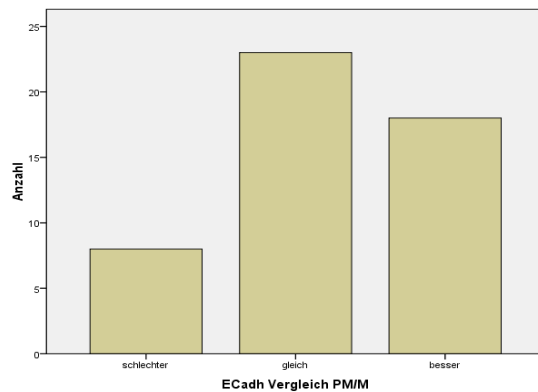
49/ 50 (98%) der PT und 46/ 50 (92%) der Metastasen exprimieren E-Cadherin Antigene. Die Farbergebnisse der Primärtumoren werden mit einem durchschnittlichen Score von 2,94 ausgewertet. Bei den Metastasen liegt der Wert mit 2,58 niedriger. Ein PT Präparat und 4 Metastasen Präparate weisen keine Farbreaktion auf und werden als negativ bewertet. Bei den PT Präparaten kommt Score 1 in 2/ 50 (4%), Score 2 in 13/ 50 (26%), Score 3 in 17/ 50 (34%) und Score 4 in 17/ 50 (34%) der Proben vor.

Score 1 tritt in 1/ 50 (2%) der Metastasenpräparate, Score 2 in 17/ 50 (34%), Score 3 in 14/ 50 (28%) und Score 4 in 13/ 50 (26%) der Patientenproben auf.

Es ist bemerkenswert, dass die E-Cadherin Antigen Expression in den PT und in den Metastasen etwa gleich ist (Diagramm 17).

Ein positiver Zusammenhang zwischen den PT Farbergebnissen und den Metastasen konnte statistisch bestätigt werden.

**Abb. 3. 2 Vergleich E-Cadherinexpression in den PT und deren Metastasen**



Die statistischen Zusammenhänge sind in Tabellen 3.3, 3.4 und 3.5 dargestellt.

**Tabelle 3. 4 E-Cadherin Expression bei primären PEC und deren Metastasen**

	Mittlerer Scorewert	Spearman Rho(rs)
<i>E-Cadherin PT</i>	2,94	,395*
<i>E-Cadherin M</i>	2,38	

\*die Korrelation ist auf dem 0,01Niveau signifikant (zweiseitig)

**Tabelle 3. 5 E-Cadherin Antigene und die klinischen Korrelationen**

Parameter	Anzahl	Mittlerer Scorewert PT	Fisher Test PT	Spearman Rho(rs) PT	Mittlerer Scorewert M	Fisher Test M	Spearman Rho(rs) M
<b><i>Geschlecht</i></b>							
Männlich	42	2,95	0,19	-,040	2,57	0,061	-,041
Weiblich	8	2,87			2,62		
<b><i>Alter</i></b>							
<=40	2	3			2		
41-50	9	3,1			2,7		
51-50	15	3,06	0,782	-,086	2,53	0,263	-,046
61-70	17	2,64			2,47		
>=71	7	3,1			2,85		

**Tabelle 3. 6 E-Cadherin Antigene und die histopathologischen Korrelationen**

Parameter	Anzahl	Mittlerer Scorewert PT	Fisher Test PT	Spearman Rho(rs) PT	Mittlerer Scorewert M	Fisher Test M	Spearman Rho(rs) M
<b><i>G-Stadium</i></b>							
G1	2	3			1,5		
G2	30	3,06	0,078	-,163	3,06	0,444	,078
G3	18	2,7			2,66		
<b><i>pT-Stadium</i></b>							
T1	12	2,91			2,16		
T2	21	2,85	0,401	,131	3,04	0,647	,163
T3	11	3			2,54		
T4	6	3,16			3,16		

<b><i>pN-Stadium</i></b>							
N1	19	2,94	0,717	,032	2,15	0,121	-,206
N2	31	2,93			2,83		
<b><i>UICC Stadium</i></b>							
III	14	3,2	0,924	-,163	2,42	0,393	-,087
IV	35	2,91			2,71		
<b><i>V-Invasion</i></b>							
V0	44	2,9	0,236	-,112	2,52	0,402	,115
V1	6	3,16			3		

### 3.2.1. Korrelation des Scores mit dem Geschlecht der Patienten

Der durchschnittliche Score bei den Männern beträgt in den PT 2,95 und in den Metastasen 2,57. Bei den Frauen liegt der Mittelwert in den PT bei 2,87 und in den Metastasen bei 2,62.

38 von 42 (42%) der männlichen Metastasenproben sind positiv. Score 1 kommt in 2/ 42 der PT (5%), Score 2 in 11/ 42 (26%) der PT und 13/ 42 (31%) der Metastasen, Score 3 in 16/ 42 (38%) der PT und 14/ 42 (33%) der Metastasen und Score 4 in 13/ 42 (31%) der PT und 10/ 42 (24%) der Metastasen vor.

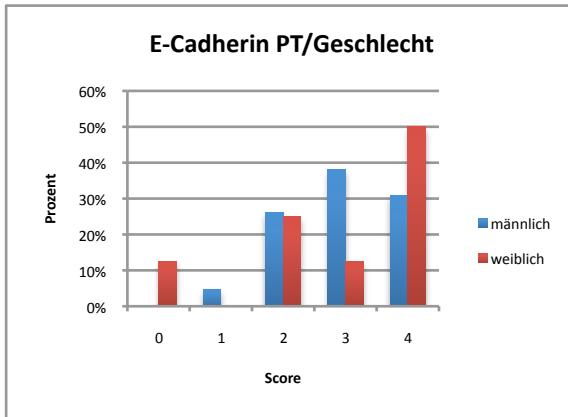
Bei den weiblichen Proben sind 7/ 8 (87%) der PT und 8/ 8 (100%) der Metastasen positiv. Bei den PT Präparaten tritt Score 2 in 2/ 8 (25%), Score 3 in 1/ 8 (13%) und Score 4 in 4/ 8 (50%) der Fälle auf. Score 1 kommt nicht vor.

1/ 8 (13%) der Metastasenpräparate werden mit Score 1, 4/ 8 (50%) mit Score 2 und 3/ 8 (38%) mit Score 4 bewertet. Score 3 kommt bei den Frauen nicht vor.

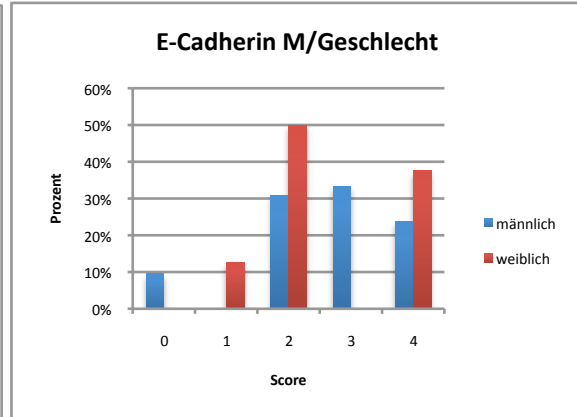
Die Score-Vergabe ist in den Diagrammen 17 und 18 ersichtlich.



**Diagramm 17 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den PT in den Geschlechtern**



**Diagramm 18 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den Metastasen in den Geschlechtern**



Die statistische Analyse ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen der E-Cadherin Expression in den PT und deren Metastasen und der Verteilung in beiden Geschlechtern (Tabelle 3.5).

### 3.2.2. Korrelation mit dem Alter der Patienten

Altersentsprechend wird das Patientenkollektiv in 5 Gruppen eingeteilt (Diagramm 4).

Der durchschnittliche Score in den PT Proben liegt in der Altersgruppe 1 bei 3, in der Altersgruppe 2 bei 3,1, in der Altersgruppe 3 bei 3,06, in der Altersgruppe 4 bei 2,64 und in der Altersgruppe 5 bei 3,1.

Der Mittelwert in den Metastasenpräparaten ist in der Altersgruppe 1 2,0, in der Altersgruppe 2 2,7, in der Altersgruppe 3 2,53, in der Altersgruppe 4 2,47 und in der Altersgruppe 5 2,85.

Die Verteilung einzelner Scores wird in den Diagrammen 19 und 20 dargestellt.

In der Altersgruppe 1 treten keine negativen Farbergebnisse auf. Score 1 kommt in 1/ 2 (50%) der Metastasen und Score 3 in 2/ 2 (100%) der PT und 1/ 2 (50%) der Metastasen vor. Score 2 und Score 4 treten nicht auf.

In der Altersgruppe 2 sind 9/ 9 (100%) der PT und 8/ 9 (89%) der Metastasenpräparate positiv. Score 1 kommt in 1/ 9 (11%) der PT Proben und 0/ 9 der Metastasen, Score 2 in 2/ 9 (22%) der PT und 3/ 9 (33%) der Metastasen, Score 3 in 1/ 9 (11%) der PT und 1/ 9 (11%) der Metastasen und Score 4 in 5/ 9 (56%) der PT und 4/ 9 (44%) der Metastasen vor. In der Altersgruppe 3 sind 13/ 15 (87%) der Metastasenpräparate positiv und 1/ 15 (7%) nicht beurteilbar. Score 0 ist in den PT Proben nicht anzutreffen. Score 1 kommt sowohl in den PT Färbungen als auch in den Metastasen nicht vor. Mit Score 2 werden 4/ 15 (27%) der PT und 2/ 15 (13%) der Metastasen, mit Score 3 6/ 15 (40%) der PT und 6/ 15 (40%) der Metastasen und mit Score 4 5/ 15 (33%) der PT und 4/ 15 (27%) der Metastasen ausgewertet.

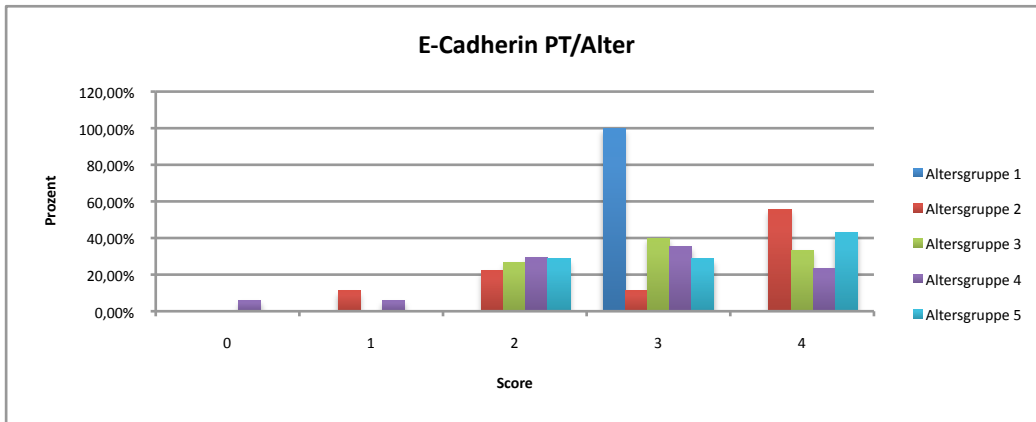
In der Altersgruppe 4 sind 16/ 17 (94%) der PT und 16/ 17 (94%) der Metastasen positiv ausgefallen. Es lässt sich folgende Scoreverteilung beobachten:

Score 1: in 1/ 17 (6%) der PT und 0/ 17 (0%) der Metastasen, Score 2: in 5/ 17 (29%) der PT und 9/ 17 (53%) der Metastasen, Score 3: in 6/ 17 (35%) der PT und 4/ 17 (24%) der Metastasen und Score 4: in 4/ 17 (24%) der PT und 3/ 17 (18%) der Metastasen.

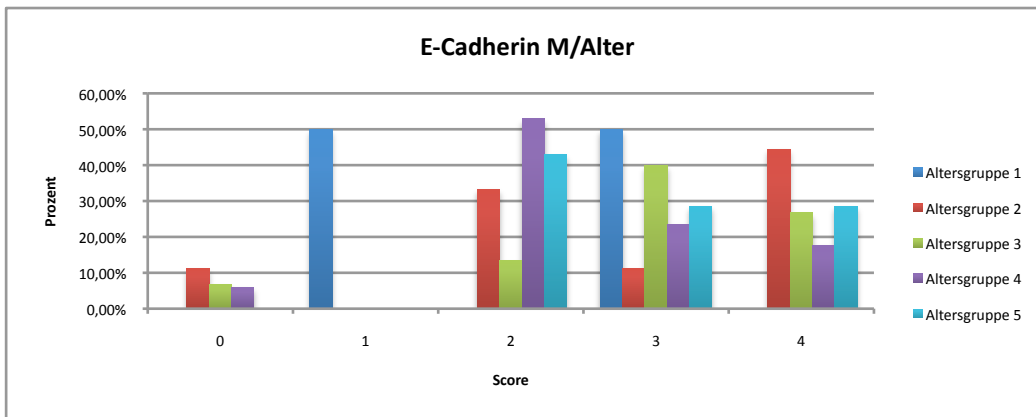
Die Scoreverteilung in der Altersgruppe 5 stellt sich folgendermaßen dar:

Score 0 und Score 1: in 0/ 7 (0%) der PT und 0/ 7 (0%) der Metastasen, Score 2: in 2/ 7 (29%) der PT und 3/ 7 (43%) der Metastasen, Score 3: in 2/ 7 (29%) der PT und 2/ 7 (29%) der Metastasen und Score 4: in 3/ 7 (43%) der PT und 2/ 7 (29%) der Metastasen.

**Diagramm 19 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den PT in den Altersgruppen**



**Diagramm 20 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den Metastasen in den Altersgruppen**



Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Scoreverteilung in den PT und deren Metastasen und dem Patientenalter lässt sich statistisch nicht feststellen (Tabelle 3.5).

### 3.2.3. Korrelation mit dem Entdifferenzierungsgrad des Tumors

Der Score bei Entdifferenzierungsgrad 1 ist im Durchschnitt 3 in den PT und 1,5 in den Metastasen. In den mäßig differenzierten Karzinomen liegt der Mittelwert bei 3,06 sowohl bei den PT als auch bei den Metastasen und in den G3 Tumoren bei 2,7 in den PT und bei 2,66 in den Metastasen.

Der Anteil der einzelnen Scores veranschaulichen die Diagramme 21 und 22.

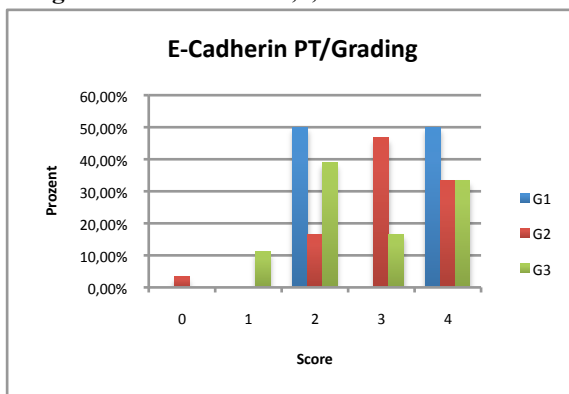
Bei den G1 Fällen sind 2/ 2 (100%) der PT und 1/ 2 (50%) der Metastasen positiv. Score 2 kommt in 1/ 2 der PT und 0/ 2 der Metastasen, Score 3 in 0/ 2 der PT und 1/ 2 der Metastasen und Score 4 in 1/ 2 der PT und 0/ 2 der Metastasenproben vor. Score1 tritt nicht auf.

Der Score bei den G2 Tumoren wurde folgendermaßen verteilt:

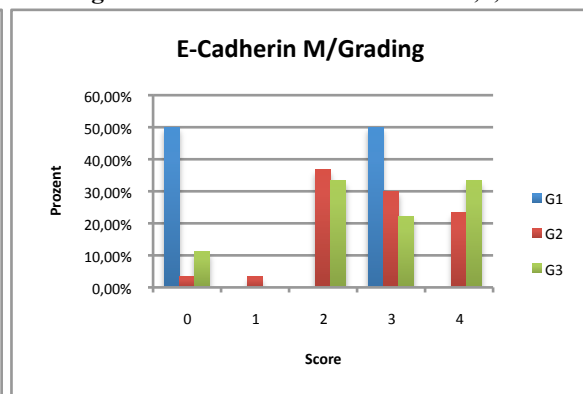
Score 0: bei 1/ 30 (3%) der PT und 1/ 30 (3%) der Metastasen, Score 1: bei 0/ 30 (0%) der PT und 1/ 30 (3%) der Metastasen, Score 2: bei 5/ 30 (17%) der PT und 11/ 30 (37%) der Metastasen, Score 3: bei 14/ 30 (47%) der PT und 9/ 30 (30%) der Metastasen und Score 4: bei 10/ 30 (33%) der PT und 7/ 30 (23%) der Metastasen.

In der Gruppe der wenig differenzierten Karzinome kommt Score 0 in 0/ 18 (0%) der PT und 2/ 18 (11%) der Metastasen, Score 1 in 2/ 18 (11%) der PT und 0/ 18 (0%) der Metastasen, Score 2 in 7/ 18 (39%) der PT und 6/ 18 (33%) der Metastasen, Score 3 in 3/ 18 (17%) der PT und 4/ 18 (22%) der Metastasen und Score 4 in 6/ 18 (33%) der PT und 6/ 18 (33%) der Metastasen vor.

**Diagramm 21 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den PT in G1,2,3**



**Diagramm 22 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den Metastasen in den G1,2,3**



Auffällig ist, dass bei den G3 PT häufiger ein niedrigerer Score als bei den G3 Metastasen vorkommt. Die statistische Analyse ergab jedoch keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der E-Cadherin Antigenexpression und den einzelnen Entdifferenzierungsgraden (Tabelle 3.6).

### 3.2.4. Korrelation mit der pT-Klassifikation

Bei T1- Karzinomen liegt der durchschnittliche Score bei 2,91 in den PT- Proben und bei 2,16 in den Metastasen, bei den T2 Tumoren 2,8 in den PT und 3,04 in den Metastasen, bei T3 Fällen bei 3,0 in den PT und 2,54 in den Metastasen und bei T4 Läsionen bei 3,16 in den PT und 3,16 in den Metastasen.

Die Verteilung der einzelnen Score ist in den Diagrammen 23 und 24 dargestellt.

Bei den T1- Tumoren tritt Score 0 in 0/ 12 (0%) der PT und 3/ 12 (25%) der Metastasen, Score 2 in 5/ 12 (42%) der PT und 4/ 12 (33%) der Metastasen, Score 3 in 3/ 12 (25%) der PT und 2/ 12 (17%) der Metastasen und Score 4 in 4/ 12 (33%) der PT und in 3/ 12 (25%) der Metastasen auf. Score 1 kommt nicht vor.

Die Gruppe der T2- Karzinome weist sowohl in den PT als auch in den Metastasen keine negativen Farbergebnisse auf.

Die Scoreverteilung lässt sich folgendermaßen zusammenfassen:

Score 1 in 2/ 21 (10%) der PT und 1/ 21 (5%) der Metastasen, Score 2 in 5/ 21 (24%) der PT und 7/ 21 (33%) der Metastasen, Score 3 in 8/ 21 (38%) der PT und 7/ 21 (33%) der Metastasen, Score 4 in 6/ 21 (29%) der PT und 7/ 21 (24%) der Metastasen.

Bei den T3 Tumoren sind 11/ 11 (100%) der PT und 10/ 11 (91%) der Metastasen positiv. In dieser Gruppe tritt Score 2 in 3/ 11 (27%) der PT und 4/ 11 (36%) der Metastasen, Score 3 in 5/ 11 (45%) der PT und 4/ 11 (36%) der Metastasen und Score 4 in 3/ 11 (27%) der PT und 2/ 11 (18%) der Metastasen auf. Score 1 kommt in dieser Gruppe nicht vor.

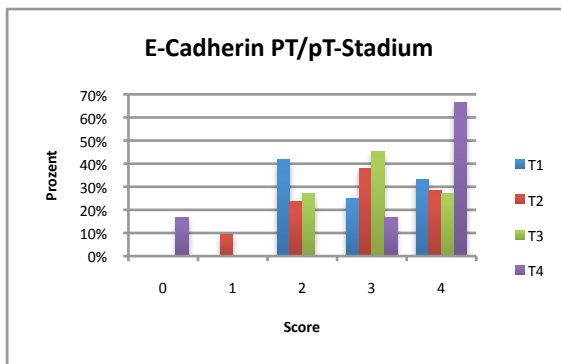
Bei den T4 Karzinomen sind 5/ 6 (83%) der PT positiv. Der Score lässt sich auf folgende Weise verteilen:

Score 2 in 0/ 6 (0%) der PT und 2/ 6 (33%) der Metastasen, Score 3 in 1/ 6 (17%) der PT und 1/ 6 (17%) der Metastasen, Score 4 in 4/ 6 (67%) der PT und 3/ 6 (50%) der Metastasen.

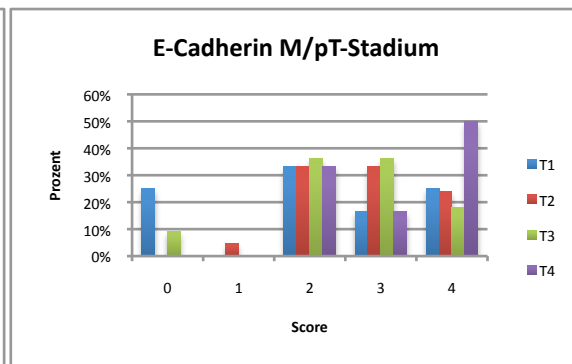
Score 1 tritt in der T4 Gruppe nicht auf.

Es lässt sich beobachten, dass Score 1 bei den größeren Tumoren nicht vorkommt. Den Diagrammen 24 und 25 ist zu entnehmen, dass die Mehrheit der Farbergebnisse bei den T4 Tumoren mit Score 4 ausgewertet sind.

**Diagramm 23 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den PT in T1,2,3,4**



**Diagramm 24 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den Metastasen in T1,2,3,4**



Die statistische Analyse ergab jedoch keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der E-Cadherin Antigenexpression und der Tumorgröße (Tabelle 3.6).

### 3.2.5. Korrelation mit der pN-Klassifikation

In der Patientengruppe mit pN1 Befund liegt der durchschnittliche Score bei 2,94 in den PT und bei 2,15 in den Metastasen. 2,93 in den PT und 2,83 in den Metastasen ist der Scoremittelwert bei dem Patientenkollektiv mit einer pN2 Diagnose.

Diagramme 25 und 26 präsentieren der Anteil der einzelnen Scores.

In der pN1 Fraktion sind 18/ 19 (95%) der PT und 16/ 19 (84%) der Metastasen positiv.

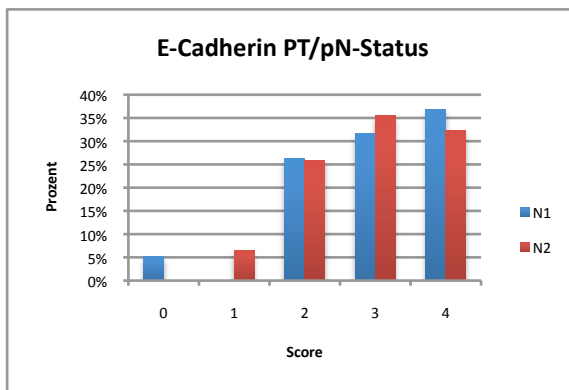
Die Scoreauswertung ist wie folgt verteilt:

Score 2 in 5/ 19 (26%) der PT und 6/ 19 (32%) der Metastasen, Score 3 in 6/ 19 (32%) der PT und 7/ 19 (37%) der Metastasen, Score 4 in 7/ 19 (37%) der PT und 2/ 19 (11%) der Metastasen.

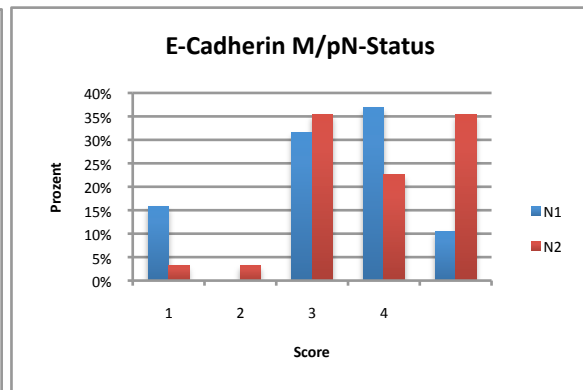
Score 1 kommt nicht vor.

Bei den pN2- Fällen sind 31/ 31 (100%) der PT und 30/ 31 (97%) der Metastasen positiv. Score 1 kommt in 2/ 31 (6%) der PT und 1/ 31 (3%) der Metastasen, Score 2 in 8/ 19 (26%) der PT und 11/ 19 (35%) der Metastasen, Score 3 in 11/ 31 (35%) der PT und 7/ 31 (23%) der Metastasen und Score 4 in 10/ 31 (32%) der PT und 11/ 31 (35%) der Metastasen vor. Es ist zu erkennen, dass bei den Patienten mit einem pN2 Lymphknotenstatus die E-Cadherin Expression stärker ist als bei denjenigen mit einem pN1 Befund.

**Diagramm 25 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den PT in N1,2**



**Diagramm 26 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den Metastasen in N1,2**



Statistisch konnte kein Unterschied zwischen der E-Cadherin Antigen Expression in den PT und deren Metastasen und dem pN Stadium bestätigt werden (Tabelle 3.6).

### 3.2.6. Korrelation mit dem UICC Stadium

Im UICC Stadium III beträgt der durchschnittliche Score 3,2 in den PT und 2,42 in den Metastasen und im Stadium IV 2,91 in den PT und 2,71 in den Metastasen.

Der Scorevergleich der E-Cadherin Expression in den klinischen Stadien III und IV ist in den Diagrammen 27 und 28 dargestellt.

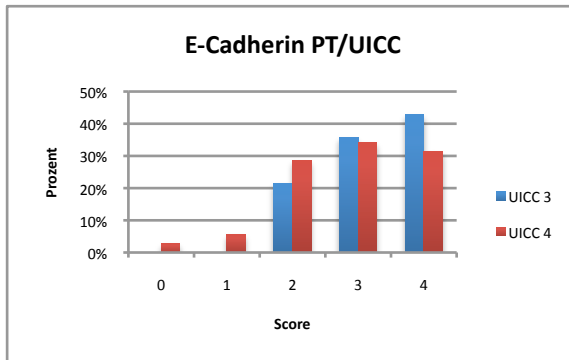
Im Stadium III kommt Score 0 in 0/ 14 (0%) der PT und 2/ 14 (14%) der Metastasen, Score 2 in 3/ 14 (21%) der PT und 4/ 14 (29%) der Metastasen, Score 3 in 5/ 14 (36%) der PT

und 6/ 14 (43%) der Metastasen und Score 4 in 6/ 14 (43%) der PT und 2/ 14 (14%) der Metastasen vor. Score 1 tritt in UICC Stadium III nicht auf.

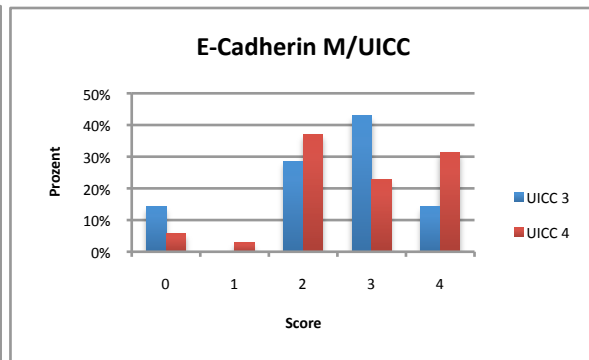
Im UICC Stadium IV liegen keine negativen Ergebnisse vor. 2/ 35 (6%) der PT und 1/ 35 (3%) der Metastasen werden mit Score 1 ausgewertet. Score 2 kommt in 10/ 35 (29%) der PT und 13/ 35 (37%) der Metastasen, Score 3 in 12/ 35 (34%) der PT und 8/ 35 (23%) der Metastasen und Score 4 in 11/ 35 (31%) der PT und 11/ 35 (31%) der Metastasen vor.

In Diagramm 29 ist zu erkennen, dass Score 4 doppelt so häufig in den Metastasenpräparaten der Patientenproben mit einer Stadium IV Diagnose auftritt, wie bei denjenigen mit einer Stadium III.

**Diagramm 27 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den PT in UICC 3,4**



**Diagramm 28 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den Metastasen in UICC 3,4**



Statistisch ergab sich jedoch kein Zusammenhang zwischen der E-Cadherin Expression in den PT und Metastasen und der Stadiumverteilung (Tabelle 3.6).



### 3.2.7. Korrelation mit pL- und pV- Klassifikation

Wie bereits im Punkt 3.1.7. erwähnt wurde, entspricht der durchschnittliche Score des pL-Status dem gesamten Score im Durchschnitt.

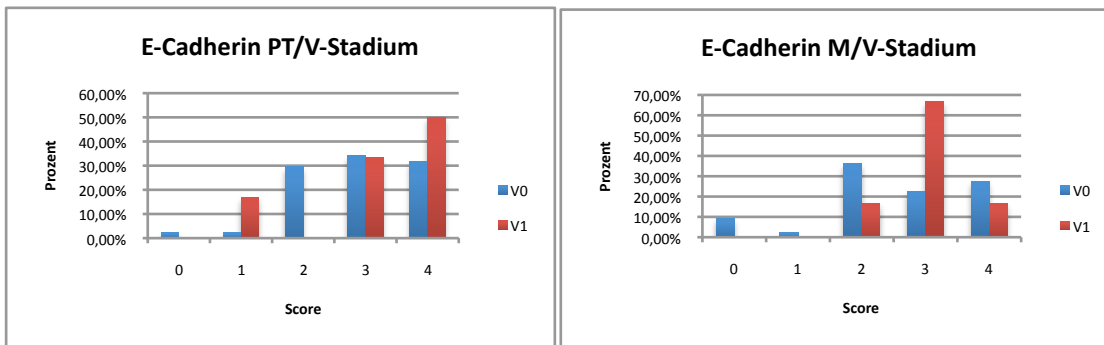
Der Scoremittelwert in V0- Fällen liegt bei 2,9 in den PT und bei 2,52 in den Metastasen. Bei den Patientenpräparaten mit einer Hämangiosis carcinomatosa beträgt der durchschnittliche Score 3,16 in den PT und 3 in den Metastasen. Auffällig ist, dass der Mittelwert bei den V1-Proben höher liegt als bei denjenigen mit V0 Befund.

Die Verteilung der einzelnen Scores wird grafisch in den Diagrammen 30 und 31 abgebildet.

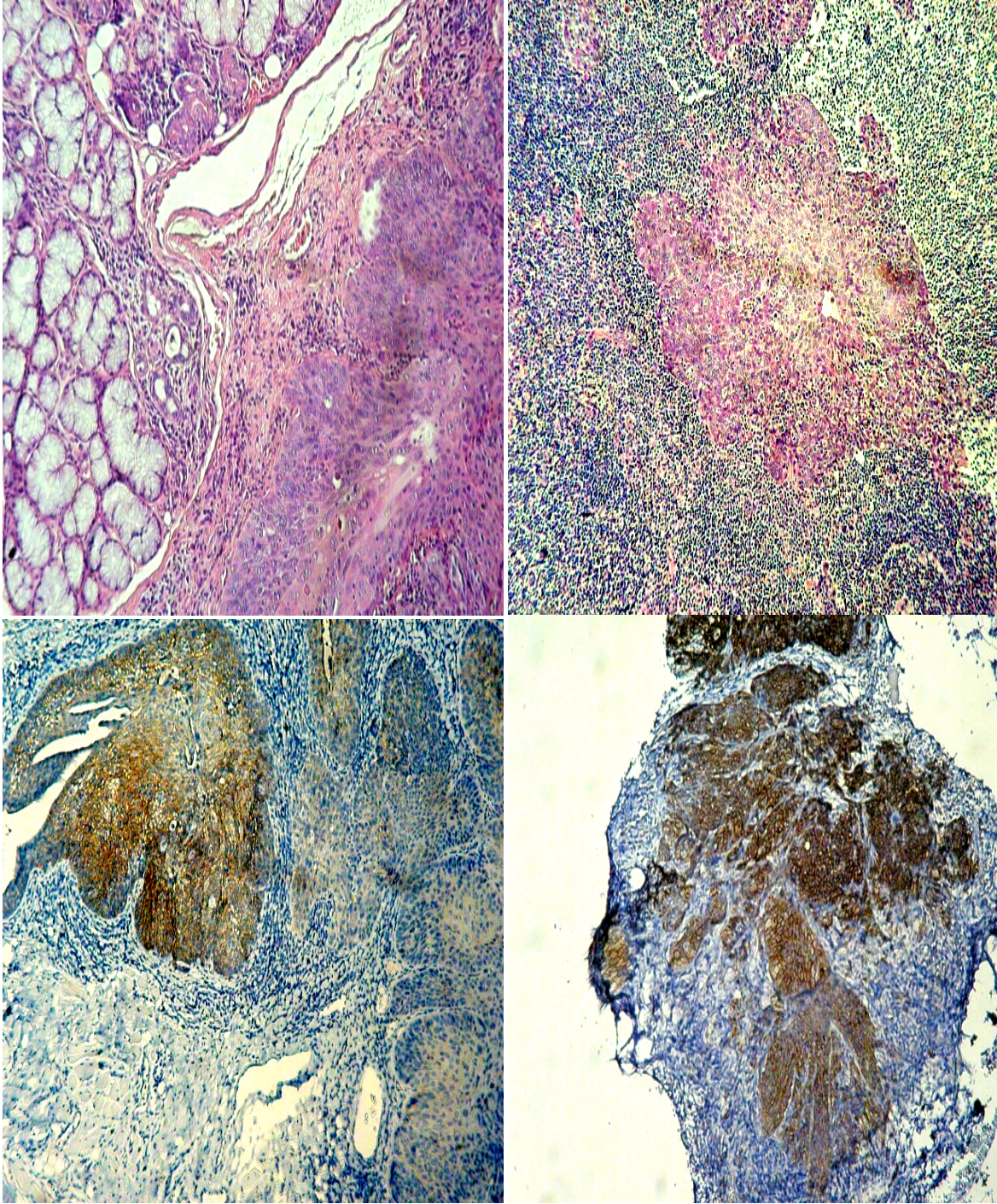
Hämangiosis carcinomatosa konnte in 6/ 50 (12%) der Patientenfälle bestätigt werden. Es liegen keine negativen Ergebnisse vor. Score 1 tritt in 1/ 6 (17%) der PT und 0/ 6 (0%) der Metastasen, Score 2 in 0/ 6 (0%) der PT und 1/ 6 (17%) der Metastasen, Score 3 in 2/ 6 (33%) der PT und 4/ 6 (67%) der Metastasen und Score 4 in 3/ 6 (50%) der PT und 1/ 6 (17%) der Metastasen auf.

Den Diagrammen 29 und 30 ist zu entnehmen, dass es in den meisten V1 Patientenproben zu einer starken Färbung kommt. Score 0, 1 und 2 treten bei den wenigsten auf.

**Diagramm 29 Scoreverteilung der E-Cadherin- Antigene in den PT in V0,1**      **Diagramm 30 Scoreverteilung der E-Cadherin- Antigene in den Metastasen in V1,0**



Die statistische Analyse konnte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der E-Cadherin Antigenexpression in den PT und deren Metastasen und dem V- Status feststellen (Tabelle 3.6).



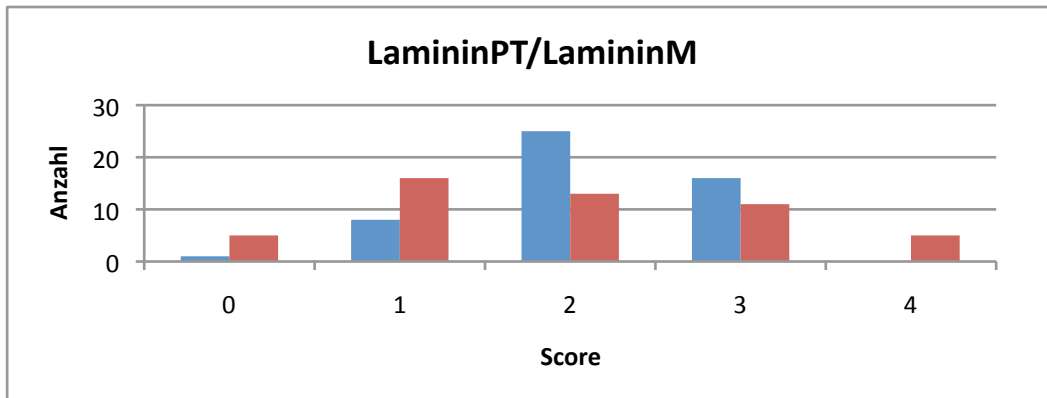
**Abb. 3.3 HE Färbung PT (o, re) und Metastase (o, li), E-Cadherin Färbung PT (u, re) und Metastase (u, li)**

### 3.3. Expressionsmuster der Laminin-5 gamma 2-Kette Antigene

49/ 50 (98%) der PT und 45/ 50 (90%) der Lymphknotenmetastasen zeigen eine Laminin-5 gamma 2-Kette Antigenexpression und färben sich mit den Laminin-5 gamma 2-Kette Antikörper positiv an. Der durchschnittliche Score liegt bei 2,12 in den PT Proben und bei 2,3 in den Metastasen.

Die einzelnen Scores der Präparate sind in Diagramm 32 dargestellt. Score 0 tritt in 1/ 50 (2%) der PT und 5/ 50 (10%) der Metastasen, Score 1 in 8/ 50 (16%) der PT und 16/ 50 (32%) der Metastasen, Score 2 in 25/ 50 (50%) der PT und 13/ 50 (26%) der Metastasen und Score 3 in 16/ 50 (32%) der PT und 11/ 50 (22%) der Metastasen auf. Bei den PT kommt Score 4 nicht vor. 5/ 50 (10%) der Metastasen werden hingegen mit dem maximalen Score bewertet.

**Diagramm 31 Scoreverteilung der Laminin-5 gamma 2-Kette in den PT und deren Metastasen**



**Tabelle 3. 7 Laminin-5 gamma 2-Kette Expression bei primären PEC und deren Metastasen**

	Mittlerer Scorewert	Spearman Rho (rs)
<i>Laminin-5 PT</i>	2,12	,208
<i>Laminin-5 M</i>	1,9	

Wie in Diagramm 31 zu erkennen ist, werden 50% der PT Präparate mit einem Score von 2 bewertet. Allerdings kommt Score 1 in den Metastasenproben am häufigsten vor. Auffällig ist noch, dass keine von den PT Proben mit dem höchsten Score beurteilt wurde.

Statistisch ließ sich jedoch kein signifikanter Zusammenhang feststellen.

Die Mittelwerte und die statistische Auswertung sind in Tabellen 3.7, 3.8 und 3.9 ersichtlich.

**Tabelle 3. 8 Laminin-5 gamma 2-Kette Antigene und die klinischen Korrelationen**

Parameter	Anzahl	Mittlerer Scorewert PT	Fisher Test PT	Spearman Rho(rs) PT	Mittlerer Scorewert M	Fisher Test M	Spearman Rho(rs) M
<b>Geschlecht</b>							
Männlich	42	2,14	<b>0,019</b>	,000	1,73	0,056	<b>-,344*</b>
Weiblich	8	2			2,75		
<b>Alter</b>							
<=40	2	2,5			3,5		
41-50	9	2			1,33		
51-60	15	2,2	0,933	-,008	1,93	0,596	,079
61-70	17	2			1,88		
>=71	7	2,28			2,1		

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

**Tabelle 3. 9 Laminin-5 gamma 2-Kette Antigene und die histopathologischen Korrelationen**

Parameter	Anzahl	Mittlerer Scorewert PT	Fisher Test PT	Spearman Rho (rs) PT	Mittlerer Scorewert M	Fisher Test M	Spearman Rho (rs) M
<b>G-Stadium</b>							
G1	2	2,5			2		
G2	30	2,16	0,648	-,106	1,7	0,237	,212
G3	18	2			2,2		
<b>pT-Stadium</b>							
T1	12	2			1,58		
T2	21	2,09	0,637	,165	2,04	0,721	,090
T3	11	2,09			1,9		
T4	6	2,5			2		

<b><i>pN-Status</i></b>							
N1	19	2,1	<b>0,006</b>	-,017	2,36	<b>0,029</b>	<b>,296*</b>
N2	31	2,12			1,6		
<b><i>UICC Stadium</i></b>							
III	14	1,92	<b>0,001</b>	,172	2,3	<b>0,037</b>	-,205
IV	35	2,2			1,77		
<b><i>V-Invasion</i></b>							
V0	44	2,18	0,13	-,239	1,95	1	-,123
V1	6	1,66			1,95		

\*die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

### 3.3.1. Korrelation des Scores mit dem Geschlecht der Patienten

Der durchschnittliche Score bei den Männern beträgt 2,14 in den PT und 1,73 in den Metastasen und bei den Frauen 2,0 in den PT und 2,75 in den Metastasen.

Die Übersicht der einzelnen Scores bei beiden Geschlechtern lässt sich in den Diagrammen 33 und 34 erkennen.

Bei den Männern wurden 42/ 42 (100%) der PT und 37/ 42 (88%) der Metastasen als positiv bewertet.

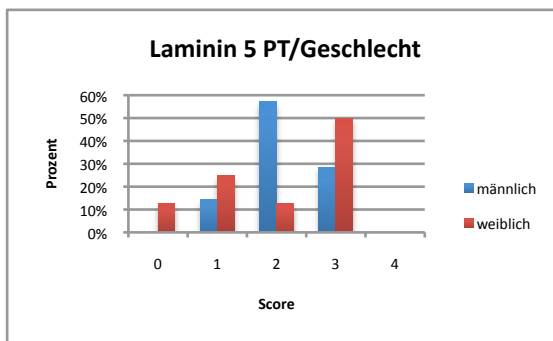
Die Ergebnisse sind wie folgt verteilt:

Score 1 in 6/ 42 (14%) der PT und 16/ 42 (38%) der Metastasen, Score 2 in 24/ 42 (57%) der PT und 10/ 42 (24%) der Metastasen und Score 3 in 12/ 42 (29%) der PT und 7/ 42 (17%) der Metastasen, Score 4 in 0/ 42 (0%) der PT und in 4/ 42 (10%) der Metastasenpräparate.

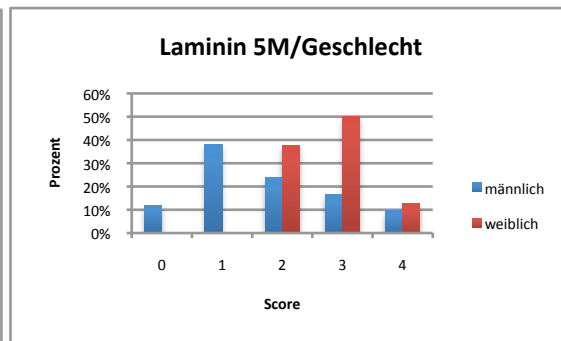
7/ 8 (87%) der weiblichen PT Proben und 9/ 9 (100%) der Metastasen weisen Laminin-5 gamma 2-Kette Antigenexpression auf. Score 1 kommt in 1/ 8 (13%) der PT und 0/ 8 (0%) der Metastasen, Score 2 in 1/ 8 (13%) der PT und 3/ 8 (38%) der Metastasen, Score 3 in 4/ 8 (50%) der PT und 4/ 8 (50%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 8 der PT und 1/ 8 (13%) der Metastasen vor.

Aus den gewonnenen Ergebnissen ist ersichtlich, dass Score 4 sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen PT Präparaten nicht vorkommt. Score 2 lässt sich häufiger in den PT Proben der Männer ermitteln, hingegen dominiert Score 3 in den weiblichen PT. Den Diagrammen 32 und 33 ist zu entnehmen, dass in den PT Präparaten und in den Metastasen die kleineren Scores (Score 0, 1 und 2) hauptsächlich bei den männlichen und die höheren bei den weiblichen Metastasenproben vorkommen. Diese Ergebnisse wurden statistisch bestätigt (Tabelle 3.8).

**Diagramm 32 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in den Geschlechtern**



**Diagramm 33 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in den Geschlechtern**



### 3.3.2. Korrelation mit dem Patientenalter

Die Verteilung der Altersgruppen ist in Diagramm 4 dargestellt.

Der durchschnittliche Score in den PT Präparaten liegt in der Altersgruppe 1 bei 2,5, in der Altersgruppe 2 bei 2,0, in der Altersgruppe 3 bei 2,2, in der Altersgruppe 4 bei 2,0 und in der Altersgruppe 5 bei 2,28.

Der Score-Mittelwert in den Metastasenpräparaten beträgt in der Altersgruppe 1 3,5, in der Altersgruppe 2 1,33, in der Altersgruppe 3 1,93, in der Altersgruppe 4 1,88 und in der Altersgruppe 5 2,1.

Die Scoreverteilung in den verschiedenen Altersgruppen ist in Diagrammen 35 und 36 ersichtlich dargestellt.

In Altersgruppe 1 liegen keine negativen Ergebnisse vor. Score 2 kommt in 1/ 2 (50%) der PT und 0/ 2 (0%) der Metastasen, Score 3 in 1/ 2 (50%) der PT und 1/ 2 (50%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 2 (0%) der PT und 1/ 2 (50%) der Metastasen vor. Score 1 tritt hier nicht auf.

In Altersgruppe 2 wird in 9/ 9 (100%) der PT und 8/ 9 (89%) der Metastasen Laminin-5 gamma 2-Kette Antigenexpression nachgewiesen. Score 1 kommt in 2/ 9 (22%) der PT und 5/ 9 (56%) der Metastasen, Score 2 in 5/ 9 (56%) der PT und 2/ 9 (22%) der Metastasen und Score 3 in 2/ 9 (22%) der PT und 1/ 9 (11%) der Metastasen vor. Score 4 trifft nicht ein.

In Altersgruppe 3 sind 14/ 15 (93%) der PT und 13/ 15 (87%) der Metastasen positiv. Score 1 kommt in 1/ 15 (7%) der PT und 5/ 15 (33%) der Metastasen, Score 2 in 7/ 15 (47%) der PT und 2/ 15 (13%) der Metastasen, Score 3 in 6/ 15 (40%) der PT und 4/ 15 (27%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 15 (0%) der PT und 2/ 15 (13%) der Metastasen vor.

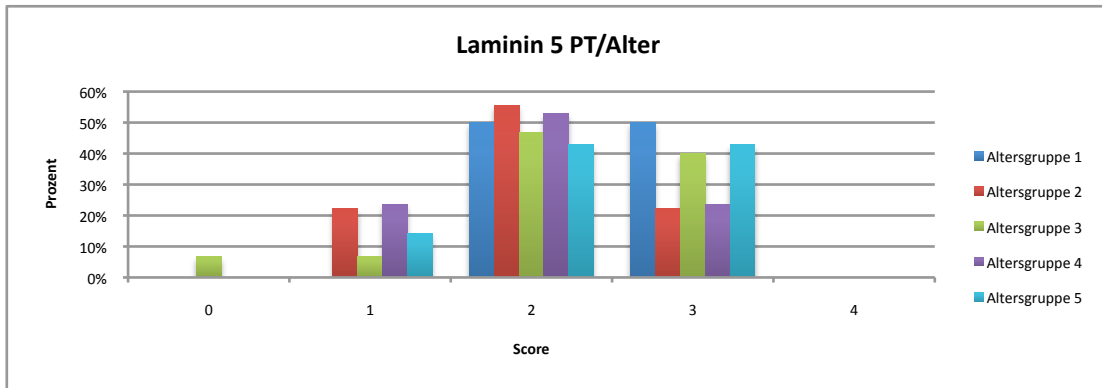
In Altersgruppe 4 konnten 17/ 17 der PT und 15/ 17 (88%) der Metastasen mit Laminin-5 gamma 2-Kette markiert werden und wurden als positiv bewertet. Die Scores in dieser Altersgruppe werden folgender Weise verteilt: Score 1 in 4/ 17 (24%) der PT und 4/ 17 (24%) der Metastasen, Score 2 in 9/ 17 (53%) der PT und 7/ 17 (41%) der Metastasen, Score 3 in 4/ 17 (24%) der PT und 2/ 17 (12%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 17 (0%) der PT und 2/ 17 (12%) der Metastasen.

In Altersgruppe 5 reagieren 7/ 7 (100%) der PT und 7/ 7 (100%) der Metastasen Präparate positiv auf Laminin-5 gamma 2-Kette Antikörper. Score 1 tritt in 1/ 7 (14%) der PT und 2/ 7 (29%) der Metastasen, Score 2 in 3/ 7 (43%) der PT und 2/ 7 (29%) der Metastasen und Score 3 in 3/ 7 (43%) der PT und 3/ 7 (43%) der Metastasen auf. Score 4 kommt in dieser Altergruppe nicht vor.

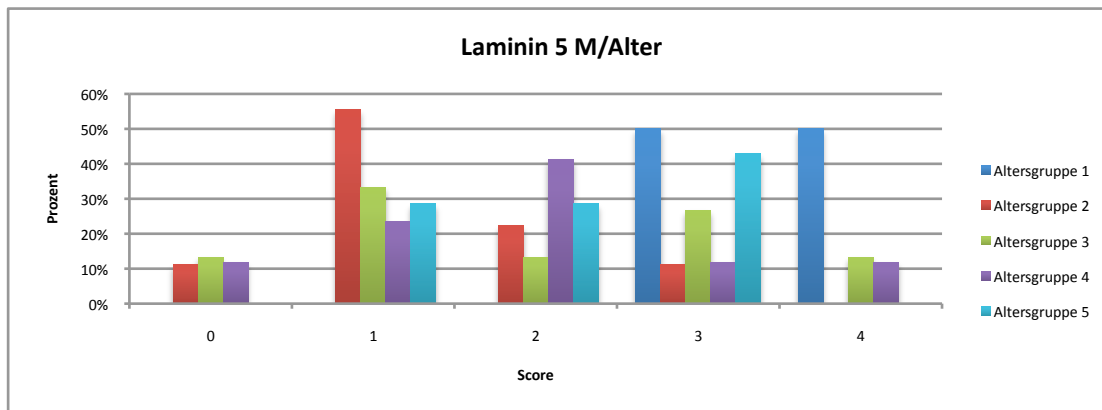
Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Scoreverteilung in den PT und deren Metastasen und den Altersgruppen lässt sich statistisch nicht belegen (Tabelle 3.8).



**Diagramm 34 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in den Altersgruppen**



**Diagramm 35 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in den Altersgruppen**



### 3.3.3. Korrelation mit dem Entdifferenzierungsgrad des Tumors

Der durchschnittliche Score in der Gruppe der gut differenzierten Tumoren liegt bei 2,5 in den PT und bei 2,0 in den Metastasen. Der Mittelwert beträgt bei den G2 Karzinomen 2,16 in den PT und 1,7 in den Metastasen und bei G3 Fällen 2,0 in den PT und 2,2 in den Metastasen.

Die Verteilung der Scores in den verschiedenen Entdifferenzierungsgraden ist aus den Diagrammen 36 und 37 ersichtlich.

In der G1 Fraktion sind 2/ 2 (100%) der PT und 2/ 2 (100%) der Metastasen mit Laminin-5 gamma 2-Kette Antikörpern markiert. Score 1 tritt in 0/ 2 (0%) der PT und 1/ 2 (50%) der Metastasen, Score 2 in 1/ 2 (50%) der PT und 0/ 2 (0%) der Metastasen und Score 3 in 1/ 2

(50%) der PT und 1/ 2 (50%) der Metastasen auf. Keine von den PT- und den Metastasenpräparaten werden mit Score 4 bewertet.

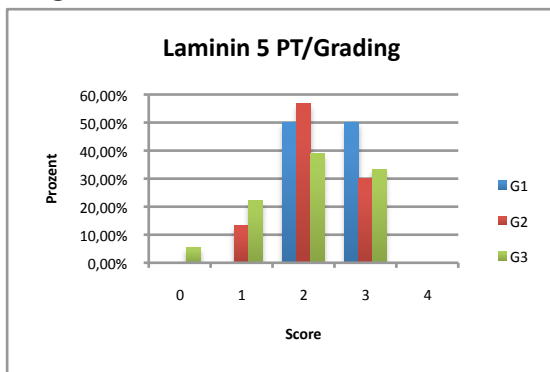
In der Gruppe der mäßig differenzierten Karzinome sind 30/ 30 (100%) der PT und 27/ 30 (90%) der Metastasen positiv.

Die Scoreverteilung lässt sich wie folgt ermitteln:

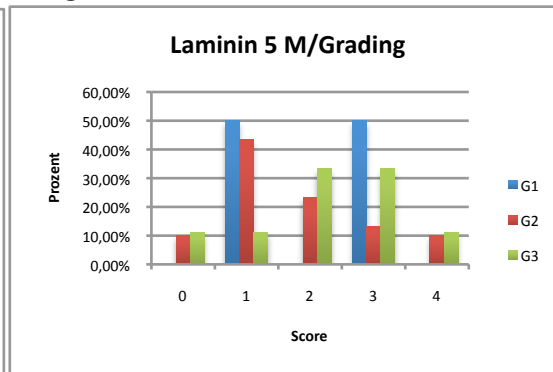
Score 1 in 4/ 30 (13%) der PT und 13/ 30 (43%) der Metastasen, Score 2 in 17/ 30 (57%) der PT und 7/ 30 (23%) der Metastasen, Score 3 in 9/ 30 (30%) der PT und 4/ 30 (13%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 30 (0%) der PT und 3/ 30 (10%) der Metastasen.

Bei 1/ 18 (6%) der wenig differenzierten PT und bei 2/ 18 (11%) deren Metastasen wird keine positive Farbreaktion nachgewiesen. Score 1 kommt in 4/ 18 (22%) der PT und in 2/ 18 (11%) der Metastasen, Score 2 in 7/ 18 (39%) der PT und in 6/ 18 (33%) der Metastasen, Score 3 in 6/ 18 (33%) der PT und in 6/ 18 (33%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 18 (0%) der PT und in 2/ 18 (11%) der Metastasen mit Score 4 vor.

**Diagramm 36 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in den G1,2,3**



**Diagramm 37 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in G1,2,3**



Es konnte statistisch kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Laminin-5 gamma 2-Kette Antigenexpression in den PT und deren Metastasen und den verschiedenen Entdifferenzierungsgraden nachgewiesen werden (Tabelle 3.9).

### 3.3.4. Korrelation mit der pT-Klassifikation

Der durchschnittliche Score in der T1 Tumorgruppe beträgt in den PT 2,0 und in den Metastasen 1,58. Der Scoremittelwert in der T2 Fraktion liegt bei 2,09 in den PT und bei 2,04 in den Metastasen, in der T3 Karzinomgruppe bei 2,09 in den PT und bei 1,90 in den Metastasen und in dem T4 Patientenkollektiv bei 2,5 in den PT und bei 2,0 in den Metastasen.

Die Verteilung der einzelnen Scores ist in den Diagrammen 38 und 39 geschildert.

Bei den Tumoren mit einer T1 Größe sind 12/ 12 (100%) der PT und 9/ 12 (75%) der Metastasen positiv.

Die Ergebnisse sind wie folgt aufgeteilt:

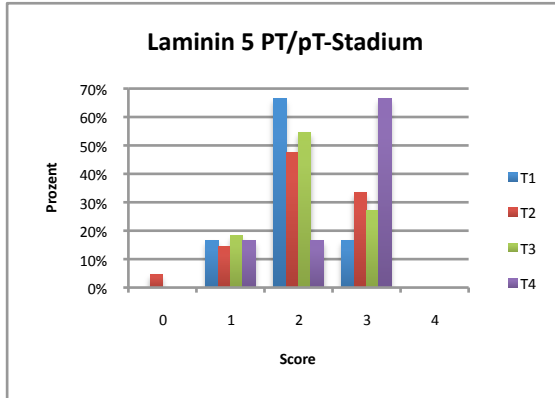
Score 1 in 2/ 12 (17%) der PT und in 3/ 12 (25%) der Metastasen, Score 2 in 8/ 12 (67%) der PT Fälle und in 3/ 12 (25%) der Metastasen, Score 3 in 2/ 12 (17%) der PT und in 2/ 12 (17%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 12 (0%) der PT und in 1/ 12 (8%) der Metastasen.

In der Gruppe der T2 Karzinome tritt Score 0 in 1/ 21 (5%) der PT und 2/ 21 (10%) der Metastasen, Score 1 in 3/ 21 (14%) der PT und 6/ 21 (29%) der Metastasen, Score 2 in 10/ 21 (48%) der PT und 4/ 21 (19%) der Metastasen, Score 3 in 7/ 21 (33%) der PT und 7/ 21 (33%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 21 (0%) der PT und 2/ 21 (10%) der Metastasen auf.

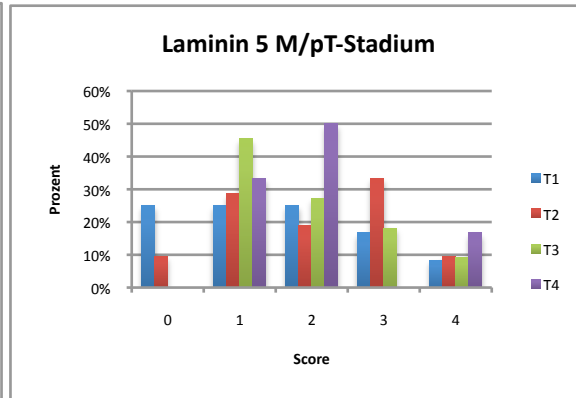
Alle T3 Patientenfälle weisen eine positive Reaktion mit Laminin-5 gamma 2-Kette Antikörpern auf. Score 1 kommt in 2/ 11 (18%) der PT und 5/ 11 (45%) der Metastasen, Score 2 in 6/ 11 (55%) der PT und 3/ 11 (27%) der Metastasen, Score 3 in 3/ 11 (27%) der PT und 2/ 11 (18%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 11 (0%) der PT und 1/ 11 (9%) der Metastasen vor.

Es liegen keine negativen Ergebnisse aus der Gruppe der T4 Karzinome. Score 1 wird in 1/ 6 (17%) der PT und 2/ 6 (33%) der Metastasen, Score 2 in 1/ 6 (17%) der PT und 3/ 6 (50%) der Metastasen, Score 3 in 4/ 6 (67%) der PT und 0/ 6 (0%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 6 (0%) der PT und 1/ 6 (17%) der Metastasen nachgewiesen.

**Diagramm 38 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in T1, 2, 3, 4**



**Diagramm 39 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in T1, 2, 3, 4**



Es lässt sich schlussfolgern, dass je größer der Tumor ist, desto höher liegt der Score. Hingegen tritt häufiger in den Metastasen, unabhängig von der Tumorgöße, ein niedrigerer Score auf.

Die statistische Analyse ergab jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen der Tumorgöße und der Laminin-5 gamma 2-Kette Antigenexpression (Tabelle 3.9).

### 3.3.5. Korrelation mit der pN-Klassifikation

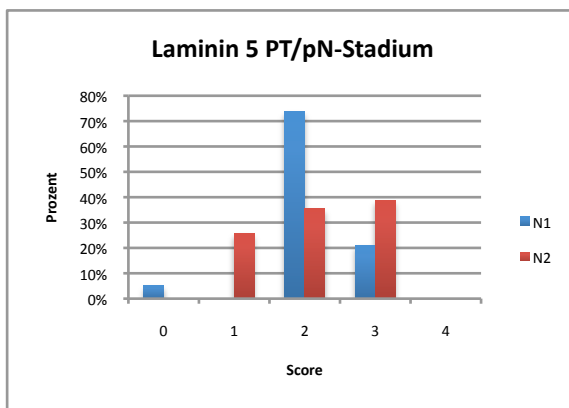
Der durchschnittliche Score liegt bei den pN1 Patientenproben bei 2,1 in den PT und bei 2,36 in den Metastasen und in den pN2 Fällen bei 2,12 in den PT und bei 1,6 in den Metastasen.

Die Diagramme 40 und 41 erläutern die Verteilung der pN1 und pN2 Stadien in den einzelnen Scores.

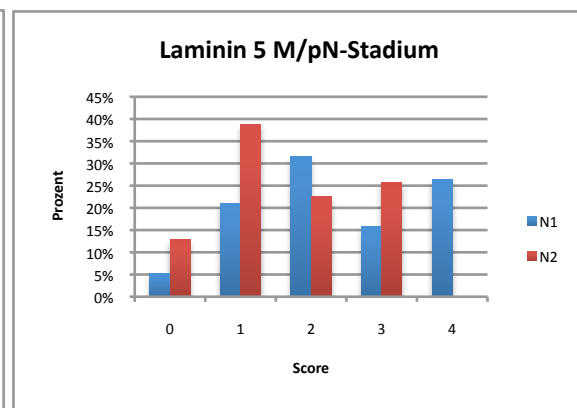
In der pN1-Fraktion sind 18/ 19 (95%) der PT und 18/ 19 (95%) der Metastasen positiv. Score 1 kommt in 0/ 19 (0%) der PT und 4/ 19 (21%) der Metastasen, Score 2 in 14/ 19 (74%) der PT und 6/ 19 (32%) der Metastasen, Score 3 in 4/ 19 (21%) der PT und 3/ 19 (16%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 19 (0%) der PT und 5/ 19 (26%) der Metastasen vor.

In der Gruppe des pN2 Patientenkollektivs reagieren 31/ 31 (100%) der PT und 27/ 31 (87%) der Metastasen positiv auf Laminin-5 Gamma 2-Kette Antigenexpression. Score 1 tritt in 8/ 31 (26%) der PT und 12/ 31 (39%) der Metastasen, Score 2 in 11/ 31 (35%) der PT und 7/ 31 (23%) der Metastasen und Score 3 in 12/ 31 (39%) der PT und 8/ 31 (26%) der Metastasen auf. Score 4 kommt hier nicht vor.

**Diagramm 40 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in N1, 2**



**Diagramm 41 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in N1, 2**



Dem Diagramm 40 ist zu entnehmen, dass die PT Patientenproben mit einem pN1 Hals mit einem kleineren Score bewertet wurden. Hingegen kommt die Scorereihenfolge bei den pN2 Fällen mit einem zunehmenden Prozentsatz vor.

Aus dem Diagramm 41 ist abzulesen, dass die Scoreverteilung bei den pN1 Metastasenproben einer Gleichverteilung ähnelt. Auf der anderen Seite hingegen handelt es sich bei den pN2 Metastasenproben eher um eine rechtsschiefe Scoreverteilung, bei der der Score 4 nicht anzutreffen ist. Eine signifikante Korrelation lässt sich statistisch bestätigen ( $p < 0,05$ ).

### 3.3.6. Korrelation mit dem UICC Stadium

In der Gruppe des UICC Stadiums III liegt der Score im Durchschnitt bei 1,92 in den PT und bei 2,3 in den Metastasen. Der Scoremittelwert bei Stadium IV beträgt 2,2 in den PT und 1,77 in den Metastasen.

Auffällig ist, dass der durchschnittliche Score in den PT bei kleinerem klinischem Stadium niedriger ist als der in den Metastasen. Allerdings liegt der Mittelwert in den PT des Stadiums IV höher als der in den Metastasen. Zusammenfassend lässt sich feststellen, je größer das Stadium ist, umso stärker ist die Laminin-5 gamma-2 Antigen-Antikörper Reaktion in den PT und umso schwächer in den Metastasen.

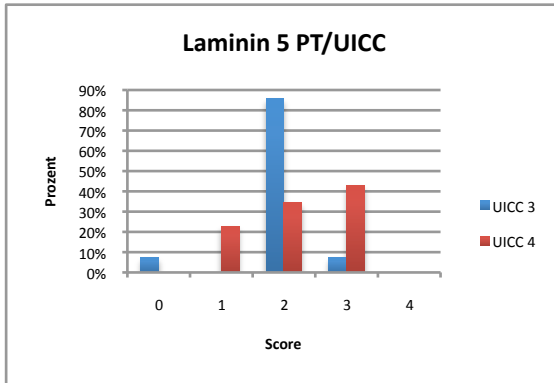
Die Einzelergebnisse stellen sich mit Hilfe der Diagramme 42 und 43 dar.

Im Stadium III sind 13/ 14 (93%) der PT und 14/ 14 (100%) der Metastasen positiv. Score 1 kommt in 0/ 14 (0%) der PT und 4/ 14 (29%) der Metastasen, Score 2 in 12/ 14 (86%) der PT und 5/ 14 (36%) der Metastasen, Score 3 in 1/ 14 (7%) der PT und 1/ 14 (7%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 14 (0%) der PT und 4/ 14 (29%) der Metastasen vor.

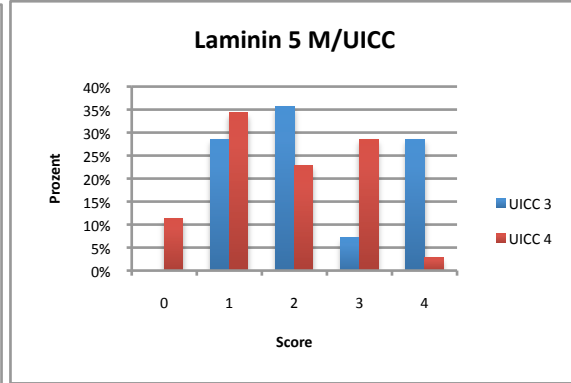
In UICC Stadium IV werden 35/ 35 (100%) der PT und 31/ 35 (89%) der Metastasen mit Laminin-5-Antikörpern markiert und weisen eine positive Reaktion auf. Score 1 tritt in 8/ 35 (23%) der PT und 12/ 35 (34%) der Metastasen, Score 2 in 12/ 35 (34%) der PT und 8/ 35 (23%) der Metastasen, Score 3 in 15/ 35 (43%) der PT und 10/ 35 (29%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 35 (0%) der PT und 1/ 35 (3%) der Metastasen auf.

Statistisch konnte eine signifikante Korrelation zwischen der Laminin-5 gamma 2-Kette Antigenexpression und den UICC Stadien 3 und 4 nachwiesen werden ( $p < 0,05$ ) (Tabelle 3.9).

**Diagramm 42 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in UICC 3,4**



**Diagramm 43 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in UICC 3,4**



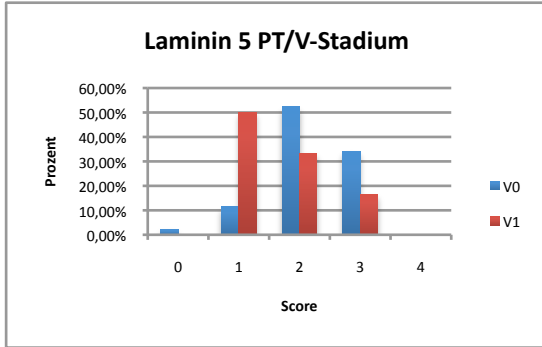
### 3.3.7. Korrelation mit der L- und V-Klassifikation

Der durchschnittliche Score in dem L-Stadium entspricht dem gesamten Scoremittelwert.

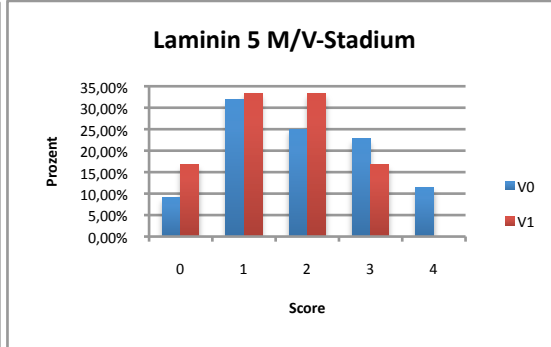
In der V0- Fraktion liegt der Score im Durchschnitt bei 2,18 in den PT und 1,95 in den Metastasen. Der Mittelwert bei den Fällen mit einem V1 Befund beträgt 1,66 in den PT und 1,5 in den Metastasen.

Bei den Patientenproben mit Hämangiosis carcinomatosa werden 6/ 6 (100%) der PT und 5/ 6 (83%) der Metastasen als positiv bewertet. Score 1 kommt in 3/ 6 (50%) der PT und 2/ 6 (33%) der Metastasen, Score 2 in 2/ 6 (33%) der PT und 2/ 6 (33%) der Metastasen und Score 3 in 1/ 6 (17%) der PT und 1/ 6 (17%) der Metastasen vor. Score 4 trifft hier nicht zu. Die statistische Analyse ergab keinen Zusammenhang zwischen der Laminin-5 gamma 2-Kette Antigenexpression in den PT und deren Metastasen und dem V-Status (Tabelle 3.9).

**Diagramm 44 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in V0, 1**



**Diagramm 45 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in V0, 1**





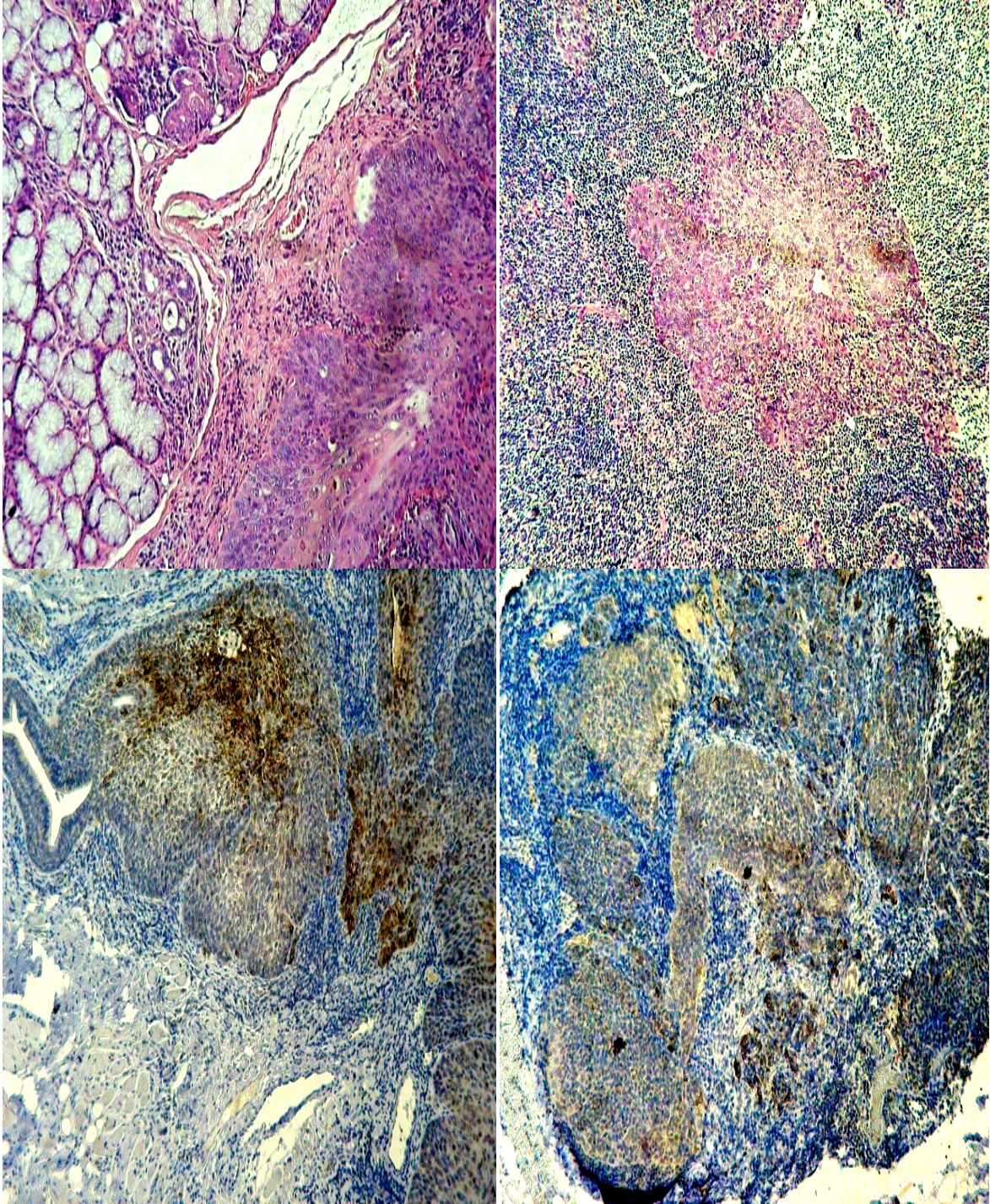


Abb.3. 4 HE Färbung PT (o, re) und Metastase (o, li), Laminin-5 gamma 2 Färbung PT (u, re) und Metastase (u, li)

### 3.4. Expressionsmuster der MMP2 Antigene

Der durchschnittliche Score liegt in den PT bei 2,12 und in den Metastasen bei 1,91.

41/ 48 (85%) der PT und 41/ 48 (85%) der Metastasen exprimieren MMP2 Antigen und reagieren deshalb positiv auf die MMP2 Antikörper.

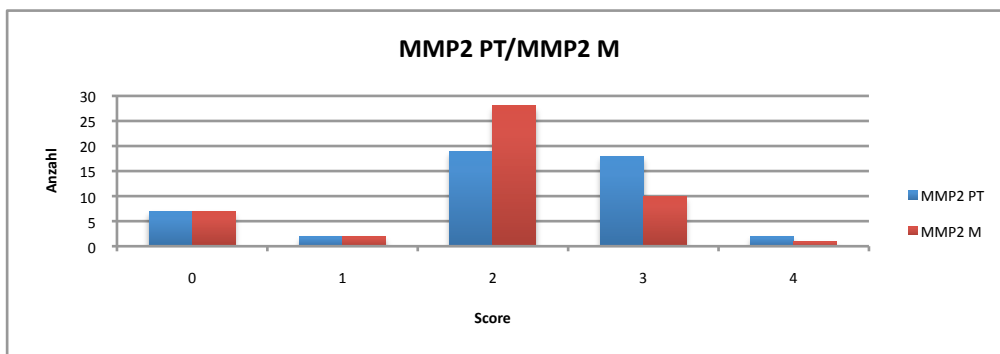
Der Scorevergleich zwischen der MMP2 Expression in den PT und in den Metastasen wird in Diagramm 46 veranschaulicht.

Es lassen sich die folgenden Scoreauswertungen beobachten:

Score 1 in 2/ 48 (4%) der PT und 2/ 48 (4%) der Metastasen, Score 2 in 19/ 48 (40%) der PT und 28/ 48 (60%) der Metastasen, Score 3 in 18/ 48 (38%) der PT und 10/ 48 (21%) der Metastasen und Score 4 in 2/ 48 (4%) der PT und 1/ 48 (2%) der Metastasen.

Score 4 tritt am seltensten auf. Aus der Scoreverteilung lässt sich ablesen, dass eine höhere Färbung in den PT eine kleinere in den Metastasen bedingt. Die Aussage wurde statistisch bestätigt (Tabelle 3.10).

**Diagramm 46 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT und deren Metastasen**



**Tabelle 3. 10 MMP2 Expression bei primären PEC und deren Metastasen**

	Mittlerer Scorewert	Spearman Rho (rs)
<i>MMP2 PT</i>	2,04	,593*
<i>MMP2 M</i>	1,84	

\*die Korrelation ist auf 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

In Tabellen 3.10, 3.11 und 3.12 sind die statistischen Ergebnisse zusammengefasst.

**Tabelle 3. 11 MMP2-Antigene und die klinischen Korrelationen**

Parameter	Anzahl	Mittlerer Scorewert PT	Fisher Test PT	Spearman Rho (rs) PT	Mittlerer Scorewert M	Fisher Test M	Spearman Rho (rs) M
<b><i>Geschlecht</i></b>							
männlich	41	2,14	0,925	,075	1,95	0,607	,108
weiblich	7	2			1,71		
<b><i>Alter</i></b>							
<=40	2	2			2,5		
41-50	9	2,33			2,22		
51-50	13	1,53	0,355	,111	1,46	0,601	,,091
61-70	17	2,5			2,11		
>=71	7	2			1,71		

**Tabelle 3. 12 MMP2-Antigene und die histopathologischen Korrelationen**

Parameter	Anzahl	Mittlerer Scorewert PT	Fisher Test PT	Spearman Rho (rs) PT	Mittlerer Scorewert M	Fisher Test M	Spearman Rho (rs) M
<b><i>G-Stadium</i></b>							
G1	2	2,5			2		
G2	29	2,06	0,641	,071	1,89	0,833	,037
G3	17	2,17			1,94		
<b><i>pT-Stadium</i></b>							
T1	12	2,41			2,08		
T2	20	1,95	0,357	-,093	1,95	0,568	,003
T3	10	2,3			2,1		
T4	6	1,83			1,83		
<b><i>pN-Stadium</i></b>							
N1	18	2,11	0,692	-,061	1,83	0,556	-,119
N2	30	2,13			1,96		
<b><i>UICC Stadium</i></b>							
III	13	2,15	0,399	,034	1,76	0,897	,112
IV	35	2,91			2,71		

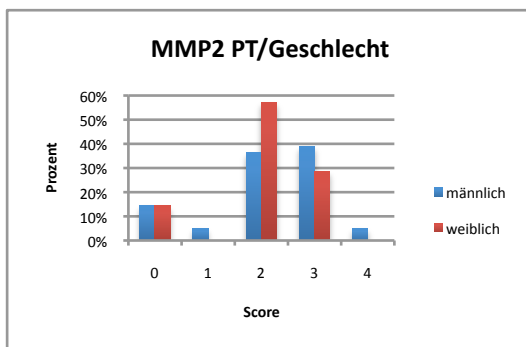
<b>V- Invasion</b>							
V0	43	2,04	0,442	,192	1,86	0,746	,178
V1	5	2,8			2,4		

### 3.4.1. Korrelation des Scores mit dem Patientengeschlecht

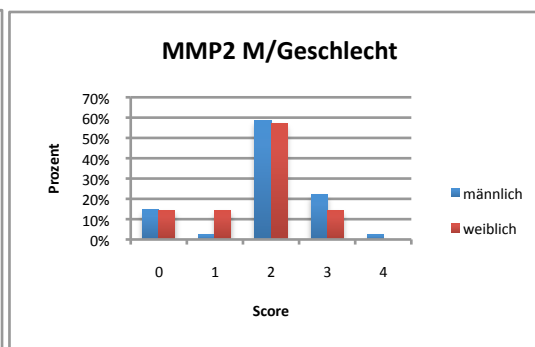
Der durchschnittliche Score bei den Männern liegt in den PT bei 2,14 und bei den Frauen bei 2,0. Der Mittelwert in den Metastasenproben beträgt 1,95 bei den männlichen Patienten und 1,71 bei den weiblichen.

Bei den männlichen Proben sind 35/ 41 (85%) der PT und 35/ 41 (85%) der Metastasen positiv. Score 1 tritt in 2/ 41 (5%) der PT und 1/ 41 (2%) der Metastasen, Score 2 in 15/ 41 (37%) der PT und 24/ 41 (59%) der Metastasen, Score 3 in 16/ 41 (39%) der PT und 9/ 41 (22%) der Metastasen und Score 4 in 2/ 41 (5%) der PT und 1/ 41 (2%) der Metastasen auf. Bei den Frauen weisen 6/ 7 (86%) der PT und 6/ 7 (86%) der Metastasen eine Reaktion mit den MMP2 Antikörpern auf. Mit Score 1 werden 0/ 7 (0%) der PT und 1/ 7 (14%) der Metastasen bewertet. Score 2 kommt in 4/ 7 (57%) der PT und 4/ 7 (57%) der Metastasen und Score 3 in 2/ 7 (29%) der PT und 1/ 7 (14%) der Metastasen vor. Score 4 tritt nicht auf.

**Diagramm 47 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in den Geschlechtern**



**Diagramm 48 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in den Geschlechtern**



Den Diagrammen 47 und 48 ist zu entnehmen, dass die Verteilung der einzelnen Scores bei beiden Geschlechtern relativ ähnlich aussieht. Mit der statistischen Analyse wurde

ebenfalls kein Unterschied zwischen der MMP2 Antigenexpression in den PT und deren Metastasen und den beiden Geschlechtern festgestellt.

#### 3.4.2. Korrelation mit dem Patientenalter

Die Verteilung der Altersgruppen ist in Diagramm 4 dargestellt.

In der Altersgruppe 1 beträgt der Scoremittelwert 2,0 in den PT und 2,5 in den Metastasen, in der Altersgruppe 2 2,33 in den PT und 2,22 in den Metastasen, in der Altersgruppe 3 1,53 in den PT und 1,46 in den Metastasen, in der Altersgruppe 4 2,5 in den PT und 2,11 in den Metastasen und in der Altersgruppe 5 2,0 in den PT und 1,71 in den Metastasen.

Zu vermerken ist, dass der durchschnittliche Score in den verschiedenen Altersgruppen mit Ausnahme von Altergruppe 3 etwa gleich verteilt ist. In dieser Altersgruppe liegt der Score im Durchschnitt deutlich niedriger als in den anderen Gruppen.

Die einzelnen Scores sind in den Diagrammen 49 und 50 übersichtlich ausgestellt.

In Altersgruppe 1 reagieren 2/ 2 (100%) der PT und 2/ 2 (100%) der Metastasen positiv auf MMP2 Antikörper. Score 2 kommt in 2/ 2 (100%) der PT und 1/ 2 (50%) der Metastasen und Score 3 in 0/ 2 (0%) der PT und 1/ 2 (50%) der Metastasen vor. Score 1 und 4 treffen hier nicht zu.

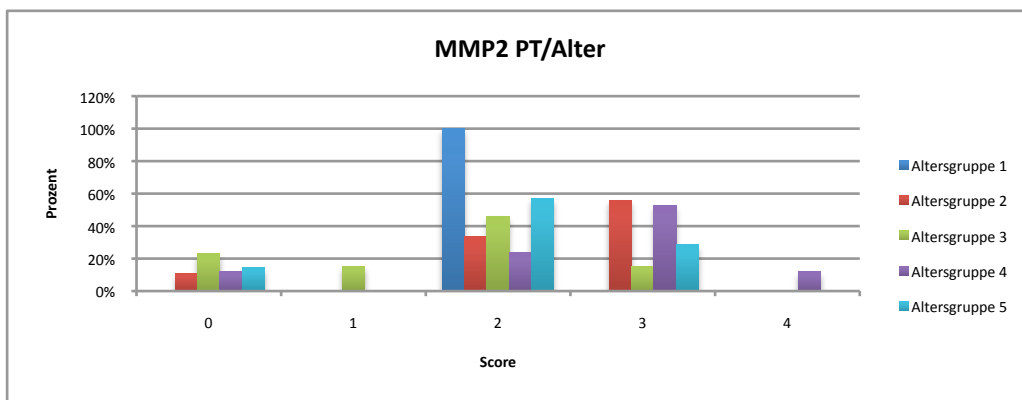
In Altersgruppe 2 sind 8/ 9 (89%) der PT und 8/ 9 (89%) der Metastasen positiv. Score 2 tritt in 3/ 9 (33%) der PT und 5/ 9 (56%) der Metastasen, Score 3 in 5/ 9 (56%) der PT und 2/ 9 (29%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 9 (0%) der PT und 1/ 9 (11%) der Metastasen auf. Score 1 kommt in dieser Altersgruppe nicht vor.

In Altersgruppe 3 können 10/ 13 (77%) der PT und 9/ 13 (69%) der Metastasen mit MMP2 Antikörper markiert werden und werden als positiv bewertet. Score 1 kommt in 2/ 13 (15%) der PT und 1/ 13 (8%) der Metastasen, Score 2 in 6/ 13 (46%) der PT und 6/ 13 (46%) der Metastasen und Score 3 in 2/ 13 (15%) der PT und 2/ 13 (15%) der Metastasen vor. Score 4 wird hier nicht nachgewiesen.

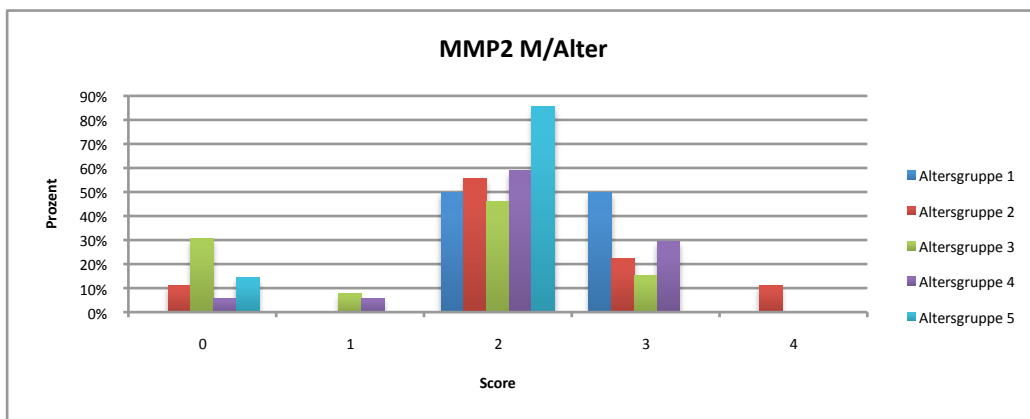
In Altersgruppe 4 sind 15/17 (88%) der PT und 16/17 (94%) der Metastasen positiv. Score 1 tritt in 0/ 17 (0%) der PT und 1/ 17 (6%) der Metastasen, Score 2 in 4/ 17 (24%) der PT und 10/ 17 (59%) der Metastasen, Score 3 in 9/ 17 (53%) der PT und 5/ 17 (29%) der Metastasen und Score 4 in 2/ 17 (12%) der PT und 0/ 17 (0%) der Metastasen auf.

In Altergruppe 5 sind 6/ 7 (86%) der PT und 6/ 7 (86%) der Metastasen positiv. Mit Score 2 werden 4/ 7 (57%) der PT und 6/ 7 (86%) der Metastasen bewertet. Score 3 kommt in 2/ 7 (20%) der PT vor. Score 1 und 4 treten in dieser Altersgruppe nicht auf.

**Diagramm 49 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in den Altersgruppen**



**Diagramm 50 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in den Altersgruppen**



Ein Unterschied zwischen dem Alter der Patienten und der MMP2 Antigen- Antikörper Reaktion wurde statistisch nicht nachgewiesen.

### 3.4.3. Korrelation mit dem Entdifferenzierungsgrad des Tumors

In den gut differenzierten Karzinomen liegt der durchschnittliche Score bei 2,0 in den PT und bei 2,5 in den Metastasen, in den mäßig differenzierten bei 2,06 in den PT und bei 1,89 in den Metastasen und in den wenig differenzierten bei 2,17 in den PT und bei 1,94 in den Metastasen.

Die Verteilung der einzelnen Scores wird in den Diagrammen 51 und 52 ausgeführt.

In der G1 Fraktion zeigen 2/ 2 (100%) der PT und 2/ 2 (100%) der Metastasen ein positives Ergebnis. Score 2 tritt in 1/ 2 (50%) der PT und 2/ 2 (100%) der Metastasen und Score 3 in 1/ 2 (50%) der PT und 0/ 2 (0%) der Metastasen auf. Score 1 und 4 sind nicht zutreffend.

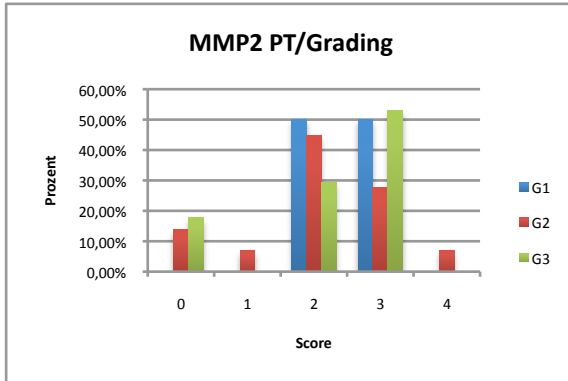
In der Gruppe der G2- Tumoren exprimieren 25/ 29 (86%) der PT und 25/ 29 (86%) der Metastasen MMP2 Antigene und werden mit MMP2 Antikörper markiert und als positiv bewertet. Score 1 kommt in 2/ 29 (7%) der PT und 1/ 29 (3%) der Metastasen, Score 2 in 13/ 29 (45%) der PT und 18/ 29 (62%) der Metastasen, Score 3 in 8/ 29 (28%) der PT und 6/ 29 (21%) der Metastasen und Score 4 in 2/ 29 (7%) der PT und 0/ 29 (0%) der Metastasen vor.

Bei den wenig differenzierten Karzinomen werden 3/ 17 (18%) der PT und 3/ 17 (18%) der Metastasen negativ bewertet. Score 1 tritt in 0/ 17 (0%) der PT und 1/ 17 (6%) der Metastasen, Score 2 in 5/ 17 (29%) der PT und 8/ 17 (47%) der Metastasen, Score 3 in 9/ 17 (53%) der PT und 4/ 17 (24%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 17 (0%) der PT und 1/ 17 (6%) der Metastasen auf.

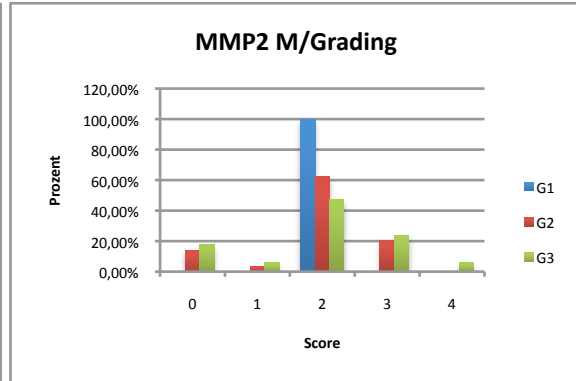
Es fällt auf, dass unabhängig von dem Entdifferenzierungsgrad die PT-Proben hauptsächlich mit Score 2 und 3 ausgewertet sind. Die Metastasenproben exprimieren hingegen weniger MMP2 und werden vorwiegend mit Score 2 bewertet. Ausnahmen sind ein Teil der G3 Tumoren und 20% der G2, die mit Score 3 bewertet sind.

Die statistische Analyse ergab keinen Unterschied zwischen der MMP2 Expression in den PT und deren Metastasen und den Entdifferenzierungsgraden.

**Diagramm 51 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in G1,2,3**



**Diagramm 52 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in G1,2,3**



#### 3.4.4. Korrelation mit der pT-Klassifikation

In der Gruppe der T1 Karzinomen liegt der durchschnittliche Score bei 2,41 in den PT und bei 2,08 in den Metastasen, in den T2 Tumoren bei 1,95 sowohl in den PT als auch in den Metastasen, in den T3 Fällen bei 2,3 in den PT und bei 2,1 in den Metastasen und in den T4 Präparaten bei 1,83 in beiden PT und Metastasen.

Die Verteilung der einzelnen Scores ist übersichtlich in den Diagrammen 53 und 54 dargestellt.

In der T1 Fraktion sind 12/ 12 (100%) der PT und 12/ 12 (100%) der Metastasen positiv. Score 1 kommt in 1/ 12 (8%) der PT und 2/ 12 (17%) der Metastasen, Score 2 in 6/ 12 (50%) der PT und 7/ 12 (58%) der Metastasen, Score 3 in 4/ 12 (33%) der PT und 3/ 12 (25%) der Metastasen und Score 4 in 1/ 12 (8%) der PT und 0/ 12 (0%) der Metastasen vor.

In der Gruppe der T2 Tumoren sind 15/ 20 (75%) der PT und 15/ 20 (75%) der Metastasen positiv. Score 2 tritt in 6/ 20 (30%) der PT und 11/ 20 (55%) der Metastasen, Score 3 in 9/ 20 (45%) der PT und 3/ 20 (15%) der Metastasen und Score 4 in 0/ 20 (0%) der PT und 1/ 20 (5%) der Metastasen auf. Score 1 trifft hier nicht zu.

In den Karzinomen mit einer T3 Größe exprimieren 9/ 10 (90%) der PT und 9/ 10 (90%) der Metastasen MMP2 Antigene und reagieren deshalb positiv auf MMP2 Antikörper. Mit Score 1 werden 1/ 10 (10%) der PT und 0/ 10 (0%) der Metastasen, mit Score 2 3/ 10



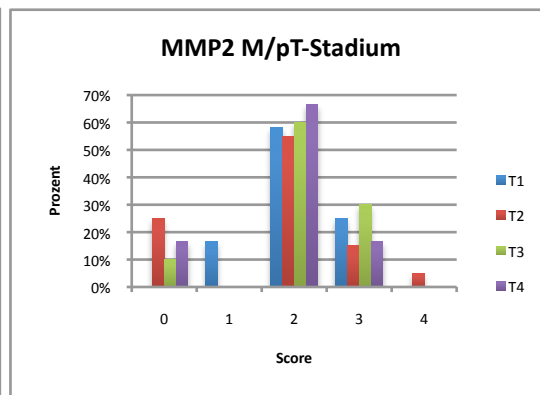
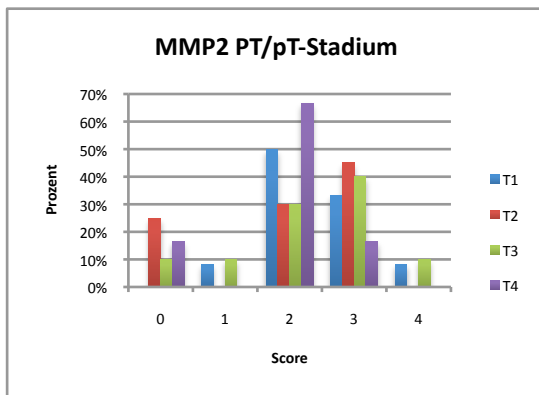
(30%) der PT und 6/ 10 (60%) der Metastasen, mit Score 3 4/ 10 (40%) der PT und 3/ 10 (30%) der Metastasen und mit Score 4 1/ 10 (10%) der PT und 0/ 10 (0%) der Metastasen bewertet.

Eine positive Färbung wird bei den T4 Tumoren in 5/ 6 (83%) der PT und 5/ 6 (83%) der Metastasen nachgewiesen. Score 2 kommt in 4/ 6 (67%) der PT und 4/ 6 (67%) der Metastasen und Score 3 in 1/ 6 (17%) der PT und 1/ 6 (17%) der Metastasen vor. Score 1 und Score 4 treten nicht auf.

Die statistische Analyse ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen der MMP2 Expression in den PT und deren Metastasen und der pT Klassifikation.

**Diagramm 53 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in T1, 2, 3, 4**

**Diagramm 54 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in T1, 2, 3, 4**



### 3.4.5. Korrelation mit der pN-Klassifikation

Bei dem Patientenkollektiv mit einem pN1 Hals beträgt der Scoremittelwert 2,11 in den PT und 1,83 in den Metastasen. 2,13 in den PT und 1,96 in den Metastasen sind die durchschnittlichen Zahlen bei den pN2 Proben.

In den Diagrammen 55 und 56 sind die einzelnen Scores abgebildet.

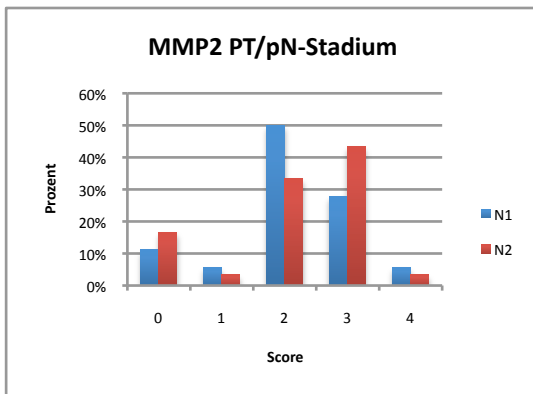
In der Gruppe der pN1 Präparate sind 16/ 18 (89%) der PT und 16/ 18 (89%) der Metastasen positiv. Score 1 kommt in 1/ 18 (6%) der PT und 1/ 18 (6%) der Metastasen, Score 2 in 9/ 18 (50%) der PT und 13/ 18 (72%) der Metastasen, Score 3 in 5/ 18 (28%) der PT und 2/ 18 (11%) der Metastasen und Score 4 in 1/ 18 (6%) der PT und 0/ 18 (0%) der Metastasen vor.

In der pN2 Gruppe sind 25/ 30 (83%) der PT und 25/ 30 (83%) der Metastasen positiv. Score 1 tritt in 1/ 30 (3%) der PT und 1/ 30 (3%) der Metastasen, Score 2 in 10/ 30 (33%) der PT und 15/ 30 (50%) der Metastasen, Score 3 in 13/ 30 (43%) der PT und 8/ 30 (27%) der Metastasen und Score 4 in 1/ 30 (3%) der PT und 1/ 30 (3%) der Metastasen auf.

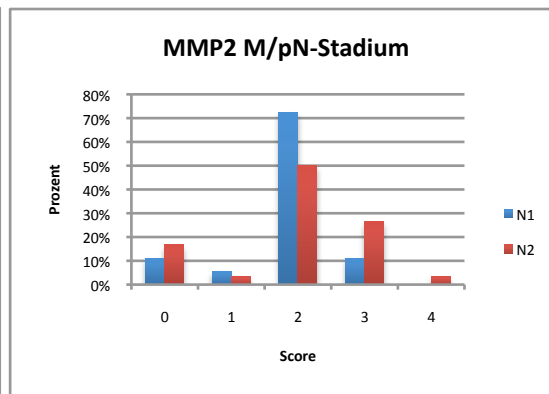
Zu vermerken ist, dass die pN2 PT- Proben mit einem höheren Score als diejenigen die mit einem pN1 Befund bewertet sind.

Statistisch lässt sich kein Zusammenhang zwischen der MMP2 Expression in den PT und deren Metastasen und dem pN- Stadium nachweisen.

**Diagramm 55 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in N1, 2,**



**Diagramm 56 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in N1, 2**



### 3.4.6. Korrelation mit dem UICC Stadium

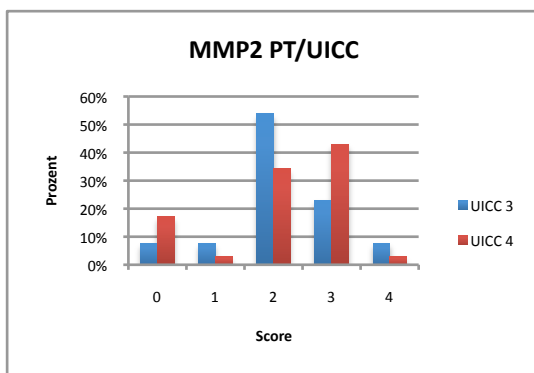
Im klinischen Stadium III liegt der Score im Durchschnitt bei 2,15 in den PT und bei 1,76 in den Metastasen und im Stadium IV bei 2,11 in den PT und bei 1,97 in den Metastasen.

Der grafischen Darstellung ist zu entnehmen, dass die Ergebnisse in den Metastasenproben etwa gleich in beiden Stadien verteilt sind. Hingegen fällt in der Gruppe der PT auf, dass in einem höheren Stadium eine etwas stärkere Färbung auftritt (s. Diagramme 57, 58).

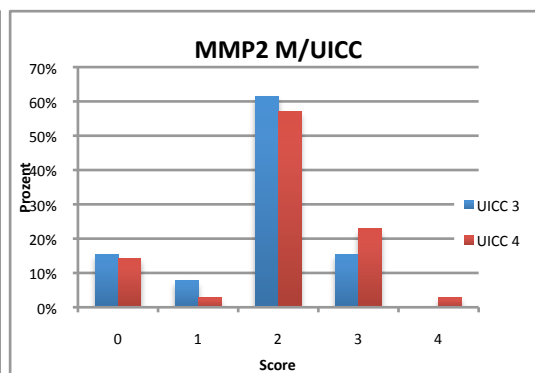
In der Gruppe des Stadiums III sind 12/ 13 (92%) der PT und 11/ 13 (85%) der Metastasen positiv. Score 1 tritt in 1/ 13 (8%) der PT und 1/ 13 (8%) der Metastasen, Score 2 in 7/ 13 (54%) der PT und 8/ 13 (62%) der Metastasen, Score 3 in 3/ 13 (23%) der PT und 2/ 13 (15%) der Metastasen und Score 4 in 1/ 13 (8%) der PT und 0/ 13 (0%) der Metastasen auf.

In Stadium IV reagieren 29/ 35 (83%) der PT und 30/ 35 (86%) der Metastasen positiv auf MMP2 Antikörper. Score 1 kommt in 1/ 35 (3%) der PT und 1/ 35 (3%) der Metastasen, Score 2 in 12/ 35 (34%) der PT und 20/ 35 (57%) der Metastasen, Score 3 in 15/ 35 (43%) der PT und 8/ 35 (23%) der Metastasen und Score 4 in 1/ 35 (3%) der PT und 1/ 35 (3%) der Metastasen vor.

**Diagramm 57 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in UICC 3, 4**



**Diagramm 58 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in UICC 3, 4**



Die statistische Analyse ergab keinen Unterschied zwischen der MMP2 Expression in den PT und deren Metastasen und dem UICC Stadium.

### 3.4.7. Korrelation mit den L- und V- Klassifikationen

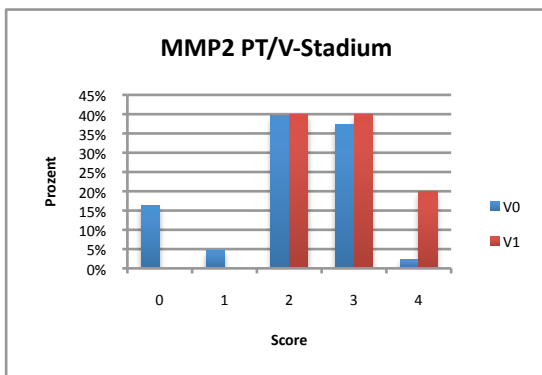
Der Scoremittelwert des L- Stadiums entspricht dem gesamten durchschnittlichen Score.

Bei 5/ 48 der Patientenfälle wird Hämangiosis carcinomatosa diagnostiziert. Der Durchschnittsscore in dieser Gruppe beträgt 2,8 in den PT und 2,4 in den Metastasen. Alle V1 Präparate sind positiv. Score 2 kommt in 2/ 5 (40%) der PT und 3/ 5 (60%) der Metastasen, Score 3 in 2/ 5 (40%) der PT und 2/ 5 (40%) der Metastasen und Score 4 in einer der PT Proben vor. Score 1 tritt hier nicht auf (s. Diagramme 59, 60).

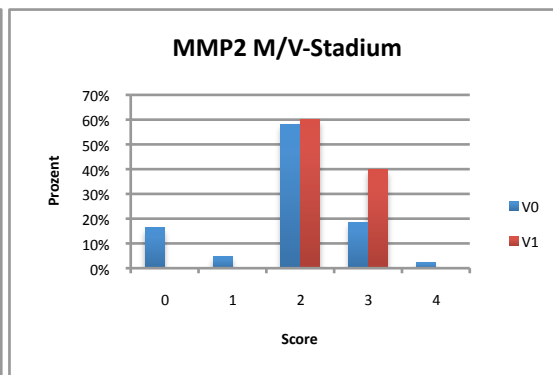
Bei den Patienten ohne Hämangiosis carcinomatosa sind 36/ 43 (84%) der PT und 36/ 43 (84%) der Metastasen positiv. Score 1 tritt in 2/ 43 (5%) der PT und 2/ 43 (5%) der Metastasen, Score 2 in 17/ 43 (40%) der PT und 25/ 43 (58%) der Metastasen, Score 3 in 16/ 43 (37%) der PT und 8/ 43 (19%) der Metastasen und Score 4 in 1/ 43 (2%) der PT und 1/ 43 (2%) der Metastasen auf (Diagramme 59, 60).

Die Scoreverteilung in V0 und V1 Stadium ist sowohl bei den PT als auch in den Metastasen etwa gleich. Auffällig ist, dass Score 0 und Score 1 häufiger in den PT mit einer V0 Diagnose vorkommen. Hingegen tritt Score 4 nur bei den V1 Patientenpräparaten auf. Statistisch konnte keine signifikante Korrelation zwischen der MMP2 Expression in den PT und deren Metastasen und dem V- Stadium nachgewiesen werden.

**Diagramm 59 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in V0, 1**



**Diagramm 60 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in V0, 1**



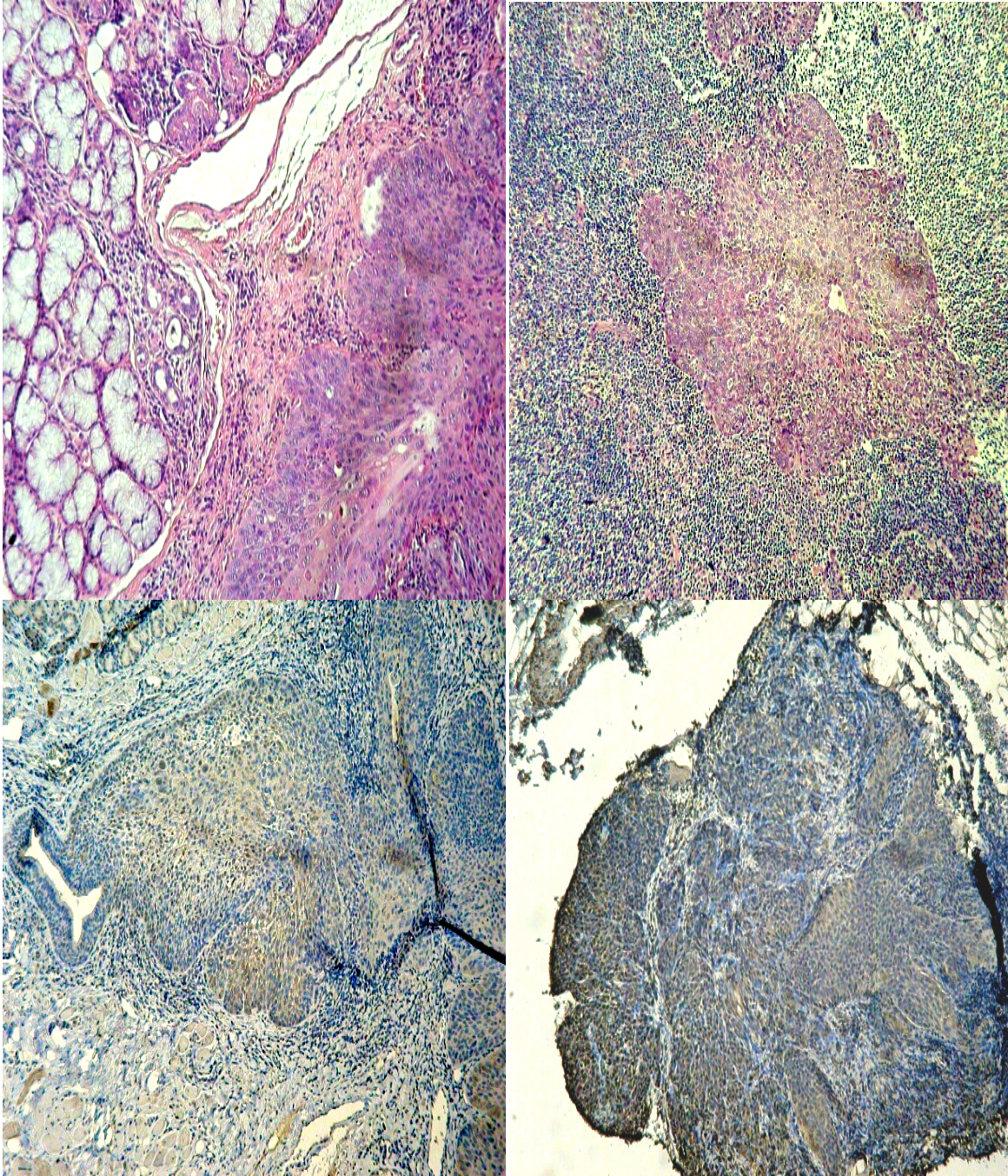


Abb.3. 5 HE Färbung PT (o, re) und Metastase (o, li); MMP2 Färbung PT( u, re) und Metastase (u, li)

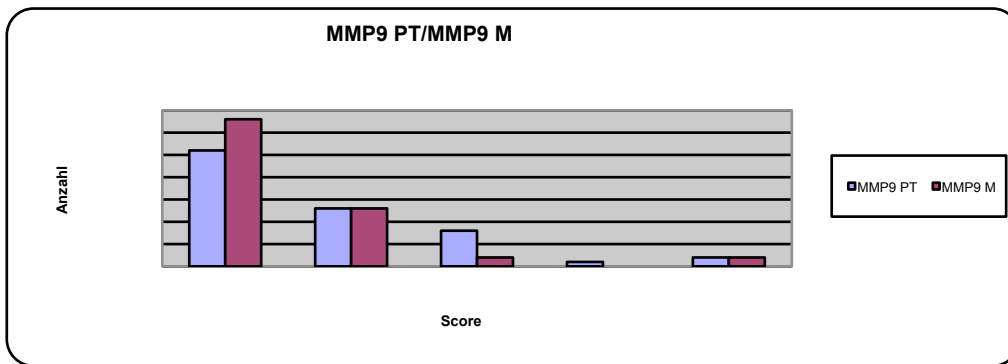
### 3.5. Expressionsmuster der MMP9 Antigene

24/ 50 (48%) der PT und 17/ 50 (34%) der Metastasen exprimieren MMP9 Antigene und weisen eine positive Antigen-Antikörperreaktion auf.

Der Score liegt im Durchschnitt in den PT bei 0,8 und in den Metastasen bei 0,5.

Score 1 kommt in 13/ 50 (26%) der PT und 13/ 50 (26%) der Metastasen, Score 2 in 8/ 50 (16%) der PT und 2/ 50 (4%) der Metastasen, Score 3 in 1/ 50 (2%) der PT und 0/ 50 (0%) der Metastasen und Score 4 in 2/ 50 (4%) der PT und 2/ 50 (4%) der Metastasen vor.

**Diagramm 61 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den PT und deren Metastasen**



**Tabelle 3. 13 MMP9-Antigenexpression bei primären PEC und deren Metastasen**

Antikörper	Mittlere Scorewerte	Spearman Rho (rs)
<i>MMP9 PT</i>	0,8	,299*
<i>MMP9 M</i>	0,5	

\*die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

Die MMP9 Expression in den Plattenepithelkarzinomen ist allgemein schwach ausgeprägt. Auffällig ist es, dass der Großteil der Metastasenproben keine MMP9 Antigenexpression aufweist.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass eine höhere Färbung in den PT eine niedrige Färbung in den Metastasen bedingt.

Eine Korrelation ließ sich statistisch bestätigen.

Mittelwerte und Ergebnisse von der statischen Analyse sind in Tabellen 3.13, 3.14 und 3.15 ersichtlich.

**Tabelle 3. 14 MMP9- Antigenexpression und klinische Korrelationen**

Parameter	Anzahl	Mittlerer Scorewert PT	Fisher Test PT	Spearman Rho (rs) PT	Mittlerer Scorewert M	Fisher Test M	Spearman Rho (rs) M
<b>Geschlecht</b>							
Männlich	42	0,73	0,232	-,217	0,47	0,089	-,213
Weiblich	8	1,12			0,62		
<b>Alter</b>							
<=40	2	2			0		
41-50	9	0,22			0,44		
51-50	15	1	0,303	,026	0,4	0,472	,076
61-70	17	1			0,64		
>=71	7	0,57			0,42		

**Tabelle 3. 15 MMP9 Antigenexpression und histopathologische Korrelationen**

Parameter	Anzahl	Mittlerer Scorewert PT	Fisher Test PT	Spearman Rho (rs) PT	Mittlerer Scorewert M	Fisher Test M	Spearman Rho (rs) M
<b>G-Stadium</b>							
G1	2	0			0		
G2	30	0,66	0,526	,205	0,3	0,329	,296*
G3	18	1,11			0,88		
<b>pT-Stadium</b>							
T1	12	0,58			0,75		
T2	21	0,9	0,057	,089	0,23	0,196	,077
T3	11	0,72			0,63		
T4	6	1			0,66		
<b>pN-Stadium</b>							
N1	19	1,15	0,064	,313*	0,5	0,208	,142
N2	31	0,56			0,36		
<b>UICC Stadium</b>							
III	14	1,28	0,15	-,252	0,92	0,063	-,219
IV	35	0,6			0,4		

<b>V-Invasion</b>							
V0	44	0,86	0,8	-,157	0,52	1	-,030
V1	6	0,33			0,33		

\*die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

### 3.5.1. Korrelation des Scores mit dem Patientengeschlecht

Der Scoremittelwert beträgt bei den Männern 0,73 in den PT und 0,47 in den Metastasen und bei den Frauen 1,12 in den PT und 0,62 in den Metastasen. Zu vermerken ist, dass der durchschnittliche Score bei den weiblichen PT Proben deutlich niedriger ist als bei den männlichen. Hingegen ist der ausgerechnete Mittelwert in den Metastasen sowohl bei den Männern als auch bei den Frauen etwa gleich.

In den männlichen Fällen sind 24/ 42 (57%) der PT und 30/ 42 (71%) der Metastasen negativ. Die restlichen 18/ 42 (43%) PT und 12/ 42 (29%) Metastasen lassen sich folgenderweise in den einzelnen Scores verteilen (Diagramme 62, 63):

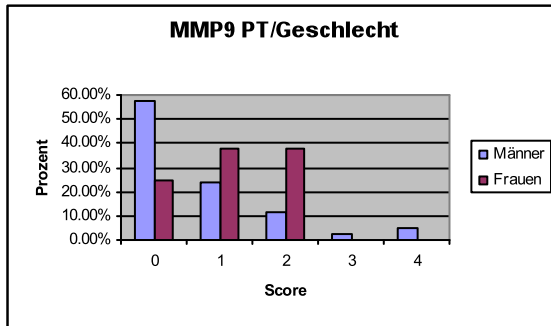
Score 1 in 10/ 42 (24%) der PT und 8/ 42 (19%) der Metastasen, Score 2 in 5/ 42 (12%) der PT und 2/ 42 (5%) der Metastasen, Score 3 in 1/ 42 (2%) der PT und 0/ 42 (0%) der Metastasen und Score 4 in 2/ 42 (5%) der PT und 2/ 42 (5%) der Metastasen.

6/ 8 PT (75%) und 5/ 8 (62%) Metastasen der weiblichen Proben reagieren positiv auf MMP9 Antikörper. Score 1 lässt sich in 3/ 8 (38%) der PT und 5/ 8 (63%) der Metastasen und Score 2 in 3/ 8 (38%) der PT und 0/ 8 (0%) der Metastasen bestimmen. Score 3 und 4 kommen in den weiblichen Patientenproben nicht vor (Diagramme 62, 63).

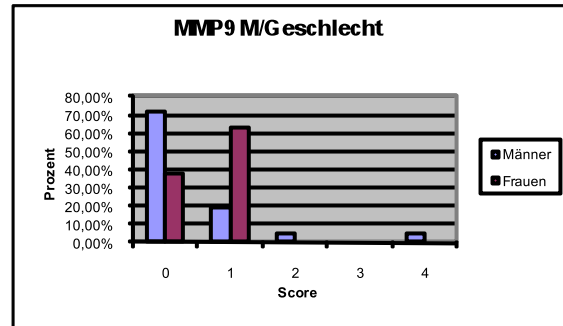
Die MMP9 Antigenexpression ist bei den Frauen deutlich schwächer als bei den Männern.



**Diagramm 62 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den PT in den Geschlechtern**



**Diagramm 63 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den Metastasen in den Geschlechtern**



Statistisch konnte kein Zusammenhang zwischen der MMP9 Antigenexpression in den PT und deren Metastasen und den beiden Geschlechtern bestätigt werden (Tabelle 3.14).

### 3.5.2. Korrelation mit dem Patientenalter

In Diagramm 4 ist die Verteilung der Altersgruppen dargestellt.

In Altersgruppe 1 beträgt der Score im Durchschnitt 2,0 in den PT und 0 in den Metastasen, in Altersgruppe 2 0,22 in den PT und 0,44 in den Metastasen, in Altersgruppe 3 1,0 in den PT und 0,4 in den Metastasen, in Altersgruppe 4 1,0 in den PT und 0,64 in den Metastasen und in Altersgruppe 5 0,57 in den PT und 0,42 in den Metastasen. Der höchste Scoremittelwert wurde bei den Patienten zwischen 50 und 70 Jahre alt berechnet. Hingegen liegt der Score in den anderen Altersgruppen deutlich unter 1.

Die Verteilung der Scores ist dem Diagrammen 64 und 65 zu entnehmen.

In Altersgruppe 1 sind 2/ 2 (100%) der PT und 0/ 2 (0%) der Metastasen positiv. Score 2 tritt in 2/ 2 (100%) der PT auf. Score 1,3 und 4 können nicht nachgewiesen werden.

In Altersgruppe 2 werden 2/ 9 (22%) der PT und 3/ 9 (44%) der Metastasen positiv bewertet. Score 1 kommt in 2/ 9 (22%) der PT und 3/ 9 (33%) der Metastasen und Score 2

in 1/ 9 (11%) der Metastasen vor. Im Gegenteil zu den anderen Altersgruppen werden in Altersgruppe 2 die Metastasenproben höher als die PT Proben bewertet.

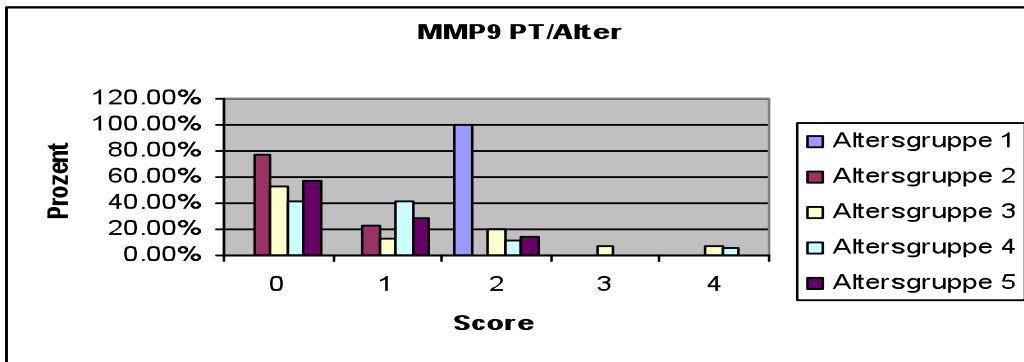
In Altergruppe 3 weisen 7/ 15 (47%) der PT und 3/ 15 (20%) der Metastasen eine MMP9 Antigen-Antikörperreaktion auf. Score 1 lässt sich in 2/ 15 (13%) der PT und 2/ 15 (13%) der Metastasen, Score 2 in 3/ 15 (20%) der PT und 0/ 15 (0%) der Metastasen, Score 3 in 1/ 15 (7%) der PT und 0/ 15 (0%) der Metastasen und Score 4 in 1/ 15 (7%) der PT und 1/ 15 (7%) der Metastasen bestätigen.

In Altersgruppe 4 sind 10/ 17 (59%) der PT und 8/ 17 (47%) der Metastasen mit MMP9 Antikörpern markiert. Score 1 tritt in 7/ 17 (41%) der PT und 7/ 17 (41%) der Metastasen, Score 2 in 2/ 17 (12%) der PT und 0/ 17 (0%) der Metastasen und Score 4 in 1/17 (6%) der PT und 1/17 (6%) der Metastasen auf. Score 3 lässt sich hier nicht nachweisen.

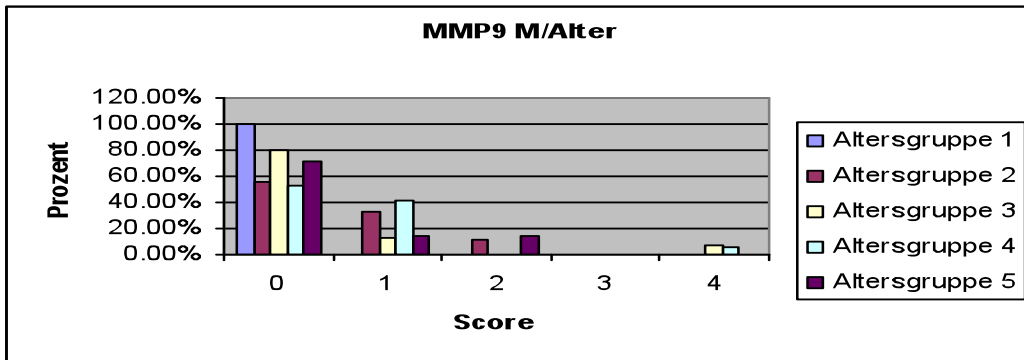
In Altersgruppe 5 sind 3/ 7 (43%) der PT und 2/ 7 (29%) der Metastasen positiv. Score 1 kommt in 2/ 7 (29%) der PT und 1/ 7 (14%) der Metastasen, Score 2 in 1/ 7 (14%) der PT und 1/ 7 (14%) der Metastasen vor. Score 3 und 4 treten hier nicht auf.

Die statistische Analyse ergab keinen Zusammenhang zwischen der MMP9 Expression in den PT und deren Metastasen und dem Patientenalter.

**Diagramm 64 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den PT in den Altersgruppen**



**Diagramm 65 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den Metastasen in den Altersgruppen**



### 3.5.3. Korrelation mit dem Entdifferenzierungsgrad des Tumors

Der Scoremittelwert beträgt in den gut differenzierten PT und deren Metastasen 0, in den mäßig differenzierten PT 0,66 und in deren Metastasen 0,3. Der durchschnittliche Score ist in den wenig differenzierten PT 1,11 und in den korrespondierten Metastasen 0,88. Je entdifferenzierter der Tumor ist, desto höher liegt der Scoremittelwert.

Die grafische Übersicht der einzelnen Scores ist in den Diagrammen 66 und 67 dargestellt.

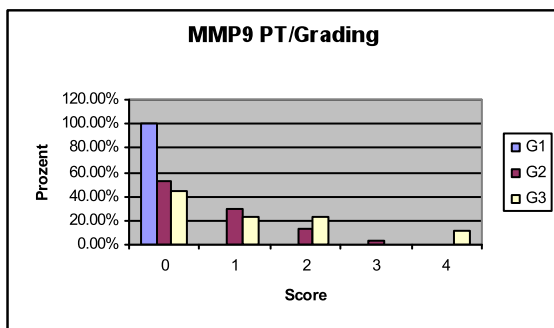
In der G1 Gruppe sind 2/ 2 (100%) der PT und 2/ 2 (100%) der Metastasen negativ.

In der Fraktion der G2 Karzinome weisen 14/ 30 (47%) der PT und 8/ 30 (27%) der Metastasen eine positive Reaktion mit den MMP9 Antikörpern auf. Score 1 kommt in 9/ 30 (30%) der PT und 7/ 30 (23%) der Metastasen, Score 2 in 4/ 30 (13%) der PT und 1/ 30 (3%) der Metastasen und Score 3 in 1/ 30 (3%) der PT und 0/ 30 (0%) der Metastasen vor. Score 4 tritt in dieser Gruppe nicht auf.

In den wenig differenzierten Tumoren exprimieren 10/ 18 (56%) der PT und 9/ 18 (50%) der Metastasen MMP9 Antigene. Score 1 tritt in 4/ 18 (22%) der PT und 6/ 18 (33%) der Metastasen, Score 2 in 4/ 18 (22%) der PT und 1/ 18 (6%) der Metastasen und Score 4 in 2/ 18 (11%) der PT und 2/ 18 (11%) der Metastasen auf. Es gibt keine Patientenfälle in dieser Gruppe, die mit einem Score von 3 bewertet wurden.

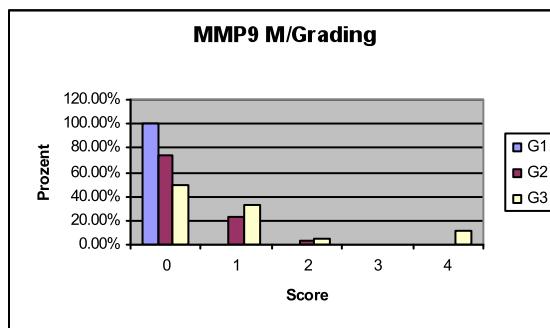
**Diagramm 66 Scoreverteilung der MMP9-**

**Antigene in den PT in G1, 2, 3**



**Diagramm 67 Scoreverteilung der MMP9-**

**Antigene in den Metastasen in G1, 2, 3**



Statistisch lässt sich kein Unterschied zwischen der MMP9 Expression in den PT und dem Entdifferenzierungsgrad bestätigen. Hingegen konnte ein positiver monotoner Zusammenhang zwischen der MMP9 Expression in den Metastasenproben und dem G-Status bewiesen werden ( $p < 0,05$ ) (Tabelle 3.15).

#### 3.5.4. Korrelation mit der pT-Klassifikation

Der durchschnittliche Score in den T1 Patientenproben liegt bei 0,58 in den PT und bei 0,75 in den Metastasen, in den T2 Präparaten bei 0,9 in den PT und bei 0,23 in den Metastasen, in der Gruppe der T3 Tumoren bei 0,72 in den PT und bei 0,63 in den Metastasen und in den Karzinomen mit einer T4 Größe bei 1,0 in den PT und bei 0,66 in den Metastasen.

Die Verteilung der einzelnen Scores ist in den Diagrammen 68 und 69 dargestellt.

Bei den T1 Proben sind 4/ 12 (33%) der PT und 5/ 12 (42%) der Metastasen positiv. Score 1 tritt in 3/ 12 (25%) der PT und 3/ 12 (25%) der Metastasen, Score 2 in 1/ 12 (8%) der Metastasen und Score 4 in 1/ 12 (8%) der PT und 1/ 12 (8%) der Metastasen auf. Score 3 ist hier nicht nachzuweisen.

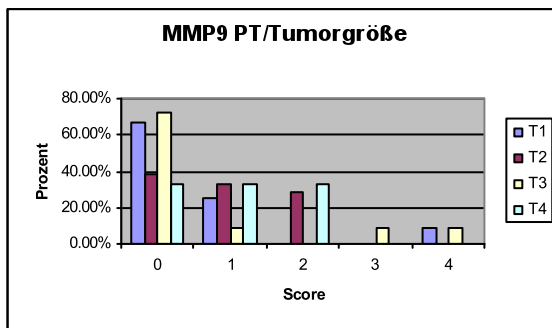
Von der T2 Patientengruppe sind 13/ 21 (62%) der PT und 4/ 21 (19%) der Metastasen positiv. Score 1 kommt in 7/ 21 (33%) der PT und 3/ 21 (14%) der Metastasen, Score 2 in 6/ 21 (29%) der PT und 1/ 21 (5%) der Metastasen vor. Eine stärkere Färbung (Score 3 und 4) ist bei diesen Proben nicht zu beobachten.

In den T3 Tumoren sind 3/ 11 (27%) der PT und 4/ 11 (26%) der Metastasen positiv. Mit Score 1 werden 1/ 11 (9%) der PT und 3/ 11 (27%) der Metastasen, mit Score 3 1/ 12 (9%) der PT und 0/ 11 (0%) der Metastasen, mit Score 4 1/ 11 (9%) der PT und 1/ 11 (9%) der Metastasen bewertet. Score 2 kommt nicht vor.

Bei den T4 Karzinomen sind 4/ 6 (67%) der PT und 4/ 6 (67%) der Metastasen positiv. Score 1 tritt in 2/ 6 (33%) der PT und 4/ 6 (67%) der Metastasen, Score 2 in 2/ 6 (33%) der PT und 0/ 6 (0%) der Metastasen auf. Score 3 und 4 kommen in dieser Tumorgruppe nicht vor.

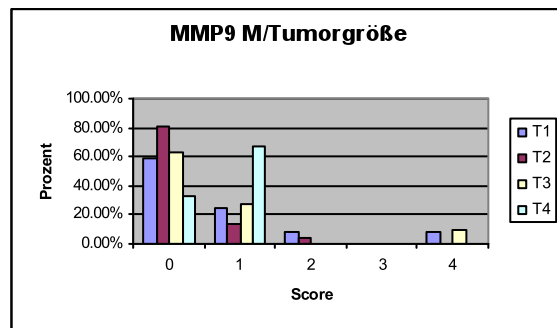
**Diagramm 68 Scoreverteilung der MMP9-**

**Antigene in den PT in T1, 2, 3, 4**



**Diagramm 69 Scoreverteilung der MMP9-**

**Antigene in den Metastasen in T1, 2, 3, 4**



Die statistische Analyse ergab keinen Unterschied zwischen der MMP9 Expression in den PT und deren Metastasen und dem T-Status (Tabelle 3.15).

### 3.5.5. Korrelation mit der pN-Klassifikation

In den Tumorproben im Stadium pN1 beträgt der Scoremittelwert 1,15 in den PT und 0,5 in den Metastasen. Bei denjenigen in pN2 liegt er bei 0,56 in den PT und 0,36 in den Metastasen.

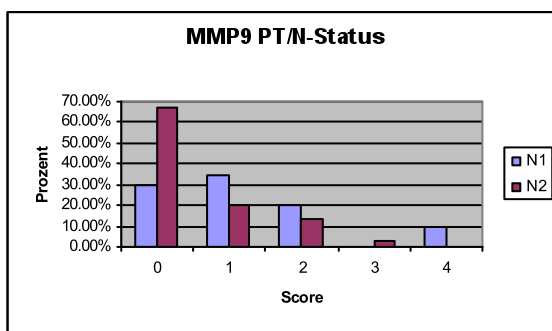
In der pN1 Patientengruppe exprimieren 14/ 20 (70%) der PT und 9/ 20 (45%) der Metastasen MMP9 Antigene und reagieren positiv auf MMP9 Antikörper. Score 1 kommt in 7/ 20 (35%) der PT und 6/ 20 (30%) der Metastasen, Score 2 in 4/ 20 (20%) der PT und 0/ 20 (0%) der Metastasen und Score 4 in 2/ 20 (10%) der PT und 2/ 20 (10%) der Metastasen vor. Score 3 ist bei den Karzinomen mit einem pN1 Hals nicht zu beobachten (s. Diagramme 70, 71).

In der pN2 Fraktion sind 10/ 30 (33%) der PT und 8/ 30 (27%) der Metastasen positiv. Score 1 tritt in 6/ 30 (20%) der PT und 7/ 30 (23%) der Metastasen, Score 2 in 4/ 30 (13%) der PT und 2/ 30 (7%) der Metastasen und Score 3 in 1/ 30 (3%) der PT und 0/ 30 (0%) der Metastasen auf. Score 4 ist nicht zu beobachten (s. Diagramme 70, 71).

Zu vermerken ist, dass der mittlere Score bei den Patienten mit einem pN1 Hals deutlich höher liegt als bei denjenigen mit einem pN2 Hals. Daraus kann man folgende Schlussfolgerung ziehen: je größer die Lymphknotenmetastase ist, desto schwächer ist die MMP9 Expression in den PT.

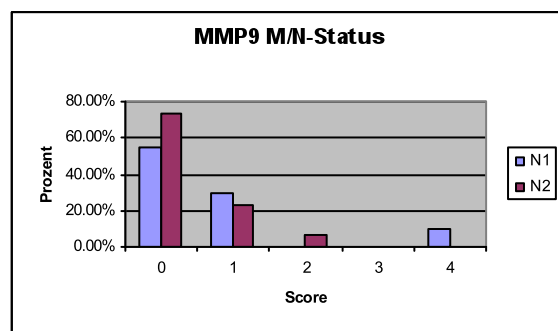
**Diagramm 70 Scoreverteilung der MMP9-**

**Antigene in den PT in N1, 2**



**Diagramm 71 Scoreverteilung der MMP9-**

**Antigene in den Metastasen in N1, 2**



Die statistische Analyse ergab einen Zusammenhang zwischen der MMP9 Expression in den PT und dem N-Status. Hingegen konnte einen solchen Zusammenhang in den Metastasenproben nicht bestätigt werden (Tabelle 3.15).

### 3.5.6. Korrelation mit dem UICC Stadium

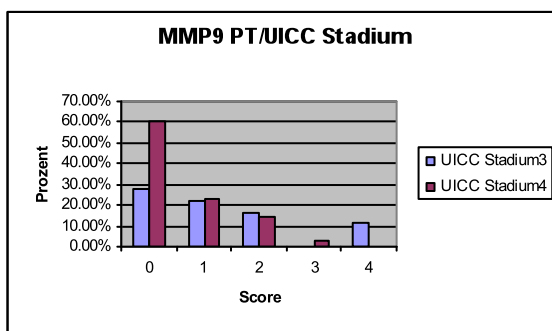
Im klinischen Stadium III beträgt der Scoremittelwert in den PT 1,28 und in den Metastasen 0,92. Der durchschnittliche Score im Stadium IV liegt mit den Werten 0,6 in den PT und 0,4 in den Metastasen deutlich niedriger.

Von den Patienten, die sich im Stadium III befanden, sind 9/ 14 (72%) der PT Proben und 7/ 14 (50%) der Metastasen positiv. Score 1 tritt in 4/ 14 (22%) der PT und 5/ 14 (28%) der Metastasen, Score 2 in 3/ 14 (17%) der PT und 0/ 14 (0%) der Metastasen und Score 4 in 2/ 14 (11%) der PT und 2/ 14 (11%) der Metastasen auf. Score 3 kommt nicht vor.

Im Stadium IV sind die Farbergebnisse bei 14/ 35 (40%) der PT und 10/ 35 (17%) positiv. Score 1 kommt in 8/ 35 (23%) der PT und 8/ 35 (23%) der Metastasen, Score 2 in 5/ 35 (14%) der PT und 2/ 35 (6%) der Metastasen und Score 3 in 1/ 35 (3%) der PT und 0/ 35 (0%) der Metastasen vor. Score 4 tritt in dieser Patientengruppe nicht auf.

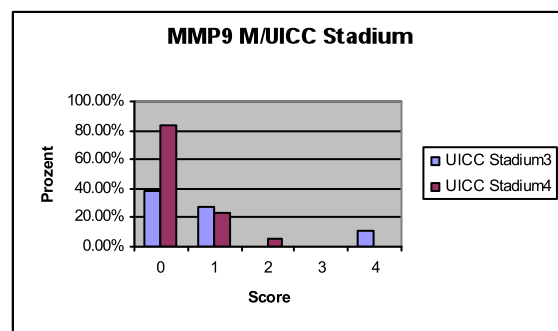
**Diagramm 72 Scoreverteilung der MMP9-**

**Antigene in den PT in UICC 3, 4**



**Diagramm 73 Scoreverteilung der MMP9-**

**Antigene in den Metastasen in UICC 3, 4**



Die statistische Analyse ergab keinen Zusammenhang zwischen der MMP9 Expression in den PT und deren Metastasen und den UICC Stadien (Tabelle 3.15).

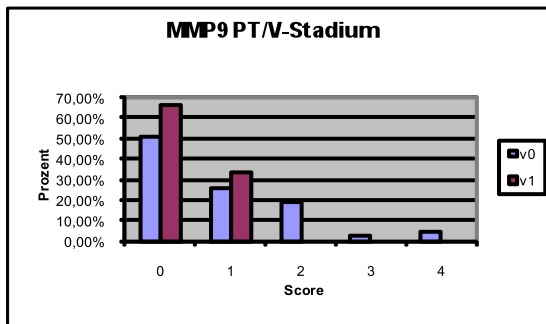
### 3.5.7. Korrelation mit der V-Klassifikation

Lymphangiosis carcinomatosa wurde bei allen Patienten festgestellt. Der durchschnittliche Score entspricht dem gesamten Mittelwert.

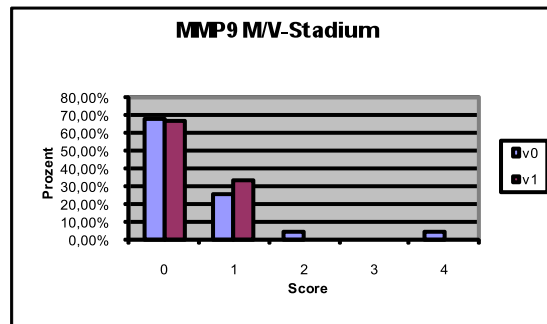
Der Score liegt im Durchschnitt bei den Patientenproben mit einem V0 Status bei 0,86 in den PT und bei 0,52 in den Metastasen, bei denjenigen mit einer diagnostizierten Hämangiosis carcinomatosa bei 0,33 sowohl in den PT als auch in den Metastasen.

Bei den Patientenfällen mit einem V1 Befund sind 2/ 6 (33%) der PT und 2/ 6 (33%) der Metastasen positiv. Score 1 kommt in 2/ 6 (33%) der PT und 2/ 6 (33%) der Metastasen vor. Ein höherer Score tritt hier nicht auf (s. Diagramme 74, 75).

**Diagramm 74 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den PT in V0,1**

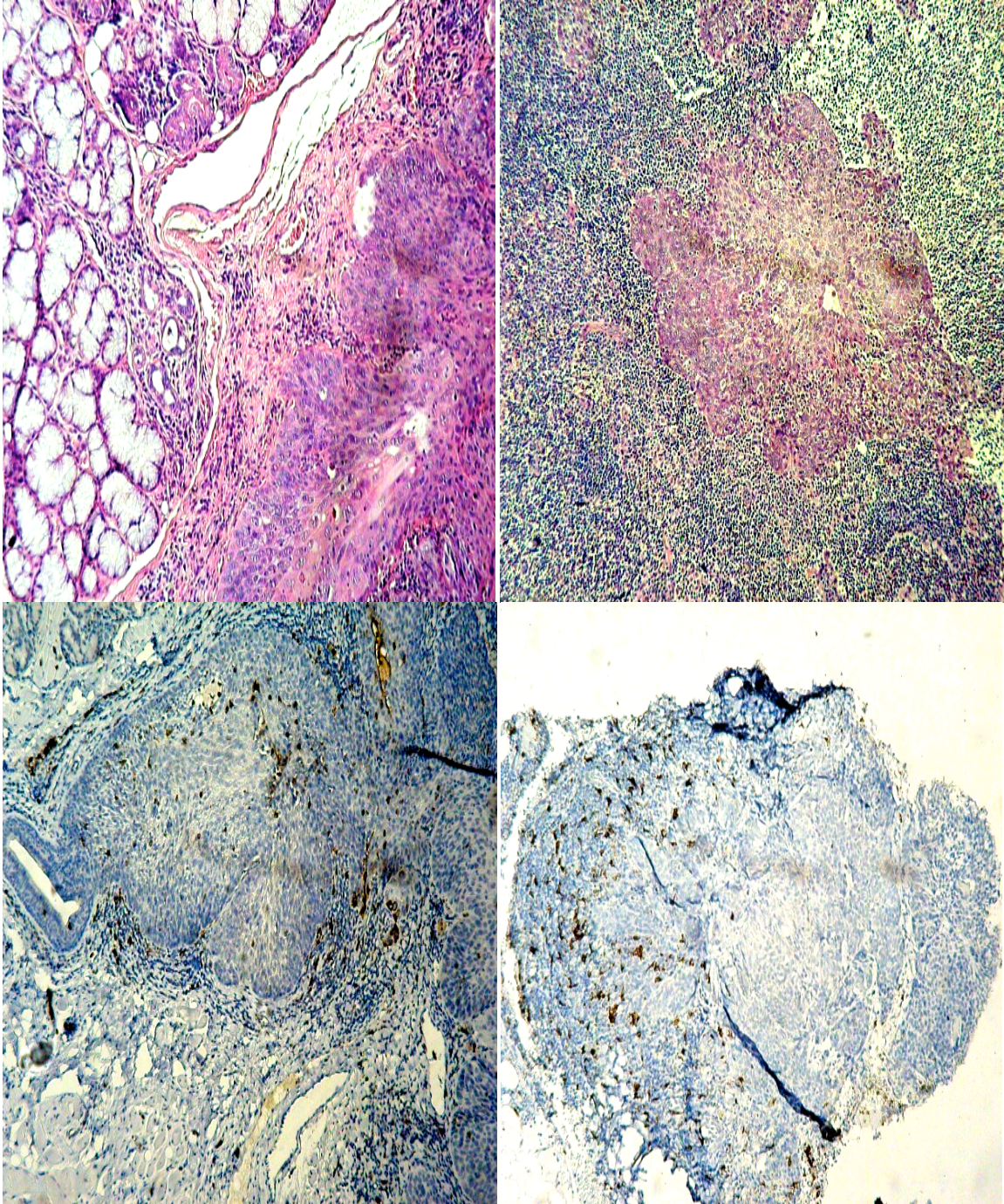


**Diagramm 75 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den Metastasen in V0,1**



Den Diagrammen 74 und 75 ist zu entnehmen, dass die Farbergebnisse in beiden Stadien prozentuell etwa gleich verteilt sind. Statistisch konnte kein Zusammenhang zwischen der MMP9 Expression in den PT und deren Metastasen und dem V-Stadium bestätigt werden (Tabelle 3.15).





**Abb.3. 6 HE Färbung PT (o, re) und Metastase (o, li); MMP9 Färbung PT (u, re) und Metastase (u, li)**

## 4. Diskussion

### 4.1. MAGE-A-Expression und die Perspektiven für eine bessere Diagnostik, Therapie und Prognose

In der vorliegenden Arbeit wurde die MAGE-A-Antigenexpression in primären oralen Plattenepithelkarzinomen und korrespondierenden zervikalen Lymphknotenmetastasen miteinander verglichen. Dabei wiesen 62% der Primärtumorerläsionen und 52% der Metastasen eine positive MAGE-A-Antigen-Antikörperreaktion auf. Die statistische Analyse bestätigte die Korrelation zwischen den beiden Variablen ( $p < 0,01$ ).

In einer Studie von Kufer et al., die die Expression der MAGE-A-Antigene im Prostatakarzinom untersuchte, konnte gezeigt werden, dass ein erhöhtes MAGE-A-Antigen-Vorkommen in den Primärerläsionen zu gesteigertem Metastasenbildungsrisiko führt [65]. In dieser Arbeit war die Scoreverteilung des MAGE-A-Antigenexpressionsmusters in den PT und in den Metastasen etwa gleich. Allerdings wurde bei manchen Metastasenproben eine stark positive MAGE-A-AG/AK-Reaktion beobachtet, die in den korrespondierenden Primärtumoren nicht in dieser Stärke nachweisbar war. Diese könnte mit einer möglicherweise früheren Metastasierung und Progression der PT und deren Tochterzellen erklärt werden. So wäre es möglich, dass in den PT Zellklone existieren, die verstärkt zur Metastasierung fähig sind und vermehrt MAGE-A-Antigene produzieren. Dies würde den vermehrten Nachweis der MAGE-A-Antigene in den Lymphknotenmetastasen erklären [86]. Eine Studie über die Stärke der MAGE-A-Antigenexpression in Bronchialkarzinomen ergab hingegen keine statistisch relevanten Korrelationen zwischen der Expressionsstärke in den primären Lungenkarzinomen und deren lokoregionalen Lymphknotenmetastasen [86].

Das Expressionsmuster der MAGE-A-Antigene in einem Tumortyp weist eine gewisse Heterogenität auf [87]. Dies könnte in Zusammenhang mit dem Pleomorphismus der Tumorzellen innerhalb eines Tumors stehen [88]. In einer Studie von Inoue et al. konnte die

Expression multipler MAGE-A-Subgruppen in Magenkarzinomen nachgewiesen werden (MAGE-A1 41%, MAGE-A2 31% und MAGE-A3 38%) [90]. Der Nachweis mehrerer MAGE-A-Antigenen könnte nicht nur für die bessere Diagnosestellung nützlich sein, sondern auch für die Entwicklung einer neuen Immuntherapie und die Besserung der Krankheitsprognose relevant sein, da potentiell mehr Ziele zu Verfügung stehen [87].

Die Zahl der MAGE-A-Antigen-gefärbten Zellen könnte abhängig von dem Tumortyp oder von der Nachweismethode variieren. Durch die rt-PCR, die im Vergleich zur Immunhistochemie eine sensitivere Nachweismethode darstellt, könnten Ergebnisse mit einer stärkeren Antigenexpression resultieren (71,1% der Kopf-Hals-Karzinome [91], 64,3% der Mammakarzinome [92], 81,5% der Magenkarzinome [59] und 74% der HCC) [93].

Zur Überprüfung von möglichen Korrelationen zwischen der MAGE-A-Antigenexpression und den klinischen und histo-pathologischen Merkmalen wie Geschlecht, Alter, pT, pN, Lymphangiosis und Hämangiosis carcinomatosa sowie Grading und UICC Stadium wurden statistische Tests durchgeführt.

In 7 von 8 PT-Proben weiblicher Patienten wurden keine MAGE-A-Tumorantigene exprimiert und wiesen deshalb keine positive Reaktion mit MAGE-A-57B Antikörper auf. Hingegen sind 72% der männlichen Patientenpräparate MAGE-A-Tumorantigen positiv. Eine Korrelation zwischen der MAGE-A-Tumorantigenexpression in den Primärtumorerläsionen und des Geschlechtes wurde statistisch nachgewiesen ( $p < 0,01$ ). Die Analyse ergab aber keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der MAGE-A-Antigen-Expression in den korrespondierenden Metastasen und dem Geschlecht. Dies erklärt sich mit den geringen Ergebnisunterschieden zwischen Frauen und Männern. Da nur eine weibliche PT-Probe positiv war, ist zu beachten, dass der Vergleich zwischen den Primärtumorpräparaten und deren Metastasen bei Frauen statistisch nicht verwertbar ist.

Eine mögliche Erklärung für die fehlende MAGE-A-Tumorantigenexpression bietet die Theorie von Jungbluth et al. an [94]. Da Alkohol und Tabak einen negativen Einfluss auf das Immunsystem haben, ist die Immunabwehr bei Rauchern und Trinkern geschwächt. Bei

Patienten, die allgemein weniger Alkohol und Tabak konsumieren, kann hingegen die humorale und zelluläre Immunantwort besser funktionieren und ggf. Fremd- und Tumorzellen rechtzeitig vernichten. Da die MAGE-A-Antigene fast ausschließlich im Tumorgewebe vorkommen, werden sie als fremd erkannt und von den Zellen des Immunsystems eliminiert. Die Tumoreale, die MAGE-A-Antigen exprimieren, werden dabei kleiner. So nimmt möglicherweise die Konzentration der MAGE-A-Antigene in den entsprechenden Proben ab oder verschwindet sogar komplett [94].

In einer Studie von Juretic et al. [95], in der die MAGE-A-Antigenexpression in Mammakarzinomen untersucht wurde, konnte kein Zusammenhang zwischen der Antigenexpression und dem Geschlecht nachgewiesen werden [95]. Statistisch relevante Korrelationen wurden bei Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Halsbereich ebenfalls nicht gefunden [96].

Einen positiven Zusammenhang zwischen der MAGE-A-Tumorantigenexpression in den PT und dem Patientenalter wurde bestätigt. Es wurde festgestellt, dass mit zunehmendem Alter die Anzahl der Zellen, die MAGE-A-Antigene exprimieren, abnimmt. Die Ergebnisse der Metastasenproben waren in allen fünf Altersgruppen etwa gleich im Scoresystem verteilt. Eine Korrelation zwischen der MAGE-A-Antigenexpression in den Metastasenpräparaten und dem Patientenalter wurde statistisch nicht belegt. Haier et al. konnten keinen Zusammenhang zwischen der MAGE-A-Expression in Ösophaguskarzinomen und dem Patientenalter nachweisen, hingegen bestätigten Suzuki et al. die Korrelation bei den hepatozellulären Karzinomen [97, 98].

Der Vergleich zwischen der MAGE-A-Tumorantigenexpression und dem Entdifferenzierungsgrad ergab keine statistisch signifikanten Unterschiede. In anderen epithelialen Tumoren wurden ebenfalls keine Korrelationen mit dem Grading und der MAGE-A-Tumorantigenexpression nachgewiesen [90, 99].

Die Ursache für die statistisch nicht signifikanten Ergebnisse könnte die ungleichmäßige Verteilung in den verschiedenen G Stadien sein (G1: 2, G2: 30, G3: 18). Größere Zahlen in den Untergruppen führen zur Steigerung des Aussagewertes. Müller-Richter et al.

bestätigten eine deutliche Korrelation zwischen der MAGE-A-Tumorantigenexpression und dem Grading [100]. Eine weitere Studie konnte ebenfalls diesen Zusammenhang feststellen [91].

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass der durchschnittliche Score mit der Tumorgroße zunimmt. Dies könnte damit zusammenhängen, dass mit Tumorwachstum die DNA-Hypomethylierung zunimmt und ehemals nicht lesbare DNA-Abschnitte lesbar werden und dadurch die MAGE-A-Antigenexpression zunimmt [62]. Diese Aussage konnte in einigen Studien, die sich mit der MAGE-A-Antigenexpression im Kopf-Hals-Bereich beschäftigten, statistisch bestätigt werden [100, 101]. Eine signifikante Relation zwischen der MAGE-A-Antigenexpression und der Tumorgroße wurde bei Lungen- und Mammakarzinomen nicht gefunden [86, 95].

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten keine statistisch relevante Beziehung zwischen der MAGE-A-Antigenexpression und den pN-Stadien. In anderen Studien, die sich mit der MAGE-A-Tumorantigenexpression in den oralen Karzinomen befassten, wurden ebenfalls keine Korrelationen mit dem pN-Status gefunden. Bei anderen epithelialen Tumoren wie Mamma-, Magen- und Ösophaguskarzinome wurde dieser Zusammenhang auch nicht bestätigt [90, 97, 99].

Anhand der klinischen und histo-pathologischen Parameter wurden die Patienten in die UICC-Stadien III und IV gruppiert. Die Intensität der MAGE-A-Antigenexpression war in den beiden Stadien etwa gleich groß. Eine statistisch relevante Relation zwischen der MAGE-A-Antigenexpression und dem UICC-Stadium wurde in dieser Arbeit nicht nachgewiesen. Da die Mehrheit der Patientenproben sich in Stadium IV befand, könnte die kleinere Anzahl der Stadium III Fälle möglicherweise das Ergebnis verzerren. Eine Korrelation zwischen der MAGE-A-Expression in Bronchial- und Mammakarzinom und dem klinischen Stadium wurde von anderen Autoren belegt [65, 102]. In zwei Studien, die die MAGE-A-Antigenexpression in Magen- und Lungenkarzinomen untersuchten, wurde kein Zusammenhang festgestellt [86, 90].

Die Faktoren V und L wiesen keine signifikanten Relationen mit der MAGE-A-Antigenexpression auf. Der Karzinomeinbruch in das Gefäßsystem korrelierte in anderen Studien ebenfalls nicht mit der MAGE-A-Antigenexpression [89, 100]. An dieser Stelle sollten mögliche relevante Ergebnisse aber nicht ausgeschlossen werden, da die Anzahl der Patienten mit einer Hämangiosis carcinomatosa sehr gering war. Hierzu wäre jedoch eine Erweiterung des Datenbestandes notwendig, um mögliche statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen.

Da die MAGE-A-Antigene fast ausschließlich im Tumorgewebe vorkommen, könnte ihr Nachweis die Möglichkeiten einer frühzeitigen Diagnose und Therapie erweitern [87, 103]. Eine gezielte adjuvante MAGE-A-Antigen-Immuntherapie wäre bei kleineren Tumoren, oder nach primärer Tumorresektion zur Elimination von metastasierten Tumorzellen denkbar [86].

#### 4.2. E-Cadherin-Expression und ihre Rolle in der Prognose

E-Cadherin ist ein Molekül, das für die interzelluläre Adhäsion mitverantwortlich ist. Niedrige Expression von E-Cadherin wird mit Tumorprogression, -invasion und Metastasierung assoziiert [67, 104]. Vermutet wird, dass die Expression von E-Cadherin ein wichtiger Prognosefaktor für die Bildung von Lokoregionalen- und Fernmetastasen ist. Während der Tumorgenese werden die E-Cadherin-Gene inaktiviert. Dies führt zu einer verminderten E-Cadherin Expression und dabei zum Auflockern des Tumorzellverbandes und zur Begünstigung deren Streuung (shedding) in das Gewebe (Invasion) und das Gefäßsystem [110]. Antigene wie IGF-I, Tamoxifen, Paclitaxel u.a. sind möglicherweise bei der Steuerung der E-Cadherin-Catenin-Komplexe beteiligt. [116].

In dieser Studie wurde ein positiver Zusammenhang zwischen der E-Cadherin-Antigenexpression in den PT und deren Metastasen gefunden. Im Vergleich zum gesunden Epithel war das Expressionsmuster im Tumorbereich inhomogen. Einzelne Tumorzellen und kleine verhornten Inseln zeigten keine E-Cadherin-Expression. Eine Erklärung dafür

wäre, dass eine positive E-Cadherin AG/AK-Reaktion in der obersten Verhornungsschicht des gesunden Epithels ebenfalls fehlt. Außerdem sind Tumoren, was die Zellpopulation anbelangt, inhomogen [68].

In dieser Arbeit ist die E-Cadherin Expression in den PT gleich wie in den Metastasen. In einer Studie über die E-Cadherin AG/AK-Reaktion im Harnblasenkarzinom wurde hingegen eine höhere Konzentration in den Metastasenpräparaten nachgewiesen [105].

Die statistischen Untersuchungen zeigten keine Korrelationen zwischen der E-Cadherin-Expression in den PT und deren Metastasen und den klinischen und histo-pathologischen Merkmalen. Bei den meisten Studien wird der Score von der Farbintensität allein oder von der Farbintensität und der Zahl der positiven Zellen errechnet [68, 105]. Da in dieser Arbeit die Scorezusammensetzung auf den positiven Zellzahlen beruht, sollten mögliche signifikante Ergebnisse nicht ausgeschlossen werden.

Der Vergleich zwischen der E-Cadherin-Expression und dem Geschlecht ergab keinen signifikanten Zusammenhang. Menezes et al., die die E-Cadherin-Expression in den oralen Plattenepithelkarzinomen untersuchten, konnten ebenfalls keinen Unterschied in der Expression bei männlichen und weiblichen Patienten bestätigen [106].

Eine Relation mit dem Patientenalter wurde in dieser Arbeit nicht gefunden. In anderen Studien wurde festgestellt, dass jüngere Patienten eine bessere Prognose als die älteren haben. Hingegen beschrieben Biazolla et al., dass die Prognose bei Patienten unter 40 Jahren, die an oralen Plattenepithelkarzinom erkrankt sind, schlechter ist [106, 107].

Die statistische Analyse ergab keine signifikante Korrelation zwischen der E-Cadherin-Antigenexpression und dem Entdifferenzierungsgrad. In einer Studie, in der die E-Cadherin-Expression in normalen, hyperplastischen und malignen Epithelien verglichen wurde, konnte ebenfalls kein Zusammenhang mit dem Grading nachgewiesen werden [68]. Im Gegensatz dazu fanden Schipper et al. eine verminderte E-Cadherin Expression in wenig differenzierten PEC [108]. Bagutti et al. zeigten eine Relation mit dem Entdifferenzierungsgrad [109]

Ein Zusammenhang mit der Tumorgröße wurde statistisch nicht gefunden. In den Tabellen 24 und 25 wird dargestellt, dass die Verteilung der einzelnen Scores keinen relevanten Unterschied zwischen den Tumorgrößen aufweist. Mehrere Studien konnten ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen der E-Cadherin-Expression und der Größe des oralen Plattenepithelkarzinoms zeigen [67, 104]. Statistisch signifikante Unterschiede wurden hingegen bei dem nicht kleinzelligen Bronchialkarzinom gefunden [110].

Trotz der statistisch nicht signifikanten Ergebnisse konnte bei Patienten mit pN2-Stadium eine höhere E-Cadherin Expression in den Metastasen, als bei der pN1-Gruppe beobachtet werden. Es wäre möglich, dass mit der Metastasierung die E-Cadherin-Synthese erneuert wird und im dortigen Umfeld seine normale Expression wieder gebildet wird [105]. Eine Korrelation der Höhe der E-Cadherin-Expression mit der lokoregionalen Metastasierung wurde von mehreren Autoren beschrieben [104, 111].

Diniz-Freitas et al. konnten hingegen keinen Zusammenhang zwischen der E-Cadherin Expression und dem pN-Stadium der oralen Plattenepithelkarzinomen bestätigen [67].

Eine Korrelation zwischen der E-Cadherin-Expression und dem klinischen Stadium konnte in dieser Arbeit nicht statistisch bestätigt werden. Pyo et al. und andere Autoren stellten ebenso keinen Zusammenhang zwischen der E-Cadherin-Expression in den Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle und dem UICC Stadium fest [104, 112, 113]. Im Gegensatz dazu wurde eine statistisch signifikante Korrelation zwischen der E-Cadherin-Expression im Kolonkarzinom und der Bildung von Fernmetastasen bestätigt [114].

Der Karzinomeinbruch in dem Gefäßsystem scheint in dieser Studie keinen Zusammenhang mit der E-Cadherin-Antigenexpression in den primären Tumorerläsionen und in den lokoregionalen Metastasen zu haben. Pyo et al. sowie Menezes et al. konnten ebenfalls keinen statistisch relevanten Unterschied zwischen der E-Cadherin-Antigenexpression und dem V-Stadium nachweisen [104, 106]. Eine hohe Korrelation wurde hingegen von Kurtz et al. festgestellt [115].



#### 4.3. Laminin-5 Gamma 2-Ketten-Expression und die Perspektiven für eine bessere Diagnostik, Therapie und Prognose

Laminin-5 ist ein wichtiger Bestandteil aller Basallaminae. Beim Tumoreinbruch in das gefäßreiche Gewebe kann ihre gestörte Expression mittels Immunhistochemie nachgewiesen werden [74].

In dieser Studie reagierten 98% aller PT und 90% aller Metastasen positiv auf Laminin-5 Gamma 2-Kette-Antikörper. Der Score ist im Durchschnitt in den Metastasen höher als in den PT. Wie in anderen Studien wurden auch hier, sowohl in den PT als auch in den Metastasen, zwei typische Expressionsmuster beobachtet. Das eine wies eine periphere Laminin-5 Gamma 2-Kette-Expression und das andere eine diffuse Expression auf [117].

Die statistische Analyse stellte eine relevante Korrelation zwischen der Laminin-5 Gamma 2-Kette-Antigenexpression und dem Geschlecht fest. Die Expression bei den männlichen Patienten scheint allgemein schwächer zu sein als bei den weiblichen. Da die weiblichen Patienten in der Unterzahl waren, könnte dies das Ergebnis verfälschen. Katayama et al. konnten keinen Unterschied in der Laminin-5 Gamma 2-Kette-Antigenexpression zwischen Männern und Frauen feststellen [118].

Das Patientenalter korreliert in unserer Studie nicht mit der Laminin-5 Gamma 2-Kettenexpression. Andere Studien konnten hierfür ebenfalls keinen Zusammenhang nachweisen [118, 119].

Statistisch ließ sich kein Unterschied zwischen der Laminin-5 Gamma 2-Ketten-Antigenexpression und dem Entdifferenzierungsgrad nachweisen. Mehrere Studien belegten eine stärkere Expression an der Tumorinvasionsfront, was mit der Aggressivität des Karzinomwachstums zusammenhängen könnte. Manche Autoren sind der Meinung, dass die vermehrte Laminin-5 Gamma 2-Kette-Expression an der Tumorinvasionsfront ein Versuch der Tumorzellen darstellt, die unterbrochene Extrazellulärmatrix zu stabilisieren. Eine andere Hypothese besagt jedoch, dass die Laminin-5 Gamma 2-Kette eine adhäsive Wirkung besitzt, die die EZM stärkt und so die Invasion des Karzinoms hemmt [76, 120, 121].

In dieser Arbeit korreliert die Tumorgröße nicht mit der Antigenexpression. Nichts desto trotz ist in den kleineren Tumoren und in deren Metastasen die Antigenexpression schwächer.

Die Laminin-5-Gamma 2-Kettenexpression erlaubt die Wechselwirkung zwischen anderen Molekülen, wie Kollagen und Fibronectin. Diese sind für die Beweglichkeit der Tumorzellen verantwortlich und fördern auf diese Weise das Tumorwachstum [122]. Dies ließ sich durch ein deutlich stärkeres Laminin-5-Gamma 2-Ketten-Vorkommen in den T4 Tumoren belegen.

Kiyoshima et al. zeigten, dass im Urothelkarzinom die Expression der Laminin-5 Gamma 2-Kette-Antigen ebenfalls mit dem T-Stadium korreliert [123].

Einen Zusammenhang zwischen der Laminin-5 Gamma 2-Ketten-Expression in den PT und deren Metastasen und dem pN-Stadium wurde statistisch festgestellt. Die pN1-PT wiesen eine deutlich niedrigere Laminin-5 Gamma 2-Ketten-Expression als die pN2-PT auf. Im Gegensatz dazu ist die Expression in den pN1-Metastasenpräparaten stärker als bei denjenigen mit der pN2-Diagnose. In einer Studie, die sich mit der Laminin-5 Gamma 2-Ketten-Antigenexpression in Urothelkarzinomen beschäftigte, wurde keine signifikante Korrelation zwischen dem pN-Stadium und dem Laminin-5 Gamma 2-Ketten-Expression gefunden [123].

Die statistische Analyse ergab, dass das Stadium direkt proportional mit der Größe der PT und der Metastasen, sowie mit der Bildung der Fernmetastasen ist. Im Stadium IV konnte dementsprechend eine stärkere Färbung ermittelt werden.

Eine Erklärung wäre die Beziehung des Laminin-5-Gamma 2-Kette-Antigens zu dem E-Cadherin-Catenin-Komplex. Beim Karzinomwachstum wird eine verminderte E-Cadherin- und eine erhöhte beta-Catenin-Aktivität beobachtet, was zum Verlust der Zelladhäsionspotenzial und Begünstigung der Laminin-5 Gamma 2-Ketten-Produktion führt [24, 117].

Die statistische Analyse konnte keinen Unterschied zwischen der Laminin-5 Gamma 2-Kettenexpression und dem Karzinomeinbruch in das Gefäßsystem belegen. Kiyoshima et al. stellten ebenfalls keinen Zusammenhang fest [123].

Eine erhöhte Laminin-5 Gamma 2-Ketten-Expression ist mit einer Verschlechterung der Prognose assoziiert. Der Laminin-5 Gamma 2-Ketten-Nachweis mittels Immunhistochemie könnte eine bessere Diagnosestellung und dementsprechend eine patientenadaptierte postoperative Therapie ermöglichen [76, 123, 124].

#### 4.4. Matrix-Metalloproteinase (MMP)-Expression und die Perspektiven für eine bessere Diagnostik, Therapie und Prognose

Die Familie der MMPs und spezieller die Gelatinasen sind proteolytische Enzyme, die die Fähigkeit besitzen, Kollagen IV abzubauen und auf diese Weise die Tumorinvasion bzw. die Metastasenbildung zu begünstigen. Das Zusammenspiel von mehreren MMPs ist notwendig, um die Basalmembran und das Stroma effektiv aufzulösen und das Karzinomwachstum zu ermöglichen [79, 82, 125].

85% der PT und 85% der Metastasen exprimierten MMP2-Antigene. Mit 48% in den PT und 34% in den Metastasen liegen die Werte der MMP9-Expression deutlich niedriger. Eine mögliche Erklärung wäre die Heterogenität der Tumorzellen und ihre unterschiedliche Fähigkeit MMP2 und MMP9 zu exprimieren [79].

In dieser Arbeit wurde festgestellt, dass eine vermehrte MMP2-Antigenexpression in den PT eine höhere Expression in den Metastasen bedingt. Eine statistisch relevante Korrelation wurde auch bei den MMP9-Färbungen bestätigt. Je höher die MMP9-Expression in den PT-Proben ist, desto niedriger ist sie in den Metastasen. De Vicente et al. postulieren, dass die Immunexpression von MMP2 und MMP9 stärker bei Patienten mit Lymphknotenmetastasen ist [79], was im Widerspruch zu unseren Ergebnissen steht. Mehrere Studien belegen, dass es keinen relevanten Unterschied zwischen der MMP2- bzw. MMP9-Expression in den PT und deren Metastasen gibt [79, 126, 127].

Die MMP2-Expressionen sind bei beiden Geschlechtern relativ gleichmäßig verteilt. Hingegen ist das MMP9-Expressionsmuster in PT von weiblichen Patienten deutlich schwächer ausgeprägt als bei den PT männlicher Patienten. Die statistische Analyse ergab jedoch keinen Zusammenhang zwischen der MMP2-/MMP9-Expression und dem Geschlecht. Wong et al. und de Vicente et al. konnten keine signifikante Korrelation zwischen der MMP2-/MMP9-Expression und dem Geschlecht bestätigen [79, 82]. Studien, die sich mit der MMP2-/MMP9- Antigenexpression in anderen epithelialen Tumoren beschäftigten, stellten ebenfalls keinen Zusammenhang fest [128, 129].

Statistisch konnte kein Unterschied zwischen der MMP2-/MMP9-Antigenexpression und dem Alter festgestellt werden. Während die MMP2-Expression bei Patienten zwischen 50 und 60 Jahren deutlich niedriger als in den anderen Gruppen lag, wurde in der gleichen Patientengruppe die stärkste MMP9-Antigenexpression nachgewiesen. Mit diesem Beispiel wurde genauer gezeigt, wie die Expression der beiden Gelatinasen in denselben Tumorpräparaten differiert. Bei Magen- und Mammakarzinomen wurde ebenfalls keine Korrelation mit dem Alter gefunden. In weiteren Studien, die sich mit der MMP2-/MMP9-Expression in den Kopf-Hals-Tumoren befassten, konnte auch kein Zusammenhang bestätigt werden [78, 82, 129, 130]. In einer Arbeit über die Expression der MMPs in sinunasalen und oralen malignen Melanomen stellten Kondratiev et al. fest, dass Patienten unter 66 Jahren bessere Überlebenschancen haben als ältere mit der gleichen Diagnose [131].

Die MMP2-Expression in den PT wurde hauptsächlich mit Score 2 und 3 bewertet und in den Metastasenproben überwiegt Score 2. Die Scoreverteilung ist in allen G-Stadien relativ gleich. Im Gegensatz zu MMP2 wurde die stärkste MMP9-Expression in den wenig differenzierten Tumoren gefunden. Mit dem Spearman Rho-Test konnte ein Zusammenhang zwischen dem Grading und der MMP9-Expression in den Metastasen bestätigt werden. De Vicente et al. konnten den Zusammenhang zwischen der MMP9-Expression und dem Entdifferenzierungsgrad mittels des Exakten Tests nach Fisher belegen und fanden ebenfalls keine Korrelation zwischen der MMP2-Expression und dem G-

Stadium. Andere Autoren konnten diesen Zusammenhang jedoch nicht belegen. Es ist noch nicht sicher geklärt, ob die MMP-Überexpression ein Zeichen für hohe Malignität ist oder ob sie die Immunreaktion des Körpers gegen die malignen Neoplasien darstellt [78, 132]. In dieser Studie fand sich keinen Zusammenhang zwischen der MMP2-/MMP9-Expression und der Tumorgröße, was das Ergebnis anderer Studien bestätigte. Riedel et al. und de Vicente et al. stellten einen Zusammenhang zwischen der MMP9-Expression jedoch nicht der MMP2-Expression und des T-Stadiums fest. Die Korrelation zwischen der MMP2-Antigen/Antikörper-Reaktion und der Tumorgröße ließ sich in einer Studie über die MMP2-Expression bei Patienten mit Mammakarzinom nachweisen [82, 129, 130, 133].

Die MMP2-Expression in den PT ist bei den Patienten mit pN2-Hals stärker als bei denjenigen mit einem pN1-Befund. Umgekehrt verhält sich die MMP9-Expression. Eine Hypothese wäre, dass für eine erfolgreiche Metastasierung der Tumorzellen eine Expression von MMP9 notwendig ist und die metastasierten Zellklone dieses Protein daher verstärkt aufweisen. Allerdings wurde nur der Zusammenhang zwischen der MMP9-Expression in den primären oralen PEC und dem N-Status statistisch bestätigt. Die Ergebnisse dieser Arbeit unterscheiden sich von Studien, in denen keine Korrelation zwischen der MMP2-/MMP9-Expression und dem N-Stadium festgestellt wurde [79, 82, 132]. Einen Zusammenhang zwischen der MMP2-Expression und der Bildung von lokoregionalen Metastasen wurde dagegen von anderen Autoren nachgewiesen [134, 135]. Obwohl die statistische Analyse keine relevante Beziehung zwischen MMP2-/MMP9-Expression und dem klinischen Stadium ergab, wurde tendenziell eine stärkere MMP2-Färbung im Stadium IV der PT beobachtet. Andere Autoren konnten den Zusammenhang zwischen der MMP2- aber nicht der MMP9-Expression und dem UICC-Stadium nachweisen [78, 134].

Studien, die die MMP2-/MMP9-Expression in anderen Kopf-Hals-Karzinomen untersuchten, konnten ebenfalls keine Korrelationen feststellen [79, 82].

Wie bei Endo et al. konnte auch in dieser Arbeit der Vergleich zwischen den MMP2-/MMP9-Expressionen mit der Gefäßinvasion keine statistisch relevanten Ergebnisse liefern [129].

Die MMP-Expression wird mit der Embryonalentwicklung, Wundheilung sowie Metastasenbildung und dem Tumorwachstum assoziiert. Die Zellen des gesunden Gewebes exprimieren allerdings kleine Mengen Gelatinasen, die mithilfe der TIMPs-Familie (tissue inhibitors of metalloproteinases) gesteuert werden. Ein Gleichgewicht zwischen MMPs und TIMPs scheint von großer Bedeutung für das Tumorwachstum und die Bildung von Metastasen zu sein. Die Pharmaindustrie arbeitet an verschiedenen MMP-Inhibitoren (MMPI). Manche Studien zeigten sogar eine minimale statistisch relevante Korrelation zwischen der Behandlung mit MMPI und einer Tumorfreiheit [77, 78]. Der Nachweis von MMP2/MMP9 in dem Tumorgewebe könnte zu einer präziseren MMPI-Auswahl führen und dabei der tumortypbezogene Therapie förderlich sein.

Die statistisch signifikanten Ergebnisse sind in Tabellen 4.1 und 4.2 dargestellt.

**Tabelle 4. 1 Korrelation zwischen den Scores bei PEC und deren Metastasen (Spearman-Rho rs)**

	MAGE-A M	E- Cadherin M	MMP2 M	MMP9 M
MAGE-A PT	,694*			
E-Cadherin PT		,395*		
MMP2 PT			,593*	
MMP9 PT				,299**

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

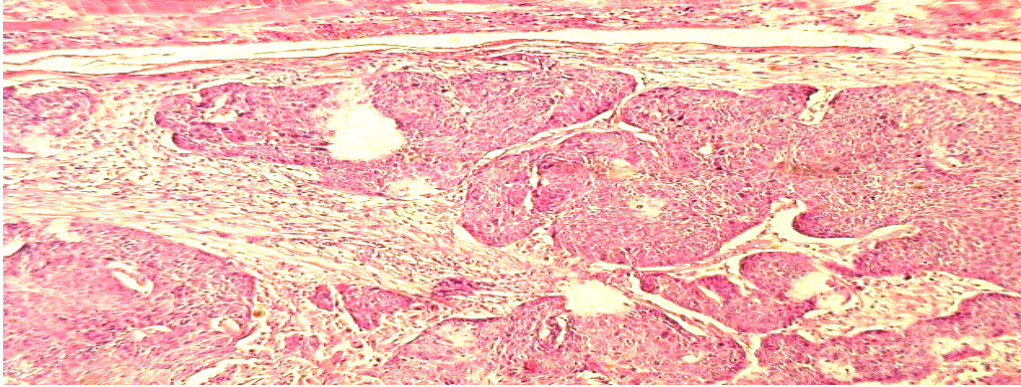
\*\*Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

**Tabelle 4. 2 Korrelationen zwischen den Antikörpern und den Co-Faktoren**

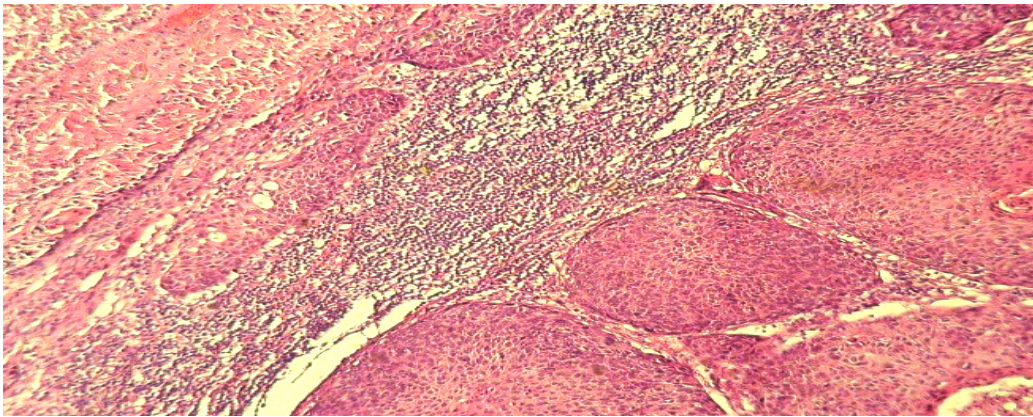
Antigen	Co-Faktor	Fisher Test PT	Spearman-Rho PT (rs)	Fisher Test M	Spearman-Rho M (rs)
MAGE-A	Alter Geschlecht	0,05 0,036	,369*		
Laminin-5 gamma 2-Kette	Geschlecht pN-Status UICC-Stadium	0,019 0,006 0,001		0,029 0,037	-,344** ,296**
MMP9	G-Stadium pN-Stadium		,313**		,296**

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

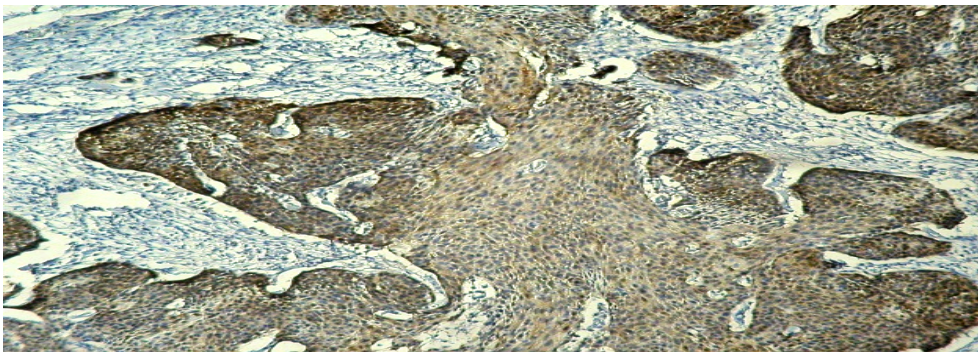
\*\*Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).



**Abb.4. 1. HE Färbung PT**

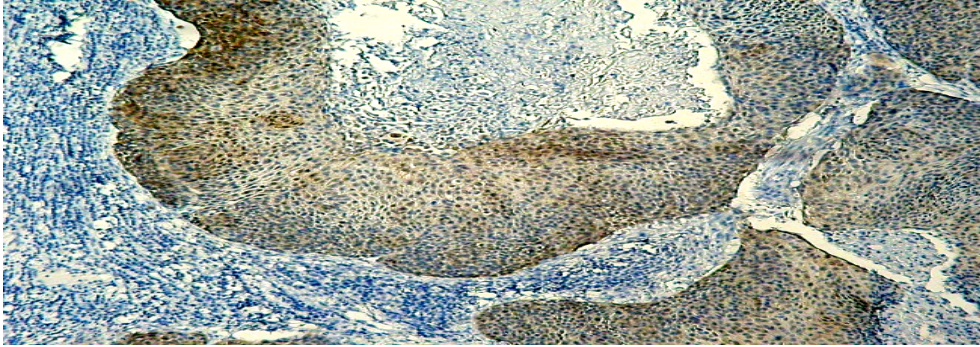


**Abb.4. 2. HE Färbung Metastase**



**Abb.4. 3. MAGE-A B57 Färbung PT**

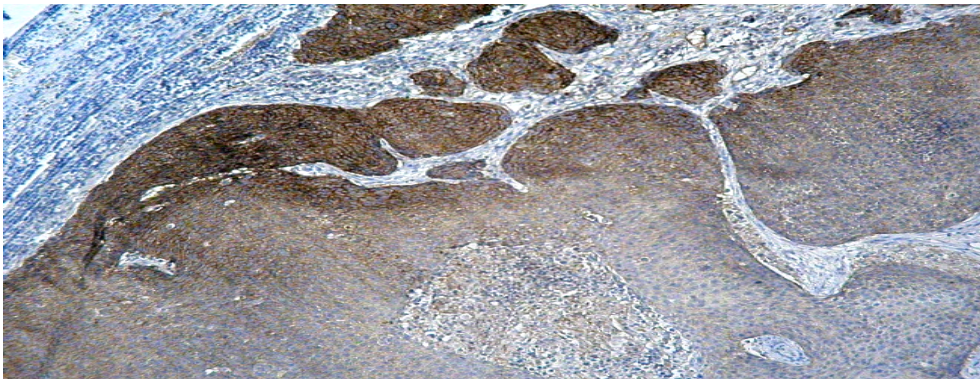




**Abb.4. 4. MAGE-A B57 Färbung Metastase**



**Abb.4. 5. E-Cadherin Färbung PT**



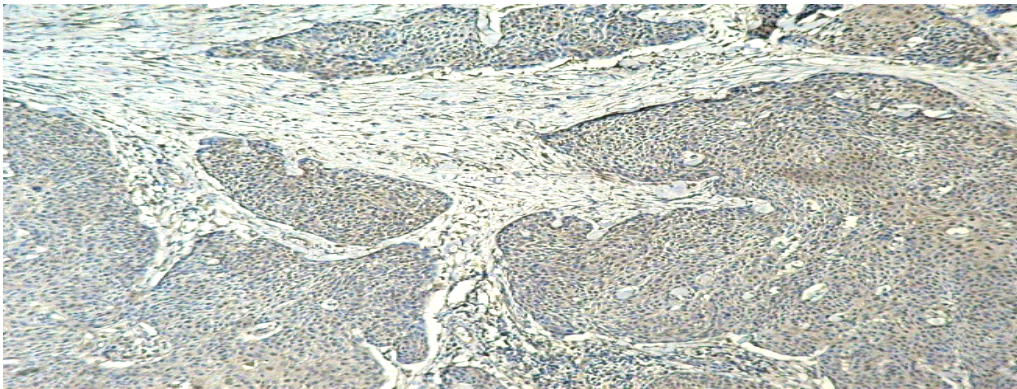
**Abb.4. 6. E-Cadherin Färbung Metastase**



**Abb.4. 7. Laminin 5 gamma 2-Kette Färbung PT**



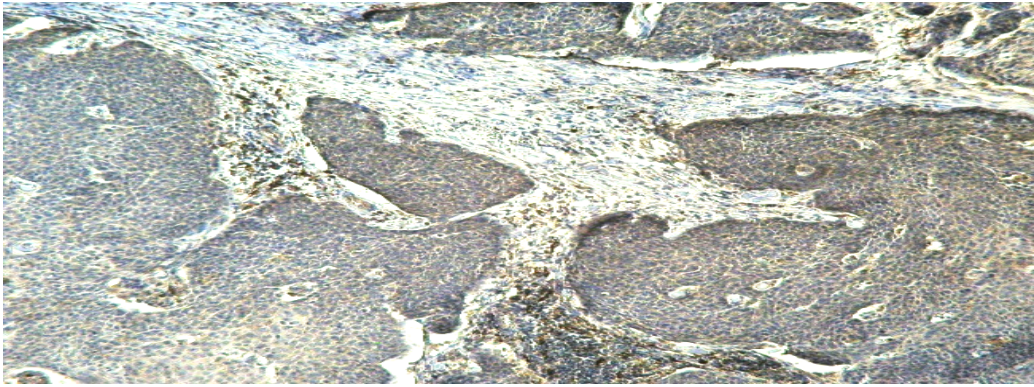
**Abb.4. 8. Laminin 5 gamma 2-Kette Metastase**



**Abb.4. 9. MMP2 Färbung PT**



**Abb.4. 10. MMP2 Färbung Metastase**



**Abb.4. 11. MMP9 Färbung PT**



**Abb.4. 12. MMP9 Färbung Metastase**

## 5. Zusammenfassung

Die epithelialen Karzinome sind die häufigsten malignen oralen Neoplasien. Sie zeigen langfristig eine ungünstige Prognose. Trotz der bekannten Risikofaktoren und multimodalen Therapie steigen weltweit die Inzidenz und die Mortalität. Um bereits präoperativ die Aggressivität des Karzinoms einschätzen und dementsprechend eine adäquate Therapie auswählen zu können, ist eine molekulare Charakterisierung notwendig. In der vorliegenden Studie wurden Primärtumorkläsionen von 50 Patienten mittels monoklonaler und polyklonaler Antikörper mit ihren Metastasen verglichen. Die Expression der Molekularmarker (MAGE-A-Tumorantigen, E-Cadherin, Laminin-5-Gamma 2-Kette, MMP2 und MMP9) wurde mit einem Score von 0 bis 4 quantifiziert. Die Ergebnisse und die klinischen und histopathologischen Parameter wie Geschlecht, Alter, Entdifferenzierungsgrad, pT- Stadium, pN- Stadium, UICC Stadium und der Lymph- bzw. Veneninvasion wurden im Rahmen einer Korrelationsanalyse untersucht.

Mit dem exakten Test nach Fisher wurde auf signifikante Zusammenhänge zwischen den Färbeargebnissen und den Co-Faktoren geprüft. Das Geschlecht wies eine positive Korrelation mit der MAGE-A- und mit der Laminin-5-Gamma 2-Kette-Expression in den Primärläsionen auf. Die statistische Untersuchung bestätigte den positiven Zusammenhang zwischen dem Alter und der MAGE-A-Antigenexpression in den PT. Eine bedeutende Relation wurde ebenfalls zwischen dem UICC-Stadium und der Laminin-5-Gamma 2-Kette Expression in den PT und deren Metastasen festgestellt. Das pN-Stadium korrelierte mit der Laminin-5-Gamma 2-Kette-Expression in den PT und in den Metastasen.

Die Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten mittels Spearman Rho ergab signifikante Korrelationen zwischen der MAGE-A-Antigenexpression in den PT und deren Metastasen, E-Cadherin-Expression in den PT und deren Metastasen und MMP2/ MMP9-Expression in den PT und deren Metastasen. Das Geschlecht korrelierte mit der MAGE-A-Antigenexpression in den PT sowie mit der Laminin-5-Gamma 2-Kette-Expression in den Metastasen. Darüber hinaus wurde mit Spearman Rho die Relation zwischen dem pN-

Status und der Laminin-5-Gamma 2-Kette sowie der MMP9-Expression in den Metastasen bewiesen. Der Entdifferenzierungsgrad korrelierte mit der MMP9-Expression in den PT. Da die benutzten Antikörper und die Scorezusammensetzung in den unterschiedlichen Studien differieren, sollten mögliche Ergebnisabweichungen nicht ausgeschlossen werden. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde nachgewiesen, dass ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den o.g. klinischen und histopathologischen Parametern und der Expression von MAGE-A-Tumorantigen, E-Cadherin, Laminin-5-gamma 2-Kette, MMP2- und MMP9-Molekülen in den Primärtumoren und deren Metastasen vorhanden ist. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die untersuchten Molekularmarker als ein prognostischer Faktor fungieren können.

## 6.Literaturverzeichnis

1. Leon, B., et al., eds. *Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours*. World Health Organization Classification of Tumours, ed. M.D. Kleihues Paul and M.D. Sobin Leslie H2005, IARC Press: Lyon, France. 168-175.
2. Warnakulasuriya, S., *Global Epidemiology of oral and oropharyngeal cancer*. Oral oncology, 2009. 45: p. 309-316.
3. Blessmann, M., et al., *Short tandem repeat polymorphism in exon 4 of esophageal cancer related gene 2 predicts relapse of oral squamous cell carcinoma*. Oral oncology, 2008. 44(2): p. 143-147.
4. Husmann, G., et al., eds. *Mundhöhle und Rachen*. Krebs in Deutschland 2005/2006 Häufigkeiten und Trends. Vol. 7. 2010, Robert-Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.: Berlin. 24-27.
5. Banoczy, J. and C. Squier, *Smoking and disease*. Eur J Dent Educ, 2004. 8: p. 7-10.
6. Macfarlane, G., P. Boyle, and T. Evstifeeva, *Rising trends of oral cancer mortality among males worldwide: the return of an old public health problem*. Cancer Causes Control, 1994. 5: p. 259-265.
7. Conway, D., et al., *Incidence of oral and oropharyngeal cancer in the United Kingdom (1990-1999) - current status, recent trends and intercountry comparisons*. Oral oncology, 2006. 42: p. 586-592.
8. Karim-Kos, H., et al., *Recent trends of cancer in Europe: a combined approach of incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s*. Eur J Cancer, 2008. 44: p. 1345-1389.
9. Vecchia, C.L., et al., *Trends in oral cancer mortality in Europe*. Oral oncology, 2004. 40: p. 433-439.
10. Samaa, M.E.E., et al., *Surgery plus radiation versus neoadjuvant chemotherapy plus radiation in resectable locally advanced laryngeal carcinoma*. International Congress Series, 2003. 1240: p. 1023– 1033.
11. Husmann, G., et al., eds. *Kehlkopf*. Krebs in Deutschland 2005/2006 Häufigkeiten und Trends. Vol. 7. 2010, Robert-Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. : Berlin. 44-47.
12. Wunsch-Filho, V., *The epidemiology of laryngeal cancer in Brazil*. Sao Paulo Med J, 2004. 122(5): p. 188-194.
13. Ferlay, J., et al., *Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide, version 1.0*. IARC Cancer Base, 2001. 5.
14. Jaworowska, E., et al., *Clinical and epidemiological features of familial laryngeal cancer in Poland*. Cancer Detection and Prevention, 2007. 31: p. 270-275.
15. Vecchia, C.L., et al., *Epidemiology and prevention of oral cancer*. Oral oncology, 1997. 33(302-312).
16. Neville, B.W., et al., eds. *Oral and Maxillofacial Pathology*. Squamous Cell Carcinoma. Vol. 3. 2009, Saunders Elsevier. 408-421.

17. Lockhart, P., J.C. Norris, and C. Pulliam, *Dental factors in the genesis of squamous cell carcinoma of the oral cavity*. Oral oncology, 1998. 34: p. 133-139.
18. Thompson, L., ed. *Malignant Neoplasms of the Oral Cavity and Oropharynx*. Head and Neck Pathology, ed. G. JR2006, Elsevier. 263-271.
19. Cancer, I.A.o.R.o., ed. *Betel-quid and areca-nut chewing and some areca-nut related nitrosamines*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. Vol. 85. 2004, IARC Press.
20. Cancer, I.A.o.R.f., ed. *Smokeless tobacco and some tobacco-specific N-nitrosamines*. Monographs. Vol. 89. 2007, IARC Press: Lyon.
21. Cheong, S., et al., *Gene expression in human oral squamous cell carcinoma is influenced by risk factor exposure*. Oral oncology, 2009. 45: p. 712-719.
22. Petridou, E., A. Zavras, and D. Lefatzis, *The role of diet and specific micronutrients in the etiology of oral carcinoma*. Cancer, 2002. 94: p. 2981-2988.
23. Nagao, T., et al., *Serum antioxidant micronutrients and the risk of oral leukoplakia among Japanese*. Oral oncology, 2000. 36: p. 466-470.
24. Ehrenfeld, M., et al., eds. *Tumoren im Mund-Kiefer-Gesichts-Bereich*. Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde: Lehrbuch zur Aus- und Weiterbildung. Vol. 3. 2002, Thieme: Stuttgart; New York.
25. Scully, C., *Viruses and oral squamous carcinoma*. Oral oncology, European journal of cancer, 1992. 28: p. 57-59.
26. Nielsen, H., et al., *Human papillomavirus in oral premalignant lesions*. Oral oncology, European journal of cancer, 1996. 32: p. 264-270.
27. Cruz, I., P. Snijders, and R. Steenbergen, *Age-dependence of human papillomavirus DNA presence in oral squamous cell carcinoma*. Oral oncology, European journal of cancer, 1996. 32: p. 55-62.
28. Herrero, R., X. Castellsague, and M. Pawlita, *Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study*. Natl Cancer Inst, 2003. 95: p. 1772-1783.
29. D'Souza, G., et al., *Case control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer*. New England Journal of Medicine, 2007. 356: p. 1944-1956.
30. Rajendran, R., *Oral leukoplakia (leukokeratosis): Compilation of facts and figures*. Oral maxillofacial Pathology, 2004. 8: p. 58-68.
31. Paluszczak, J., et al., *Frequent hypermethylation of DAPK, RARbeta, MGMT, RASSF1A and FHIT in laryngeal squamous cell carcinomas and adjacent normal mucosa*. Oral oncology, 2011. 47(2): p. 104-107.
32. Almadori, G., et al., *Multistep laryngeal carcinogenesis helps our understanding of the field cancerisation phenomenon: a review*. Eur J Cancer, 2004. 40: p. 2383-2388.
33. Marioni, G., et al., *Current opinion in diagnosis and treatment of laryngeal carcinoma*. Cancer Treatment Reviews, 2006. 32: p. 504-515.

34. Talamini, R., et al., *Combined effect of tobacco and alcohol on laryngeal cancer risk: a case control study*. *Cancer Causes Control*, 2002. 13: p. 957–964.
35. Gallus, S., et al., *Laryngeal cancer in women: tobacco, alcohol, nutritional, and hormonal factors*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Preview*, 2003. 12: p. 514-517.
36. Licitra, L., et al., *Cancer of the larynx*. *Crit Rev Oncol/Hematol*, 2003. 47: p. 65-80.
37. Pannone, G., et al., *Detection of novel Human papilloma virus type 82 in laryngeal cancer: case report*. *Auris Nasus Larynx*, 2010. 37: p. 648–650.
38. Devaney, K., et al., *Laryngeal dysplasia and other epithelial changes on endoscopic biopsy: what does it all mean to the individual patient?* *Otorhinolaryngol Relat Spec*, 2004. 66: p. 1-4.
39. Marciani, R., E. Carlson, and T. Braun, eds. *Squamous Cell Carcinoma of the Oral and Maxillofacial Region*. *Oral and maxillofacial surgery*. Vol. 2. 2009, Elsevier.
40. Sobin, L., M. Gospodarowitz, and C. Wittekind, eds. *TNM Classification of Malignant Tumours*. *TNM*. Vol. 7. 2010, UICC.
41. Kademani, D., et al., *Prognostic factors in intraoral squamous cell carcinoma: the influence of histologic grade*. *J Oral Maxillofac Surg.*, 2005. 63: p. 1599-1605.
42. Cawson, R. and et.al, eds. *Carcinoma of the oral mucosa*. 5 ed. *Lucas's Pathology of Tumors of the oral tissues* 1998, Churchill Livingstone. 229-238.
43. Sinard, R., et al., eds. *Cancer of the larynx*. *Cancer of the head and neck*, ed. M. EN and S. JY. Vol. 3. 1996, Saunders: Philadelphia. 381–421.
44. Yang, C., et al., *Nodal disease in purely glottic carcinoma: is elective neck treatment worthwhile?* *Laryngoscope*, 1998. 108: p. 1006–1008.
45. Peterson, L.J., et al., eds. *Contemporary oral and maxillofacial surgery*. Vol. 4. 2003, Mosby An Affiliate of Elsevier Science.
46. Nishimura, G., et al., *Concurrent chemoradiotherapy for T4 patients with hypopharyngeal and laryngeal squamous cell carcinomas*. *Auris Nasus Larynx*, 2007. 34: p. 499–504.
47. Seiwert, T. and E. Cohen, *State-of-the-art management of locally advanced head and neck cancer*. *Cancer*, 2005. 92: p. 1341–1348.
48. Katori, H., et al., *Phase I trial of concurrent chemoradiotherapy with docetaxel, cisplatin and 5-fluorouracil (TPF) in patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck (SCCHN)*. *Cancer*, 2004. 90: p. 348–352.
49. Taguchi, T., et al., *Concurrent chemoradiotherapy with cisplatin, 5-fluorouracil, methotrexate, and leucovorin in patients with advanced resectable squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx*. *Acta Oto-Laryngol*, 2006. 126: p. 408–413.
50. Fountzilas, G., et al., *Concomitant radiochemotherapy vs. radiotherapy alone in patients with head and neck cancer: a Hellenic Cooperative Oncology Group Phase III Study*. *Med Oncology* 2004. 21: p. 95–107.
51. Cansiz, H., et al., *Surgical treatment of laryngeal tumors with subglottic extension and tracheal tumors with composite nasal septal cartilage graft: Technique and outcome*. *Auris Nasus Larynx*, 2008. 35: p. 363–368.



52. Genden, E.M., et al., *Evolution of the management of laryngeal cancer*. Oral oncology, 2007. 43: p. 431–439.
53. Jako, G., *Laser surgery of the vocal cords. An experimental study with carbon dioxide lasers on dogs*. Laryngoscope, 1972. 82: p. 2204–2216.
54. Preuss, S.F., et al., *Transoral laser surgery for laryngeal cancer: Outcome, complications and prognostic factors in 275 patients*. EJSO, 2009. 35: p. 235-240.
55. Ambrosch, P., *The role of laser microsurgery in the treatment of laryngeal cancer*. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg, 2007. 15(2): p. 82-88.
56. Wang, S., et al., *Clinical Outcome of Window Partial Laryngectomy for Stage T2-3 Glottic Laryngeal Carcinoma*. Journal of Voice, 2009: p. 1-5.
57. van der Bruggen, P., et al., *A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma*. Science, 1991. 254: p. 1643-1647.
58. Mollaoglu, N., et al., *Expression of MAGE-A12 in oral squamous cell carcinoma*. Oral Oncology Supplement, 2007. 2(1): p. 188.
59. Li, J., et al., *Expression of the MAGE gene family in human gastric carcinoma*. Anticancer Res., 1997. 17(5A): p. 3559-63.
60. Mori, M., et al., *Expression of MAGE genes in human colorectal carcinoma*. Ann Surg. , 1996. 224(2): p. 183-8.
61. Tajima, K., et al., *Expression of cancer/testis (CT) antigens in lung cancer*. Lung cancer, 2003. 42(1): p. 23-33.
62. Tsai, J.-R., et al., *Differential expression profile of MAGE family in non-small-cell lung cancer* Lung Cancer, 2007. 52(2): p. 185-192
63. Müller-Richter, U., et al., *Different expression of MAGE-A-antigens in foetal and adult keratinocyte cell lines*. Oral oncology, 2008. 44(7): p. 628-33.
64. Busam, K., et al., *Immunoreactivity with the Anti-MAGE Antibody 57B in Malignant Melanoma: Frequency of Expression and Correlation with Prognostic Parameters*. Mod Pathol. , 2000. 13(4): p. 459-65.
65. Kufer, P., et al., *Heterogeneous expression of MAGE-A genes in occult disseminated tumor cells: a novel multimarker reverse transcription-polymerase chain reaction for diagnosis of micrometastatic disease*. cancer res., 2002. 61(1): p. 251-61.
66. Xiao, J. and H. Chen, *Biological functions of melanoma-associated antigens*. World J Gastroenterol., 2004. 10(13): p. 1849-53.
67. Diniz-Freitas, M., et al., *Reduced E-cadherin expression is an indicator of unfavourable prognosis in oral squamous cell carcinoma*. Oral oncology, 2006. 42(2): p. 190-200.
68. Downer, C. and P. Speight, *E-cadherin expression in normal, hyperplastic and malignant oral epithelium*. Eur J Cancer B Oral Oncol, 1993. 29(4): p. 303-305.
69. Inc, S.C.B. <http://scbt.com/datasheet-25341-laminin-gamma-2-b-2-antibody.html>.
70. Lüllmann-Rauch, R., ed. *Zell Matrix Kontakte*. Histologie Verstehen-Lernen-Nachschlagen. Vol. 1. 2003, Thieme: StuttgartNew York.

71. Carnelio, S., et al., *Expression of E-cadherin in primary oral squamous cell carcinoma and metastatic lymph nodes – An immunohistochemical study*. Oral Oncology Supplement, 2009. 3(1): p. 202.
72. Schneider, H., C. Mühle, and F. Pacho, *Biological function of laminin-5 and pathogenic impact of its deficiency* European Journal of Cell Biology, 2007. 86(11-12): p. 701-717.
73. Burgeson, R., et al., *A new nomenclature for the laminins*. Matrix Biol., 1994. 14(3): p. 209-11.
74. Patarroyo, M., K. Tryggvason, and I. Virtanen, *Laminin isoforms in tumor invasion, angiogenesis and metastasis*. Semin Cancer Biol., 2002. 12(3): p. 197-207.
75. Inc, S.C.B. <http://www.scbt.com/datasheet-25341-laminin-gamma-2-b-2-antibody.html>.
76. Ono, Y., et al., *Clinicopathologic significance of Laminin-5 gamma 2 chain expression in squamous cell carcinoma of the tongue-immunohistochemical analysis of 67 lesions*. Cancer, 1999. 85(11): p. 2315-21.
77. Lyons, A. and J. Jones, *Cell adhesion molecules, the extracellular matrix and oral squamous carcinoma*. Int J Oral Maxillofac Surg., 2007. 36(8): p. 671-9.
78. O-charoenrat, P. and P. Khantapura, *The role of genetic polymorphisms in the promoters of the matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 genes in head and neck cancer* Oral oncology, 2006. 42(3): p. 257-267.
79. de Vicente, J., et al., *Expression and clinical significance of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in oral squamous cell carcinoma*. Oral oncology, 2005. 41(3): p. 283-293.
80. Abcam <http://www.abcam.com/MMP2-antibody-ab37150.html>.
81. Sato, H., T. Takino, and Y. Okada, *A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumor cells*. Nature, 1994. 370: p. 61-65
82. Wong, T., et al., *Clinicopathologic significance of plasma matrix metalloproteinase-2 and -9 levels in patients with undifferentiated nasopharyngeal carcinoma*. Eur J Surg Oncol., 2004. 30(5): p. 560-4.
83. Yoshizaki, T., H. Sato, and S. Muro, *Matrix metalloproteinase 9 is induced by the Epstein-Barr virus BZLF1 transactivator*. Clin Exp Metastasis 1999. 17: p. 431-436.
84. Takeshita, H., T. Yoshizaki, and W.E. Miller, *Matrix metalloproteinase 9 expression is induced by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 C-terminal activation regions 1 and 2*. Virology, 1999. 73: p. 5548-5555.
85. Suzuki, S., et al., *Direct cell-cell interaction enhances pro-MMP-2 production and activation in co-culture of laryngeal cancer cells and fibroblasts: involvement of EMMPRIN and MT1-MMP* Experimental Cell Research, 2004. 293(2): p. 259-266.
86. Dango, S., et al., *Expression of melanoma-antigen-A (MAGE-A) in disseminated tumor cells in regional lymph nodes of patients with operable non-small cell lung cancer*. Lung cancer, 2009.

87. Park, J., et al., *A new strategy for the diagnosis of MAGE-expressing cancers*. J Immunol Methods., 2002. 266(1-2): p. 79-86.
88. Sigalotti, L., et al., *Intratumor heterogeneity of cancer/testis antigens expression in human cutaneous melanoma is methylation-regulated and functionally reverted by 5-aza-2'-deoxycytidine*. cancer res., 2004. 64(24): p. 9167-71.
89. Kobayashi, Y., et al., *Expression of MAGE, GAGE and BAGE genes in human liver diseases: utility as molecular markers for hepatocellular carcinoma* <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6W7C-436FW9X-99&\\_user=10&\\_coverDate=04%2F30%2F2000&\\_alid=1183186199&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_cdi=6623&\\_sort=r&\\_docanchor=&view=c&\\_ct=22&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=7c62abbd42eee53f921d152c4807243b](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6W7C-436FW9X-99&_user=10&_coverDate=04%2F30%2F2000&_alid=1183186199&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_cdi=6623&_sort=r&_docanchor=&view=c&_ct=22&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=7c62abbd42eee53f921d152c4807243b)> J Hepatol., 2000. 32(4): p. 612-7.
90. Inoue, H., et al., *The expression of tumor-rejection antigen "MAGE" genes in human gastric carcinoma* Gastroenterology, 1995. 109(5): p. 1522-5.
91. Eura, M., et al., *Expression of the MAGE gene family in human head-and-neck squamous-cell carcinomas*. Int J Cancer., 1995. 64(5): p. 304-8.
92. Otte, M., et al., *MAGE-A gene expression pattern in primary breast cancer*. Cancer res., 2001. 61(18): p. 6682-6687.
93. Chen, C., et al., *High frequency of expression of MAGE genes in human hepatocellular carcinoma*. Liver, 1999. 19(2): p. 110-4.
94. Jungbluth, A., et al., *Expression of MAGE-antigens in normal tissues and cancer*. Int J Cancer., 2000. 85(4): p. 460-5.
95. Juretic, A., et al., *Expression of cancer/testis tumor antigens MAGE-A1, MAGE-A3/4 and NY-ESO 1 in medullary breast cancer*. European Journal of Cancer Supplements, 2009. 7(2): p. 102.
96. Atanackovic, D., et al., *Expression of cancer-testis antigens as possible targets for antigen-specific immunotherapy in head and neck squamous cell carcinoma*. Cancer Biol Ther, 2006. 5(9): p. 1218-25.
97. Haier, J., et al., *Expression of MAGE-A cancer/testis antigens in esophageal squamous cell carcinomas*. Anticancer Res., 2006. 26(3B): p. 2281-7.
98. Suzuki, K. and e. al., *Expression of MAGE genes and survival in patients with hepatocellular carcinoma*. Int J Oncol., 1999. 15: p. 1227-1232.
99. Lee, Y., et al., *Significance of MAGE-A gene expression in primary breast cancer* European Journal of Cancer Supplements, 2004. 2(3): p. 105.
100. Müller-Richter, U.D.A., et al., *MAGE-A antigens in oral squamous cell carcinoma*. oral Oncology Supplement, 2009. 3(1): p. 71.
101. Figueiredo, D., et al., *Expression of cancer testis antigens in head and neck squamous cell carcinomas*. Head Neck., 2006. 28(7): p. 614-9.
102. Kwon, S., et al., *The melanoma antigen gene as a surveillance marker for the detection of circulating tumor cells in patients with breast carcinoma*. Cancer, 2005. 104(2): p. 251-6.

103. Mecklenburg, I., et al., *A multimarker real-time RT-PCR for MAGE-A gene expression allows sensitive detection and quantification of the minimal systemic tumor load in patients with localized cancer*  
<[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6T2Y-4NRCW53-1&\\_user=10&\\_coverDate=06%2F30%2F2007&\\_alid=1183208625&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_cdi=4931&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_ct=1&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=9d7e5e88b789430658e61448a8bcb21efde0528](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T2Y-4NRCW53-1&_user=10&_coverDate=06%2F30%2F2007&_alid=1183208625&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_cdi=4931&_docanchor=&_view=c&_ct=1&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=9d7e5e88b789430658e61448a8bcb21efde0528)>. *J Immunol Methods.*, 2007. 323(2): p. 180-93.
104. Pyo, S., et al., *Expression of E-cadherin, P-cadherin and N-cadherin in oral squamous cell carcinoma: Correlation with the clinicopathologic features and patient outcome*  
<[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6WJ1-4N1SP98-2&\\_user=10&\\_coverDate=01%2F31%2F2007&\\_alid=1184246055&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_cdi=6865&\\_sort=r&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_ct=9&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=33a6ed7b636e61448a8bcb21efde0528](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WJ1-4N1SP98-2&_user=10&_coverDate=01%2F31%2F2007&_alid=1184246055&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_cdi=6865&_sort=r&_docanchor=&_view=c&_ct=9&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=33a6ed7b636e61448a8bcb21efde0528)>. *J Craniomaxillofac Surg.*, 2007. 35(1): p. 1-9.
105. Byrne, R., et al., *E-cadherin immunostaining of bladder transitional cell carcinoma, carcinoma in situ and lymph node metastases with long-term followup.* *J Urol.*, 2001. 165(5): p. 1473-9.
106. Menezes, M., C. Lehn, and A. Gonçalves, *Epidemiological and histopathological data and E-cadherin-like prognostic factors in early carcinomas of the tongue and floor of mouth*  
<[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6TB6-4N74JD0-1&\\_user=10&\\_coverDate=08%2F31%2F2007&\\_alid=1184264090&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_cdi=5134&\\_sort=r&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_ct=10&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=77d4158393fda088ba69e3210f00a222](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TB6-4N74JD0-1&_user=10&_coverDate=08%2F31%2F2007&_alid=1184264090&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_cdi=5134&_sort=r&_docanchor=&_view=c&_ct=10&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=77d4158393fda088ba69e3210f00a222)>. *Oral oncology*, 2007. 43(7): p. 656-61.
107. Biazolla, E., *Fatores prognósticos do câncer de soalho bucal: análise multifatorial de variáveis demográficas, clínicas, anatomo-patológicas e terapeuticas.* São Paulo, 1996: p. 178.
108. Schipper, J., et al., *E-Cadherin expression in squamous cell carcinomas of head and neck: inverse correlation with tumour dedifferentiation and lymph node metastases.* *cancer res.*, 1991. 51(23 Part 1): p. 6328-37.
109. Bagutti, C., P. Speight, and F. Watt, *Comparison of integrin, cadherin, and catenin expression in squamous cell carcinomas of the oral cavity.* *J Pathol.*, 1998. 186(1): p. 8-16.
110. Shibanuma, H., et al., *Influence of E-cadherin dysfunction upon local invasion and metastasis in non-small cell lung cancer* *Lung cancer*, 1998. 22(2): p. 85-95.
111. Kadowaki, T., et al., *E-Cadherin and  $\alpha$  catenin in human esophageal cancer.* *Cancer Res.*, 1994. 54(1): p. 291-6.

112. Chow, V., et al., *A comparative study of the clinicopathological significance of E-cadherin and catenins (alpha, beta, gamma) expression in the surgical management of oral tongue carcinoma.* J Cancer Res Clin Oncol., 2001. 127(1): p. 59-63.
113. Truant, S., et al., *E-Cadherin and  $\beta$ -Catenin mRNA Levels Throughout Colon Cancer Progression* J Surg Res. , 2008. 150(2): p. 212-8.
114. Kim, J., et al., *Coexpression of carcinoembryonic antigen and E-cadherin in colorectal adenocarcinoma with liver metastasis* <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6W8T-49V9HDY-P&\\_user=10&\\_coverDate=11%2F30%2F2003&\\_alid=1184324236&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_cdi=6663&\\_sort=r&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_ct=415&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=25b946388d439cc80ce907e00263934d](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6W8T-49V9HDY-P&_user=10&_coverDate=11%2F30%2F2003&_alid=1184324236&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_cdi=6663&_sort=r&_docanchor=&_view=c&_ct=415&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=25b946388d439cc80ce907e00263934d)> J Gastrointest Surg., 2003. 7(7): p. 931-8.
115. Kurtz, K.A., et al., *Decreased E-Cadherin but not  $\beta$ -Catenin Expression is Associated With Vascular Invasion and Decreased Survival in Head and Neck Squamous Carcinomas.* Otolaryngology - Head and Neck Surgery, 2006. 134(1): p. 142-146.
116. Bremnes, R., et al., *The E-cadherin cellcell adhesion complex and lung cancer invasion, metastasis, and prognosis* Lung cancer, 2002. 36(2): p. 115-124.
117. Kuratomi, Y., et al., *Diffuse expression of laminin  $\alpha$ 2 chain in disseminating and infiltrating cancer cells indicates a highly malignant state in advanced tongue cancer* <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6TB6-4H21NHF-1&\\_user=10&\\_coverDate=01%2F31%2F2006&\\_alid=1184390441&\\_rdoc=3&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_cdi=5134&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_ct=5&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=b4a8dfbf188d37e2199aad6463dc7770](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TB6-4H21NHF-1&_user=10&_coverDate=01%2F31%2F2006&_alid=1184390441&_rdoc=3&_fmt=high&_orig=search&_cdi=5134&_docanchor=&_view=c&_ct=5&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=b4a8dfbf188d37e2199aad6463dc7770)> Oral oncology, 2006. 42(1): p. 73-6.
118. Katayama, M., et al., *Laminin gamma2-chain fragment circulating level increases in patients with metastatic pancreatic ductal cell adenocarcinomas.* Cancer Lett., 2005. 225(1): p. 167-76.
119. Hindermann, W., et al., *Immunohistochemical demonstration of the gamma2 chain of laminin-5 in urinary bladder urothelial carcinoma. Impact for diagnosis and prognosis.* Cancer Detect Prev. , 2003. 27(2): p. 109-15.
120. Katoh, K., et al., *Correlation between laminin-5 gamma2 chain expression and epidermal growth factor receptor expression and its clinicopathological significance in squamous cell carcinoma of the tongue.* Oncology., 2002. 62(4): p. 318-26.
121. Yuen, H., et al., *Suppression of laminin-5 expression leads to increased motility, tumorigenicity, and invasion.* Experimental Cell Research, 2005. 309(1): p. 198-210.

122. Ziober, A., E. Falls, and B. Ziober, *The extracellular matrix in oral squamous cell carcinoma: friend or foe?* *Head Neck.*, 2006. 28(8): p. 740-9.
123. Kiyoshima, K., et al., *Overexpression of laminin-5  $\alpha$ 2 chain and its prognostic significance in urothelial carcinoma of urinary bladder: association with expression of cyclooxygenase 2, epidermal growth factor, and human epidermal growth factor 2* *Hum Pathol.*, 2005. 36(5): p. 522-30.
124. Suzuki, H. and K. Hashimoto, *Co-expression of laminin-5 gamma2 and p53 in oral squamous cell carcinoma*. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2009. 38(5): p. 428.
125. Han, F. and H. Zhu, *Caveolin-1 Regulating the Invasion and Expression of Matrix Metalloproteinase (MMPs) in Pancreatic Carcinoma Cells* <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6WM6-4W6VRTD-4&\\_user=10&\\_coverDate=05%2F03%2F2009&\\_alid=1184445485&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_cdi=6926&\\_sort=r&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_ct=11&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=8ff45cacb585f3b9c37df7bab731b69b](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WM6-4W6VRTD-4&_user=10&_coverDate=05%2F03%2F2009&_alid=1184445485&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_cdi=6926&_sort=r&_docanchor=&_view=c&_ct=11&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=8ff45cacb585f3b9c37df7bab731b69b)> *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2009. 38(5): p. 428.
126. Yorioka, C., et al., *Matrix metalloproteinase-2 and -9 activities correlate with the disease-free survival of oral squamous cell carcinoma patients.* *Int J Oncol.*, 2002. 20(1): p. 189-94.
127. Charous, S., et al., *Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in head and neck squamous cell carcinoma.* *Ann Otol Rhinol Laryngol.*, 1997. 106(4): p. 271-8.
128. Laack, E., et al., *Pretreatment serum levels of matrix metalloproteinase-9 and vascular endothelial growth factor in non-small-cell lung cancer.* <[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12377642?itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed\\_ResultsPanel.Pubmed\\_RVDocSum&ordinalpos=2](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12377642?itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum&ordinalpos=2)>. *Ann Oncol.*, 2002. 13(10): p. 1550-7.
129. Endo, K., et al., *Elevated levels of serum and plasma metalloproteinases in patients with gastric cancer.* *Anticancer Res.*, 1997. 17(3C): p. 2253-8.
130. Sheen-Chen, S., et al., *Serum levels of matrix metalloproteinase 2 in patients with breast cancer.* *Cancer Lett.*, 2001. 173(1): p. 79-82.
131. Kondratiev, S., et al., *Expression and prognostic role of MMP2, MMP9, MMP13, and MMP14 matrix metalloproteinases in sinonasal and oral malignant melanomas* <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6WGD-4R7CYK3-3&\\_user=10&\\_coverDate=03%2F31%2F2008&\\_alid=1184467748&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_cdi=6820&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_ct=1&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=8799300eb197a96c63abc2bc1f8176fc](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WGD-4R7CYK3-3&_user=10&_coverDate=03%2F31%2F2008&_alid=1184467748&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_cdi=6820&_docanchor=&_view=c&_ct=1&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=8799300eb197a96c63abc2bc1f8176fc)> *Hum Pathol.*, 2008. 39(3): p. 337-43.

132. Liu, W., et al., *Overexpression of MMP-2 in laryngeal squamous cell carcinoma: A potential indicator for poor prognosis*  
<[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6WP4-4FM3RKD-H&user=10&coverDate=03%2F31%2F2005&alid=1184470147&rdoc=1&fmt=high&orig=search&cdi=6980&sort=r&docanchor=&view=c&ct=2&acct=C000050221&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=e9cb5abc1816463488f595d21b268ce8](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WP4-4FM3RKD-H&user=10&coverDate=03%2F31%2F2005&alid=1184470147&rdoc=1&fmt=high&orig=search&cdi=6980&sort=r&docanchor=&view=c&ct=2&acct=C000050221&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=e9cb5abc1816463488f595d21b268ce8)>. *Otolaryngol Head Neck Surg.*, 2005. 132(3): p. 395-400.
133. Riedel, F., et al., *Serum levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 in patients with head and neck squamous cell carcinoma*.  
<[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11062721?itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed\\_ResultsPanel.Pubmed\\_RVDocSum&ordinalpos=18](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11062721?itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum&ordinalpos=18)>. *Anticancer Res.*, 2000. 20(5A): p. 3045-9.
134. Dong, P., *Expression of COX-2, VEGF, and MMP2 in Laryngeal Carcinoma*. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 2006. 135(2): p. 116.
135. Koshiha, T., et al., *Involvement of matrix metalloproteinase-2 activity in invasion and metastasis of pancreatic carcinoma*. *Cancer*, 1998. 82(4): p. 642-50.

## 7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. 1 Tumorstadieneinteilung nach UICC für Mundhöhlen- und Oropharynx [40] ...	6
Tabelle 1. 2 Weitere Kategorien und Zusatzgaben [40].....	7
Tabelle 1. 3 Stadieneinteilung, entsprechend der Richtlinien der UICC.....	7
Tabelle 1. 4 Anatomische Einteilung [33].....	8
Tabelle 1. 5 Tumorstadieneinteilung nach UICC für Larynxkarzinom [40].....	9
Tabelle 1. 6 Stadieneinteilung von Larynxkarzinomen, entsprechend der Richtlinien der UICC.....	10
Tabelle 2. 1 Übersicht über die Verteilung der Tumorlokalisation:.....	18
Tabelle 2. 2 Primärantikörper.....	22
Tabelle 2. 3 Scoreverteilung.....	24
Tabelle 3. 1 MAGE-A Expression bei primären PEC und deren Metastasen.....	27
Tabelle 3. 2 MAGE-A Antigene und die klinischen Korrelationen.....	27
Tabelle 3. 3 MAGE-A-Antigen und die histopathologischen Korrelationen.....	27
Tabelle 3. 4 E-Cadherin Expression bei primären PEC und deren Metastasen.....	42
Tabelle 3. 5 E-Cadherin Antigene und die klinischen Korrelationen.....	42
Tabelle 3. 6 E-Cadherin Antigene und die histopathologischen Korrelationen.....	42
Tabelle 3. 7 Laminin-5 Expression bei primären PEC und deren Metastasen.....	55
Tabelle 3. 8 Laminin-5 gamma 2-Kette Antigene und die klinischen Korrelationen.....	56
Tabelle 3. 9 Laminin-5-gamma-2-Kette Antigene und die histopathologischen Korrelationen.....	56
Tabelle 3. 10 MMP2 Expression bei primären PEC und deren Metastasen.....	69
Tabelle 3. 11 MMP2 Antigene und die klinischen Korrelationen.....	70
Tabelle 3. 12 MMP2 Antigene und die histopathologischen Korrelationen.....	70



Tabelle 3. 13 MMP9 Expression bei primären PEC und deren Metastasen.....	81
Tabelle 3. 14 MMP9 Antigene und die klinischen Korrelationen.....	82
Tabelle 3. 15 MMP9 Antigene und die histopathologischen Korrelationen .....	82
Tabelle 4. 1 Korrelation zwischen den Scores bei PEC und deren Metastasen (Spearman-Rho rs).....	103
Tabelle 4. 2 Signifikante Korrelationen zwischen den Antikörpern und den Co-Faktoren.....	104

## 8. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1. 1 Homogene MAGE 57B Expression in malignem Melanom [64]	
Abb. 1. 2 Heterogene MAGE 57B Expression in malignem Melanom [64].....	13
Abb. 2. 1 Altersverteilung .....	19
Abb. 3. 1 HE Färbung PT (o, re) und Metastase (o, li); MAGE A Färbung PT (u, re) und Metastase (u, li) .....	40
Abb. 3. 2 Vergleich E-Cadherinexpression in den .....	41
Abb. 3. 3 HE Färbung PT (o, re) und Metastase (o, li), E-Cadherin Färbung PT( u, re) und Metastase (u, li) .....	54
Abb.3. 4 HE Färbung PT(o, re) und Metastase(o, li), Laminin-5 gamma 2 Färbung PT(u, re) und Metastase(u, li).....	68
Abb.3. 5 HE Färbung PT(o, re) und Metastase(o, li); MMP2 Färbung PT(u, re) und Metastase(u, li) .....	80
Abb.3. 6 HE Färbung PT(o, re) und Metastase(o, li); MMP9 Färbung PT(u, re) und Metastase(u, li) .....	92
Abb. 4. 1 HE Färbung PT .....	107

Abb. 4. 2 HE Färbung Metastase.....	107
Abb. 4. 3 MAGE-A B57 Färbung PT.....	107
Abb. 4. 4 MAGE-A B57 Färbung Metastase .....	108
Abb. 4. 5 E-Cadherin Färbung PT .....	108
Abb. 4. 6 E-Cadherin Färbung Metastase.....	108
Abb. 4. 7 Laminin 5 gamma 2-Kette Färbung PT .....	109
Abb. 4. 8 Laminin 5 gamma 2-Kette Metastase .....	109
Abb. 4. 9 MMP2 Färbung PT .....	109
Abb. 4. 10 MMP2 Färbung Metastase.....	110
Abb. 4. 11 MMP9 Färbung PT .....	110
Abb. 4. 12 MMP9 Färbung Metastase.....	110
Diagramm 1 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigen-Expression in den .....	25
Diagramm 2 Scoreverteilung der MAGE-A- Antigene in den PT bei den Geschlechtern	
Diagramm 3 Scoreverteilung der MAGE-A- Antigene in den Metastasen bei den	
Geschlechtern .....	29
Diagramm 4 Altersverteilung in Gruppen .....	30
Diagramm 5 Die Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den PT in den Altersgruppen	
.....	32
Diagramm 6 Die Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den Metastasen in den	
Altersgruppen .....	32
Diagramm 7 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den PT in G1,2,3.....	36
Diagramm 8 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den Metastasen in G1,2,3 .....	34
Diagramm 9 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den PT in T1,2,3,4.....	37
Diagramm 10 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den Metastasen in T1,2,3,4 .....	35
Diagramm 11 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den PT in N1,2.....	38
Diagramm 12 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den Metastasen in N1,2.....	36

Diagramm 13 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den PT in UICC 3,4.....	39
Diagramm 14 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den Metastasen in UICC 3,4 ....	38
Diagramm 15 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den Metastasen in V0,1.....	40
Diagramm 16 Scoreverteilung der MAGE-A-Antigene in den PT in V0,1 .....	39
Diagramm 17	
Scoreverteilung der E-Cadherin- Antigene in den PT in den Geschlechtern.....	44
Diagramm 18 Scoreverteilung der E-Cadherin in den Metastasen in den Geschlechtern....	44
Diagramm 19 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den PT in den Altersgruppen .	46
Diagramm 20 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den Metastasen in den Altersgruppen .....	46
Diagramm 21 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den PT in G1,2,3.....	47
Diagramm 22 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den Metastasen in G1,2,3 .....	47
Diagramm 23 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den PT in T1,2,3,4.....	49
Diagramm 24 Scoreverteilung der E-Cadherin in den Metastasen in T1,2,3,4.....	49
Diagramm 25 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den PT in N1,2.....	50
Diagramm 26 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den Metastasen in N1,2 .....	50
Diagramm 27 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den PT in UICC 3,4.....	51
Diagramm 28 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den Metastasen in UICC 3,4..	51
Diagramm 29 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den PT in V0,1.....	52
Diagramm 30 Scoreverteilung der E-Cadherin-Antigene in den Metastasen in V0,1 .....	52
Diagramm 31 Scoreverteilung der Laminin-5 gamma 2-Kette in den PT und deren Metastasen .....	55
Diagramm 32 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in den Geschlechtern	57
Diagramm 33 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in den Geschlechtern .....	58
Diagramm 34 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in den Altersgruppen .	60
Diagramm 35 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in den Altersgruppen .....	60

Diagramm 36 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in G1,2,3.....	60
Diagramm 37 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in G1,2,3 .....	61
Diagramm 38 Scoreverteilung der Laminin-5- Antigene in den PT in T1,2,3,4.....	61
Diagramm 39 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in T1,2,3,4 .....	63
Diagramm 40 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in N1,2.....	62
Diagramm 41 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in N1,2 .....	64
Diagramm 42 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in UICC 3,4.....	64
Diagramm 43 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in UICC 3,4 ...	66
Diagramm 44 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den PT in V0,1.....	64
Diagramm 45 Scoreverteilung der Laminin-5-Antigene in den Metastasen in V0,1 .....	67
Diagramm 46 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT und deren Metastasen .....	69
Diagramm 47 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in den Geschlechtern.....	68
Diagramm 48 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in den Geschlechtern .....	71
Diagramm 49 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in den Altersgruppen .....	73
Diagramm 50 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in den Altersgruppen .....	73
Diagramm 51 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in G1,2,3.....	72
Diagramm 52 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in G1,2,3 .....	75
Diagramm 53 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in T1,2,3,4.....	73
Diagramm 54 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in T1,2,3,4 .....	76
Diagramm 55 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in N1,2.....	74
Diagramm 56 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in N1,2 .....	77
Diagramm 57 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in UICC 3,4.....	75
Diagramm 58 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in UICC 3,4.....	78
Diagramm 59 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den PT in V0,1.....	76
Diagramm 60 Scoreverteilung der MMP2-Antigene in den Metastasen in V0,1 .....	79
Diagramm 61 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den PT und deren Metastasen.....	81

Diagramm 62 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den PT in den Geschlechtern.....	80
Diagramm 63 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den Metastasen in den Geschlechtern .....	84
Diagramm 64 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den PT in den Altersgruppen .....	85
Diagramm 65 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den Metastasen in den Altersgruppen.....	82
Diagramm 66 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den PT in G1,2,3.....	83
Diagramm 67 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den Metastasen in G1,2,3 .....	87
Diagramm 68 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den PT in T1,2,3,4.....	85
Diagramm 69 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den Metastasen in T1,2,3,4 .....	88
Diagramm 70 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den PT in N1,2	86
Diagramm 71 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den Metastasen in N1,2 .....	89
Diagramm 72 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den PT in UICC 3,4.....	87
Diagramm 73 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den Metastasen in UICC 3,4.....	90
Diagramm 74 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den PT in V0,1.....	88
Diagramm 75 Scoreverteilung der MMP9-Antigene in den Metastasen in V0,1 .....	91

## 9. Abkürzungsverzeichnis

<b>AG/AK</b>	Antigen/Antikörper
<b>CO<sub>2</sub></b>	Kohlenstoffdioxid
<b>CS</b>	Citronensäure
<b>DAB</b>	3,3'-diaminobenzidin
<b>DNA</b>	Desoxyribonukleinsäure
<b>E-Cadherin</b>	epitheliales Cadherin
<b>EDTA</b>	Ethylendiamintetraacetat
<b>EZM</b>	Extrazellulärmatrix
<b>HCC</b>	Leberzellkarzinom
<b>HNO</b>	Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde
<b>HPV</b>	Human Papillomvirus
<b>kDa</b>	Kilodalton
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	Kaliumdihydrogenphosphat
<b>LASER</b>	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
<b>M</b>	Metastasen
<b>M.</b>	Musculus
<b>MAGE</b>	melanom-assoziiertes Antigen
<b>MKG</b>	Mund-, Kiefer-, Gesichtschirurgie
<b>MMP</b>	Matrix metalloproteinase
<b>MMPI</b>	Matrix metalloproteinase inhibitor
<b>N</b>	Nervus
<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	Dinatriumhydrogenphosphat
<b>NaCl</b>	Natriumchlorid
<b>N-Cadherin</b>	neurales Cadherin
<b>o.li</b>	oben links
<b>o.re</b>	oben rechts

<b>PBS</b>	phosphatgepufferte Salzlösung
<b>P-Cadherin</b>	plazentares Cadherin
<b>PEC</b>	Plattenepithelkarzinom
<b>PT</b>	Primärtumor
<b>RT-PCR</b>	Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion
<b>TIMP</b>	tissue inhibitor
<b>TNF-<math>\beta</math></b>	Tumornekrosefaktor-beta
<b>TNM</b>	TNM Classification of Malignant Tumours
<b>Tris</b>	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
<b>UICC</b>	Union internationale contre le cancer
<b>UVA</b>	Ultraviolettstrahlung im Wellenlängenbereich von 315 bis 380 nm
<b>UVB</b>	Ultraviolettstrahlung im Wellenlängenbereich von 280 bis 315 nm
<b>V</b>	Vena

## **Danksagung**

Ich möchte mich an erster Stelle bei Prof. Dr. Dr. Alexander Kübler für die Überlassung des Promotionsthemas bedanken.

Mein ganz besonderer Dank geht an PD Dr. Dr. Urs Müller-Richter für die schnellen und ausführlichen Korrekturen, für die Motivation, für die Tipps und für die immer freundliche Unterstützung.

Ich möchte Prof. Dr. Rosenwald für die Übernahme des Zweitgutachtens ganz herzlich danken.

Desweiteren möchte ich mich bei Dr. Stephan Rauthe bedanken, der mich mit der geheimnisvollen Pathologiewelt vertraut gemacht hat und mir mit der Auswertung immunhistologischer Präparate behilflich war.

Mein Dank geht auch an die Arbeitsgruppe für Immunhistochemie des pathologischen Instituts Petra, Renate, Barbara und Brigitte. Von Euch habe ich sehr viel gelernt, danke für das Mitkochen und für die netten Unterhaltungen.

Ich möchte mich ganz herzlich bei allen bedanken, die während dieser Zeit auf meine Seite waren. Bei meiner Familie, die immer aber wirklich immer mich seelisch, moralisch und finanziell unterstützt hat. Ohne Euch hätte es nie geklappt! Danke, dass Ihr so toll seid! Danke an meinem Freund Georgi, der mir immer Mut gegeben hat und der einfach immer locker gesagt hat „Das wird schon“.