

HPV – Das andere Kopf-Hals-Karzinom

HPV – A different view on Head and Neck Cancer



Autoren

Claus Wittekindt, Steffen Wagner, Shachi Jenny Sharma, Nora Würdemann, Jennifer Knuth, Henrike Reder, Jens Peter Klußmann

Institut

Klinik für HNO-Heilkunde, Kopf-/Halschirurgie, Plastische Operationen, Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen

Schlüsselwörter

Kopf-Hals-Tumor, Oropharynxkarzinom, Karzinogenese, Humanes Papillomavirus, Immuntherapie

Key words

Head and neck cancer, Oropharyngeal squamous cell carcinoma, Carcinogenesis, Human Papillomavirus, Immunotherapy

Bibliografie

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0043-121596>

Laryngo-Rhino-Otol 2018; 97: S48–S81

© Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York

ISSN 1615-0007

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. Claus Wittekindt

Klinik für HNO-Heilkunde, Kopf-/Halschirurgie, Plastische Operationen

Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH

Standort Gießen

Klinikstr. 32

D-35392 Gießen

claus.wittekindt@hno.med.uni-giessen.de

ZUSAMMENFASSUNG

Kopf-Hals-Tumore sind die sechst-häufigste Krebsart mit über 500000 jährlich gemeldeten Fällen weltweit. Die Hauptrisikofaktoren sind Tabak- und Alkoholkonsum, wobei v. a. Oropharynxkarzinome (OSCC) vermehrt eine Assoziation mit humanen Papillomaviren (HPV) aufweisen. Bei HPV-assoziierten und HPV-negativen OSCC handelt es sich bezüglich biologischer Charakteristika, Therapieansprechen und Prognose der Patienten um

2 eigenständige Entitäten, die allerdings bisher identisch behandelt werden. Bei HPV OSCC spielen neben der Aktivität viraler Onkoproteine auch genetische (Mutationen und chromosomale Aberrationen) und epigenetische Veränderungen eine entscheidende Rolle bei der Krebsentstehung. Aufgrund des besseren Therapieansprechens wird aktuell über die Einführung einer De-Intensivierung der Therapie und über zielgerichtete Therapieoptionen für Patienten mit HPV OSCC diskutiert. Ein vielversprechendes zielgerichtetes Therapiekonzept ist bspw. die Immuntherapie. Besonders intensiv wird derzeit die Anwendung von Checkpoint-Inhibitoren (z. B. gegen PD1) erforscht. Mithilfe sogenannter Flüssigbiopsien sollen zukünftig weitere Biomarker, in Form von viraler DNA oder Tumor-Mutationen, zur Überwachung des Krankheitsverlaufs und frühzeitigen Erkennens von Therapieversagen eingesetzt werden. Zur primären Prophylaxe einer Tumorentstehung ist die HPV-Impfung von männlichen und weiblichen Jugendlichen empfehlenswert.

ABSTRACT

Head and neck cancer is the sixth most common cancer with over 500000 annually reported incident cases worldwide. Besides major risk factors tobacco and alcohol, oropharyngeal squamous cell carcinomas (OSCC) show increased association with human papillomavirus (HPV). HPV-associated and HPV-negative OSCC are 2 different entities regarding biological characteristics, therapeutic response, and patient prognosis. In HPV OSCC, viral oncoprotein activity, as well as genetic (mutations and chromosomal aberrations) and epigenetic alterations plays a key role during carcinogenesis. Based on improved treatment response, the introduction of therapy de-intensification and targeted therapy is discussed for patients with HPV OSCC. A promising targeted therapy concept is immunotherapy. The use of checkpoint inhibitors (e.g. anti-PD1) is currently investigated. By means of liquid biopsies, biomarkers such as viral DNA or tumor mutations in the will soon be available for disease monitoring, as well as detection of treatment failure. By now, primary prophylaxis of HPV OSCC can be achieved by vaccination of girls and boys.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	S48	7.1	Erfassung therapiebedingter Nebenwirkungen	S71
Abstract	S48	7.2	Frühzeitiges Erkennen eines Therapieversagens	S72
1. Einleitung und Zusammenfassung	S49	7.3	Konsequenzen für die Tumornachsorge	S73
2. Epidemiologie	S50	8.	Was bringt die Zukunft?	S73
2.1 Update zur Inzidenzzunahme des Oropharynxkarzinoms	S50		Literatur	S75
2.2 Bedeutung des HPV Nachweises außerhalb des Oropharynx	S50			
2.3 Epidemiologie kanzerogener HPV-Infektionen	S51			
2.4 Entwicklung in Regionen mit konsequenter Primärprophylaxe	S51			
3. Karzinogenese	S52			
3.1 Leukoplakien – prä-maligne Veränderungen	S52			
3.2 Feldkanzerisierung	S52			
3.3 HPV	S52			
3.4 Genetische Veränderungen	S53			
3.4.1 Mutationen	S53			
3.4.2 Genetische Aberrationen (copy number variation, CNV)	S54			
3.4.3 HPV Integration	S54			
3.5 Epigenetische Veränderungen	S54			
3.5.1 Epigenetische Veränderungen von Nukleinsäuren	S54			
3.5.2 microRNA Expression	S55			
3.6 Dysregulation des Tumormetabolismus	S56			
3.7 Tumormilieu/Immun Escape-Mechanismen	S57			
3.8 Molekulare Subtypen & Genexpressionsprofile	S58			
4. Klinische Besonderheiten	S58			
4.1 Ist das HPV-assoziierte OSCC eine sexuell übertragbare Erkrankung?	S58			
4.2 Klinische Besonderheiten beim HPV	S59			
5. Diagnostik und Staging	S60			
5.1 Testverfahren für die Diagnose HPV-assoziiertes Oropharynxkarzinome	S60			
5.2 Stellenwert der Tumorendoskopie	S61			
5.3 Bildung	S61			
5.4 Aktualisierte TNM-Klassifikation und Staging-Regeln	S62			
5.4.1 HPV-assoziierte OSCC	S63			
5.4.2 HPV-negative OSCC	S63			
5.4.3 UICC-Stadien	S66			
6. Entscheidungshilfen für die Therapie	S66			
6.1 Strahlentherapie	S66			
6.2 Welche Rolle spielen Operationen?	S67			
6.3 Chemotherapie und Antikörpertherapie	S68			
6.4 Immuntherapie	S69			
6.5 Optionen nach Therapieversagen	S70			
7. Nachsorge	S71			

1. Einleitung und Zusammenfassung

Das Oropharynxkarzinom (OSCC) ist der einzige Kopf-Hals-Tumor (KHT) mit deutlich steigender Inzidenz. Hierfür sind Infektionen mit onkogenen, sogenannten hochrisiko (HR) Humanen Papillomaviren (HPV) verantwortlich, die aktuell zunehmend häufiger in OSCC nachgewiesen werden. Die Übertragungswege von HPV im Oropharynx sind nach wie vor nicht bekannt. Es gibt jedoch zahlreiche Hinweise, dass die Übertragung von HR HPV durch sexuelle Kontakte erfolgt. Die Karzinogenese beim HPV-positiven OSCC (HPV OSCC) wird vorwiegend durch virale Onkoproteine getrieben. Jedoch spielen genetische Veränderungen ebenfalls eine bedeutende Rolle und häufig liegen zusätzliche Risikofaktoren der klassischen Karzinogenese (Nikotin) vor. Die genetischen Untersuchungen zeichnen bisher noch kein eindeutiges Bild HPV OSCC-spezifischer Mutationen. In Untersuchungen epigenetischer Veränderungen (DNA-Methylierung, microRNA, Tumormetabolismus, Immun-Escape, Gen-Expression) sind jeweils HPV spezifische Aberrationen identifiziert, die Ansatzpunkte für zukünftige zielgerichtete Therapien aufdecken. Patienten mit HPV OSCC sind häufig jung, relativ gesund und haben weniger lifestyle-Risiken akkumuliert; im Vergleich zu HPV-negativen OSCC ist das Gesamtüberleben dieser Patienten erheblich besser. Das bessere Gesamtüberleben und weniger zusätzliche Risikofaktoren lassen daher v. a. diese Patientengruppe als geeignet erscheinen, um von einer De-Intensivierung der Therapie oder zielgerichteten Therapieoptionen zu profitieren. Ab Januar 2017 gelten aktualisierte TNM-Regeln und Stadiengruppierungen für HPV OSCC. Als Testverfahren ist international der p16INK4a(p16)-Test vorgeschlagen. Die Testung von HPV OSCC sollte jedoch, wenn möglich mittels dualem Nachweis von HPV DNA und p16-Expression erfolgen. HPV OSCC werden dann, im Vergleich zu früher, in kleinere UICC-Stadiengruppen eingeteilt. Nach der Therapie haben Patienten mit HPV OSCC eine um ca. 30% bessere Prognose für das Überleben nach 5 Jahren und zwar in allen Therapiemodalitäten. HPV ist also kein Prädiktor für Chirurgie oder Strahlentherapie, daher haben tumorsanierende Operationen nach wie vor einen hohen Stellenwert. Aktuell werden zahlreiche Studien mit einer weniger intensiven Therapie durchgeführt, bisher liegen jedoch zusätzlich noch keine Ergebnisse vor. Für die neuen Immuntherapien wird der Stellenwert beim HPV OSCC ebenfalls untersucht. Bemerkenswert sind chirurgische Therapieoptionen bei Fernmetastasierung, es ergeben sich auch dann häufig noch kurative Therapieansätze. Neben der Erhebung von Funktionseinschränkungen ist dies folglich für die Nachsorge unserer Patienten bedeutsam. Zukünftig wird für Patienten mit HPV OSCC mit hoher Wahrscheinlichkeit sowohl spezifische, als auch deintensivierte Therapie verfügbar sein. Für die Zuordnung zu Therapieverfahren werden aktuell Risikomodelle entwickelt und diskutiert. Möglicherweise liefert die virale Karzinogenese eine wertvolle Option für molekulare Früherkennung und Nachsorge mittels Blutproben (sogenannte Liquid Biopsy). Bis dahin

sollten wir HNO-Ärzte für die Durchführung einer HPV Impfung bei Mädchen und Jungen werben, weil dadurch wahrscheinlich fast alle Fälle von HPV OSCC vermieden werden könnten.

2. Epidemiologie

2.1 Update zur Inzidenzzunahme des Oropharynxkarzinoms

Beim KHT sind steigende Inzidenzraten für HPV-getriebene Tumoren beschrieben während die Häufigkeit aller KHT in entwickelten Ländern abnimmt. Bei vergleichender Analyse amerikanischer Registerdaten aus 1973–2012 und 2000–2012 wurde bspw. eine Verdoppelung für das OSCC (häufig HPV-getrieben) bei gleichzeitiger Abnahme der Inzidenzrate für das Mundhöhlenkarzinom (selten HPV-getrieben) beschrieben [1]. Aus kanadischen Registerdaten wurde gleichfalls eine Abnahme der allgemeinen Inzidenz für KHT bei gleichzeitiger Zunahme für das OSCC aktuell berichtet [2]. Dieser epidemiologische Trend wird auf der Grundlage nahezu aller publizierter Originalarbeiten auf die steigende Prävalenz onkogener HPV im OSCC zurückgeführt [3]. In Abhängigkeit von Studiendesign und Nachweisverfahren reicht die Prävalenz onkogener HPV im OSCC in aktuell publizierten Serien aus Skandinavien bis zu 85% [4]. Es ist zumindest anzunehmen, dass die in den Originalarbeiten beschriebene Prävalenzzunahme alleine aufgrund methodischer Mängel jedoch überschätzt wird. Vom Design her wurden bspw. ältere mit neueren Präparaten verglichen, hierdurch erklärt sich ein systematischer Fehler. Im deutschen Sprachraum ist von einer HPV-Prävalenz für das OSCC aktuell von 20–40% auszugehen [5–7]. Für das Tonsillenkarzinom wurde jedoch bereits vor 15 Jahren in über 50% der Fälle onkogene HPV detektiert [8], hier muss der Anteil HPV attributierbarer OSCC wesentlich höher angenommen werden. Aus unserem eigenen untersuchten Kollektiv (► **Abb. 1**) von Patienten mit OSCC konnte in einer vergleichenden Untersuchung an 599 Patienten ein Anstieg der HPV Prävalenz von knapp über 20% der Patienten auf aktuell über 50% der Patienten gezeigt werden [7]. Auch bei vergleichender Analyse der HPV Prävalenz in zervikalen Filiae beim CUP-

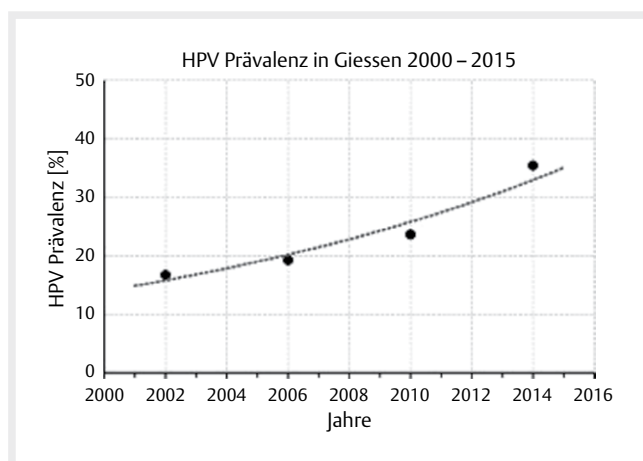
Syndrom konnte im Gießener Patientenkollektiv eine deutliche Zunahme auf aktuell nahezu 75% der Patienten beobachtet werden. Zusammengefasst zeigen die publizierten Arbeiten eine stetige Zunahme der Inzidenzzahlen für das OSCC und für diesen Inzidenzanstieg sind nach übereinstimmenden Berichten aus der Literatur die Inzidenzzunahme HPV-getriebener Tumoren verantwortlich.

2.2 Bedeutung des HPV Nachweises außerhalb des Oropharynx

Aus gesundheitsökonomischer Sicht ist der Anteil HPV-getriebener KHT in anderen anatomischen Lokalisationen als Oropharynx ebenfalls von großem Interesse. Bspw. könnten diese Fälle auch durch konsequente HPV-Primärprophylaxe in Form einer Impfung vermieden werden. Weiterhin könnten Patienten in den Genuss einer deintensivierten Therapie kommen mit entsprechend reduzierten Nebenwirkungen, denn für HPV OSCC ist zu erwarten, dass reduzierte Therapieintensitäten in naher Zukunft etabliert sein werden. Hierzu ist erstens die Frage relevant, ob der Nachweis von HPV in Geweben außerhalb des Oropharynx eine echte HPV-getriebene Karzinogenese anzeigt oder ob es sich nur um zufällig nachgewiesene Infektionen ohne weitere Relevanz handelt. Zweitens ist die Frage relevant, ob sich der Nachweis von HPV in non-OSCC auch in einer verbesserten Prognose der Patienten zeigt.

In einer aktuellen US-amerikanischen Arbeit aus 2015 konnte auch außerhalb des Oropharynx eine hohe Rate HPV-positiver DNA-Testergebnisse (70.1% Oropharynx, 32.0% Mundhöhle und 20.9% Larynx) gezeigt werden [9]. Betrachtet man jedoch die gesamte publizierten Literatur und Meta-Analysen zur Frage von HPV-Positivität außerhalb des Oropharynx ist das Ergebnis uneinheitlich [10–12]. Aus einem Daten-Set einer Meta-Analyse von 12263 Patienten wurden HPV attributierbare Fraktion für die Mundhöhle (24,2%) und Larynx (22,1%) basiert auf DNA-Nachweis berichtet. Außerhalb des Oropharynx konnten jedoch kaum Datensätze mit dualem Testergebnis (HPV-DNA und p16-Test) ausgewertet werden [13]. Aktuell wurden eine umfangreiche spanische Untersuchung mit Ergebnissen von 3680 Patienten mit KHT nach kombinierter Testung für DNA, RNA und p16 vorgelegt. Dabei wurde eine HPV Prävalenz beim Mundhöhlenkarzinom von 4,4% und beim Larynxkarzinom von 3,5% ermittelt bei Positivität aller 3 Tests waren die Ergebnisse sogar noch deutlich geringer. Dadurch werden die zuvor berichteten teilweise sehr hohen Raten HPV-getriebener KHT außerhalb des Oropharynx deutlich relativiert [14]. Ein Großteil positiver HPV Testergebnisse außerhalb des Oropharynx zeigt somit wahrscheinlich keine HPV-getriebene Karzinogenese an, sondern es handelt sich dabei um akute Infektionen oder falsch positive Testergebnisse.

Zur Relevanz des HPV-Nachweises außerhalb des Oropharynx hinsichtlich der Prognose der Patienten liegen keine prospektiven Untersuchungen vor. Wir können jedoch anhand retrospektiver Daten von Patienten, die mittels Radiotherapie (RT) oder kombinierter Radiochemotherapie (RCT) im Rahmen von klinischen Studien behandelt wurden, darauf schließen, dass ein positiver p16-Test außerhalb des Oropharynx geringe prognostische Aussagekraft besitzt. Im DAHANCA Konsortium in Dänemark wurden 1294 Patienten mit fortgeschrittenen KHT mittels RT oder RCT behandelt und in KHT außerhalb des Oropharynx konnte keine prognostische Aussagekraft herausgearbeitet werden [15]. Weiterhin wurden p16 positive non-OSCC Patienten nach Behandlung im Rahmen von 3 RTOG-Stu-



► **Abb. 1** Die Prävalenz onkogener HPV bei OSCC Patienten, die in Gießen behandelt wurden ist ansteigend. Aktuell liegt die Prävalenz über 50%. Datenpunkte repräsentieren Mittelwerte aus jeweils 4 Jahren.

dien ausgewertet. Dabei hatten im Vergleich zu p16-positiven OSCC Patienten, non-OSCC Patienten ein um 50 % erhöhtes Sterberisiko [16]. Für Patienten mit Larynxkarzinom wurden sogar schlechtere Überlebensraten publiziert, wenn der p16 Test positiv war [17]. Serologische Untersuchungen sprechen ebenfalls gegen einen Zusammenhang zwischen Erkrankungsrisiko an KHT (außer Oropharynx) und einer HR-HPV-Infektion. Odds Werte für das Risiko an OSCC zu erkranken betragen bei der Analyse von HPV-16 spezifischen Antikörpern 14,6 für OSCC gegenüber 3,6 (Mundhöhle) und 2,4 (Larynx) [18]. In einer neueren Untersuchung (ARCAGE-Studie) wurden 1496 KHT untersucht und HPV16 L1- und E6-Antikörper mit einer Risikoerhöhung um die Faktoren 8,6 bzw. 132,0 für die Entwicklung eines OSCC ermittelt. Demgegenüber wurden bspw. für das Larynxkarzinom marginale Werte von 1,54 und 4,18 beschrieben [19].

Zusammengefasst ist die Prävalenz HPV-getriebener Tumoren außerhalb des Oropharynx deutlich niedriger als angenommen und kann derzeit grob geschätzt mit unter 5 % angenommen werden. Es existiert keine belastbare Evidenz dafür, dass die Prognose dieser Patienten vergleichbar mit OSCC Patienten deutlich besser ist.

2.3 Epidemiologie kanzerogener HPV-Infektionen

Weil nahezu alle Erwachsenen in Deutschland Kontakt zu onkogenen HPV in der Adoleszenz haben, ist es bedeutsam zu verstehen, warum das HPV OSCC ausgerechnet in den letzten Jahrzehnten stetig häufiger und v. a. bei männlichen Patienten auftritt. Die geläufigste Manifestation einer HPV Infektion sind Warzen und genitale Kondylome. Beide Krankheiten werden in über 90 % der Fälle durch die nicht-onkogene HPV-Typen 6 und 11 verursacht. Die Infektion kann bereits bei der Geburt übertragen werden und ist dem HNO-Arzt insbesondere durch die respiratorische Papillomatose vertraut. Echte neoplastische Läsionen am Gebärmutterhals sind gelegentlich auch durch Typ 6 und Typ 11 bedingt, hier finden sich jedoch in der überwiegenden Zahl der Fälle die typischen onkogenen HPV-Typen 16, 18, 31 und 45.

Zur Prävalenz einer oralen Infektion mit HPV in der allgemeinen Bevölkerung liegen Querschnittsstudien vor, über die zeitliche Dynamik haben wir jedoch kaum Daten. In einem Review aus 18 Studien an 4581 gesunden Erwachsenen wurde die Häufigkeit für eine orale HR-HPV Infektion mit 1,3 % abgeschätzt [20]. Die Altersverteilung der oralen HPV Infektion zeigt eine bimodale Verteilung: Der erste Peak konnte zwischen 30–34 Jahren und der zweite Peak zwischen 60–64 Jahren ermittelt werden. Dabei waren die Infektionen signifikant häufiger bei männlichen Probanden detektierbar [21]. Grundsätzlich ist die Datenlage jedoch keineswegs als gesichert zu betrachten, denn Frauen hatten in einer anderen Untersuchung genauso häufig genitale onkogene HPV Infektionen wie Männer [22], lediglich die Zeit bis zur „Clearance“ unterschied sich (geringgradig) zu Ungunsten der Männer. Häufigkeit und Art geschlechtlicher Kontakte (Oralverkehr, Zungenküsse, Zahl der Geschlechtspartner) sowie Alter bei der Kohabitarche, Marihuana-Konsum, Zigarettenkonsum und genitale HPV-Infektion konnten dabei als Risikofaktoren herausgearbeitet werden [23]. Die durchschnittliche Dauer einer oralen HPV-Infektion wurde an 1626 männlichen Probanden untersucht und im Durchschnitt mit etwa 7 Monaten ermittelt, die Nachbeobachtungszeit betrug dabei jedoch nur 13 Monate [24]. Die Großzahl oraler HPV Infektionen heilt also innerhalb mehrerer Monate folgenlos aus, Reinfektionen sind selten. Bemerkenswert ist wei-

terhin, dass bei Partnern von HPV OSCC Patienten die Infektionsrate auch nur knapp über 1 % liegt [25]. Immundefizienz (HIV-Infektion), Zigarettenkonsum und ein hohes Lebensalter sind als Risikofaktoren für eine persistente orale HPV-Infektion ebenfalls beschrieben [26]. Zum Verständnis der höheren Häufigkeit oraler HPV Infektionen bei Männern tragen weiterhin Daten bei, die eine höhere Anzahl von Geschlechtspartnern, ein jüngeres Alter bei der Kohabitarche und zahlreichere orale sexuelle Kontakte bei Männern aufzeigten [27]. Ein weiterer Hinweis auf die Suszeptibilität von Männern für HPV-16 verursachte OSCC ist, dass genitale HPV Infektionen beim Mann überwiegend durch HPV-Typ 16 und nicht Typ 18 verursacht sind [28].

Wirklich handfeste Daten warum überwiegend Männer HPV-16 getriebene OSCC entwickeln liegen also nicht vor, jedoch gibt es zahlreiche Hinweise für eine Akkumulation von Risiken (Kinetik der Infektion, Nikotin, sexuelle Risiken, s. Kapitel 4). In der Summe könnte hierdurch erklärt werden, warum aktuell geschätzt 75 % der Patienten mit HPV OSCC männlich sind. Im Gegensatz zur Datenlage für den Inzidenzanstieg beim OSCC gibt es jedoch keine Daten, die eine Zunahme oraler HR-HPV-Infektionen belegen.

2.4 Entwicklung in Regionen mit konsequenter Primärprophylaxe

Eine Primärprophylaxe gegen kanzerogene HPV steht in Form der HPV-Vakzine zur Verfügung. Der von der Firma Sanofi Pasteur MSD hergestellte vierfach-Impfstoff Gardasil wurde im Jahr 2006 in den USA und Europa zugelassen. Ein Jahr später erfolgte die Zulassung des bivalenten Impfstoffes Cervarix. Beide Impfstoffe enthalten das rekombinante Kapsidprotein L1, jeweils der HPV-Typen 16 und 18, bzw. 6, 11, 16 und 18. Ab April 2016 ist der neunfach-Impfstoff Gardasil 9 verfügbar und schützt zusätzlich vor den HR-HPV-Typen 31, 33, 45, 52 und 58. Vorteile sind ein erweiterter Impfschutz und ein 2-Dosen-Schema (im Abstand von 5–13 Monaten). Die HPV-Impfstoffe sind ab einem Alter von 9 Jahren zugelassen und die Impfung soll vor dem ersten Geschlechtsverkehr durchgeführt werden. Die Zulassung besteht für Mädchen und Jungen, allerdings empfiehlt die STIKO aktuell nur die Impfung von Mädchen und auch nur diese wird von den Krankenkassen erstattet.

Der HPV-Impfstoff wird aktuell in Deutschland nicht breit genutzt. Nach einer Analyse der Versichertendaten der AOK Baden-Württemberg waren von den jungen Frauen des Jahrgangs 1996 nur 37 % vollständig geimpft. Zum Vergleich liegt die Impfquote bei Mumps und Röteln laut RKI bei 92 %. Vergleichbare Daten mit Vakzinierungsraten < 40 % bei Mädchen wurden vom Gesundheitsministerium in 2014 publiziert [29]. Die Datenlage spricht eindeutig für eine Impfung auch von Jungen. Allerdings wurde die Zulassungsstudie naturgemäß anhand von Krebsvorläuferstufen an der Zervix durchgeführt und entsprechend beziehen sich Kosten-Nutzen-Analysen ebenfalls auf Erkrankungen der uterinen Zervix [30].

In 2015 hatten 34 % der Länder weltweit ein HPV-Immunisierungsprogramm. Von einer Vakzinierung profitierten im selben Zeitraum jedoch populationsbedingt lediglich weniger als 5 % aller Frauen (in Ländern mit hoher Inzidenz häufig kein Programm). Aus Ländern mit einer hohen Coverage sind zahlreiche Daten vorhanden, die einen Effekt auf HPV-bedingte Erkrankungen auch abseits des Zervixkarzinoms berichten. Bspw. konnte in einer Literaturübersicht aus 2015 in Ländern mit einer Immunisierungsrate von über 50 % eine Reduktion der HR-HPV-Infektionen um 68 %, sowie anogenitaler

Warzen den von über 60 % herausgearbeitet werden [31]. Die höchsten Abnahmen HR-HPV bedingter Neuerkrankungen außer Zervixkarzinom wurden konsistent aus Ländern mit Vakzinierungsprogramm und so genannter „catch-up“ Vakzinierung älterer nicht-geimpfter Personen berichtet (Australien, Kanada, Dänemark und Neuseeland). Die Programme wurden nahezu immer begleitend zur Schulbildung implementiert.

Aus Australien liegen überzeugende Daten zur respiratorischen Papillomatose (RRP) vor [32]. Von Pädiatern und HNO-Ärzten wurden zwischen 2011 und 2015 neu aufgetretene Fälle juveniler RRP gesammelt und in einem Kongreßbericht publiziert. Lediglich 13 Fälle wurden gemeldet (7–2012, 3–2013, 2–2014 und 1 Fall in 2015). Keine der Mütter dieser Fälle hatte einen Impfschutz. Zwei Strategien werden zur Prophylaxe der RRP bei Kindern zusätzlich diskutiert: erstens die Impfung von Neugeborenen, wenn bei der Mutter Kondylome bestanden und zweitens die Impfung von Schwangeren mit nachgewiesener HPV 6 oder 11-Infektion um ggf. durch Weitergabe von Antikörpern das Kind vor einer Infektion zu schützen. Bei geimpften Müttern konnten vergleichbar hohe Antikörpertiter in Neugeborenen gezeigt werden [33].

Oropharynxkarzinome treten überwiegend bei männlichen Patienten auf, bei der RRP ist das Geschlechterverhältnis annähernd ausgeglichen. Zahlreiche weitere Erkrankungen mit hoher Last für die Betroffenen sind durch kanzerogene und nicht-kanzerogene HPV bedingt. Welcher Nutzen ist nun für andere Krankheiten als das Zervixkarzinom zu erwarten? Bei konsequenter Impfprophylaxe sollte auch ein dramatischer Effekt auf die Inzidenzraten von HPV OSCC zu erwarten sein. In vielen Publikationen ist die HPV-Impfung daher auch für Jungen empfohlen und die Empfehlung kann nach Ansicht der Autoren uneingeschränkt nachvollzogen werden.

3. Karzinogenese

Die Karzinogenese ist ein aus mehreren Stufen bestehender Prozess, in dem genetische und epigenetische Veränderungen in Krebs-assoziierten Signalwegen im Laufe der Zeit akkumulieren. Dies erzeugt den typischen Phänotyp maligner Zellen gekennzeichnet durch: unbeschränktes Replikationspotenzial, Unabhängigkeit von Wachstumsfaktoren, unterdrückte Apoptosefähigkeit, invasives Wachstum und Metastasierungspotenzial, sowie gesteigerter Angiogenese [34, 35]. Das individuelle Risiko eine Krebserkrankung zu entwickeln hängt von extrem diversen und z. T. voneinander abhängigen Faktoren ab und kann dementsprechend schwer bestimmt werden. Die wichtigsten Gruppen von Risikofaktoren umfassen: Umwelteinflüsse (UV- und andere natürliche Strahlung, anthropogene Stoffe / Strahlung), Noxen (Tabak- / Alkoholkonsum, HPV-Infektion), genetische Prädisposition (z. B. BRCA1/2 Mutationen bei familiärem Brust- und Eierstockkrebs), Immunfaktoren (Impfungen, Immunsuppressiva) und Lebensalter.

Bei der Mehrzahl der KHT handelt es sich um Plattenepithelkarzinome, die im Wesentlichen mit den Risikofaktoren Tabak- und Alkoholkonsum oder onkogenen HPV assoziiert sind. Die Karzinogenese bei HPV-assoziierten und HPV-negativen KHT ist grundsätzlich unterschiedlich. Beide Patientengruppen sind mit weiteren spezifischen Risikofaktoren assoziiert (siehe Kapitel 2). Ein getrenntes Risiko eine der beiden Krebserkrankungen zu entwickeln ist schwer abzuschätzen, da keiner der Risikofaktoren isoliert auftritt und eine

Überschneidung von Risiken in individuellem Umfang nicht die Ausnahme, sondern die Regel ist.

3.1 Leukoplakien – prä-maligne Veränderungen

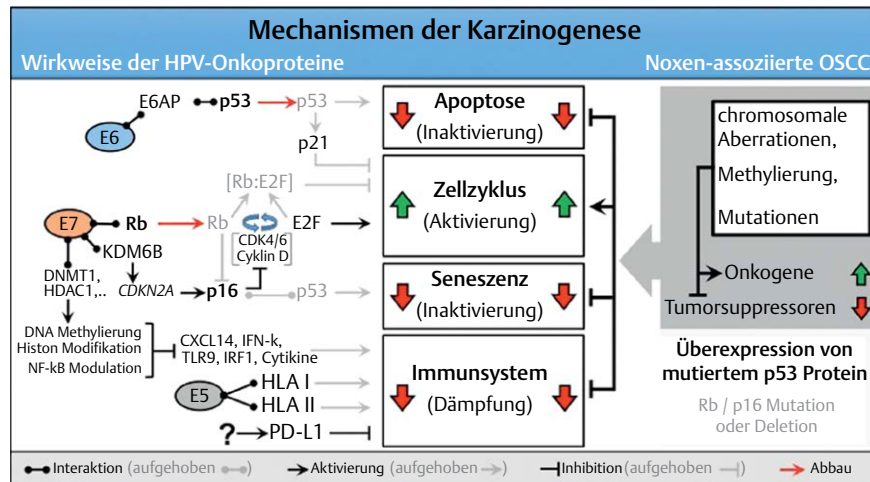
Bei HPV-negativen KHT sind prä-maligne Veränderungen seit Jahrzehnten bekannt, insbesondere in der Mundhöhle [36, 37]. In Abhängigkeit verschiedener Risikofaktoren (Geschlecht, Größe der Läsion und WHO-Grad der Dysplasie) wird eine Transformationsrate von 1–2 % angenommen. Genetische Veränderungen scheinen hierbei am verlässlichsten mit der malignen Transformation einherzugehen, wogegen HPV nur zu etwa 1 % in Leukoplakien nachgewiesen wurde [38, 39]. Grundsätzlich kann die Entartungswahrscheinlichkeit bei Krebsvorstufen nur unsicher vorhergesagt werden und beim HPV OSCC wurden Krebsvorstufen bisher nicht eindeutig identifiziert (s. u.).

3.2 Feldkanzerisierung

Leukoplakien sind sichtbare Veränderungen, denen makroskopisch unsichtbare Vorläuferläsionen vorangehen. Diese nicht erkennbaren Läsionen erklären vermutlich die Neigung nach der Behandlung lokoregionäre Rezidive zu entwickeln. Durch die Verbindung lokoregionärer Rezidive mit dem Auftreten dysplastischer Veränderungen im Umfeld wurde 1953 der Begriff der Feldkanzerisierung entwickelt [40]. Inzwischen ist dieser Begriff mithilfe molekularbiologischer und genetischer Methoden näher definiert worden. Ein mehrstufiges Entwicklungsmodell aus morphologischen und genetischen Veränderungen wurde bereits 1996 vorgeschlagen, mit typischen genetischen Veränderungen bei Dysplasien (loss of heterozygosity (LOH) auf Chromosomen 3p, 9p und 17p) und Karzinomen (LOH auf Chromosomen 11q, 4q und 8) [41]. Wenig später wurde gezeigt, dass in wenigstens 35 % oraler und oropharyngealer Tumore genetische Veränderungen in Schleimhautzellen im Umfeld von Karzinomen vorliegen, wobei das Epithel in diesem Bereich normal erschien. Dies spricht dafür, dass die Karzinogenese ein Feld von unterschiedlichen Vorstufen betrifft, die für das bloße Auge unsichtbar über Resektionsränder hinausgehen und lokoregionäre Rezidive hervorrufen können. Weiterhin wurden fokale Bereiche mit immunhistologischer p53-Positivität im Umfeld von Karzinomen identifiziert, die „klonale Einheiten“ kennzeichnen und aus einer gemeinsamen Vorläuferläsion hervorgegangen sind [42]. Mutationen in TP53 rufen die Expression (eines inaktiven) Tumorsuppressorproteins p53 hervor und werden als eine der frühesten onkogenen Veränderungen angesehen. Zusammen mit der Feldkanzerisierung stellt die mehrstufige Entwicklung das aktuelle Modell der Karzinogenese bei HPV-negativen KHT dar [43].

3.3 HPV

In der klassischen Vorstellung erfolgt während einer latent persistierenden Infektion mit onkogenen HPV die Integration der viralen DNA in das Genom der Wirtszelle. Diese Integration erfordert eine Linearisierung der viralen DNA, die häufig als Bruchstelle innerhalb des E2 Leserahmens auftritt. Das virale E2 Protein kontrolliert die Aktivität der viralen Onkoproteine E6 und E7 und der Bruch des E2 Leserahmens führt zu deren verstärkter Expression. Im natürlichen epidermalen Lebenszyklus von HPV unterbinden E6 und E7 die Apoptose und treiben den Zellzyklus voran, wodurch die epithelialen Zellen proliferieren und die Infektion persistent bleibt (► **Abb. 2**). In der



► **Abb. 2** Die molekularen Mechanismen der Karzinogene bei HPV- und Noxen-assoziierten OSCC (vereinfacht). Dysfunktion der gleichen zellulären Programme (Apoptose, Zellzyklus, Seneszenz und Immunsystem) führt in beiden Gruppen zur Karzinogenese. Multiple genetische Veränderungen, die eine Reihe von Komponenten der Signalwege betreffen können, führen bei Noxen-assoziierten OSCC zur Aktivierung von Onkogenen und Inaktivierung von Tumorsuppressoren. Dagegen erfolgen durch die HPV-Onkoproteine E5, E6 und E7 gerichtete Eingriffe in Signalwege, wodurch die gleichen zellulären Programme fehlreguliert werden. Charakteristisch sind bei Noxen-assoziierten OSCC Mutationen in TP53 wodurch häufig inaktives p53 überexprimiert vorliegt, sowie Mutationen in den Genen von Rb und p16INK4A (p16) wodurch beide Proteine reduziert nachweisbar sind. Diese Mutationen fehlen in der Regel bei HPV-assoziierten OSCC und aufgrund der Aktivität von E7 liegt p16 überexprimiert vor.

Folge werden infizierte Zellen in höhere Hautschichten geschoben, wo die Aktivität von E6 und E7 abnimmt und Hüllproteine der viralen Kapside produziert werden. Während der HPV-assoziierten Karzinogenese wird p53 durch die Aktivität von E6 für den proteolytischen Abbau markiert und folglich inaktiviert. E7 bindet an das Retinoblastomprotein (RB) wodurch der Zellzyklus angetrieben und der Transkriptionsfaktor E2F freigesetzt wird. Dieser erhöht die Transkription von Genen, die für die Zellproliferation relevant sind.

Im Unterschied zur schrittweisen Akkumulation genetischer Veränderungen bei HPV-negativen KHT erfolgen diese beiden wesentlichen Schritte bedingt durch die Aktivität viraler Onkoproteine beim HPV OSCC. Folglich sind bei HPV-assoziierten KHT Mutationen in TP53 (und dadurch bedingte Überexpression von p53) und HPV-induzierte Felder der Karzinogenese unbekannt. Dies wurde experimentell durch die Abwesenheit von viralen E6 Transkripten an Resektionsrändern HPV-assoziiierter KHT bestätigt [44]. Im Unterschied zum Zervixkarzinom, bei dem Vorstufen durch Anfärbung durch Essigsäure verfolgt werden können, sind Vorstufen HPV-assoziiierter OSCC unbekannt.

3.4 Genetische Veränderungen

3.4.1 Mutationen

Das am häufigsten bei soliden Tumoren von Mutationen betroffene Gen ist TP53. In einer vergleichenden Studie wurden whole-exome Analysen an 15 Typen solider Tumore durchgeführt, in 11 davon war TP53 das häufigste mutierte Gen und in den übrigen Entitäten 2-mal auf dem zweiten und 1-mal auf dem dritten Platz (hinter KRAS bzw. BRAF und NRFA) [45]. In HNSCC liegt die Mutationsrate von TP53 mit etwa 40% der Fälle im oberen Drittel solider Tumore. Interessanterweise weist mit knapp 6% das Zervixkarzinom die auffallend niedrigste TP53 Mutationsrate auf, was mit der sehr hohen Rate HPV-as-

soziierter Karzinome zusammenhängt [46]. Mutationen treten an vielen Positionen von TP53 auf, wobei etwa an 12 hotspots jeweils mehr als 1% aller Mutationen auftreten. 9 dieser hotspots betreffen Aminosäuren, die direkt an der spezifischen DNA-Bindung von TP53, oder solche, die für die korrekte Faltung der DNA-Bindedomäne beteiligt sind. Andere Mutationen liegen in Introns und beeinflussen alternatives splicing/Spleißen von TP53, was Auswirkung auf Isoformen von TP53 hat.

Neben TP53 sind Mutationen in CDKN2A und RB1 (RB, Retinoblastoma-associated protein) bei HPV-negativen KHT häufig, sie fehlen jedoch beim HPV-assoziierten OSCC. RB1 kodiert RB und wie bei p53 wird die Aktivität dieses Signalwegs in HPV-assoziierten KHT durch virale Onkoproteine dysreguliert, wodurch die geringe Mutationsrate erklärt werden kann. CDKN2A (cyclin-dependent kinase Inhibitor 2A) kodiert das Tumorsuppressorprotein p16, dessen Wirkung in HPV-assoziierten KHT durch Inaktivierung von RB downstream aufgehoben ist. Aktivierende Mutationen der katalytischen Untereinheiten von PI3K (Phosphoinositid-3-Kinasen), insbesondere in PIK3CA, sind in mehreren Studien vornehmlich beim HPV OSCC beschrieben worden [47, 48]. Dagegen wurden inaktivierende Mutationen im PIK3CA-Inhibitor PTEN häufiger bei HPV-negativen HNSCC nachgewiesen [49]. PI3K ist ein Multiproteinkomplex, der an der Regulation wichtiger Funktionen wie Zellwachstum/Zellproliferation, Zelladhäsion/Migration, Differenzierung und Überleben beteiligt und für HPV-negative und HPV-assoziierte HNSCC offenbar gleichsam bedeutend ist.

Weitere aktivierende Mutationen wurden in FGFR3 und FBXW7 beim HPV OSCC in mehreren Studien detektiert [47, 48, 50, 51]. Der membranständige Fibroblastenwachstumsfaktorrezeptor-3 (FGFR3) ist ein Aktivator des PI3K-Signalwegs und FBXW7 ist an der Inaktivierung von Cyclin E, c-Jun, c-Myc und Notch1 beteiligt. Mutationen

in KRAS wurden ebenso bei HPV OSCC beschrieben [47, 48], dies konnte jedoch durch eine eigene Studie nicht bestätigt werden [49]. Aktuell bedeutsam erscheinen Mutationen in HLA- und β 2-Mikroglobulin-Genen, die häufiger im HPV OSCC gefunden werden [50]. Dies wurde durch immunhistochemische Untersuchungen bestätigt [52] und könnte im Hinblick auf Immuncheckpoint Therapien zukünftig relevant werden.

3.4.2 Genetische Aberrationen (copy number variation, CNV)

Aufgrund ihrer Größe, die bis hin zum Verlust ganzer Chromosomen oder deren Arme reicht, zählen chromosomale Aberrationen zu den ersten genetischen Veränderungen, die in malignen Zellen nachgewiesen wurden. Komplexe Karyotypen mit umfassenden numerischen und strukturellen Chromosomenaberrationen sind charakteristisch für KHT [53]. Entsprechend dem Modell der Feldkanzerisierung konnten in CGH Analysen distinkte chromosomale Veränderungen mit Progression einer Dysplasie bis hin zum invasiven Karzinom korreliert werden. Der Übergang von leichter zur moderaten Dysplasie war hierbei gekennzeichnet von Zugewinnen auf Chromosom 3q26-qter, 5p15, 8q11-21, und 8q24.1-qter und Verlusten auf 18q22-qter. Zugewinne auf 11q13, 14q, 17q11-22, und 20q und Verluste von 9p waren hingegen typisch beim Übergang von moderater zur schweren Dysplasie. Invasives Wachstum wurde mit gemeinsam auftretenden Verlusten auf Chromosom 3p14-21 und 5q12-22, die lymphogene Metastasierung dagegen mit dem Verlust von 4p in Verbindung gebracht [54]. Für Letztere wurden ebenso Zugewinne auf Chromosom 10p11-12 und 11p, sowie Verluste auf 4q22-31, 9p13-24, und 14q beschrieben, die bei entsprechenden Primärtumoren nicht vorhanden waren [55]. Interessanterweise finden sich auf den genannten Bereichen Gene, die involviert sind in der Zelladhäsion, sowie Faktoren des MAP(mitogen-activated protein)-Kinase- und PI3K(Phosphoinositid-3-Kinasen)-Signalwegs, die ebenfalls häufig von Mutationen betroffen sind.

Beim KHT häufig beschriebene Amplifikationen finden sich auf den Chromosomen 3q-, 8q- und 20p, unabhängig vom HPV-Status [47, 48, 50, 56]. Wichtige Gene in diesen Regionen sind bspw. PIK3CA, TP63, SOX2, sowie das Onkogen MYC, welches in Folge der Genamplifikation vermutlich verstärkte Aktivität besitzt. Bei Karzinomen der Zervix wurde allerdings eine 3q-Amplifikation im Zusammenhang mit der Integration des HPV-Genoms beschrieben [57]. Auch wurden Deletionen von 13q bei HPV-assoziierten und HPV-negativen HNSCC beschrieben, jedoch insgesamt seltener bei HPV-assoziierten, was auch durch whole-genome NGS (Next Generation Sequencing)-Analyse bestätigt werden konnte [50]. Der Chromosomenabschnitt 13q codiert Gene wie RB1 und CCNA1 (Cyclin A), die an der Regulation des Zellzyklus beteiligt sind und in HPV OSCC offensichtlich durch virale Onkoproteine dysreguliert werden.

Allgemein scheint eine erhöhte chromosomale Instabilität beim KHT mit einer ungünstigen Prognose einherzugehen, was insbesondere auch bei HPV OSCC gezeigt werden konnte [58]. Obwohl bei HPV OSCC und HPV-negativen KHT weitgehend die gleichen, aber auf unterschiedliche Weise dysregulierte Signalwege in der Karzinogenese von Bedeutung sind, können eine Reihe spezifischer genetischer Aberrationen für beide Subgruppen genannt werden. Bspw. konnten Amplifikationen von 5p, 7p, 8p, 11q, 12q, 17q und 18p beim HPV OSCC bisher nicht verifiziert werden. Deutlich seltener finden sich hier ebenfalls Verluste von 3p, 4q, 5q, 18q und 9p. Auf Letzte-

rem ist bspw. p16 codiert, was nahelegt warum die p16-Expression bei HPV-assoziierten Karzinomen als Marker funktioniert [8, 59–62].

Eine HPV-spezifische Aberration sind Verluste auf Chromosom 16q, die mit einer günstigen Prognose der Patienten einhergeht [50, 56, 63]. Interessanterweise liegt auf 16q das Tumorsuppressor-gen WWOX. WWOX überspannt eine der 3 häufigsten „common chromosomal fragile sites“ (FRA16D). Aberrationen an FRA16D mit entsprechend dysregulierter WWOX Expression sind bei unterschiedlichen Tumortypen bekannt und allgemein mit einer schlechten Prognose der Patienten assoziiert [64]. Aus Daten des Krebsgenom Projektes (TCGA) konnten mittels NGS an 279 KHT eine HPV-spezifische Amplifikation auf Chromosom 20q11 (E2F1-Gen) und eine Deletion auf Chromosom 14q32.32 (TRAF3-Gen, TNF receptor-associated factor 3) identifiziert werden [50]. Eine durch Amplifikation von 20q11 hervorgerufene Überexpression könnte im Zusammenhang mit den viralen Onkoproteinen (E6 & E7, die ebenfalls E2F aktivieren) synergistische Wirkungen entfalten. TRAF3-Verlust interferiert mit dem NF κ B Signalweg und spielt somit eine Rolle bei Entzündungsreaktionen, sowie der angeborenen und erworbenen Immunantwort gegen Viren [65].

3.4.3 HPV Integration

Obwohl die Linearisierung im E2 Leserahmen des HPV-Genoms als primärer Schritt im klassischen Modell der HPV-induzierten Karzinogenese angesehen wird, ist die Expression der Onkogene E6 und E7 unabhängig von der Kopienzahl oder Integration viraler DNA und in mehr als 60% von HPV OSCC wurde lediglich episomale Virus-DNA mithilfe von PCR nachgewiesen [66, 67]. Daten aktueller Sequenzanalysen zeigen, dass alle 3 möglichen Stadien des HPV-Genoms (rein episomal oder integriert, oder eine Mischung aus beidem) annähernd gleich häufig vorkommen und wahrscheinlich mehrere Mechanismen zur dysregulierten Expression der viralen Onkoproteine führen [68], inklusive Methylierung von E2-Bindestellen in der Regulatorregion von E6 und E7 (s. u.).

An HPV-transfizierten Keratinozyten konnte gezeigt werden, dass Integrationsstellen der viralen DNA an vielen Positionen im Genom auftreten, ebenfalls aber in oder in der Nähe wichtiger Regulatorgene der Zellproliferation [69]. An einem Fall einer malignen Transformation juveniler (HPV Typ 6 assoziierter) RRP wurde HPV-DNA Integration in das human AKR1C3 Gen beschrieben. AKR1C3 codiert ein Enzym (aldo-keto reductase family 1 member C3) des Androgen- und Estrogenstoffwechsels und ist beim Prostatakarzinom im Zusammenhang mit PSA Produktion beschrieben, bei HNSCC jedoch weitgehend unbekannt [70]. Die Rolle der Virus-DNA Integration bei der HPV-assoziierten Karzinogenese ist nicht abschließend geklärt. Es scheint ein Zusammenhang zwischen chromosomaler Instabilität und Tumorprogression zu bestehen. Demgegenüber wurde in derselben Studie HPV-DNA Integration mit einer besseren Prognose von Patienten mit Tonsillenzellkarzinomen assoziiert [58].

3.5 Epigenetische Veränderungen

3.5.1 Epigenetische Veränderungen von Nukleinsäuren

Epigenetische Veränderungen beschreiben Modifizierungen der Erbinformation, wodurch die „Genaktivität“, jedoch nicht die Sequenz der Nukleinsäure verändert wird. Die Modifikation der Nukleinsäure beeinflusst den Phänotyp und kann an Tochterzellen weitergegeben werden. Die wichtigsten Formen sind Methylierung der DNA und

Modifikation von Histonen. Methylierung von DNA ist (wie die Modifikation von Histonen) reversibel und wird genutzt, um die statische Information der Nukleinsäuresequenz variabel zu nutzen. Durch Methylierung von Transkriptionsfaktor-Bindestellen kann die Aktivität einzelner Gene, Gruppen von Genen, oder ganzer Chromosomen gesteuert werden, bspw. bei Geschlechts-spezifischer Inaktivierung des X-Chromosoms oder der genetischen Prägung (genomic imprinting) in Abhängigkeit von der elterlichen Herkunft bestimmter Allele.

Verschiedene Methylierungsmuster wurden im Zusammenhang mit Tumoviren, einschließlich HPV beschrieben [71, 72]. Das wichtigste Beispiel zur epigenetischen Genregulation in Bezug auf HPV ist CDKN2A, das auf Chromosom 9p lokalisiert und das Tumorsuppressorprotein p16 kodiert. p16 inhibiert den Zellzyklus und seine Expression ist oftmals beim KHT durch Methylierung des Genpromotors, Mutation oder homozygote Deletion des Gens inhibiert [50, 73]. Im Gegensatz hierzu wird in HPV OSCC eine starke Überexpression von p16 beobachtet, die als Surrogat Marker für diese Entität angesehen wird. Entgegen früherer Annahmen beruht diese Überexpression nicht auf der E7-bedingten transkriptionellen Aktivierung von p16 durch die Freisetzung von E2F. Vielmehr wurde eine direkte Aktivierung der zellulären Seneszenz durch die Expression von E7 nachgewiesen. Hierdurch wird die Histon H3K27-spezifische Lysin Demethylase 6B (KDM6B) und dessen downstream Zielgen CDKN2A aktiviert [74]. In HPV-assoziierten Tumorzellen liegt Rb durch E7 inhibiert vor. Demzufolge folgt aus der Überexpression von p16 kein inhibitorischer Effekt auf Tumorzellen (► **Abb. 2**). Vielmehr scheint die Aktivität der Cyclin-abhängigen Kinasen 4 und 6 (CDK4/6) im Kontext der Rb-Inhibition von Tumorzellen nicht tolerierbar zu sein, wodurch eine Abhängigkeit von der Expression des CDK4/6 Inhibitorprotein p16 entsteht und dessen Überexpression für die Karzinogenese förderlich ist, im Gegensatz zu HPV-negativen Tumoren [75].

Neben p16 entsteht durch alternatives Spleißen p14ARF, ein weiteres Genprodukt von CDKN2A. Die Proteinsequenz von p14ARF entsteht durch Ablesen eines alternativen Leserahmens (alternative reading frame, ARF) von CDKN2A und unterscheidet sich grundlegend von p16. p14ARF inhibiert die Ubiquitin-Ligase MDM2, wodurch p53 stabilisiert und der Zellzyklusregulator p21 exprimiert wird. p21 interagiert und inhibiert Cyclin-CDK Komplexe, wodurch der Zellzyklus zwischen der G2 und der Metaphase angehalten wird. Die Regulation der p14ARF Expression erfolgt durch Modifikation von CpG Loci unterhalb der Transkriptionsstarts von p14ARF und p16, deren Methylierung in OSCC mit positivem HPV-Status und erhöhter Expression von p14ARF, aber nicht von p16 korreliert [76]. Ein Zusammenhang von zunehmendem Methylierungsgrad von CDKN2A mit ansteigendem Grad von Dysplasien wurde bei der Zervix festgestellt, wobei dies nicht die entsprechende Promotorregion betrifft [77]. Auch bei Patienten mit KHT besteht ein Zusammenhang zwischen Methylierungsmustern und dem klinischen Verlauf. Bspw. konnte der Therapieerfolg anhand der Promotormethylierung von lediglich 5 Genen (ALDH1A2, OSR2, IRX4, GRIA4, und GATA4) bei Patienten mit KHT erfolgreich vorhergesagt werden [71, 78].

Das „klassische Erklärungsmodell“ der HPV-assoziierten Karzinogenese geht von einer Integration der viralen DNA in das humane Genom aus, wodurch der E2-Leserahmen unterbrochen und die Hemmung der viralen Onkoproteine E6 und E7 aufgehoben wird. Häufig liegen neben integrierter HPV DNA jedoch weiterhin episomale HPV-

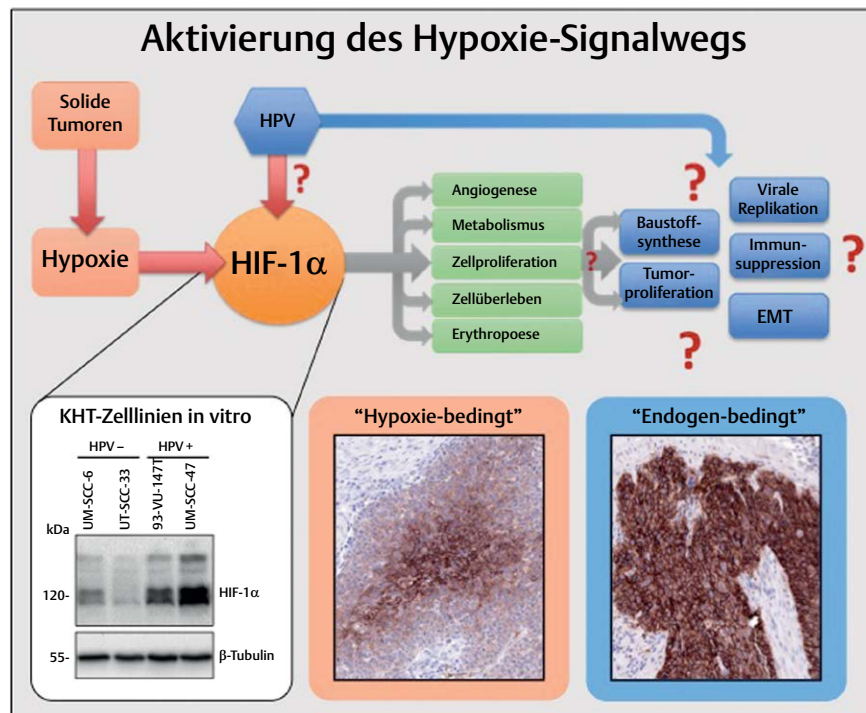
Kopien und somit intaktes E2-Gen vor, und bei etwa einem Drittel HPV-assoziiierter OSCC wird ausschließlich episomale Virus-DNA nachgewiesen. Das klassische Erklärungsmodell ist hier offensichtlich nicht ausreichend und eine Methylierung der E2-Bindestelle in der Regulationsregion für E6 und E7 im HPV-Genom wurde als weiterer, Integrations-unabhängiger Regulationsmechanismus für die Expression von E6 und E7 ausgemacht [79, 80].

3.5.2 microRNA Expression

microRNAs (miRNA) entstehen aus Haarnadel-Schleifen-ähnlichen Vorläufertranskripten von 60–70 Nukleotiden, die auf eine Länge von ca. 22 Nukleotiden gekürzt werden. Zusammen mit den Proteinen DICER1 und Argonaute (AGO) werden sie in den miRNA-induced silencing complex (miRISC) eingebaut und leiten diesen aufgrund ihrer Sequenz an korrespondierende Zielsequenzen der mRNA, die daraufhin enzymatisch gespalten werden. Dieser relativ einfache Regulationsmechanismus der Genexpression ist in Realität deutlich komplexer, da miRNAs, je nach Konservierungsgrad ihrer Zielsequenz, an unterschiedliche mRNAs binden können und mRNA Bindestellen für mehr als eine miRNA aufweisen können.

Trotz methodischer Fortschritte in den letzten Jahren wurden bisher nur wenige vergleichende Studien zur differentiellen Expression von miRNAs hinsichtlich des HPV-Status bei KHT durchgeführt und nur „eine Handvoll“ miRNAs werden bisher in mehr als einer Studie genannt [81]. In einer der aktuellsten Studien wurden 1719 miRNA Sequenzen bei 15 HPV-negativen und 11 HPV-assoziierten OSCC mithilfe von Mikroarrays untersucht. Es konnten 25 differentiell exprimierte miRNAs identifiziert werden, deren Funktionen in silico im Zusammenhang mit den PI3K- und Wnt-Signalwegen, der Regulation des Zytoskelett und der fokalen Adhäsion herausgearbeitet wurden [82]. Unter den meistbekanntesten miRNAs ist Hsa-miR-363, die im Vergleich zu HPV-negativen bei HPV-assoziierten HNSCC hochreguliert vorliegt [83–85]. Zielsequenzen von Hsa-miR-363 finden sich bspw. in CDKN1A (cyclin-dependent kinase inhibitor 1), CASP3 (Caspase-3) und CD274 (programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1) und weisen auf regulatorische Funktionen in Apoptose, Zellzyklus, Transkription und Immunologie hin. Ein weiteres Beispiel ist miRNA203, deren Expression durch das HPV Onkoprotein E7 während der zellulären Differenzierung herunterreguliert wird. Ein Zielgen von miRNA203 ist der Transkriptionsfaktor p63 und sowohl die Expression von p63, als auch dessen downstream Zielgene wie CARM-1, p21, und Bax wird durch die Inhibition von miRNA203 durch E7 erhöht [86]. Hierdurch verbleiben epitheliale Zellen proliferativ und in einem undifferenzierten Stadium, was für den natürlichen Lebenszyklus von HPV benötigt wird. Im HPV E6/E7 induzierten Tumormodell in humanen Keratinozyten verstärkt p63 Invasivität durch Modulation des Src-FAK (focal adhesion kinase) Signalwegs, indem fokale Zellkontakte (focal adhesion) aufgelöst und die extrazelluläre Matrix (ECM) umgebaut wird [87].

Neben zellulären miRNAs wurden miRNAs codiert im HPV-Genom entdeckt und auch experimentell bestätigt. Potenzielle Zielsequenzen dieser miRNAs finden sich im HPV-Genom, aber auch im humanen Genom [88]. Interessanterweise wurden ebenfalls Zielsequenzen zweier weniger häufigen humanen miRNAs (miR-875 und miR-3144) in HPV-E6 Gen identifiziert. In HPV16 positiven Zellkulturen inhibieren



► **Abb. 3** Häufig liegt in soliden Tumoren eine Aktivierung des Hypoxie-Signalwegs vor, die sich in der Expression entsprechender Markerproteinen (hier Glut 1) zentral in Tumornestern äußert und immunohistochemisch nachweisbar ist („Hypoxie-bedingt“). Manche Tumore zeigen jedoch eine einheitliche starke Expression der gleichen Marker, die auf andere Aktivierungsmechanismen des Signalwegs schließen lassen („Endogen-bedingt“). Das zentrale Regulatorprotein des Hypoxie-Signalwegs (HIF-1 α) liegt bei HPV-assoziierten Tumorzellen im Vergleich zu HPV-negativen Tumorzellen überexprimiert vor (Western-Blot links unten). Analog zu ► **Abb. 2** führt die virale Aktivität zur Aktivierung des Hypoxie-Signalwegs und somit zu Prozessen, die für die Karzinogenese förderlich sind.

beide das Wachstum und induzieren Apoptose [89], was die komplexen Regulationsmöglichkeiten durch miRNAs deutlich macht.

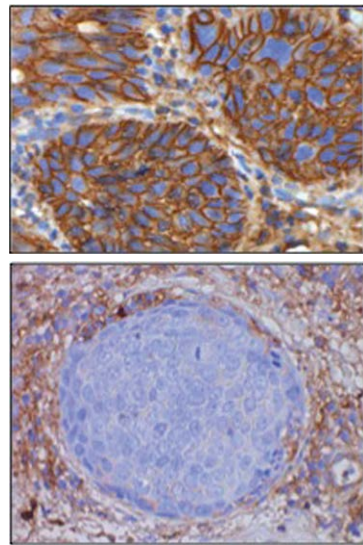
3.6 Dysregulation des Tumormetabolismus

Tumorhypoxie wurde als bedeutsam für das Überleben und Therapieansprechen von KHT beschrieben [90–92]. Es ist bekannt, dass Patienten mit einer Tumorhypoxie, aufgrund verminderter Präsenz reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), schlechter auf eine Bestrahlung ansprechen. Während der Bildung eines Tumors kommt es zur Entstehung eines Tumor-spezifischen Metabolismus, um die Energieversorgung und Proliferation der Zellen zu gewährleisten. Ein spezifisches Merkmal dieses Metabolismus ist eine gesteigerte Umsetzung von Glukose zu Laktat, welche unter aeroben Bedingungen als „Warburg-Effekt“ erstmals im Jahre 1924 beschrieben wurde. Die Umsetzung von Glukose zu Laktat liefert jedoch nur 2 Mole ATP pro Mol Glukose, was durch eine gesteigerte Glykolyserate kompensiert wird [93–95]. Dieser angepasste Metabolismus des Tumors dient neben der Energiegewinnung dazu, wichtige Zellbausteine (z. B. Nukleinsäuren, Aminosäuren und Lipide) bereitzustellen [96].

Hypoxie ist ein häufig in vielen soliden Tumoren vorkommendes Ereignis, welches dadurch auftritt, dass die Tumorzellen schnell proliferieren, eine kritische Masse überschreiten und dies zur Obstruktion und Kompression der Blutgefäße in der unmittelbaren Umgebung des Tumors führt. Daraus resultiert dann schließlich eine schlechte Sauerstoffversorgung der Tumorzentren, was dazu führt,

dass sich Tumorzellen in diesen hypoxischen Regionen an den Sauerstoffmangel adaptieren und diverse Signalwege angeschaltet werden, die das Überleben der Zellen sichern sollen und den Glukosemetabolismus von der effizienten oxidativen Phosphorylierung auf den ineffizienteren glykolytischen Stoffwechselweg umstellen [97]. Eine Schlüsselrolle für die zelluläre Adaptation an hypoxische Bedingungen spielt hierbei die Gruppe der HIF (Hypoxie-induzierbarer Faktor)-Transkriptionsfaktoren, v. a. HIF-1 (HIF-1 α & HIF-1 β). HIF-1 aktiviert eine Reihe von Zielgenen, welche das Zellüberleben sichern, der Umstellung des Metabolismus dienen, sowie Invasion, Zellproliferation, Metastasierung, Erythropoese und Angiogenese vorantreiben [97–99]. Neben einer tatsächlichen Tumorhypoxie konnte interessanterweise ebenfalls für HPV-Onkoproteine in Zelllinien nachgewiesen werden, dass diese HIF-1 α stabilisieren (► **Abb. 3**) [100–102].

Onkogene Viren sind somit in der Lage den Metabolismus des Tumors durch direkte und indirekte Interaktion mit zellulären Regulatoren, wie u. a. HIF-1 α zu beeinflussen, um dies für die virale Replikation und Baustoffsynthese zu nutzen, was ebenso Karzinogenese und Progression vorantreiben. Dieser metabolische Phänotyp ermöglicht es den Tumorzellen trotz widriger Umstände, wie Sauerstoffmangel, zu proliferieren [103]. Aufgrund dessen stellen die für die Umstellung des Metabolismus genutzten Signalwege und deren Regulatoren wie z. B. HIF-1 potentielle Ziele für eine Inhibition dar, insbesondere für solche Tumoren die stark abhängig von Glukose und aerober Glykolyse sind.



► **Abb. 4** Immunohistochemischer Nachweis der Expression von β 2-Mikroglobulin (β 2M) als Marker einer funktionellen, membranständigen HLA I Expression (oben links). Der Verlust der Expression von β 2M auf Tumorzellen (links unten) korreliert mit besserem Gesamtüberleben von Patienten mit OSCC (rechts).

3.7 Tumormilieu/Immun Escape-Mechanismen

Während der Entwicklung eines invasiven, HPV-assoziierten Plattenepithelkarzinoms müssen mehrere Stufen von Abwehrmechanismen überwunden werden. Die erste Stufe ist die Infektion, bei der die physikalische Barriere der Haut/Schleimhaut die wesentliche Rolle spielt. Nach der Aufnahme von viralen Partikeln müssen diese die Zelle durchqueren und in deren Zellkern gelangen. In der folgenden persistierenden Infektion übernehmen die HPV-Onkoproteine E5, E6 und E7 wichtige Funktionen, um möglichst lange von dem Immunsystem unerkant zu bleiben und die Produktion neuer Viren in den Epithelzellen aufrecht zu erhalten. Im Mikromilieu HPV-infizierter Zellen finden sich verstärkt Zellen der angeborenen Immunantwort, wie dendritische Zellen (DC), Langerhans Zellen (LC), natürliche Killer- (NK) und natürliche Killer T-Zellen (NKT) [104].

Zu einem großen Anteil heilen HPV-Infektionen von selbst ab und nur in einem kleinen Prozentsatz entwickelt sich ein Karzinom. In diesem Fall müssen weitere Veränderungen stattgefunden haben, durch die infizierte Zellen die physikalische Barriere der Basalmembran überwinden und dem kontinuierlichen Angriff des Immunsystems widerstehen können. Bspw. sind höhere Raten an HPV-Infektionen und HPV-assoziierten Karzinomen bei Personen mit unterschiedlichen NK-Zell-Fehlfunktionen bekannt [105]. Evolutionär ist diese letzte Stufe der Karzinogenese eine Sackgasse für HPV, da aufgrund der fehlenden Differenzierung der epithelialen Zellen keine Viruspartikel gebildet werden und diese auch nicht nach außen abgegeben werden könnten. HPV-assoziierte Tumore, wie auch HPV-negative Tumore, befinden sich sozusagen im steady-state mit dem Immunsystem und wenn die Erkrankung bei den Patienten diagnostiziert wird, hat sich dieses Gleichgewicht bereits zugunsten des Tumors verschoben und durch das Immunsystem hat sich unkontrollierbares Wachstum eingestellt. Das Verständnis der Immun-Escape Mechanismen kann genutzt werden, um das Gleichgewicht wieder herzustellen, bzw. zugunsten des Immunsystems zu verschieben.

Ein physikalischer Immun Escape-Mechanismus von HPV besteht darin, dass der vollständige Lebenszyklus innerhalb der Epithelzellen abläuft und keine Viruspartikel an das Blut oder Gewebe abgegeben werden. Demzufolge sind HPV-Antigene kaum dem Immunsystem ausgesetzt und Antikörpertiter während einer natürlichen HPV-Infektion sind nicht hoch genug, um einen protektiven Effekt zu haben [106]. Dennoch ist eine T-Zell-Antwort offenbar für die Regression einer Infektion erforderlich, da diese bei Vorstufen von Zervixkarzinomen mit der Anwesenheit Granzyme B positiver zytotoxischer T-Zellen korreliert [107]. Die Onkoproteine E5, E6 und E7 wirken auf viele zelluläre Mechanismen, u. a. unterdrücken sie Signalwege, die für die Erkennung Virus-infizierter Zellen durch das Immunsystem erforderlich sind. Bspw. wirkt das Oberflächenprotein CXCL14 als Chemokin und lockt verschiedene Zellen des Immunsystems an, wie z. B. DC, LC, NK- und T-Zellen.

E7 interagiert mit der zellulären DNA Methyltransferase DNMT1 und eine E7-abhängige Promotormethylierung und damit Repression von CXCL14 konnte gezeigt werden [108]. Weiterhin moduliert E7 die Methylierung und Acetylierung von Histonen, was u. a. zur Erniedrigung der TLR9 (toll-like receptor 9) Expression und transkriptionelle Aktivität von IRF1 führt. TLR9 kann virale DNA erkennen und das angeborene Immunsystem aktivieren [109]. IRF1 Response Elemente finden sich in Promotoren von einer Reihe von Genen, wie z. B. TAP1 (Transporter associated with Antigen Processing 1), welches eine Rolle bei Antigen-Beladung von HLA-I im endoplasmatischen Retikulum spielt [110]. Weiterhin interagiert E7 mit NF- κ B und unterbindet dessen Translokation in den Nukleus. Hierdurch unterbleibt bspw. eine Aktivierung von IFN- α , IL-6, und TNF- α und dadurch eine Abschwächung der Entzündungsreaktion [111].

Auch für E6 konnten entzündungshemmende Funktionen im Zusammenhang mit dem proinflammatorischen Zytokin IL-1 β nachgewiesen werden. In Abhängigkeit von E6AP bewirkt E6 die Ubiquitinierung der Vorstufe von IL-1 β (Pro-IL-1 β), auf die deren proteaso-

maler Abbau folgt [112]. Für das E5 Protein wurde eine Interaktion mit der schweren Kette von HLA-A und -B nachgewiesen, wodurch der HLA-I Komplex im Golgi Apparat und im endoplasmatischen Retikulum zurückgehalten wird [113, 114]. HLA-C und HLA-E scheinen durch andere Mechanismen herunterreguliert zu werden. Der Verlust von HLA-I auf der Zelloberfläche korreliert mit einer verminderten Antwort CD8+ T-Zellen in E5 exprimierenden Zellen, führt jedoch zur Attraktion und Aktivierung von NK-Zellen, was bereits bei HPV-assoziierten OSCC beschrieben wurde und mit besserem Gesamtüberleben der Patienten korreliert (► **Abb. 4**) [115]. Neben HLA-I wird auch die funktionelle Oberflächenlokalisation von HLA-II, sowie CD1d durch E5 unterbunden [116, 117], was die Aktivität von T- und NKT-Zellen beeinträchtigt. Das virale Capsidprotein L2 scheint die Reifung und Antigenpräsentation von DC und LC zu blockieren, indem es nach der Aufnahme durch DC und LC den intrazellulären Transport und Prozessierung von Viruspartikeln stört [118].

3.8 Molekulare Subtypen & Genexpressionsprofile

Genomweite Untersuchungen der Genexpression basieren in der Regel auf einer vergleichenden Hybridisierung (Mikroarrays) oder Sequenzierung von mRNA. Sowohl die Kapazität von Mikroarrays, als auch die der Sequenzierungstechniken ist im Laufe der Zeit stetig gestiegen, was zur immer höheren Abdeckung des Genoms führt, jedoch mit Einschränkungen der Vergleichbarkeit von früheren mit heutigen Studien einhergeht.

In einer der ersten Genexpressionsstudien an KHT wurden aus 1187, auf einem cDNA Mikroarray untersuchten Tumor-assoziierte Genen, 60 differentiell exprimierte Gene identifiziert, die mit Radioresistenz bzw. dem Ansprechen auf eine Radiotherapie korrelierten [119]. Bereits 3 Jahre später wurden 60 KHT auf einem cDNA Mikroarray mit Sonden gegen 12814 humane Gene untersucht. In dieser Studie konnten 4 Subtypen anhand der Genexpression ausgemacht werden. Es zeigten sich Signaturen mit einem Schwerpunkt im EGFR-Signalweg, ein mesenchymaler Subtyp, ein Subtyp mit Expressionsmuster von normalem Epithel und ein Subtyp mit Anreicherung von Antioxydaseenzymen [120], jedoch blieb in allen frühen Studien der HPV-Status der Proben unbeachtet. Ähnliche Gruppen, bezeichnet als basale, mesenchymale, atypische und klassische Genexpressions-typen, wurden auch in einer weiteren Studie mithilfe eines Agilent 44K Mikroarrays identifiziert und eine Anreicherung HPV-assoziiierter Proben war in der Gruppe mit atypischer Genexpression (z. B. mit erhöhter Expression von CDKN2A) zu beobachten [121]. Mit einer anderen Plattform (Illumina Expression BeadChips) wurden ebenfalls 4 Subtypen identifiziert, von denen jedoch lediglich der klassische Expressionstyp vergleichbar zur zuvor genannten Studie bestätigt wurde [122] und vermutlich in technischen Unterschieden oder Heterogenität der Proben begründet ist.

Eine klinisch relativ homogene Kohorte von 134 KHT, mit einem Anteil von 44 % HPV-Assoziation, wurde 2015 mit einem Agilent 4 × 44Kv2 Expressionsarray untersucht. Anschließend wurden die Daten mit bereits publizierten Daten zu einer Kohorte von über 900 Patienten zusammengefasst. In dieser Studie wurden 5 Subtypen identifiziert, die von 2 Gruppen HPV-assoziiierter und 3 Gruppen HPV-negativer KHT gebildet werden. Jeweils eine HPV-assoziierte und HPV-negative Subgruppe zeigte einen Immun-/mesenchymalen Expressionstyp, sowie einen zuvor als „klassisch“ beschriebenen Expressionstyp [123–125]. Die verbliebene HPV-negative Gruppe zeigt

ein basales Expressionsmuster mit Überrepräsentation von Hypoxie-assoziierten Genen (z. B. HIF1A, CA9, und VEGF), epithelialen Markern (P-cadherin, Cytokeratine KRT1 und KRT9) und Komponenten des Neuregulin Signalwegs. Im Gegensatz zu dieser basalen Expressionsgruppe zeigen die beiden HPV-assoziierten Gruppen keine Veränderungen in der Kopienzahl oder der Expression der EGFR/HER Liganden [126].

Die Erkenntnisse aus genomweiten Expressionsanalysen konnten bisher nicht translational umgesetzt werden. Dies liegt zum einen an uneinheitlichen technischen Standards, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse einschränkt. Zum anderen ist die Gesamtzahl analysierter Proben noch relativ gering, um bspw. Heterogenität aufgrund von Patientencharakteristika herausrechnen zu können. Dies könnte sich durch die retrospektive Analyse von Formalin-fixierten Paraffin eingebetteten (FFPE) Archivproben in Zukunft ändern. In einer Pilotstudie wurden 4 Tumorproben HPV-assoziiierter und 2 HPV-negativer OSCC mithilfe eines NanoString gene expression Assays und Ion Torrent AmpliSeq cancer panel tNGS analysiert. Aus 230 Tumor-assoziierten Genen wurden mehrere mit positivem HPV-Status korreliert (z. B. WNT1, PDGFA und OGG1) und durch hierarchisches Einordnen wurden 6 Gruppen differentiell exprimierter Gene identifiziert [127]. Somit könnte die bisher wenig verbreitete Nutzung von FFPE-Materialien die Aussagekraft und Zuverlässigkeit von Daten aus Expressionsanalysen erhöhen.

4. Klinische Besonderheiten

4.1 Ist das HPV-assoziierte OSCC eine sexuell übertragbare Erkrankung?

Die Übertragung von HPV erfolgt vorwiegend über Hautkontakt oder kontaminierte Objekte. Danach kann es mit extrem hoher Wirtsspezifität zur Infektion von Epithelzellen kommen. Durch Mikrowunden oder über sehr dünne Epithelien infiziert HPV undifferenzierte Zellen direkt oberhalb der Basalmembran. Während die infizierten Zellen im Bereich der Basalmembran verweilen, ist die virale DNA-Replikation erniedrigt. Dies liegt daran, dass die viralen Entwicklungsprozesse mit dem Differenzierungsprozess der infizierten Zellen gekoppelt sind, während diese zur epithelialen Oberfläche aufsteigen. Während die regulatorischen „Early“ Proteine (E) im frühen HPV-Zyklus produziert werden, werden die späten „Late“ Proteine L1 und L2, welche die Kapselstruktur der viralen Partikel darstellen, erst später im Lebenszyklus prozessiert. Diese formen zusammen mit viraler DNA infektiöse Viruspartikel, die im Anschluss zusammen mit den obersten Epithelzellen an die Umwelt abgegeben werden.

Typischerweise entwickeln z. B. Kinder nach Schwimmbadbesuchen plantare Warzen, aufgrund einer Infektion mit den „Low Risk“ HPV-Typen 1, 2 und 4. Ein weiterer Übertragungsweg ist die perivaginale Transmission bei Geburt, welche mit der Entwicklung laryngealer Papillome im Säuglings-/Kleinkindalter einhergehen kann [128]. Für das HPV-assoziierte OSCC steht der sexuelle Übertragungsweg mit den „High Risk“ Papillomviren 16 und 18 im Vordergrund der Diskussion. Die stark ansteigende Inzidenz in den letzten Jahrzehnten wird vorrangig auf ein verändertes Sexualverhalten, jüngeres Alter beim ersten Geschlechtsverkehr, sowie auf das vermehrte Praktizieren von Oralverkehr zurückgeführt [129]. Auch wenn die genital-genitale Infektion mit HPV bzgl. der Transmission vorzuherr-

schen scheint, sind jedoch auch andere Übertragungswege wie der anal-genitale, oral-genitale, manuell-genitale Kontakt, die Nutzung von Sex-Spielzeugen sowie die Autoinokulation möglich [130]. In 2 Kohorten in den USA konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit einem HPV OSCC die Promiskuität (vaginal, anal, oral) höher lag, im Vergleich zu Patienten mit einem HPV-negativen Tumor. Weiterhin wurde über (Oral) Sex mit häufig wechselnde Partnern, Gelegenheitssex sowie der seltene Gebrauch von Kondomen berichtet. Hellhäutige Patienten, Singles, sowie geschiedene Patienten gaben eine höhere Anzahl an Geschlechtspartnern an. Bzgl. des Einkommens konnte kein Unterschied in der Anzahl der Geschlechtspartner nachgewiesen werden, während Patienten mit einem höheren Bildungsstand eine größere Anzahl an Geschlechtspartnern angaben. Nach der Durchführung einer Geschlechter-Stratifizierung konnte das veränderte Sexualverhalten prinzipiell eher bei Männern gezeigt werden [131, 132].

Für neue Lebenspartner scheint ein Risiko der Transmission zu bestehen. Jedoch lässt die Datenlage bis zu diesem Zeitpunkt keinen validierten Rückschluss zu. Da ein intermittierender bzw. fehlender Gebrauch von Präservativen mit einem erhöhten Risiko für eine orale HPV-Infektion bzw. ein HPV-assoziiertes OSCC einhergeht, schützt die Anwendung von Kondomen möglicherweise vor einer Übertragung mit onkogenen HPV [21, 129]. Für Nikotin und Alkohol konnte keine Assoziation mit HPV OSCC nachgewiesen werden. Jedoch war der Konsum von Marihuana stark mit HPV-assoziierten Tumoren verknüpft. Patienten mit über 10 Pack-Years Tabakkonsum hatten im Verhältnis eine höhere Anzahl an Geschlechtspartnern als Patienten ohne oder mit geringerem Nikotinabusus. Es konnte ebenfalls keine Evidenz für multiplikative Effekte für HPV OSCC zwischen Nikotin und Alkohol, Marihuana und Nikotin sowie Marihuana und Alkohol nachgewiesen werden [131, 132].

Zusammenfassend wird als Grund für den Anstieg von HPV OSCC häufig ein verändertes Sexualverhalten genannt. Fraglich ist jedoch,

inwiefern und ob sich dies tatsächlich über die Jahre verändert hat. Der kausale Grund für den Anstieg HPV-assoziiertes Karzinome im Oropharynx bleibt somit weiterhin nicht sicher zu beantworten.

4.2 Klinische Besonderheiten beim HPV

Patienten mit einem HPV-assoziierten OSCC weisen in einigen Ländern häufig ein jüngeres Alter auf [131, 133], wobei hier jedoch regionale Unterschiede bestehen. In unserer eigenen Kohorte konnte an 396 Patienten, welche zwischen 2000 und 2009 in Gießen behandelt wurden, kein signifikanter Altersunterschied bei OSCC Patienten abhängig vom HPV Status festgestellt werden (► **Tab. 1**). Weiter besteht häufig ein höherer soziodemografischer sowie sozioökonomischer Status (höheres Bildungsniveau, höhere berufliche Stellung sowie Einkommenssituation) im Vergleich zu Patienten mit HPV-negativem OSCC [134]. Besonders in den USA sind Männer grundsätzlich häufiger betroffen (Quotient Männer/Frauen: 1,5), während der Quotient in Asien und einigen Ländern Europas lediglich bei 0,7 liegt [135]. Es wird vermutet, dass dies auf eine höhere Übertragungsrates einer HPV-Infektion beim Orogenitalsex zurückzuführen ist [130] sowie der erhöhte Nikotinabusus von Männern für eine Infektion prädisponiert [21].

Erste Symptome bei Patienten mit einem OSCC sind u. a. Halsschmerzen, Odynophagie oder Globusgefühl. Im Verlauf können Dysphagie oder zervikale Schwellungen auftreten. Häufig ist die zervikale Schwellung jedoch das erste und einzige Symptom bei HPV OSCC, aufgrund dessen die ärztliche Vorstellung der Patienten erfolgt. Dies ist zurückzuführen auf das meist fortgeschrittene N-Stadium bei kleinem T-Stadium. Der Primarius ist bei Vorliegen einer HPV-Assoziation vorwiegend in der Tonsille bzw. dem Zungengrund lokalisiert [133, 136], während andere Lokalisationen im Oropharynx seltener betroffen sind.

Während Rauchen und Alkohol die klassischen Risikofaktoren für KHT darstellen, existieren starke geografische Unterschiede bzgl. der

► **Tab. 1** Klinische Unterschiede beim HPV OSCC, n=396.

			non-HPV OSCC		HPV OSCC		p-Wert	
			N	%	N	%		
Geschlecht	Männlich		306	238	80,7	57	19,3	0,964
	Weiblich		90	70	80,5	17	19,5	
Komorbidität	Gesund	ECOG 0	257	187	76,0	59	24,0	0,002
		1–2						
		Krank 3–4	134	118	89,4	14	10,6	
		≥5						
Alter	Jung (<60 Jahre)	210	162	80,6	39	19,4	0,987	
	Alt (≥60 Jahre)	186	146	80,7	35	19,3		
Alkohol	>2 Standardgläser	161	144	92,3	12	7,7	0,000	
	<2 Standardgläser	123	69	59,0	48	41,0		
Nikotin	>10 py	319	270	87,7	38	12,3	0,000	
	nein	60	29	50,0	29	50,0		

Häufigkeit des Nikotinabusus und ein starker Rückgang konnte von 1980 bis 2012 in Nordeuropa sowie Nordamerika verzeichnet werden [137]. Während HPV-16 und Nikotinabusus noch kürzlich für unabhängige Risikofaktoren gehalten wurden [131], konnte in einer Patientenkohorte in den USA eine erhöhte Rate von HPV OSCC bei stattgehabtem Nikotinabusus aufgezeigt werden [138]. Bei Vorliegen eines HPV OSCC scheint ein Nikotinabusus einen negativen Einfluss auf das Überleben zu haben, während Alkohol nur eine untergeordnete Rolle zu spielen scheint [139, 140]. Insgesamt ist das Sterberisiko von Patienten mit HPV-assoziierten Tumoren jedoch um über 50% reduziert gegenüber Patienten mit einem HPV-negativen OSCC. Dieses verbesserte Therapie-Outcome ist am ehesten auf die verbesserte lokoregionäre Kontrolle, u. a. durch erhöhte Strahlensensibilität zurückzuführen (siehe Kapitel 6).

Zweitkarzinome bei Patienten mit HPV OSCC werden erheblich seltener beobachtet. Ob dies möglicherweise hauptsächlich auf fehlende Risikofaktoren, wie Nikotin- oder Alkoholabusus, zurückzuführen ist, ist ungewiss, da in neueren Studien über einen erhöhten Nikotinabusus auch in Patienten mit einem HPV-assoziierten OSCC berichtet wird. Durch die gute Prognose dieser Patienten erhöht sich die Anzahl der Patienten in der Nachsorge und es verlängert sich die Dauer der Nachsorge, wodurch therapeutisch assoziierte Langzeitschäden, wie z. B. Dysphagie, Xerostomie oder Dysgeusie besonders in den Fokus rücken. Die zukünftige Deeskalation der Therapie spielt hier eine wichtige Rolle, um die Lebensqualität dieser Patienten zu verbessern. Ebenfalls ist die Etablierung einer suffizienten tertiären Prophylaxe bei diesen Patienten mit Langzeitüberleben von entscheidender Bedeutung, um Rezidive bzw. Fernmetastasen auch im langen Nachsorgeintervall frühzeitig zu erkennen (s. Kapitel 7).

5. Diagnostik und Staging

Klinischer Verlauf und Biologie unterscheiden sich deutlich bei HPV-negativen und HPV-assoziierten OSCC. Bemerkenswert ist, dass ein eindeutiges und valides Verfahren zur Diagnose eines HPV-getriebenen KHT nicht existiert. In einzelnen Fällen ist auch nach Durchführung umfangreicher Laboruntersuchungen nicht eindeutig, ob ein Tumor HPV-getrieben ist oder nicht. Wahrscheinlich ist es eben so, dass in vielen Fällen von OSCC sich die treibenden Faktoren der Karzinogenese überschneiden. Zu den etablierten Methoden gehören die immunhistochemische p16-Färbung (p16-Test), der Nachweis von HPV-spezifischen Nukleinsäuren (HPV DNA-Test) und die in-situ Hybridisierung (HPV-ISH) im Gewebeschnitt.

5.1 Testverfahren für die Diagnose HPV-assoziiertes Oropharynxkarzinome

Zur eindeutigen Bestimmung des HPV-Status in KHT ist sowohl die Anwesenheit von HPV, als auch der Nachweis onkogener Aktivität in den Gewebeproben zu fordern. Die Testergebnisse sind dann als prognostische Marker zur Patientenberatung und zukünftig auch zur Planung der Therapie anwendbar. Die Testung beider Voraussetzungen kann aus technischen und biologischen Gründen jeweils falsch-positive und falsch-negative Ergebnisse liefern. Eine Fehlinterpretation eines Tests kann folglich erhebliche Auswirkungen für den Patienten haben. Auch fehlen bislang Ergebnisse prospektiver Studien, die eine konkrete Anpassung der Therapie aufgrund des HPV-Status

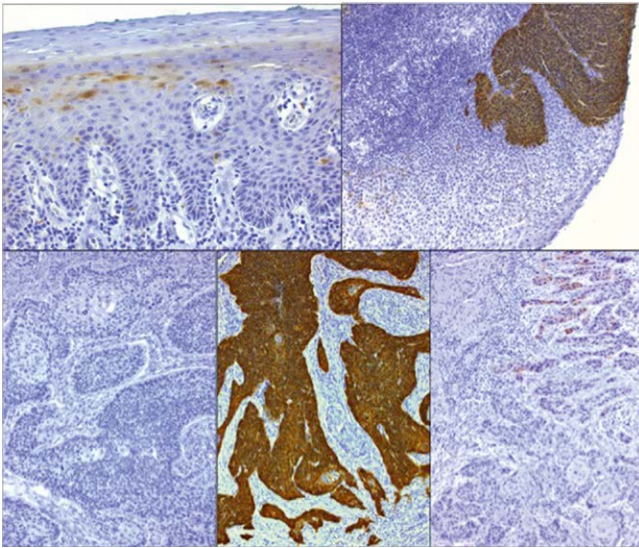
rechtfertigen, wenngleich laut einer aktuellen Studie aus den USA bereits mehr als die Hälfte der befragten Ärzte Behandlungsstrategien von HPV-Tests abhängig machen [141].

Die labortechnische Diagnose des HPV-Status besteht in der Regel aus einem Nachweis viraler DNA in Gewebeproben und erfolgt meist durch sensitive PCR-basierte Testverfahren oder durch die weniger sensitive ISH [142]. Die hohe Sensitivität PCR-basierter Verfahren birgt den Nachteil, dass Kontaminationen, bspw. durch parallele HPV-Infektionen, und biologisch inaktive HPV-DNA im Tumorgewebe von HPV-assoziierten Tumoren nicht unterscheidbare Signale hervorrufen. Hingegen kann die Verteilung der Signale in der HPV-ISH einen Hinweis auf die HPV-Assoziation geben, was jedoch mit höherem Arbeitsaufwand verbunden ist und biologisch inaktive HPV-DNA ebenfalls nicht unterscheidet. Als „Goldstandard“ für die onkogene Aktivität wird der Nachweis viraler mRNA-Transkripte der Onkogene E6 und E7 mithilfe der RT-PCR angesehen. Die natürliche Instabilität von mRNA bedingt hierbei eine hohe Spezifität, da freie mRNA als Basis einer Kontamination praktisch ausgeschlossen werden kann, aber hierdurch auch eine niedrige Sensitivität. Außerdem ist die Aufarbeitung der Proben für die Gewinnung von mRNA anspruchsvoll, teilweise wird Frischgewebe benötigt und der Nachweis von mRNA Transkripten muss auch nicht zwangsweise mit einer Proteinexpression viraler Onkoproteine oder deren biologischer Aktivität korrelieren.

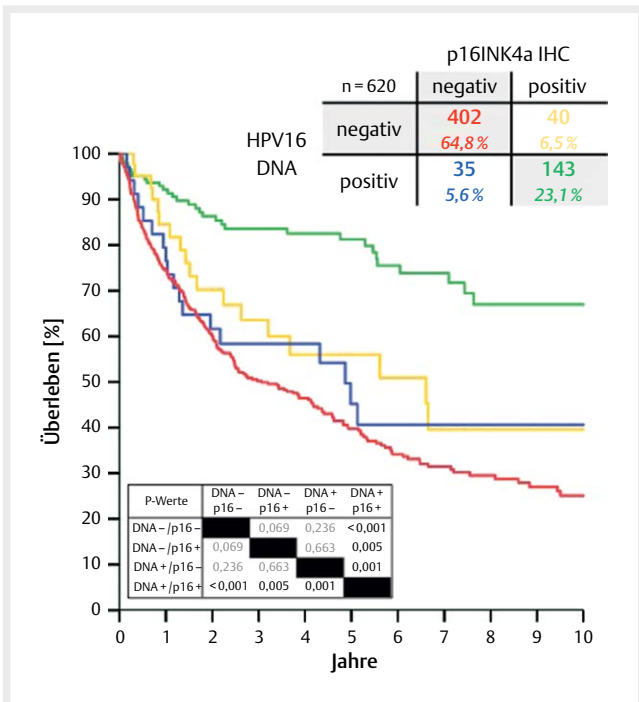
Das wesentliche Merkmal HPV-assoziiertes Karzinogenese ist die Virus-Onkoprotein bedingte Dysregulation des Zellzyklus über den Rb-Signalweg und die Inhibition von Apoptose durch Inaktivierung von p53 (siehe Kap. 3). Auch in HPV-negativen Tumoren kommt es zur Inaktivierung von p53, jedoch in der Regel durch Mutationen in TP53, was sich immunhistologisch in Form von überexprimiertem, inaktiviertem p53 bemerkbar machen kann. In HPV-assoziierten Karzinomen fehlt p53, und das Tumorsuppressorprotein p16 liegt bedingt durch die virale Onkoproteinaktivität überexprimiert vor (► **Abb. 5**). Die Überexpression von p16 in Tumorzellen ist selten, kommt jedoch in unterschiedlichen Krebsarten und bei etwa 5% der Oropharynxkarzinome auch HPV-unabhängig vor [59]. Aufgrund einer moderaten Spezifität ist daher der alleinige p16-Test zur Bestimmung des HPV-Status nur bedingt ausreichend. In Kombination mit einem Nachweis viraler Nukleinsäure kann die Sensitivität und Spezifität signifikant erhöht werden (► **Abb. 6**). Die Kombination aus p16-Test und HPV DNA-Test stellt daher anerkannt die praktikabelste Testkombination für die klinische Anwendung dar [142].

Die Untersuchung von Speichel wurde ebenfalls zur Feststellung einer HPV-Assoziation evaluiert. Die Methode ist einfach, preiswert und könnte für Prophylaxe, Therapiemonitoring und Nachsorge einsetzbar sein. Die ersten Arbeiten hierzu wurden bereits vor über 20 Jahren publiziert, dabei konnte eine gute Korrelation von PCR-Testergebnissen aus Speichel (oral rinses) und Tumorproben an 190 Patienten herausgearbeitet werden [143]. Eine wirklich überzeugende Spezifität und Sensitivität (zwischen 50 und 75%) ist jedoch auch in den aktuellen Untersuchungen hierzu nicht berichtet [144]. Bei lokalen Tumorrezidiven konnte ebenfalls beispielhaft gezeigt werden, dass die Detektion von HPV-Material möglich ist [145]. Die Ergebnisse werden jedoch naturgemäß durch nicht seltene (s. o.) orale HPV Infektionen verfälscht. Der Nachweis onkogen aktiver HPV-Infektionen ist bisher ebenfalls nicht überzeugend gelungen.

HPV-spezifische Antikörper sind bei den meisten Patienten mit HPV-assoziiertem OSCC im Blut nachweisbar und dies bereits viele



► **Abb. 5** Immunohistochemischer Nachweis der p16INK4A Protein-expression in einzelnen Zellen von gesundem Plattenepithel (links oben). In der Regel fehlt p16INK4A in HPV-negativen Plattenepithelkarzinomen des Oropharynx (links unten). p16INK4A liegt jedoch bei HPV-assoziierten OSCC (unten Mitte) und Dysplasien (oben rechts) stark überexprimiert vor. Einzelne OSCC zeigen stellenweise eine schwache Expression von p16INK4A (rechts unten), die im Rahmen der HPV-Diagnostik jedoch nicht als positiv zu bewerten ist.



► **Abb. 6** Im Zeitraum 2000-2015 beträgt die durchschnittliche Prävalenz HPV-assoziiertes OSCC (HR-HPV DNA und p16INK4A positive Proben) in Gießen 23 %. Jeweils etwa 6 % aller Fälle zeigen diskordante Ergebnisse bei HPV-DNA und p16INK4A Tests. Das Überleben dieser Patienten (blaue und gelbe Kurve) ist signifikant schlechter als das der Patienten mit HPV-assoziierten OSCC, es unterscheidet sich jedoch kaum vom Überleben der Patienten mit HPV-negativen OSCC (rote Kurve).

Jahre vor Diagnosestellung [146, 147]. Die gegen die Onkoproteine von HPV gerichteten Antikörper werden wahrscheinlich nicht während der Infektion sondern erst Jahre später im Zuge der malignen Transformation gebildet, dies konnte in einer Untersuchung einer Kohorte junger Männer mit HPV-Infektion gezeigt werden, die jeweils keine Seropositivität gegenüber HPV-16 E6-Protein zeigten [148]. Der Nachweis von Antikörpern gegen HR-HPV E6 und E7 korreliert gut mit der Prognose der Patienten, vergleichbar mit dem HPV-Test aus Gewebe [149]. In einer aktuellen Arbeit konnte an etwa 1000 Kontrollpatienten anhand jährlicher Blutuntersuchungen das Risiko ein HPV OSCC zu entwickeln mit über 5 % ermittelt werden (über 100-mal höher als bei negativem Test), wenn zum Testzeitpunkt gegen E6 gerichtete Antikörper detektierbar waren [150]. Ein positiver Antikörpertest kann jedoch weder zeitlich noch räumlich einer Läsion zugeordnet werden, daher ist der diagnostische Nutzen für die Bestimmung des HPV-Status eher gering, es ergeben sich jedoch exzellente Anwendungsmöglichkeiten für die Früherkennung. Einschränkend kann angemerkt werden, dass die Testverfahren nicht allgemein verfügbar sind.

5.2 Stellenwert der Tumorendoskopie

Die Tumorendoskopie dient hauptsächlich der schmerzfreien Histologiegewinnung sowie der Einschätzung der Tumorausdehnung zwecks Bestimmung der Resektabilität des Tumors und möglicher Rekonstruktionsverfahren. Ferner soll im Rahmen einer Tumorendoskopie das Vorliegen eines Zweitkarzinoms ausgeschlossen werden, dies gilt v. a. für Patienten mit Noxenabusus. Insgesamt wird die Durchführung der Tumorendoskopie oder Panendoskopie oder Triple Endoskopie international für alle KHT allerdings kritisch betrachtet. So gibt es kaum einen Konsens bezüglich Stellenwert und Technik. Sie wird aufgrund Weiterentwicklung bildgebender Verfahren, dem Risiko starrer Endoskopien und unklarer Inzidenz von Zweitumoren zunehmend negativ diskutiert [151]. Der Stellenwert der Tumorendoskopie bei HPV OSCC kann nun besonders kritisch hinterfragt werden, weil bei diesen Patienten häufig eine positive Noxenanamnese, die ein Zweitkarzinom begründen könnte, fehlt [152, 153]. Daher ist die Wertigkeit der Endoskopie mit der Frage nach einem Zweitkarzinom in diesen Fällen zurückgesetzt. In Deutschland ist die Durchführung der Tumorendoskopie mit starrem Instrumentarium aber nach wie vor sehr verbreitet [154]. So lange keine belastbare Evidenz existiert, kann die Endoskopie so wie bislang standardisiert durchgeführt werden, beim HPV OSCC kann jedoch ohne Bedenken auch symptomorientiert die Biopsie in Narkose oder in örtlicher Betäubung durchgeführt werden.

5.3 Bildgebung

Die bildgebende Diagnostik für HPV OSCC entspricht der standardisierten Bildgebung für KHT. So werden bspw. Sonografien der Halsweichteile zur Darstellung des regionären Tumorleidens durchgeführt. Auch die Schnittbildverfahren Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) finden routinemäßig Anwendung. Diese Verfahren dienen der rein morphologischen Abbildung von KHT. Im Vergleich hierzu dient die Positronen-Emissions-Tomografie (PET) in Kombination mit der CT als ein Hybridverfahren, welches eine funktionale Abbildung der Stoffwechsellage im erkrankten Gewebe darstellt. Hierbei stellt das radioaktive Isotop ¹⁸F des Fluors das meist verwendete Nuklid in der PET dar und kann mit diversen Pharmaka kom-

biniert werden. Die Kombination, die am häufigsten Anwendung erfährt, ist der metabolische Radiotracer ^{18}F -2-Fluoro-2-Deoxyglukose (FDG), mögliche Alternativen sind hypoxische Radiotracer, wie z. B. ^{18}F -Fluoromisonidazol (FMISO) oder die nachfolgende Generation ^{18}F -Fluoroazomycin Arabinosid (FAZA) [155].

Aufgrund des distinkten Tumormetabolismus HPV-assoziiierter im Vergleich HPV-negativer OSCC (Kapitel 3.6) (► **Abb. 7**) sind Unterschiede in der funktionalen Bildgebung zu erwarten [156]. HPV-spezifische Tumorcharakteristika spiegeln sich so im ^{18}F -FDG PET-CT möglicherweise wider. Bspw. konnte gezeigt werden, dass HPV-assoziierte OSCC im Rahmen der epithelialen mesenchymalen Transition (EMT) deutlich homogenere FDG und FAZA Traceraufnahmen aufweisen [155, 157 und eigene Daten (in press)]. Konkordant hierzu zeigt sich ein signifikanter Anstieg der PET-Parameter HPV-negativer OSCC mit Zunahme der Primärtumorgröße [155]. Im Vergleich hierzu zeigen HPV OSCC ein deutlich homogeneres Bild der Traceraufnahme in den verschiedenen Tumorstadien.

Die funktionale Bildgebung findet aber nicht nur im Rahmen des Stagings Verwendung, sondern wird zunehmend auch als Therapie-monitoring aufgegriffen. Im Mittelpunkt steht hierbei die aktuell diskutierte Therapie-Deeskalation für HPV OSCC. In einer prospektiven Studie (DAHANCA 24) konnte kürzlich gezeigt werden, dass die Durchführung eines FAZA-PET/CTs im Rahmen einer primären Radiotherapie als Monitoring für ein Therapieansprechen erfolgsv-

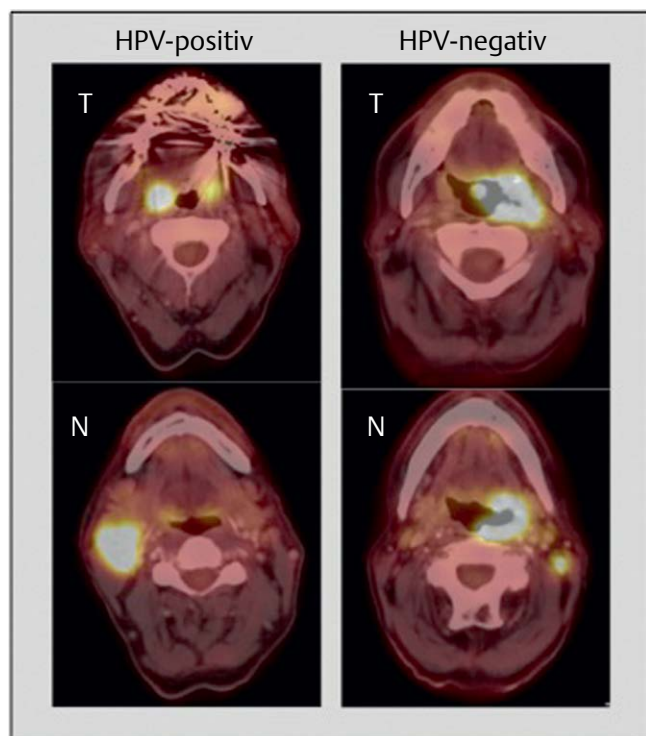
sprechend sein kann [158]. In einer weiteren Pilotstudie konnte für HPV-positive OSCC Patienten gezeigt werden, dass ein FMISO PET vor und unter Therapie die Tumorlast gut widerspiegelt. Denkbar wäre hierdurch die Strahlenreduktion bei Nachweis von Therapieansprechen [159]. Zudem ist die funktionale Bildgebung unerlässlich für das Follow-up geworden. In einer prospektiv angelegten multizentrischen Studie konnte ein hoher Stellenwert des ^{18}F -FDG PET-CTs für das Follow-up von primär radiochemotherapierten OSCC gezeigt werden. Hierbei zeigte sich, dass das ^{18}F -FDG PET-CT als Diagnostikum zur Detektion eines regionären Residuums einem Standardarm mit posttherapeutischer salvage Neck dissection nicht unterlegen war, was in der hohen Sensitivität dieses Testverfahrens begründet ist. Ferner konnten Komplikationen und Kosten durch die Bildgebung reduziert werden [160].

Eine neue Möglichkeit der Bildgebung stellen Radiomics-Verfahren dar, hierbei werden Bildmerkmale computergestützt quantifiziert, Cluster gebildet und anschließend mit Bilddatenbanken verglichen, um hierdurch automatisiert Aussagen über Gewebeeigenschaften, Diagnosen und Krankheitsverläufe machen zu können. Bspw. ist so eine computergestützte Vorhersage des HPV-Status anhand eines CT Datensatzes relativ sicher möglich [161]. Radiomics-Signaturen wurden bspw. bei Mammakarzinom Patientinnen aber auch beim Bronchialkarzinom und KHT erfolgreich als Prognostikatoren eingesetzt [162, 163]. Durch Kombination von Radiomics Signatur und p16-Test konnte die prognostische Trennschärfe zwischen 2 Gruppen von KHT Patienten verbessert werden [164]. „Radiomics“-Datensätze könnten daher zukünftig in prognostische Modelle mit einfließen.

5.4 Aktualisierte TNM-Klassifikation und Staging-Regeln

Die TNM-Klassifikation maligner Tumore dient insbesondere als Prognostikator. Die steigende Inzidenz, die unterschiedliche Biologie der Erkrankung und die deutlich bessere Prognose nach der Therapie begründen die Notwendigkeit HPV OSCC als eigenständige Tumorentität zu werten. Wesentlicher Grund war die Tatsache, dass die etablierten Stagingregeln die Prognose der Patienten nur unzureichend widerspiegeln. Insbesondere für den nodalen Status wurde mehrfach herausgearbeitet, dass nach den alten TNM-Regeln kein signifikanter Einfluss auf die Prognose der Patienten bestand [165, 166]. Lediglich für fortgeschrittene T-Stadien wurde eine Trennschärfe für die Prognose nach den alten TNM-Regeln berichtet [167, 168]. Mit Herausgabe der 8. Auflage der TNM-Klassifikation maligner Tumoren findet nun der HPV-Status von OSCC eigene Berücksichtigung. Auch die TNM-Regeln für HPV negative OSCC wurden geändert, der Faktor extrakapsuläres/extranodales Wachstum (englisch: extranodal extension/ENE oder extracapsular spread/ECS) wird nun berücksichtigt und HPV negative OSCC werden wie Hypopharynxkarzinome klassifiziert und in einem eigenen Kapitel das Cancer Staging Manuals abgehandelt. Ab dem 01. Januar 2017 unterscheiden sich nun die TNM-Regeln zu der vorangegangenen Version insbesondere in Bezug auf den nodalen Status beim HPV OSCC – dies hat auch essenziellen Einfluss auf das Tumorstadium nach UICC (Union internationale contre le cancer).

Die neue Auflage orientiert sich beim HPV OSCC v. a. an Studienergebnissen der ICON-S Gruppe (International Collaboration on Oro-



► **Abb. 7** Die aktuelle Stadiengruppierung für HPV positive und HPV negative OSCC wurde umfangreich verändert. Links ist ein metastasiertes HPV OSCC (ipsilateral, <6cm), somit besteht ein Tumorstadium I, nach der alten Auflage wäre der Tumor als Stadium IVa (T1, N2b) zu klassifizieren gewesen. Rechts ist ein T3N1 OSCC, HPV negativ abgebildet, somit als Tumorstadium III zu klassifizieren. Anstatt größer ist das Tumorstadium für den Patienten links nun kleiner im Vergleich zum Patienten rechts.

pharyngeal cancer Network for Staging) in Kanada, USA, Dänemark und den Niederlanden. In dieser multizentrischen Kohortenstudie wurden 2603 Patienten mit bekanntem HPV-Status eingeschlossen. Dabei erhielten die Patienten nahezu alle primäre Radiochemotherapie (98 % der Patienten) und über 70 % der untersuchten Patienten waren HPV positiv [169]. Das Gesamtüberleben wurde für beide Gruppen nach entsprechend vorangegangener rekursiver Partitionsanalyse mit Ableitung eines erneuerten Staging-Systems für die Gruppe der HPV-assoziierten OSCC und HPV-negative OSCC analysiert. Die Vorschläge der Autoren wurden unverändert in der 8. Auflage für die ohne Operation behandelten Patienten implementiert. Weil bei der Analyse von Patienten, die tumorsanierende Operationen erhalten die Anwendbarkeit nicht gesichert ist, wurden für diese Patienten modifizierte Kriterien vorgeschlagen. Dabei wurden retrospektive erhobene Ergebnisse einer chirurgisch behandelten Kohorte von 220 amerikanischen Patienten beachtet, bei denen die Anwesenheit von 5 und mehr Lymphknotenmetastasen mit einem hohen Risiko für ein Tumorrezidiv verknüpft war [170]. Alle Patienten waren p16-positiv und wurden transoral operiert, 80 % hatten ECS-positive Lymphknoten, dieser Faktor war ohne Relevanz für die Prognose.

Bislang wurde ECS als ungünstiger Prognostikator gewertet und nahm entscheidenden Einfluss auf die Therapie [171, 172]. So stellt das extranodale Wachstum eine Indikation für die adjuvante Platinalgabe bei postoperativer RT dar [173]. Der Ausschluss von ECS im neuen Staging-System für HPV OSCC basiert analog zu oben auf den Ergebnissen in anderen Publikationen. Mehrfach konnte in retrospektiven Untersuchungen gezeigt werden, dass der Faktor ECS für das Outcome bei HPV OSCC wahrscheinlich nicht relevant ist [174, 175]. Hinzu kommt, dass der Faktor ECS mit einer hohen interobserver Varianz erhoben wird [176]. Durch diese Ergebnisse kann daher der Wert einer RCT im adjuvanten Setting beim ECS-positiven HPV OSCC angezweifelt werden [177]. Die prospektive Überprüfung dieser Erkenntnis wäre dringend wünschenswert, weil im Tumorboard diese Frage häufig diskutiert wird. Derzeit werden 3 prospektive Studien durchgeführt, die sich mit Therapiede Eskalation, u. a. von ECS-positiven HPV-OSCC zur Vermeidung von Akut- und Spättoxizität befassen (ECOG 3311, ADEPT, PATHOS, ► **Tab. 2**). Erst danach wird sich möglicherweise zeigen, ob eine Therapiede Eskalation trotz Vorliegen von ECS beim HPV OSCC gerechtfertigt ist.

Der p16-Test ist im Cancer Staging Manual als Surrogatmarker für eine HPV Infektion vorgeschlagen und die Kapitelüberschrift heißt auch nicht HPV-positive OSCC, sondern p16-positive OSCC. Die Gruppe der Autoren hat sich für diese Einteilung entschieden, weil der Nachweis einer HPV-Assoziation eben auf einer Kombination von Testverfahren beruht, diese aufwändig und dann auch nicht immer eindeutig sind. Demgegenüber ist der p16-Test einfach, preiswert und weitverbreitet. In zahlreichen Studien konnte zudem die Signifikanz des p16-Testes für die Prognose von Patienten mit OSCC herausgearbeitet werden [8, 178, 179]. Die naturgemäß bestehenden Probleme des Testverfahrens (hohe Subjektivität bei der Auswertung, biologisch bedingt variable p16 Expression in zahlreichen Fällen) führen häufig zu nicht eindeutigem Testergebnis. p16-Test-negative Patienten sollen laut Vorschlag der Autoren im Cancer Staging Manual wie HPV-negative und Hypopharynxkarzinome klassifiziert werden. In unserer eigenen Patientenkohorte konnten wir die Prognose der

Patienten dahingehend analysieren, dass sich ein gutes Outcome eben nur für doppelt positiv getestete Patienten zeigt (► **Abb. 6**). Daher besteht beim neuen Staging System die Gefahr, dass bis zu 10 % der Patienten fälschlicherweise nach den Regeln für p16-positive OSCC klassifiziert wird. Es ist daher empfehlenswert, den HPV-Status wenn möglich durch ein bimodales Vorgehen zu sichern und zum immunhistochemischen Nachweis von p16 zusätzlich HPV-DNA oder mRNA nachzuweisen (s. o.).

5.4.1 HPV-assoziierte OSCC

T-Kategorie: In p16-positiven und p16-negativen OSCC entspricht die klinische (c) T-Kategorie der pathologischen (p) T-Kategorie. Unterschiede der einzelnen Kategorien gibt es lediglich bezüglich der T4 Kategorie. HPV-negative OSCC werden in T4a und T4b unterteilt, abhängig von der Tumorausdehnung. Bei den HPV OSCC hingegen erfolgt keine weitere Unterteilung der T4 Kategorie (► **Tab. 3**).

Merke

Die Unterkategorien T4a und T4b sind beim HPV OSCC abgeschafft

N-Kategorie: Die wichtigste Erneuerung wird in Bezug auf den nodalen Status bei p16-positivem OSCC mit der 8. Auflage eingeführt. Dabei sind Unterschiede zwischen der c-Kategorie und der p-Kategorie betroffener Halslymphknoten zu beachten. Die klinische Einteilung des nodalen Status p16-positiver OSCC (cN) ist im Vergleich zu früher nun stark vereinfacht. Ein einseitiger Befall resultiert in cN1, ein beidseitiger oder kontralateraler Befall in cN2. Die cN3 Kategorie bleibt unverändert bei Metastasen > 6 cm Ausdehnung. Die Regeln nach Operation der Halslymphknoten (pN) lassen nun nur noch die Kategorien pN1 und pN2 zu. Grenzwert ist der Befall von 4 Halslymphknoten. Liegen 5 oder mehr Halslymphknotenmetastasen vor, so liegt ein pN2 Status vor. Weder die Größe noch das Vorliegen eines ECS werden bei der Zuordnung berücksichtigt.

Merke

Die N-Kategorie für HPV OSCC unterscheidet cN und pN
cN: ipsilateral → cN1 | bilateral → cN2 | >6 cm → cN3
pN: 4 Lymphknoten → pN1 | ≥5 Lymphknoten → pN2

5.4.2 HPV-negative OSCC

Die T-Kategorie bleibt in der neuen Auflage für HPV negative OSCC unverändert bestehen. Für die N-Kategorie wird nun zwischen klinisch und pathologisch unterschieden und der Faktor ECS findet jeweils in Form einer Hochstufung in die jeweilig höhere Kategorie Berücksichtigung (► **Tab. 3**). ECS ist bei cN als Hautinvasion, Infiltration von Muskulatur, Nerven oder Knochen definiert und sollte auch nur dann verwendet werden. Die gleichen TNM Regeln gelten auch für die Plattenepithelkarzinome des Hypopharynx.

Merke

Die N-Kategorie für HPV-negative OSCC unterscheidet cN und pN
ECS resultiert bei klinischem Staging zur neuen Kategorie cN3b
Bei pathologiebasiertem Staging führt der Faktor ECS jeweils zu einer Hochstufung

▶ Tab. 2 Adaptive De-Eskalation Behandlung in HPV positive OSCC.

Beginn der Studie	NCT-Code	Kurzbezeichnung	Phase	HPV-Diagnostik	Strategie für Patienten mit HPV OSCC	Primärziel der Studie	Titel der Studie	rekru- tierend	lau- fend	abge- schlossen
2009	NCT01088802		2	HPV-DNA und/oder p16 ^{INK4a}	Deintensivierung der Strahlendosis	Vergleichbarer Therapieerfolg bei geringerer Langzeittoxizität	Treatment De-intensification for Squamous Cell Carcinoma of the Oropharynx		X	
2010	NCT01084083		2	HPV-ISH und/oder p16 ^{INK4a}	Induktionstherapie, Reduktion der Strahlendosis, gefolgt von Cetuximab	Vergleichbarer Therapieerfolg	Induction Chemotherapy Followed By Cetuximab and Radiation in HPV-Associated Resectable Stage III/IV Oropharynx Cancer			X
	NCT01302834	RTOG1016	3	p16 ^{INK4a}	Ersetzen von Cisplatin durch Cetuximab in RCT	Vergleichbarer Therapieerfolg	Radiation Therapy With Cisplatin or Cetuximab in Treating Patients With Oropharyngeal Cancer		X	
2011	NCT01530997		2	HPV-DNA und/oder p16 ^{INK4a}	Reduktion der Chemotherapie und Strahlendosis, limitierte Neck Dissection	Vergleichbarer Therapieerfolg bei geringerer Toxizität	Phase II Study of De-intensification of Radiation and Chemotherapy for Low-Risk HPV-related Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma		X	
	NCT01530997		2	HPV-DNA und/oder p16 ^{INK4a}	Reduktion der Chemotherapie und der Strahlendosis	Vergleichbarer Therapieerfolg bei geringerer Toxizität	De-intensification of Radiation and Chemotherapy for Low-Risk Human Papillomavirus-related Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma		X	
	NCT01687413	ADEPT	3	p16 ^{INK4a}	Postoperative Radiotherapie mit und ohne Cisplatin (bei R0 und N>0)	Vergleich des Therapieerfolgs und Toxizität	Post-Operative Adjuvant Therapy De-intensification Trial for Human Papillomavirus-related, p16+ Oropharynx Cancer (ADEPT)		X	
2012	NCT01716195		2	p16 ^{INK4a}	Induktionstherapie (Carboplatin/Paclitaxel), Reduktion der Strahlendosis und Chemotherapie (Paclitaxel)	Vergleichbarer Therapieerfolg bei geringerer Toxizität	Induction Chemotherapy Followed by Chemoradiotherapy for Head and Neck Cancer		X	
	NCT01706939	Quarterback Trial	3	HPV-DNA und p16 ^{INK4a}	Reduktion der Strahlendosis (56Gy) mit wöchentl. Carboplatin vs. 70Gy Strahlendosis und wöchentl. Carboplatin	Vergleichbarer Therapieerfolg bei reduzierter Strahlendosis	The Quarterback Trial: A Randomized Phase III Clinical Trial Comparing Reduced and Standard Radiation Therapy Doses for Locally Advanced HPV Positive Oropharynx Cancer		X	
	NCT01663259			HPV-DNA und/oder p16 ^{INK4a}	Ersetzen von Cisplatin durch Cetuximab in Radiochemotherapie	Vergleichbarer Therapieerfolg bei geringerer Toxizität	Reduced-intensity Therapy for Oropharyngeal Cancer in Non-smoking HPV-16 Positive Patients		X	
	NCT01898494	ECOG 3311	2	p16 ^{INK4a}	Reduktion der Strahlendosis nach transoraler Tumoresektion (fortgeschrittene OSCC)	Vergleichbarer Therapieerfolg	Transoral Surgery Followed By Low-Dose or Standard-Dose Radiation Therapy With or Without Chemotherapy in Treating Patients With HPV Positive Stage III-IVA Oropharyngeal Cancer		X	
2013	NCT01874171	De-ESCALaTE-HPV	3	p16 ^{INK4a}	Ersetzen von Cisplatin durch Cetuximab in Radiochemotherapie	Verbesserung der Lebensqualität und Verminderung der Toxizität	Determination of Cetuximab Versus Cisplatin Early and Late Toxicity Events in HPV+ OPSCC (De-ESCALaTE)		X	

▶ Tab. 2 Fortsetzung										
Beginn der Studie	NCT-Code	Kurzbezeichnung	Phase	HPV-Diagnostik	Strategie für Patienten mit HPV OSCC	Primärziel der Studie	Titel der Studie	rekrutierend	laufend	abgeschlossen
2014	NCT01891695		1	p16 ^{INK4a}	Reduktion der Strahlendosis für Halslymphknoten (39,6 Gy) bei klinisch N0	Vergleichbarer Therapieerfolg bei geringerer Toxizität	A Pilot Single-Arm Study of Intensity Modulated Radiation Therapy Elective Nodal Dose De-Escalation for HPV-Associated Squamous Cell Carcinoma of the Oropharynx		X	
	NCT01855451	TROG12.01	3	p16 ^{INK4a}	Ersetzen von Cisplatin durch Cetuximab in Radiochemotherapie	Vergleich der Lebensqualität und Toxizität	Weekly Cetuximab/RT Versus Weekly Cisplatin/RT in HPV-Associated Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma (HPVOroro-pharynx)	X	X	
	NCT02281955		2	HPV-DNA und/oder p16 ^{INK4a}	Reduktion der Chemotherapie und der Strahlendosis (follow-up Studie zu NCT01530997)	Vergleichbarer Therapieerfolg bei geringerer Toxizität	De-intensification of Radiation and Chemotherapy for Low-Risk HPV-related Oropharyngeal SCC: Follow-up Study	X	X	
	NCT02072148	SIRS TRIAL	2	HPV-DNA und p16 ^{INK4a}	Alleinige OP bei „low-risk“ Patienten	Vergleichbarer Therapieerfolg	The Sinai Robotic Surgery Trial in HPV Positive Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma (SCCA) (SIRS TRIAL)	X	X	
	NCT02254278		2	p16 ^{INK4a}	Reduktion der Strahlendosis mit oder ohne Cisplatin	Vergleichbarer Therapieerfolg bei geringerer Toxizität	A Randomized Phase II Trial for Patients With p16 Positive, Non-Smoking Associated, Locoregionally Advanced Oropharyngeal Cancer		X	
2016	NCT02215265	PATHOS	2+3	HPV (keine weiteren Angaben)	Reduktion der adjuvanten Therapie nach transoraler Resektion	Verbesserung der Schluckfunktion	Post-operative Adjuvant Treatment for HPV-positive Tumours (PATHOS)	X		
	NCT02784288		2	p16 ^{INK4a}	Behandlungsstratifizierung nach Pathologie der Neck Dissection	Verbesserung der Lebensqualität	Phase II Treatment Stratification Trial Using Neck Dissection-Driven Selection to Improve Quality of Life for Low Risk Patients With HPV+ Oropharyngeal Squamous Cell Cancer			
2017	NCT03210103	ORATOR2		HPV-DNA oder p16 ^{INK4a}	Primäre deintensivierte Radiotherapie vs. transorale Chirurgie mit Neckdissektion (+/- adj. Radiotherapie)	Vergleichbarer Therapieerfolg	A Randomized Trial of Treatment De-Escalation for HPV-Associated Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma: Radiotherapy vs. Trans-Oral Surgery (ORATOR II)			
	NCT03215719		2	p16 ^{INK4a}	Reduktion der Strahlendosis bei Respondern während Standard Radiotherapie	Vergleichbarer Therapieerfolg	Adaptive Treatment De-escalation in Favorable Risk HPV-Positive Oropharyngeal Carcinoma	X	X	

5.4.3 UICC-Stadien

Die Unterschiede der TNM-Klassifikation spiegeln sich nun auch in der UICC-Stadieneinteilung wider. Unterschieden werden gleichsam p16-positive und -negative OSCC. Die Regeln für die Einteilung in Tumorstadien hat sich für HPV negative OSCC nicht verändert, beim p16-positiven OSCC erfolgt die UICC-Stadieneinteilung durch die klinisch oder pathologisch verifizierten TNM-Kategorien. Besonders dabei ist, dass nun fortgeschrittenen lymphogen metastasierte Tumore als N1 kategorisiert werden (z. B. 4 positive Lymphknotenmetastasen mit ECS) und als Tumorstadium 1 zu klassifizieren sind (► **Abb. 7**, ► **Tab. 4**). Nur eine Fernmetastasierung rechtfertigt das Tumorstadium 4. In einer eigenen Auswertung der neuen TNM-Regeln und UICC-Staging-Gruppen konnten wir zeigen, dass ein erhebliches UICC-Downstaging der HPV-OSCC durch die neue TNM-Auflage erreicht wird [7]. An einer Patientenkohorte von 150 HPV OSCC Patienten zeigt sich, dass durch die neue UICC-Stadieneinteilung die Patientenzahl in den Stadien I und II deutlich erhöht und eine signifikante Verringerung der Patientenzahl in dem Stadium IV hervorgerufen wird (► **Abb. 8**). Aktuell wurden die neuen TNM-Regeln bereits in mehreren Patientenkohorten überprüft und als wertvoll beschrieben [180], bzw. Verbesserungsvorschläge gemacht [181].

Zusammenfassend entspricht die Entwicklung des Staging-Systems für HPV OSCC dem hohen Stellenwert dieser Erkrankung und führt zu einer Verbesserung der Trennschärfe prognostischer Gruppen. Allerdings werden in Zukunft vermutlich weitere Anpassungen der aktuellen Auflage erforderlich sein. Kritisch ist, dass durch die alleinige p16-Testung bis zu 10 % falsch eingeschätzt werden. Außerdem sollte das Downstaging bei HPV-positiven OSCC nicht unkritisch zur Deeskalation von Therapieregimen führen. Molekulare Signaturen und Eigenschaften (Komorbidität) bzw. Gewohnheiten (Nikotinabusus) der Patienten können eine bedeutendere Rolle für die Einschätzung der Prognose spielen und werden vermutlich zukünftig auf die TNM-Klassifikation Einfluss nehmen.

6. Entscheidungshilfen für die Therapie

Aufgrund der erheblich besseren Prognose HPV-assoziiierter OSCC sowohl für das rezidiv-freie Überleben als auch für das Gesamtüberleben muss gefragt werden, ob dies auch Konsequenzen für die Therapiestrategien hat. Hier gibt es grundsätzlich 2 Ansätze: Da die eingesetzten multimodalen Therapiestrategien beim HPV OSCC offensichtlich wesentlich wirksamer sind, ergibt sich die Frage, ob Teile dieser multimodalen Therapie bei HPV OSCC deeskaliert werden können und ob eine weniger intensive Therapie nicht gleich gute Chancen auf Heilung bietet. Zweitens stellt sich die Frage, ob dies für alle Patienten zutrifft, oder nur bei Subgruppen von Patienten eine solche De-Intensivierung durchgeführt werden kann, ohne den Therapieerfolg zu gefährden. Vor diesem Hintergrund ist die Etablierung verschiedener prognostischer Modelle auch aus retrospektiven Kohorten zur Abschätzung der Wertigkeit der Prädiktoren und vor dem Hintergrund verschiedener Therapiestrategien von besonderer Bedeutung (siehe Kapitel 8). Neben dem Ansatz der Deeskalation stellt sich die Frage, ob HPV ein prädiktiver Marker für eine spezifische Therapie darstellt. Anhand der retrospektiven Kohorten ergibt sich hier zunächst kein Hinweis, da die Prognose HPV-assoziiierter Tumoren

sowohl nach primär radiotherapeutischer als auch nach primär chirurgischer Therapie besser ist. Problematisch ist bei dieser vergleichenden Bewertung, dass geschätzt 80 % der primär chirurgischen Patienten auch adjuvant bestrahlt wurden.

6.1 Strahlentherapie

Aufgrund von Zellkulturmodellen ergeben sich Hinweise für eine höhere Strahlenempfindlichkeit HPV-assoziiierter OSCC im Vergleich zu HPV negativen OSCC [182]. In eigenen Untersuchungen an Zelllinien konnte nach Strahlentherapie ein signifikant vermindertes klonogenes Überleben von HPV-positiven Tumorzelllinien gezeigt werden. Vergleichbare Resultate wurden von mehreren Arbeitsgruppen ebenfalls beschrieben [183]. Aus einer Meta-Analyse von 30 klinischen Studien ist das bessere Überleben nach alleiniger Radiotherapie bei HPV OSCC auch in der Klinik gesichert [184]. Dennoch ist der HPV-Nachweis alleine nicht prädiktiv für eine primäre radiotherapeutische Therapie. Als Hinweis dafür kann gewertet werden, dass wenn Patienten mit HPV OSCC alleine mittels Radiotherapie behandelt werden, die lokoregionäre Tumorkontrolle der p16-positiven Tumoren nach 5 Jahren nur bei 58 % und das Gesamtüberleben bei nur 62 % liegt [185]. Vergleichende Untersuchungen zu Radiochemotherapie oder zu primär chirurgischer Therapie liegen nicht vor. Die Prognose nach alleiniger Radiotherapie beim HPV-assoziierten OSCC kann insgesamt als 10–15 % schlechter abgeschätzt werden, gegenüber Patienten, die multimodal (z. B. mit Radiochemotherapie) behandelt werden [61, 139, 169].

Dies lässt den Schluss zu, dass eine Deeskalation für alle HPV-assoziierten OSCC mittels alleiniger Radiotherapie wahrscheinlich nicht geeignet ist. Darüberhinaus haben Patienten mit sehr fortgeschrittenen inoperablen OSCC auch unter intensivierter, definitiver Radiochemotherapie eine schlechte Prognose von unter 40 % progressionsfreiem Überleben [186]. Möglicherweise gibt es eben Untergruppen in HPV-assoziierten OSCC, z. B. mit kleinen Primärtumoren und nur gering ausgeprägter Halslymphknoten-Metastasierung, die mittels einer alleinigen Radiotherapie adäquat therapiert werden können. Hinweise hierfür gibt es aus einer retrospektiven Studien an knapp 900 Patienten. Die Patienten wurden jedoch in erster Linie dahingehend ausgewählt, ob sie phänotypisch einen HPV-assoziierten Tumor hatten, HPV Testergebnisse lagen nicht vor [187]. Welche zusätzlichen Prädiktoren neben HPV für eine solche gezielte Deeskalation der Therapie geeignet sind, wird derzeit in klinischen Deeskalationsstudien geprüft (► **Tab. 2**). Neben der Problematik, dass fortgeschrittene HPV OSCC mit alleiniger RT möglicherweise nicht adäquat therapiert sind, ergibt sich für Tumore mit ausgedehnter Halsmetastasierung (nach TNM der 7. Auflage: N2c) auch eine verhältnismäßig hohe Rate an Fernmetastasen (geschätzt bei 30 % der Patienten) nach alleiniger RT [188]. Daher sind Patienten mit fortgeschrittenem Tumorleiden beim HPV OSCC bei der Durchführung einer RT weiterhin auf die Gabe von Chemotherapie angewiesen. Dass die Deeskalation in der RT bereits Einzug gehalten hat, kann an mehreren publizierten retrospektiven Serien abgelesen werden. Bei 261 Patienten wurde die Ausparung des Tumorbettes in der adjuvanten Situation ohne reduzierte lokale Kontrolle berichtet [189]. Kontrollraten von über 97 % wurden in einer Meta-Analyse beschrieben, wenn auf die elektive Radiotherapie der Lymphabflusswege der Gegenseite bei HPV OSCC verzichtet wurde [190].

► **Tab. 3** TNM Kategorien in der 7. und 8. Auflage für OSCC.

TNM 7. Auflage		TNM 8. Auflage			
		p16 Negativ		p16 Positiv	
T		T		T	
c/p T1	≤ 2 cm	c/p T1	≤ 2 cm	c/p T1	≤ 2 cm
c/p T2	> 2 cm, ≤ 4 cm	c/p T2	> 2 cm, ≤ 4 cm	c/p T2	> 2 cm, ≤ 4 cm
c/p T3	> 4 cm o Ausbreitung auf linguale Epiglottis	c/p T3	> 4 cm o Ausbreitung auf linguale Epiglottis	c/p T3	> 4 cm o Ausbreitung auf linguale Epiglottis
c/p T4a	Infiltration Larynx, äußere Zungenmusk., Hartgaumen, Mandibula	c/p T4a	Infiltration Larynx, äußere Zungenmusk., Hartgaumen, Mandibula, Lamina med. Processus pterygoideus	c/p T4	Infiltration Larynx, äußere Zungenmusk., Lamina med./lat. Processus pterygoideus, Hartgaumen, Mandibula, M. pterygoideus lateralis, Schädelbasis, ACI, lat. Nasopharynx
c/p T4b	Infiltration M. pterygoideus lateralis, Schädelbasis, ACI	c/p T4b	Infiltration M. pterygoideus lateralis, Schädelbasis, ACI		
N		c N		c N	
c/p N0	keine regionären Lymphknotenmetastasen	c N0	keine regionären Lymphknotenmetastasen	c N0	keine regionären Lymphknotenmetastasen
c/p N1	Ipsilateral solitär ≤ 3 cm	c N1	Ipsilateral solitär ≤ 3 cm	c N1	ipsilateral solitär oder multipel ≤ 6 cm
c/p N2a	Ipsilateral solitär > 3–6 cm	c N2a	Ipsilateral solitär > 3–6 cm	c N2	kontralateral or oder bilateral ≤ 6 cm
c/p N2b	Ipsilateral multipel ≤ 6 cm	c N2b	Ipsilateral multipel ≤ 6 cm		
c/p N2c	Bilateral, kontralateral ≤ 6 cm	c N2c	Bilateral, kontralateral ≤ 6 cm		
c/p N3	Metastasen > 6 cm	c N3a	Metastasen > 6 cm	c N3	Metastasen > 6 cm
		c N3b	ECS		
		p N		p N	
		p N0	keine regionären Lymphknotenmetastasen	p N0	keine regionären Lymphknotenmetastasen
		p N1	Ipsilateral solitär ≤ 3 cm	p N1	≤ 4 betroffene Lymphknoten
		p N2a	Ipsilateral solitär, ≤ 3 mit ECS oder ≤ 6 cm ohne ECS	p N2	≥ 5 betroffene Lymphknoten
		p N2b	Ipsilateral multipel ≤ 6 cm, ohne ECS		
		p N2c	Bilateral, kontralateral ≤ 6 cm ohne ECS		
		p N3a	Metastasen > 6 cm, kein ECS		
		p N3b	Metastasen > 3 cm mit ECS oder kontra-/bilateral mit ECS		

6.2 Welche Rolle spielen Operationen?

Neben der Deeskalation durch alleinige Radiotherapie gibt es auch Ansätze mittels chirurgischer Verfahren in der Primärtherapie bspw. eine Deeskalation der adjuvanten Therapie herbeizuführen (► **Tab. 2**). Das Grundprinzip ist, durch eine vorgeschaltete primäre chirurgische Therapie (upfront surgery) histologisch gesicherte Prädiktoren zu erarbeiten, die eine Deeskalation der adjuvanten Therapie ermöglichen. Darüber hinaus kann in diesen Studien geprüft werden, ob Risikofaktoren, die bisher in der adjuvanten Situation zur Gabe einer simultanen Chemotherapie geführt haben, beim HPV-positiven Tumor ihre Berechtigung haben (siehe Kapitel 5.4). Den Wert einer Operation für das Überleben oder Funktion nach der Therapie eines

HPV OSCC herauszuarbeiten, wird durch die Tatsache erschwert, dass geschätzt 80 % aller primär chirurgisch behandelten Patienten auf eine adjuvante Therapie angewiesen sind. Derzeit werden klinische Studien mit Chirurgie beispielhaft mit folgenden Fragen durchgeführt: Reduktion der adjuvanten RT-Dosis nach der Bestimmung von Risikofaktoren postoperativ (ECOG 3311); Weglassen der Chemotherapie bei der postoperativen Bestrahlung (ADEPT); Vergleich von keiner adjuvante Bestrahlung vs. adjuvanter Radiatio mit 50 Gy, 60 Gy oder 60 Gy plus Platin, abhängig von Risikofaktoren (PATHOS).

Von besonderer Bedeutung sind in diesem Zusammenhang die beiden zurzeit anlaufenden von der Deutschen Krebshilfe geförderten Studien, die prospektiv beim Oropharynxkarzinom die primär

► **Tab. 4** Gruppen von Tumorstadien beim Oropharynxkarzinom, 8. Auflage.

p16 negativ				p16 positiv			
Stadium				Stadium	Klinisch		
0	Tis	N0	M0	Stadium 0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0	Stadium I	T1, T2	N0, N1	M0
II	T2	N0	M0	Stadium II	T1, T2	N2	M0
III	T3	N0	M0		T3	N0, N1, N2	M0
	T1, T2, T3	N1	M0	Stadium III	T1, T2, T3, T4	N3	M0
IVA	T4a	N0, N1	M0		T4	Jedes N	M0
	T1, T2, T3, T4a	N2	M0	Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1
IVB	Jedes T	N3	M0				
	T4b	Jedes N	M0				
IVC	Jedes T	Jedes N	M1				
				Stadium	Pathologisch		
				Stadium 0	Tis	N0	M0
				Stadium I	T1, T2	N0, N1	M0
				Stadium II	T1, T2	N2	M0
					T3	N0, N1	M0
				Stadium III	T3, T4	N2	M0
				Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1

chirurgische Therapie mit der primären Strahlentherapie vergleichen. Zwar werden hier nicht nur HPV-assoziierte Tumore eingeschlossen, dennoch wird der HPV-Status bestimmt und Subgruppenanalysen sind möglich. Die europaweite und in Deutschland durchgeführte EORTC Studie „Best of-1420“ hat hier die frühen Stadien des Oropharynxkarzinom mit funktionellen Endpunkten im Fokus. Dagegen vergleicht die TopROC-Studie die verschiedenen Therapiestrategien für fortgeschrittene OSCC und der Endpunkt ist das Überleben.

Die Wahl zwischen primär chirurgischer Herangehensweise gefolgt von risikoadaptierter adjuvanter Therapie oder primär nicht-chirurgischer Therapie hängt derzeit mehr von lokalen oder landesweiten Besonderheiten und Leitlinien ab. Kürzlich wurde ein Review für histopathologische Marker publiziert, hier konnten insbesondere ein fortgeschrittenes T-Stadium als Risikofaktor für ausbleibende Tumorkontrolle identifiziert werden [191]. Für Raucher ist in einer aktuellen retrospektiven Analyse beschrieben, dass die Prognose eher HPV-negativen OSCC-Patienten gleicht. Für primär chirurgisch behandelte Kohorten wird es zukünftig bedeutsam sein auch in einem prospektiven Setting Risikofaktoren zu identifizieren, die für die Prognose der Patienten bedeutsam sind, denn in Deutschland werden aktuell 75 % aller OSCC Patienten einer primär chirurgischen Therapie zugeführt. Beispielhaft kann die zystisch degenerierte Metastase angeführt werden, hier sind schlechte lokale Kontrollraten nach Therapie ohne Operation beschrieben [192]. In unserer eigenen Kohorte konnte für HPV OSCC insbesondere ein junges Lebensalter zusätzlich als Prädiktor für ein gutes Outcome identifiziert werden [193].

6.3 Chemotherapie und Antikörpertherapie

Patienten mit HPV OSCC haben ein besseres Outcome nach RCT als Patienten mit HPV negativen Tumoren, dieses wurde erstmals über-

zeugend in der so genannten Ang-Studie gezeigt [139]. Auch im adjuvanten Setting mit RCT wurde dieser Überlebensvorteil gezeigt [194], und nach Induktionschemotherapie ist das Ansprechen ebenfalls besser [195]. Vergleichbar mit den Ausführungen oben haben wir jedoch keine Kenntnis, ob die HPV-Positivität ein Prädiktor für eine Chemotherapie-Gabe ist, also ob HPV OSCC Patienten bevorzugt mit Chemotherapie behandelt werden sollten. Für die kombinierte Behandlung mit Nimorazole und Radiotherapie konnte bspw. gezeigt werden, dass bei HPV OSCC weder Patienten mit hypoxischen noch weniger hypoxischen Tumoren einen Überlebensvorteil haben, während für HPV-negative hypoxische Tumoren ein Vorteil gezeigt werden konnte [196]. In einer weiteren klinischen Studie mit einem Target für hypoxische Tumorzellen zeigte sich in einer Subgruppenanalyse für Patienten mit HPV OSCC sogar ein schlechteres Ansprechen [197]. Aus experimentellen Daten ergeben sich Hinweise für ein besonders gutes Ansprechen HPV-positiver Zelllinien auf Chemotherapie, in einer eigenen Untersuchung konnten wir bspw. eine bessere Chemosensitivität HPV-positiver Zelllinien gegenüber einem Platinderivat in Kombination mit Bestrahlung zeigen [198].

Studien zur Deintensivierung der Chemotherapie werden beim HPV OSCC mittels Ersatz einer platinbasierten Chemotherapie durch eine Antikörpertherapie mit Cetuximab verfolgt. Aus einer Analyse von HPV OSCC Patienten aus dem Kollektiv in der so genannten Bonner-Studie wurde jedoch kein spezifischer Vorteil für Patienten mit HPV OSCC gezeigt [199] und aus einer RTOG Studie mit Hinzunahme von Cetuximab zu platinbasierter Radiochemotherapie wurde ebenfalls kein Vorteil für Patienten mit HPV OSCC nachgewiesen [200]. Daher besteht aus klinischen Studien kein direkter Hinweis, dass HPV prädiktiv für eine Antikörper-Therapie mit Cetuximab ist. In mehreren klinischen Studien wird aktuell dennoch der Austausch

Tumorstadien bei HPV OSCC (n = 150) | 7. vs. 8. Auflage

	UICC Stadium I	UICC Stadium II	UICC Stadium III	UICC Stadium IV
7. Auflage	4 (2,7%)	6 (4,0%)	37 (24,7%)	103 (68,7%)
8. Auflage	79 (52,7%)	31 (20,7%)	31 (20,7%)	9 (6,0%)

► **Abb. 8** Durch die neuen Stagingregeln für HPV OSCC sind Stadium IV-Tumoren selten geworden, dafür existiert nun ein erheblicher Anteil an Stadium I- und Stadium II-Tumoren.

von Cisplatin durch Cetuximab randomisiert überprüft. Endpunkte der Studien sind analog zum fraglichen Benefit für die Tumorkontrolle eine geringere Toxizität der Therapie. Studien zur Deintensivierung der Radiotherapie-Dosis bei definitiver kombinierter platinhaltiger Radiochemotherapie werden aktuell mit dem Ziel einer Dosisreduktion im Primärtumorgebiet oder im Bereich der zervikalen Lymphabflusswege durchgeführt. Einschlusskriterien für die Deeskalationsstudien sind dabei zusätzliche günstige Risikoprofile der Patienten (Nichtraucher oder < 10 pack-years, < T3, usw.) [201]. In einer weiteren klinischen Studie (NCT02254278) wird für eine platinbasierte Radiochemotherapie oder alleinige Radiotherapie bei Patienten mit HPV OSCC randomisiert.

Bedeutsam sind retrospektive Studien zur adjuvanten Radiochemotherapie bei HPV OSCC. Die Indikationskriterien hierzu sind anerkannt, nämlich die inkomplette Exzision (R1) und das extranodale Tumorwachstum (ECS). Für HPV OSCC wurden mehrfach retrospektive Daten publiziert, aus denen relativ sicher ableitbar ist, dass die platinbasierte Radiochemotherapie in der adjuvanten Situation für Patienten mit HPV OSCC wahrscheinlich keinen bedeutsamen Zugewinn bei der Tumorkontrolle bringt. An einer Kohorte von 29 Patienten mit HPV OSCC (> 90 % der Patienten hatten keine tumorfreien Schnittränder!) wurden kürzlich keine Unterschiede in der Tumorkontrolle beschrieben, unabhängig davon ob die Patienten bei der postoperativen Bestrahlung mit oder ohne Chemotherapie behandelt wurden [202]. Zur Frage der Indikation der adjuvanten RCT bei ECS positiven Lymphknotenbefall liegen Daten aus mehreren Studien vor, jeweils wird angegeben, dass die kombinierte adjuvante Therapie beim HPV OSCC keinen Gewinn bei der Tumorkontrolle bringt [174, 175, 203]. Allerdings sind die publizierten Kollektive klein, selektioniert und retrospektiv ausgewertet, sodass auf der Basis der bisher publizierten Arbeiten sicher keine Empfehlung für das Weglassen der Chemotherapie bei der postoperativen Radiatio bei Vorliegen der Risikofaktoren, bspw. bei tumorinfiltrierten Schnitträndern abgegeben werden kann.

Zur Induktionschemotherapie liegen nur begrenzt Daten zum HPV OSCC vor. In einer ECOG Phase II Studie an resektablen KHT wurden 2 Zyklen Carboplatin und Paclitaxel gefolgt von einer Radiatio mit 70 Gy gegeben. Bei 62 Patienten mit OSCC (38/61 % HPV OSCC) wurde für HPV-getriebene Tumoren ein besseres Ansprechen auf die

Induktion (82 vs. 55 %; P = 0,01) und ein besseres Überleben nach 2 Jahren (95 vs. 62 %; P = 0,005) beschrieben [204].

Für HPV-positive Patienten aus der TAX 324 Studie (n = 56) konnte nach der Induktion (Cisplatin 100 mg/5-FU 1000 mg/ ± Docetaxel 75 mg) gefolgt von einer RCT eine bessere Tumorkontrolle gezeigt werden, allerdings war die Rate von Fernmetastasen nicht signifikant geringer [195]. In einer Studie mit TPF-Induktion aus Deutschland gefolgt von Operation und adjuvanter Therapie war der HPV-Status jedoch nicht prädiktiv für ein gutes Ansprechen auf die Chemotherapie [205]. In prospektiven klinischen Studien wird aktuell für das HPV assoziierte OSCC überprüft, ob eine Induktion als Schalterfunktion für eine deintensivierte Radiotherapie oder Radiochemotherapie dienen kann (Quarterback, ECOG 1308). HPV-positive Patienten zeigten in den beiden Studien jeweils hohe Komplettremissionen (ca. 80 %) nach der Induktionschemotherapie.

6.4 Immuntherapie

Ob der HPV-Status für neue immunonkologische Therapieansätze ein prädiktiver Marker sein kann, ist noch unbekannt. Der Programmed Death Receptor 1 (PD1) ist ein Mitglied der T-Zell-Rezeptor-Familie und wird auf der Oberfläche von Immunzellen exprimiert. Der Ligand von PD1 ist der Programmed Death Receptor Ligand 1 (PD-L1), und wird häufig auf der Oberfläche von Krebszellen exprimiert. Hierdurch wird eine zytotoxische T-Zellantwort supprimiert, was eigentlich dem Schutz vor Autoimmunkrankheiten dient. Die Wirksamkeit einer pharmazeutischen Blockade dieser Interaktion wurde beim Melanom, Bronchialkarzinom, Nierenzellkarzinom und weiteren Tumorentitäten überzeugend gezeigt [206]. Für HPV OSCC konnten wir in einer eigenen Untersuchung (zur Publikation eingereicht) eine erhöhte Expression des PD-L1 Rezeptors zeigen. Analog wurde für Tonsillenkarzinome ebenfalls eine erhöhte PD-L1-Expression gezeigt [207]. Allerdings gibt es erst in jüngerer Zeit Anstrengungen die PD-L1 Immunhistologie zu standardisieren [208, 209], sodass unterschiedliche Ergebnisse hier mitunter durch unterschiedliche Methodik (Antikörper, cut-off, usw.) erklärt werden können. Nicht nur die Ergebnisse von HPV-Status und PD-L1 Expression sind uneinheitlich, insbesondere besteht aktuell Unklarheit, ob eine immunhistochemisch sichtbare PD-L1-Expression für sich alleine prädiktiv für eine gegen die PD1/PD-L1-Achse gerichtete Antikörpertherapie ist [210].

Für HPV OSCC wurden differentielle Immuninfiltrate in Tumoren mehrfach beschrieben. CD8 positive T-Zellinfiltrate [211], NK-Zellinfiltrate [115] und PD-1 positive T-Zellinfiltrate wurde jeweils mit verbessertem Outcome beim HPV OSCC beschrieben [212]. In einer aktuellen Untersuchung wurden mittels Immunoscores (CD8, PD-L1 und CD68) beim HPV OSCC gezeigt, dass Fälle mit dichtem CD8+ T-Zellinfiltrat im Stroma und niedrigem PD-L1-Level im Tumor die beste Prognose hatten [213]. Derzeit ist beim HPV OSCC ungeklärt, welchen Wert eine PD-L1-Expression als Biomarker besitzt. Wahrscheinlich können zukünftig Kombinationen immunologischer Marker das Ansprechen auf eine Immuntherapie gerade beim HPV OSCC wirksam vorhersagen, weil die Karzinogenese beim HPV OSCC durch eine virale Immunmodulation in besonderem Maße getriggert wird. Die Kombination von immuntherapeutischen Medikamenten in Form einer Verstärkung des antitumoralen Mikromilieus durch T-Lymphozyten-kostimulatorische Agentien (z. B. CD27 Agonist), Chemokin-Rezeptor-Blockade (CXCR2, CSF1R und CCR4 Blockade) und direkten antitumoralen Medikamenten (EGFR, STAT3) sind möglicherweise gerade beim HPV OSCC zukünftig vielversprechend.

2 Checkpoint-Inhibitoren, Pembrolizumab (Keytruda) und Nivolumab (Opdivo) wurden bei Patienten mit Platin-Resistenz überprüft. In der KEYNOTE-012 Studie (Pembrolizumab) wurde ein Ansprechen von 32 % bei HPV-positiven KHT gegenüber 18 % bei HPV negativen Tumoren herausgearbeitet [214]. In der CheckMate-141 Studie (Nivolumab) lagen p16-Testergebnisse bei 178 von 361 Patienten vor. Unabhängig vom p16-Status war das Überleben im Therapiearm mit Nivolumab signifikant verlängert. HPV-positive Tumoren zeigten eine längere Tumorkontrolle (overall survival 9,1 Monate vs. 7,5 Monate bei HPV negativen KHT) [215]. Die Ergebnisse der beiden großen Therapiestudien lassen daher nicht den Schluss zu, dass im palliativen Setting die HPV-getriebene Karzinogenese prädiktiv ist für eine Therapie mit allein gegen die PD1/PD-L1-Achse gerichteten Antikörpern [216].

Aktuelle klinische Studien mit dem Fokus auf viraler Karzinogenese beinhalten Kombinationen aus Strahlentherapie, Immuntherapie, Chemotherapie und Vakzinierung (► **Tab. 5**). Eine therapeutische Vakzinierung wird bspw. gegen die E6/E7 Onkoproteine oder das p16-Protein gerichtet [217, 218]. Ein weiterer Ansatz ist die Injektion tumorspezifischer T-Zellen bei HPV OSCC Patienten. Therapeutische Vakzinen erlauben im Gegensatz zu prophylaktischen HPV Vakzinen die Bekämpfung einer bestehenden Infektion oder Antigenpositiver Tumorzellen. Ein Beispiel ist der attenuierte Bakterienstamm ADXS11-011, der das E7-Onkoprotein sezerniert und in einer Studie an 30 Patienten vor transoraler Operation infundiert wird (NCT02002182). Proteinbasierte Impfstoffe (ProCervix, TA-CIN) sind beim HPV OSCC bisher nicht in klinischer Prüfung. Vakzine auf DNA Basis (VGX-3100, INO-3112) wurden bei CIN-III Läsionen an der Zervix erfolgreich eingesetzt und befinden sich beim HPV OSCC in klinischer Prüfung (NCT02163057), wobei der Transfer einer DNA Vakzine jedoch nicht unproblematisch ist (Gene gun, Elektroporation).

Zusammenfassend kann zum heutigen Zeitpunkt von der Feststellung des HPV-Status beim Oropharynxkarzinom kein grundsätzlich geändertes Therapieregime abgeleitet werden. Insofern sollte auch für HPV-assoziierte OSCC die primärchirurgische Therapie individualisiert geprüft werden. Der Vorteil einer primär chirurgischen Therapie beim HPV-assoziierten Oropharynxkarzinom ergibt sich aus folgenden Überlegungen:

- Durch eine R0-Resektion des Primärtumors und Neck dissection kann meist auf eine adjuvante Radiochemotherapie verzichtet werden
- Durch die histologische Abklärung des Halses kann bei einer N0-Situation ganz auf eine adjuvante Therapie verzichtet werden
- Die applizierte Strahlendosis und die Strahlenfelder können möglicherweise vermindert werden. Voraussetzung hierfür ist die sichere R0-Resektion

Insofern muss die OP-Indikation bei HPV-assoziiertem OSCC besonders sorgfältig dahingehend gestellt werden, ob eine R0-Resektion gelingt und kann dann zu einer Optimierung des Therapie-regimes für den einzelnen Patienten führen.

6.5 Optionen nach Therapieversagen

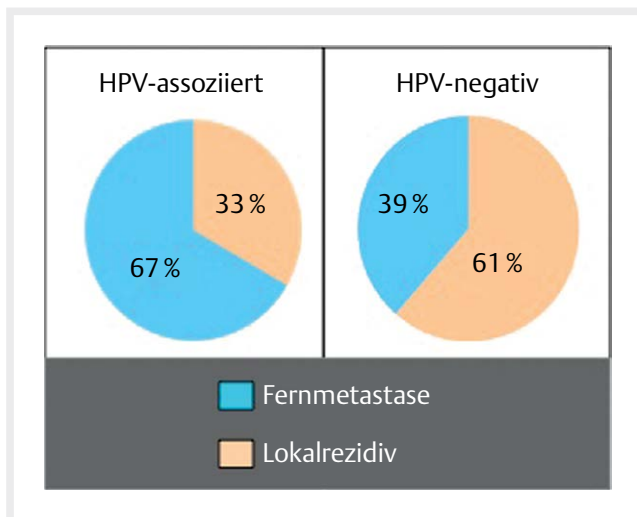
Ein Therapieversagen beim OSCC ist allgemein mit einer schlechten Prognose verknüpft, die Patienten erhalten daher oft eine palliative Chemotherapie oder keine tumorspezifische Therapie. Das durchschnittliche 5-Jahresüberleben nach Versagen der Erstlinien-Therapie kann beim OSCC allgemein etwa mit 25 % und das mediane Überleben mit 1,5 Jahren nach Feststellung der Diagnose eines Rezidivs abgeschätzt werden. Unser Wissen über das Management beim KHT ist jedoch auf Patienten mit HPV OSCC nicht einfach übertragbar. Therapieversagen beim HPV OSCC ist selten, und die Inzidenzunahme ist erst in den letzten 2 Jahrzehnten erfolgt. Daher sind die publizierten Serien zum rezidierten/metastasierten HPV OSCC klein. Auch aus den großen Therapiestudien zur palliativen Kombinations-Chemotherapie (EXTREME, SPECTRUM) ließen sich keine spezifischen Therapie-Empfehlungen für das HPV OSCC ableiten weil die Patientenzahl zu gering und der HPV-Status oft nicht eindeutig definiert war.

In den publizierten retrospektiven Serien konnte für HPV OSCC jedoch einheitlich erheblich bessere Überlebensraten auch beim Tumorrezidiv festgestellt werden. In einer großen Untersuchung an > 1000 Patienten, die im Rahmen zweier RTOG-Studien behandelt wurden, und ein Rezidiv hatten, war das 2-Jahresüberleben > 50 % (n = 105 HPV OSCC) vs. < 30 % (n = 76 HPV negativ). Interessanterweise war ein längeres Überleben signifikant mit „Salvage Surgery“ verknüpft [219]. Hinzu kommt, dass beim HPV OSCC andere Formen des Therapieversagens mit einer Häufung von Weichgewebs- und Fernmetastasen beschrieben sind [220]. Die Rate kann nach Auswertung unserer Patienten und anhand der publizierten Kollektive mit über 50 % abgeschätzt werden (► **Abb. 9**) und auch nach längeren Zeiten von Tumorkontrolle ist eine Häufung hämatogener Metastasen belegt [221]. Insbesondere bei hämatogener Metastasierung ist eine bessere Tumorkontrolle für das HPV OSCC beschrieben. In einer publizierten Serie war die mittlere Überlebensdauer beim fernmetastasierten HPV OSCC immerhin über 42 Monate [222], bzw. in einer anderen Serie 34 Monate [223]. Demgegenüber steht eine mittlere Überlebensdauer ab der Diagnose von Fernmetastasen von etwa 4 Monaten beim sonstigen KHT [224]. Die mittlere Überlebensdauer ist beim HPV OSCC also geschätzt fast 10-mal so lange.

Für die Salvage Therapie scheint zutreffend zu sein, dass bei lokalem Therapieversagen auch bei HPV OSCC häufig keine dauerhafte Tumorkontrolle durch eine Operation gelingt. In 2 publizierten retrospektiven Serien wurden bei lokalem Tumorrezidiv oder Lymphknotenrezidiv entsprechend keine signifikanten Unterschiede für die

► **Tab. 5** Eine Auswahl von Checkpoint-Inhibitoren mit denen aktuell oder zukünftig klinische Studien bei HPV OSCC durchgeführt werden.

Medikament	Status	Studientitel	Einschlusskriterium
Pembrolizumab	Not yet recruiting	Pembrolizumab Combined With Chemoradiotherapy in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck	KHT, Stratifiziert für HPV
	Recruiting	E7 TCR T Cells With or Without PD-1 Blockade for Human Papillomavirus-Associated Cancers	HPV getriebene Karzinome, inklusive OSCC
Nivolumab	Active, not recruiting	Nivolumab and HPV-16 Vaccination in Patients With HPV-16 Positive Incurable Solid Tumors	HPV getriebene Karzinome, inklusive OSCC
	Recruiting	HPV-16/18 E6/E7-Specific T Lymphocytes, Relapsed HPV-Associated Cancers, HESTIA	HPV getriebene Karzinome, inklusive OSCC
	Recruiting	Oropharyngeal Tumor Induction Chemotherapy and Response-stratified Locoregional Therapy Trial in Order to Minimize Long-term Adverse Events	HPV OSCC
	Recruiting	An Investigational Immuno-therapy Study to Investigate the Safety and Effectiveness of Nivolumab, and Nivolumab Combination Therapy in Virus-associated Tumors	HPV getriebene Karzinome, inklusive OSCC
Durvalumab	Not yet recruiting	Safety and Efficacy of MEDI0457 and Durvalumab in Patients With HPV Associated Recurrent/Metastatic Head and Neck Cancer	HPV OSCC, rezidiert
	Recruiting	Phase 1-2 Study of ADXS11-001 or MEDI4736 Alone or Combo In Cervical or HPV+ Head & Neck Cancer	HPV OSCC und Zervixkarzinom
	Recruiting	Durvalumab Before Surgery in Treating Patients With Oral Cavity or Oropharynx Cancer	OSCC und Mundhöhle
Avelumab	Not yet recruiting	Phase Ib/II of TG4001 and Avelumab in HPV16 Positive R/M Cancers and Expansion Cohort to Oropharyngeal SCCN	HPV getriebene Karzinome, inklusive OSCC
Ipilimumab	Recruiting	An Investigational Immuno-therapy Study to Investigate the Safety and Effectiveness of Nivolumab, and Nivolumab Combination Therapy in Virus-associated Tumors	HPV getriebene Karzinome, inklusive OSCC



► **Abb. 9** Die Art des Therapieversagens bei HPV-assoziertem und HPV-negativem OSCC unterscheidet sich: Patienten mit HPV getriebenem OSCC entwickeln häufig Fernmetastasen, bei HPV-negativem Tumor überwiegen lokale oder lokoregionäre Tumorrezidive.

Prognose beim Vergleich von HPV OSCC und HPV negativen Patienten gefunden [225, 226]. In einer weiteren aktuell publizierten Serie wurde interessanterweise bei chirurgischer Therapie von Fernmetastasen eine Tumorkontrolle der Fernmetastase von 100% (!) nach 3

Jahren (n = 18) erreicht [227]. Auch für die systemische Therapie bei HPV OSCC sind allerdings an einer sehr kleinen Kohorte langzeitüberlebende Patienten publiziert [228].

Es kann daher zusammenfassend aus den bisher publizierten Serien abgeleitet werden, dass für das Therapieversagen und insbesondere bei Oligo-Fernmetastasen eine chirurgische Rezidivtherapie oder gezielte Radiotherapie mit sogar kurativem Ansatz in Erwägung gezogen werden kann. Geeignete Kandidaten für eine solche Salvage-Therapie sind Patienten mit isolierten Lungen- oder Skelettmetastasen.

7. Nachsorge

7.1 Erfassung therapiebedingter Nebenwirkungen

Die kurative Therapie beim HPV OSCC führt in der Regel zur dauerhaften Heilung des Tumorleidens. Daher kommt der Erfassung der Toxizität der Therapie eine besondere Bedeutung zu. Die Dysphagie ist ein Leitsymptom bei Tumoren des Oropharynx, weil der Tumor immer in der Nähe der anatomischen Überkreuzung von Luft- und Speiseweg entsteht. Unmittelbar nach einer Operation und während einer Strahlentherapie stehen Dysphagie und Mukositis und deren Management im Vordergrund und nach der Therapie ist die Einschränkung der Schluckfunktion das wichtigste Symptom für die Einschränkung der Lebensqualität. Einschränkungen der Schluckfunktion verlässlich zu evaluieren ist daher von besonderer Bedeutung für das Therapiemanagement beim OSCC.

Ein praktikables Instrument zur Erfassung von Einschränkungen sind Patienten- oder Arzt-bezogene Fragebögen. In einem Review-Artikel aus 2014 wurden jedoch mehr als 20 verschiedene Screening-Instrumente mit dem Schwerpunkt auf Patientenfragebögen für Schluckstörungen beschrieben [229]. Welches Instrument ist nun am weitesten anerkannt, einfach durchführbar und liefert valide Testergebnisse für unsere Patienten? In aktuell rekrutierenden internationalen klinischen Studien wird auch in Europa häufig der MD Anderson Dysphagia Inventory (MDADI) angewendet. Die Entwicklung erfolgte mit Fokus auf Kopf-Hals-Tumoren, eine Validierung der Testergebnisse liegt für zahlreiche Landessprachen vor. Die 19 Items erfassen Emotion (6 Fragen), Funktion (5 Fragen), Körperfunktion (8 Fragen) und eine Globalfrage.

Die fiberoendoskopische Schluckuntersuchung (englisch: fiberoendoscopic evaluation of swallowing/FEES) ist eine Standard-Untersuchungstechnik für Patienten mit Dysphagie, hierfür wird eine indirekte Laryngoskopie flexibel transnasal durchgeführt. Larynx und Oropharynx werden in Ruhe und bei Schluckversuchen mit verschiedenen Konsistenzen beobachtet. Auswertungskriterien sind im Wesentlichen die Quantifizierung von Penetration (Eintritt von Material in den Larynx bis zur Glottis) und Aspiration (Eintritt von Material unter die Glottisebene). Zur Vereinheitlichung der Auswertung wird in Deutschland meist die Penetrations-Aspirations Skala nach Rosenbek angewendet. Die Skalenniveaus wurden mittels FEES validiert [230]. Ob die FEES der radiologischen Evaluierung von Aspiration mittels klassischem Breischluck überlegen ist, kann nicht beantwortet werden. Beide Verfahren werden im Ergebnis stark vom Probanden als auch vom Untersucher beeinflusst und sind daher naturgemäß nur eingeschränkt valide.

Bezüglich der Toxizität und der Tumorthherapie wurde für HPV OSCC Patienten mehrfach berichtet, dass unter RCT die Rate der Spättoxizitäten erniedrigt ist, allerdings liegen auch Literaturdaten vor, dass die Nebenwirkungen der Therapie von HPV OSCC Patienten als besonders schwerwiegend empfunden werden [231]. Insbesondere aus Lebensqualitätsuntersuchungen ist bekannt, dass Patienten mit HPV OSCC die Akutphase der Therapie mit stärkerer Beeinträchtigung erleben [232]. Für die tägliche Routine in der Tumornachsorge wurde im deutschen Sprachraum die Verwendung so genannter ICF Core Sets zur standardisierten Erfassung von Ne-

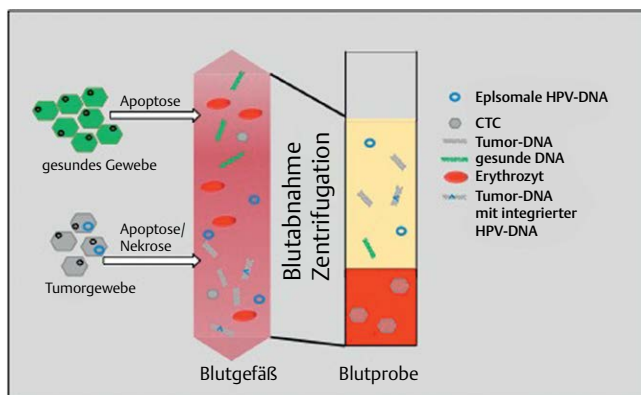
benwirkungen der Therapie vorgeschlagen. In einer eigenen Untersuchung haben sich die Fragebögen-Sets als brauchbar erwiesen, es entsteht jedoch ein erheblicher Aufwand in der Tumornachsorge [233].

7.2 Frühzeitiges Erkennen eines Therapieversagens

Mit der steigenden Inzidenz von HPV OSCC sinkt das Risiko für die Entstehung eines Zweitkarzinoms nach stattgefundener Therapie eines OSCC [234]. Wiederauftreten eines Tumors wird meist durch den Patienten aufgrund von erhöhtem Lokalschmerz, Entwicklung eines neuen Knotens im Halsbereich oder Gewichtsverlust und Schluckbeschwerden entdeckt. Um bereits vor dem Auftreten neuer Symptomen Therapieversagen feststellen zu können, wird intensiv an Methoden zur frühzeitigen Detektion von Rezidiven und/oder Metastasen geforscht. Eine vielversprechende Methode ist die sogenannte Flüssigbiopsie („Liquid Biopsy“), bei der es sich um eine nicht-invasive Probenentnahme humaner Flüssigkeiten wie Blut, Urin oder Speichel handelt. Diese Proben können auf Tumormarker untersucht werden, bei denen es sich sowohl um zell-freie zirkulierende Tumor-DNA, zirkulierende Tumorzellen, oder wie im Fall von HPV, um virale DNA handeln kann (► **Abb. 10**) [235, 236].

Zirkulierende Tumorzellen (CTCs) waren der erste Tumormarker, der in Flüssigbiopsien untersucht wurde. Sie gelangen von soliden Tumoren in den Blutkreislauf, liegen allerdings nur in sehr geringen Konzentrationen vor (1 Tumorzelle in etwa 1 Million gesunder Zellen). Entsprechend muss entweder ein hohes Volumen an Blut oder extrem sensitive Methoden angewendet werden.

Zell-freie zirkulierende DNA entsteht durch Apoptose oder Nekrose gesunder und entarteter Zellen. Durch Apoptose entstehen vermehrt Fragmente einer Länge von 180 Basenpaaren oder einem Vielfachen davon, wohingegen durch Nekrose unregelmäßig längere Fragmente von über 1000 Basenpaaren entstehen [237]. Der Anteil der Tumor-DNA an der gesamten zirkulierenden zell-freien DNA kann zwischen 0,01% und bis zu 50% ausmachen. Es wurde bereits für unterschiedliche Entitäten gezeigt, dass bei Tumorkranken insgesamt ein höherer Gehalt zell-freier DNA im Blut vorliegt als bei Gesunden. Interessanterweise korreliert die Konzentration mit dem Vorhandensein von Halsmetastasen und weist auf schlechteres Überleben hin [238]. Methodisch werden Flüssigbiopsien häufig mit quantitativer oder digitaler PCR, Sequenzierungsmethoden (Sanger Sequenzierung, Pyrosequenzierung, NGS, Whole Genome/Exome Sequencing, CAPP-Seq (cancer personalized profiling by deep sequencing)) oder BEAMing (beads, emulsion, amplification, and magnetics) untersucht [239]. Mit Next Generation Sequenzierungen können bestimmte Genabschnitte oder ganze Gene sequenziert und Veränderungen im Vergleich zu einem Referenzgenom detektiert werden. Bei der zielgerichteten Sequenzierung (targeted NGS) werden die zu untersuchenden Genabschnitte vom Anwender gewählt. Dabei werden Regionen untersucht, die bereits in der Literatur beschrieben wurden. Der Vorteil dieser Technologie liegt darin, dass eine höhere Abdeckung der Zielregion und somit eine Detektion seltener Varianten erreicht wird. Mit PCR, BEAMing und targeted NGS können somit bekannte (Punkt-)Mutationen detektiert werden, während mit Whole Genome oder Whole Exome Sequenzierung unbekannt Mutationen, chromosomale Aberrationen und veränderte Kopienzahlen, sowie virale DNA-Sequenzen und deren Integrationsstellen im humanen Genom festgestellt werden können [240]. Nachteil-



► **Abb. 10** Schematische Darstellung des Prinzips einer nicht-invasiven Flüssigbiopsie. Dargestellt sind zirkulierende Tumorzellen (CTC) gesunde zell-freie DNA, Tumor-DNA, Tumor-DNA mit integrierter HPV-DNA sowie episomal vorliegende HPV-DNA.

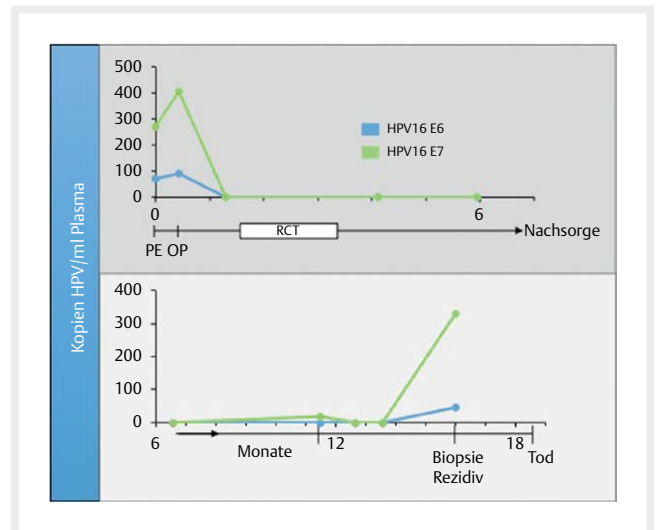
le der NGS-Technologie zur Anwendung in der Routine sind die immer noch hohen Kosten, die Voraussetzung qualitativ-hochwertiger DNA sowie die Fülle generierter Daten, die analysiert und interpretiert werden müssen.

Bei viralen Infektionen kann das Blut zusätzlich auf virale DNA untersucht werden. Im Fall des Epstein-Barr Virus konnte bei Nasopharynxkarzinomen (NPC) eine erhöhte Viruslast in Tumorpatienten und ein Rückgang der Last nach Therapie nachgewiesen werden [241]. Außerdem konnte kürzlich in Gebieten mit hoher Inzidenz des NPC gezeigt werden, dass mit der Detektion von EBV-DNA im Blutplasma ein Screeningverfahren für das NPC zur Verfügung steht [242]. In dieser Studie wurden Seren von über 20000 Fällen untersucht und damit konnten frühzeitig NPC entdeckt werden, sodass sich die Prognose dieser Patienten erheblich verbesserte. Diese Untersuchungen zeigen, wie die Detektion von Virus-DNA bei Virus-induzierten Malignomen als Marker genutzt werden kann. HPV-DNA konnte in Plasma und Speichel von Kopf-Hals-Tumor Patienten detektiert werden. In derselben Studie wurde gezeigt, dass Tumor-DNA vor Diagnose eines Rezidivs detektiert wurde, jedoch nicht bei Rezidiv-freien Patienten. In 3 Patienten konnte nach Behandlung des Primärtumors und 9-15 Monate vor klinischer Diagnose des Rezidivs Tumor-DNA detektiert werden [235]. In einer eigenen Untersuchung konnten wir sowohl erfolgreiche Tumorkontrolle als auch Therapieversagen an einzelnen Patienten mittels Nachweis von Tumor-DNA im Blut aufzeigen (► **Abb. 11**). In einer Studie, die HPV-DNA im Serum von OSCC-Patienten untersuchte, konnte ein Rückgang der DNA unter Radiochemotherapie beobachtet werden. 4 Patienten entwickelten einen Rückfall (1 lokoregionäres Rezidiv, 3 Fernmetastasen). Für die 3 Patienten mit Fernmetastasen konnte zum Zeitpunkt des Rückfalls erneut HPV-DNA detektiert werden, allerdings nicht für den Patienten mit dem lokoregionärem Rezidiv [243].

Neben viraler DNA können in zell-freier Tumor-DNA ebenfalls Tumor-spezifische Mutationen nachgewiesen werden. Dies ist durch die hohe Sensitivität der NGS-Technologien möglich geworden. Auf diese Art könnten zukünftig Patienten-spezifische Tumormutationsmuster angelegt und in Plasma und Speichel untersucht werden. Weiterhin wird zurzeit untersucht, ob mittels Sequenzierungen von Tumorzellklonen zusätzlich erworbene Resistenzen ermittelt werden können, und ob damit eine Adaptierung der Therapie möglich ist. Bspw. konnten Resistenzen gegen Gefitinib und Erlotinib beim nichtkleinzelligem Lungenkarzinom (NSCLC) im EGFR Gen identifiziert werden [244].

7.3 Konsequenzen für die Tumornachsorge

Die deutsche Krebsgesellschaft schlägt für Nachsorge-Besuche von Kopf-Hals-Tumorpatienten mit geringem Risiko eine 3-monatige Frequenz im ersten Jahr, alle 4–6 Monate im zweiten Jahr, halbjährlichen im dritten und vierten Jahr und jährlich ab dem fünften Jahr nach Beendigung der Therapie vor. Für Tumorpatienten mit hohem Risiko für einen Rückfall wird zu einem Besuch alle 6 Wochen im ersten Jahr, im zweiten Jahr alle 3 Monate und ebenfalls alle 6 Monate im dritten und vierten Jahr und jährlich im fünften Jahr geraten (www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/krebsarten/andere-krebsarten/kopf-hals-tumoren/kopf-hals-tumoren-nachsorge-und-reh.html; Stand 01.08.2017).



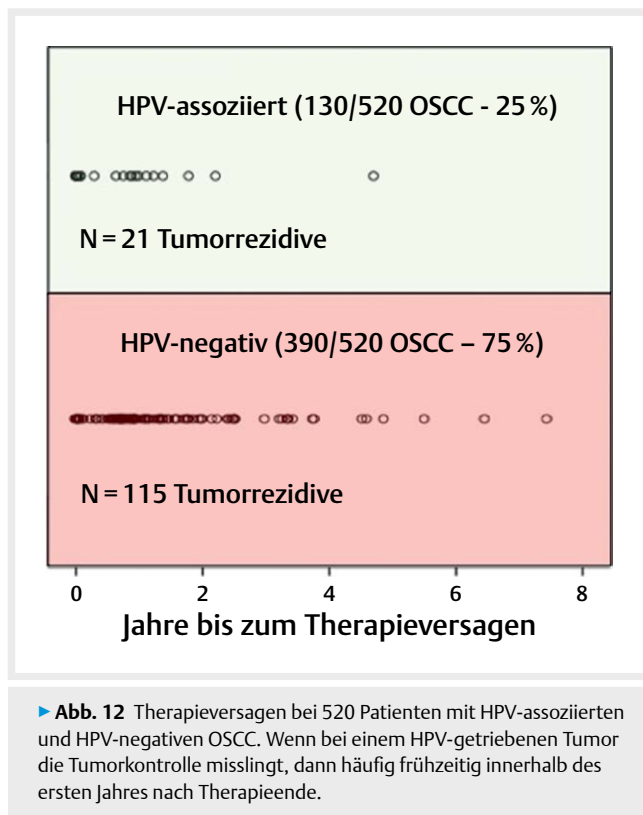
► **Abb. 11** Korrelation zwischen der Detektion von HPV DNA im Blut unter der Therapie sowie während der Nachsorge.

Patienten mit HPV OSCC können über einen längeren Zeitraum als 5 Jahre in der Tumornachsorge verbleiben, weil Langzeitüberleben typisch und die Erfassung von Spättoxizität bedeutsam ist. Ein besonderer Umstand ist die Häufigkeit einer hämatogenen Tumoraussaat. Sie ist nach der Therapie wegen HPV OSCC ungewohnt hoch und kann etwa mit 50% abgeschätzt werden. Insbesondere deshalb und wegen der Möglichkeit für gute Tumorkontrolle auch bei Oligometastasierung kann eine engmaschige Bildgebung des Körperstammes für HPV OSCC in der Tumornachsorge empfohlen werden (► **Abb. 12**). Möglicherweise wird in naher Zukunft der Nachweis von viraler DNA in der Nachsorge bei HPV OSCC einen Stellenwert haben.

8. Was bringt die Zukunft?

Die epidemiologische Entwicklung von KHT ist nicht mit anderen Entitäten vergleichbar. KHT setzen sich aus 2 nach klinischen und biologischen Gesichtspunkten klar unterscheidbaren Subentitäten zusammen. Die Prävalenz HPV-negativer KHT geht aufgrund des Erfolgs von anti-Raucher Kampagnen und sinkendem Tabakkonsum allgemein zurück, die der HPV-assoziierten KHT steigt jedoch stetig in vielen Ländern an. Es bleibt offen, ob der Anteil HPV-negativer KHT in Zukunft durch HPV-assoziierte Tumore ersetzt wird, oder ob gar die jetzige Gesamtinzidenz der KHT damit ansteigt. Nachvollziehbare und überprüfbare Gründe für den Anstieg der HPV-Prävalenz bei KHT, wie z. B. eine maßgebliche Veränderung des Sexualverhaltens in den vergangenen Jahrzehnten, sind unbekannt. Ebenso fehlen gezielte Maßnahmen zur Reduktion der HPV-Prävalenz bei KHT, sodass anhand der aktuellen Daten nur von einem weiteren Anstieg der HPV-Prävalenz bei KHT ausgegangen werden kann.

Der Wert einer Prophylaxe durch Impfung ist bei vielen Infektionskrankheiten anerkannt. Jüngste Studien bestätigen den beeindruckenden Erfolg einer Impfung in Australien gegen genitale HPV-Infektionen. In einem Zeitraum von etwa 10 Jahren nach der Einfüh-



► **Abb. 12** Therapieversagen bei 520 Patienten mit HPV-assoziierten und HPV-negativen OSCC. Wenn bei einem HPV-getriebenen Tumor die Tumorkontrolle misslingt, dann häufig frühzeitig innerhalb des ersten Jahres nach Therapieende.

Die Einführung des nationalen quadrivalenten HPV-Impfprogramms bei jungen Frauen, ging die Häufigkeit von Genitalwarzen um mehr als 90%, die von hochgradigen zervikalen Läsionen um mehr als 50% in der untersuchten Population zurück. Inzwischen wurde die Impfung in Australien ebenfalls auf Jungen ausgeweitet. Die wichtigsten Virustypen (HPV16 und -18) sind beim Zervixkarzinom und bei KHT identisch und auf molekularer Ebene entsprechen sich viele Aspekte der Karzinogenese in beiden Entitäten. Da entsprechende Gegenargumente fehlen sollte davon auszugehen sein, dass eine primäre Prophylaxe durch die Impfung gegen die wichtigsten Virustypen, vor einem HPV-assoziierten KHT schützen kann.

Um die Wirksamkeit der Impfung für HPV-assoziierten KHT darzustellen bestehen 2 grundlegende Probleme. Dies sind die extrem lange Latenzzeit bis es nach einer Infektion zur Entwicklung eines HPV-assoziierten KHT kommt und das Fehlen von KHT-Vorstufe, deren Verminderung als Endpunkt einer Impfstudie dienen könnte. Die aktuellen Impfquoten in Deutschland liegen mit 42,5% der Frauen deutlich unter der von Australien und der für eine Herdenprotektion benötigten Wert von ~85%. Demnach besteht nur ein individueller Schutz und ein messbarer Schutz in der Population kann, wenn überhaupt, erst nach vielen Jahren nachweisbar sein. Hinzu kommt, dass die Impfung vorrangig Frauen im Rahmen der Zervixkarzinomprävention betrifft. KHT und HPV-assoziierte KHT treten jedoch meist bei Männern auf. Da die Impfstoffe auch für Jungen zugelassen sind, sollte die HPV-Impfung auch für Jungen empfohlen werden. Dies entspricht auch der Empfehlung „Alle Jungen sollen ab dem 9. Lebensjahr, möglichst frühzeitig gegen HPV geimpft werden.“ in der entsprechenden S3-Leitlinie (S3-Leitlinie zur Impfprävention HPV-assoziiierter Neoplasien; <http://www.awmf.org>). Allerdings wird zurzeit die HPV-Impfung von Jungen noch nicht von der STIKO empfoh-

len, dennoch wird sie sporadisch auf Antrag auch von Krankenkassen übernommen. Erfreulicherweise erstatten außerdem inzwischen immer mehr Krankenkassen die Kosten der Impfung auch für Frauen über 18 Jahren und es bleibt zu hoffen, dass die Impfquoten langfristig ansteigen.

In mehreren Studien wurden Modelle entwickelt, in denen die Bedeutung von Risikofaktoren für die Prognose von KHT untersucht wurde. Zusammenfassend wird gezeigt, dass deutlich unterschiedliche Risikogruppen existieren, die aufgrund von klinischen und „lifestyle“ Faktoren bestimmt werden. Der bei weitem wichtigste Faktor scheint hierbei HPV sein, gefolgt von Tumor-spezifischen Eigenschaften wie T- und N-Status, Tabak- und Alkoholkonsum sowie dem physischen Zustand des Patienten. Die Wichtigkeit der Faktoren in den Modellen scheint hierbei für die Behandlungsstrategie von Bedeutung zu sein, da Unterschiede in den Modellen bestehen, je nachdem ob sie anhand von Patientenkollektiven erstellt wurden, die primär chirurgisch oder strahlentherapeutisch behandelt wurden. Gleich welches Modell herangezogen wird, existieren jedoch Patienten mit niedrigem und hohem Risiko. Erstere werden durch konventionelle Therapieverfahren möglicherweise übertherapiert, was mit unnötigen Einschränkungen der Lebensqualität verbunden ist. Für Letztere muss die Therapie verbessert werden. In mehreren aktuellen Studien wird derzeit eine Deeskalation der Therapie getestet. Die Selektion der Patienten erfolgt hierbei anhand des HPV-Status der Tumore, es ist jedoch fraglich ob für eine mögliche Deeskalation dies der einzige Faktor von Bedeutung ist. Auch in Niedrig-Risiko Gruppen von Patienten können Unterschiede bestehen, wodurch Therapieversagen nach einer deeskalierten Behandlung resultieren kann. Für diese Fälle müssen weitere Optionen entwickelt und bereitgehalten werden. Die Weiterentwicklung prognostischer Modelle und die Einbeziehung weiterer Faktoren kann in Zukunft helfen geeignete Patienten für eine Deeskalation oder spezifischere Therapien zu identifizieren.

Neue Behandlungsstrategien zeichnen sich derzeit insbesondere im Bereich der Modulation von Immuncheckpoints ab. Die Aktivierung des Immunsystems scheint von enormer Bedeutung für den Behandlungserfolg zu sein, da viele Studien zeigen, dass Tumore Immunzellen beeinflussen und sich vor dem Erkennen durch das Immunsystem verbergen. Eine Behandlung durch Immuntherapeutika in Kombination mit konventionellen Methoden wie Chirurgie und Bestrahlung ist vielversprechend und die aktuellen Studien werden zeigen, welche Patientengruppen am meisten profitieren werden.

Neben neuartigen Therapieansätzen sind die Weiterentwicklung diagnostischer Methoden und die Definition geeigneter Tumormarker voranzutreiben, um die Sicherheit der Stratifizierung von Patienten für unterschiedliche Therapiearme zu verbessern und Therapieversagen möglichst frühzeitig erkennen zu können. Die Fortschritte in der Sequenzierungstechnik ermöglichen die Bestimmung des genetischen Hintergrunds eines Tumors. Hieraus können die betroffenen Signalwege identifiziert werden, die Zielstrukturen für molekulare Therapieansätze bilden. Es können hieraus aber auch individuelle Marker abgeleitet werden, die genutzt werden können, um z. B. im Rahmen von Liquid Biopsies während der Tumornachsorge den Therapieverlauf zu überwachen und Wiederauftreten der Tumorerkrankung frühzeitig zu erkennen. Möglicherweise können individuelle genetische Marker in Zukunft auch genutzt werden, um eine Patienten-spezifische Therapiestrategie mit optimaler Wirk-

samkeit bei minimalen Nebenwirkungen und Langzeitschäden zu ermöglichen. Jedoch steht die klonale Selektion und „genetische Weiterentwicklung“ von Tumorzellen dem gegenüber und eine bessere Kenntnis der molekularen Prozesse während der Karzinogenese, sowie klinischen Studien sind unerlässlich, um die wissenschaftliche Erkenntnis in die klinische Praxis zu bringen.

Interessenkonflikt

Die Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

- [1] Javadi P et al. Evolving disparities in the epidemiology of oral cavity and oropharyngeal cancers. *Cancer Causes Control* 2017; 28: 635–645
- [2] Mifsud M et al. Evolving trends in head and neck cancer epidemiology: Ontario, Canada 1993–2010. *Head Neck* 2017; 39: 1770–1778
- [3] Chaturvedi AK et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4294–4301
- [4] Nasman A et al. Incidence of human papillomavirus (HPV) positive tonsillar carcinoma in Stockholm, Sweden: an epidemic of viral-induced carcinoma? *Int J Cancer* 2009; 125: 362–366
- [5] Wittekindt C et al. Expression of p16 protein is associated with human papillomavirus status in tonsillar carcinomas and has implications on survival. *Adv Otorhinolaryngol* 2005; 62: 72–80
- [6] Quabius ES et al. Geographical and anatomical influences on human papillomavirus prevalence diversity in head and neck squamous cell carcinoma in Germany. *Int J Oncol* 2015; 46: 414–422
- [7] Wurdemann N et al. Prognostic Impact of AJCC/UICC 8th Edition new staging rules in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Front Oncol* 2017; 7: 129
- [8] Klussmann JP et al. Expression of p16 protein identifies a distinct entity of tonsillar carcinomas associated with human papillomavirus. *Am J Pathol* 2003; 162: 747–753
- [9] Saraiya M et al. US assessment of HPV types in cancers: implications for current and 9-valent HPV vaccines. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107: djv086
- [10] Mehanna H et al. Prevalence of human papillomavirus in oropharyngeal and nonoropharyngeal head and neck cancer--systematic review and meta-analysis of trends by time and region. *Head Neck* 2013; 35: 747–755
- [11] Abogunrin S et al. Prevalence of human papillomavirus in head and neck cancers in European populations: a meta-analysis. *BMC Cancer* 2014; 14: 968
- [12] Isayeva T et al. Human papillomavirus in non-oropharyngeal head and neck cancers: a systematic literature review. *Head Neck Pathol* 2012; 6: (Suppl 1): S104–S120
- [13] Ndiaye C et al. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol* 2014; 15: 1319–1331
- [14] Castellsague X et al. HPV involvement in head and neck cancers: comprehensive assessment of biomarkers in 3680 Patients. *J Natl Cancer Inst* 2016; 108: djv403
- [15] Lassen P et al. Impact of HPV-associated p16-expression on radiotherapy outcome in advanced oropharynx and non-oropharynx cancer. *Radiother Oncol* 2014; 113: 310–316
- [16] Chung CH et al. p16 protein expression and human papillomavirus status as prognostic biomarkers of nonoropharyngeal head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2014; 32: 3930–3938
- [17] Scheel A et al. Classification of TP53 mutations and HPV predict survival in advanced larynx cancer. *Laryngoscope* 2016; 126: E292–E299
- [18] Mork J et al. Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2001; 344: 1125–1131
- [19] Anantharaman D et al. Human papillomavirus infections and upper aero-digestive tract cancers: the ARCAGE study. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105: 536–545
- [20] Kreimer AR et al. Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. *Sex Transm Dis* 2010; 37: 386–391
- [21] Gillison ML et al. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009–2010. *JAMA* 2012; 307: 693–703
- [22] Giuliano AR et al. Incidence, prevalence, and clearance of type-specific human papillomavirus infections: The Young Women's Health Study. *J Infect Dis* 2002; 186: 462–469
- [23] Pickard RK et al. The prevalence and incidence of oral human papillomavirus infection among young men and women, aged 18–30 years. *Sex Transm Dis* 2012; 39: 559–566
- [24] Kreimer AR et al. Incidence and clearance of oral human papillomavirus infection in men: the HIM cohort study. *Lancet* 2013; 382: 877–887
- [25] D'Souza G et al. Oral human papillomavirus (HPV) infection in HPV-positive patients with oropharyngeal cancer and their partners. *J Clin Oncol* 2014; 32: 2408–2415
- [26] D'Souza G et al. Six-month natural history of oral versus cervical human papillomavirus infection. *Int J Cancer* 2007; 121: 143–150
- [27] D'Souza G et al. Differences in oral sexual behaviors by gender, age, and race explain observed differences in prevalence of oral human papillomavirus infection. *PLoS One* 2014; 9: e86023
- [28] Partridge JM et al. Genital human papillomavirus infection in men: incidence and risk factors in a cohort of university students. *J Infect Dis* 2007; 196: 1128–1136
- [29] Poethko-Muller C, Buttmann-Schweiger N, Ki G.G.S.S.G. [HPV vaccination coverage in German girls: results of the KiGGs study: first follow-up (KiGGs Wave 1)]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2014; 57: 869–877
- [30] Armstrong EP. Prophylaxis of cervical cancer and related cervical disease: a review of the cost-effectiveness of vaccination against oncogenic HPV types. *J Manag Care Pharm* 2010; 16: 217–230
- [31] Drolet M et al. Population-level impact and herd effects following human papillomavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2015; 15: 565–580
- [32] Novakovic D et al. Juvenile recurrent respiratory papillomatosis: 10-year audit and Australian prevalence estimates. *Laryngoscope* 2016; 126: 2827–2832
- [33] Matys K et al. Mother-infant transfer of anti-human papillomavirus (HPV) antibodies following vaccination with the quadrivalent HPV (type 6/11/16/18) virus-like particle vaccine. *Clin Vaccine Immunol* 2012; 19: 881–885
- [34] Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57–70
- [35] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646–674
- [36] Napier SS, Speight PM. Natural history of potentially malignant oral lesions and conditions: an overview of the literature. *J Oral Pathol Med* 2008; 37: 1–10

- [37] van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol* 2009; 45: 317–323
- [38] Zhang L et al. Loss of heterozygosity (LOH) profiles--validated risk predictors for progression to oral cancer. *Cancer Prev Res (Phila)* 2012; 5: 1081–1089
- [39] Ha PK, Califano JA. The role of human papillomavirus in oral carcinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15: 188–196
- [40] Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer* 1953; 6: 963–968
- [41] Califano J et al. Genetic progression model for head and neck cancer: implications for field cancerization. *Cancer Res* 1996; 56: 2488–2492
- [42] van Houten VM et al. Mutated p53 as a molecular marker for the diagnosis of head and neck cancer. *J Pathol* 2002; 198: 476–486
- [43] Leemans CR, Braakhuis BJ, Brakenhoff RH. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 9–22
- [44] Rietbergen MM et al. No evidence for active human papillomavirus (HPV) in fields surrounding HPV-positive oropharyngeal tumors. *J Oral Pathol Med* 2014; 43: 137–142
- [45] Watson IR et al. Emerging patterns of somatic mutations in cancer. *Nat Rev Genet* 2013; 14: 703–718
- [46] Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2: a001008
- [47] Seiwert TY et al. Integrative and comparative genomic analysis of HPV-positive and HPV-negative head and neck squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 632–641
- [48] Lechner M et al. Targeted next-generation sequencing of head and neck squamous cell carcinoma identifies novel genetic alterations in HPV+ and HPV- tumors. *Genome Med* 2013; 5: 49
- [49] Wagner S et al. [HPV-associated head and neck cancer: mutational signature and genomic aberrations]. *HNO* 2015; 63: 758–767
- [50] Cancer Genome Atlas, N. Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. *Nature* 2015; 517: 576–582
- [51] Gaykalova DA et al. Novel insight into mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2014; 9: e93102
- [52] Keating PJ et al. Frequency of down-regulation of individual HLA-A and -B alleles in cervical carcinomas in relation to TAP-1 expression. *Br J Cancer* 1995; 72: 405–411
- [53] Gollin SM. Cytogenetic alterations and their molecular genetic correlates in head and neck squamous cell carcinoma: a next generation window to the biology of disease. *Genes Chromosomes Cancer* 2014; 53: 972–990
- [54] Noutomi Y et al. Comparative genomic hybridization reveals genetic progression of oral squamous cell carcinoma from dysplasia via two different tumorigenic pathways. *J Pathol* 2006; 210: 67–74
- [55] Wreesmann VB et al. Genetic abnormalities associated with nodal metastasis in head and neck cancer. *Head Neck* 2004; 26: 10–15
- [56] Klussmann JP et al. Genetic signatures of HPV-related and unrelated oropharyngeal carcinoma and their prognostic implications. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1779–1786
- [57] Hopman AH et al. Genomic integration of oncogenic HPV and gain of the human telomerase gene TERC at 3q26 are strongly associated events in the progression of uterine cervical dysplasia to invasive cancer. *J Pathol* 2006; 210: 412–419
- [58] Mooren JJ et al. Chromosome stability in tonsillar squamous cell carcinoma is associated with HPV16 integration and indicates a favorable prognosis. *Int J Cancer* 2013; 132: 1781–1789
- [59] Prigge ES et al. p16(INK4a) /Ki-67 co-expression specifically identifies transformed cells in the head and neck region. *Int J Cancer* 2015; 136: 1589–1599
- [60] Mooren JJ et al. P16(INK4A) immunostaining is a strong indicator for high-risk-HPV-associated oropharyngeal carcinomas and dysplasias, but is unreliable to predict low-risk-HPV-infection in head and neck papillomas and laryngeal dysplasias. *Int J Cancer* 2014; 134: 2108–2117
- [61] Reimers N et al. Combined analysis of HPV-DNA, p16 and EGFR expression to predict prognosis in oropharyngeal cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1731–1738
- [62] Vent J et al. p16 expression in carcinoma of unknown primary: diagnostic indicator and prognostic marker. *Head Neck* 2013; 35: 1521–1526
- [63] Jung AC et al. Biological and clinical relevance of transcriptionally active human papillomavirus (HPV) infection in oropharynx squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2010; 126: 1882–1894
- [64] Gao G, Smith DI. Very large common fragile site genes and their potential role in cancer development. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71: 4601–4615
- [65] Karim R et al. Human papillomavirus (HPV) upregulates the cellular deubiquitinase UCHL1 to suppress the keratinocyte's innate immune response. *PLoS Pathog* 2013; 9: e1003384
- [66] Olthof NC et al. Comprehensive analysis of HPV16 integration in OSCC reveals no significant impact of physical status on viral oncogene and virally disrupted human gene expression. *PLoS One* 2014; 9: e88718
- [67] Olthof NC et al. Viral load, gene expression and mapping of viral integration sites in HPV16-associated HNSCC cell lines. *Int J Cancer* 2015; 136: E207–E218
- [68] Nulton TJ et al. Analysis of The Cancer Genome Atlas sequencing data reveals novel properties of the human papillomavirus 16 genome in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 2017; 8: 17684–17699
- [69] Lace MJ et al. Human papillomavirus type 16 (HPV-16) genomes integrated in head and neck cancers and in HPV-16-immortalized human keratinocyte clones express chimeric virus-cell mRNAs similar to those found in cervical cancers. *J Virol* 2011; 85: 1645–1654
- [70] Karunasinghe N et al. Influence of Aldo-keto reductase 1C3 in prostate cancer – a mini review. *Curr Cancer Drug Targets* 2017
- [71] Kostareli E et al. HPV-related methylation signature predicts survival in oropharyngeal squamous cell carcinomas. *J Clin Invest* 2013; 123: 2488–2501
- [72] Minarovits J et al. Epigenetic dysregulation in virus-associated neoplasms. *Adv Exp Med Biol* 2016; 879: 71–90
- [73] Reed AL et al. High frequency of p16 (CDKN2/MTS-1/INK4A) inactivation in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 1996; 56: 3630–3633
- [74] McLaughlin-Drubin ME, Park D, Munger K. Tumor suppressor p16INK4A is necessary for survival of cervical carcinoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 16175–16180
- [75] Munger K, Gwin TK, McLaughlin-Drubin ME. p16 in HPV-associated cancers. *Oncotarget* 2013; 4: 1864–1865
- [76] Schlecht NF et al. Epigenetic changes in the CDKN2A locus are associated with differential expression of P16INK4A and P14ARF in HPV-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer Med* 2015; 4: 342–353
- [77] Wijetunga NA et al. Novel epigenetic changes in CDKN2A are associated with progression of cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol* 2016; 142: 566–573

- [78] Kostareli E et al. Gene promoter methylation signature predicts survival of head and neck squamous cell carcinoma patients. *Epigenetics* 2016; 11: 61–73
- [79] Reuschenbach M et al. Methylation status of HPV16 E2-binding sites classifies subtypes of HPV-associated oropharyngeal cancers. *Cancer* 2015; 121: 1966–1976
- [80] Chaiwongkot A et al. Differential methylation of E2 binding sites in episomal and integrated HPV 16 genomes in preinvasive and invasive cervical lesions. *Int J Cancer* 2013; 132: 2087–2094
- [81] Wagner S et al. Human papillomavirus-related head and neck cancer. *Oncol Res Treat* 2017; 40: 334–340
- [82] Mirghani H et al. Comparative analysis of micro-RNAs in human papillomavirus-positive versus -negative oropharyngeal cancers. *Head Neck* 2016; 38: 1634–1642
- [83] Lajer CB et al. Different miRNA signatures of oral and pharyngeal squamous cell carcinomas: a prospective translational study. *Br J Cancer* 2011; 104: 830–840
- [84] Lajer CB et al. The role of miRNAs in human papilloma virus (HPV)-associated cancers: bridging between HPV-related head and neck cancer and cervical cancer. *Br J Cancer* 2012; 106: 1526–1534
- [85] Wald AI et al. Alteration of microRNA profiles in squamous cell carcinoma of the head and neck cell lines by human papillomavirus. *Head Neck* 2011; 33: 504–512
- [86] Melar-New M, Laimins LA. Human papillomaviruses modulate expression of microRNA 203 upon epithelial differentiation to control levels of p63 proteins. *J Virol* 2010; 84: 5212–5221
- [87] Srivastava K et al. p63 drives invasion in keratinocytes expressing HPV16 E6/E7 genes through regulation of Src-FAK signalling. *Oncotarget* 2017; 8: 16202–16219
- [88] Qian K et al. Identification and validation of human papillomavirus encoded microRNAs. *PLoS One* 2013; 8: e70202
- [89] Lin L et al. Two less common human microRNAs miR-875 and miR-3144 target a conserved site of E6 oncogene in most high-risk human papillomavirus subtypes. *Protein Cell* 2015; 6: 575–588
- [90] Janssen HL et al. Hypoxia in head and neck cancer: how much, how important? *Head Neck* 2005; 27: 622–638
- [91] Lindel K et al. Human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the oropharynx: a radiosensitive subgroup of head and neck carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 805–813
- [92] Aebersold DM et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha: a novel predictive and prognostic parameter in the radiotherapy of oropharyngeal cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 2911–2916
- [93] Gatenby RA, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 891–899
- [94] Denko NC. Hypoxia, HIF1 and glucose metabolism in the solid tumour. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 705–713
- [95] Mazurek S. Pyruvate kinase type M2: a key regulator of the metabolic budget system in tumor cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2011; 43: 969–980
- [96] Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 2009; 324: 1029–1033
- [97] Masoud GN, Li W. HIF-1alpha pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. *Acta Pharm Sin B* 2015; 5: 378–389
- [98] Bardos JJ, Ashcroft M. Negative and positive regulation of HIF-1: a complex network. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1755: 107–120
- [99] Hoppe-Seyler K et al. Induction of dormancy in hypoxic human papillomavirus-positive cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114: E990–E998
- [100] Nakamura M et al. Hypoxia-specific stabilization of HIF-1alpha by human papillomaviruses. *Virology* 2009; 387: 442–448
- [101] Bodily JM, Mehta KP, Laimins LA. Human papillomavirus E7 enhances hypoxia-inducible factor 1-mediated transcription by inhibiting binding of histone deacetylases. *Cancer Res* 2011; 71: 1187–1195
- [102] Cuninghame S, Jackson R, Zehbe I. Hypoxia-inducible factor 1 and its role in viral carcinogenesis. *Virology* 2014; 456-457: 370–383
- [103] Noch E, Khalili K. Oncogenic viruses and tumor glucose metabolism: like kids in a candy store. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 14–23
- [104] Amador-Molina A et al. Role of innate immunity against human papillomavirus (HPV) infections and effect of adjuvants in promoting specific immune response. *Viruses* 2013; 5: 2624–2642
- [105] Orange JS. Natural killer cell deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 515–525 quiz 526
- [106] Viscidi RP et al. Seroreactivity to human papillomavirus (HPV) types 16, 18, or 31 and risk of subsequent HPV infection: results from a population-based study in Costa Rica. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 324–327
- [107] Woo YL et al. Characterising the local immune responses in cervical intraepithelial neoplasia: a cross-sectional and longitudinal analysis. *BJOG* 2008; 115: 1616–1621 discussion 1621–1622
- [108] Cicchini L et al. Suppression of antitumor immune responses by human papillomavirus through Epigenetic Downregulation of CXCL14. *MBio* 2016; 7
- [109] Pacini L et al. Downregulation of Toll-like receptor 9 expression by beta human papillomavirus 38 and implications for cell cycle control. *J Virol* 2015; 89: 11396–11405
- [110] Eggensperger S, Tampe R. The transporter associated with antigen processing: a key player in adaptive immunity. *Biol Chem* 2015; 396: 1059–1072
- [111] Richards KH et al. The human papillomavirus (HPV) E7 protein antagonises an Imiquimod-induced inflammatory pathway in primary human keratinocytes. *Sci Rep* 2015; 5: 12922
- [112] Niebler M et al. Post-translational control of IL-1beta via the human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein: a novel mechanism of innate immune escape mediated by the E3-ubiquitin ligase E6-AP and p53. *PLoS Pathog* 2013; 9: e1003536
- [113] Ashrafi GH et al. E5 protein of human papillomavirus type 16 selectively downregulates surface HLA class I. *Int J Cancer* 2005; 113: 276–283
- [114] Ashrafi GH et al. E5 protein of human papillomavirus 16 downregulates HLA class I and interacts with the heavy chain via its first hydrophobic domain. *Int J Cancer* 2006; 119: 2105–2112
- [115] Wagner S et al. CD56-positive lymphocyte infiltration in relation to human papillomavirus association and prognostic significance in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2016; 138: 2263–2273
- [116] Miura S et al. CD1d, a sentinel molecule bridging innate and adaptive immunity, is downregulated by the human papillomavirus (HPV) E5 protein: a possible mechanism for immune evasion by HPV. *J Virol* 2010; 84: 11614–11623
- [117] Zhang B et al. The E5 protein of human papillomavirus type 16 perturbs MHC class II antigen maturation in human foreskin keratinocytes treated with interferon-gamma. *Virology* 2003; 310: 100–108
- [118] Fahey LM et al. A major role for the minor capsid protein of human papillomavirus type 16 in immune escape. *J Immunol* 2009; 183: 6151–6156
- [119] Hanna E et al. A novel alternative approach for prediction of radiation response of squamous cell carcinoma of head and neck. *Cancer Res* 2001; 61: 2376–2380

- [120] Chung CH et al. Molecular classification of head and neck squamous cell carcinomas using patterns of gene expression. *Cancer Cell* 2004; 5: 489–500
- [121] Walter V et al. Molecular subtypes in head and neck cancer exhibit distinct patterns of chromosomal gain and loss of canonical cancer genes. *PLoS One* 2013; 8: e56823
- [122] Wichmann G et al. The role of HPV RNA transcription, immune response-related gene expression and disruptive TP53 mutations in diagnostic and prognostic profiling of head and neck cancer. *Int J Cancer* 2015; 137: 2846–2857
- [123] Verhaak RG et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell* 2010; 17: 98–110
- [124] Wilkerson MD et al. Lung squamous cell carcinoma mRNA expression subtypes are reproducible, clinically important, and correspond to normal cell types. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 4864–4875
- [125] Sorlie T et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 8418–8423
- [126] Keck MK et al. Integrative analysis of head and neck cancer identifies two biologically distinct HPV and three non-HPV subtypes. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 870–881
- [127] Saba NF et al. Mutation and transcriptional profiling of formalin-fixed paraffin embedded specimens as companion methods to immunohistochemistry for determining therapeutic targets in Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma (OPSCC): A Pilot of Proof of Principle. *Head Neck Pathol* 2015; 9: 223–235
- [128] Alberico S et al. [Maternal-fetal transmission of human papillomavirus]. *Minerva Ginecol* 1996; 48: 199–204
- [129] D'Souza G et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2007; 356: 1944–1956
- [130] Hernandez BY et al. Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 888–894
- [131] Gillison ML et al. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 407–420
- [132] Dahlstrom KR et al. Socioeconomic characteristics of patients with oropharyngeal carcinoma according to tumor HPV status, patient smoking status, and sexual behavior. *Oral Oncol* 2015; 51: 832–838
- [133] Stenmark MH et al. Influence of human papillomavirus on the clinical presentation of oropharyngeal carcinoma in the United States. *Laryngoscope* 2017; 127: 2270–2278
- [134] D'Souza G et al. Moderate predictive value of demographic and behavioral characteristics for a diagnosis of HPV16-positive and HPV16-negative head and neck cancer. *Oral Oncol* 2010; 46: 100–110
- [135] Combes JD, Chen AA, Franceschi S. Prevalence of human papillomavirus in cancer of the oropharynx by gender. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014; 23: 2954–2958
- [136] Klusmann JP et al. Prevalence, distribution, and viral load of human papillomavirus 16 DNA in tonsillar carcinomas. *Cancer* 2001; 92: 2875–2884
- [137] Ng M et al. Smoking prevalence and cigarette consumption in 187 countries, 1980–2012. *JAMA* 2014; 311: 183–192
- [138] Chaturvedi AK et al. Burden of HPV-positive oropharynx cancers among ever and never smokers in the U.S. population. *Oral Oncol* 2016; 60: 61–67
- [139] Ang KK et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2010; 363: 24–35
- [140] Gillison ML et al. Tobacco smoking and increased risk of death and progression for patients with p16-positive and p16-negative oropharyngeal cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2102–2111
- [141] Maniakas A et al. North-American survey on HPV-DNA and p16 testing for head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2014; 50: 942–946
- [142] Prigge ES et al. Diagnostic accuracy of p16INK4a immunohistochemistry in oropharyngeal squamous cell carcinomas: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* 2017; 140: 1186–1198
- [143] Smith EM et al. Human papillomavirus in oral exfoliated cells and risk of head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 449–455
- [144] Nordfors C et al. Human papillomavirus prevalence is high in oral samples of patients with tonsillar and base of tongue cancer. *Oral Oncol* 2014; 50: 491–497
- [145] Chuang AY et al. Presence of HPV DNA in convalescent salivary rinses is an adverse prognostic marker in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2008; 44: 915–919
- [146] Rotnaglova E et al. HPV involvement in tonsillar cancer: prognostic significance and clinically relevant markers. *Int J Cancer* 2011; 129: 101–110
- [147] Kreimer AR et al. Evaluation of human papillomavirus antibodies and risk of subsequent head and neck cancer. *J Clin Oncol* 2013; 31: 2708–2715
- [148] Beachler DC et al. HPV16 E6 seropositivity among cancer-free men with oral, anal or genital HPV16 infection. *Papillomavirus Res* 2016; 2: 141–144
- [149] Nelson HH et al. Immune response to hpv16 e6 and e7 proteins and patient outcomes in head and neck cancer. *JAMA Oncol* 2016
- [150] Kreimer AR et al. Kinetics of the human papillomavirus type 16 e6 antibody response prior to oropharyngeal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2017; 109: doi: 10.1093/jnci/djx005
- [151] Guardiola E et al. Is there still a role for triple endoscopy as part of staging for head and neck cancer? *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2006; 14: 85–88
- [152] Martel M et al. The role of HPV on the risk of second primary neoplasia in patients with oropharyngeal carcinoma. *Oral Oncol* 2017; 64: 37–43
- [153] Jain KS et al. Synchronous cancers in patients with head and neck cancer: risks in the era of human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer. *Cancer* 2013; 119: 1832–1837
- [154] Sharma SJ et al. [Current practice of tumour endoscopy in German ENT-clinics]. *Laryngorhinootologie* 2013; 92: 166–169
- [155] Graves EE et al. Quantitative and qualitative analysis of [(18)F]FDG and [(18)F]FAZA positron emission tomography of head and neck cancers and associations with HPV status and treatment outcome. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2016; 43: 617–625
- [156] Hanns E et al. Human Papillomavirus-related tumours of the oropharynx display a lower tumour hypoxia signature. *Oral Oncol* 2015; 51: 848–856
- [157] Schouten CS et al. Interaction of quantitative (18)F-FDG-PET-CT imaging parameters and human papillomavirus status in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2016; 38: 529–535
- [158] Thorwarth D et al. Combined uptake of [18F]FDG and [18F]FMISO correlates with radiation therapy outcome in head-and-neck cancer patients. *Radiother Oncol* 2006; 80: 151–156
- [159] Mortensen LS et al. FAZA PET/CT hypoxia imaging in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck treated with radiotherapy: results from the DAHANCA 24 trial. *Radiother Oncol* 2012; 105: 14–20
- [160] Mehanna H et al. PET-NECK: a multicentre randomised Phase III non-inferiority trial comparing a positron emission tomography-computerised tomography-guided watch-and-wait policy with planned neck dissection in the management of locally advanced (N2/N3) nodal metastases in patients with squamous cell head and neck cancer. *Health Technol Assess* 2017; 21: 1–122

- [161] Bogowicz M et al. Computed tomography radiomics predicts hpv status and local tumor control after definitive radiochemotherapy in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2017
- [162] Parmar Cet al. Radiomic machine-learning classifiers for prognostic biomarkers of head and neck cancer. *Front Oncol* 2015; 5: 272
- [163] Aerts HJ et al. Decoding tumour phenotype by noninvasive imaging using a quantitative radiomics approach. *Nat Commun* 2014; 5: 4006
- [164] Ou D et al. Predictive and prognostic value of CT based radiomics signature in locally advanced head and neck cancers patients treated with concurrent chemoradiotherapy or bioradiotherapy and its added value to Human Papillomavirus status. *Oral Oncol* 2017; 71: 150–155
- [165] Klozar J et al. Nodal status is not a prognostic factor in patients with HPV-positive oral/oropharyngeal tumors. *J Surg Oncol* 2013; 107: 625–633
- [166] Straetmans JM et al. Human papillomavirus reduces the prognostic value of nodal involvement in tonsillar squamous cell carcinomas. *Laryngoscope* 2009; 119: 1951–1957
- [167] Sedaghat AR et al. Prognostic significance of human papillomavirus in oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Laryngoscope* 2009; 119: 1542–1549
- [168] Wittekindt C, Klusmann JP. Tumor staging and HPV-related oropharyngeal cancer. *Recent Results Cancer Res* 2017; 206: 123–133
- [169] O'Sullivan B et al. Development and validation of a staging system for HPV-related oropharyngeal cancer by the International Collaboration on Oropharyngeal cancer Network for Staging (ICON-5): a multicentre cohort study. *Lancet Oncol* 2016; 17: 440–451
- [170] Sinha P et al. High metastatic node number, not extracapsular spread or N-classification is a node-related prognosticator in transorally-resected, neck-dissected p16-positive oropharynx cancer. *Oral Oncol* 2015; 51: 514–520
- [171] Coatesworth AP, MacLennan K. Squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: the prevalence of microscopic extracapsular spread and soft tissue deposits in the clinically N0 neck. *Head Neck* 2002; 24: 258–261
- [172] Greenberg JS et al. Extent of extracapsular spread: a critical prognosticator in oral tongue cancer. *Cancer* 2003; 97: 1464–1470
- [173] Bernier J et al. Defining risk levels in locally advanced head and neck cancers: a comparative analysis of concurrent postoperative radiation plus chemotherapy trials of the EORTC (#22931) and RTOG (# 9501). *Head Neck* 2005; 27: 843–850
- [174] Sinha P et al. Extracapsular spread and adjuvant therapy in human papillomavirus-related, p16-positive oropharyngeal carcinoma. *Cancer* 2012; 118: 3519–3530
- [175] Maxwell JH et al. Extracapsular spread in head and neck carcinoma: impact of site and human papillomavirus status. *Cancer* 2013; 119: 3302–3308
- [176] van den Brekel MW et al. Observer variation in the histopathologic assessment of extranodal tumor spread in lymph node metastases in the neck. *Head Neck* 2012; 34: 840–845
- [177] Lewis JS Jr et al. Extracapsular extension is a poor predictor of disease recurrence in surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Mod Pathol* 2011; 24: 1413–1420
- [178] Wittekindt C et al. Basics of tumor development and importance of human papilloma virus (HPV) for head and neck cancer. *GMS Curr Top Otorhinolaryngol Head Neck Surg* 2012; 11: Doc09
- [179] El-Naggar AK, Westra WH. p16 expression as a surrogate marker for HPV-related oropharyngeal carcinoma: a guide for interpretative relevance and consistency. *Head Neck* 2012; 34: 459–461
- [180] Malm IJ et al. Evaluation of proposed staging systems for human papillomavirus-related oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2017; 123: 1768–1777
- [181] Husain ZA et al. A comparison of prognostic ability of staging systems for human papillomavirus-related oropharyngeal squamous cell carcinoma. *JAMA Oncol* 2017; 3: 358–365
- [182] Arenz A et al. Increased radiosensitivity of HPV-positive head and neck cancer cell lines due to cell cycle dysregulation and induction of apoptosis. *Strahlenther Onkol* 2014; 190: 839–846
- [183] Rieckmann T et al. HNSCC cell lines positive for HPV and p16 possess higher cellular radiosensitivity due to an impaired DSB repair capacity. *Radiother Oncol* 2013; 107: 242–246
- [184] Petrelli F, Sarti E, Barni S. Predictive value of human papillomavirus in oropharyngeal carcinoma treated with radiotherapy: An updated systematic review and meta-analysis of 30 trials. *Head Neck* 2014; 36: 750–759
- [185] Lassen P et al. Effect of HPV-associated p16INK4A expression on response to radiotherapy and survival in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1992–1998
- [186] Semrau R et al. Prognostic impact of human papillomavirus status, survivin, and epidermal growth factor receptor expression on survival in patients treated with radiochemotherapy for very advanced nonresectable oropharyngeal cancer. *Head Neck* 2013; 35: 1339–1344
- [187] Garden AS et al. Radiation therapy (with or without neck surgery) for phenotypic human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer. *Cancer* 2016; 122: 1702–1707
- [188] O'Sullivan B et al. Deintensification candidate subgroups in human papillomavirus-related oropharyngeal cancer according to minimal risk of distant metastasis. *J Clin Oncol* 2013; 31: 543–550
- [189] Sinha P et al. Does elimination of planned postoperative radiation to the primary bed in p16-positive, transorally-resected oropharyngeal carcinoma associate with poorer outcomes? *Oral Oncol* 2016; 61: 127–134
- [190] Al-Mamgani A, Verheij M, van den Brekel MWM. Elective unilateral nodal irradiation in head and neck squamous cell carcinoma: A paradigm shift. *Eur J Cancer* 2017; 82: 1–5
- [191] Tassone P et al. Pathologic markers in surgically treated hpv-associated oropharyngeal cancer: retrospective study, systematic review, and meta-analysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2017; 126: 365–374
- [192] Huang YH et al. Cystic nodal metastasis in patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma receiving chemoradiotherapy: Relationship with human papillomavirus status and failure patterns. *PLoS One* 2017; 12: e0180779
- [193] Wuerdemann N et al. Risk factors for overall survival outcome in surgically treated human papillomavirus-negative and positive patients with oropharyngeal cancer. *Oncol Res Treat* 2017; 40: 320–327
- [194] Lohaus F et al. HPV16 DNA status is a strong prognosticator of loco-regional control after postoperative radiochemotherapy of locally advanced oropharyngeal carcinoma: results from a multicentre explorative study of the German Cancer Consortium Radiation Oncology Group (DKTK-ROG). *Radiother Oncol* 2014; 113: 317–323
- [195] Posner MR et al. Survival and human papillomavirus in oropharynx cancer in TAX 324: a subset analysis from an international phase III trial. *Ann Oncol* 2011; 22: 1071–1077
- [196] Toustrup K et al. Gene expression classifier predicts for hypoxic modification of radiotherapy with nimorazole in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Radiother Oncol* 2012; 102: 122–129
- [197] Rischin D et al. Prognostic significance of p16INK4A and human papillomavirus in patients with oropharyngeal cancer treated on TROG 02.02 phase III trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4142–4148
- [198] Ziemann F et al. Increased sensitivity of HPV-positive head and neck cancer cell lines to x-irradiation +/- Cisplatin due to decreased expression of E6 and E7 oncoproteins and enhanced apoptosis. *Am J Cancer Res* 2015; 5: 1017–1031

- [199] Rosenthal DI et al. Association of human papillomavirus and p16 status with outcomes in the IMCL-9815 phase iii registration trial for patients with locoregionally advanced oropharyngeal squamous cell carcinoma of the head and neck treated with radiotherapy With or Without Cetuximab. *J Clin Oncol* 2016; 34: 1300–1308
- [200] Ang KK et al. Randomized phase III trial of concurrent accelerated radiation plus cisplatin with or without cetuximab for stage III to IV head and neck carcinoma: RTOG 0522. *J Clin Oncol* 2014; 32: 2940–2950
- [201] Chera BS et al. Phase 2 trial of de-intensified chemoradiation therapy for favorable-risk human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2015; 93: 976–985
- [202] Molony P et al. Impact of positive margins on outcomes of oropharyngeal squamous cell carcinoma according to p16 status. *Head Neck* 2017; 39: 1680–1688
- [203] Kharytaniuk N et al. Association of extracapsular spread with survival according to human papillomavirus status in oropharynx squamous cell carcinoma and carcinoma of unknown primary site. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2016; 142: 683–690
- [204] Fakhry C et al. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 261–269
- [205] Inhestern J et al. A two-arm multicenter phase II trial of one cycle chemoselection split-dose docetaxel, cisplatin and 5-fluorouracil (TPF) induction chemotherapy before two cycles of split TPF followed by curative surgery combined with postoperative radiotherapy in patients with locally advanced oral and oropharyngeal squamous cell cancer (TISOC-1). *Ann Oncol* 2017; 28: 1917–1922
- [206] Topalian SL et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012; 366: 2443–2454
- [207] Hong AM et al. PD-L1 expression in tonsillar cancer is associated with human papillomavirus positivity and improved survival: implications for anti-PD1 clinical trials. *Oncotarget* 2016; 7: 77010–77020
- [208] Scheel AH et al. Interlaboratory-concordance of PD-L1 immunohistochemistry for non-small cell lung cancer. *Histopathology* 2017; doi: 10.1111/his.13375. [Epub ahead of print]
- [209] Scheel AH et al. [Predictive PD-L1 immunohistochemistry for non-small cell lung cancer: Current state of the art and experiences of the first German harmonization study]. *Pathologie* 2016; 37: 557–567
- [210] Gandini S, Massi D, Mandala M. PD-L1 expression in cancer patients receiving anti PD-1/PD-L1 antibodies: A systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016; 100: 88–98
- [211] Oguejiofor K et al. Stromal infiltration of CD8 T cells is associated with improved clinical outcome in HPV-positive oropharyngeal squamous carcinoma. *Br J Cancer* 2015; 113: 886–893
- [212] Badoual C et al. PD-1-expressing tumor-infiltrating T cells are a favorable prognostic biomarker in HPV-associated head and neck cancer. *Cancer Res* 2013; 73: 128–138
- [213] Oguejiofor K et al. Distinct patterns of infiltrating CD8 + T cells in HPV+ and CD68 macrophages in HPV- oropharyngeal squamous cell carcinomas are associated with better clinical outcome but PD-L1 expression is not prognostic. *Oncotarget* 2017; 8: 14416–14427
- [214] Seiwert TY et al. Safety and clinical activity of pembrolizumab for treatment of recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-012): an open-label, multicentre, phase 1b trial. *Lancet Oncol* 2016; 17: 956–965
- [215] Ferris RL et al. Nivolumab for recurrent squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2016; 375: 1856–1867
- [216] Addeo R, Caraglia M, Iuliano G. Pembrolizumab: the value of PDL1 biomarker in head and neck cancer. *Expert Opin Biol Ther* 2016; 16: 1075–1078
- [217] Kenter GG et al. Vaccination against HPV-16 oncoproteins for vulvar intraepithelial neoplasia. *N Engl J Med* 2009; 361: 1838–1847
- [218] Reuschenbach M et al. A phase 1/2a study to test the safety and immunogenicity of a p16(INK4a) peptide vaccine in patients with advanced human papillomavirus-associated cancers. *Cancer* 2016; 122: 1425–1433
- [219] Fakhry C et al. Human papillomavirus and overall survival after progression of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2014; 32: 3365–3373
- [220] Huang SH et al. Natural course of distant metastases following radiotherapy or chemoradiotherapy in HPV-related oropharyngeal cancer. *Oral Oncol* 2013; 49: 79–85
- [221] Trosman SJ et al. Effect of human papillomavirus on patterns of distant metastatic failure in oropharyngeal squamous cell carcinoma treated with chemoradiotherapy. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2015; 141: 457–462
- [222] Dave E et al. The prognostic impact of human papillomavirus status following treatment failure in oropharyngeal cancer. *PLoS One* 2017; 12: e0181108
- [223] Sinha P et al. Distant metastasis in p16-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma: a critical analysis of patterns and outcomes. *Oral Oncol* 2014; 50: 45–51
- [224] Duprez F et al. Distant metastases in head and neck cancer. *Head Neck* 2017; 39: 1733–1743
- [225] Sweeny L et al. Outcomes after surgical salvage for recurrent oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2016; 60: 118–124
- [226] Patel SN et al. Salvage surgery for locally recurrent oropharyngeal cancer. *Head Neck* 2016; 38: (Suppl 1): E658–E664
- [227] Sims JR et al. Management of recurrent and metastatic hvp-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma after transoral robotic surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2017; 157: 69–76
- [228] Dang RP et al. Clinical outcomes in patients with recurrent or metastatic human papilloma virus-positive head and neck cancer. *Anticancer Res* 2016; 36: 1703–1709
- [229] Etges CL et al. Screening tools for dysphagia: a systematic review. *Codas* 2014; 26: 343–349
- [230] Colodny N. Interjudge and intrajudge reliabilities in fiberoptic endoscopic evaluation of swallowing (fees) using the penetration-aspiration scale: a replication study. *Dysphagia* 2002; 17: 308–315
- [231] Frakes JM et al. Determining optimal follow-up in the management of human papillomavirus-positive oropharyngeal cancer. *Cancer* 2016; 122: 634–641
- [232] Sharma A et al. Human papillomavirus-positive oral cavity and oropharyngeal cancer patients do not have better quality-of-life trajectories. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2012; 146: 739–745
- [233] Stier-Jarmer M et al. Assessment of functional outcomes in head and neck cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2014; 271: 2021–2044
- [234] Morris LG et al. Second primary cancers after an index head and neck cancer: subsite-specific trends in the era of human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29: 739–746
- [235] Wang Y et al. Detection of somatic mutations and HPV in the saliva and plasma of patients with head and neck squamous cell carcinomas. *Sci Transl Med* 2015; 7: 293ra104
- [236] Cheng F, Su L, Qian C. Circulating tumor DNA: a promising biomarker in the liquid biopsy of cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 48832–48841
- [237] Jahr S et al. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer Res* 2001; 61: 1659–1665
- [238] Bettegowda C et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med* 2014; 6: 224ra24

- [239] Haber DA, Velculescu VE. Blood-based analyses of cancer: circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Cancer Discov* 2014; 4: 650–661
- [240] Amirian ES et al. Presence of viral DNA in whole-genome sequencing of brain tumor tissues from the cancer genome atlas. *J Virol* 2014; 88: 774
- [241] Lo YM et al. Quantitative analysis of cell-free Epstein-Barr virus DNA in plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res* 1999; 59: 1188–1191
- [242] Chan KCA et al. Analysis of plasma Epstein-Barr virus DNA to screen for nasopharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2017; 377: 513–522
- [243] Cao H et al. Quantitation of human papillomavirus DNA in plasma of oropharyngeal carcinoma patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012; 82: e351–e358
- [244] Yun CH et al. The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 2070–2075