

Tumorbiologie des Oropharynxkarzinoms

Aufgrund der Entstehung in lympho-epithelialen Geweben unterscheiden sich Oropharynxkarzinome schon in ihrer Morphologie von anderen Karzinomen im Kopf-Hals-Bereich. Die technisch-wissenschaftlichen Entwicklungen der letzten Jahre haben dazu geführt, dass heutzutage viele Erkenntnisse zu molekularen biologischen Veränderungen bei Oropharynxkarzinomen vorliegen. Das Ziel dieses Artikels ist die Darstellung eines Überblicks der Genetik, Epigenetik und Immunologie von Oropharynxkarzinomen („oropharyngeal squamous cell carcinoma“, OPSCC) unter Berücksichtigung der Rolle humaner Papillomaviren (HPV).

Unterschiedliche molekulare biologische Veränderungen führen zu Selektionsvorteilen der Krebszellen. Für einige dieser Veränderungen liegt zwar eine erbliche Teilkomponente vor [34], jedoch ist diese bisher nur für einzelne Krebsarten und Syndrome identifiziert, sodass der überwiegende Anteil der Krebsneudiagnosen als aus sporadischen Mutationsereignissen entstanden angesehen wird.

» Eine Besonderheit beim OPSCC sind zwei grundlegend unterschiedliche Wege der Kanzerogenese

Eine Besonderheit beim „oropharyngeal squamous cell carcinoma“ (OPSCC) sind zwei grundlegend unterschiedliche Wege der Kanzerogenese: Zum einen sind die

Tumoren überwiegend mit Noxenkonsum (Tabak, Alkohol) assoziiert, während zum anderen eine Infektion mit humanen Papillomaviren (HPV) ursächlich für die Kanzerogenese ist [26, 38, 63]. Diese beiden Faktoren verursachen Tumoren, die sich nicht nur klinisch anhand der unterschiedlichen Prognose [3, 48, 56, 66], sondern auch molekularbiologisch erheblich unterscheiden [36, 62].

Aufgrund der Vielzahl an beschriebenen molekularen Veränderungen wird nur eine Auswahl in diesem Artikel besprochen.

Genetische Veränderungen und deren Konsequenzen

Tumor-Suppressor-Gen *TP53*

Das Tumor-Suppressor-Protein p53 wurde bereits 1979 beschrieben [18, 43, 49] und nimmt in der Kanzerogenese der HPV-negativen OPSCC eine zentrale Rolle ein. Die **Abb. 1** zeigt die 10 häufigsten Mutationen in der OPSCC-Kohorte von The Cancer Genome Atlas mit annotiertem HPV-Status. Hier wird nochmals deutlich, dass die HPV-negativen Tumoren primär über TP53-Mutationen definiert sind, während diese bei HPV-assoziierten Tumoren selten sind.

Der Datensatz von The Cancer Genome Atlas enthält 82 OPSCC-Proben, von denen 66 einen klar annotierten HPV-Status haben (HPV-positiv: $n = 48$; HPV-negativ: $n = 18$). Mutationen, die in $\geq 10\%$ der Kohorte vorhanden sind, wurden in **Abb. 1** dargestellt.

Funktionell ist p53 auch an der Kanzerogenese der HPV-positiven OPSCC beteiligt. Es besteht jedoch ein erheblicher Unterschied. Bei den HPV-negativen Tumoren ist das Gen *TP53*, welches für p53 kodiert, in etwa 64–80% der Tumoren mutiert [1, 7, 19, 62]. Der überwiegende Anteil der Mutationen führt zu einem Funktionsverlust des Proteins [32]. *TP53*-Mutationen treten bei HPV-positiven Tumoren aufgrund der unterschiedlichen Kanzerogenese jedoch sehr selten auf. Allerdings degradiert das virale Onkogen E6 p53 [58], was während der HPV-assoziierten Kanzerogenese ebenfalls zu einer funktionellen p53-Inaktivierung führt. *TP53*-Mutationen scheinen HPV-unabhängig mit einer schlechteren Prognose assoziiert zu sein [19].

Amplifikation von 11q13.3 und Cyclin D1

Amplifikationen in 11q13.3 treten bei etwa 24% der Kopf-Hals-Tumoren auf [1]. In diesem genomischen Locus liegen u. a. die Gene für Cyclin D1 (*CCDN1*), „Fas associated via death domain“ (*FADD*) und Cortactin (*CTCN*). Diese Veränderungen scheinen v. a. die HPV-negativen Tumoren zu betreffen [1]. In einer großen Deutschen Kopf-Hals-Tumor-Kohorte wurde eine *CCDN1*-Amplifikation bei etwa 30% der Patienten detektiert [28]. Eine *CCDN1*-Expression konnte auch in zirkulierenden Tumorzellen („circulating tumor cells“, CTC) nachgewiesen werden [64]. Die Amplifikation von *CCDN1* ist mit einer schlechten Prognose assoziiert [19, 28].

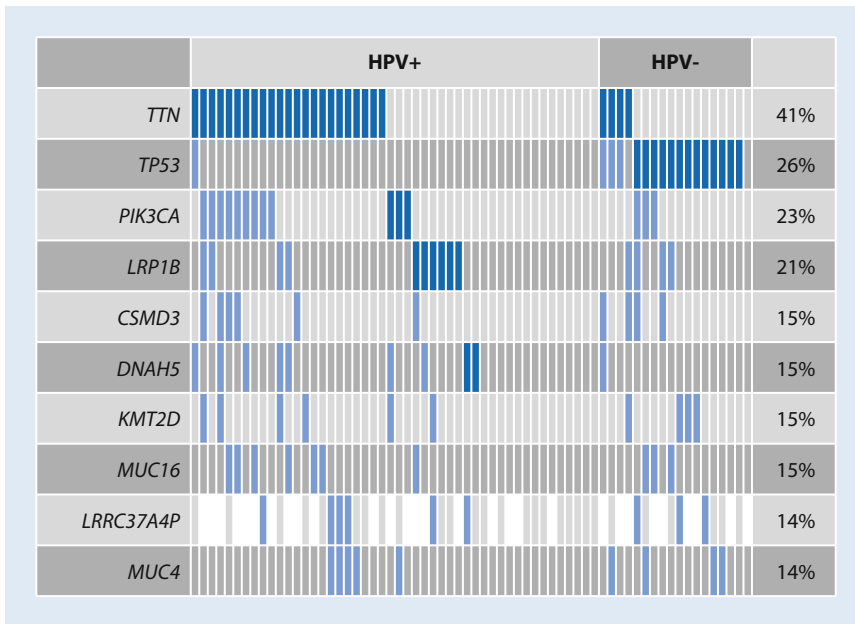


Abb. 1 ▲ Mutationen bei Oropharynxkarzinomen (OPSCC) in The Cancer Genome Atlas. Erläuterung s. Text. Darstellung der Mutationen, die in $\geq 10\%$ der Kohorte vorhanden sind, aus 66 OPSCC-Proben mit klar annotiertem HPV-Status (HPV-positiv: $n = 48$; HPV-negativ: $n = 18$). Reihen Gene, Spalten Patienten. Vorliegen einer Mutation *dunkelblau* hervorgehoben, eine Überlappung *hellblau* und fehlende Daten *weiß*. HPV humane Papillomaviren

p16 und NSD1

Das p16-Protein und das codierende Gen *CDKN2A*, das ebenfalls p14 codiert, sind bei Kopf-Hals-Tumoren im Oropharynx inzwischen für die Tumorklassifikation entscheidend. Die Überexpression von p16 wird gemäß aktueller TNM-Klassifikation für die Eingruppierung von OPSCC benötigt und ist daher geläufig [2, 72]. Die HPV-assoziierte Überexpression von p16 stellt einen Kompensationsmechanismus der Bindung des HPV-Onkogens E7 an Retinoblastomprotein (RB) dar. Dieser Mechanismus ist sehr anschaulich von Leemans et al. zusammengefasst worden [47].

» Es kann unabhängig von HPV zu einer p16-Überexpression kommen

Es kann jedoch auch unabhängig von HPV zu einer p16-Überexpression kommen. Dies geschieht bei HPV-negativen Tumoren v. a. durch Mutation in *NSD1* [1, 46], die zu reduzierter Histonmethylierung von *H3K36* führt [55]. Deutlich seltener kann dies durch Non-Silencing-

Mutationen in *CDKN2A* selbst geschehen [46]. Der Großteil der *NSD1*- oder *CDKN2A*-mutierten Tumoren kommt jedoch in der Mundhöhle vor. Daher ist p16 in Mundhöhlentumoren als einzelner Marker ungeeignet für die HPV-Diagnostik. Auch bei HPV-negativen Patienten könnte sich die durch *NSD1* vermittelte p16-Überexpression positiv auswirken, denn es wurde in vitro eine erhöhte Sensitivität für Cisplatin gezeigt [12].

Ein Verlust von *CDKN2A* („copy number loss“) kann jedoch zu einer niedrigen oder sogar fehlenden p16-Expression führen [15]. Wie beschrieben, kann dies die Kanzerogenese ebenfalls durch fehlende Hemmung von *CDK4* und *CDK6* und eine konsekutiv stimulierte S-Phase begünstigen. Insbesondere bei HPV-negativen Tumoren scheint dies eine große Rolle zu spielen und ist prognostisch relevant [15].

Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat-3-Kinase

Die Phosphoinositid-3-Kinase besteht aus 3 katalytischen Untereinheiten. Mutationen in „phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat-3-kinase catalytic subunit al-

pha“ (*PIK3CA*) treten signifikant häufiger bei HPV-positiven Tumoren auf ([1, 62]; ■ Abb. 1). Die Überexpression von *PIK3CA*-mRNA scheint mit einer schlechten Prognose und erhöhten Rezidivrate assoziiert zu sein [25]. Mutationen in *PIK3CA* spielen auch funktionell eine Rolle in der Kanzerogenese von OPSCC [57]. Die *PIK3CA*-Überexpression ist assoziiert mit einer Reduktion des Hippo-Signalwegs und einer konsekutiven Reduktion von durch „Yes1 associated transcriptional regulator“ (YAP) regulierten Signalwegen [25]. Potenziell könnte eine zielgerichtete Therapie zur Inhibition von PI3K eine sinnvolle Strategie darstellen [35].

APOBEC

„Apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like“ (APOBEC) bilden eine Familie von Cytosin-Desaminasen, die Relevanz in einer Vielzahl von Malignomen haben [13] und spielen eine Rolle im Immunsystem. APOBEC-Mutationen sind bei Kopf-Hals-Tumoren mit einer erhöhten Rate verschiedener tumorinfiltrierender Lymphozyten [20] und einer erhöhten Interferon- γ -Signatur (IFN γ) assoziiert [52]. Auch die Rate vorhergesagter mutierter Tumor(neo)antigene korreliert mit der Häufigkeit von APOBEC-Mutationen [20]. Dies scheint zusätzlich mit erhöhter RNA-Expression inhibitorischer Immuncheckpointmoleküle wie *CD274* (PD-L1), *CTLA4*, *LAG3* und einer erniedrigten Expression von *VTCN1* (B7) einherzugehen [52]. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass APOBEC-mutierte Tumoren besonders von immuntherapeutischen Verfahren profitieren könnten [53].

Epigenetik

Neben genetischen Aberrationen, die eine direkte Veränderung der DNA-Sequenz verursachen, gibt es zusätzlich übergeordnete Regulationsmechanismen. Diese epigenetischen Modifikationen regulieren die Genaktivität, ohne die DNA-Sequenz zu verändern. Zu den Mechanismen zählen u. a. DNA-Methylierung [27], die posttranslationale

Modifikation von Histonproteinen [8] und Effekte nichtcodierender RNA-Segmente [10]. In diesem Artikel fokussieren die Autoren sich auf Veränderungen der DNA-Methylierung. Die Aktivität von DNA-Methyltransferasen (DNMT) bestimmt den Methylierungsstatus der neuen DNA-Kopien im Rahmen jedes Replikationszyklus durch Methylierung von Cytosinbasen zu 5-Methylcytosin [27]. Dies findet insbesondere in Regionen mit hohem Anteil von Cytosin-Guanin-Basen, „CpG islands“, statt. Die Regulation der Genaktivität durch Methylierung ist jedoch hochkomplex und abhängig von der Lokalisation der Methylierung im Genom. Promotormethylierung führt überwiegend zu einem „silencing“ der Transkription [43], während die Methylierung von Enhancern das Gegenteil bewirken kann [9]. Die Anzahl von Methylierungsstellen im Genom ist erheblich höher als die Anzahl der Gene und für viele „CpG islands“ ist die funktionelle Auswirkung einer Methylierung nicht annotiert, wodurch die Interpretation von Methylierungssignaturen erschwert ist.

» Ein Methylierungsscore ≥ 3 war mit einer signifikant besseren Prognose assoziiert als ein Score < 3

Im Jahr 2013 erschienen 2 Arbeiten, die eine unterschiedliche Methylierungssignatur bei HPV-positiven und -negativen OPSCC in etwa 27.000 „CpG islands“ nachwies [41, 50]. In beiden Arbeiten zeigte sich eine höhere Rate an Hypermethylierung bei HPV-positiven OPSCC. In der ersterschiedenen deutschen Arbeit [41] wurden zwischen HPV-positiven und -negativen Patienten in 62 Loci 5 differenziell methylierte Gene (*ALDH1A2*, *OSR2*, *GATA4*, *GRIA4*, *IRX4*) mit inversem Zusammenhang zur Transkription (Hypermethylierung \rightarrow Transkription \downarrow) validiert. Auf Basis der Anzahl hypermethylierter Gene wurde ein HPV-unabhängiger prognostischer Methylierungsscore (0–5) etabliert. Ein Methylierungsscore ≥ 3 war mit einer signifikant besseren Prognose assoziiert

S. Laban · M. Brand · J. Ezić · J. Doescher · G. Völkel · H. A. Kestler · C. Brunner · T. K. Hoffmann

Tumorbiologie des Oropharynxkarzinoms

Zusammenfassung

Hintergrund. Oropharynxkarzinome (OPSCC) unterscheiden sich abhängig von noxenbasierter oder durch humane Papillomaviren (HPV) getriebener Ätiologie in klinischen Faktoren und der Prognose. Zugrunde liegend sind molekulare Unterschiede der Tumorbiologie.

Ziel der Arbeit. Ziel war die Darstellung wichtiger molekularbiologischer Charakteristika der Genetik, Epigenetik und Immunologie von OPSCC.

Material und Methoden. Es handelt sich um eine Übersichtsarbeit zu einer Auswahl molekularbiologischer Faktoren der Tumorbiologie von OPSCC aus Genetik, Epigenetik und Immunologie.

Ergebnisse. Genetische Veränderungen und deren Auswirkungen auf Kanzerogenese und Tumorbiologie werden in zunehmender Tiefe verstanden. Epigenetische Phänomene ergänzen funktionelle Zusammenhänge. Die

epigenetischen Regulationsmechanismen der Gene sind komplex. Daher besteht in diesem Feld weiterhin großer Forschungsbedarf.

Immunologische Aspekte der Molekularbiologie gewinnen im Kontext der aktuellen Entwicklungen in der Immunonkologie an Bedeutung.

Schlussfolgerung. Die Tumorbiologie von Oropharynxkarzinomen unterscheidet sich v. a. bezüglich des HPV-Status. Zusätzlich werden HPV-unabhängige Subgruppen genetisch, epigenetisch und immunologisch zunehmend charakterisiert. Aus diesen Erkenntnissen können logische Grundprinzipien neuer Therapiekonzepte abgeleitet werden.

Schlüsselwörter

Oropharynx Tumoren · Molekularmedizin · Tumormarker · Medizinische Genetik · Epigenetik

Tumor biology of oropharyngeal carcinoma

Abstract

Background. Etiologically, oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC) can be divided into OPSCC caused by noxious agents and human papillomavirus (HPV)-driven carcinoma. These types differ with regard to clinical features and prognosis—differences which are rooted in the underlying molecular biology of the tumor.

Objective. The aim of this work is to provide an overview of the molecular biological characteristics of the genetics, epigenetics, and immunology of OPSCC.

Materials and methods. A literature review was performed on a selection of genetic, epigenetic, and immunological factors characterizing OPSCC.

Results. The understanding of genetic aberrations and their consequences for cancerogenesis and tumor biology is increasing. Epigenetic phenomena are

complementing functional relationships. However, epigenetic mechanisms of gene regulation are complex and much research is still required in this field. Immunological aspects of cancer molecular biology have moved into the focus in light of recent advances in the field of immunotherapy.

Conclusion. The tumor biology of OPSCC is primarily defined by its HPV status. Additionally, HPV-independent genetic, epigenetic, and immunological signatures are being defined. From these advances, rationales for new treatment concepts may evolve.

Keywords

Oropharyngeal neoplasms · Molecular medicine · Biomarkers, tumor · Medical genetics · Epigenetics

als ein Score < 3 . Ein besonders starker Prognosezusammenhang wurde für Hypermethylierung in *ALDH1A2* nachgewiesen. In einer Fortsetzung dieser Arbeit [40] wurde aus den genannten 62 differenziell methylierten Loci in den 5 Genen ein Minimal score mit 10 differenziell methylierten Loci in 4 der 5 Ge-

ne (*ALDH1A2* = 1, *OSR2* = 2, *GRIA4* = 2, *IRX4* = 5) etabliert. Dieser in OPSCC definierte Methylierungsscore ($> < \text{Median}$) zeigte in multivariaten Analysen und unabhängigen Kohorten verschiedener Primärtumorregionen unabhängige Risikovorhersagen für erkrankungsfreies und Gesamtüberleben.

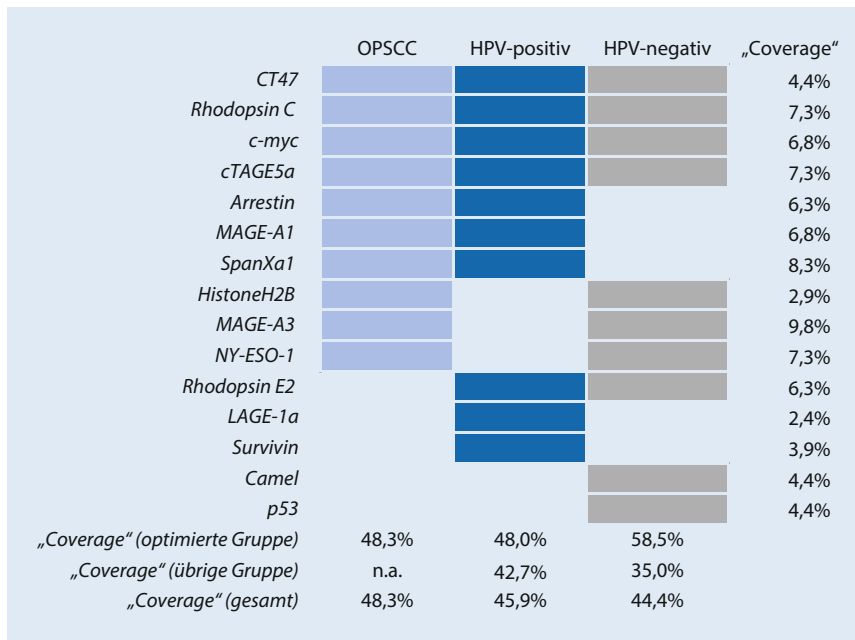


Abb. 2 ▲ Antikörper gegen nonvirale Tumorantigene bei Oropharynxkarzinom (OPSCC). Teilergebnisse der OPSCC-Kohorte ($n = 205$) aus eigenen Vorarbeiten [23, 42]. Definition von Kombinationen aus 10 Genen mit für die Subgruppe (HPV-positiv: $n = 123$; HPV-negativ: $n = 82$) optimierter Abdeckung („coverage“) durch Mehrzieloptimierung wurden mittels AVAtar-Software (Universität Ulm) aus 29 untersuchten Antigenen. HPV humane Papillomaviren, n.a. nicht angegeben

In der zweiten Arbeit lag der Fokus auf Unterschieden der Methylierung im Vergleich der Haupt-Primärtumorregionen (Mundhöhle, Larynx, Oropharynx) [50]. Es wurden 44 Loci zwischen diesen 3 Primärtumorregionen mit gemeinsamer Methylierungssignatur im Vergleich zu normaler Mukosa identifiziert. Von diesen 44 Loci wiesen 28 eine Hypermethylierung auf. Nur in der Hälfte dieser hypermethylierten Loci lag eine inverse Korrelation mit der Gen-Expression vor, während die andere Hälfte mit gesteigerter Gen-Expression korreliert war. Im Vergleich zu gesunden Kontrollgeweben konnte eine signifikante Hypermethylierung der 28 Loci in einer unabhängigen Kohorte validiert werden. Insbesondere waren verschiedene Proteine der Krüppel-Zinkfinger-Familie (ZNF) betroffen. Die stärkste differenzielle Methylierung im Vergleich zu normaler Mukosa wurde in OPSCC nachgewiesen. In 28 Loci waren die HPV-positiven Tumoren signifikant stärker methyliert als die HPV-negativen, darunter 3 Loci in *CDKN2A* und 3 im Galaninrezeptor (*GALR1*).

In einer weiteren wegweisenden Arbeit wurde eine neue Gruppe innerhalb der Kopf-Hals-Tumoren beschrieben,

die primär durch Hypomethylierung im Histon H6K36 definiert ist [55]. Diese Gruppe ist überwiegend HPV-negativ und weist in einem hohen Anteil Mutationen in *NSD1* und seltener in H6K36 selbst auf. Die Hypomethylierung beschränkt sich nicht nur auf H6K36, sondern es liegt eine generelle Hypomethylierung des Genoms vor. In dieser mit starkem Rauchen assoziierten Gruppe von Tumoren wird deutlich, wie eng epigenetische und genetische Veränderungen miteinander verknüpft sind. OPSCC sind in dieser Gruppe von Tumoren deutlich seltener vertreten als Larynx- und Mundhöhlentumoren.

In einer kürzlich erschienenen Publikation [17] wurde im TCGA-Datensatz die DNA-Methylierung in den Genen *CD28*, *CTLA4*, *ICOS*, *CD80* und *CD86* analysiert. Die Autoren wiesen eine positive Korrelation zwischen der Methylierung im Genkörper und der Gen-Expression und eine negative Korrelation mit der Promotormethylierung nach. Die Methylierung der Gene für *CD28*, *CTLA4* und *ICOS* korrelierte untereinander stark, da diese alle auf dem langen Arm von Chromosom 2 in relativer Nähe zueinander liegen.

Eine Korrelation zwischen der DNA-Methylierung mit einer IFN γ -Signatur und Immunzellinfiltraten konnte je nach Methylierungslokalisierung im Gen (Gen-Körper vs. Promotor) nachgewiesen werden. Des Weiteren zeigten die Autoren einen Zusammenhang mit der Mutationslast in den Tumoren.

Immunologie

Es existiert eine Vielzahl von Publikationen, die einen starken unabhängigen prognostischen Einfluss der Immunzell-dichte im Tumor nachweisen [4–6, 30, 45, 54, 67, 68, 71]. In OPSCC zeigen HPV-positive Tumoren dichtere Immuninfiltrate, insbesondere in Bezug auf CD8-T-Zellen und -B-Zellen [5, 54, 59, 60, 67, 68, 71] sowie NK-Zellen [65]. Antigen-spezifische Immunzellen gegen HPV-Proteine wurden in der Vergangenheit mehrfach nachgewiesen [29, 31]. HPV-spezifische Antikörper wurden zum Nachweis HPV-positiver Tumoren als nichtinvasive Diagnostik validiert [11, 33, 37, 44, 61].

» Die Intensitäten der Antikörper gegen nichtvirale Antigene unterscheiden sich je nach HPV-Status

Doch auch Antikörper gegen nonvirale Antigene spielen eine große Rolle [23, 42, 45]. Dabei unterscheiden sich die Intensitäten der Antikörper gegen nichtvirale Antigene deutlich in Abhängigkeit vom HPV-Status [23, 45]. Antikörper gegen MAGE-A3, p53 und MAGE-A9 wurden signifikant häufiger bei HPV-negativen Patienten nachgewiesen. Auch die Zusammensetzung der Antikörperreaktivitäten unterscheiden sich zwischen HPV-negativen und HPV-positiven Patienten, sodass durch bioinformatische Mehrzieloptimierung Antigenkombinationen mit möglichst hoher Abdeckung bei HPV-negativen und HPV-positiven Patienten definiert werden können ([23]; ■ Abb. 2). Die Antikörper haben auch prognostische Bedeutung. Während Antikörper gegen c-myc, MAGE-A4, MAGE-A1 oder Rhodopsin-E2 zusammengefasst die

Prognose der HPV-negativen Gruppe bestimmen (multivariate Hazard Ratio, HR: 1,76), konnten IGF2BP-Antikörper (IMP-1) in der HPV-positiven Gruppe Patienten mit schlechter Prognose identifizieren (HR: 3,28).

Die starke Immunogenität HPV-positiver Tumoren, die gegen im Tumor exprimierte virale Onkoproteine gerichtet ist, wurde als Ursache der besseren Prognose HPV-positiver Patienten vermutet [14, 39]. Eine wegweisende Arbeit diesbezüglich wurde 2018 veröffentlicht [69], in der erstmals ein starker Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer HPV-spezifischen T-Zell-Antwort in tumorinfiltrierenden Lymphozyten und dem Gesamtüberleben nachgewiesen wurde. In dieser Arbeit wurde auch gezeigt, dass HPV-positive Patienten, bei denen keine solche Immunität im Tumor nachweisbar war, nicht länger überlebten als HPV-negative Patienten. Ähnliche Effekte wurden für HPV-positive Tumoren mit geringem Immunzellinfiltrat nachgewiesen [70]. Dies könnte erklären, warum die Ergebnisse der Immuncheckpointmodulation mit PD-1-Antikörpern im Vergleich zu Therapien in der kurativen Situation [3, 48, 56] geringe (Checkmate-141) oder keine Unterschiede (Keynote-040) im Gesamtüberleben je nach HPV-Status zeigten [16, 21]. Schließlich basiert die PD-1-Immuncheckpointmodulation auf der Entfesselung vorbestehender Immunität gegen den Tumor. Sind keine HPV-spezifischen Immunzellen vorhanden, ist die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens tumorspezifischer Immunität gegen nonvirale Antigene vermutlich bei HPV-positiven nicht höher als bei HPV-negativen OPSCC. Somit könnten HPV-positive Patienten, die ein nicht kurativ behandelbares Rezidiv erleiden, von der Kombination einer HPV-spezifischen therapeutischen Impfung in Kombination mit PD-1-Antikörpern profitieren. Ein positives Signal diesbezüglich wurde in einer Phase-II-Studie mit der therapeutischen E6/E7-Impfung ISA-101b (synthetische lange Peptide, überlappend) in Kombination mit Nivolumab bei Patienten mit rezidiviertem oder metastasiertem HPV-16-assoziiertem OPSCC detektiert [51]. Die Ansprech-

rate von Nivolumab in Kombination mit der Impfung lag mit 8/24 (33%) Patienten höher als in den vergleichbaren Phase-III-Studie mit Nivolumab (13,3%) allein [22]. Aufgrund der geringen Kohortengröße in der Phase-II-Studie ist dieser Unterschied nicht abschließend zu bewerten. Aus diesem Grund wird aktuell eine randomisierte doppelblinde Phase-IIb-Studie mit der Impfung in Kombination mit dem PD-1-Antikörper Cemiplimab bei HPV-16-positiven, rezidivierten oder metastasierten OPSCC durchgeführt (NCT03669718).

Ausblick

Zusammenfassend zeigen sich bezüglich der Tumorbiologie der OPSCC die größten Unterschiede im Vergleich HPV-positiver und HPV-negativer Tumoren. Durch die stetig fortschreitenden technischen und bioinformatischen Möglichkeiten können diese Unterschiede zunehmend besser beschrieben und in Zukunft auch für die Entwicklung spezifischer Diagnostik- und Therapieansätze umgesetzt werden.

Fazit für die Praxis

- Die Tumorbiologie von Oropharynxkarzinomen unterscheidet sich v. a. bezüglich des HPV-Status (humane Papillomaviren).
- Unabhängig vom HPV-Status werden Subgruppen genetisch, epigenetisch und immunologisch zunehmend charakterisiert.
- Das bessere Verständnis der Tumorbiologie kann zur Translation in rationale Therapieansätze eingesetzt werden.

Korrespondenzadresse



PD Dr. med. S. Laban
Kopf-Hals-Tumorzentrum
Ulm, Klinik für Hals-
Nasen-Ohrenheilkunde,
und Kopf-Hals-Chirurgie,
Universitätsklinik Ulm
Frauensteige 12, 87070 Ulm,
Deutschland
simon.laban@
uniklinik-ulm.de

Danksagung. Die Abbildungen wurden mit AVATAR (<https://github.com/sysbio-bioinf/avator>) erstellt. Für **Abb. 1** wurden Daten des The Cancer Genome Atlas von cBioPortal [24, 24] importiert und mittels AVATAR visualisiert.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. S. Laban: Advisory Boards: Astra Zeneca (AZ), Merck Sharp & Dohme (MSD). Vortragshonorare: Bristol Myers Squibb (BMS), Merck Serono, MSD. J. Doescher: Advisory Boards: Merck Serono, MSD. Vortragshonorare: Merck Serono. T. K. Hoffmann: Advisory Boards: BMS, MSD. Vortragshonorare: BMS, Merck Serono, MSD. M. Brand, C. Brunner, J. Ezić, G. Völkel, und H.A. Kestler geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autoren keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

Literatur

1. Tcga-Network (2015) Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. *Nature* 517:576–582
2. Amin MB, Greene FL, Edge SB et al (2017) The eighth edition AJCC cancer staging manual: continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *Cancer J Clin* 67:93–99
3. Ang KK, Harris J, Wheeler R et al (2010) Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 363:24–35
4. Balermias P, Michel Y, Wagenblast J et al (2014) Tumour-infiltrating lymphocytes predict response to definitive chemoradiotherapy in head and neck cancer. *Br J Cancer* 110:501–509
5. Balermias P, Rodel F, Rodel C et al (2015) CD8+ tumour-infiltrating lymphocytes in relation to HPV status and clinical outcome in patients with head and neck cancer after postoperative chemoradiotherapy: A multicentre study of the German cancer consortium radiation oncology group (DKTK-ROG). *Int J Cancer*. <https://doi.org/10.1002/ijc.29683>
6. Balermias P, Rodel F, Weiss C et al (2014) Tumour-infiltrating lymphocytes favor the response to chemoradiotherapy of head and neck cancer. *Oncol Immunology* 3:e27403
7. Balz V, Scheckenbach K, Gotte K et al (2003) Is the p53 inactivation frequency in squamous cell carcinomas of the head and neck underestimated? Analysis of p53 exons 2–11 and human papillomavirus 16/18 E6 transcripts in 123 unselected tumor specimens. *Cancer Res* 63:1188–1191
8. Bannister AJ, Kouzarides T (2011) Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res* 21:381–395
9. Bell RE, Golan T, Sheinboim D et al (2016) Enhancer methylation dynamics contribute to cancer plasticity and patient mortality. *Genome Res* 26:601–611
10. Bracken CP, Scott HS, Goodall GJ (2016) A network-biology perspective of microRNA function and dysfunction in cancer. *Nat Rev Genet* 17:719–732

11. Broglie MA, Jochum W, Michel A et al (2017) Evaluation of type-specific antibodies to high risk-human papillomavirus (HPV) proteins in patients with oropharyngeal cancer. *Oral Oncol* 70:43–50
12. Bui N, Huang JK, Bojorquez-Gomez A et al (2018) Disruption of NSD1 in head and neck cancer promotes favorable chemotherapeutic responses linked to hypomethylation. *Mol Cancer Ther* 17:1585–1594
13. Burns MB, Temiz NA, Harris RS (2013) Evidence for APOBEC3B mutagenesis in multiple human cancers. *Nat Genet* 45:977–983
14. Chakravarthy A, Henderson S, Thirdborough SM et al (2016) Human Papillomavirus drives tumor development throughout the head and neck: improved prognosis is associated with an immune response largely restricted to the Oropharynx. *J Clin Oncol* 34:4132–4141
15. Chen WS, Bindra RS, Mo A et al (2018) CDKN2A copy number loss is an independent prognostic factor in HPV-negative head and neck squamous cell carcinoma. *Front Oncol* 8:95
16. Cohen EEW, Soulieres D, Le Tourneau C et al (2019) Pembrolizumab versus methotrexate, docetaxel, or cetuximab for recurrent or metastatic head-and-neck squamous cell carcinoma (KEYNOTE-040): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet* 393:156–167
17. De Vos L, Grunwald I, Bawden EG et al (2020) The landscape of CD28, CD80, CD86, CTLA4, and ICOS DNA methylation in head and neck squamous cell carcinomas. *Epigenetics*. <https://doi.org/10.1080/15592294.2020.175467>
18. Deleo AB, Jay G, Appella E et al (1979) Detection of a transformation-related antigen in chemically induced sarcomas and other transformed cells of the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:2420–2424
19. Dubot C, Bernard V, Sablin MP et al (2018) Comprehensive genomic profiling of head and neck squamous cell carcinoma reveals FGFR1 amplifications and tumour genomic alterations burden as prognostic biomarkers of survival. *Eur J Cancer* 91:47–55
20. Faden DL, Ding F, Lin Y et al (2019) APOBEC mutagenesis is tightly linked to the immune landscape and immunotherapy biomarkers in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 96:140–147
21. Ferris RL, Blumenschein G Jr., Fayette J et al (2018) Nivolumab vs investigator's choice in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: 2-year long-term survival update of CheckMate 141 with analyses by tumor PD-L1 expression. *Oral Oncol* 81:45–51
22. Ferris RL, Blumenschein GJ, Fayette J et al (2016) Nivolumab for recurrent squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 375:1856–1867
23. Gangkofner DS, Holzinger D, Schroeder L et al (2019) Patterns of antibody responses to non-viral cancer antigens in head and neck squamous cell carcinoma patients differ by human papillomavirus status. *Int J Cancer*. <https://doi.org/10.1002/ijc.32623>
24. Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U et al (2013) Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal* 6:1
25. Garcia-Escudero R, Segrelles C, Duenas M et al (2018) Overexpression of PIK3CA in head and neck squamous cell carcinoma is associated with poor outcome and activation of the YAP pathway. *Oral Oncol* 79:55–63
26. Gillison ML, Koch WM, Capone RB et al (2000) Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *JNCI J Natl Cancer Inst* 92:709–720
27. Greenberg MVC, Bourc'his D (2019) The diverse roles of DNA methylation in mammalian development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 20:590–607
28. Hanken H, Grobe A, Cachovan G et al (2014) CCND1 amplification and cyclin D1 immunohistochemical expression in head and neck squamous cell carcinomas. *Clin Oral Investig* 18:269–276
29. Heusinkveld M, Goedemans R, Briet RJ et al (2011) Systemic and local human papillomavirus 16-specific T-cell immunity in patients with head and neck cancer. *Int J Cancer*. <https://doi.org/10.1002/ijc.26497>
30. Hladikova K, Koucky V, Boucek J et al (2019) Tumor-infiltrating B cells affect the progression of oropharyngeal squamous cell carcinoma via cell-to-cell interactions with CD8(+) T cells. *J Immunother Cancer* 7:261
31. Hoffmann TK, Arsov C, Schirlau K et al (2006) T cells specific for HPV16 E7 epitopes in patients with squamous cell carcinoma of the oropharynx. *International journal of cancer. J Int Cancer* 118:1984–1991
32. Hoffmann TK, Sonkoly E, Hauser U et al (2008) Alterations in the p53 pathway and their association with radio- and chemosensitivity in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 44:1100–1109
33. Holzinger D, Schmitt M, Dyckhoff G et al (2012) Viral RNA patterns and high viral load reliably define oropharynx carcinomas with active HPV16 involvement. *Cancer Res* 72:4993–5003
34. Jiang X, Finucane HK, Schumacher FR et al (2019) Shared heritability and functional enrichment across six solid cancers. *Nat Commun* 10:431
35. Jung K, Kang H, Mehra R (2018) Targeting phosphoinositide 3-kinase (PI3K) in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). *Cancer Head Neck* 3:3
36. Keck MK, Zuo Z, Khattri A et al (2015) Integrative analysis of head and neck cancer identifies two biologically distinct HPV and three non-HPV subtypes. *Clin Cancer Res*. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2481>
37. Kelsey KT, Nelson HH, Kim S et al (2015) Human papillomavirus serology and tobacco smoking in a community control group. *BMC Infect Dis* 15:8
38. Klussmann JP, Weissenborn SJ, Wieland U et al (2001) Prevalence, distribution, and viral load of human papillomavirus 16 DNA in tonsillar carcinomas. *Cancer* 92:2875–2884
39. Kofler B, Laban S, Busch CJ et al (2013) New treatment strategies for HPV-positive head and neck cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. <https://doi.org/10.1007/s00405-013-2603-0>
40. Kostareli E, Hielscher T, Zucknick M et al (2016) Gene promoter methylation signature predicts survival of head and neck squamous cell carcinoma patients. *Epigenetics* 11:61–73
41. Kostareli E, Holzinger D, Bogatyrova O et al (2013) HPV-related methylation signature predicts survival in oropharyngeal squamous cell carcinomas. *J Clin Invest* 123:2488–2501
42. Laban S, Gangkofner DS, Holzinger D et al (2019) Antibody responses to cancer antigens identify patients with a poor prognosis among HPV-positive and HPV-negative head and neck squamous cell carcinoma patients. *Clin Cancer Res*. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-1490>
43. Lane DP, Crawford LV (1979) T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature* 278:261–263
44. Kuhs LKA, Kreimer AR, Trivedi S et al (2017) Human papillomavirus 16 E6 antibodies are sensitive for human papillomavirus-driven oropharyngeal cancer and are associated with recurrence. *Cancer* 123:4382–4390
45. Lechner A, Schlosser HA, Thelen M et al (2019) Tumor-associated B cells and humoral immune response in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncoimmunology* 8:1535293
46. Lechner M, Chakravarthy AR, Walter V et al (2018) Frequent HPV-independent p16/INK4A overexpression in head and neck cancer. *Oral Oncol* 83:32–37
47. Leemans CR, Braakhuis BJ, Brakenhoff RH (2011) The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer* 11:9–22
48. Licitra L, Perrone F, Bossi P et al (2006) High-risk human papillomavirus affects prognosis in patients with surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 24:5630–5636
49. Linzer DJ, Levine AJ (1979) Characterization of a 54K dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40-transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells. *Cell* 17:43–52
50. Lleras RA, Smith RV, Adrien LR et al (2013) Unique DNA methylation loci distinguish anatomic site and HPV status in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 19:5444–5455
51. Massarelli E, William W, Johnson F et al (2019) Combining immune checkpoint blockade and tumor-specific vaccine for patients with incurable human Papillomavirus 16-related cancer: a phase 2 clinical trial. *JAMA Oncol* 5:67–73
52. Messerschmidt C, Obermayer B, Klinghammer K et al (2020) Distinct immune evasion in APOBEC-enriched, HPV-negative HNSCC. *Int J Cancer*. <https://doi.org/10.1002/ijc.33123>
53. Miao D, Margolis CA, Vokes NJ et al (2018) Genomic correlates of response to immune checkpoint blockade in microsatellite-stable solid tumors. *Nat Genet* 50:1271–1281
54. Nordfors C, Grun N, Tertipis N et al (2013) CD8+ and CD4+ tumour infiltrating lymphocytes in relation to human papillomavirus status and clinical outcome in tonsillar and base of tongue squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer* 49:2522–2530
55. Papillon-Cavanagh S, Lu C, Gayden T et al (2017) Impaired H3K36 methylation defines a subset of head and neck squamous cell carcinomas. *Nat Genet* 49:180–185
56. Posner MR, Lorch JH, Goloubeva O et al (2010) Oropharynx cancer (OPC) in TAX 324: Human papillomavirus (HPV) and survival. *J Clin Oncol* 28:5525
57. Qiu W, Schonleben F, Li X et al (2006) PIK3CA mutations in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 12:1441–1446
58. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM et al (1990) The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 63:1129–1136
59. Schneider K, Marbaix E, Bouzin C et al (2018) Immune cell infiltration in head and neck squamous cell carcinoma and patient outcome: a retrospective study. *Acta Oncol* 57:1165–1172
60. Schoenfeld JD, Gjini E, Rodig SJ et al (2018) Evaluating the PD-1 axis and immune effector cell infiltration in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 102:137–145
61. Schroeder L, Wichmann G, Willner M et al (2018) Antibodies against human papillomaviruses as diagnostic and prognostic biomarker in patients

- with neck squamous cell carcinoma from unknown primary tumor. *Int J Cancer* 142:1361–1368
62. Seiwert TY, Zuo Z, Keck MK et al (2015) Integrative and comparative genomic analysis of HPV-positive and HPV-negative head and neck squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res* 21:632–641
 63. Syrjanen K, Syrjanen S, Lamberg M et al (1983) Morphological and immunohistochemical evidence suggesting human papillomavirus (HPV) involvement in oral squamous cell carcinogenesis. *Int J Oral Surg* 12:418–424
 64. Tada H, Takahashi H, Kuwabara-Yokobori Y et al (2020) Molecular profiling of circulating tumor cells predicts clinical outcome in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 102:104558
 65. Wagner S, Wittekindt C, Reuschenbach M et al (2016) CD56-positive lymphocyte infiltration in relation to human papillomavirus association and prognostic significance in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 138:2263–2273
 66. Wagner S, Wittekindt C, Sharma SJ et al (2017) Human papillomavirus association is the most important predictor for surgically treated patients with oropharyngeal cancer. *Br J Cancer* 116:1604–1611
 67. Wansom D, Light E, Thomas D et al (2012) Infiltrating lymphocytes and human papillomavirus-16—associated oropharyngeal cancer. *Laryngoscope* 122:121–127
 68. Ward MJ, Thirdborough SM, Mellows T et al (2014) Tumour-infiltrating lymphocytes predict for outcome in HPV-positive oropharyngeal cancer. *Br J Cancer* 110:489–500
 69. Welters MJP, Ma W, Santegoets S et al (2018) Intratumoral HPV16-specific T cells constitute a type I-oriented tumor microenvironment to improve survival in HPV16-driven oropharyngeal cancer. *Clin Cancer Res* 24:634–647
 70. Wood O, Clarke J, Woo J et al (2017) Head and neck squamous cell carcinomas are characterized by a stable immune signature within the primary tumor over time and space. *Clin Cancer Res* 23:7641–7649
 71. Wood O, Woo J, Seumois G et al (2016) Gene expression analysis of TIL rich HPV-driven head and neck tumors reveals a distinct B-cell signature when compared to HPV independent tumors. *Oncotarget* 7:56781–56797
 72. Wurdemann N, Wagner S, Sharma SJ et al (2017) Prognostic impact of AJCC/UICC 8th edition new staging rules in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Front Oncol* 7:129