

# **Lymphknotenhypoplasie als prognostischer Marker in nodal-negativen Kolonkarzinomen**



**Dissertation**

Patrick Mayr

Aus dem Institut für Pathologie  
des Klinikums Augsburg  
Lehrkrankenhaus der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Chefarzt: Prof. Dr. Bruno Märkl

*„Lymphknotenhypoplasie als prognostischer Marker  
in nodal-negativen Kolonkarzinomen“*

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Patrick Mayr

aus

Krumbach (Schwaben)

2018

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Bruno Märkl

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Andreas Jung  
Prof. Dr. Frank Kolligs

Mitbetreuung durch die  
promovierte Mitarbeiterin: Dr. med. Tina Schaller

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 21.06.2018

## **Eidesstaatliche Erklärung**

Ich erkläre hiermit an Eides statt,  
dass ich die vorliegende kumulative Dissertation mit dem Thema

*„Lymphknotenhypoplasie als prognostischer Marker in nodal-negativen  
Kolonkarzinomen“*

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Jettingen-Scheppach, den 13. Juni 2017

Mayr Patrick

---

Unterschrift des Doktoranden

# Inhaltsverzeichnis

Eidesstaatliche Erklärung .....	4
Inhaltsverzeichnis .....	5
Abkürzungsverzeichnis .....	6
Publikationsliste .....	7
Publikation 1.....	7
Publikation 2.....	7
Bestätigung des Doktoranden .....	8
Bestätigung der Koautoren .....	9
Publikation 1.....	9
Publikation 2.....	11
Überblick zum Thema.....	13
Einleitung.....	13
TNM-Klassifikation kolorektaler Karzinome.....	14
Besondere Aspekte des Lymphknotenstagings .....	15
Publikation 1 .....	17
Publikation 2 .....	19
Summary .....	21
Zusammenfassung.....	23
Publikation 1 im Original .....	25
Publikation 2 im Original .....	26
Referenzen .....	27
Danksagung .....	33

## Abkürzungsverzeichnis

(alphabetische Sortierung)

A.	Arteria
bzgl.	bezüglich
ggf.	gegebenenfalls
i.d.R.	in der Regel
i.S.	im Sinne
KRK	kolorektale(s) Karzinom(e)
LN	lymph node
LN5	lymph node 5mm
LN5l/h	lymph node 5mm low/high
LN5vl	Lymph node 5mm very low
M	(Fern-)Metastase (im Rahmen TNM Staging)
MBR	morphology-based risk
N	Lymphknotenbefall (im Rahmen TNM Staging)
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
P	probability / Wahrscheinlichkeit (im Rahmen Statistik)
s.o.	siehe oben
T	Tumor (im Rahmen TNM Staging)
UICC	Union internationale contre le cancer
V.	Vena
V	Vaskuläre Infiltration (im Rahmen Staging)
L	Lymphgefäßinfiltration (im Rahmen Staging)
z.B.	zum Beispiel

## **Publikationsliste**

### **Publikation 1**

"Lymph node hypoplasia is associated with adverse outcomes in node-negative colon cancer using advanced lymph node dissection methods" [1]

Mayr P, Aumann G, Schaller T, Schenkirsch G, Anthuber M, Markl B;  
Langenbecks Arch Surg 2016; 401(2): 181-8.

### **Publikation 2**

"A new simple morphology-based risk score is prognostic in stage I/II colon cancers"  
[2]

Märkl B, Märkl M, Schaller T, Mayr P, Schenkirsch G, Kriening B, Anthuber M;  
Cancer Med 2016; 5(7): 1492-501.

## **Bestätigung des Doktoranden**

Hiermit bestätige ich, dass keiner der zur Promotion eingereichten Fachartikel Gegenstand einer anderen (laufenden oder abgeschlossenen) Dissertation ist.

Jettingen-Scheppach, den 13. Juni 2017

---

Unterschrift des Doktoranden



## Bestätigung der Koautoren

Folgende Koautoren bestätigen mit Ihrer Unterschrift

- Ihren Arbeitsanteil (Inhalt und Umfang) an den eingereichten Veröffentlichungen
- Ihr Einverständnis zur Einreichung der Publikationen sowie,
- dass der jeweilige eingereichte Fachartikel nicht Gegenstand einer anderen (laufenden oder abgeschlossenen) Dissertation ist.

### Publikation 1

*"Lymph node hypoplasia is associated with adverse outcomes in node-negative colon cancer using advanced lymph node dissection methods" [1]*

veröffentlicht in der März-Ausgabe 2016 des Langenbeck 's Archives of Surgery

Patrick Mayr

Studienkonzept

Sammlung der Daten

Auswertung sowie Interpretation der Ergebnisse

Anfertigung des Manuskripts

---

Unterschrift

Georg Aumann

Auswertung sowie Interpretation der Ergebnisse

Überprüfung des Manuskripts

---

Unterschrift

Tina Schaller

Sammlung der Daten  
Überprüfung des Manuskripts

---

Unterschrift

Gerhard Schenkirsch

Sammlung der Daten  
Überprüfung des Manuskripts

---

Unterschrift

Matthias Anthuber

Studienkonzept  
Überprüfung des Manuskripts

---

Unterschrift

Bruno Märkl

Studienkonzept  
Sammlung der Daten  
Auswertung sowie Interpretation der Ergebnisse  
Überprüfung des Manuskripts

---

Unterschrift

## Publikation 2

*"A new simple morphology-based risk score is prognostic in stage I/II colon cancers"*

[2]

veröffentlicht in der Juli-Ausgabe 2016 in Cancer Medicine

Bruno Märkl

Studienkonzept  
Histopathologische Befundung der Fälle  
Sammlung der Daten  
Auswertung sowie Interpretation der Ergebnisse  
Anfertigung des Manuskripts

---

Unterschrift

Maximilian Märkl

Sammlung der Daten  
Auswertung sowie Interpretation der Ergebnisse  
Überprüfung des Manuskripts

---

Unterschrift

Tina Schaller

Histopathologische Befundung der Fälle  
Sammlung der Daten  
Auswertung sowie Interpretation der Ergebnisse  
Überprüfung des Manuskripts

---

Unterschrift

Patrick Mayr

Sammlung der Daten  
Überprüfung des Manuskripts

---

Unterschrift

Gerhard Schenkirsch

Sammlung der Daten  
Überprüfung des Manuskripts

---

Unterschrift

Bernadette Kriening

Sammlung der Daten  
Überprüfung des Manuskripts

---

Unterschrift

Matthias Anthuber

Studienkonzept  
Überprüfung des Manuskripts

---

Unterschrift

# Überblick zum Thema

## Einleitung

Karzinome des Kolon und Rektums (KRK) gehören zu den häufigsten bösartigen Erkrankungen. Männer sind mit einer altersstandardisierten Inzidenzrate von etwa 56 auf 100.000 häufiger betroffen als Frauen mit einer ebensolchen von 36 auf 100.000, was einem Verhältnis von etwa 1,55 : 1 entspricht. [3]

Karzinome des Kolon und Rektums stellen beim Mann nach Malignomen von Prostata und Lunge die dritthäufigste, bei Frauen nach Malignomen der Brust die zweithäufigste bösartige Neubildung dar. Bei Betrachtung der Todesfälle durch Krebs liegen bösartige Erkrankungen des Darmes bei Männern an zweiter Stelle nach Todesfällen durch Lungenmalignome, bei Frauen an dritter Stelle nach malignen Neoplasien von Brust und Lunge.

Sowohl Prognose als auch Therapie des kolorektalen Karzinoms hängen in erster Linie vom Tumorstadium ab. Die Stadien I und II sind mit einer exzellenten Prognose vergesellschaftet, während die fortgeschrittenen Stadien mit höheren Rezidiv-, Fernmetastasierungs- und krankheitsbedingten Sterberaten einhergehen. [4-6] Ein kurativer Therapieansatz wird für alle Patienten in den Stadien I - III verfolgt. Jedoch wird mittlerweile auch im Stadium UICC IV, welches einer Fernmetastasierung entspricht, in zunehmendem Maße ein kurativer Therapieansatz verfolgt.

## **TNM-Klassifikation kolorektaler Karzinome**

Wie nahezu jede bösartige Entität werden auch KRK entsprechend der TNM-Klassifikation bzw. entsprechend den UICC (Union internationale contre le cancer) Stadien eingeteilt. [7]

Im Falle kolorektaler Karzinome beschreibt das T-Stadium die Invasionstiefe der Darmwand durch das Karzinom. So besteht im Stadium eines „Tumor in situ“ (Tis) kein Durchbruch der Lamina muscularis mucosae, wohingegen sich beginnend mit dem Stadium T1 eine Invasion der Submucosa, im Stadium T2 der Tunica muscularis, im Stadium T3 der Subserosa sowie im Stadium T4 der Serosa beziehungsweise eine Infiltration von Nachbarstrukturen findet.

Finden sich bereits Tumorabsiedlungen in den lokoregionären Lymphknoten, welche entlang der A./V. mesenterica superior bzw. inferior oder der rektalen Blutversorgung zu finden sind, wird dies je nach Anzahl befallener Lymphknoten als N1/2/3-Stadium bezeichnet.

Sollten sich Tumorabsiedlungen in anderen Organen, im Falle kolorektaler Karzinome allen voran in Leber oder Lunge, oder eine Peritonealkarzinose finden, entspricht dies einem Stadium der Fernmetastasierung, welches als M1a/b-Stadium klassifiziert wird.

In der UICC-Klassifikation entsprechen bei fehlendem Nachweis von Lymphknoten- und Fernmetastasen die TNM-Stadien T1/T2 dem UICC-Stadium I sowie T3/T4 dem Stadium UICC II. In Fällen nodaler Positivität ohne Fernmetastasen liegt unabhängig vom T- Stadium - somit unabhängig von der Primärtumorausdehnung - ein UICC-Stadium III vor. Das Stadium UICC IV entspricht einer Fernmetastasierung und ist daher ungeachtet des genauen T- oder N-Stadiums automatisch mit dem Stadium M1 erreicht.

## **Besondere Aspekte des Lymphknotenstaging**

Dem Lymphknotenstaging kommt hinsichtlich Prognoseabschätzung und Therapiestratifizierung eine besondere Bedeutung zu. In nodal-positiven Fällen ist eine eindeutige Indikation zur adjuvanten Therapie gegeben. [4, 6]

Stadium I/II Karzinome sind mit einer sehr guten Prognose vergesellschaftet. [4] Dennoch zeigen etwa 20% der Karzinome im Stadium II einen progressiven Krankheitsverlauf. Interessanterweise konnte in zahlreichen Untersuchungen immer wieder gezeigt werden, dass die Anzahl untersuchter Lymphknoten stark mit dem Krankheitsverlauf korreliert. [8-10]

Fälle mit Zahlen unterhalb der von der UICC festgelegten Mindestzahl von 12 Lymphknoten gehen statistisch mit einem ungünstigeren Verlauf einher. [11-14] Insuffizientes Staging mit weniger als 12 untersuchten Lymphknoten entspricht einem der high-risk-Kriterien des National Comprehensive Cancer Network (NCCN) und qualifiziert daher für die Durchführung einer adjuvanten Therapie. [4-6, 15]

Die weithin akzeptierte Erklärung für diesen prognostischen Effekt ist ein falsch-negativer Lymphknotenbefund, der das Resultat einer nicht repräsentativen Untersuchung von Lymphknoten wäre. Ein Stadienmigrationseffekt, bekannt auch als Will-Rogers-Phänomen, wäre die Folge. [16-18]

Dieser These folgend würde eine erhöhte Anzahl an untersuchten Lymphknoten die Genauigkeit der Lymphknotenuntersuchung erhöhen. Folglich würde sich dies auch positiv auf die Lebenserwartung der Patienten sowohl in den Stadien I/II als auch III auswirken. [8-10, 17, 19]

Dies läge an einer Verminderung oder auch Eliminierung von fälschlicherweise als nodal-negativ eingestuften Fällen in den prognostisch günstigeren niedrigeren Stadien I und II bei einer Aufnahme dieser in Wahrheit nodal-positiven Fällen in das korrekte Stadium III. [11, 12] Dieses Stadium III würde folglich eine größere Anzahl früherer Fälle enthalten und konsekutiv eine aufs Gesamtkollektiv positive Entwicklung der Lebenserwartung erfahren.

Basierend auf dieser Überlegung entwickelten Märkl et al. zur weiteren Steigerung und Verbesserung der Lymphknotendetektierungsrate die Methode der Methylenblau assistierten Lymphknotenpräparation, welche eine deutliche Steigerung der Anzahl der gefundenen Lymphknoten bewirkte. [20-23]

Die damalige Ausgangshypothese, dass nun mit einer deutlich gesteigerten Anzahl gefundener Lymphknoten auch die Detektionsrate an Lymphknotenmetastasen und konsekutiv ein stattfindendes Understaging der Patienten reduziert werden könnte, wurde jedoch überraschenderweise nicht bestätigt. [24]

Diese Ergebnisse lassen die These des oben beschriebenen Stadienmigrationseffektes in Zweifel ziehen. [8-14, 17, 19, 24-28]

Dies steht im Einklang mit mehreren Hinweisen aus der neueren Literatur, wonach eine größeren Anzahl untersuchter Lymphknoten nicht mit einer erhöhten Metastasendetektionsrate einhergeht. Das wichtigste Ziel dieser Bestrebungen einer erhöhten Lymphknotenausbeute wird somit verfehlt. [13, 14, 24-26]

Der Stadienmigrationseffekt scheint somit nicht die korrekte Erklärung für den prognostischen Effekt der Zahl untersuchter Lymphknoten zu sein. Keinesfalls kommt er als alleinige Erklärung in Betracht. In diesem Kontext entstand die These, dass es einen Parameter geben muss, der sowohl die Lymphknotendetektierbarkeit als auch die Prognose beeinflusst. Die Lymphknotengröße wurde als solch ein Parameter identifiziert, der den Fokus zunehmend auf immunologische und tumorbiologische Aspekte lenkte. [29-33]

Zur Untersuchung dieser Hypothese wurde zunächst eine Studie (Publikation 1) initiiert und durchgeführt, die den Einfluss der Lymphknotenhypoplasie, die hier als Lymphknotengröße von  $< 5$  mm definiert wurde, untersucht. Nach Bestätigung dieses Effekts wurde die Lymphknotenhypoplasie als Teilparameter in einen neuen Risk-Score (Publikation 2) zur Stratifizierung von Kolonkarzinomen der Stadien I/II integriert und untersucht.



## Publikation 1

*"Lymph node hypoplasia is associated with adverse outcomes in node-negative colon cancer using advanced lymph node dissection methods" [1]*

Basierend auf diesen grundsätzlichen Überlegungen bestand die Hypothese unserer ersten Publikation nun darin, dass das Auftreten einer nur geringen Anzahl mittelgroßer und großer Lymphknoten mit einem ungünstigeren Krankheitsverlauf assoziiert sein müsste. Wir definierten eine Größe von 5 mm als Trennwert. Lymphknoten mit Durchmessern von  $\geq 5$  mm wurden als LN5 bezeichnet. Da Patienten im Stadium UICC III und IV aufgrund einer stattgehabten Metastasierung in lokoregionäre Lymphknoten bzw. einer Fernmetastasierung eine ungünstigere Prognose aufweisen, ist hier grundsätzlich eine Indikation zu einer adjuvanten oder palliativen systemischen Therapie gegeben. Die hier vorliegende Arbeit wurde daher auf nodal-negative Patienten im Stadium UICC I und UICC II beschränkt.

Für eine weitergehende Untersuchung zogen wir ein Patientenkollektiv von Karzinomen des Kolons mit Lymphknoten negativem Befund heran, welches in den Jahren 2007 bis 2011 im Klinikum Augsburg therapiert wurde. Dies umfasste – mit Ausnahme von fünf Patienten im Stadium UICC IV - Patienten im Stadium UICC I und II. Alle Fälle wurden im Rahmen der pathologischen Diagnostik mithilfe der Methylenblau assistierten Lymphknotenpräparation aufgearbeitet, um eine möglichst umfassende Anzahl an Lymphknoten zu gewinnen. Rektumkarzinomfälle wurden ausgeschlossen, da sich in Anbetracht einer i.d.R. stattgefundenen neoadjuvanten Therapie Veränderungen der morphologischen Charakteristika des Primärtumors, aber auch der Lymphknoten finden und folglich eine Verfälschung der Untersuchungsbefunde bewirken könnte. Weitere Ausschlusskriterien waren Tumor-positive Resektionsränder sowie Patientenfälle mit nicht-kurativem Therapieansatz.

Das so erfasste Patientenkollektiv wurde hinsichtlich der Anzahl der LN5 in zwei Gruppen aufgeteilt: Fälle mit keinem oder einem LN5 wurden der Gruppe LN5vl (LN5 very low), jene mit zwei und mehr LN5 der Gruppe LN5l/h (LN5 low/high)

zugeordnet. Als Endpunkt diente das Gesamtüberleben. Es wurden uni- und multivariable Analysen durchgeführt.

Die hierdurch ermittelten Ergebnisse wurden letztlich in einer Publikation zusammengefasst und unter dem Titel "Lymph node hypoplasia is associated with adverse outcomes in node-negative colon cancer using advanced lymph node dissection methods" in der März-Ausgabe 2016 des Journals "Langenbeck's Archives of Surgery" veröffentlicht.

## Publikation 2

*"A new simple morphology-based risk score is prognostic in stage I/II colon cancers"*  
[2]

Um Kolonkarzinomfälle unterschiedlicher Prognose im Stadium I/II mit einer noch höheren Trennschärfe unterscheiden zu können, überlegten wir den Faktor LN5, der als Surrogatmarker einer Immunantwort angesehen werden kann, mit weiteren morphologischen Kriterien zu kombinieren, die jeweils andere tumorbiologische Faktoren repräsentieren. Dabei bestand mein Anteil in der Sammlung notwendiger Daten, der Recherche histopathologischer Befunde, dem Zusammentragen mikroskopischer Schnitte sowie ggf. bei Bedarf zugehöriger Paraffinblöcke. Hieraus gewonnene Daten sammelte ich für die weitere statistische Auswertung zusammen, welche ich unterstützte. Nach Anfertigung des Manuskripts steuerte ich Korrekturen sowie Vorschläge für die endgültige Fassung desselben bei.

Derzeit finden die Kriterien des National Comprehensive Cancer Network (NCCN) zur Identifizierung von sogenannten high-risk-Situationen Verwendung. Diese Kriterien umfassen ein T4-Stadium, eine unzureichende Lymphknotenanzahl im Rahmen der pathologischen Aufbereitung, Notfalleingriffe und Obstruktionen. In der Vergangenheit wurden mehrere Multigen-Tests entwickelt, die allerdings bislang keine allgemeine Empfehlung durch anerkannte Institutionen oder innerhalb von Leitlinien erfahren haben. Als Nachteile dieser molekularen Methoden können die relativ hohen Kosten, die nicht flächendeckende Verfügbarkeit, sowie teilweise der Bedarf von frischem und unfixiertem Gewebe genannt werden.

Daher ergab sich für uns die Frage nach einem einfach durchzuführenden, kosteneffizienten und aussagekräftigen Scoring-System. Als Faktoren wurden die Punkte pT3/4-Stadium, vaskuläre bzw. lymphovaskuläre Invasion (V1 und/oder L1), Tumor budding und der Invasionsstyp nach Jass genutzt, da sich diese auch in vorherigen Studien als prognostisch relevante Parameter erwiesen. Als fünfter Punkt diente die Anzahl von mittelgroßen und großen Lymphknoten, wie wir sie in unserer

ersten Studie definiert und untersucht haben (weniger als zwei LN5, s.o.). Da alle diese Faktoren primär morphologische Faktoren umfassen, wurde der Score folglich als morphology-based risk score, kurz MBR-Score, bezeichnet. Für den Nachweis jedes einzelnen Faktors wurde ein Punkt vergeben. Fand sich keiner der Punkte erfüllt, definierten wir dies als low-risk-, 1-2 Punkte entsprachen einer intermediate-risk- und schließlich 3-5 Punkte einer high-risk-Situation.

Als Patientenkollektiv dienten Fälle aus den Jahren 2002 bis 2005 sowie jene zwischen 2007 und 2010, wobei Fälle seit dem Jahr 2007 die Methylenblau-Methode zur Steigerung der Lymphknotenzahl im Rahmen der pathologischen Aufarbeitung der Resektate Verwendung fand. Als Einschlusskriterien dienten Stadium UICC I bzw. UICC II, mindestens zwei-monatiges Follow-Up. Ausschlusskriterien waren Notfalleingriffe und positive Resektionsränder. Das sich hieraus ergebende Patientenkollektiv von 301 Fällen wurde entsprechend der oben genannten Faktoren des MBR-Scores histopathologisch untersucht und anschließend in die entsprechende Risikogruppe eingruppiert. Auch hier wurden uni- und multivariable Analysen durchgeführt.

Die Ergebnisse der zweiten Studie wurden schließlich im Juli 2016 im Journal Cancer Medicine unter dem Titel "A new simple morphology-based risk score is prognostic in stage I/II colon cancers" publiziert.

## Summary

Colon cancer is the third most common cancer in Germany and a leading cause of cancer related death. Lymph node (LN) staging is still of crucial importance for the prognosis estimation and the therapy stratification. The occurrence of LN metastases is a meaningful adverse prognostic factor. However, the number of investigated lymph nodes has been shown to be of prognostic significance. A stage migration effect is also known as Will-Rogers-Phenomenon caused by missed LN metastases due to insufficient LN harvest is accepted as a reason for that. Recently, several authors doubted that this explanation is correct in a relevant number of cases. LN size could be shown to be related to both LN count and prognosis.

The influence of LN hypoplasia on outcome was investigated in the retrospective study including 115 cases of stage I and II colon cancers. The detection of less than two LN with diameters  $> 5$  mm (LN5vl) was defined as LN hypoplasia, two and more LN5 were defined as LN5l/h (low/high). Patients grouped LN5vl (N=34) had a significant worse outcome than those patients in LN5l/h (N=81). Multivariate analysis showed T-stage and LN5vl as independently prognostic. Consequently, patients with a low LN5 count may regarded at possibly high-risk situation.

After showing LN5 as prognostically relevant, this factor has been included in a score. The morphology-based risk score (MBR score) includes the factors *tumor budding*, *Invasion type according to Jass*, *T-stage*, and *vascular invasion* to predict the clinical course in stage I/II colon cancers. Each of these factors has been shown to be prognostically significant in previously published studies of different authors. These factors are sole morphological correlates of different biological mechanisms enhancing tumor progression. For the presence of each adverse factor of this morphology-based risk (MBR) score, one point is given. A three-tailed scoring system was developed. Scoring stratification was 0 point for low-risk, 1-2 points for intermediate-risk and 3-6 points for high-risk cases. The multivariate analysis revealed the MBR score as being independently prognostic. Moreover, it was superior to the NCCN recommendations and MSI evaluation. 18% of the as UICC II carcinomas were classified as high-risk, which is a much smaller number than

achieved by use of NCCN criteria and fits better to the clinical course in the group of cases. Patients identified this way may profit from adjuvant chemotherapy.

LN size is prognostic in node-negative cancer. It is very likely a surrogate marker of immune response and the true explanation for the prognostic effect of lymph node count. It is, therefore, an alternative thesis to the stage migration theory (Will-Rogers-phenomenon) in this context. Moreover, the inclusion of this new prognostic factor into the MBR score heightens its prognostic value. The MBR score could be shown as a promising tool to predict the clinical course in colon cancer and potentially superior to the established risk stratification according to the NCCN.

## Zusammenfassung

Kolonkarzinome sind die dritthäufigsten Karzinome in Deutschland und eine der führenden Krebstodesursachen. Die genaue Bestimmung des Lymphknotenstatus ist immer noch von entscheidender Bedeutung für eine adäquate Beurteilung von Prognose und Therapieplanung. Hierbei gilt das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen als ein bedeutender, prognostisch ungünstiger Faktor. Die Anzahl der untersuchten Lymphknoten gilt als aussagekräftiger Faktor. Das sog. "Will Rogers-Phänomen", welches auch als "Stadienmigrationseffekt" bekannt ist und durch eine übersehene Lymphknotenmetastasierung verursacht wird, gilt als weitläufig akzeptierte Erklärung hierfür. In letzter Zeit wurde dieser Sachverhalt jedoch durch eine Reihe von Autoren angezweifelt. Die Lymphknotengröße konnte als eine mit der Lymphknotenanzahl und der Krankheitsprognose assoziierte Messgröße erhoben werden.

Der Einfluss der Lymphknotenhypoplasie wurde in einer retrospektiven Studie untersucht, welche 115 Patientenfälle von Kolonkarzinomen im Stadium UICC I und UICC II umfasste. Das Vorhandensein von weniger als zwei Lymphknoten mit einem Durchmesser von  $> 5$  mm (LN5vl) wurde als Lymphknotenhypoplasie definiert. Patienten der Gruppe LN5vl (N=34) hatten ein signifikant schlechteres Überleben als jene Patienten der Gruppe LN5l/h (n=81). Die durchgeführte multivariate Analyse identifizierte das T-Stadium und LN5vl als unabhängig mit dem Patientenüberleben korrelierende Faktoren.

Nachdem LN5 als prognostisch relevanter Faktor herausgearbeitet werden konnte, wurde dieser in einem Score, dem MBR-Score (morphology-based risk score), eingeschlossen, welcher insgesamt 5 Einzelfaktoren (Tumor budding, Invasionstyp nach Jass, T-Stadium, Vorhandensein von Gefäßinvasion, LN5) und der Abschätzung des weiteren klinischen Verlaufs im Stadium UICC I und UICC II dient. Jeder dieser Faktoren wurde durch Autoren in vorausgehenden Arbeiten als prognostisch signifikante Marker herausgearbeitet. Alle Faktoren sind rein morphologisch fassbare Korrelate verschiedener tumorbiologischer Mechanismen, die eine weitere Tumorprogression befördern. Bei Vorhandensein eines jeden einzelnen dieser Punkte

wurde ein Punkt vergeben. Basierend hierauf wurde ein dreiteiliges Score-System entwickelt. Für jeden einzelnen der o.g. Aspekte wurde ein Punkt vergeben und eine Einteilung der Patienten in entsprechende Gruppen vorgenommen. 0 Punkte entsprechen einer low-risk-, 1-2 Punkte einer intermediate-risk- und 3-6 Punkte einer high-risk-Situation.

Eine multivariable Auswertung belegte die entsprechend des MBR erreichte Eingruppierung in eine low-risk- bzw. high-risk-Gruppe als unabhängig prognostisch und der Einteilung entsprechend der NCCN-Empfehlung bzw. der Bestimmung der MSI als überlegen. 18% der UICC-II-Fälle wurden der high-risk-Gruppe zugeordnet, was einer gegenüber den NCCN-Kriterien kleineren, aber dem tatsächlichen Verlauf besser entsprechenden Einschätzung entspricht. Diese Patienten könnten von einer adjuvant durchgeführten Chemotherapie profitieren.

Die Lymphknotengröße ist prognostisch relevant in nodal-negativen Kolonkarzinomfällen. Sehr wahrscheinlich handelt es sich um einen Surrogatmarker der Immunantwort und stellt die eigentliche Ursache der verschiedenen Anzahl gefundener Lymphknoten dar. Es ist daher eine zusätzliche, alternative Hypothese gegenüber dem Will-Rogers-Phänomen (Stage migration effect). Darüber hinaus bietet der Einschluss dieses Faktors in den MBR-Score eine Verbesserung der prognostischen Aussagekraft. Der MBR-Score konnte als ein aussagekräftiges Instrument zur Abschätzung des weiteren klinischen Verlaufs in Kolonkarzinomfällen aufgezeigt werden und ist womöglich der Risikoabschätzung gemäß der Vorgehensweise der NCCN überlegen.



## Publikation 1

"Lymph node hypoplasia is associated with adverse outcomes in node-negative colon cancer using advanced lymph node dissection methods" [1]

### Anmerkung:

*Da diese Publikation kostenpflichtig unter u.g. Link des Springer-Verlags zugänglich ist, wird an dieser Stelle auf die entsprechende Quelle des Verlags zum Erwerb sowie auf die allgemeine Listung auf Pubmed verwiesen.*

Links zur Publikation:

Langenbeck´s Archives of Surgery:

<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00423-016-1377-4>

Pubmed:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26879192>

PMID: 26879192

Zitation entsprechend Verlagsangaben:

Mayr, P., Aumann, G., Schaller, T. et al. Langenbecks Arch Surg (2016) 401: 181.

<https://doi.org/10.1007/s00423-016-1377-4>

DOI: <https://doi.org/10.1007/s00423-016-1377-4>

Publisher Name: Springer Berlin Heidelberg

Print ISSN: 1435-2443

Online ISSN: 1435-2451

Copyright:

Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016

Alle Angaben nach bestem Wissen und Gewissen: Stand 23.06.2018

## Publikation 2

"A new simple morphology-based risk score is prognostic in stage I/II colon cancers"  
[2]

### Anmerkung:

*Diese Publikation wurde i.R. einer Open-Access Veröffentlichung zugänglich gemacht und ist unter den u.g. Links frei zugänglich. Genauerer s. Copyright Disclaimer unten.*

Links zur Publikation:

Wiley Online:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cam4.737>

<https://doi.org/10.1002/cam4.737>

Pubmed/PMC:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27167601>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4867555/>

IDs: PMID: 27167601, PMCID: PMC4867555

Copyright Disclaimer:

(entnommen der Seite des Wiley Online Verlags unter o.g. Link)

Copyright © 2016 The Authors. Cancer Medicine published by John Wiley & Sons Ltd.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Alle Angaben nach bestem Wissen und Gewissen: Stand 23.06.2018

## Referenzen

1. P. Mayr, Aumann, G., Schaller, T., Schenkirsch, G., Anthuber, M., and Markl, B., *Lymph node hypoplasia is associated with adverse outcomes in node-negative colon cancer using advanced lymph node dissection methods*. *Langenbecks Arch Surg*, 2016. **401**(2): p. 181-8.
2. B. Markl, Markl, M., Schaller, T., Mayr, P., Schenkirsch, G., Kriening, B., and Anthuber, M., *A new simple morphology-based risk score is prognostic in stage I/II colon cancers*. *Cancer Med*, 2016. **5**(7): p. 1492-501.
3. J. Ferlay, Steliarova-Foucher, E., Lortet-Tieulent, J., Rosso, S., Coebergh, J. W., Comber, H., Forman, D., et al., *Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012*. *Eur J Cancer*, 2013. **49**(6): p. 1374-403.
4. H. Brenner, Kloor, M., and Pox, C. P., *Colorectal cancer*. *Lancet*, 2014. **383**(9927): p. 1490-502.
5. S. Gill, Loprinzi, C. L., Sargent, D. J., Thome, S. D., Alberts, S. R., Haller, D. G., Benedetti, J., et al., *Pooled analysis of fluorouracil-based adjuvant therapy for stage II and III colon cancer: who benefits and by how much?* *J Clin Oncol*, 2004. **22**(10): p. 1797-806.
6. National Comprehensive Cancer Network, *Practical Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®): Colon Cancer, Version 2.2015*. 2014.

7. J. D. Brierley, Gospodarowicz, M. K., and Wittekind, Ch. eds., *International Union Against Cancer (UICC): TNM Classification of Malignant Tumours (8th ed.)*. 2016: Wiley.
8. F. Iachetta, Reggiani Bonetti, L., Marcheselli, L., Di Gregorio, C., Cirilli, C., Messinese, S., Cervo, G. L., et al., *Lymph node evaluation in stage IIA colorectal cancer and its impact on patient prognosis: a population-based study*. *Acta Oncol*, 2013. **52**(8): p. 1682-90.
9. G. J. Chang, Rodriguez-Bigas, M. A., Skibber, J. M., and Moyer, V. A., *Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review*. *J Natl Cancer Inst*, 2007. **99**(6): p. 433-41.
10. H. H. Chen, Chakravarty, K. D., Wang, J. Y., Changchien, C. R., and Tang, R., *Pathological examination of 12 regional lymph nodes and long-term survival in stages I-III colon cancer patients: an analysis of 2,056 consecutive patients in two branches of same institution*. *Int J Colorectal Dis*, 2010. **25**(11): p. 1333-41.
11. N. S. Goldstein, *Lymph node recoveries from 2427 pT3 colorectal resection specimens spanning 45 years: recommendations for a minimum number of recovered lymph nodes based on predictive probabilities*. *Am J Surg Pathol*, 2002. **26**(2): p. 179-89.
12. R. S. Swanson, Compton, C. C., Stewart, A. K., and Bland, K. I., *The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined*. *Ann Surg Oncol*, 2003. **10**(1): p. 65-71.
13. F. N. van Erning, Crolla, R. M., Rutten, H. J., Beerepoot, L. V., van Krieken, J. H., and Lemmens, V. E., *No change in lymph node positivity rate despite*

*increased lymph node yield and improved survival in colon cancer.* Eur J Cancer, 2014. **50**(18): p. 3221-9.

14. M. Prandi, Lionetto, R., Bini, A., Francioni, G., Accarpio, G., Anfossi, A., Ballario, E., et al., *Prognostic evaluation of stage B colon cancer patients is improved by an adequate lymphadenectomy: results of a secondary analysis of a large scale adjuvant trial.* Ann Surg, 2002. **235**(4): p. 458-63.
15. Group Quasar Collaborative, Gray, R., Barnwell, J., McConkey, C., Hills, R. K., Williams, N. S., and Kerr, D. J., *Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study.* Lancet, 2007. **370**(9604): p. 2020-9.
16. A. R. Feinstein, Sosin, D. M., and Wells, C. K., *The Will Rogers phenomenon. Stage migration and new diagnostic techniques as a source of misleading statistics for survival in cancer.* N Engl J Med, 1985. **312**(25): p. 1604-8.
17. J. Lykke, Roikjaer, O., Jess, P., and Danish Colorectal Cancer, Group, *The relation between lymph node status and survival in Stage I-III colon cancer: results from a prospective nationwide cohort study.* Colorectal Dis, 2013. **15**(5): p. 559-65.
18. W. Willaert, Mareel, M., Van De Putte, D., Van Nieuwenhove, Y., Pattyn, P., and Ceelen, W., *Lymphatic spread, nodal count and the extent of lymphadenectomy in cancer of the colon.* Cancer Treat Rev, 2014. **40**(3): p. 405-13.
19. M. G. Norwood, Sutton, A. J., West, K., Sharpe, D. P., Hemingway, D., and Kelly, M. J., *Lymph node retrieval in colorectal cancer resection specimens:*

*national standards are achievable, and low numbers are associated with reduced survival.* Colorectal Dis, 2010. **12**(4): p. 304-9.

20. B. Markl, Kerwel, T. G., Jahnig, H. G., Oruzio, D., Arnholdt, H. M., Scholer, C., Anthuber, M., et al., *Methylene blue-assisted lymph node dissection in colon specimens: a prospective, randomized study.* Am J Clin Pathol, 2008. **130**(6): p. 913-9.
21. R. K. Jepsen, Ingeholm, P., and Lund, E. L., *Upstaging of early colorectal cancers following improved lymph node yield after methylene blue injection.* Histopathology, 2012. **61**(5): p. 788-94.
22. A. Tornroos, Shabo, I., Druvefors, B., Arbman, G., and Olsson, H., *Postoperative intra-arterial methylene blue injection of colorectal cancer specimens increases the number of lymph nodes recovered.* Histopathology, 2011. **58**(3): p. 408-13.
23. T. G. Kerwel, Spatz, J., Anthuber, M., Wunsch, K., Arnholdt, H., and Markl, B., *Injecting methylene blue into the inferior mesenteric artery assures an adequate lymph node harvest and eliminates pathologist variability in nodal staging for rectal cancer.* Dis Colon Rectum, 2009. **52**(5): p. 935-41.
24. B. Markl, Schaller, T., Krammer, I., Cacchi, C., Arnholdt, H. M., Schenkirsch, G., Kretsinger, H., et al., *Methylene blue-assisted lymph node dissection technique is not associated with an increased detection of lymph node metastases in colorectal cancer.* Mod Pathol, 2013. **26**(9): p. 1246-54.
25. A. O'Shea, Aly, O., Parnaby, C. N., Loudon, M. A., Samuel, L. M., and Murray, G. I., *Increased lymph node yield in colorectal cancer is not necessarily*

*associated with a greater number of lymph node positive cancers.* PLoS One, 2014. **9**(8): p. e104991.

26. D. A. Sloothaak, Grewal, S., Doornewaard, H., van Duijvendijk, P., Tanis, P. J., Bemelman, W. A., van der Zaag, E. S., et al., *Lymph node size as a predictor of lymphatic staging in colonic cancer.* Br J Surg, 2014. **101**(6): p. 701-6.
27. K. L. Mathis, Green, E. M., Sargent, D. J., Delaney, C., Simmang, C. L., and Nelson, H., *Surgical quality surrogates do not predict colon cancer survival in the setting of technical credentialing: a report from the prospective COST trial.* Ann Surg, 2013. **257**(1): p. 102-7.
28. K. Okada, Sadahiro, S., Suzuki, T., Tanaka, A., Saito, G., Masuda, S., and Haruki, Y., *The size of retrieved lymph nodes correlates with the number of retrieved lymph nodes and is an independent prognostic factor in patients with stage II colon cancer.* Int J Colorectal Dis, 2015. **30**(12): p. 1685-93.
29. Y. W. Kim, Jan, K. M., Jung, D. H., Cho, M. Y., and Kim, N. K., *Histological inflammatory cell infiltration is associated with the number of lymph nodes retrieved in colorectal cancer.* Anticancer Res, 2013. **33**(11): p. 5143-50.
30. O. Dworak, *Morphology of lymph nodes in the resected rectum of patients with rectal carcinoma.* Pathol Res Pract, 1991. **187**(8): p. 1020-4.
31. L. Nacopoulou, Azaris, P., Papacharalampous, N., and Davaris, P., *Prognostic significance of histologic host response in cancer of the large bowel.* Cancer, 1981. **47**(5): p. 930-6.

32. D. J. Patt, Brynes, R. K., Vardiman, J. W., and Coppleson, L. W., *Mesocolic lymph node histology is an important prognostic indicator for patients with carcinoma of the sigmoid colon: an immunomorphologic study*. *Cancer*, 1975. **35**(5): p. 1388-96.
  
33. E. Pihl, Nairn, R. C., Milne, B. J., Cuthbertson, A. M., Hughes, E. S., and Rollo, A., *Lymphoid hyperplasia: a major prognostic feature in 519 cases of colorectal carcinoma*. *Am J Pathol*, 1980. **100**(2): p. 469-80.



## Danksagung

Mein Dank gilt insbesondere meinen Eltern sowie meinem Bruder, die immer alles in ihrer Machtstehende getan, jeden Hebel bewegt und jedes Dokument gewälzt haben, um für mich die Basis zu schaffen, auf deren Grundlage ein so langes, aufwendiges und intensives Studium wie das der Medizin in Angriff genommen und auch erfolgreich absolviert werden kann.

Für euren Verzicht, eure starken Nerven und euren ungebrochenen Beistand, euren fortwährenden Einsatz und euer Verständnis bin ich euch jeden Tag aufs Neue mit größtem Dank verbunden.

*Euch widme ich diese Arbeit.*

Daneben gilt mein Dank im Besonderen meinem Doktorvater und Betreuer, PD Dr. med. Bruno Märkl, der mir nicht nur während der Promotion als ein freundschaftlicher Wegbereiter und Mentor durch die Höhen und Tiefen einer kumulativen Dissertation zur Seite gestanden ist, sondern in mir auch das Interesse an wissenschaftlichen Fragestellungen, Hypothesen und deren Realisierung weit über die Grenzen meiner Dissertation hinaus geweckt hat. Er stand mir stets (oft schon innerhalb weniger Stunden!) mit Rat und Tat zur Seite und ebnete damit die Bahn für eine schnelle Realisierung der gesamten Arbeit. Darüber hinaus gewann ich in ihm einen sehr respektierten und angesehenen Freund und Vorgesetzten.

Vielen Dank für deine ungebrochene Zuversicht und dein unerreichtes Engagement, Bruno!

Des Weiteren möchte ich meinen Freunden für den Feinschliff, die kleinen Anmerkungen und Korrekturen an meiner Arbeit im Rahmen der Fertigstellung danken.