

Aus dem  
Department für Neurochirurgie und Neurotechnologie der  
Universitätsklinik für Neurochirurgie Tübingen

**Unterschiede im Tumormikromilieu von  
Vestibularisschwannomen und Schwannomen anderer  
Lokalisationen – eine immunhistochemische Analyse**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Zinn, Julia Lea**

**2026**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. F. Behling

2. Berichterstatter: Privatdozentin Dr. A. Ebrahimi

Tag der Disputation: 12.12.2025

## **Inhaltsverzeichnis**

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis .....	VIII
Abkürzungsverzeichnis .....	XI
1. Einleitung .....	1
1.1 Schwannome - Definition und Epidemiologie .....	1
1.2 Ätiologie .....	2
1.2.1 Physiologie von Schwann-Zellen .....	2
1.2.2 Pathophysiologie .....	3
1.3 Symptome .....	4
1.3.1 Extrakranielle, extraspinale Schwannome .....	4
1.3.2 Spinale Schwannome .....	5
1.3.3 Schwannome von Hirnnerven .....	5
1.4 Besonderheit: Vestibularisschwannom .....	6
1.4.1 Epidemiologie .....	6
1.4.2 Ätiologie .....	7
1.4.3 Symptome .....	7
1.4.4 Diagnostische Bildgebung .....	8
1.4.5 Therapie .....	9
1.4.6 Morbidität .....	12
1.5 Weiterführung Schwannome im Allgemeinen: Diagnostik .....	13
1.5.1 Makroskopische Pathologie .....	13
1.5.2 Mikroskopische Pathologie .....	13
1.5.3 Bildgebende Diagnostik .....	15
1.5.4 Malignitätstransformation .....	15
1.6 Neurofibromatose Typ 2 .....	16
1.6.1 Epidemiologie und Ätiologie .....	16

1.6.2	Symptome.....	17
1.6.3	Diagnostik.....	17
1.6.4	Therapie.....	18
1.7	Schwannomatose.....	19
1.7.1	Epidemiologie und Ätiologie.....	19
1.7.2	Symptome.....	19
1.7.3	Diagnostik.....	19
1.8	Weiterführung Schwannome im Allgemeinen: Therapie.....	20
1.8.1	Chirurgische Therapie.....	21
1.8.2	Prognose.....	21
1.9	Tumor-Mikroumgebung.....	23
1.9.1	Definition.....	23
1.9.2	Immunüberwachung.....	23
1.9.3	Immunoescape.....	24
1.9.4	Tumor-assoziierte Makrophagen.....	24
1.9.5	Einteilung der Tumor-assoziierten Makrophagen.....	25
1.9.6	Tumormikroenvironment in Schwannomen.....	26
1.10	Auswahl der Antikörper.....	27
1.10.1	CD3 und CD8.....	27
1.10.2	CD68, CD163.....	28
1.10.3	MIB-1.....	29
1.10.4	COX2.....	30
1.11	Zusammenfassung und Ziel dieser Arbeit.....	32
2	Material und Methoden.....	33
2.1	Patient*innenkohorte.....	33
2.1.1	Kohorte der Nicht-Vestibularisschwannome.....	33

2.1.2	Kohorte der Vestibularisschwannome.....	34
2.2	Klinische Parameter.....	37
2.3	Vorbereitung für die Anfertigung der Tissue Micro Arrays.....	37
2.4	Erstellen der Tissue Micro Arrays.....	38
2.5	Mikrotomie.....	40
2.6	Hämatoxylin-Eosin-Färbung.....	40
2.7	Immunhistochemie.....	42
2.7.1	Indirekte Antikörper-Färbemethode.....	42
2.8	Immunhistochemische Marker.....	44
2.9	Mikroskopische Auswertung.....	46
2.9.1	CD3/ CD8.....	46
2.9.2	CD68/ CD163/ COX2.....	48
2.9.3	MIB-1.....	51
2.10	Statistische Auswertung.....	53
2.11	Erstellen der Grafiken.....	54
3	Ergebnisse.....	55
3.1	Alle Schwannome.....	55
3.2	Sporadische Schwannome.....	56
3.2.1	Signifikante Korrelationen von klinischen Charakteristika.....	57
3.2.2	Immunhistochemische Färbungen.....	61
3.2.3	Zusammenhang der immunhistochemischen Marker untereinander.....	79
3.2.4	Zusammenhang von klinischen Charakteristika und Tumormikroenvironment.....	80
3.2.5	Zusammenhang von Tumorursprung und Tumormikroenvironment.....	83
3.3	Tumorsyndrome.....	84
3.3.1	Neurofibromatose 2.....	84

3.3.2	Schwannomatose .....	85
3.3.3	Vergleich sporadischer mit Tumorsyndrom-assoziiertes Schwannome .....	86
4	Diskussion .....	91
4.1	Sporadische Schwannome .....	91
4.1.1	Klinische und demografische Merkmale von Schwannomen .....	91
4.1.2	Bewertung der immunhistochemischen Marker .....	92
4.1.3	Unterschiede im Tumormikromilieu zwischen Vestibular- und Nicht-Vestibularschwannomen .....	93
4.1.4	Wechselwirkungen zwischen klinischen Merkmalen und dem Tumormikromilieu .....	103
4.1.5	Zusammenhang der Marker zueinander .....	105
4.1.6	Warum ist der achte Hirnnerv so oft betroffen? .....	106
4.1.7	Besseres Verständnis des Tumormikromilieus .....	108
4.1.8	Prognostischer und therapeutischer Einsatz .....	110
4.2	Tumorsyndrome .....	115
4.2.1	Neurofibromatose 2-Schwannome im Vergleich mit sporadischen Schwannomen .....	116
4.2.2	Schwannomatose-Schwannome im Vergleich mit sporadischen Schwannomen .....	120
4.3	Ausblick/ Perspektive .....	122
4.3.1	Therapieansätze .....	123
4.3.2	Therapieansätze bei Neurofibromatose 2 .....	124
4.4	Zusammenfassung .....	125
4.5	Limitationen .....	127
5	Abstract .....	130
6	References .....	133
7	Anhang .....	170

7.1	Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift.....	170
7.2	Danksagung .....	171

## **Abbildungs- und Tabellenverzeichnis**

Abbildung 1: Chirurgische Zugangswege bei VS .....	10
Abbildung 2: Konsortialdiagramm .....	36
Abbildung 3: Darstellung eines TMA .....	39
Abbildung 4: Wirkweise der Immunhistochemie.....	43
Abbildung 5: Beispieldarstellung der Vollständigkeitsgrade der Gewebstanzen .....	47
Abbildung 6: Darstellung verschiedener Stufen der Immunpositivität .....	48
Abbildung 7: Beispielbilder der einzelnen Scores .....	50
Abbildung 8: Darstellung der maschinellen Auswertung der MIB-1-Färbungen .....	52
Abbildung 9: Tumorursprung aller Schwannome .....	55
Abbildung 10: Tumorursprung der sporadischen Schwannome .....	57
Abbildung 11: Verteilung der CD3-Expression nach Häufigkeit .....	61
Abbildung 12: Bivariate Analyse von CD3-Zellzahl und Patient*innenalter .....	63
Abbildung 13: Anzahl CD3-Zellen in Zusammenhang mit dem Tumorursprung .....	64
Abbildung 14: Verteilung der CD8-Expression nach Häufigkeit .....	65
Abbildung 15: Bivariate Analyse von CD8-Zellzahl und Patient*innenalter .....	66
Abbildung 16: Anzahl CD8-Zellen in Zusammenhang mit dem Tumorursprung .....	67
Abbildung 17: Darstellung von Patient*innenalter in Zusammenhang mit CD68-Score .....	69
Abbildung 18: Zusammenhang von CD68-Cut-Off von 2 und Tumorursprung.....	70
Abbildung 19: Darstellung von Patient*innenalter in Zusammenhang mit CD163-Score .....	72
Abbildung 20: Zusammenhang von CD163-Score und Tumorursprung .....	73
Abbildung 21: Bivariate Analyse von MB1-Index und Patient*innenalter .....	74
Abbildung 22: Verteilung von MIB1 bezogen auf den Tumorursprung .....	76
Abbildung 23: COX2 Score nach Alter.....	77
Abbildung 24: Zusammenhang von COX2-Score und Tumorursprung .....	79
Abbildung 25: Zusammenhang von Patient*innenalter und CD163 sowie COX2 .....	81
Abbildung 26: Tumorursprung der NF2-Schwannome .....	85
Abbildung 27: Tumorursprung der Schwannomatose-assoziierten Schwannome.....	86
Abbildung 28: Darstellung von Patient*innenalter in Zusammenhang mit Tumorsyndromen oder sporadischem Auftreten .....	87

Tabelle 1: Hannover-Klassifikation.....	7
Tabelle 2: Diagnosekriterien von NF2 .....	17
Tabelle 3: Diagnosekriterien für Schwannomatose.....	20
Tabelle 4: Matrix zur genauen Zuordnung der Gewebsstanzen .....	39
Tabelle 5: verwendete Reagenzien zur HE-Färbung.....	42
Tabelle 6: Färbeprotokolle der einzelnen Antikörper.....	44
Tabelle 7: Verwendete Antikörper .....	45
Tabelle 8: verwendete Reagenzien zur Immunhistochemie .....	45
Tabelle 9: Semiquantitativer Score für die Immunpositivität .....	49
Tabelle 10: Angewendete Softwar .....	52
Tabelle 11: Angewendete Hardware .....	53
Tabelle 12: Darstellung des Zusammenhangs von Geschlecht und Tumorlokalisierung. 58	
Tabelle 13: Zusammenhang des Patient*innenalters und der Tumorlokalisierung.....	59
Tabelle 14: Zusammenhang von präoperativer Bestrahlung und verschiedenen Charakteristika.....	60
Tabelle 15: Zusammenhang von Rezidiv und verschiedenen Charakteristika.....	60
Tabelle 16: CD3 in Bezug auf klinische Charakteristika als auch Tumorursprünge. ....	62
Tabelle 17: Aufteilung der CD8-immunopositiven Zellen.....	65
Tabelle 18: CD68-Aufteilung in Scores .....	68
Tabelle 19: Beziehung von Tumorursprung und CD68 bei einem Cut-Off von 2 .....	69
Tabelle 20: Aufteilung von CD163 in Scores .....	70
Tabelle 21: Beziehung von Tumorursprung und CD163 bei einem Cut-Off von 2 .....	72
Tabelle 22: Aufteilung des MIB1-Index .....	73
Tabelle 23: COX2-Aufteilung .....	76
Tabelle 24: Beziehung von Tumorursprung und COX2 bei einem Cut-Off von 2 .....	78
Tabelle 25: Darstellung der Zusammenhänge der Expression der Marker CD3, CD8, MIB1 sowie CD68, CD163 und COX2.....	79
Tabelle 26: Darstellung der Zusammenhänge der Expression der Marker CD68, CD163 und COX2.....	80
Tabelle 27: Zusammenhang von CD163-Score und präoperativer Bestrahlung.....	81
Tabelle 28: Zusammenhang von COX2-Score und präoperativer Bestrahlung.....	82

Tabelle 29: Zusammenhang von COX2-Score und Rezidiv .....	82
Tabelle 30: TME der Tumorlokalisationen im Vergleich VS und Nicht-VS.....	83
Tabelle 31: TME der Tumorlokalisationen im Vergleich VS, HN, SN und PN.....	83
Tabelle 32: Vergleich sporadischer mit NF2- als auch Schwannomatose-assoziierten Schwannomen.....	86
Tabelle 33: Vergleich sporadischer mit NF2-assoziierten Schwannomen in Bezug auf den Tumorursprung .....	88
Tabelle 34: Verteilung der Immunhistochemischen Makrele bei Sporadischen, NF2- und Schwannomatose-assoziierten Schwannomen .....	89

## Abkürzungsverzeichnis

AKN	Akustikusneurinom
ALK	Anaplastische Lymphom-Kinase
ASS	Acetylsalicylsäure
CA	Karzinom
CAF	Cancer-associated Fibroblasts
CAR	chimäre Antigenrezeptoren
CC1	Cell Conditioning-Lösung 1
CC2	Cell Conditioning-Lösung 2
COX2	Cyclooxygenase-2
CT	Computertomographie
CTLA-4	zytotoxisches T-Lymphozyten-Antigen 4
DAB	Diaminobenzidin
DC	Dendritische Zellen
EANO	europäische Gesellschaft für Neuro-Onkologie
EGFR	Epidermal Growth Factor Rezeptor
EMG	Elektromyogramm
Fab	Fragment antigen binding
Fc	Fragment crystallisable
FISH	Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung
FSRT	fraktionierte stereotaktische Strahlentherapie
Gy	Gray
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HE-Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HIER	Heat-induced Antigen Retrieval
HRP	Horseradish-Peroxidase
IL	Interleukin
KHBW	Kleinhirnbrückenwinkel
LCS	Liquid Coverslip
LZTR-1	Leucine Zipper Like Post Translational Regulator 1
M-CSF	Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor
MET	Mesenchymal-Epithelial Transition Factor
MIB-1	Monoclonal Antibody, Immunglobulin B-1
MPNST	maligner peripherer Nervenscheidentumor
MPS	mononukleäre Phagozytensystem
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
N.	Nervus
NF1	Neurofibromatose Typ I
NF2	Neurofibromatose Typ II
NK	natürliche Killerzellen
NSAR	nicht-steroidale Anti-Rheumatika
NSCLC	Non-Small Cell Lung Cancer
PD-1	Programmed-Cell-Death-Protein 1
PGE2	Prostaglandin E2
PNS	Peripheres Nervensystem
RT	Raumtemperatur

SMARCB1	SWI/SNF-related Matrix-associated Actin-Dependent Regulator of Chromatin Subfamily B Member 1
SRS	stereotaktische Radiochirurgie
TAMs	Tumor-assoziierte Makrophagen
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor $\beta$
TH1	T-1-Helfer-Zellen
TMA	Tissue-Microarray
TME	Tumor-Mikroenvironment
Tregs	regulatorische T-Zellen
VEGF	Vaskular Endothelial Growth Factor
VS	Vestibularisschwannom
WHO	World Health Organization
ZNS	Zentrales Nervensystem

## **1. Einleitung**

Das Ziel dieser Arbeit ist es, durch immunhistochemische Analyse Unterschiede im Tumormikromilieu von Schwannomen verschiedener Lokalisationen zu finden. Dies kann einen Erklärungsansatz liefern, warum der kaliberschwache achte Hirnnerv verhältnismäßig häufig von den Neoplasien betroffen ist. Die Ursache hierfür ist bisher noch unklar. Eine Gegenüberstellung der Schwannom-Mikroumgebungen dient der Identifikation möglicher Faktoren, die mit der bevorzugten Lokalisation in Verbindung stehen. Schwannome unterschiedlicher Nerven wurden auf Immunzellinfiltrationen wie Makrophagen und T-Lymphozyten untersucht. Dabei wurden auch die Proliferationsrate und das entzündliche Infiltrat anhand der Cyclooxygenase 2 (COX2)-Expression analysiert.

### **1.1 Schwannome - Definition und Epidemiologie**

Schwannome sind überwiegend benigne (WHO Grad 1<sup>1</sup>) Neoplasien von peripheren Nervenscheidenzellen, sog. Schwann-Zellen ausgehend. Sie gehören zu den häufigsten peripheren Nerventumoren und können von jedem peripheren, kranialen oder autonomen Nerv des Körpers ausgehen.<sup>2,3</sup> Sie wachsen unkapselt entlang dem Verlauf eines peripheren Nervens und bleiben diesem üblich auch anhaftend.<sup>4</sup> Ihr Auftreten kann sporadisch sein, in Zusammenhang mit genetischen Faktoren stehen oder sehr selten als Folge therapeutischer Bestrahlungen entstehen. Die Inzidenz von Schwannomen beträgt ca. 2:100.000 pro Jahr.<sup>1</sup> Die Geschlechter sind in etwa gleich häufig betroffen, Kinder meist nur in Zusammenhang mit genetischen Erkrankungen. Sie wachsen sehr langsam, eine maligne Entartung ist selten.<sup>5</sup>

Häufigster Manifestationsort aller Schwannome ist der achte Hirnnerv, das Schwannom wird auch Vestibularisschwannom (VS) genannt.<sup>6</sup> Der achte Hirnnerv setzt sich aus dem N. cochlearis und dem N. vestibularis zusammen. Der N. vestibularis ist ein vergleichsweise feiner Nerv, insbesondere im Vergleich zu anderen Hirnnerven wie dem N. trigeminus.<sup>7</sup> Vestibularisschwannome entstehen aus dem N. vestibularis, während der N. cochlearis strukturell intakt bleibt, jedoch durch den Druck des Schwannoms Schaden nimmt.<sup>8</sup> Dies kann in Hörverlust und neurologischen Defiziten münden. Die meisten

Vestibularisschwannome sind unilateral. Bilaterale Schwannome treten in 10 % der Fälle bilateral auf, typischerweise beim Vorliegen einer Neurofibromatose Typ 2 (NF2).<sup>9</sup>

Nicht-Vestibularisschwannome entstehen sehr viel seltener aus anderen Nerven in der Kopf- und Halsregion oder an Streckseiten der Extremitäten.<sup>6</sup> Der Häufigkeitsgipfel dieser Schwannome liegt zwischen dem 40. und dem 60. Lebensjahr. Auch bei einer langsamen Wachstumsrate von 2,3-5,3 % pro Jahr können Nicht-Vestibularisschwannomein schnell symptomatisch werden.<sup>10,11</sup>

## **1.2 Ätiologie**

### ***1.2.1 Physiologie von Schwann-Zellen***

Schwann-Zellen sind die innersten Zellen der Nervenscheide, die aus drei miteinander verbundenen schlauchartigen Kompartimenten, dem Endoneurium, dem Perineurium und dem Epineurium besteht. Diese sind je um ein Axon des peripheren Nervensystems (PNS) gewickelt und bilden gemeinsam mehrere Faserbündel oder Faszikel.<sup>12</sup> Unabhängig von der Myelinisierung haben Schwann-Zellen eine wichtige trophische Funktion, um das oft weit vom Soma entfernte Axon zu erhalten.<sup>13,14</sup>

#### **1.2.1.1 Myelinisierung**

Die Hauptfunktion der Schwann-Zellen ist die Myelinisierung der Axone und somit die Ermöglichung der saltatorischen Erregungsleitung. Durch die Myelinisierung wird die Leitungsgeschwindigkeit stark erhöht, sodass die Übertragung elektrischer Signale mit hoher Geschwindigkeit auch in dünnen Axonen möglich ist.<sup>15</sup> Schwann-Zellen produzieren große Mengen Myelin als Ausstülpung ihrer Zellmembran, die sich mehrfach um ein Axonsegment wickelt. Dadurch entsteht eine dichte, isolierende Hülle, die die hoch spezialisierten Ranvier-Knoten voneinander trennt.<sup>16</sup>

### 1.2.2 Pathophysiologie

Die Entstehung von Schwannomen kann sowohl auf genetische als auch auf zelluläre Faktoren zurückgeführt werden. Eine der Hauptursachen auf genetischer Ebene ist die Mutation eines Gens, das als das *NF2*-Gen bekannt ist.<sup>17</sup> Neben genetischen Faktoren gewinnt das Tumor-Mikroenvironment (TME) zunehmend an Bedeutung bei der Entwicklung von Tumoren, einschließlich Schwannomen.<sup>18</sup>

#### 1.2.2.1 Genetische Faktoren

Schwannome weisen häufig auf molekularer Ebene eine Inaktivierung eines Tumorsuppressorgens auf. Grund dafür kann eine Deletion oder eine loss-of-function-Mutation des *NF2*-Gens sein. Bei sporadischen Schwannomen ist diese Mutation somatisch, also im Tumorgewebe, zu finden. Eine Keimbahnmutation liegt bei Neurofibromatose 2 vor.<sup>19,20</sup> Der Genlocus ist als 22q12.2 bekannt.<sup>21</sup> Das Gen codiert für ein Protein namens Merlin, ein Tumorsuppressorprotein.<sup>21,22</sup> Seine Funktion ist noch nicht abschließend geklärt, liegt aber vermutlich in der Verbindung von Zellmembran und Zytoskelett.<sup>18,21</sup> Es übt eine tumorsuppressive Funktion durch Regulation von Wachstumsfaktorrezeptoren und intrazellulärer Signalübertragung aus.<sup>17,23</sup> In Arealen mit hoher Zelldichte kann Merlin wachstumsfaktor-induzierte Signalwege (wie den Ras-Signalweg) inhibieren.<sup>17</sup> In Merlin-defizienten Schwann-Zellen ist dieses Phänomen nicht aktiv. So kommt es zu einer überschießenden Proliferation. In manchen malignen Tumorentitäten spielt die Merlin-Inaktivierung ebenfalls eine Rolle bei der Tumorgenese.<sup>24</sup> Die Entwicklung von Schwannomen erfordert die Inaktivierung beider *NF2*-Allele, da sich diese Tumore nur in Zellen entwickeln, die die Funktion ihres normalen *NF2*-Allels verloren haben.<sup>18</sup>

#### 1.2.2.2 Mechanische Faktoren

Schulz et al. konnten 2016 im Mausmodell zeigen, dass Schwannome häufig bei genetisch veränderten Mäusen mit *NF2*-Mutation in Schwann-Zellen auftreten. Hier reichte eine einmalige Nervenquetschung aus, um die Tumorbildung zu induzieren.<sup>25</sup> Es liegen also Anhaltspunkte dafür vor, dass Schwannome bevorzugt an Stellen auftreten,

die für Nervenschädigungen durch Kompression oder mechanisches Trauma anfällig sind.<sup>18</sup>

### 1.2.2.3 Tumormikromilieu

Zusätzlich zu den Veränderungen in den Schwann-Zellen selbst rücken immer mehr die angrenzenden Zellen und die Reaktionen der Umgebung von Schwannomen in den Fokus. Da histologisch in Schwannomen nicht nur Schwann-Zellen gefunden werden können, sondern Makrophagen, T-Zellen, Endothelzellen als auch perivaskuläre B-Zellen, liegt die Vermutung nahe, dass diese Zellen die Entstehung von Schwannomen ebenfalls beeinflussen können.<sup>18</sup> Die Einbeziehung des Mikromilieus von Tumoren, auch bekannt als Tumor-Mikroenvironment (TME) bietet zusätzliche Ansatzpunkte für die Erforschung der Tumorphogenese. Eine rein auf die Schwann-Zellen ausgerichtete Pathogenese der Schwannom-Entstehung könnte angesichts der Bedeutung des Mikroenvironments der Tumore nicht ausreichend sein. In Kapitel 1.9 wird ausführlich auf das TME eingegangen. Vor diesem Hintergrund liegt ein zentraler Schwerpunkt dieser Arbeit auf der immunhistochemischen Charakterisierung und der vergleichenden Analyse des TME von Schwannomen vestibulären und nicht-vestibulären Ursprungs.

## 1.3 Symptome

### 1.3.1 Extrakranielle, extraspinale Schwannome

Das Erstsymptom ist meist eine schmerzlose Schwellung. In der Regel beträgt der Durchmesser der Schwannome weniger als drei Zentimeter. Klinisch auffällig werden Schwannome durch Kompression umliegender Strukturen, wie beispielsweise Nervenwurzeln.<sup>3</sup> Treten Schwannome in Lokalisationen auf, in welchen sie sich ungehindert ausbreiten können, erreichen sie oft erhebliche Größe, bevor sie durch Druck auf Nervenwurzeln, Blutgefäße und Organparenchym symptomatisch werden. Dazu gehören Schmerzen, Durchblutungsstörungen oder organspezifische Beschwerden.<sup>26</sup> Häufig ist der betroffene periphere Nerv deformiert.<sup>5</sup> Bei Auftreten im jungen Lebensalter

und vor allem bei Nachweis multipler Neurinome muss stets an das Vorliegen einer NF2 gedacht werden.

### ***1.3.2 Spinale Schwannome***

Spinale Schwannome stellen 29 % aller primären spinalen Tumore dar.<sup>27</sup> Sie können intradural, extradural und auf allen Wirbelkörperhöhen vorkommen. In 70-75 % der Fälle liegen spinale Schwannome intradural-extramedullär, in 15 % vollständig extradural und in 15 % sowohl intra- als auch extradural. Am häufigsten manifestiert sich das spinale Schwannom im lumbosakralen Bereich.<sup>28</sup> Intraspinale Schwannome führen in erster Linie durch die Kompression von Nervenwurzeln zu radikulären Schmerzen und können durch Affektion des Rückenmarks eine Myelopathie bis zu einer ausgeprägten Querschnittslähmung verursachen.<sup>26,27</sup>

### ***1.3.3 Schwannome von Hirnnerven***

Im Folgenden sollen Schwannome, die an anderen Hirnnerven als dem achten entstehen, beschrieben werden. Vestibularisschwannome werden in Absatz 1.4 besprochen, da sie sich aufgrund ihrer Anatomie, ihrer Symptome und den Behandlungsmöglichkeiten von Nicht-Vestibularisschwannomen unterscheiden. Zentrale Hirnnerven wie der erste und zweite Hirnnerv (Nervus (N.) olfactorius und N. opticus) besitzen aufgrund ihrer Zuordnung zum ZNS keine Schwann-Zellen und können somit keine Schwannome entwickeln.<sup>29</sup>

Der fünfte Hirnnerv (N. trigeminus) ist in 0,8 - 8 % der Fälle betroffen. Der intrakranielle Verlauf des Nervs zieht durch den Hirnstamm, durch die präpontine Zisterne und tritt in die mittlere Schädelgrube ein. Anschließend verläuft er in einem mit Dura ausgekleidetem Sinus, dem Cavum Meckeli, und bildet hier das Ganglion trigeminale. Es erfolgt die Aufteilung in die drei Hauptäste, wovon zwei durch den Sinus cavernosus ziehen.<sup>30</sup> Die Tumore entstehen fast immer an einem der sensorischen Faszikel oder der Wurzel des Nervs, daher ist ein langsam progredientes Taubheitsgefühl im Gesicht das häufigste Symptom.<sup>31,32</sup> Gelegentlich tritt auch eine Trigeminalneuralgie auf.<sup>32</sup> Durch die

Kompression des Nervus abducens im Sinus cavernosus kann es zu Diplopie oder bei ausgeprägter Schädigung zu einer Blickparese kommen.<sup>31,33</sup>

Die Inzidenz für ein Fazialisschwannom (Schwannom des siebten Hirnnervens) liegt bei 0,15 – 0,8 %. Klinisch auffällig wird es meist durch die Dysfunktion des N. facialis, beispielsweise ein hemifazialer Spasmus, auf den eine Gesichtslähmung folgt.<sup>34</sup> Bei Auftreten am Kleinhirnbrückenwinkel ist die Symptomatik durch Hörstörungen, Gleichgewichtsstörungen und eine meist später auftretende Fazialisparese gekennzeichnet.<sup>27</sup> Da aufgrund der anatomischen Nähe häufig der achte Hirnnerv mitaffektiert ist, kann es auch zu einer Hörminderung oder einem Tinnitus kommen.<sup>35,36</sup>

Schwannome im Bereich der hinteren Schädelgrube zeigen primär Symptome wie Taubheit, Schwindel und Ataxie, also ähnlich wie Vestibularisschwannome. Schwannome im Bereich des Foramen Jugulare, wie beispielsweise Glossopharyngeusschwannome, Vagusschwannome oder Accessoriuschwannome können Symptome wie Heiserkeit oder Würgereizabschwächung zeigen. Ebenso kann es zu Paresen der Schultergürtelmuskulatur wie dem M. Trapezius kommen.<sup>33</sup>

## **1.4 Besonderheit: Vestibularisschwannom**

### ***1.4.1 Epidemiologie***

Interessanterweise ist der Großteil aller Schwannome am achten Hirnnerven (N. vestibulocochlearis) zu finden und wird dort Vestibularisschwannom (VS), auch Akustikusneurinom (AKN) genannt. Die Tumore gehen vom vestibulären Anteil des N. vestibulocochlearis aus und machen 85 % der intrakraniellen Tumore aus, die im Kleinhirnbrückenwinkel (KHBW) entstehen.<sup>37</sup> Insgesamt machen VS etwa 8 % aller intrakraniellen Tumore aus, mit einer Inzidenz von über 5.000 Fällen pro Jahr.<sup>9,38</sup> Für die Einteilung wird in der Neurochirurgie Tübingen die Hannover-Klassifikation verwendet.<sup>39</sup> Diese wird in Tabelle 1 erläutert. Die Hannover-Klassifikation baut auf der internationalen Koos-Klassifikation auf. Hier werden Vestibularisschwannome ebenfalls in vier Grade eingeteilt, abhängig von Tumorgöße und dem Ausmaß der Kompression benachbarter Strukturen.<sup>40</sup>

Tabelle 1: Hannover-Klassifikation für Vestibularisschwannome, 1997 erstellt von Samii und Matthies

<b>T1</b>	Rein intrameatale Ausdehnung
<b>T2</b>	Extrameatale Ausdehnung des Tumors, aber ohne Hirnstammkontakt oder Ausfüllung der Kleinhirnzisterne
<b>T3a</b>	Tumor füllt die Kleinhirnzisterne aus, hat aber keinen Kontakt zum Hirnstamm
<b>T3b</b>	Tumor füllt die Kleinhirnzisterne aus und berührt den Hirnstamm ohne Kompression oder Verdrängung
<b>T4a</b>	Tumor berührt und komprimiert den Hirnstamm, aber ohne Kompression des vierten Ventrikels
<b>T4b</b>	Der Tumor komprimiert den Hirnstamm erheblich mit Kompression des vierten Ventrikels; mit oder ohne begleitenden Hydrocephalus

Die Mehrzahl der Tumore beschränkt sich auf eine Seite. Ein bilateraler Befall des achten Hirnnervens tritt in weniger als 5 % der Fälle auf und ist nahezu beweisend für die NF2. Bei Erstmanifestation sind die Betroffenen meistens zwischen 20 und 40 Jahren alt, NF2-Patient\*innen sind deutlich jünger.<sup>41</sup>

#### 1.4.2 Ätiologie

Neben genetischen Faktoren und Faktoren, die das Mikromilieu des Tumors betreffen, wie bereits in Kapitel 1.2.2 besprochen, wird auch eine chronische Lärmbelastung als Risikofaktor für die Entwicklung eines sporadischen VS diskutiert.<sup>42,43</sup> Über die Beziehung zwischen der Nutzung von Mobiltelefonen und dem Auftreten von Vestibularisschwannomen sind verschiedene Arbeiten veröffentlicht worden.<sup>44-47</sup> Hier sind sich die Autor\*innen einig, dass es keine Verbindung zwischen der Nutzung eines digitalen Telefons über einen Zeitraum von weniger als 10 Jahren und dem Auftreten eines Tumors gibt. Bei einer Nutzungsdauer von über 10 Jahren waren die Stichproben zu klein, um einen signifikanten Zusammenhang nachzuweisen.<sup>48</sup>

#### 1.4.3 Symptome

Symptome als auch Diagnostik und Therapie sind im Folgenden auf die Besonderheiten bezogen, die bei VS auftreten. Unter 1.8 werden generelle Therapieprinzipien besprochen.

Frühsymptome lassen sich häufig durch das expansive Wachstumsmuster von VS erklären. Durch Ausbreitung des VS im inneren Gehörgang kommt es zur Kompression des N. vestibulocochlearis.<sup>49</sup> Bei 94 % der Patient\*innen ist so das führende Beschwerdebild eine zunehmende einseitige Schwerhörigkeit, vor allem im Hochtonbereich.<sup>50</sup> Die Erstvorstellung erfolgt häufig aufgrund des Hörverlustes, sodass audiometrische Verfahren wie Ton- und Sprachaudiometrie, Otoskopie und eine orientierende Untersuchung der Hirnnerven vorgenommen werden.<sup>51</sup> Ein Tinnitus tritt in 83% der Fälle auf.<sup>52</sup> Die Häufigkeit des Vorkommens von vestibulären Symptomen wie Schwindel und Schwankschwindel variiert stark (17 - 75 % der Patient\*innen).<sup>52</sup> Hier klagen Betroffene häufig über eine Gangunsicherheit, die in der Dunkelheit zunimmt.<sup>53</sup> Weitere neurologische Symptome sind Kopfschmerzen, bei größeren Tumoren kann auch ein Hydrocephalus auftreten. Beeinträchtigungen der Funktion des Trigeminus- und Fazialisnerven aufgrund der anatomischen Nähe dieser Nerven zum achten Hirnnerv kommen ebenfalls vor.<sup>51</sup>

#### ***1.4.4 Diagnostische Bildgebung***

Die Bildgebung mittels Magnetresonanztomographie (MRT) gilt als die Methode der Wahl für die Diagnose als auch für die Verlaufsbeurteilung. Goldstandard dabei ist die kontrastverstärkte T1-gewichtete Aufnahme.<sup>54</sup> Die Europäische Gesellschaft für Neuro-Onkologie (EANO) empfiehlt zusätzlich auch T2-gewichtete Aufnahmen zum Ausschluss von Differentialdiagnosen wie Pathologien des Hirnstamms, Multipler Sklerose (MS) oder anderer Tumore.<sup>52</sup> Das VS zeigt sich in der T1-gewichteten Aufnahme regelhaft isointens mit starker Gadoliniumanreicherung nach Kontrastmittelgabe. Bei T2-gewichteter Bildgebung stellt sich die Läsion meist heterogen hyperintens dar, während große Tumore hämorrhagische Bereiche und verstreute zystische degenerative Veränderungen aufweisen können.<sup>52</sup> Im Falle einer OP-Planung muss zur Bewertung der Anatomie des Felsenbeins auch die Computertomographie (CT) hinzugezogen werden.<sup>8</sup>

In der MRT-Bildgebung imponiert das VS üblicherweise als gut abgrenzbare Läsion mit einer intrakanalikulären Komponente im inneren Gehörgang, welche häufig zu einer

Aufweitung des Kanals führt. Kleinere Läsionen sind meist auf den inneren Gehörgang beschränkt, während größere Läsionen in die Kleinhirnzisterne hineinragen können.<sup>52</sup>

### **1.4.5 Therapie**

Für die Therapie gibt es verschiedene Ansätze. Dazu zählen die Observation, die chirurgische Exzision und die Radiotherapie. Jedes VS bedarf einem individuellen Therapiekonzept, welches anhand von Faktoren wie Größenausdehnung, Wachstumsgeschwindigkeit, anatomische Lage, Klinik und Leidensdruck der Betroffenen entschieden werden soll.<sup>50,55</sup>

#### **1.4.5.1 Konservativ**

Der konservative Therapieansatz beschreibt die Observation, auch „watch and scan“ genannt. Die Beobachtung mit seriellen MRT-Scans und audiometrischem Monitoring bietet sich aufgrund der benignen Entität und der langsamen Wachstumsrate bei sporadischen, asymptomatischen VS an.<sup>55</sup> Empfohlen werden regelmäßige MRT-Kontrollen im Rahmen von initial sechs Monaten, danach jeweils 18 und 30 Monate nach Diagnosestellung. Eine lebenslange Nachsorge wird mit einer MRT alle fünf Jahre empfohlen.<sup>56</sup> Ziel ist hier, das Tumorwachstum zu überwachen, sodass, wenn nötig, ein Therapiewechsel vorgenommen werden kann. Allerdings gibt es kaum klinische Parameter, die das Wachstum des Tumors vorhersagen können.<sup>57</sup> Ein Hinauszögern der Therapie scheint kein erhöhtes Mortalitätsrisiko mit sich zu bringen.<sup>58</sup> Schnell (>2 mm/Jahr) und kontinuierlich wachsende (1-2 mm/Jahr) Tumore sollten einer Therapie unterzogen werden, bevor größere Tumorstadien vorliegen. Diese sind häufig mit einem höheren Morbititätsrisiko sowie mit schwereren Nebenwirkungen durch Kompression auf die umliegenden Strukturen assoziiert.<sup>53</sup>

#### **1.4.5.2 Operativ**

Ziel einer Resektion sollte ein Funktionserhalt der betroffenen Nerven ebenso wie die vollständige oder nahezu vollständige Tumorentfernung sein, da das verbleibende Tumolvolumen mit dem Rezidivrisiko korreliert.<sup>59</sup> Einige Arbeiten deuten darauf hin,

dass die Erfahrung des Operationsteams das Ergebnis beeinflussen kann. Daher wird empfohlen, Zentren mit einer hohen Anzahl an durchgeführten Behandlungen für die operative Therapie von VS in Betracht zu ziehen.<sup>60-62</sup>

Das chirurgische Prinzip der Tumorexstirpation ist zunächst die Tumolvolumenreduktion. Dies kann rein mechanisch oder koagulationsunterstützt mit bipolaren Ringzangen, ultraschallgestützt oder mit einem CO<sub>2</sub>-Laser erfolgen.<sup>50</sup>

Es gibt verschiedene chirurgische Zugangswege. Das Rezidivrisiko ebenso wie die Mortalität (0,2 - 0,5 %<sup>63</sup>) unterscheiden sich nach Sughrue et al. nicht zwischen den chirurgischen Zugängen.<sup>64</sup> Der operative Zugang kann translabyrinthär, transtemporal oder subokzipital (=retrosigmoidal) gewählt werden, siehe hierzu Abbildung 1. Mithilfe eines konstant laufenden Elektromyogramms (EMG) am siebten Hirnnerven kann intraoperativ überwacht werden, ob gerade Manipulation an diesem stattfindet. So kann ein Funktionserhalt des Fazialisnerven in vielen Fällen erreicht werden.<sup>65</sup>

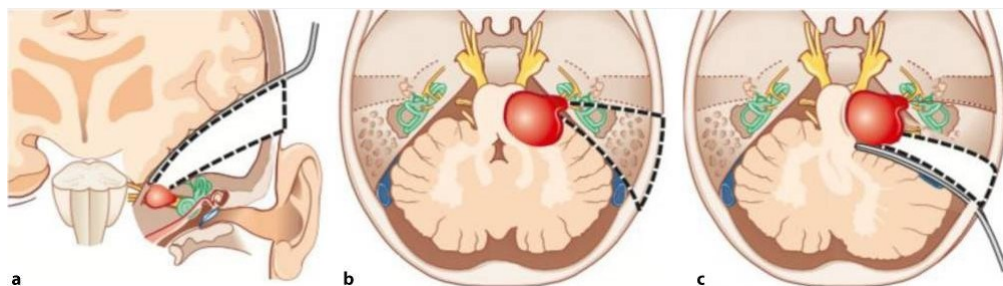


Abbildung 1: Chirurgische Zugangswege bei VS. Aus: Yildiz, Dahm et al. Wien Med Wochenschrift (2022)  
a: Transtemporaler Zugang; b: translabyrinthärer Zugang; c: subokzipitaler Zugang.

#### 1.4.5.3 Nebenwirkungen und Komplikationen

In erfahrenen Zentren ist die Resektion von Schwannomen mit einem niedrigen Komplikationsrisiko verbunden (<3 % für zerebelläre Funktionsstörungen oder Ischämien).<sup>66</sup> Der Hörerhalt liegt postoperativ bei 50–75 %, hängt aber von präoperativer Hörfunktion und Tumorgöße ab.<sup>67</sup> Translabyrinthäre Zugangswege sind immer mit einem kompletten Hörverlust verbunden.<sup>66</sup> Temporäre Fazialispareesen bilden sich meist vollständig zurück (>90 % in 12 Monaten), während das Risiko für persistierende Paresen je nach Zentrumserfahrung variiert (3 – 46 %).<sup>68-70</sup> Körperliche Einschränkungen können

die Rückkehr in den Alltag und an den Arbeitsplatz verzögern, was finanzielle und psychische Folgen haben kann.<sup>71</sup>

#### 1.4.5.4 Radiotherapie

Zur Behandlung von VS können verschiedene strahlentherapeutische Verfahren zur Anwendung kommen: die stereotaktische Radiochirurgie (SRS), die fraktionierte stereotaktische Strahlentherapie (FSRT) und die Protonenstrahltherapie.<sup>51</sup> SRS und FRST werden am häufigsten eingesetzt, da die Protonenstrahltherapie nur in begrenztem Umfang zur Verfügung steht und ihre Wirksamkeit nur unzureichend belegt ist.<sup>72</sup>

SRS bezeichnet die Verabreichung einer hochdosierten Bestrahlung von etwa 12 - 18 Gray (Gy) mit hoher Präzision in einer einzigen Fraktion und wird üblicherweise bei kleinen bis mittelgroßen VS eingesetzt.<sup>52</sup> Bei der FSRT sind mehrere Bestrahlungssitzungen vonnöten, die Gesamtdosis beträgt etwa 30 – 50 Gy und wird in kleinen Fraktionen von 1,8 – 2 Gy verabreicht. Die Aufteilung der Gesamtdosis in kleine Fraktionen bei der FRST beruht hauptsächlich darauf, die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, die Tumorzellen während der empfindlichsten Phase ihres Zellzyklus zu schädigen. Im Gegensatz dazu wird bei der SRS eine einzelne hohe Strahlendosis verabreicht, die möglicherweise auch Tumorzellen in der nicht teilenden Phase erreicht. Beide Therapieoptionen erzielen ähnliche Raten der Tumorkontrolle.<sup>73</sup>

Nebenwirkungen sind wie bei der chirurgischen Therapie Paresen und die Hypakusis. Zahlreiche Autor\*innen haben festgestellt, dass der wichtigste Prädiktor für den funktionellen Hörerhalt die Qualität des Gehörs zum Zeitpunkt der Radiochirurgie ist.<sup>74</sup>

<sup>77</sup> In einem Cochrane-Review randomisierter, kontrollierter Studien kamen die Autor\*innen zu dem Schluss, dass weder die chirurgische Behandlung noch die Radiotherapie eine klare Überlegenheit gegenüber der jeweils anderen Therapieoption für die Behandlung von Vestibularisschwannomen zeigen.<sup>78</sup>

Die Strategie bei kleinen, asymptomatischen und unilateralen VS lautet anhand der EANO die Observation. Die Größeneinteilung wurde anhand der Koos-Klassifikation getroffen. Bei kleinen VS mit teilweisem oder vollständigem Hörverlust wird die SRS empfohlen. Für mittelgroße VS können sowohl SRS als auch die operative Therapie

empfohlen werden, wobei das Risikoprofil der SRS niedriger ist, während die chirurgische Resektion eine vollständige Entfernung des Tumors bieten kann. Große VS sind häufig schon lokal weit fortgeschritten und komprimieren den Hirnstamm, sodass eine operative Entfernung häufig die einzige Therapieoption ist.<sup>52</sup>

#### 1.4.5.5 Systemische Therapie

Die systemische Therapie hat bei sporadischen VS keinen Stellenwert. Aktuell stehen auch COX-Inhibitoren im Fokus der Forschung. Es besteht die Hoffnung, dass sie eine hemmende Wirkung auf das Wachstum von Schwannomen ausüben könnten. Mehr dazu siehe Kapitel 1.10.4.

Bei NF2-assoziierten VS kann der monoklonale Antikörper Bevacizumab zur Anwendung kommen (siehe 1.6.4 Therapie).

#### **1.4.6 Morbidität**

Aufgrund der benignen Entität und des langsamen Wachstums von VS bestehen die Einschränkungen von Betroffenen hauptsächlich in den oben genannten Symptomen. Die Lebensqualität wird am häufigsten durch Energiemangel, Kopfschmerzen, Hörstörungen und Gleichgewichtsproblemen beeinflusst.<sup>76,79</sup> Auch Angstzustände gehören zu den Faktoren, die das Wohlbefinden einschränken.<sup>79</sup> Ein Prädiktor für die Lebensqualität von VS-Patient\*innen scheint die Tumorgröße zu sein. Durch regelmäßige Untersuchungen sollen Wachstumsgeschwindigkeit und -tendenz beobachtet, um daraufhin einen Therapiewechsel in Erwägung zu ziehen.<sup>76</sup>

Viele Tumore, die in den ersten fünf Jahren nach Diagnosestellung kein Wachstum vorweisen, wachsen in den darauffolgenden Jahren auch nicht weiter.<sup>80</sup> Die Wahrscheinlichkeit eines Tumorprogresses verringert sich mit zunehmender Zeit.<sup>52</sup> Zur Prognose von VS siehe Kapitel 1.8.2.

## **1.5 Weiterführung Schwannome im Allgemeinen: Diagnostik**

Der Begriff „Nervenscheidentumor“ umfasst mehrere pathologische Entitäten, unter anderem Schwannome, Neurofibrome, Perineurome, traumatische Neurome und maligne periphere Nervenscheidentumore.<sup>4</sup> Zur genaueren Differenzierung ist eine Biopsie mit immunhistochemischer Aufarbeitung nötig, da allein die Klinik und die Bildgebung nicht unter den verschiedenen Entitäten zu unterscheiden vermag.<sup>81</sup> Ebenso ist es nicht möglich, aus dem histologischen Bild eines Schwannoms eine Assoziation mit Tumorsyndromen oder mit dem Ort der Manifestation abzuleiten.

### ***1.5.1 Makroskopische Pathologie***

Makroskopisch imponieren Schwannome als unkapselte, rundliche Tumore mit einem Durchmesser von in der Regel wenigen Zentimetern. Die Schnittfläche stellt sich fleckig hellbraun bis hellgelb dar, bei größeren Tumoren können Zysten und Blutungen vorkommen. Nekrosen sind meist keine zu finden.<sup>27</sup> Die Tumore sind meistens zellreich, solide und verdrängend wachsend. In der Regel sind diese extraneural lokalisiert und können aus diesem Grund gut reseziert werden. Es gibt jedoch auch intraneurale Tumore mit multinodulärem Wachstum, die schlecht abgrenzbar sind und deren Entfernung nicht ohne neurologische Ausfälle möglich ist.<sup>82</sup>

### ***1.5.2 Mikroskopische Pathologie***

S-100 ist ein saures Protein, das viele Tumore des zentralen und peripheren Nervensystems markiert, unter anderem Glioblastome, Neuroblastome, Neurofibrome und Schwannome.<sup>83</sup> Es wird für den diagnostischen immunhistochemischen Nachweis von Schwannomen verwendet.<sup>27</sup>

Histologisch weisen Schwannome spindelförmige Schwann-Zellen mit plumpen, länglichen, teilweise zigarrenförmigen Zellkernen auf. Die Zellen sind zum Teil wirbelförmig angeordnet. Der Tumor kann in zwei Hauptbereiche unterteilt werden: Benannt nach dem schwedischen Neurologen Antoni sind kompakte, zellreiche und spindelzellige Tumorareale zu finden.<sup>4</sup> Diese werden Antoni-A-Areale genannt. Hier wechseln sich palisadenähnlichen Zellverbände mit länglichen Kernen mit kernlosen

Arealen ab.<sup>18</sup> Diese sogenannten Verocay-Bodies, benannt nach dem Pathologe Jose Juan Verocay sind meist in Antoni-A-Arealen zu finden, stellen aber kein pathognomonisches Merkmal dieser dar.<sup>4</sup> Eine Basalmembran ist in den Antoni-A-Arealen beinahe ubiquitär zu finden. Sie wird von Schwann-Zellen jeder Entwicklungsstufe produziert und besteht aus reichlich Laminin, was ebenfalls zur dichten Organisation der Zellen in den Antoni-A-Arealen beiträgt.<sup>4</sup>

Daneben sind Areale zu finden, die eine eher aufgelockerte Zellstruktur bieten. Diese Areale werden Antoni-B-Areale genannt. Es sind neben mikrozystischen und netzartigen Elementen auch hyalinisierte Gefäßstrukturen zu finden.<sup>4,5</sup> Die Zellen befinden sich teilweise in Abstand zueinander, dazwischen mit basophilen Muzinen gefüllte Aussparungen.<sup>4</sup> In den Antoni-B-Arealen ist, verglichen mit anderen Neoplasien, in vitro ebenfalls eine gesteigerte Angiogenese zu erkennen. Zudem können akute und chronische Thromboembolien, Hämorrhagien und Nekrosen beobachtet werden.<sup>4</sup> Vereinzelt können Segmente einer Basalmembran gefunden werden. Eine verminderte S-100-Positivität verglichen mit den Antoni-A-Arealen und Fibrinstränge weisen darauf hin, dass Antoni B-Areale degenerierte Antoni-A-Areale darstellen können.<sup>4,18</sup> Im Zuge dieses Übergangs wurde an der Grenze von beiden Arealen zueinander die höchste Proliferationsindizes als auch ausgeprägte Infiltration von Makrophagen gefunden.<sup>84</sup> In konventionellen Schwannomen stehen beide Areale miteinander im Gleichgewicht.<sup>82</sup>

In der Regel sind keine Mitosen nachweisbar. Teilweise sind auch Zeichen regressiver Veränderungen zu sehen, unter anderem Kernpleomorphien. Dies ist in Zusammenschau mit der geringen Mitoserate kein anaplastisches Merkmal, sondern ein Zeichen degenerativer Veränderung.<sup>3,82</sup>

Eine weitere Einteilung kann in zelluläre und plexiforme Schwannome geschehen. Auch Mischformen wie Hybridnervenscheidentumore, mit Anteilen aus Neurofibromen und Schwannomen, sind bekannt.<sup>85</sup> Alle diese Formen sind dem WHO Grad 1 zuzuordnen.<sup>1</sup> Als zellreiche Schwannome werden Tumore klassifiziert, die eine deutlich erhöhte Zellzahl aufweisen und ein faszikuläres, geflechtartiges oder uncharakteristisches Bild zeigen. Ebenso liegen oft eine erhöhte mitotische Aktivität und gelegentlich ein lokales destruktives Wachstumsverhalten vor. Bei dieser Form finden sich keine Verocay-Bodies.<sup>86</sup> NF2- oder Schwannomatose-assoziierte Schwannome zeigen oft ein

plexiformes Wachstumsmuster.<sup>87</sup> Hier fällt ein multinoduläres Wachstumsmuster auf, was oft an ein Neurofibrom erinnert.<sup>88</sup>

### ***1.5.3 Bildgebende Diagnostik***

Die MRT ist wie auch bei dem VS das diagnostische Mittel der Wahl bei einem Verdacht auf ein Schwannom. Diese zeigen sich im MRT mit einem glatt definierten Rand und einer runden Form. Seltener sind Verkalkungen oder zystische Veränderungen zu erkennen.<sup>10</sup> Ein Eindringen in benachbarte Strukturen wird selten beobachtet. Gelegentlich kommt es zum Ausdehnen durch Austrittsforamen von Spinalnervenzwurzeln.<sup>10</sup> Schwannome zeigen nach Kontrastmittelgabe eine in der Regel homogene Kontrastmittelanreicherung in den soliden Anteilen des Tumors.<sup>6</sup> In T2-gewichteten Aufnahmen ist häufig das sogenannte Target-Sign mit zentraler Hypointensität und peripherer Hyperintensität zu sehen,<sup>6</sup> bei T1-gewichteten Bildern imponiert eine intermediäre Signalintensität, die der von Muskeln ähnelt.<sup>12</sup>

### ***1.5.4 Malignitätstransformation***

#### ***1.5.4.1 Maligner peripherer Nervenscheidentumor (MPNST)***

In seltenen Fällen können Schwannome und Neurofibrome maligne entarten. Die meisten MPNST entstehen jedoch direkt als maligne Tumore und selten aus primären Schwannomen.<sup>27</sup> Bei Schwannomen findet bei lediglich unter 1 % der Fälle eine maligne Transformation statt und diese finden sich hauptsächlich bei Patient\*innen mit Neurofibromatose 1 (NF1).<sup>2,27</sup> Dennoch stellen MPNSTs insgesamt 5 – 10 % aller Weichteilsarkome dar. Die Prognose der MPNSTs ist ungünstig mit einer lokalen Rezidivrate von etwa 50 % nach radikaler Exzision und einer Fernmetastasierungsrate von 40 – 80 %.<sup>27</sup> Fernmetastasen treten meist in Lunge, Leber und Hirn auf.<sup>4</sup> Die 5-Jahres-Überlebensrate wird in der Regel mit etwa 50 % angegeben, wobei die Prognose für Patient\*innen mit Neurofibromatose und Patient\*innen mit strahleninduziertem MPNST noch deutlich schlechter ist.<sup>89</sup> Ein Risiko von Strahlentherapie ist die Induktion sekundärer Neoplasmen, hier sind vor allem Patient\*innen mit NF1 von

strahleninduziertem MPNSTs betroffen.<sup>90</sup> Es gibt allerdings auch Berichte von nicht an Tumorsyndromen erkrankten Patient\*innen, die unter strahleninduzierten Schwannomen litten.<sup>91</sup>

Früher wurden auch sogenannte melanotische Schwannome zu der Gruppe der Schwannome gezählt. Sie zeigten eine ungünstigere Prognose und verliefen in ca. 10% der Fälle maligne.<sup>82</sup> Die WHO hat diese Gruppe 2021 zu einer eigenen Entität zusammengefasst: die malignen melanotischen Nervenscheidentumore. Sie zeigen eine gesteigerte Rezidivierungs- und Metastasierungsneigung. Genexpressionsprofile haben gezeigt, dass sich diese Tumore von konventionellen Schwannomen als auch vom Melanomen unterscheiden.<sup>92</sup>

## 1.6 Neurofibromatose Typ 2

### 1.6.1 Epidemiologie und Ätiologie

NF2 ist ein autosomal dominant vererbtes Tumorsyndrom, das eine Prädisposition für multiple Tumore des Nervensystems, vorwiegend Schwannome, Meningeome und Ependymome, aufweist.<sup>93</sup> Die Inzidenz beträgt 1:25.000 bis zu 1:40.000.<sup>1,94</sup> Die zugrundeliegenden genetischen Veränderungen betreffen das *NF2*-Genprodukt Merlin, ein zellmembranbezogenes Protein, das tumorsuppressive Eigenschaften hat.<sup>21</sup> Die Funktionen von Merlin wurden schon in Kapitel 1.2.2.1 beschrieben. Bei Erkrankung an NF2 liegt eine Keimbahnmutation vor.<sup>19,20</sup>

Bei Vererbung kommt es zu einer sehr hohen Penetranz von bis zu 95 %.<sup>93</sup> Bei etwa 50 % der Fälle treten De-Novo-Mutationen auf,<sup>95</sup> diese finden nach der Befruchtung statt und führen zu zwei Zelllinien: einem genetischen Mosaik.<sup>95</sup> Der Anteil der betroffenen Zellen hängt davon ab, wie früh die Mutation in der Entwicklung auftritt. Betroffene mit einer Mosaikform haben häufig einen mildereren Krankheitsverlauf als Patient\*innen mit einer Keimbahnmutationen, allerdings ist hier auch die molekulare Diagnostik erschwert.<sup>96-98</sup>

### 1.6.2 Symptome

Die Erkrankung manifestiert sich klinisch bereits um das 20. Lebensjahr. In 90 – 95 % treten bilaterale VS<sup>93</sup> und in bis zu 50 % Schwannome anderer Hirnnerven auf.<sup>19</sup> Meningeome kommen in 50 – 60 % der Fälle vor,<sup>99</sup> Ependymome in ca. 6 %, <sup>100</sup> Spinale Tumore in 60 – 90 %.<sup>93</sup> Trotz des Namens sind Neurofibrome selten.<sup>19</sup> Ebenfalls kann es zu Augenläsionen wie einem Katarakt, epiretinalen Membranen und Netzhaut-Hamartomen kommen.<sup>101</sup> Neoplastische Hautmanifestationen können sich ebenfalls präsentieren.<sup>93</sup> Durch die beidseitigen VS sind als klinische Beschwerde häufig Symptome wie Tinnitus, Gleichgewichtsstörungen oder ein schleichender Hörverlust führend.<sup>100</sup> Patient\*innen mit NF2 leiden unter multiplen Tumoren, die durch Druck auf den Hirnstamm mit einer höheren Mortalität verbunden sind.<sup>102</sup> Bei Auftreten im Kindesalter verläuft die Erkrankung häufig schwerer. Hier kommen noch Symptome einer Mononeuropathie hinzu, die bei Kindern zu einer Poliomyelitis-ähnlichen Verlaufsform mit Muskelw Schwund führen kann.<sup>19</sup> Auch im Erwachsenenalter können schwere, fortschreitende und letal verlaufende Polyneuropathien auftreten.<sup>93</sup>

### 1.6.3 Diagnostik

Für die klinische Diagnose der NF2 stehen die Manchester-Kriterien zur Verfügung. Die bildgebenden und histologischen Verfahren unterscheiden sich nicht von denen sporadischer Tumore. Für die Diagnosekriterien siehe Tabelle 2.

Tabelle 2: Diagnosekriterien von NF2 der National Institutes of Health<sup>19,93</sup>

Diagnosekriterien NF2 der National Institutes of Health
Erkrankung gesichert (Manchester-Kriterien):
• Bilaterale VS
• Positive Familienanamnese für NF2 (Verwandte ersten Grades) <b>und</b> unilaterales VS
• Positive Familienanamnese für NF2 (Verwandte ersten Grades) <b>oder</b> unilaterales VS <b>und</b> mind. zwei der folgenden Merkmale: Meningeom, Gliom, Neurofibrom, Schwannom, Katarakt
• Multiple Meningeome (2 oder mehr) <b>und</b> mind. zwei der folgenden Merkmale: Unilaterales VS, Gliom, Neurofibrom, Schwannom, Katarakt

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Konstitutionelle oder mosaikartige pathogene NF2-Genmutation im Blut oder identische Mutationen in 2 verschiedenen Tumore</li> </ul>
Erkrankung möglich oder wahrscheinlich:
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Unilaterale VS und mind. eines der folgenden Merkmale: Meningeom, Gliom, Schwannom, Katarakt</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zwei Meningeome und VS oder mind. Eines der folgenden Merkmale: Gliom, Neurofibrom, Schwannom, Katarakt</li> </ul>

Mutationen im *NF2*-Gen Merlin lassen sich im Blut bei über 90 % aller Patient\*innen mit positiver Familienanamnese nachweisen. Bei de novo Mutationen kann die Mutationsanalyse weniger eindeutig ausfallen. In diesen Fällen sollte die genetische Analyse von Tumorgewebe erfolgen.<sup>97</sup>

#### **1.6.4 Therapie**

Eine kausale Therapie für NF2 gibt es nicht. Die symptomatische Therapie besteht wie bei VS und Schwannomen anderer Lokalisationen ebenfalls aus der chirurgischen Resektion und einer möglichen Systemtherapie mit dem Ziel, das Hörvermögen zu erhalten. Bei Patient\*innen mit NF2 kann der monoklonale Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)-Antikörper Bevacizumab zur Anwendung kommen.<sup>52</sup> VEGF als Vermittler von Angiogeneese ist einer der Komponenten, die im Tumormikroenvironment (TME) das Tumorstadium fördern können.<sup>103</sup> Der Antikörper findet ergänzend zur chirurgischen Resektion oder der Strahlentherapie Anwendung. Bevacizumab wurde erfolgreich bei Patient\*innen mit progredientem VS im Zusammenhang mit NF2 eingesetzt. Es konnten eine Verbesserung des Hörvermögens und in der Bildgebung ein bis zu 20 % reduziertes Tumorstadium beobachtet werden.<sup>104</sup> Eine Studie aus dem Jahr 2019 beschrieb, dass es bei 41 der behandelten Patient\*innen zu einer Rückbildung der Tumore kam, 20 % eine Verbesserung des Hörvermögens erfuhren und bei 69 % keine weitere Verschlechterung des Hörvermögens auftrat.<sup>105</sup> Als unerwünschte Wirkungen können eine arterielle Hypertonie, eine Proteinurie und Infektionen auftreten.<sup>105</sup>

## 1.7 Schwannomatose

### 1.7.1 Epidemiologie und Ätiologie

Schwannomatose ist ebenfalls ein genetisches Syndrom, mit einer Inzidenz von etwa 1:69.000,<sup>1,106</sup> bei dem es zur Ausbildung multipler Schwannome kommt. Sie ist erst seit 2005 als eigene Entität anerkannt. Die Schwannomatose manifestiert sich meistens etwas später als die NF2, in der Regel zwischen dem 30. und dem 60. Lebensjahr.<sup>94</sup>

Inaktivierende Mutationen von *SMARCB1* (*SWI/ SNF-related Matrix-associated Actin-Dependent Regulator of Chromatin Subfamily B Member 1*), einem Tumorsupressor-Gen, konnten bei Schwannomatose-betroffenen Patient\*innen gefunden werden.<sup>107</sup> Auch wird eine Keimbahnmutation des Gens *LZTR1* (*Leucine Zipper Like Post Translational Regulator 1*) verantwortlich gemacht.<sup>108</sup> Der Verlust von *SMARCB1* kann zu chromosomaler Instabilität in Schwann-Zellen führen, sodass die Entstehung von Schwannomen begünstigt wird.<sup>109</sup> Bei Schwannomatose-Betroffenen sind normalerweise keine *NF2*-Keimbahnmutationen zu finden, jedoch weisen die Schwannome dieser Patient\*innen häufig somatische bi-allelische inaktivierende Mutationen des *NF2*-Gens auf.<sup>108,110</sup>

### 1.7.2 Symptome

Per Definition zeigen Patient\*innen mit Schwannomatose das phänotypische Merkmal multipler Schwannome ohne gleichzeitige Beteiligung des achten Hirnnervens.<sup>111</sup> Auch die Schwannomatose kann als Mosaik auftreten, hier sind die Schwannome bei etwa 30 % der Betroffenen auf ein Gliedmaß oder ein Körpersegment begrenzt und die Tumore sind häufig schmerzhaft.<sup>1,112,113</sup>

### 1.7.3 Diagnostik

Pathognomonisch ist das Vorliegen von multiplen Schwannomen bei gleichzeitigem Fehlen von *NF2*-Kriterien. Die ausführlichen Diagnosekriterien sind in Tabelle 3 aufgelistet.<sup>114</sup> Die histopathologische als auch die bildgebende Diagnostik gestaltet sich wie bei sporadischen Schwannomen.<sup>111</sup>

Tabelle 3: Diagnosekriterien für Schwannomatose nach Plotkin<sup>114</sup>

Diagnosekriterien Schwannomatose
Erkrankung gesichert:
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zwei oder mehrere nicht dermale Schwannome <b>und</b> Fehlen von bilateralen VS in der MRT</li> <li>• Ein Schwannom oder Meningeom <b>und</b> positive Familienanamnese für Schwannomatose (Verwandte ersten Grades)</li> </ul>
Erkrankung möglich oder wahrscheinlich:
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mind. zwei nicht dermale Schwannome <b>und</b> Fehlen von VS <b>und</b> Fehlen von NF2-Keimbahnmutation</li> <li>• Bildmorphologischer Nachweis von Schwannomen <b>und</b> positive Familienanamnese für Schwannomatose (Verwandte ersten Grades)</li> </ul>
Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> <li>• VS</li> <li>• Katarakt</li> <li>• NF2-Keimbahnmutation</li> <li>• positive Familienanamnese für NF2</li> <li>• multiple Meningeome</li> <li>• Neurofibrome</li> </ul>

### 1.8 Weiterführung Schwannome im Allgemeinen: Therapie

Die Therapieentscheidung hängt stark von der individuellen Klinik, der Lokalisation der Schwannome, der Tumorwachstumsrate und dem Wunsch der Patient\*innen ab. Die etablierte Therapieform ist die Resektion.

Während kleine Schwannome häufig nur limitiert Druck auf den befallenen Nerven ausüben, können größere Läsionen zu klinisch apparenten Nervenschäden führen. Dies macht oft eine Exzision unumgänglich, vor allem bei intrakraniellen Lokalisationen. Eine Bestrahlung kann bei sehr großen, inoperablen Läsionen mit manifester Symptomatik in Betracht gezogen werden.<sup>5</sup> Zur Radiotherapie gibt es bei Nicht-VS kaum Literatur. Nicht-VS werden generell als strahlenresistent beschrieben, weswegen die Radiotherapie nicht zur Standardtherapie gehört.<sup>115</sup> Systemische Therapien wie beispielsweise der VEGF-Antikörper Bevacizumab wurden bisher ausschließlich bei VS-Patient\*innen mit NF2 angewendet. Bei Schwannomen, die anderen intrakraniellen, peripheren oder spinalen Nerven entspringen, gibt es keine medikamentösen Therapiealternativen.

## **1.8.1 Chirurgische Therapie**

### 1.8.1.1 Operationstechniken

In der Regel befindet sich der Tumor exzentrisch am Nerv und ist von einer Kapsel aus Perineurium des Ursprungsnervenbündels umhüllt, übrige Faszikel des Nervens können über die Tumorkapsel verteilt sein.<sup>2</sup> Alle diese Strukturen sind Teil des Epineuriums, der äußersten Nervenscheide. In den meisten Fällen führt eine intraneurale extrakapsuläre E nukleation zum Funktionserhalt des Nerven.<sup>2</sup> Hier wird die Tumorkapsel einige Zentimeter proximal und distal des Tumors von den übrigen nicht befallenen Nervenfaszikeln getrennt.<sup>116</sup> Aus der Literatur geht hervor, dass die intrakapsuläre E nukleation den Nervenfunktionserhalt um mehr als 30 % verbessern kann, allerdings besteht bei diesem Verfahren ein theoretisches Rezidivrisiko, da die Tumorkapsel nicht entfernt wird. Diese Strategie bietet hohe Sicherheit und eine geringe Inzidenz von neurologischen Ausfällen.<sup>2</sup> Bei dem Großteil der Patient\*innen (67 – 86 %) kommt es zu keinen neurologischen Defiziten.<sup>117,118</sup> Eine radikalere Option stellt die Tumorresektion mit Resektion des Ursprungsnervs und anschließender neuraler Anastomose dar.<sup>2</sup>

### 1.8.1.2 Operationsrisiken

In einigen Fällen kann es zu neurologischen Ausfällen kommen. Gründe dafür könnten Nervenschäden aufgrund der Tumorkompression oder der Durchtrennung der Nervenfasern sein, die den Tumor umgeben oder ihn durchlaufen.<sup>119,120</sup> Eine vollständige Resektion ist in der Regel mit einem sehr geringen Rezidivrisiko verbunden.<sup>31,33</sup>

## **1.8.2 Prognose**

Das Rezidivaufkommen nach Resektion von Nicht-VS-Schwannomen wird in der Literatur als sehr gering beschrieben. Wagner et al. berichteten in einer Studie, dass die Rezidivrate nach vollständiger Resektion von Schwannomen der Cauda equina bei lediglich 0,9% lag. Dabei wurde das einzige beobachtete Rezidiv in Verbindung mit einer Neurofibromatose Typ 1 (NF1) festgestellt.<sup>121</sup> Auch Tanaka et al. berichten von einer sehr geringen Rezidivrate nach Resektion.<sup>122</sup>

VS haben verglichen mit Schwannomen anderer Lokalisationen eine höhere Morbidität.<sup>2</sup> Vestibuläre Schwannome führen unter anderem zu Hörverlust, Tinnitus und Gleichgewichtsstörungen.<sup>50,52</sup> Bei Beteiligung des Trigemini- oder Fazialisnerven kann es hier noch zu Gesichtslähmungen oder Taubheit kommen.<sup>33,51</sup> siehe hierzu Kapitel 1.4.6. Die Lebenserwartung ist bei sporadischen VS nicht eingeschränkt.<sup>123</sup>

Die postoperative Rezidivrate ist abhängig von der gewählten Therapie und der Vollständigkeit der Resektion.<sup>124</sup> Subtotal resezierte VS sind mit einer deutlich höheren Rezidivrate assoziiert.<sup>124-126</sup> Nakatomi et al. beschreiben in Ihrer Arbeit, dass die Patient\*innen, die nach Resektion von sporadischen VS ein Rezidiv im Median von 5,7 Jahren erlitten. Das generelle mediane rezidivfreie Überleben lag bei 20,6 Jahren. Die Autor\*innen kritisierten, dass die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit anderer Arbeiten häufig zu kurz, oft unter fünf Jahren angesetzt sei, um die möglichen Rezidive zu erkennen.<sup>127</sup>

Die SRS zeigte ebenfalls geringe Tumorwachstumsraten, bei den meisten Arbeiten unter 10 % bei einem Beobachtungszeitraum von zwei bis fünf Jahren.<sup>128-130</sup> Es scheint keinen Unterschied in der Rezidivrate beider Therapieoptionen zu geben.<sup>70</sup> Wichtig für möglichst niedrige Rezidivraten ist die Auswahl der geeigneten Therapie abhängig von Tumorgöße und Funktionsverlust des N. vestibulocochlearis.<sup>52</sup> Die postoperative Mortalität nach Resektion von VS liegt im sehr niedrigen einstelligen Bereich.<sup>64,66</sup>

Von allen Schwannomen sind NF2-assoziierte Schwannome mit der höchsten Morbidität assoziiert.<sup>131</sup> Die Betroffenen leiden unter den Beschwerden der VS wie Hörverlust, Tinnitus und Gleichgewichtsstörungen als auch unter den Symptomen der anderen multiplen Tumoren wie Meningeome, Ependymome und spinale Tumoren.<sup>93,99,100</sup> Es kann zur Kompression des Hirnstamm und des Rückenmarks und somit auch zu einer höherern Mortalität kommen.<sup>93,102</sup> Auftretende Polyneuropathien können letal verlaufen.<sup>19,93</sup>

Die 5-Jahres-Überlebensrate bei NF2 beträgt 85 %, während die 20-Jahre-Überlebensrate nur noch 38 % beträgt. Patient\*innen, die vor dem Alter von 25 Jahren an NF2 erkranken, zeigen eine schlechtere Überlebensrate als ältere Betroffene.<sup>131</sup>

Die Lebenserwartung bei Schwannomatose ist annähernd normal.<sup>132,133</sup> Eine ebenfalls erhöhte Mortalität zeigen MPNST, die 5-Jahres-Überlebensrate wird hier mit ca. 50 % angegeben.<sup>27</sup>

Obwohl Schwannome benigne Neoplasien sind und gemäß der WHO-Klassifikation den Grad-I-Tumoren zugeordnet werden, können sie bei Betroffenen einen erheblichen Leidensdruck verursachen. Daher macht eine Identifikation der zugrundeliegenden Pathomechanismen Sinn, um langfristig Therapieansätze oder eine Prävention entwickeln zu können.

## **1.9 Tumor-Mikroumgebung**

### ***1.9.1 Definition***

Das Konzept des "Tumormikromilieus" beschreibt die Zusammenarbeit verschiedener Zelltypen innerhalb eines Tumors. Es betont, dass nicht nur die Tumorzellen selbst, auch die Immun- und Bindegewebszellen in ihrer Umgebung für das Tumorstadium entscheidend sind. Um die Entstehung von Schwannomen zu verstehen, reicht die alleinige Betrachtung von Schwann-Zellen nicht aus, da das Mikroumfeld eine große Rolle spielt.<sup>134,135</sup>

Das TME umfasst die umgebenden Immunzellen, darunter T- und B-Lymphozyten, tumorassoziierte Makrophagen (TAM), Endothelzellen, extrazelluläre Matrix, Fibroblasten, neuroendokrine Zellen, Fettzellen und Signalmoleküle.<sup>136-140</sup> Dieses Mikromilieu kann die Entwicklung und Progression von Tumoren beeinflussen, unter anderem durch die Freisetzung parakriner Signale.<sup>139,141,142</sup> Tumorzellen tragen also nicht nur alleine zur Tumorentstehung bei, hierzu gehört auch das Netzwerk aus nicht-tumoralen Zellen, die den Tumor umgeben und für ein pro-tumoröses Milieu sorgen.

### ***1.9.2 Immunüberwachung***

Boon et al. beschrieben schon 1994, dass Tumore neben Tumorzellen auch infiltrierende Immunzellpopulationen aufweisen.<sup>143</sup> Es entstand die Hypothese, dass Tumorzellen bestimmte Antigene exprimieren, die von Immunzellen erkannt werden. Die Initiierung

einer antitumorösen Immunreaktion, die als Immunüberwachung bekannt ist, wird eingeleitet, wenn Immunzellen die Mutation einer gesunden Zelle in eine Tumorzelle erkennen.<sup>144</sup> Dendritische Zellen, welche Tumorzellen detektieren, schütten Interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) aus, sodass weitere Immunzellen in das TME gelockt werden.<sup>144</sup> Durch weitere inflammatorische Zytokine wie Interleukin (IL)-12 kommt es zu antiproliferativen, proapoptischen und angiostatischen Effekten.<sup>145-147</sup> Dendritische Zellen aktivieren ebenfalls CD4-Zellen, welche wiederum zytotoxische CD8-T-Lymphozyten aktivieren.<sup>148-150</sup> Rekrutierte Immunzellen wie CD8-T- und natürliche Killerzellen (NK) exprimieren hohe Mengen an Zytokinen, die die weitere Rekrutierung von Immunzellen und die Signalisierung von antitumoralen Signalwegen unterstützen.<sup>151,152</sup> So kommt es zum Zustrom von Immunzellen in das TME und zur Induktion einer entzündlichen, antitumoralen Mikroumgebung.<sup>153</sup> Es ist also anzunehmen, dass das Immunsystem und in diesem Fall, die CD8-Lymphozyten eine protektive Rolle bei der Tumorentstehung spielen.

### ***1.9.3 Immunoescape***

Dass Tumorzellen dennoch weiter überleben und weiterwachsen können, der Immunüberwachung also entkommen (=Immunoescape), liegt an ihrer Fähigkeit, eine stark immunsuppressive Umgebung zu erschaffen,<sup>154</sup> die die körpereigenen Abwehrmechanismen inaktivieren kann. Um der Immunüberwachung zu entgehen, gibt es verschiedene Möglichkeiten für Tumorzellen. Unter anderem können sie ihre Antigenexpression ablegen,<sup>155</sup> eine IFN- $\gamma$ -Resistenz entwickeln<sup>156</sup> und anti-apoptische Signale exprimieren.<sup>157</sup> Auch die Rekrutierung verschiedener Leukozytenpopulationen ist Bestandteil dieser Mechanismen.<sup>158,159</sup> Die Mikroumgebung des Tumors kann von regulatorischen T-Zellen (Tregs) dominiert werden, die CD8-T-Zellen unterdrücken, indem sie die immunsuppressiven Zytokine TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor  $\beta$ ), PGE2 (Prostaglandin E2) und Interleukin-10 produzieren.<sup>158,160,161</sup>

### ***1.9.4 Tumor-assoziierte Makrophagen***

Tumor-assoziierte Makrophagen (TAM) sind Immunzellen, die im TME zu finden sind. Makrophagen gehören zum mononukleären Phagozytensystem (MPS), was eine wichtige

Rolle bei dem Aufspüren, der Entzündungsreaktion und der Abwehr von Krankheitserregern spielt, sowohl durch die direkte Eliminierung von Fremdstoffen als auch bei der Organisation der verschiedenen Phasen des Entzündungsprozesses.<sup>162</sup>

TAMs sind bedeutende Akteure in der Mikroumgebung des Tumors und können bis zu 50 % der gesamten Tumormasse ausmachen.<sup>163</sup> Makrophagen sind in Abhängigkeit vom Gleichgewicht vielfacher Signale, einschließlich Zytokine, Chemokine, Antikörper und myeloischer Kontrollpunkte in der Lage, sowohl eine Pro- als auch eine Anti-Tumor-Aktivität auszuüben.<sup>164</sup>

### ***1.9.5 Einteilung der Tumor-assoziierten Makrophagen***

Dringen Monozyten in den Tumor ein, können sie sich je nach den im TME vorhandenen Zytokinen und Chemokinen in unterschiedliche Makrophagen-Phänotypen polarisieren. Die verschiedenen TAM-Populationen unterscheiden sich auf molekularer Ebene und können nach dem Paradigma der klassischen (M1) beziehungsweise alternativen (M2) Makrophagenaktivierung klassifiziert werden,<sup>165,166</sup> wobei die meisten TAM vom Phänotyp den M2-Makrophagen zuzuordnen sind.<sup>167,168</sup> M1-Makrophagen fördern eine Typ-I-Immunantwort gegen Bakterien, Protozoen, Virusinfektionen und Tumorzellen. M2-Makrophagen hingegen haben entzündungshemmende Funktionen und regulieren den Gewebeumbau, die Angiogenese und die Wundheilung.<sup>169</sup> Die Differenzierung erfolgt nicht durch eine klare Abgrenzung zwischen zwei gegensätzlichen Zuständen, sondern eher entlang eines kontinuierlichen Spektrums, auf dem sich die Makrophagen in verschiedenen Ausprägungen befinden.<sup>170</sup> Makrophagen sind in der Lage, je nach Umweltveränderungen wie der Sekretion von Zytokinen und Wachstumsfaktoren, Infektion, Verletzung, Hypoxie und anderen Bedingungen zwischen einem M1- und M2-Typ zu wechseln.<sup>171</sup>

#### **1.9.5.1 M1-Makrophagen**

Zur Differenzierung in Richtung M1-Makrophagen kommt es durch IFN- $\gamma$ , ausgeschüttet von spezifischen T-1-Helfer-Zellen (TH1) und NK-Zellen<sup>172</sup> und anderen, beispielsweise mikrobiellen Stimuli. M1-Makrophagen sezernieren viel IL-12 und IL-23 und fördern

eine Typ-1-Immunreaktion bei Infektionen.<sup>169</sup> Ebenso üben sie eine zytotoxische Aktivität gegen phagozytierte Mikroorganismen und neoplastische Zellen aus.<sup>168,172</sup> M1-Makrophagen wirken tumorsuppressiv, indem sie Immunzellen wie CD8+ T- und NK-Zellen in das TME rekrutieren, welche wiederum eine Immunreaktion auf neoplastische Zellen auslösen können.<sup>161</sup>

#### 1.9.5.2 M2-Makrophagen

Der von Tumorzellen produzierte Makrophagen-Kolonie-stimulierende Faktor (M-CSF) kann eine Polarisation von Makrophagen in Richtung M2 bewirken.<sup>173</sup> M2-Makrophagen haben entzündungshemmende Funktionen und regulieren den Gewebeumbau, die Angiogenese und die Wundheilung.<sup>169</sup> Sie entwickeln die Eigenschaften von immunsuppressiven und pro-tumoralen Effektoren.<sup>171,174</sup> Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die Kontrolle von Entzündungsreaktionen durch das Herunterregulieren von M1-vermittelten Funktionen.<sup>175,176</sup> Indem sie die Angiogenese und das Wachstum der Tumorzellen stimulieren und die anti-tumorale Immunantwort hemmen, werden M2-Makrophagen mit dem Progress von Tumoren in Verbindung gebracht.<sup>134,174,177-181</sup>

#### ***1.9.6 Tumormikroenvironment in Schwannomen***

Inzwischen wurden viele neue Erkenntnisse zur Makrophagenpolarisierung im TME erlangt. Die meisten der bisherigen Informationen zum Tumormikroenvironment und Tumor-assoziierten Makrophagen beziehen sich auf maligne Tumore. Es gibt jedoch nur wenige Arbeiten, die das TME bei gutartigen Tumoren wie Schwannomen untersucht haben.

Eine frühere Studie zeigte, dass in wachsenden sporadischen VS überwiegend Makrophagen und nicht Schwann-Zellen die Mehrheit der proliferierenden Zellen ausmachten.<sup>182</sup> Auch wurde eine positive Korrelation zwischen Immunzellen und dem Wachstumsindex bei VS beschrieben. Schnell wachsende Tumore scheinen eine höhere Anzahl an M2-Makrophagen aufzuweisen.<sup>134,135</sup> Die Vermutung liegt also nahe, dass bei Schwannomen ebenso wie bei anderen malignen Tumoren zum Tumorwachstum nicht allein die Proliferation von Schwann-Zellen, sondern auch die Tumor-Mikroumgebung

von Bedeutung ist, insbesondere scheinen Makrophagen hierbei eine wichtige Rolle zu spielen. Sie scheinen auch bei Schwannomen Einfluss auf die Proliferation und die Vaskularisation zu nehmen. Um herauszufinden, ob diese Prozesse lokalitätsabhängig variieren, wurde in der vorliegenden Arbeit die Expression von Makrophagen- und Lymphozytenmarkern in Schwannomen verschiedener Lokalisationen untersucht.

#### 1.9.6.1 Immunhistochemie

Zur Darstellung von Ereignissen im TME gibt es verschiedene Methoden. Immunhistochemie, Immunfluoreszenz, In-situ-Hybridisierung, Flow-Zytometrie, Massenspektrometrie und Next-Generation-Sequencing.<sup>183</sup>

In dieser Arbeit wurde sich für die Immunhistochemie entschieden, da sie eine einfache und kostengünstige Möglichkeit darstellt, Einblicke in die ablaufenden Prozesse im TME zu erhalten. Es können mit der Methode des Tissue Microarrays (siehe Kapitel 2.3) mehrere hundert Tumorproben gleichzeitig auf die Expression von verschiedenen Oberflächenmarkern und Proteinen untersucht werden.

### 1.10 Auswahl der Antikörper

#### 1.10.1 *CD3 und CD8*

CD3 und CD8 sind beides Oberflächenmarker, die auf verschiedenen Populationen von T-Lymphozyten exprimiert werden.<sup>184,185</sup> Nach Aktivierung über MHC-Moleküle (Peptide, die sich auf der Oberfläche einer antigenpräsentierenden Zelle befinden) werden naive T-Zellen zur Vermehrung und Differenzierung angeregt. Die beiden Hauptklassen von T-Zellen sind CD4- und CD8-Zellen. CD3 ist ein wesentlicher Bestandteil des T-Zell-Rezeptor-Komplex, der auf reifen T-Lymphozyten exprimiert wird, unabhängig von ihrer Einteilung in CD4- oder CD8-Zellen.<sup>184</sup> CD8 hingegen ist als Ko-Rezeptor auf zytotoxischen T-Zellen exprimiert, die an der direkten Abtötung von infizierten oder entarteten Zellen beteiligt sind.<sup>185</sup> Während CD3 also einen allgemeinen Marker für T-Zellen darstellt, ist CD8 ein Marker für eine Subpopulation. Da zytotoxische T-Zellen zu der Untergruppe der T-Zellen gehören, die gegen Tumorzellen agieren können, sind diese

ein aussagekräftigerer Biomarker als CD3-Zellen.<sup>186</sup> Auf die Funktionen von CD8-Zellen wurde bereits in Kapitel 1.9.2 eingegangen.

In einigen Arbeiten konnte eine positive Korrelation von hoher Infiltration von CD3- und CD8-positiven Lymphozyten mit dem Outcome (Gesamtüberleben als auch disease-free-survival) festgestellt werden.<sup>161,186-191</sup> Bei Studien mit verschiedenen Malignomen (beispielsweise Nasopharynxkarzinom, Plattenepithelkarzinom von Kopf/ Hals, Kolonkarzinom) werden CD3-positive Tumor-infiltrierende Lymphozyten (CD3-TIL) als prognostischer Marker für das Langzeitüberleben verwendet. Einige Arbeiten beschreiben eine anziehende Wirkung von M1-polarisierten Makrophagen auf CD8-Lymphozyten in manchen Bronchialkarzinom-Arten<sup>192</sup> als auch im hepatozellulären Karzinom (HCC).<sup>193</sup> Bei anderen Arbeiten (Magen-, Kopf-, Hals-Karzinomen) wiederum ist eine hohe Anzahl an TIL mit einem schlechten Überleben assoziiert.<sup>194,195</sup> Jedes Organ zeichnet sich durch einzigartige Immuneigenschaften aus, und ebenso ist es wahrscheinlich, dass jede Tumorentität einzigartige Infiltrate von Immunzellen besitzt. Da also CD3- und CD8-positive Lymphozyten oft Tumor-infiltrierend sind und auch eine Bedeutung für das Outcome für die betroffenen Patient\*innen haben, wurde sich in dieser Arbeit für diese beiden Biomarker entschieden.

### ***1.10.2 CD68, CD163***

Für die Marker von Makrophagen wurde sich für CD68 und CD163 entschieden. CD68 wird auf Zellen mit monozytären Ursprung als auch auf Epithelgewebe und Fibroblasten exprimiert. Der CD68-Antikörper PGM-1 ist ein etablierter generischer Makrophagenmarker.<sup>196</sup> CD163, ein Mitglied der cysteinreichen Familie der Scavenger-Rezeptoren, ist an entzündungshemmenden Funktionen beteiligt und wird vorwiegend auf Neoplasmen monozytärer/ histiozytärer Herkunft oder M2-Makrophagen exprimiert.<sup>197</sup> Es besteht die Vermutung, dass CD68 generell Makrophagen markiert und nicht zwischen M1- und M2-Makrophagen entscheidet. CD163 scheint vergleichsweise spezifischer für M2-Makrophagen zu sein.<sup>198</sup> In vorausgehenden Arbeiten konnte zwischen der Expression beider Marker und einem geringeren Gesamtüberleben bei Malignomen unterschiedlichster Genese ein deutlicher Zusammenhang festgestellt werden.<sup>199-202</sup> Auch kann eine Auswirkung auf Dysplasien und ihren Hang zur malignen

Entartung festgestellt werden: Die Immunopositivität von CD163-Zellen korrelierte höher mit einer malignen Entartung als auch mit dem Ausmaß der Metastasierung als die Anzahl der CD68-Zellen.<sup>203</sup> Ein hohes Aufkommen an CD68-Zellen ist bei vielen verschiedenen Malignomarten in vitro sowohl mit hohen Zahlen an Immunzellen als auch mit einer erhöhten Tumorimmunität assoziiert.<sup>204</sup>

Auch in Schwann-Zellen ist CD68 nur bei reaktiv veränderten und neoplastischen Zellen nachzuweisen (wie beispielsweise bei Waller'scher Degeneration, traumatischen Neuromen, Neurofibromen) während gesunde Schwann-Zellen keine Expression zeigen.<sup>205,206</sup> Auch wenn die hier vorliegenden Tumore benigner Dignität sind, kann die Dichte an CD68- oder CD163-Makrophagen Aufschluss auf die Entzündungsaktivität geben.

### **1.10.3 MIB-1**

MIB-1 steht für „Monoclonal Antibody, Immunglobulin B-1“ und ist ein Antikörper, der häufig in der Pathologie Anwendung findet. Er dient zur Erkennung des Ki-67-Proteins. Ki-67 ist ein Proliferationsmarker, der sich in allen sich teilenden Zellen befindet. Er wird in den Kernen von Zellen in den Phasen G1, S und G2 des Zellteilungszyklus sowie während der Mitose exprimiert. Bei Zellen in der G0-Phase wird er nicht exprimiert.<sup>207</sup> Ein Ki-67-Antikörper konnte zwar an frischem Material verwendet werden, eine Fixierung in Formaldehyd oder Alkohol überstand er allerdings nicht.<sup>207</sup> MIB-1 wiederum, ein 1992 spezifisch für dieses Problem entwickelter Antikörper, übersteht die Fixierung und findet somit Anwendung in der Pathologie.<sup>208</sup> MIB-1 ist ein zuverlässiges Instrument für die Bewertung des Wachstumsanteils normaler und neoplastischer menschlicher Zellpopulationen.<sup>207</sup>

MIB1 wird als Proliferationsmarker genutzt, besitzt jedoch bei benignen Tumoren wie Schwannomen keine prognostische Aussagekraft. Bei manchen malignen Tumoren kann ein hoher MIB1-Index ebenso mit einer schlechteren Prognose assoziiert werden.<sup>209,210</sup> Bei den normalerweise langsam wachsenden Schwannomen existiert kein Schwellenwert, ab dem MIB1 als prognostisch relevant gilt. Andere Faktoren wie das Tumormikroenvironment scheinen einen deutlich größeren Einfluss auf das klinische Verhalten von Schwannomen zu haben.

#### **1.10.4 COX2**

Neben Makrophagen und Lymphozyten spielen auch andere Signalmoleküle eine Rolle bei der Tumorgenese. Cyclooxygenasen katalysieren die Produktion von Prostaglandinen, welche für Entstehung und Aufrechterhaltung von Entzündungen entscheidend sind.

COX2, eine induzierbare Form der Cyclooxygenase, wandelt Arachidonsäure in Prostaglandin G2 und schließlich in Prostaglandin H2 um. Anschließend kann Prostaglandin H2 in verschiedene weitere Prostaglandine umgewandelt werden, welche über unterschiedliche Rezeptoren wirken<sup>211</sup> und unterschiedliche Signalwege auslösen können. COX2 wird durch Wachstumsfaktoren und verschiedene Zytokine wie IL-6 und TNF $\alpha$  reguliert und ist bei Entzündungen vermehrt exprimiert.<sup>212</sup>

In diversen Tumorerkrankungen wie dem kolorektalen Karzinom, Mammakarzinom sowie Lungen- und Pankreaskarzinom wurde eine Überexpression von COX2 nachgewiesen, welche auch mit einem ungünstigen Krankheitsverlauf assoziiert war.<sup>213-216</sup> Verschiedene Daten legen nahe, dass COX2 die Proliferation mutierter Zellen fördert,<sup>213</sup> Einfluss auf die Apoptose nimmt,<sup>217-219</sup> die Metastasierung fördert<sup>220</sup> und die Wirksamkeit von Tumortherapien beeinträchtigt.<sup>221</sup> Auch die von COX2 produzierten Prostaglandine haben eine tumorfördernde Wirkung, beispielsweise durch die Erhöhung der Proliferation von Tumorzellen.<sup>222</sup>

COX2 kann medikamentös durch nicht-steroidale Anti-Rheumatika (NSAR) gehemmt werden.<sup>223,224</sup> Ihre häufigsten Vertreter sind Acetylsalicylsäure (ASS), Ibuprofen, Diclofenac, Naproxen und Indomethacin, welche nicht-selektiv die COX hemmen. Ibuprofen, Diclofenac, Naproxen und Indomethacin führen zu einer reversiblen kompetitiven Hemmung. ASS hemmt jedoch die COX irreversibel.<sup>211</sup> Nebenwirkungen von COX-Hemmern sind unter anderem gastrointestinale Blutungen.<sup>225</sup> Selektive COX2-Hemmer, sogenannte Coxibe, weisen eine hohe Spezifität für COX2 auf und hemmen dieses im aktiven Zentrum. Allerdings wurden Coxibe mit einem erhöhten Risiko für Herzinsuffizienz assoziiert.<sup>226</sup> Dementsprechend wird sich in der Forschung meistens auf unselektive COX-Hemmer fokussiert. NSAR und selektive COX2-Inhibitoren können die Proliferation verschiedener Tumorzelltypen hemmen.<sup>213</sup> In verschiedenen malignen

Tumorentitäten konnte eine Proliferationshemmung durch eine COX-Inhibition erreicht werden.<sup>227-230</sup>

#### 1.10.4.1 Aktuelle Erkenntnisse bezogen auf Schwannome

Bisher beziehen sich wissenschaftliche Untersuchungen zur Wirkung der COX-Inhibition ausschließlich auf VS. Auch hier sind widersprüchliche Ergebnisse zu finden. In-vitro konnten Dilwali et al. eine hemmende Wirkung von ASS auf die Expression von COX2 und die Proliferationsneigung zeigen.<sup>231</sup> In einem retrospektivem Studienmodell beschrieben Kandathil et al. eine negative Korrelation zwischen der Einnahme von ASS und dem Tumorwachstum bei sporadischen vestibulären Schwannomen.<sup>232</sup> Diesem Ergebnis widersprachen Behling et al. 2019. Es konnte kein signifikanter Unterschied der COX2-Expression in VS bei regelmäßiger Einnahme von COX-Inhibitoren gefunden werden.<sup>233</sup> Immunhistochemisch wurde jedoch mehrfach eine erhöhte Proliferationsneigung in Assoziation mit einer erhöhten COX2-Expression gefunden.<sup>233-235</sup>

#### 1.10.4.2 Klinische Anwendung von COX2-Inhibitoren in der Onkologie

Die nachweisliche COX2-Überexpression in einigen Tumorarten und die beschriebenen Korrelationen mit schlechteren klinischen Verläufen machen die Anwendung von COX-Inhibitoren in der Onkologie aussichtsreich. COX-2-Inhibitoren sind im Vergleich zu den bisher etablierten Therapien relativ kostengünstig und haben vergleichsweise überschaubare Nebenwirkungen. Bisher werden COX-Hemmer in verschiedenen Phase-III-Studien zusätzlich zu Chemo- und Strahlentherapien als auch zur Tumorprävention eingesetzt.<sup>236-238</sup> Empfehlungen zu einer generellen Prävention sind aktuell noch nicht absehbar.

Für VS wurde 2018 vom Kongress der neurologischen Chirurgen die Einnahme von ASS bei „Wait-and-scan“-Patient\*innen mit VS empfohlen, um eine Tumorproliferation zu verhindern.<sup>239</sup> Eine nach dieser Empfehlung veröffentlichte Metaanalyse zeigte keinen Unterschied im Tumorwachstum zwischen Patient\*innen, die ASS einnahmen, und Patien\*innen, die kein ASS einnahmen. Die untersuchten Studien wiesen eine hohe

Heterogenität in Bezug auf die Behandlungsschemata und die Quantifizierung der Ergebnisse auf. Das ist unter Anderem auf das retrospektive Design der Studien zurückzuführen.<sup>240</sup> Aktuell ist eine prospektive, randomisierte, doppelblinde Phase-II-Längsschnittstudie zur Wirkung von ASS auf das Tumorwachstum bei Patient\*innen mit VS (NCT03079999) im Gange. Es bleibt zu hoffen, dass diese Studie mehr Aufschluss über das Potenzial von ASS als wirksame, nicht-invasive Behandlungsoption für sporadische VS geben wird.

### **1.11 Zusammenfassung und Ziel dieser Arbeit**

Es bleibt bislang unklar, weshalb ausgerechnet der vergleichsweise kaliberschwache N. vestibularis so häufig als Ursprungsort betroffen ist. Neben genetischen und umweltbedingten Faktoren rückt dabei das Tumormikromilieu zunehmend als möglicher Einfluss in den Fokus. Ziel dieser Arbeit ist es, das Mikromilieu von Vestibularisschwannomen und Schwannomen anderer Lokalisationen immunhistochemisch zu charakterisieren systematisch miteinander zu vergleichen. Es sollen potenzielle Mechanismen identifiziert werden, die zur Lokalisation von Schwannomen beitragen. Daraus können in der Zukunft dann weitere Ansatzpunkte für prognostische Klassifikationen oder therapeutische Zielstrukturen abgeleitet werden.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Patient\*innenkohorte

#### 2.1.1 Kohorte der Nicht-Vestibularisschwannome

Für die vorliegende Arbeit wurde Schwannomgewebe verwendet, welches in der Klinik für Neurochirurgie der Universitätsklinik Tübingen im Rahmen der neurochirurgischen Resektion entnommen wurde. Die Zeitspanne erstreckte sich vom 01.10.2003 bis zum 18.10.2020. Im Anschluss an die Resektion erfolgte in der Abteilung für Neuropathologie der Universitätsklinik Tübingen die histopathologische Aufarbeitung sowie die Einbettung des Gewebes in Paraffinblöcke. Parallel dazu wurden Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung von den jeweiligen Tumoren angefertigt. Ein/e Fachärzt\*in für Neuropathologie stellte für die entnommenen Tumore gemäß den aktuellen WHO-Kriterien die Diagnose des Schwannoms. Das entnommene Gewebe wurde asserviert. Nach genehmigten Ethikantrag im Rahmen des Projektes 336/ 2017BO2 (Amendment 3, Antragssteller PD Dr. med. Felix Behling) am 02.09.2020 konnte dieses Tumorgewebe für die vorliegende Arbeit herangezogen werden.

Um einen Überblick über die resezierten Schwannome der Neurochirurgie zu erhalten, wurde zu Beginn der Arbeit die Datenbank des Instituts für Neuropathologie der Universitätsklinik Tübingen nach Fällen mit der Diagnose „Schwannom“ durchsucht. Die resezierten Schwannome wurden als Fälle in einer Tabelle aufgelistet (n= 2350). Schnellschnitte als auch endgültigen Präparate von Oktober 2003 bis Oktober 2020 wurden als einzelne Fälle inkludiert. Anschließend wurden alle VS-Fälle (n= 1523) exkludiert. Miteinbezogen wurden spinale Schwannome, Schwannome anderer Hirnnerven als dem achten, Schwannome der Extremitäten, des Rumpfes und des Kopf/ Hals- Bereiches. Es wurden sieben unterschiedliche Gruppen angelegt, eingeteilt in HN (Hirnnerven außer NV), SN (Spinalnerven), PN (weitere periphere Nerven, nicht NV, nicht HN, nicht SN). PN wurden weiter unterteilt in PN der oberen Extremität (PN1), PN der unteren Extremität (PN2), PN des Rumpfes (PN3) und PN von Kopf und/ oder Hals (PN4) (n= 827).

Die Informationen hierzu wurden entweder über das neuropathologische Erfassungssystem „Beauskunftung“ (Version 1.22.26.23095, Nexus AG, Donaueschingen, Deutschland) oder anhand der elektronischen Patient\*innenakte im Programm ISH (Oracle Cerner, SAP, MO, USA) der Universitätsklinik Tübingen bezogen. Über die beiden Programme wurde ebenfalls überprüft, ob von den betroffenen Patient\*innen eine Einwilligungserklärung zur wissenschaftlichen Verwendung von Blut und (Rest-) Gewebe vorlag. Lag diese nicht vor, wurde der Verwendung widersprochen, fehlte die Unterschrift auf dem Einwilligungsdokument oder war das Dokument in keinem der beiden Programme auffindbar, wurden diese Fälle exkludiert (n= 66). Aufgrund fehlender Verfügbarkeit oder unzureichendem Restgewebe wurden die entsprechenden Fälle ebenfalls exkludiert (n= 112). Fälle, zu denen wichtige Angaben wie die Histopathologie oder die Tumorlokalisierung fehlten, wurden ebenfalls ausgeschlossen (n= 116).

Nach Exklusion der oben genannten Fälle standen 761 Fälle für die weitere Analyse zur Verfügung. Nach weiterer Verarbeitung des Tumorgewebes, wie dem Stanzen des Schwannomgewebes für die Erstellung der TMAs, das Erstellen von Gewebeschnitten oder der immunhistochemischen sowie der HE-Färbung dieser Schnitte, wurden weitere Fälle exkludiert. Beispielsweise konnten Tumorstanzen, in welchen überwiegend Bindegewebe, Einblutungen oder Nekrosen anstelle von Tumorzellen zu finden waren, nicht weiter verwendet werden. Stanzen, die weniger als 30 % der möglichen Gewebemenge enthielten oder nur unzureichend angefärbt wurden, mussten ebenfalls exkludiert werden. Es verblieben insgesamt 532 auswertbare Tumorstanzen. Nach Anfärbung mussten weitere 4 Fälle exkludiert werden, da ihre Zuordnung zum Ursprungsnerv nicht vollends nachvollziehbar war. Es wurden letztendlich 528 Fälle ausgewertet. Abbildung 2 zeigt eine Übersicht, anhand welcher die Zusammenstellung des Patient\*innenkollektivs dargestellt wurde.

### **2.1.2 Kohorte der Vestibularisschwannome**

Die gesammelten Daten wurden mit Daten aus einer vorausgegangenen Arbeit ergänzt. Hier wurden explizit Schwannome des achten Hirnnerven untersucht. Patient\*innen, die in der Neurochirurgie Tübingen zwischen Januar 2004 und April 2019 wegen eines

vestibulären Schwannoms chirurgisch behandelt wurden, wurden ausgewertet. Die Kohorte wurde für die Dissertation von Elisa-Maria Suhm und Vanessa Ries, welche gerade ebenfalls verfasst werden, sowie den daraus resultierten Veröffentlichungen von Behling et al. verwendet.<sup>233,235,241</sup> Hier wurde ebenfalls Restgewebe von VS verwendet. Die Resektion, Beurteilung und Diagnosestellung erfolgte wie bei Nicht-VS ebenfalls in der Abteilung für Neuropathologie der Universitätsklinik Tübingen. Es lag bereits ein Votum der Ethikkommission des Universitätsklinikums Tübingen vor (Projektnummer: 336/ 2017BO2). Auch hier wurden in der Datenbank des Instituts für Neuropathologie der Universitätsklinik Tübingen alle Fälle mit der Diagnose „Vestibularisschwannom“ detektiert und in einer Tabelle aufgelistet (n= 1381). Lag die Einwilligungserklärung zur Verwendung von Restgewebe nicht vor, wurden auch diese Fälle exkludiert (n= 70). Aufgrund von fehlender Verfügbarkeit einiger Tumorproben konnten diese Fälle ebenfalls nicht inkludiert werden (n= 21). Fälle, die unzureichende klinische Daten aufwiesen, wie etwa eine ungenaue Zuordnung zum Ursprungsnerv, wurden ebenfalls exkludiert (n= 11). Nach Exklusion der ungeeigneten Gewebeproben verblieben 1279 Fälle für die weiterführende Analyse.

Die immunhistochemische Aufarbeitung der Gewebeproben erfolgte bereits im Voraus zwischen den Jahren 2019 – 2020. Die Methoden entsprachen den in Kapitel 2.3 - 2.8 genannten. Die Immunopositivität wurde von einer anderen Person erhoben, dokumentiert und für die vorliegende Arbeit zur Verfügung gestellt. Eventuell ergaben sich in der Zwischenzeit Aktualisierungen der verwendeten Programme. Die restlichen Methoden waren identisch.

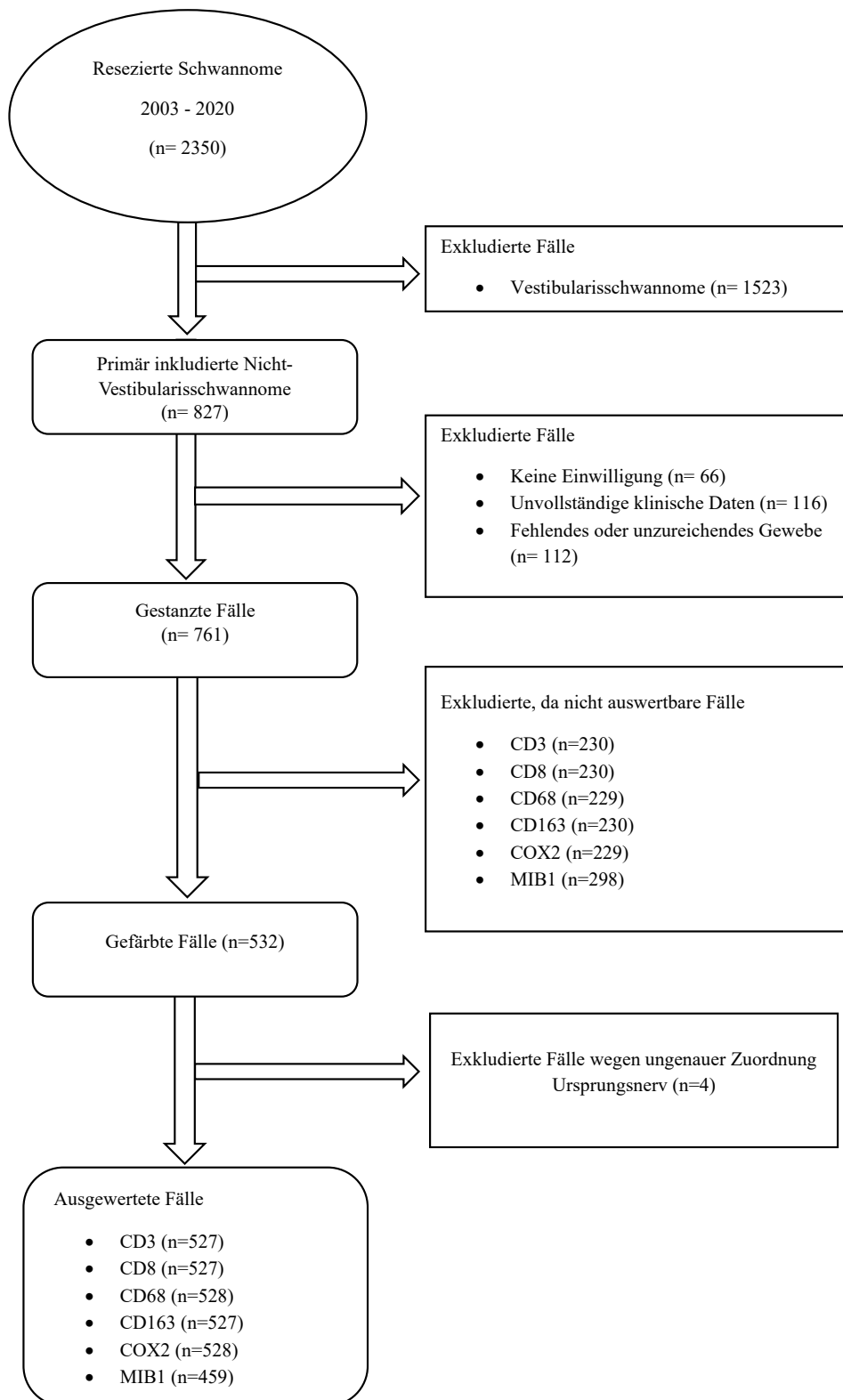


Abbildung 2: Konsortialdiagramm der in dieser Arbeit in- und exkludierten Fälle

## **2.2 Klinische Parameter**

Die klinischen Daten zu den ausgewählten Fällen wurden sowohl aus dem Beauskunftungssystem als auch aus dem ISH-Programm erhoben. Diese umfassten das Alter bei Probeneingang, das Geschlecht, die gesicherte Diagnose eines Schwannoms und den Tumorursprung, also die Identifikation des Ursprungsnervens. Ebenso wurden Daten zu einer präoperativen Bestrahlung, zum Rezidivstatus, zur Erkrankung an NF2 oder Schwannomatose erfasst. Die Erkrankung an einer Schwannomatose wurde lediglich bei der Kohorte der Nicht-VS erfasst. Um einem Tumorsyndrom zugeordnet zu werden, musste bei den betroffenen Patient\*innen eine genetische Untersuchung vorliegen. Lagen diese Daten nicht im Beauskunftungssystem oder in der elektronischen Patient\*innenakte im Programm ISH vor, wurden die zugehörigen Fälle als „nicht erkrankt“ klassifiziert. Plexiforme Schwannome und Hybridnervenscheidentumoren wurden in der deskriptiven Analyse berücksichtigt. Für die weitere Analyse wurde die Einteilung in die verschiedenen histologischen Subtypen nicht weiter mit einbezogen.

## **2.3 Vorbereitung für die Anfertigung der Tissue Micro Arrays**

Unter Tissue Microarray (TMA) wird die Anordnung vieler Gewebeproben auf einem einzelnen Paraffinblock verstanden. So konnten Untersuchungen wie Immunhistochemie oder Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierungen (FISH) zeitsparend an großen Kollektionen durchgeführt werden.<sup>242</sup> Dank der gleichzeitigen Einbringung von hunderten Tumorproben wird hier auch Kosten- und Zeitaufwand geschmälert.<sup>243</sup> Ebenso trägt die TMA-Technik zu einer höheren Vergleichbarkeit bei, da die Auswertung zahlreicher Gewebeproben unter identischen Bedingungen erfolgen kann. Zum Herstellen eines TMA-Blocks werden zunächst Spenderblöcke auf möglichst repräsentatives Gewebe untersucht. Für die mikroskopische Beurteilung der Gewebeproben wurden die Paraffinblöcke mit den Tumorproben und die dazu gehörigen Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) aus dem Archiv des Instituts für Neuropathologie herausgesucht. Die HE-Färbungen wurden unter dem Mikroskop (Olympus VANOX AHBT3, Tokio, Japan) von einer/ m Fachärzt\*in für Neuropathologie histopathologisch analysiert, um Bereiche mit einer möglichst hohen Dichte an Tumorzellen zu identifizieren. Auf dem Deckglas des HE-Schnitts wurden die repräsentativsten Tumorareale farblich markiert. Flächenschnitte ohne repräsentatives Gewebe wurden mit einem „X“ markiert. Anhand

der Markierungen auf dem HE-Schnitt wurde der entsprechende Bereich im Paraffinblock lokalisiert, um sicherzustellen, dass die Stanzbiopsie für die TMA-Erstellung aus einem geeigneten Tumoreal entnommen wurde. Passte der ursprüngliche HE-Schnitt nicht mehr mit dem zugehörigen Paraffinblock überein, weil in der Vergangenheit mehrfache Schnitt-Entnahmen erfolgt sind, wurde ein neuer HE-Schnitt angefertigt. Dies geschah, um sicherzustellen, dass die Markierung für die Biopsieentnahme an der richtigen Stelle erfolgen konnte.<sup>244</sup>

#### **2.4 Erstellen der Tissue Micro Arrays**

Für die TMAs wurde mithilfe eines Präzisionsstanzgeräts, dem Manual Tissue Microarrayer (Model MTA-1 der Firma Beecher Instruments, Sun Prairie, WI, USA) aus einem leeren Paraffinblock, dem sogenannten Empfängerblock, Stanzzylinder entnommen, die im Anschluss mit den gestanzten Gewebezyklindern der Spenderblöcke gefüllt wurden.<sup>244</sup> Die Anordnung der Gewebestanzen geschah wie folgt: Die Stanzbiopsien aus dem Spenderblock wurden in acht Spalten und sechs Reihen angeordnet. In Reihe drei bis sechs wurden die letzten Slots (jeweils in Spalte acht) freigelassen. So gelang die Orientierung bezüglich der Positionierung des Blocks. In einer neunten Spalte, in dritter Reihe, wurde eine Kontrollstanze von menschlichem Darm angebracht. Hier war davon auszugehen, dass Makrophagen sowie andere Entzündungszellen vorhanden waren. Die Kontrollstanze diente als Positivkontrolle für die immunhistochemische Färbung. Ein zu enges Aufbringen der Stanzzylinder auf dem Empfängerblock barg die Gefahr von Rissen im Empfängerblock beim Schneiden und Anfärben der TMAs.

Die Empfängerblöcke (Spezialparaffin für Histologie, SAV Liquid Production, Flintsbach am Inn, Deutschland; Einbettkassetten, KABE Labortechnik GmbH, Wiehl-Bomig, Deutschland) wurden in den Manual Tissue Microarrayer eingespannt. Nach exakter Positionierung konnte anhand eines digitalen Mikrometers die richtige Position für die erste Stanzbiopsie eingestellt werden. Hier wurde sich für einen Mindestabstand von 3 mm zu den Rändern als auch zu den einzelnen Gewebestanzen entschieden, sodass ein Brechen des Empfängerblocks beim Schneiden verhindert werden konnte. Nach Einstellung der passenden Position wurde mit der Empfängerstanze eine Paraffinzylinder

von 1 mm Durchmesser entnommen. Dieser wurde verworfen. Anhand der Donor-Stanze wurde aus dem Spenderblock eine 1,1 mm breite Stanze entnommen und anhand eines Stempels in die zuvor vorbereitete Öffnung des Empfängerblocks eingeführt. Wurde der Spenderblock schon häufiger für Flächenschnitte verwendet, war dieser oft etwas schmaler als der Empfänger-Paraffinblock. In diesem Fall wurden benachbarte Stanzen aus den oben genannten repräsentativen Arealen angefertigt, die dann übereinander in den Empfängerblock platziert wurden. Überstehende Gewebereste wurden vorsichtig mit einem Skalpell entfernt. Nach dem Anfertigen der TMAs ergab sich eine Aufteilung mit 44 Stanzen pro Block. Es wurden 13 TMAs erstellt. Abbildung 3 zeigt einen solchen TMA-Block.

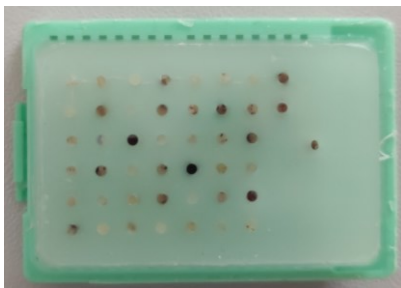


Abbildung 3: Darstellung eines TMA

Bestanden zu einer Eingangsnummer mehrere Gewebe, wurden diese, konform zur Dokumentation im neuropathologischen Erfassungssystem mit römischen Ziffern bezeichnet und als einzelne Fälle behandelt. Dies war der Fall, wenn während einer Resektion mehrere Schwannome unterschiedlicher Lokalisationen entnommen wurden.

Alle TMAs wurden in aufsteigender Reihenfolge mit einem wasser- und hitzebeständigem Stift mit TMA-2021-(Nummer des TMAs)-JLZ beschriftet. Die Empfängerblöcke wurden fortlaufend nummeriert, bevor diese mit den Gewebeständen versehen wurden. Für die Orientierung wurde während der Anfertigung der TMAs eine Matrix in Excel (Microsoft Office 365) angefertigt, siehe hierzu Tabelle 4.

### TMA-2021-001-JLZ

Tabelle 4: Matrix zur genauen Zuordnung der Gewebstanzen

	1	2	3	4	5	6	7	8	Kontrolle
1									

2									
3									Kontrollstanze
4									
5									
6									

Nach Fertigstellung der TMAs wurden diese einige Minuten lang in einen 38° C warmen Wärmeschrank gelegt. Hier wurde das Parrafin erweicht, um ein Herausgleiten der Gewebezylinder zu vermeiden. Nach Anwärmen wurde ein Objektträger waagrecht auf den Parrafinblock gepresst, und die Oberfläche der TMAs zu ebnen.

## 2.5 Mikrotomie

Die fertigen TMAs wurden mit einem Rotationsmikrotom Microm HM 355S (Thermo Fisher Scientific, Walldorf, Deutschland) mit Mikrotomklingen A35 (Feather, Osaka, Japan) in 4 µm dünne Gewebeschnitte geschnitten. Die fertigen Schnitt-Präparate wurden anschließend auf Objektträger aufgebracht. Die Objektträger wurden im Voraus vorbereitet und beschriftet. Für die HE-Färbungen kamen Superfrost Objektträger (R. Langenbrinck GmbH, Emmendingen, Deutschland) zum Einsatz, während für die immunhistochemischen Färbungen TOM-1190 Objektträger (TOMO, Matsunami Glass Ind., Ltd., Osaka, Japan) verwendet wurden. Anschließend wurden diese in einem Wärmeschrank für 15 Minuten bei 65°C getrocknet.<sup>244</sup>

## 2.6 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) dient seit mehr als einem Jahrhundert als Standardfärbung für die Untersuchung von menschlichem Gewebe. Hämatoxylin färbt basophile Strukturen wie DNA, Zellkerne, raues endoplasmatisches Retikulum und Ribosomen und in einem intensiven Blau. Im Gegensatz dazu markiert Eosin azidophile Strukturen wie Zellmembranen, Mitochondrien, Lysosomen, intrazelluläre Proteine, glattes endoplasmatisches Retikulum und Kollagen in Rosa- und Rottönen.<sup>245</sup> Durch diese Färbung kommen pathologische Veränderungen besser zur Darstellung, sodass eine histopathologische Diagnose gestellt werden kann. Zur Überprüfung der angefertigten TMAs wurde von allen TMAs eine HE-Färbung angefertigt.

Die HE-Färbung lässt sich in mehrere Arbeitsschritte gliedern. Für die Entparaffinierung der Schnitte wurden diese Schnitte dreimal für jeweils zehn Minuten in Xylol inkubiert. Anschließend erfolgte die Überführung in eine absteigende Alkoholreihe. Diese bestand aus zweimal 100 % Ethanol, gefolgt von 96 % Ethanol und 70 % Ethanol, jeweils für eine Dauer von fünf Minuten.<sup>244</sup>

Die Schnitte wurden anschließend mit destilliertem Wasser (Aqua dest.) gespült und für 90 Sekunden mit Mayers Hämalaun inkubiert. Es erfolgte eine zweimalige Spülung mit Aqua dest. und eine zehnmütige Spülung unter fließendem Leitungswasser. Dadurch wurde der pH-Wert erhöht, was einen Farbumschlag der zunächst rötlich-braunen Strukturen in ein blauviolettes Erscheinungsbild bewirkte. Es folgte eine erneute Spülung mit Aqua dest., danach wurden die Schnitte zur Gegenfärbung für 90 Sekunden in einer 0,1 % Erythrosin-Lösung inkubiert.<sup>244</sup>

Es folgte das Eintauchen der Schnitte in 70 % vergälltem Ethanol und anschließend das kurze Einlegen in 96 % und zweimal in 100 % vergälltem Ethanol. Im nächsten Schritt wurden die Schnitte dreimal kurz in Xylol behandelt, um sie durch dieses organische Lösungsmittel zu klären. Zum Abschluss erhielten die Präparate das Einschlussmittel HICO-MIC und wurden mit einem Deckglas abgedeckt.<sup>244</sup> Eine Übersicht der in der HE-Färbung verwendeten Reagenzien findet sich in Tabelle 5.

Tabelle 5: verwendete Reagenzien zur HE-Färbung. Für das Design der Tabelle und den verwendeten Materialien wurde sich an der bereits veröffentlichten Dissertation von Christina Fodi: Expression von Somatostatinrezeptoren in Meningeomen, 2023, Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen, orientiert. Die verwendeten Reagenzien sind die gleichen, die auch in dieser Arbeit Verwendung fanden. Beide Arbeiten wurden innerhalb weniger Jahre im selben Institut, dem Department Department für Neurochirurgie und Neurotechnologie der Universitätsklinik für Neurochirurgie Tübingen in Zusammenarbeit mit der Abteilung für Neuropathologie der Universitätsklinik Tübingen, durchgeführt.

<b>Reagenz</b>	<b>Hersteller</b>
Xylol Ethanol 100 %, 96 %, 70 % Vergälltes Ethanol 100 %, 96 %, 70 %	Diagnoal, Münster, Germany AppliChem GmbH, Darmstadt, Germany Alkoholvertrieb Süd GmbH, Horb am Neckar, Germany
<b>Gebrauchslösung Mayers Häkalaun</b>	
Häkalaun nach Mayer 500 ml Aqua dest. 500 ml	Merck KgaA, Darmstadt, Germany
<b>Stammlösung Erythrosin</b>	
Erythrosin 0,1 % 1 g Aqua dest. 1000 ml	Merck KgaA, Darmstadt, Germany
<b>Gebrauchslösung Erythrosin</b>	
Stammlösung Erythrosin 200 ml Eisessig 0,2 ml	Merck KgaA, Darmstadt, Germany

## 2.7 Immunhistochemie

### 2.7.1 Indirekte Antikörper-Färbemethode

Die Heat-induced epitope retrieval (HIER) ist eine Technik, die in der Immunhistochemie verwendet wird, um den Zugang zu Antigenen in Gewebeschnitten zu verbessern. Durch die Anwendung von Hitze wird die strukturelle Hürde von in Paraffin eingebettetem Gewebe überwunden, um Antigene für die Bindung von Antikörpern zugänglicher zu machen. Die Fixierung und Paraffineinbettung maskiert oder denaturiert häufig die gewünschten Antigene im Gewebe.<sup>246</sup> Durch die hitzebedingte Veränderung der Proteinkonformation wird es dem Antigen ermöglicht, wieder für chemische Reaktionen, in diesem Fall die Antikörperbindung, zugänglich zu sein.

Die indirekte Darstellungsmethode der IHC erfolgt mithilfe von mehreren Antikörpern. Nach dem HIER mit dem zum Antigen passenden Puffer kommt es zur Inkubation mit einem Primärantikörper. Die Primärantikörper, beispielsweise CD3, CD8 und Weitere sind spezifisch gegen die gewünschten Antigene im Gewebe gerichtet und bestehen

zumeist aus Maus-IgG, Maus-IgM und Kaninchen-Primärantikörpern. Sie binden mit ihrem Fab-Fragment (Fragment antigen binding) an das gewünschte Antigen. Anschließend wird eine Komposition an Sekundärantikörpern, welche die Primärantikörper über deren Fc-Fragment (Fragment crystallisable) lokalisieren, hinzugefügt. Die Sekundärantikörper werden auch HQ-Linker genannt, sie besitzen zahlreiche, nicht-endogene HQ-Haptene (firmeneigene Haptene). An die Sekundärantikörper binden nun die hinzugefügten enzymmarkierten Tertiärantikörper in Form von HRP-Multimeren (Horseradish-Peroxidase). Durch die Zugabe von Diaminobenzidin (DAB) und Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) wird das Chromogen DAB oxidiert. Der dabei entstehende braune Niederschlag ist unter dem Lichtmikroskop sichtbar.<sup>244,247</sup> Der Prozess wird in Abbildung 4 dargestellt. Mithilfe einer HE-Gegenfärbung wird die braune Färbung besonders hervorgehoben und erkennbar.<sup>248,249</sup>

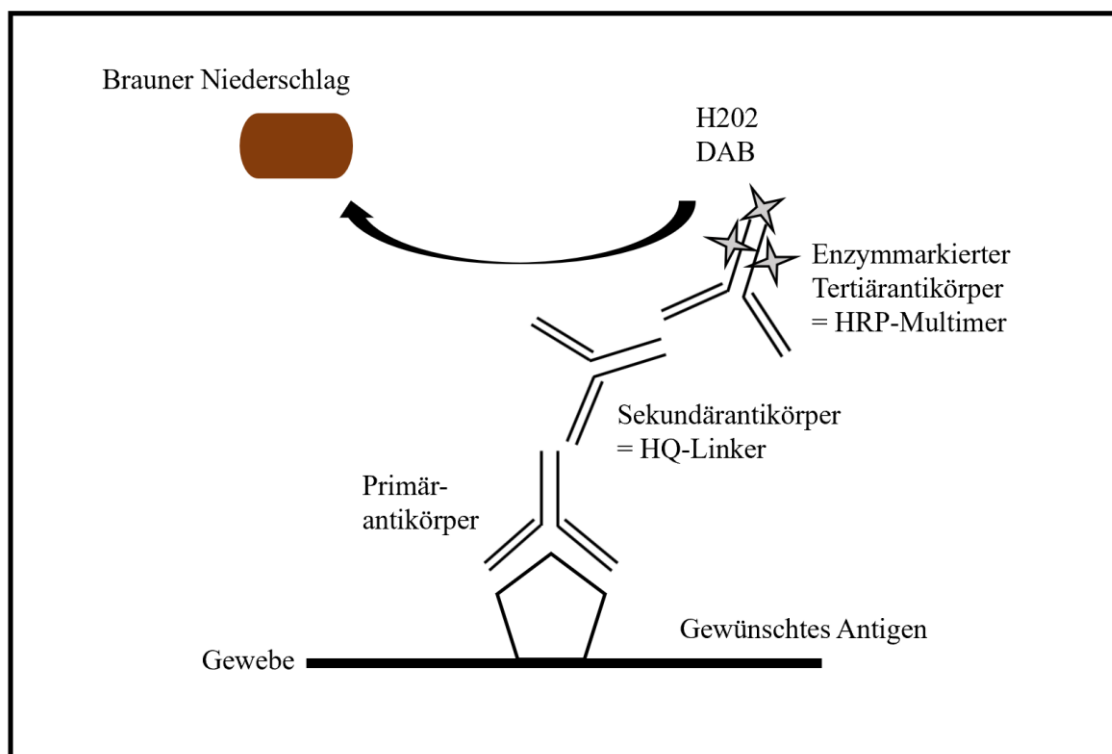


Abbildung 4: Wirkweise der Immunhistochemie. Angelehnt an OptiView DAB IHC Detection Kit von Roche und Ventana, Download des kostenfreien PDFs über die Webseite: <https://elabdoc-prod.roche.com/eLD/web/global/en/products/RTD001078>, Zugriff am 16.02.2025.

## 2.8 Immunhistochemische Marker

Anlehnend an vorhergehende<sup>233,235,241</sup> Projekte wurde sich für die Antikörper-Marker CD3, CD8, CD68, CD163 und COX2 entschieden. Diese waren bereits in der Neuropathologie etabliert. Zusätzlich wurde sich für die Färbung von MIB-1 entschieden.

Für die immunhistochemische Färbung in der vorliegenden Arbeit wurde der Ventana BenchMark GX (Ventana Medical Systems, Tucson, Arizona, USA) sowie das OptiView DAB IHC Detection Kit (Ventana Medical Systems, Tucson, Arizona, USA) verwendet. Die Färbung mit den sechs verwendeten Antikörper wurde anhand von Färbeprotokollen durchgeführt.<sup>244</sup> Im Ersten Schritt wurden die Schnitte maschinell durch den Immunostainer durch Erhitzung entparaffiniert, wodurch das Paraffin schmolz. Es folgte das Auftragen von EZ-Prep bei 76° C. EZ-Prep ist eine Reinigungslösung von Roche® zur lösungsmittelfreien Entparaffinierung. Somit wurde das geschmolzene Paraffin aus dem Gewebe und vom Glas des Objektträgers entfernt. Ein erneutes Absetzen des Paraffins wurde durch einen Air-Vortex-Mixer verhindert und das Paraffin mit Spülung durch Reaktionspuffer entfernt. Liquid Coverslip (LCS), eine vorgefertigte Barriereflüssigkeit, wurde als Eindecklösung hinzugegeben. Durch die enthaltenen organischen Ölmoleküle konnte eine Barriere zwischen den wässrigen Reagenzien und der Luft und somit eine Reaktionskammer für die immunhistochemische Färbung geschaffen werden. Der OptiView Peroxidase Inhibitor wurde hinzugefügt, um eine mögliche Hintergrundfärbung zu minimieren.<sup>244</sup>

Die Protokolle sind für die jeweiligen Antikörper in Tabelle 6 vermerkt. Für CD3, CD8, CD68, CD163 und MIB1 wurde als Zellkonditionierungslösung Cell Conditioning 1 (CC1) verwendet. Für COX2 wurde CC2 verwendet. In Tabelle 6 sind ebenfalls die entsprechenden Inkubationszeiten aufgeführt.

Tabelle 6: Färbeprotokolle der einzelnen Antikörper, Abkürzungen: RTU (Ready to use); RT (Raumtemperatur).

AK gegen	CD3	CD8	CD68	CD163	MIB1	COX2
Protokoll-Nr.	435	454	357	994	915	525
Verdünnung	RTU	RTU	1:200	1:1000	1:200	1:800
AK-Inkubation	16 min	16 min	16 min	12 min	20	32
Vorbehandlung	CC1	CC1	CC1	CC1	CC1	CC2
Dauer	40 min	64 min	16 min	40 min	40 min	32 min
Temperatur	37° C	37° C	42° C	37° C	42° C	RT

Die verwendeten Antikörper sind in Tabelle 7 aufgelistet. Die Primärantikörper wurden anhand der vorgegebenen Temperaturen inkubiert. Nach der Inkubation wurde der OptiView HQ Universal Linker für 12 Minuten aufgetragen, gefolgt von einer 12 -minütigen Inkubation mit OptiView HRP Multimer. Es erfolgte das Auftragen von OptiView H2O2 und OptiView DAB, gefolgt von einer Inkubationszeit von acht Minuten. Anschließend wurde OptiView Copper für eine Inkubationszeit von vier Minuten hinzugegeben. Zur Kontrastbildung der positiv gefärbten Areale erfolgte eine vierminütige Gegenfärbung mit Hämatoxylin. Jeder Arbeitsschritt wurde durch eine Spülung mit Reaktionspuffer abgeschlossen, um die vorangegangene Reaktion zu beenden und die Objektträger vor der nächsten Färbung zu reinigen.<sup>244</sup> Die verwendeten Reagenzien für die immunhistochemische Färbung sind in Tabelle 8 aufgezählt.

Tabelle 7: Verwendete Antikörper (A): Tucson, Arizona, USA; (B): Santa Clara, Californien, USA; (C): Hercules, California, USA; (D): Santa Clara, Californien, USA; (E): Eching, Dtl.

AK gegen	CD3	CD8	CD68	CD163	MIB1	COX2
Hersteller	Ventana (A)	Ventana (A)	Agilent DAKO (B)	BioRad (C)	DAKO (D)	Biozol (E)
Wirt	Kaninchen	Kaninchen	Maus	Maus	Maus	Maus
Spezifität	monoklonal	monoklonal	monoklonal	monoklonal	monoklonal	monoklonal
Isotyp	IgG	IgG	IgG	IgG	IgG	IgG
Antigen Spezies	Human	Human	Human	Human	Human	Human
Positiv-kontrolle	Tonsille	Tonsille	Tonsille	Tonsille	Tonsille	-

Tabelle 8: verwendete Reagenzien zur Immunhistochemie

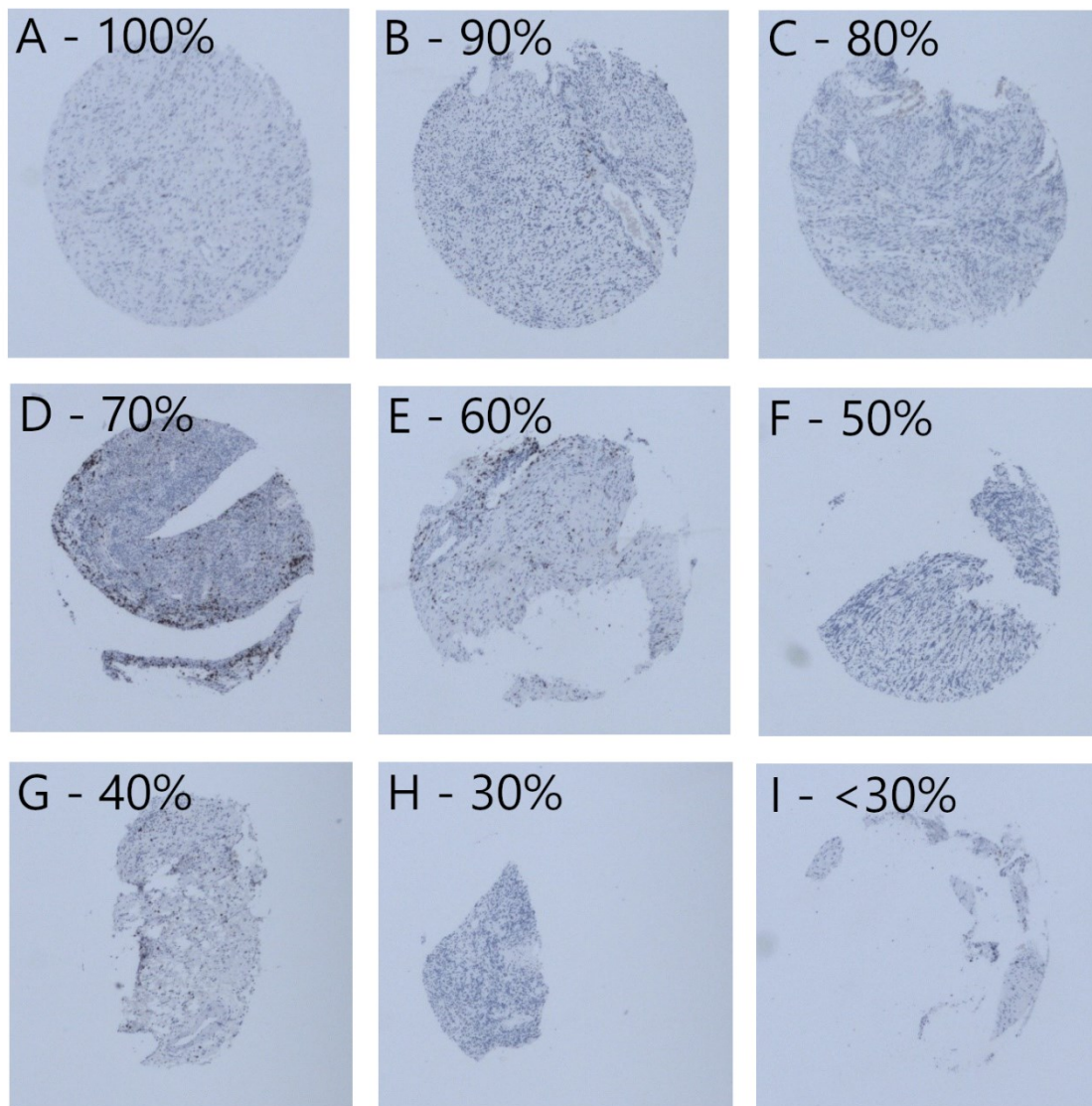
Reagenz	Hersteller
Cell Conditioning 1 (Tris-basierter Puffer) Cell Conditioning 2 (Citratpuffer) Reaction Buffer (tris-basierte Pufferlösung) EZ-Prep (Reinigungslösung) Liquid Cover Slip (Eindecklösung)	Ventana Medical Systems, Inc. Tucson, Arizona, USA
Hämatoxylin	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
OptiView DAB IHC Detection Kit, beinhaltet: OptiView Peroxidase Inhibitor OptiView HQ Universal Linker OptiView HRP Multimer OptiView H2O2 OptiView DAB OptiView Copper	Ventana Medical Systems, Inc. Tucson, Arizona, USA

## **2.9 Mikroskopische Auswertung**

Zur Beurteilung einer gelungenen Färbung wurde vorerst die Kontrollstanze auf jedem Schnitt gesichtet. War hieraus ersichtlich, dass einzelne Zellen eine Färbung aufwiesen, wurde der Rest des Schnittes betrachtet. Hierfür wurde zuerst die zweifache Vergrößerung verwendet, um sich auf dem Schnitt zu orientieren. Dank des Stanzmusters konnten die einzelnen Stanzen den Gewebespendern zugeordnet werden. Anschließend wurde auf die 20 - fache Vergrößerung gewechselt und die Stanzschnitte genau betrachtet. Verwendet wurden Mikroskope der Firma Olympus Vanox AHB3, Japan.

### **2.9.1 CD3/CD8**

Zur Erfassung der CD3/ CD8-positiven Zellzahl wurde vorerst die Vollständigkeit der Gewebestanze geschätzt. Dies geschah in Zehn-Prozent-Schritten. Die Vollständigkeit der Stanze in Prozent wurde mit der tatsächlich gezählten Anzahl immunopositiver Zellen dividiert. (beispielsweise: Anzahl der immunopositiven Zellen/ 0,5 bei einem Gewebezylinder der Vollständigkeit 50 %). Stanzzyylinder, die auf dem Objektträger weniger als 30 % Vollständigkeit besaßen, wurden beiseitegenommen, ihre Tumorblöcke erneut gestanzt und erneut TMAs angefertigt und ausgewertet. Zur Beurteilung des Rohwerts der positiven Zellkerne wurden diese in 20 - facher Vergrößerung manuell gezählt. In Abbildung 5 sind beispielhaft verschiedene Vollständigkeitsgrade dargestellt.



*Abbildung 5: Beispieldarstellung der Vollständigkeitsgrade in Zehn-Prozent-Schritten der Gewebsstanzen, hier an der Färbung CD3. Stanzen unter 30 % Vollständigkeit wurde nicht gewertet. Alle Bilder in 10-facher Vergrößerung.*

Als immunopositiv wurden Zellkerne gezählt, bei welchen ein perinukleäres Färbemuster erkennbar war. Siehe hierzu Abbildung 6. Zur Unterstützung wurde ein manueller Klickzähler verwendet. Als Artefakt galten Gewebsstanzen, bei denen kein einziger Zellkern positiv war, ebenso wie Gewebsstanzen, bei denen zwar Färbungen sichtbar waren, diese bei genauerem Betrachten aber nicht einem Zellkern zuzuordnen oder eindeutig zytoplasmatisch waren. Nekrotische ebenso wie hämorrhagische Areale wurden von der Zählung ebenfalls ausgeschlossen. Kam es durch den TMA-Schnitt zu

Überlagerung innerhalb einer Gewebsstanze, wurden die hier gezählten Zellkerne miteingeschlossen, da sie gut vom immunonegativen Gewebe diskriminierbar waren.

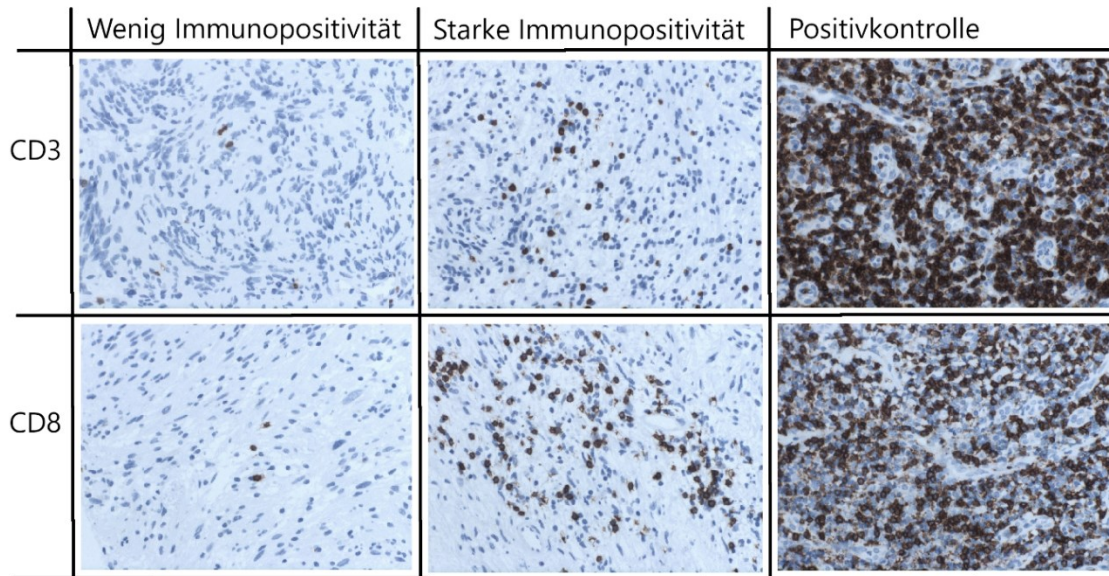


Abbildung 6: Darstellung verschiedener Stufen der Immunopositivität. Alle Bilder in 20-facher Vergrößerung

### 2.9.2 CD68/CD163/COX2

Für die Ermittlung der positiven Zellzahlen von CD68/CD163 und der COX2-Färbungen wurde ein semiquantitativer Score entwickelt. Ein Verteilungswert gab den Anteil der angefärbten Zellen anhand von Prozentwerten an. Hier wurde fünfstufig vorgegangen. Der Anteil der immunopositiven Zellen wurde geschätzt, indem anhand der 20-fachen Vergrößerung eine ungefähre immunopositive Fläche identifiziert wurde und diese auf die Gesamtfläche des Schnitts übertragen wurde. Bei einer Immunopositivität von unter 5 % der Zellen, wurde der Wert null vergeben. Waren unter 25 % der Fläche immunopositiv, ergab dies den Wert eins, bei einer Positivität unter 50 % den Wert zwei, bei unter 75 % den Wert drei und bei allem über 75 % den Wert vier. Die Auflistung ist in Tabelle 9 zu sehen.

Tabelle 9: Semiquantitativer Score für die Immunopositivität

<b>Verteilungs-Score</b>	
Positive Zellen	Wert
0 – < 5 %	0
5 – < 25 %	1
25 – < 50 %	2
50 – < 75 %	3
75 – 100 %	4

Da es sich bei den drei oben genannten Färbungen um granuläre, zytoplasmatische Färbungsmuster handelte, wurden hier als Artefakte gewertet, wenn Färbungen einen deutlichen perinukleären Aspekt hatten. Nekrotische sowie hämorrhagische Areale wurden der Schätzung ebenfalls ausgeschlossen. Oftmals kam es durch den TMA-Schnitt zu Überlagerung von Gewebe, welches aus der Schätzung ausgeschlossen wurde. Eine Multiplikation mit der Vollständigkeit der Gewebestanze war hier nicht notwendig. Die Zellzahlen sowie die Score-Einteilungen wurden zeitgleich in einer Tabelle, ähnlich der TMA-Matrix erfasst. Zur Darstellung der verschiedenen Immunopositivitäts-Scores siehe Abbildung 7.

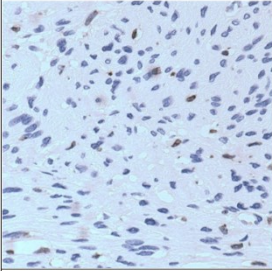
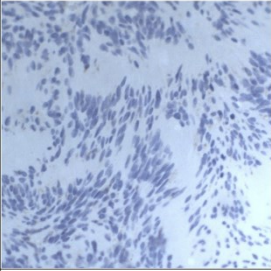
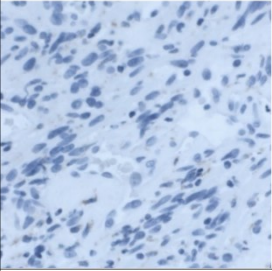
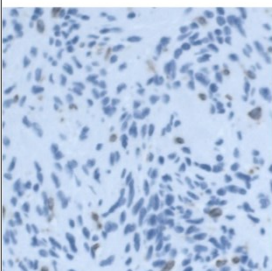
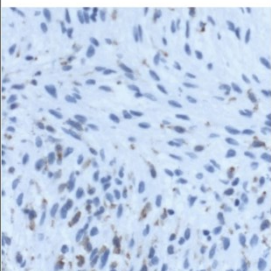
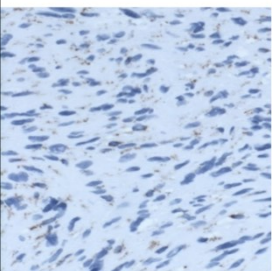
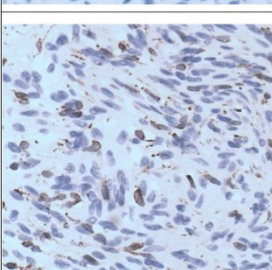
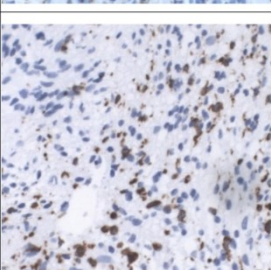
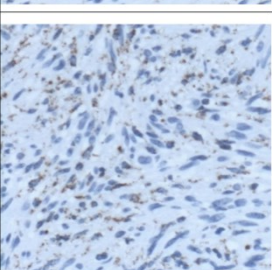
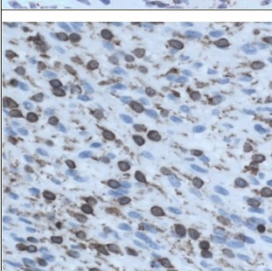
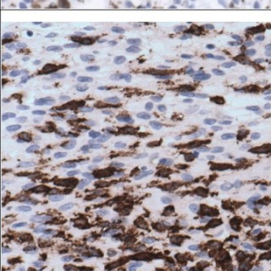
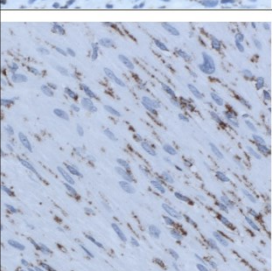
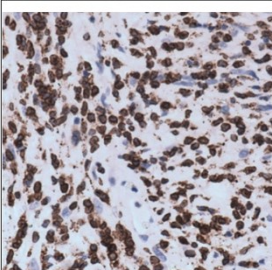
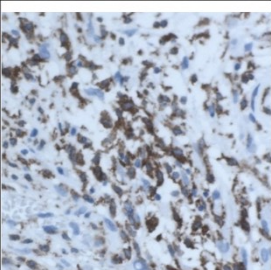
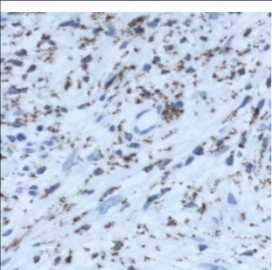
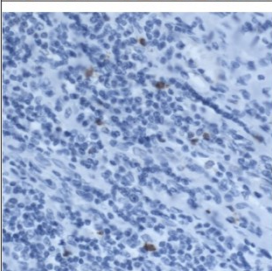
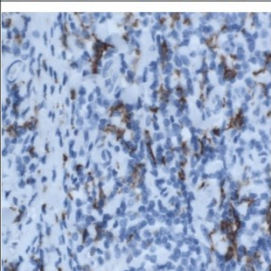
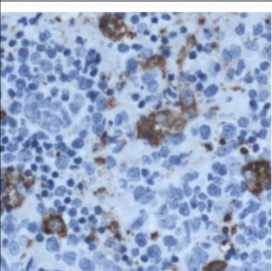
COX-2	CD163	CD68	
			<b>0 (0 - &lt; 5 %)</b>
			<b>1 (5 - &lt; 25 %)</b>
			<b>2 (25 - &lt; 50 %)</b>
			<b>3 (50 - &lt; 75 %)</b>
			<b>4 (75-100%)</b>
			<b>Positivkontrolle</b>

Abbildung 7: Beispielbilder der einzelnen Scores. Alle Bilder in 20-facher Vergrößerung

### 2.9.3 MIB-1

MIB-1 ist ein gut etablierter Proliferationsmarker, der sich in allen teilenden und neoplastischen Zellen befindet.<sup>208</sup> In der Neuropathologie Tübingen wurde nach Eingang eines Schwannoms ein Flächenschnitt mit MIB-1-Antikörper angefertigt.

Für eine maschinelle Auswertung der Proliferationsrate wurde mit dem Interpretationsprogramm Image J (Version 1.513a, NIH, Bethesda, MD, USA) gearbeitet. Im Voraus mussten mit dem Kameraprogramm Imagic IMS Client (Version V18Q1 der Firma Imagic Bildverarbeitung, Glattdbrugg, Schweiz) Bilder der MIB-1-Färbungen gemacht werden. Es wurde mit einer vorbestimmten Standardhelligkeit am Mikroskop (Stufe 2 von 4) und einer 20 - fachen Vergrößerung gearbeitet. Es wurden von besonders tumortypischen Bereichen nach vorheriger Besprechung mit einem erfahrenen Neuropathologen Bilder aufgenommen, die anschließend in das Interpretationsprogramm Image J eingepflegt wurden. Das Plugin ImmunoRatio (Version 1.0c, Institute of Biomedical Technology, University of Tampere, Tampere, Finnland) und das Plugin Bio-Formats (Release 5.4.1; Open Microscopy Environment, Madison, NJ, USA) wurde für die Errechnung des Proliferationsindex verwendet. Die Programmoption „DAB/ nuclear area“ gab den Index in Prozent an. Die Schwelle, ab welcher positiv gefärbte Zellkerne erkannt wurden, konnte über die Option „Blue/ Brown treshold“ herab- oder heraufgesetzt werden. Blau eingefärbte Zellkerne waren MIB-1-negativ, braun eingefärbte Zellkerne standen für Positivität. Nicht für alle primär inkludierten Fälle wurde eine MIB-1-Färbung gefunden. Als Beispiel für jeweils eine niedrige als auch eine hohe Immunopositivität siehe Abbildung 8.

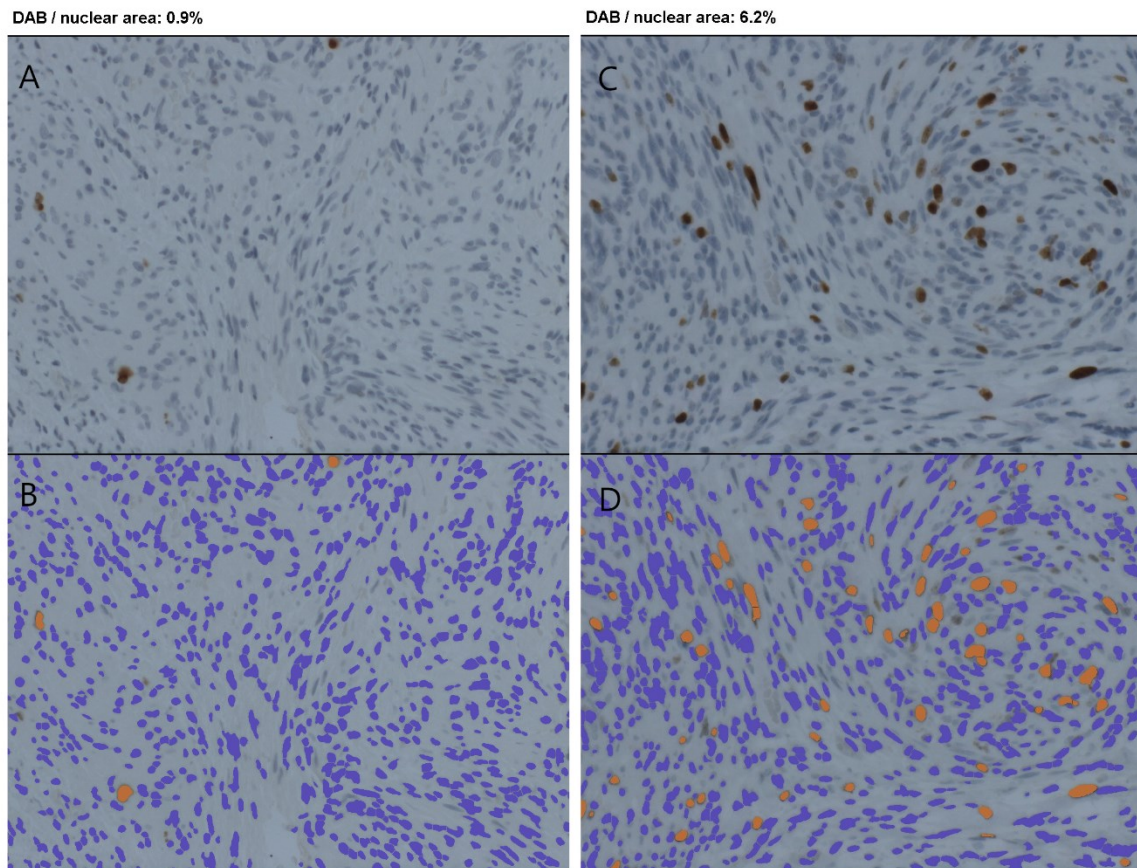


Abbildung 8: Darstellung der maschinellen Auswertung der MIB-1-Färbungen. A: Original-MIB-1-Färbung mit hoher Immunopositivität. B: Über ImageJ ausgewerteter Proliferationsindex, gefärbte Zellen wurden hier braun markiert. C: Original-MIB-1-Färbung mit niedriger Immunopositivität. D: Über ImageJ ausgewerteter Proliferationsindex. Der jeweilige Proliferationsindex wird angegeben unter „DAB/ nuclear area“. Alle Bilder in 20-facher Vergrößerung

Die in dieser Arbeit verwendeten Software-Programme als auch alle Materialien sind nachfolgend in Tabelle 10 und Tabelle 11 aufgelistet.

Tabelle 10: Angewendete Software

Verwendete Software	Hersteller
Beauskunftung, neuropathologisches Erfassungssystem	Nexus AG, Donaueschingen, Deutschland
ISH, elektronische Patient*innenakte	Oracle Cerner, SAP, MO, USA
Microsoft Excel (Microsoft Office 365)	Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA
Image J (Version 1.513a)	NIH, Bethesda, MD, USA
Imagic IMS Client (Version V18Q1)	Imagic Bildverarbeitung, Glattbrugg, Schweiz
Plugin ImmunoRatio (Version 1.0c,)	Institute of Biomedical Technology, University of Tampere, Tampere, Finnland

Plugin Bio-Formats (Release 5.4.1)	Open Microscopy Environment, Madison, NJ, USA
JMP® Statistical Discovery Software, (Version 15.1.0)	Cary, NC: SAS Institute Inc., USA
GIMP® GNU Image Manipulation Program, (Version 2.10.34)	GIMP Team, Berkeley, Kalifornien, USA

Tabelle 11: Angewendete Hardware

Verwendete Hardware	Hersteller
Lichtmikroskop	Olympus VANOX AHB T3, Tokio, Japan
Manual Tissue Microarrayer	Beecher Instruments, Sun Prairie, WI, USA
Empfänger-Paraffinblöcke	SAV Liquid Production, Flintsbach am Inn, Deutschland
Einbettkassetten	KABE Labortechnik GmbH, Wiehl-Bomig, Deutschland
Rotationsmikrotom Microm HM 355S	Thermo Fisher Scientific, Walldorf, Deutschland
Mikrotomklingen A35	Feather, Osaka, Japan
Superfrost Objektträger	R. Langenbrinck GmbH, Emmendingen, Deutschland
TOM-1190 Objektträger	TOMO, Matsunami Glass Ind., Ltd., Osaka, Japan

## 2.10 Statistische Auswertung

Die vorliegende retrospektive Arbeit strebt die Untersuchung möglicher Unterschiede in der Expression von IHC-Markern an verschiedenen Tumorlokalisationen an. Für die statistische Analyse wurde JMP® Statistical Discovery Software, Version 15.1.0 (Cary, NC: SAS Institute Inc., 1989, USA) verwendet. ANOVA und multivariate Regressionsanalyse wurden mit einem Signifikanzniveau von  $\alpha < 0,05$  durchgeführt. Nominalskalierte Daten wie Geschlecht, Tumorausprung, Körperseite, präoperative Bestrahlung, Rezidivstatus und Erkrankung an NF2 oder Schwannomatose wurden anhand eines Mosaikplots mit Chi<sup>2</sup>-Test auf Zusammenhänge überprüft. Ordinalskalierte Daten wie die Scores der Marker CD68, CD163 und COX2 wurden ebenfalls mittels Mosaikplot analysiert. Intervall- als auch verhältnisskalierte Daten wie die CD3/ CD8-Zellzahl, der MIB1-Proliferationsindex als auch das Patien\*innenalter wurden mithilfe von *Skewness* und *Kurtosis* (zwischen - 1 und + 1) auf eine Normalverteilung hin geprüft.

Bei normalverteilten Daten wie dem Patient\*innenalter wurden statistische Tests wie der T-Test für unabhängige Stichproben angewendet. Für nicht normalverteilte Daten kamen Tests wie der Mann-Whitney-U-Test zur Anwendung. Cut-Offs wurden bei den Markern CD3, CD8 und MIB1 nach dem Median eingeführt, um die Verteilung besser beurteilen zu können. Um eine Verfälschung der Werte zu verhindern, wurden in den meisten Analysen NF2- und Schwannomatose-assoziierte Tumore exkludiert und in späteren Kapiteln als eigene Entität behandelt. Um die Vergleichbarkeit zu erhöhen, wurde bei den kontinuierlichen Variablen wie CD3, CD8, MIB1 neben ANOVA ein Cut-Off beim jeweiligen Median eingeführt. So konnten die Daten in zwei dichotome Gruppen eingeteilt werden. Bei kategorischen Variablen wie CD68, CD163, COX2 und MSR1 wurden vier Cut-Offs eingeführt. Die Einteilung erfolgte ebenfalls dichotom in den jeweiligen Score  $<1$  und  $\geq 1$ ;  $<2$  und  $\geq 2$ ;  $<3$  und  $\geq 3$  und  $<4$  und  $\geq 4$ .

## **2.11 Erstellen der Grafiken**

Die in diesem Ergebnisteil zu sehenden Grafiken wurden mit JMP® Statistical Discovery Software, Version 15.1.0 (Cary, NC: SAS Institute Inc., 1989, USA) erstellt und mit GIMP® GNU Image Manipulation Program, Version 2.10.34 (GIMP Team, 1995) zusammengefügt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Alle Schwannome

Insgesamt wurden 1807 Schwannome von 1569 Patient\*innen in die Arbeit aufgenommen, da von 238 Patient\*innen mehrfache Schwannome aus verschiedenen Schwannomextirpationen vorlagen. Darunter 57 NF2-Patient\*innen, denen insgesamt 149 Schwannomen entnommen wurden. 40 Schwannome kamen von 12 an Schwannomatose erkrankten Patient\*innen.

Es wurden 1279 (70,8 %) Vestibularisschwannome und 528 (29,2 %) Schwannome anderer Lokalisationen ausgewertet. Unter diesen konnten 92 (5,1 %) anderen Hirnnerven, 273 (15,1 %) Spinalnerven, 53 (2,9 %) peripheren Nerven der oberen Extremität und 61 (3,4 %) peripheren Nerven der unteren Extremität zugeordnet werden. 28 Fälle (1,6 %) betrafen periphere Nerven des Rumpfes und 20 Fälle (1,1 %) periphere Nerven von Kopf und Hals, siehe hierzu auch Abbildung 9:

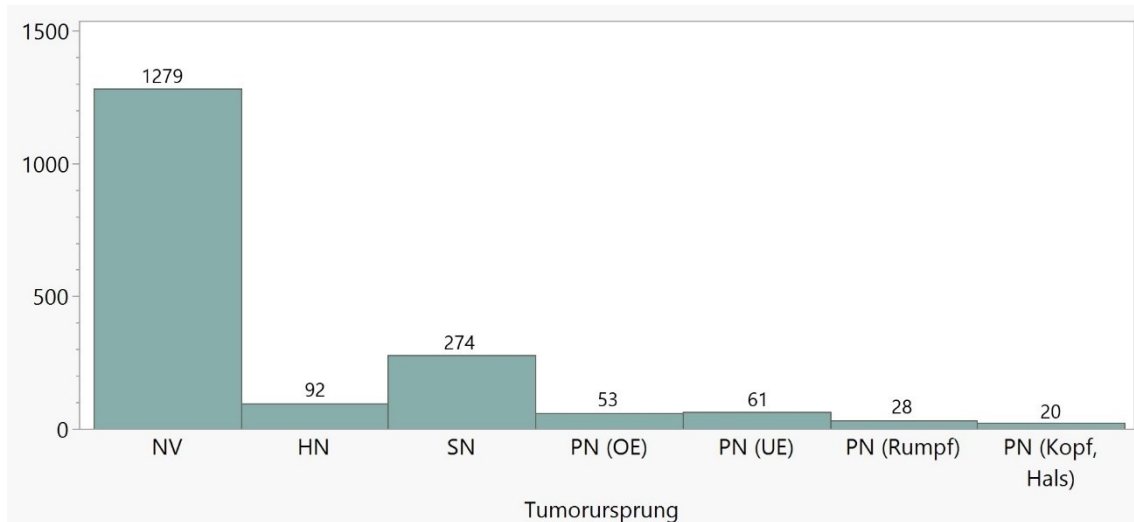


Abbildung 9: Tumorursprung aller Schwannome. NV: N. vestibularis, HN: andere Hirnnerven; SN: Spinalnerven; PN (OE): Periphere Nerven der oberen Extremität; PN (UE): Periphere Nerven der unteren Extremität; PN (Rumpf): Periphere Nerven des Rumpfes; PN (Kopf, Hals): Periphere Nerven von Kopf und Hals

Die am häufigsten betroffenen Lokalisationen, von welchen die Schwannome ausgingen, waren neben N. vestibularis (70,8 %) mit 40 Fällen N. ischiadicus (2,2 %), mit 32 Fällen

N. trigeminus (1,8 %), mit 27 Fällen war L2 betroffen (1,5 %), mit 26 Fällen C2 (1,4 %), mit 25 Fällen L1 (1,4 %) und mit 24 Fällen L3 (1,3 %).

Von den 1807 Fällen waren 908 weiblichen (50,2 %) und 899 männlichen (49,8 %) Geschlechts. Das Durchschnittsalter betrug 45,4 Jahre und lag zwischen 7 und 83 Jahren. Histopathologisch lag in 1791 (99,1 %) der Fälle ein Schwannom vor, in 4 (0,2 %) ein plexiformes Schwannom und in 12 Fällen (0,7 %) ein Hybridnervenscheidentumor. Die Lokalisation betrug in 892 (50,3 %) Fällen die linke Körperhälfte, in 876 (49,4 %) die rechte. In 5 (0,3 %) der Fälle waren beide Körperhälften betroffen. Einer präoperativen Bestrahlung wurden 46 (2,6 %) der Schwannome unterzogen, davon gehörten 41 (89,1 %) zu den Vestibularisschwannomen. Ein Rezidiv lag bei 119 (6,6 %) vor, eine Neurofibromatose bei 290 (16,1 %) vor. Eine Schwannomatose war es bei 63 (3,5 %) Fällen anzutreffen, alle Daten zu Schwannomatose stammten von Nicht-VS.

### **3.2 Sporadische Schwannome**

Um die Eigenschaften von Vestibularisschwannomen gegen Schwannome anderer Lokalisationen besser vergleichen zu können, wurden im Folgenden NF2- und Schwannomatose-assoziierte Schwannome exkludiert. Den beiden Tumorsyndromen wird ein gesondertes Kapitel gewidmet, siehe hierzu 3.3.

Es wurden 1142 (78,5 %) VS und 312 (21,5 %) Nicht-VS ausgewertet. Unter diesen waren 69 (4,7 %) Hirnnerven, die nicht dem achten Hirnnerv entsprachen, 188 (12,9 %) Spinalnerven, 19 (1,3 %) periphere Nerven der oberen Extremität, 29 (2,0 %) der unteren Extremität. 5 Schwannome (0,3 %) waren dem Rumpf und 2 Schwannome (0,1 %) weiteren peripheren Nerven im Kopf/ Halsbereich zuzuordnen, siehe hierzu Abbildung 10:

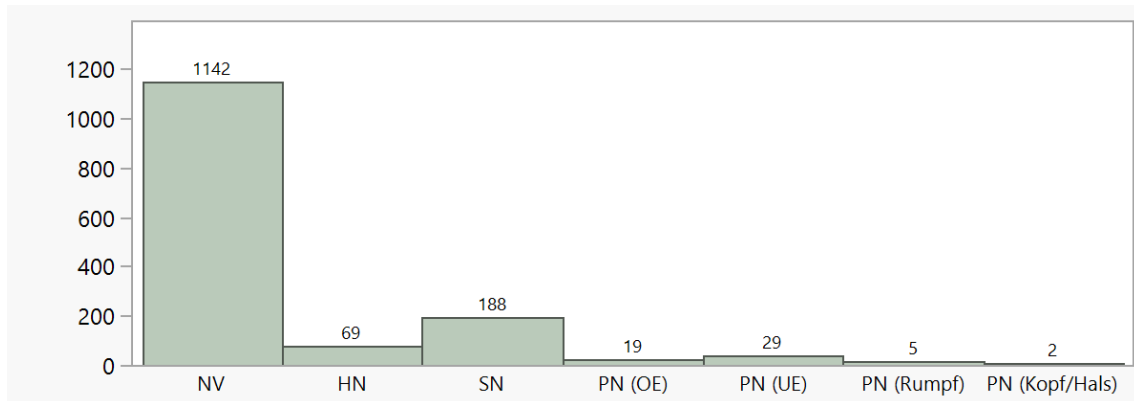


Abbildung 10: Tumorursprung der sporadischen Schwannome. Abkürzungen: NV: N. vestibularis, HN: andere Hirnnerven; SN: Spinalnerven; PN (OE): Periphere Nerven der oberen Extremität; PN (UE): Periphere Nerven der unteren Extremität; PN (Rumpf): Periphere Nerven des Rumpfes; PN (Kopf, Hals): Periphere Nerven von Kopf und Hals

Die häufigsten Lokalisationen waren neben N. vestibularis (78,5 %) mit 23 Fällen N. trigeminus (1,6 %), mit 21 Fällen N. ischiadicus (1,4 %). In 19 Fällen war C2 betroffen (1,3 %), in 18 L2 (1,2 %). 15 Fälle bezogen sich auf L1 (1,0 %), ebenso 15 auf L3 (1,0 %). In 14 Fällen war L4 betroffen (1,0 %), in 13 N. facialis (0,9 %), in 12 Fällen L5 (0,8 %). 10 Fälle betrafen jeweils Th11 und Th12 (je 0,7 %).

Von den 1454 Fällen waren 728 weiblichen (50,1 %) und 726 männlichen (49,9 %) Geschlechts. Das Durchschnittsalter betrug 48,7 Jahre und lag zwischen 7 und 83 Jahren. Histopathologisch lag in 1450 (99,7 %) der Fälle ein Schwannom vor, in 1 (0,1 %) ein Plexiformes Schwannom und in 3 Fällen (0,2 %) ein Hybridnervenscheidentumor. Die Lokalisation betrug in 721 (50,2 %) Fällen die linke Körperhälfte, in 711 (49,5 %) die rechte. In 4 (0,3 %) der Fälle waren beide Körperhälften betroffen. Einer präoperativen Bestrahlung wurden 38 (2,6 %) der Schwannome unterzogen. Ein Rezidiv lag bei 70 (4,8 %) Fällen vor.

### 3.2.1 Signifikante Korrelationen von klinischen Charakteristika

#### 3.2.1.1 Geschlecht

Der Anteil von Frauen an Nicht-VS war in dieser Analyse signifikant niedriger (43,3 %) als der Anteil an Männern (56,7 %) ( $p=0,0067$ ). Das Geschlecht der Betroffenen

korrelierte ebenso mit dem Tumorursprung, eingeteilt in vier Gruppen ( $p=0,0002$ ). Siehe hierzu Tabelle 12. Während mehr weibliche Patientinnen unter einem VS oder einem Schwannom anderer Hirnnerven litten, waren deutlich mehr Männer von Spinalschwannomen betroffen. Auch Schwannome peripherer Nerven waren häufiger bei Männern zu finden.

Tabelle 12: Darstellung des Zusammenhangs von Geschlecht und Tumorlokalisation. Abkürzungen: NV (*N. vestibularis*); HN (*Hirnnerven, nicht N. vestibularis*); SN (*Spinalnerven*); PN (*Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven*). *p*-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

	Geschlecht			P-Wert (Chi <sup>2</sup> )
	Gesamt	weiblich	männlich	
<b>Lokalisation</b>				
NV	1142	593 (51,9 %)	549 (48,1 %)	0,0067*
HN+SN+PN	312	135 (43,3 %)	177 (56,7 %)	
<b>Lokalisation</b>				0,0002*
NV	1142	593 (51,9 %)	549 (48,1 %)	
HN	69	41 (59,4 %)	28 (40,6 %)	
SN	188	67 (35,6 %)	121 (64,4 %)	
PN	55	27 (49,1 %)	28 (50,9 %)	

In Bezug auf die präoperative Bestrahlung ergab die Analyse, dass weibliche Betroffene häufiger bestrahlt wurden als männliche ( $p=0,0010$ ). Von allen bestrahlten Schwannomen waren 76,3 % Frauen und 23,7 % Männer. Keine signifikanten Zusammenhänge ergaben sich bei der Betrachtung des Patient\*innenalters, der betroffenen Körperhälfte oder dem Rezidivzustand.

### 3.2.1.2 Alter

Es ergaben sich lediglich signifikante Zusammenhänge bei der Betrachtung der Tumorlokalisation. Im Vergleich VS und Nicht-VS ergab sich kein signifikanter Zusammenhang, jedoch wurde dieser beim detaillierteren Betrachten einzelner Tumorursprünge signifikant ( $p<0,0001$ ). Die Mittelwerte als auch *p*-Werte sind in Tabelle 13 vermerkt. Hier waren Betroffene von Schwannomen der Hirnnerven (nicht *N. vestibularis*) mit einem Durchschnittsalter von 43,5 Jahren die jüngsten Patient\*innen, direkt gefolgt von Erkrankten an Schwannomen peripherer Nerven mit einem Durchschnittsalter von 43,8 Jahren. Vestibularisschwannom-Betroffene waren im Durchschnitt 48,8 Jahre alt: Älteste Patient\*innen waren erneut Spinalschwannom-Betroffene mit durchschnittlich 51,8 Jahren. Der größte Unterschied bestand laut

Student's t zwischen den Gruppen SN und HN sowie SN und PN (je  $p < 0,0001$ ). In der Aufteilung in sieben Untergruppen konnten Schwannome am Rumpf den jüngsten Patient\*innen mit einem Durchschnittsalter von 34,4 Jahren zugeordnet werden. Zweitjüngste Gruppe war die der Hirnnerven (nicht N. vestibularis) mit 43,5 Jahren. Es folgten Schwannome der unteren (Durchschnittsalter: 44,6 Jahre) und der oberen (Durchschnittsalter: 44,7 Jahre) Extremität. Patient\*innen mit Vestibularisschwannom waren im Durchschnitt 48,8, Betroffene mit Schwannomen in peripheren Nerven im Kopf/ Halsbereich durchschnittlich 49,1 Jahre alt. Älteste Patient\*innen waren Betroffene von Spinalnerven-Schwannomen mit durchschnittlich 51,8 Jahren. Der größte Unterschied bestand zwischen SN und HN (Student's t:  $< 0,0001$ ).

Tabelle 13: Zusammenhang des Patient\*innenalters und der Tumorlokalisierung. Abkürzungen: MW (Mittelwert); NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); PN1 (Periphere Nerven obere Extremität); PN2 (Periphere Nerven untere Extremität); PN3 (Periphere Nerven Rumpf); PN4 (Periphere Nerven Kopf/ Hals); p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

	Alter		
	Gesamt	Mittelwert	p-Wert (ANOVA)
<b>Lokalisation</b>			
NV	1142	48,77	0,8110
HN, SN, PN	312	48,55	
<b>Lokalisation</b>			
NV	1142	48,77	$< 0,0001^*$
HN	69	43,47	
SN	188	51,79	
PN	55	43,85	
<b>Lokalisation</b>			
NV	1142	48,77	0,0145*
HN	69	43,47	
SN	188	51,79	
PN1	19	44,66	
PN2	29	44,58	
PN3	5	34,43	
PN4	2	49,13	

Es ergaben sich keine signifikanten Korrelationen in Bezug auf das Rezidiv oder die präoperative Bestrahlung ebenso wie in Zusammenhang mit der betroffenen Körperseite oder dem Geschlecht.

### 3.2.1.3 Präoperative Bestrahlung

Bei 38 präoperativ bestrahlten Patient\*innen ergaben sich folgende Korrelationen, siehe hierzu Tabelle 14: In Bezug auf das Geschlecht wurden weibliche Betroffene signifikant

( $p=0,0010$ ) häufiger bestrahlt. Von den weiblichen Betroffenen unterzogen sich 4,0 % einer präoperativen Bestrahlung, während sich von den männlichen Betroffenen nur 1,2 % einer Bestrahlung unterzogen. Unter den Rezidivtumoren waren 15,9 % mit einer präoperativen Bestrahlung assoziiert, während die Primärtumoren nur in 2 % vor der Resektion bestrahlt wurden ( $p<0,0001$ ). Auch bei einer dichotomen Aufteilung des Tumorursprungs (VS vs. Nicht-VS) ergab sich kein signifikanter Zusammenhang. Eine weitere Unterteilung in kleinere Gruppen war aufgrund der geringen Fallzahlen der Untergruppen nicht aussagekräftig.

Tabelle 14: Zusammenhang von präoperativer Bestrahlung und verschiedenen Charakteristika. Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); P-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

	Gesamt	Keine Bestrahlung	Präop. Bestrahlung	p-Wert
<b>Geschlecht</b>				
Weiblich	724	695 (96,0 %)	29 (4,0 %)	0,0010*
Männlich	722	713 (98,8 %)	9 (1,2 %)	
<b>Rezidivtumor</b>				
Nein	1377	1350 (98,0 %)	27 (2,0 %)	<0,0001*
Ja	69	58 (84,1 %)	11 (15,9 %)	
<b>Lokalisation</b>				
NV	1140	1107 (97,1 %)	33 (2,9 %)	0,2209
HN + PN + SN	306	301 (98,4 %)	5 (1,6 %)	

### 3.2.1.4 Rezidiv

Bei insgesamt 119 Rezidivschwannomen ergaben sich folgende Zusammenhänge, siehe hierzu Tabelle 15. Der Tumorursprung in Bezug auf VS und Nicht-VS korrelierte signifikant ( $p<0,0001$ ) mit dem Rezidiv. Unter den VS befanden sich 3,2 % Rezidive, während sich unter den Nicht-VS 10,6 % Rezidive befanden. Eine noch detailliertere Aufteilung in kleinere Tumorursprungsgruppen war aufgrund nicht aussagekräftiger p-Werte nicht weiter möglich.

Tabelle 15: Zusammenhang von Rezidiv und verschiedenen Charakteristika. Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); P-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

	Gesamt	Kein Rezidiv	Rezidiv	p-Wert
<b>Geschlecht</b>				
weiblich	726	696 (95,9 %)	30 (4,1 %)	0,2161
männlich	724	684 (94,5 %)	40 (5,5 %)	
<b>Präoperative Bestrahlung</b>				
Nein	1408	1350 (95,9 %)	58 (4,1 %)	<0,0001*

<b>Ja</b>	38	27 (71,1 %)	11 (28,9 %)	
<b>Lokalisation</b>				
<b>NV</b>	1140	1103 (96,8 %)	37 (3,2 %)	<0,0001*
<b>HN + SN + PN</b>	310	277 (89,4 %)	33 (10,6 %)	

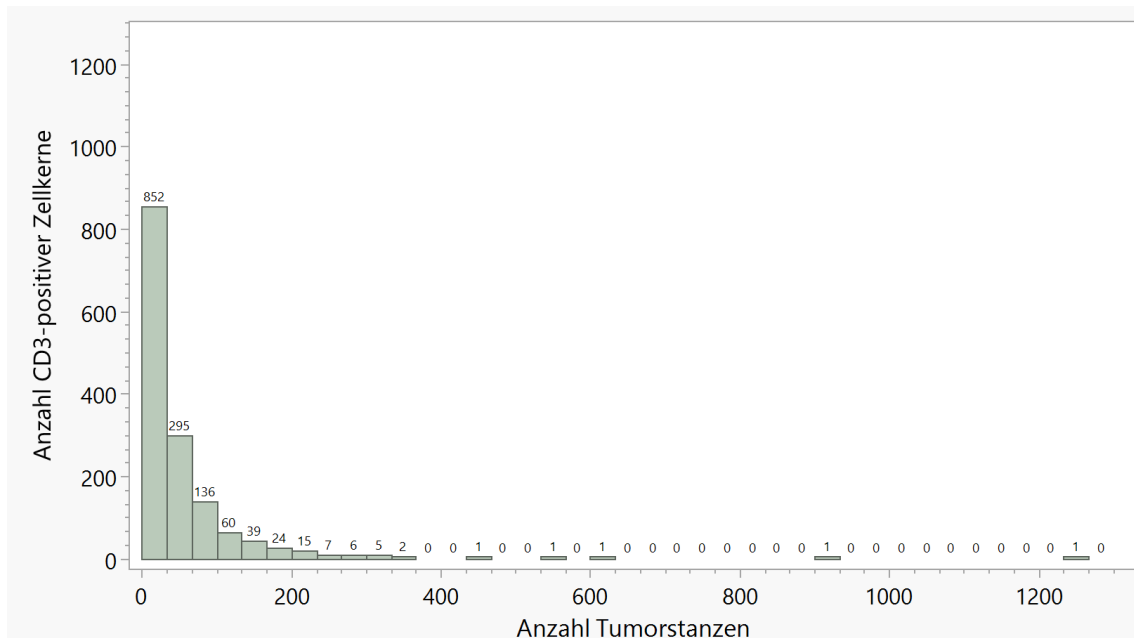
Kein Zusammenhang bestand mit dem Geschlecht und der Körperseite.

### 3.2.2 Immunhistochemische Färbungen

1499 (83,0 %) der Schwannome wiesen eine vollständige Immunfärbung auf. Bei den restlichen 308 Fällen fehlte die Färbung für einen oder mehreren der Marker CD3, CD8, CD68, CD168, COX2 oder MIB1.

#### 3.2.2.1 CD3

Eine CD3-Immunpositivität war bei 1446 Tumoren nachweisbar, während die Färbung in 8 Fällen für eine weitere Analyse unzureichend war. Die Verteilung der CD3-Expression nach Häufigkeit ist in Abbildung 11 zu sehen.



Die durchschnittliche Anzahl an CD3-positiv gefärbten Zellen lag pro Tumorstanze bei 45,6, der Median bei 25,0. Die Verteilung nach Cut-Off beim Median ergab Folgendes: 715 Fälle (49,4 %) lagen mit der Anzahl ihrer CD3-positiven Zellen unter dem Median, 731 Fälle (50,6 %) oberhalb des Medians. Die Aufteilung nach Median ergab keine weiteren Unterschiede, die die Tabelle weiter ergänzen würden, daher wird hier auf die Darstellung dieser verzichtet. Das Spektrum der CD3-positiven Zellen reichte von 0 bis zu 1255.

Für einen detaillierten Überblick der Verteilung des immunhistochemischen Markers CD3 siehe Tabelle 16.

*Tabelle 16: CD3 in Bezug auf klinische Charakteristika als auch Tumorursprünge. Abkürzungen: MW (Mittelwert); NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); PN1 (Periphere Nerven obere Extremität); PN2 (Periphere Nerven untere Extremität); PN3 (Periphere Nerven Rumpf); PN4 (Periphere Nerven Kopf/ Hals); p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.*

	CD3		
	Gesamt	Mittelwert	p-Wert (ANOVA)
<b>Median</b>	25,0		
<b>Reichweite</b>	0 – 1255		
<b>Gesamt</b>	1446	45,6	
<b>Geschlecht</b>			
Weiblich	724	43,65	0,5132
Männlich	722	47,63	
<b>Präoperative Bestrahlung</b>			
Nein	1400	45,78	0,0755
Ja	38	39,84	
<b>Rezidivtumor</b>			
Nein	1372	45,39	0,2605
Ja	70	51,52	
<b>Lokalisation</b>			
NV	1135	38,78	<0,0001*
HN, SN, PN	311	70,65	
<b>Lokalisation</b>			
NV	1135	38,78	<0,0001*
HN	69	89,80	
SN	187	68,60	
PN	55	53,61	
PN1	19	45,97	
PN2	29	55,67	
PN3	5	63,07	
PN4	2	72,78	

Signifikante Zusammenhänge zwischen der betroffenen Körperseite und der CD3-Zellzahl ergaben sich nicht, daher wurde in der Tabelle auf die Darstellung verzichtet. Das Alter korrelierte in der bivariaten Anpassung nicht mit der CD3-Zellzahl ( $p=0,9000$ ), siehe hierzu Abbildung 12. Ein signifikanter Zusammenhang mit präoperativ bestrahlten Schwannomen bestand nicht, obwohl der Mittelwert der CD3-Zellzahl der Patient\*innen der präoperativ bestrahlten Schwannome unter dem der nicht bestrahlten Tumore lag. Es bestand ebenfalls kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Rezidivtumoren und der CD3-Zellzahl, auch wenn diese bei Rezidivtumoren etwas höher lag.

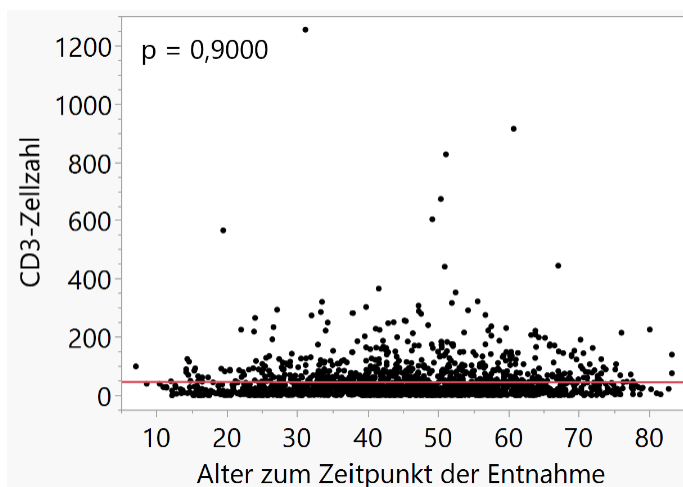


Abbildung 12: Bivariate Analyse von CD3-Zellzahl und Patient\*innenalter.  $p$ -Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

Ein signifikanter Unterschied ( $p<0,0001$ ) bestand in der CD3-Zellzahl (MW: 38,8) der VS im Vergleich zu allen sporadischen Nicht-VS (MW: 70,65). Nicht-VS hatten eine deutlich höhere CD3-Immunopositivität aufzuweisen als VS. Bei weiterer Aufteilung der Schwannome in vier Untergruppen fiel auf, dass Nicht-VS-Hirnnerven-Schwannome durchschnittlich die höchste CD3-Zellzahl (MW: 89,8) vorweisen. Auch Spinalnerven (MW: 68,6) und weitere periphere Nerven (MW: 53,6) waren mit höheren CD3-Zellzahlen assoziiert als VS. Die einzigen Unterschiede der Gruppen zueinander bestanden laut Steel-Dwass zwischen Schwannomen von NV und SN ( $p<0,0001$ ), ebenso wie zwischen Schwannomen von NV und HN ( $p=0,0050$ ). Die Aufteilung in sieben Untergruppen zeigt, dass Schwannome peripherer Nerven der oberen (MW: 46,0), der unteren Extremität (MW: 55,7), des Rumpfes (MW: 63,1) und des Kopf/ Hals-Bereiches (72,8) höhere CD3-Positivität aufwiesen als VS. Der Unterschied zwischen den Gruppen

war nach Steel-Dwass signifikant zwischen NV- und SN-Schwannomenen ( $p < 0,0001$ ), ebenso zwischen NV- und HN-Schwannomenen ( $p = 0,0157$ ). Ein Unterschied zwischen den anderen Gruppen bestand nicht. Abbildung 13 verdeutlicht diese Zusammenhänge grafisch.

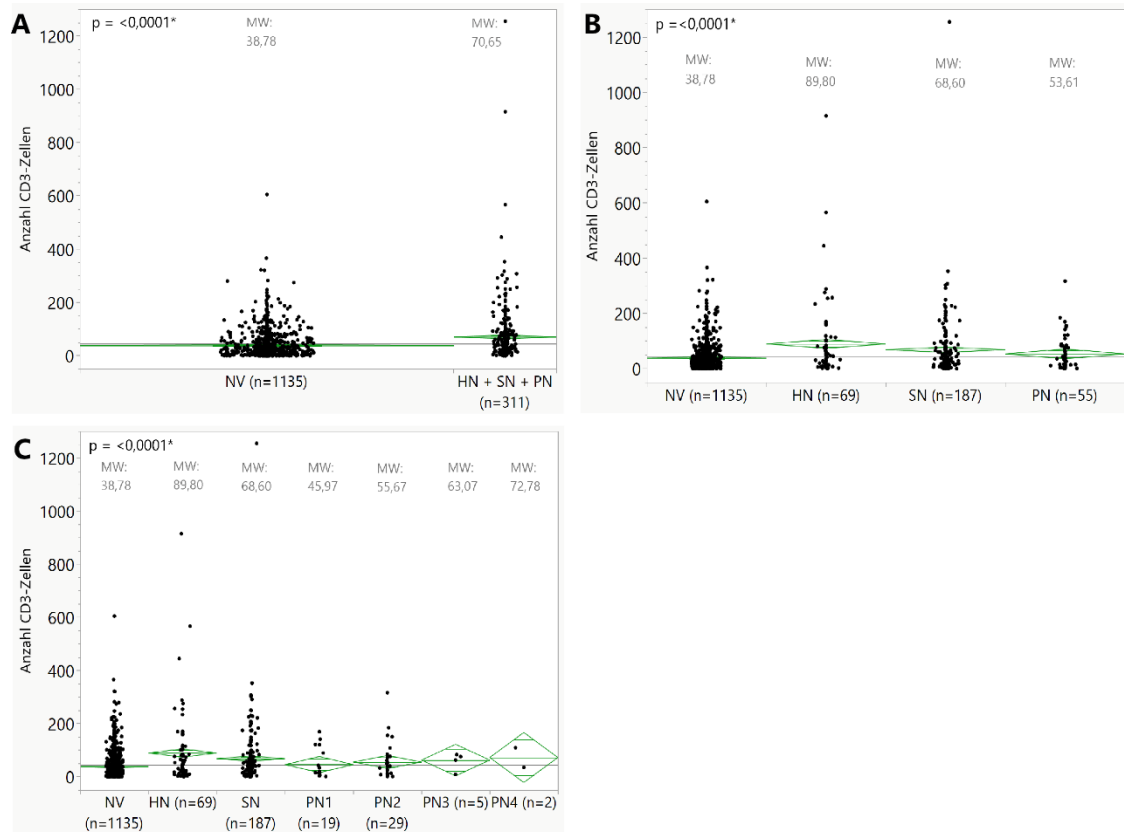


Abbildung 13: Anzahl CD3-Zellen in Zusammenhang mit dem Tumorursprung, aufgeteilt in VS und Nicht-VS (A), NV, HN, SN und restliche periphere Nerven (B), NV und HN, SN, PN der oberen Extremität, PN der unteren Extremität, PN des Rumpfes und PN des Kopfes und Halses (C), Abkürzungen: MW (Mittelwert); NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); PN1 (Periphere Nerven obere Extremität); PN2 (Periphere Nerven untere Extremität); PN3 (Periphere Nerven Rumpf); PN4, (Periphere Nerven Kopf/ Hals); p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

### 3.2.2.2 CD8

Eine CD8-Immunpositivität war bei 1447 Tumoren nachweisbar, während die Färbung in 7 Fällen für eine weitere Analyse unzureichend war. Die Verteilung der CD3-Expression nach Häufigkeit ist in Abbildung 14 zu sehen.

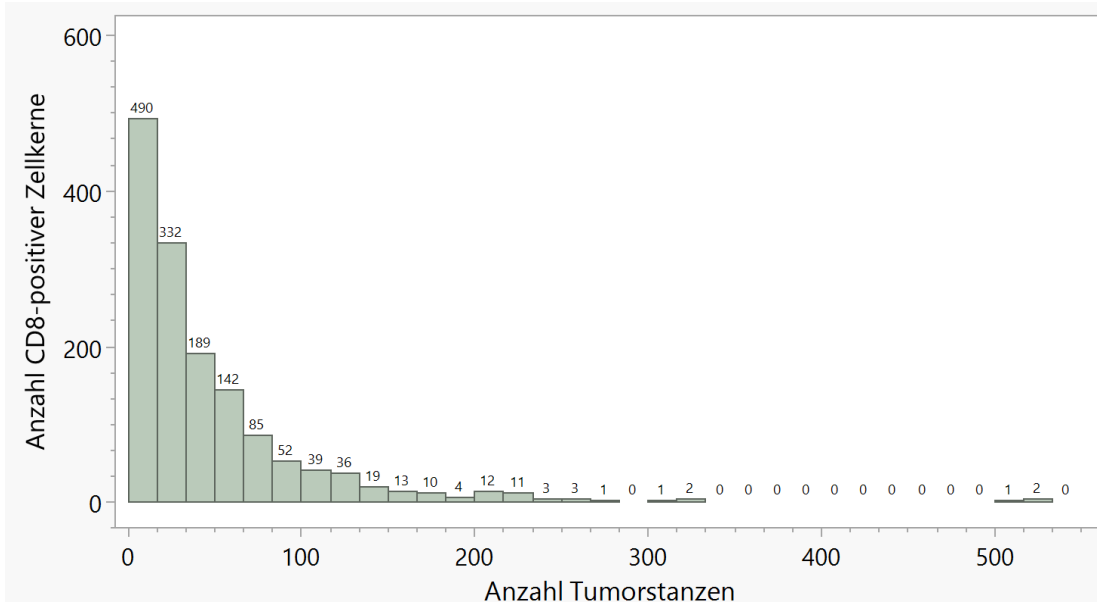


Abbildung 14: Verteilung der CD8-Expression nach Häufigkeit

Die durchschnittliche Anzahl an CD8-positiv gefärbten Zellen lag pro Tumorstanze bei 44,4, der Median bei 27,2. Das Spektrum der CD8-Zellen reichte von 0 bis zu 533. Für mehr Details hierzu siehe Tabelle 17. Die Aufteilung nach Median in zwei Gruppen ergab, dass 722 Fälle (49,9 %) weniger als 27,2 CD8-positiv Zellen aufwiesen, während 725 Fälle (50,1 %) mehr als 27,2 CD8-positiv Zellen aufzeigten. Weitere Erkenntnisse aus der Aufteilung in Cut-Off = Median ergeben jedoch keine weiteren Schlussfolgerungen, die die Tabelle sinnvoll ergänzen würden, sodass auf die Darstellung dieser verzichtet wurde.

Tabelle 17: Aufteilung der CD8-immunopositiven Zellen. Abkürzungen: MW (Mittelwert); NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); PN1 (Periphere Nerven obere Extremität); PN2 (Periphere Nerven untere Extremität); PN3 (Periphere Nerven Rumpf); PN4 (Periphere Nerven Kopf/ Hals); p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant..

	CD8		
	Gesamt	Mittelwert	p-Wert (ANOVA)
<b>Median</b>	27,2		
<b>Reichweite</b>	0 – 533		
<b>Gesamt</b>	1447	44,39	
<b>Geschlecht</b>			
Weiblich	724	41,10	0,0781
Männlich	723	47,75	
<b>Präoperative Bestrahlung</b>			
Nein	1		

<b>Nein</b>	1373	44,28	0,5356
<b>Ja</b>	70	46,97	
<b>Lokalisation</b>			
<b>NV</b>	1136	40,93	0,0113*
<b>HN, SN, PN</b>	311	57,01	
<b>Lokalisation</b>			
<b>NV</b>	1136	40,93	0,0387*
<b>HN</b>	69	70,68	
<b>SN</b>	187	54,50	
<b>PN</b>	55	48,35	
<b>Lokalisation</b>			
<b>NV</b>	1136	40,93	0,1223
<b>HN</b>	69	70,68	
<b>SN</b>	187	54,50	
<b>PN1</b>	19	41,99	
<b>PN2</b>	29	53,34	
<b>PN3</b>	5	35,60	
<b>PN4</b>	2	68,33	

In Tabelle 17 ist zu erkennen, dass das Geschlecht keine signifikante Korrelation ergab. Signifikante Zusammenhänge zwischen der betroffenen Körperseite und der CD3-Zellzahl ergaben sich nicht, daher wurde in der Tabelle auf die Darstellung verzichtet. Ebenso ergab sich kein signifikanter Zusammenhang mit dem Alter. In der bivariaten Analyse lag der p-Wert bei 0,9340, wie in Abbildung 15 zu erkennen. Zwischen den Parametern präoperative Bestrahlung, Rezidivzustand und der CD8-Zellzahl ergaben sich keine signifikanten Korrelationen. Präoperativ bestrahlte Tumore wiesen, wenn auch nicht signifikant, geringere (MW: 37,8) CD8-Zellzahlen auf als nicht bestrahlte (MW: 44,5).

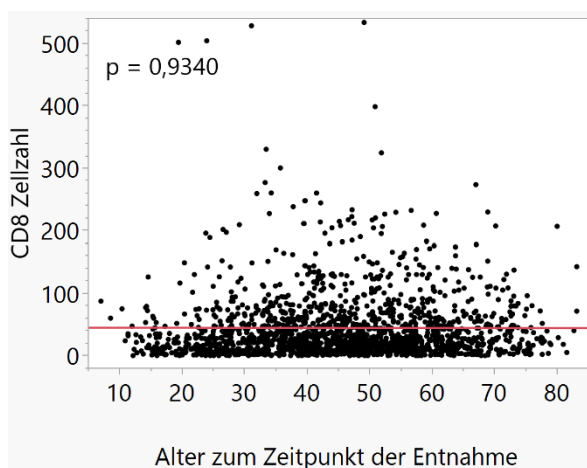


Abbildung 15: Bivariate Analyse von CD8-Zellzahl und Patient\*innenalter. p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

Ein Zusammenhang zwischen CD8-Zellzahl und Tumorlokalisation lag bei der dichotomen Aufteilung in VS und Nicht-VS vor. Es wurde deutlich, dass VS mit geringerer durchschnittlicher CD8-Zellzahl (MW: 40,9) assoziiert werden konnten als Nicht-VS (MW: 57,0) ( $p=0,0113$ ). Auch im Vergleich der vier Untergruppen ergab sich eine signifikante Korrelation ( $p=0,0387$ ). Hier wird erkenntlich, dass HN-Schwannome die höchste CD8-Zellzahl (MW: 70,7) aufzeigten, während VS weiterhin mit der geringsten Zellzahl assoziiert waren (MW: 40,9). Laut Steel-Dwass bestand der größte Unterschied zwischen den beiden Gruppen VS und SN-Schwannome, hier jedoch ohne signifikanten  $p$ -Wert ( $p=0,0855$ ). Ein signifikanter Unterschied im Vergleich der sieben Untergruppen ergab sich nicht. Abbildung 16 verdeutlicht diesen Zusammenhang grafisch.

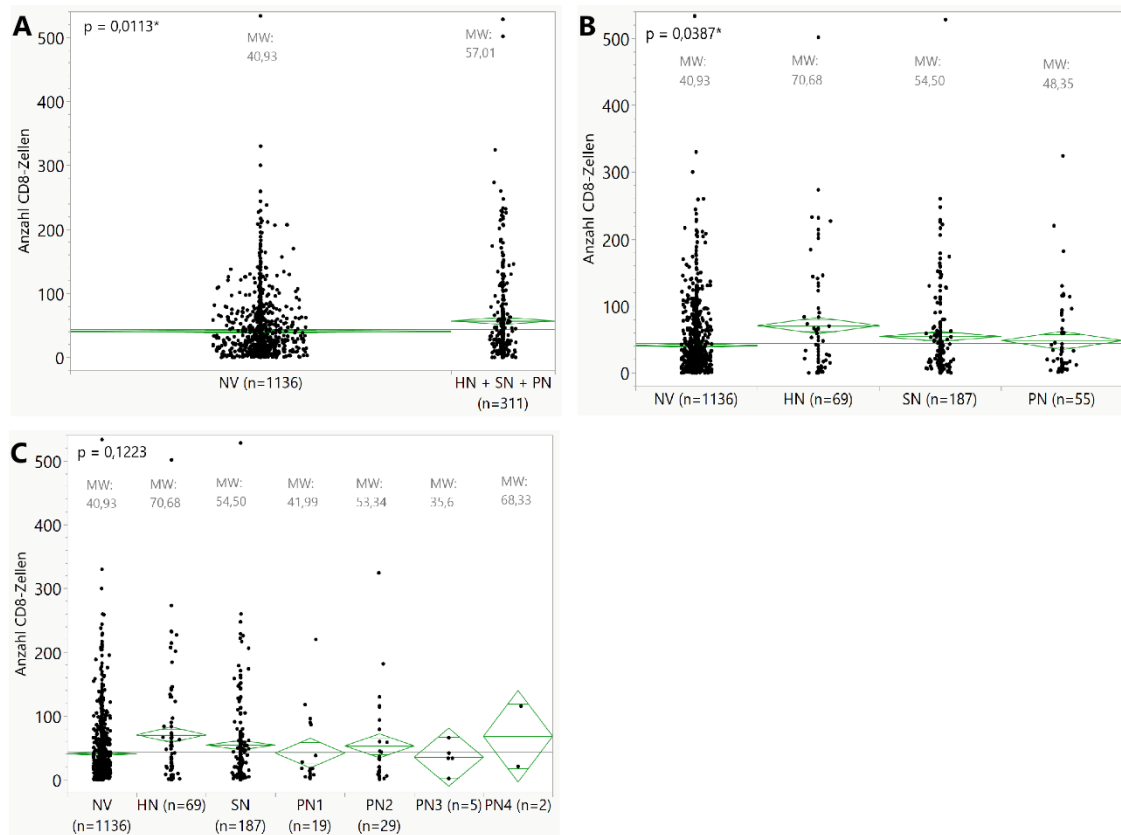


Abbildung 16: Anzahl CD8-Zellen in Zusammenhang mit dem Tumorursprung, aufgeteilt in VS und Nicht-VS (A), NV, HN, SN und restliche PN (B), VS und HN, SN, PN der oberen Extremität, PN der unteren Extremität, PN des Rumpfes und PN des Kopfes und Halses (C). Abkürzungen: MW (Mittelwert); NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); PN1 (Periphere Nerven obere Extremität); PN2 (Periphere Nerven untere Extremität); PN3 (Periphere Nerven Rumpf); PN4 (Periphere Nerven Kopf/ Hals);  $p$ -Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

### 3.2.2.3 CD68

Eine CD68-Immunpositivität war bei 1443 Tumoren nachweisbar, während die Färbung in 11 Fällen für eine weitere Analyse unzureichend war. Einen detaillierten Überblick liefert Tabelle 18.

Tabelle 18: CD68-Aufteilung in Scores. Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven. p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

		CD68-Score					p-Wert (Chi <sup>2</sup> )
		Gesamt	0: n (%)	1: n (%)	2: n (%)	3: n (%)	
<b>Gesamt</b>	1443	286 (19,8 %)	526 (36,5 %)	324 (22,5 %)	191 (13,2 %)	116 (8,0 %)	
<b>Geschlecht</b>							
<b>Weiblich</b>	724	134 (18,5 %)	266 (36,7 %)	165 (22,8 %)	100 (13,8 %)	59 (8,1 %)	0,7809
<b>Männlich</b>	719	152 (21,1 %)	260 (36,2 %)	159 (22,1 %)	91 (12,7 %)	57 (7,9 %)	
<b>Präoperative. Bestrahlung</b>							
<b>Nein</b>	1397	277 (19,8 %)	511 (36,6 %)	315 (22,5 %)	184 (13,2 %)	110 (7,9 %)	0,3106
<b>Ja</b>	38	7 (18,4 %)	10 (26,3 %)	8 (21,1 %)	7 (18,4 %)	6 (15,8 %)	
<b>Rezidivtumor</b>							
<b>Nein</b>	1369	269 (19,6 %)	490 (35,8 %)	311 (22,7 %)	186 (13,6 %)	113 (8,3 %)	0,1057
<b>Ja</b>	70	16 (22,9 %)	34 (48,6 %)	12 (17,1 %)	5 (7,1 %)	3 (4,3 %)	
<b>Lokalisation</b>							
<b>NV</b>	1132	209 (18,5 %)	352 (31,1 %)	274 (24,2 %)	182 (16,1 %)	113 (9,9 %)	<0,0001*
<b>HN, SN, PN</b>	311	77 (24,7 %)	174 (55,9 %)	50 (16,1 %)	7 (2,3 %)	3 (1,0 %)	
<b>Lokalisation</b>							
<b>NV</b>	1132	209 (18,5 %)	352 (31,1 %)	274 (24,2 %)	184 (16,1 %)	113 (9,9 %)	<0,0001*
<b>HN</b>	69	18 (26,1 %)	40 (58,1 %)	9 (13,0 %)	1 (1,4 %)	1 (1,4 %)	
<b>SN</b>	187	44 (23,5 %)	110 (58,8 %)	27 (14,4%)	5 (2,7 %)	1 (0,5 %)	
<b>PN</b>	55	15 (27,3 %)	24 (43,6 %)	14 (25,5 %)	1 (1,8 %)	1 (1,8 %)	

Die Geschlechteraufteilung zeigte keine signifikanten Unterschiede. In der ANOVA konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den durchschnittlichen Altersmittelwerten der einzelnen Scores gefunden werden (p=0,1426), dennoch ist zu erkennen, dass das Durchschnittsalter mit zunehmendem CD68-Score anstieg, siehe hierzu Abbildung 17.

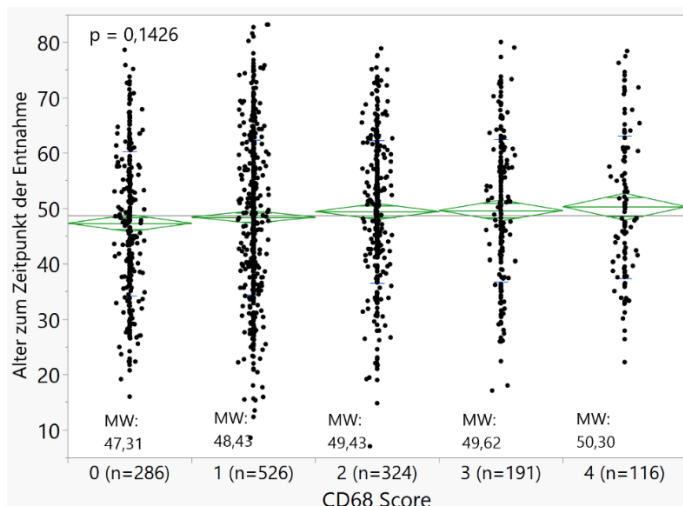


Abbildung 17: Darstellung von Patient\*innenalter in Zusammenhang mit CD68-Score. Abkürzungen: MW (Mittelwert). p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

Präoperativ bestrahlte Schwannome als auch Rezidivschwannome waren nicht mit signifikant höheren CD68-Scores assoziiert. Die Zusammenhänge der CD68-Immunopositivität und des Tumorursprungs stellten sich signifikant dar. In Tabelle 18 wird erkenntlich, dass VS mit deutlich höheren CD68-Scores assoziiert werden konnten als Nicht-VS ( $p < 0,0001$ ). Ähnlich verhielt es sich auch mit der Aufteilung in vier Untergruppen: Aus den Zahlen ist zu lesen, dass HN-Schwannome mit den niedrigsten CD68-Scores assoziiert werden konnten. Es folgten SN-Schwannome mit ähnlich niedrigen Scores. PN-Schwannome zeigten bereits eine höhere CD68-Expression, während VS durchgehend die höchste CD68-Expression aufwiesen ( $p < 0,0001$ ). Eine Einteilung in sieben Untergruppen, die den Tumorursprung detaillierter darstellen, war nicht möglich. Die einzelnen Gruppen wurden in der statistischen Analyse so klein, dass ein nicht aussagekräftiger p-Wert entstand.

Tabelle 19: Beziehung von Tumorursprung und CD68 bei einem Cut-Off von 2. Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant

	Gesamt	CD68 Cut-Off		p-Wert (Chi <sup>2</sup> )
		CD68 <2	CD68 ≥2	
<b>Gesamt</b>	1443	812 (56,3 %)	631 (43,7 %)	
<b>Lokalisation</b>				
NV	1132	561 (49,6 %)	571 (50,4 %)	<0,0001*
HN, SN, PN	311	251 (80,7 %)	60 (19,3 %)	
<b>Lokalisation</b>				
NV	1132	561 (49,6 %)	571 (50,4 %)	<0,0001*

<b>HN</b>	69	58 (84,1 %)	11 (15,9 %)	
<b>SN</b>	187	154 (82,4 %)	33 (17,6 %)	
<b>PN</b>	55	39 (70,9 %)	16 (29,1 %)	

Für eine vereinfachte Darstellung Zusammenhänge der CD68-Immunpositivität und des Tumorursprungs siehe Tabelle 19 und Abbildung 18. Für eine bessere Übersichtlichkeit wurde für die Grafiken die dichotome Verteilung nach einem Cut-Off von 2 verwendet. Hier wird in allen Grafiken ersichtlich, dass VS deutlich dem höheren CD68-IHC-Score zugeordnet werden konnten als Nicht-VS ( $p < 0,0001$ ). HN-Schwannome konnten am häufigsten zu der dichotomen Gruppe hinzugezählt werden, die einen CD68-Score unter 2 aufwies, nach ihnen SN-Schwannome.

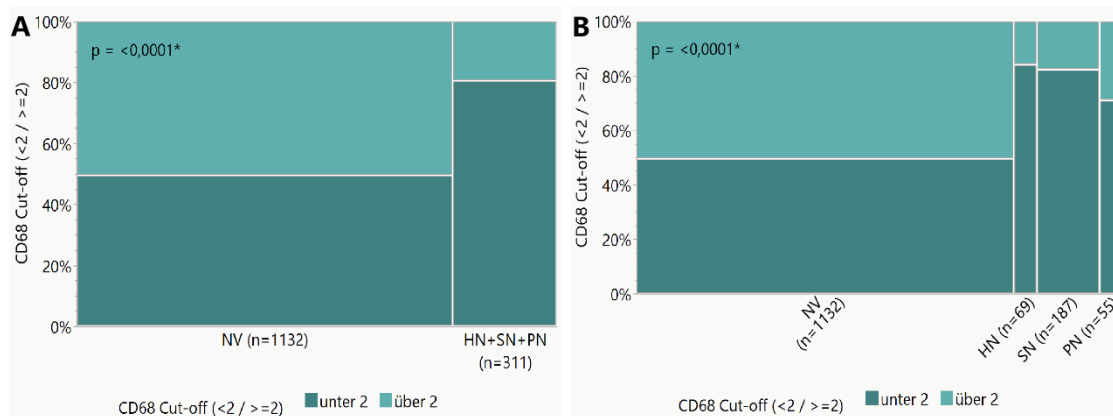


Abbildung 18: Zusammenhang von CD68-Cut-Off von 2 und Tumorursprung, aufgeteilt in VS und Nicht-VS (A), NV, HN, SN und restliche PN (B). Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven). p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

### 3.2.2.4 CD163

Eine CD163-Immunpositivität war bei 1442 Tumoren nachweisbar, während die Färbung in 12 Fällen für eine weitere Analyse unzureichend war. Tabelle 20 stellt den Zusammenhang der CD163-Scores und der klinischen Parameter sowie der Tumorursprünge dar.

Tabelle 20: Aufteilung von CD163 in Scores Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven). p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

		CD163-Score					p-Wert (Chi <sup>2</sup> )
		0: n (%)	1: n (%)	2: n (%)	3: n (%)	4: n (%)	
	<b>Gesamt</b>						

<b>Gesamt</b>	1442	529 (36,7 %)	562 (39,0 %)	228 (15,8 %)	94 (6,5 %)	29 (2,0 %)	
<b>Geschlecht</b>							
<b>Weiblich</b>	723	266 (36,8 %)	289 (40,0 %)	113 (15,6 %)	42 (5,8 %)	13 (1,8 %)	0,7627
<b>Männlich</b>	719	263 (36,6 %)	273 (38,0 %)	115 (16,0 %)	52 (7,2 %)	16 (2,2 %)	
<b>Präoperative Bestrahlung</b>							
<b>Nein</b>	1396	522 (37,4 %)	542 (38,8 %)	218 (15,6 %)	88 (6,3 %)	26 (1,8 %)	0,0051*
<b>Ja</b>	38	5 (13,2 %)	16 (42,1 %)	9 (23,7 %)	6 (15,8 %)	2 (5,3 %)	
<b>Rezidivtumor</b>							
<b>Nein</b>	1368	499 (36,5 %)	532 (38,9 %)	217 (19,8 %)	91 (6,7 %)	29 (2,1 %)	0,6443
<b>Ja</b>	70	29 (41,1 %)	27 (38,6 %)	11 (15,7 %)	3 (4,3 %)	0 (0 %)	
<b>Lokalisation</b>							
<b>NV</b>	1131	442 (39,1 %)	398 (35,2 %)	187 (16,5 %)	81 (7,2 %)	23 (2,0 %)	<0,0001*
<b>HN, SN, PN</b>	311	87 (28,0 %)	164 (52,7 %)	41 (13,2 %)	13 (4,2 %)	6 (1,9 %)	

Kein Zusammenhang bestand bei der Geschlechteraufteilung. In der ANOVA konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den durchschnittlichen Altersmittelwerten der einzelnen Scores gefunden werden ( $p=0,0005$ ), es ist zu erkennen, dass das Durchschnittsalter mit zunehmendem CD163-Score anstieg, bis auf eine Ausnahme bei dem CD163-Score von 3, siehe hierzu Abbildung 19. Das Durchschnittsalter bei einem Score von 0 betrug 47,1, während das Durchschnittsalter bei einem Score von 4 56,6 Jahre betrug.

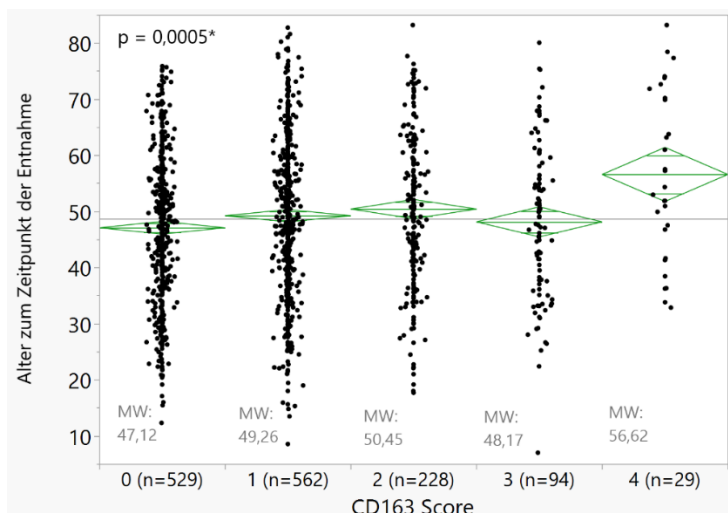


Abbildung 19: Darstellung von Patient\*innenalter in Zusammenhang mit CD163-Score. Abkürzungen: MW (Mittelwert). p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

Zwar zeigte der Rezidivzustand keine signifikanten Ergebnisse, jedoch war zu sehen, dass Rezidivtumore seltener höheren CD163 Scores zugeordnet werden konnten als Primärtumore. Präoperativ bestrahlte Schwannome korrelierten signifikant ( $p=0,0051$ ) mit höheren CD163-Werten.

Tabelle 21: Beziehung von Tumorursprung und CD163 bei einem Cut-Off von 2. Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

	Gesamt	CD163 Cut-Off		p-Wert (Chi <sup>2</sup> )
		CD163 <2	CD163 ≥2	
<b>Gesamt</b>	1442	1091 (75,7 %)	351 (24,3 %)	
<b>Lokalisation</b>				
NV	1131	840 (74,3 %)	291 (25,7 %)	0,0191*
HN, SN, PN	311	251 (80,7 %)	60 (19,3 %)	
<b>Lokalisation</b>				
NV	1131	840 (74,3 %)	291 (25,7 %)	0,0800
HN	69	54 (78,3 %)	15 (21,7 %)	
SN	187	155 (82,9 %)	32 (17,1 %)	
PN	55	42 (76,4 %)	13 (23,6 %)	

Der Zusammenhang mit dem Tumorursprung konnte in Tabelle 20 nur für die dichotome Aufteilung in VS und Nicht-VS geschehen, da eine Aufteilung in mehr Untergruppen zu kleine Fallgrößen ergab, was nicht aussagekräftige p-Werte hervorbringen würde. Um dies zu umgehen, wurde Tabelle 21 erstellt. Abbildung 20 stellt die Inhalte dieser Tabelle grafisch dar. Hier wurde erneut eine dichotome Aufteilung nach einem Cut-Off-Score

von 2 verwendet. Die Aufteilung nach VS und Nicht-VS ergab einen signifikanten Zusammenhang, hier wurde erkenntlich, dass Nicht-VS häufiger der Gruppe mit einem CD163-Score unter 2 zugeordnet werden konnten ( $p=0,0191$ ). Keine Signifikanz ergab sich bei dem Vergleich der vier Tumorursprungs-Gruppen.

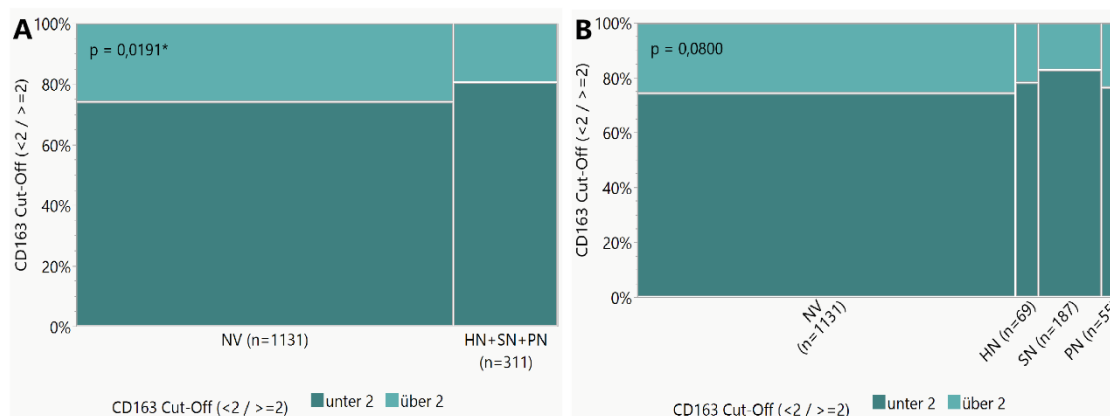


Abbildung 20: Zusammenhang von CD163-Score und Tumorursprung, aufgeteilt in VS und Nicht-VS (A), VS, HN und restliche periphere Nerven (B), NV, SN und restliche periphere Nerven (C), NV, HN, SN und restliche PN (D). Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven).  $p$ -Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

### 3.2.2.5 MIB1

Eine MIB1-Immunfärbung lag bei 1384 Tumoren vor. Die durchschnittliche Immunpositivität lag bei 1,44 % der Zellkerne, der Median bei 1,25. Die Verteilung nach Cut-Off beim Median ergab Folgendes: 685 Fälle (49,5 %) lagen mit der ihrer MIB1-Immunpositivität unter dem Median, 699 Fälle (50,5 %) oberhalb des Medians. Das Spektrum reichte von 0 – 13,5%. Einen detaillierten Überblick der Verteilung des Proliferationsmarkers liefert Tabelle 22.

Tabelle 22: Aufteilung des MIB1-Index. Abkürzungen: MW (Mittelwert); NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); PN1 (Periphere Nerven obere Extremität); PN2 (Periphere Nerven untere Extremität); PN3 (Periphere Nerven Rumpf); PN4 (Periphere Nerven Kopf/ Hals);  $p$ -Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

	MIB1		
	Gesamt	Mittelwert	p-Wert (ANOVA)
<b>Median</b>	1,25		
<b>Reichweite</b>	0 – 13,5		
<b>Gesamt</b>	1384	1,46	
<b>Geschlecht</b>			
Weiblich	699	1,41	0,0217*
Männlich	685	1,48	
<b>Präoperative Bestrahlung</b>			

<b>Nein</b>	1341	1,44	0,0614
<b>Ja</b>	36	1,54	
<b>Rezidivtumor</b>			
<b>Nein</b>	1317	1,44	0,3694
<b>Ja</b>	63	1,53	
<b>Lokalisation</b>			
<b>NV</b>	1118	1,31	<0,0001*
<b>HN, SN, PN</b>	266	2,03	
<b>Lokalisation</b>			
<b>NV</b>	1118	1,31	<0,0001*
<b>HN</b>	63	1,97	
<b>SN</b>	154	2,16	
<b>PN</b>	49	1,69	
<b>Lokalisation</b>			
<b>NV</b>	1118	1,31	<0,0001*
<b>HN</b>	63	1,97	
<b>SN</b>	154	2,16	
<b>PN1</b>	15	1,60	
<b>PN2</b>	28	1,80	
<b>PN3</b>	4	1,55	
<b>PN4</b>	2	1,00	

Der Zusammenhang von MIB1 und Geschlecht erwies sich als signifikant ( $p=0,0217$ ). Männliche Patienten hatten durchschnittlich einen höheren Wert (1,48 %) als weibliche Patientinnen (1,41 %). Es bestand in der bivariaten Analyse keine Korrelation zwischen Alter und erreichtem MIB1-Index, der p-Wert bei 0,4050, wie in Abbildung 21 zu erkennen. Ein signifikanter Unterschied zwischen präoperativer Bestrahlung oder dem Rezidivstatus bestand nicht.

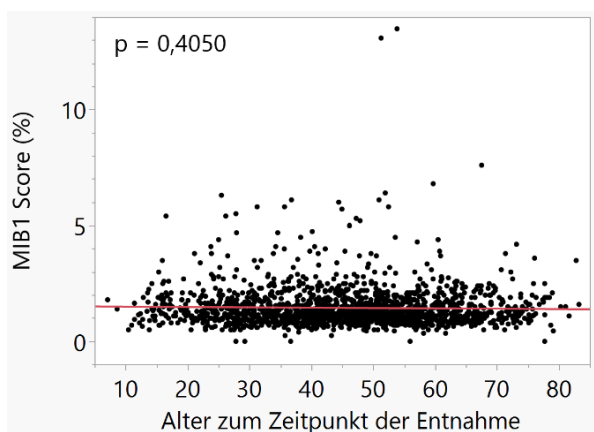


Abbildung 21: Bivariate Analyse von MIB1-Index und Patient\*innenalter. p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

Die Beziehung von MIB1-Proliferationsindex und Tumorlokalisation stellte sich in allen Aufteilungsmustern signifikant dar ( $p < 0,0001$ ). VS wiesen einen signifikant niedrigeren durchschnittlichen Proliferationsindex (1,31 %) als Nicht-VS auf (2,03 %). Der Vergleich von vier Untergruppen zeigt auf, dass die höchsten MIB1-Werte wieder bei SN-Schwannomen zu finden waren, gefolgt von Schwannomen von HN und PN. Auch hier zeigten VS die jeweils niedrigsten MIB1-Indices. Laut Steel-Dwass bestand der größte Unterschied sowohl zwischen SN-Schwannomen und VS, als auch zwischen HN-Schwannomen und VS (je  $p < 0,0001$ ). Der zweitgrößte Unterschied bestand zwischen PN-Schwannomen und VS ( $p = 0,0100$ ). Nur im Vergleich der sieben Untergruppen stachen Schwannome peripherer Nerven des Kopf/ Halsbereiches mit geringeren MIB1-Indices hervor (1,00 %). Es folgten VS (1,31 %), Schwannome peripherer Nerven des Rumpfes (1,55 %), Schwannome peripherer Nerven der oberen Extremität (1,60 %) und Schwannome peripherer Nerven der unteren Extremität (1,80 %), Schwannome anderer Hirnnerven (1,97 %), und mit den höchsten Werten SN-Schwannome (2,16 %). Laut Steel-Dwass lagen die einzigen signifikanten Unterschiede im Vergleich von VS und SN-Schwannomen ( $p < 0,0001$ ) und im Vergleich von HN-Schwannomen und VS ( $p = 0,0001$ ). Diese Zusammenhänge werden in Abbildung 22 grafisch dargestellt.

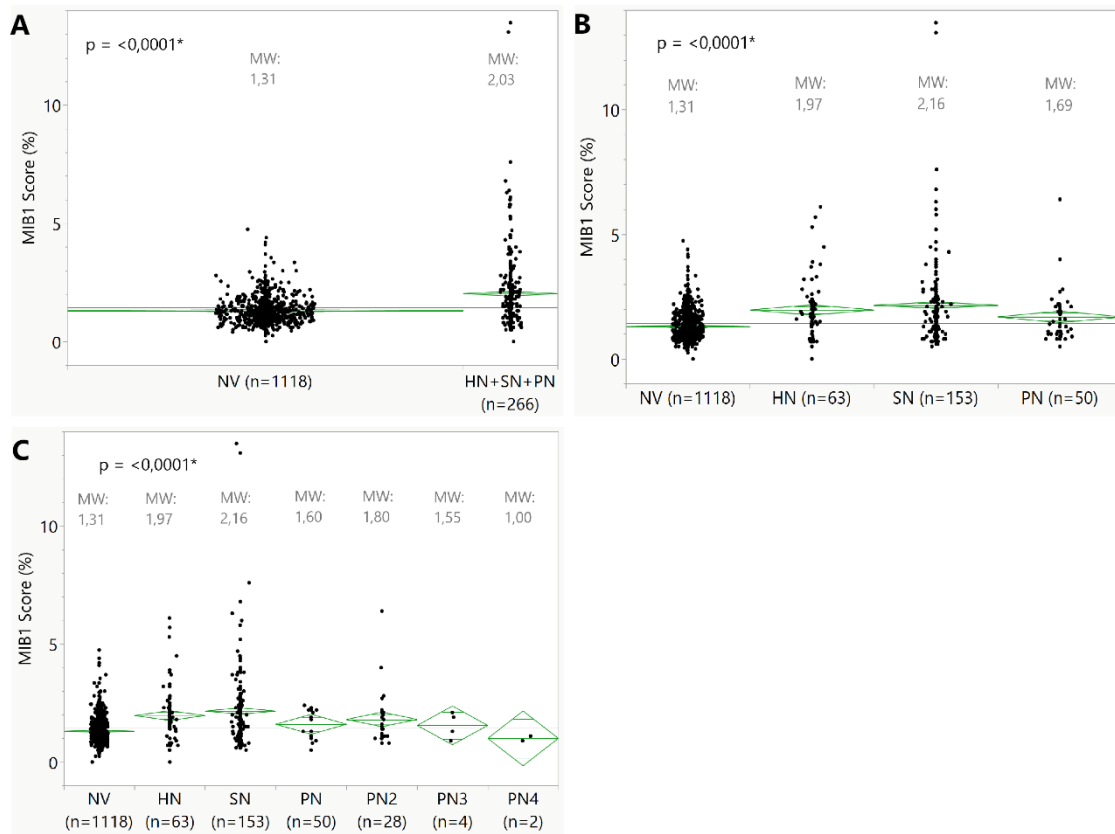


Abbildung 22: Verteilung von MIB1 bezogen auf den Tumorsprung, aufgeteilt in VS und Nicht-VS (A); NV, HN, SN und restliche PN (B), VS und HN, SN, PN der oberen Extremität, PN der unteren Extremität, PN des Rumpfes und PN des Kopfes und Halses (C). Abkürzungen: MW (Mittelwert); NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); PN1 (Periphere Nerven obere Extremität); PN2 (Periphere Nerven untere Extremität); PN3 (Periphere Nerven Rumpf); PN4 (Periphere Nerven Kopf/ Hals); p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

### 3.2.2.6 COX2

Eine Anfärbung mit COX2 war bei 1258 sporadischen Tumورproben erfolgreich, bei 196 Stanzeln kam es zu einer unzureichenden oder nicht bewertbaren Anfärbung. Für einen Überblick siehe Tabelle 23.

Tabelle 23: COX2-Aufteilung. Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven). p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

	Gesamt	COX2-Score					p-Wert (Chi <sup>2</sup> )
		0: n (%)	1: n (%)	2: n (%)	3: n (%)	4: n (%)	
<b>Gesamt</b>	1258	10 (0,8 %)	339 (26,9 %)	607 (48,3 %)	256 (20,3 %)	46 (3,7 %)	
<b>Geschlecht</b>							
<b>Weiblich</b>	633	3 (0,5 %)	152 (24,0 %)	311 (49,1 %)	146 (23,1 %)	21 (3,3 %)	0,0272*
<b>Männlich</b>	625	7	187	296	110	25	

		(1,1 %)	(29,9 %)	(47,4 %)	(17,6 %)	(4,0 %)		
<b>Präoperative Bestrahlung</b>	<b>Nein</b>	1214	10 (0,8 %)	333 (27,4 %)	584 (48,1 %)	243 (20,0 %)	44 (3,6 %)	0,0460*
	<b>Ja</b>	36	0 (0 %)	3 (8,3 %)	19 (52,8 %)	13 (36,1 %)	1 (2,8 %)	
<b>Rezidivtumor</b>	<b>Nein</b>	1189	7 (0,6 %)	320 (26,9 %)	577 (48,5 %)	244 (20,5 %)	41 (3,4 %)	0,0026*
	<b>Ja</b>	65	3 (4,6 %)	18 (27,7 %)	27 (41,5 %)	12 (18,5 %)	5 (7,7 %)	
<b>Lokalisation</b>	<b>NV</b>	947	2 (0,2 %)	224 (23,7 %)	472 (49,8 %)	213 (22,5 %)	36 (3,8 %)	<0,0001*
	<b>HN+SN+PN</b>	311	8 (2,6 %)	115 (37,0 %)	135 (43,4 %)	43 (13,8 %)	10 (3,2 %)	

Die Geschlechteraufteilung zeigte einen signifikanten Unterschied ( $p=0,0272$ ), männliche Patienten konnten den niedrigeren COX2-Scores zugeordnet werden. Präoperativ bestrahlte Schwannome zeigten keine klare Tendenz, jedoch fiel auf, dass mehr bestrahlte Schwannome COX2-Scores von 2 und 3 aufwiesen. In Bezug auf den Rezidivstatus fiel auf, dass Rezidivtumore höheren COX2-Scores zugeordnet werden konnten. Eine erhöhte COX2-Expression war mit höherem Alter verbunden ( $p=0,0209$ ), siehe Abbildung 23.

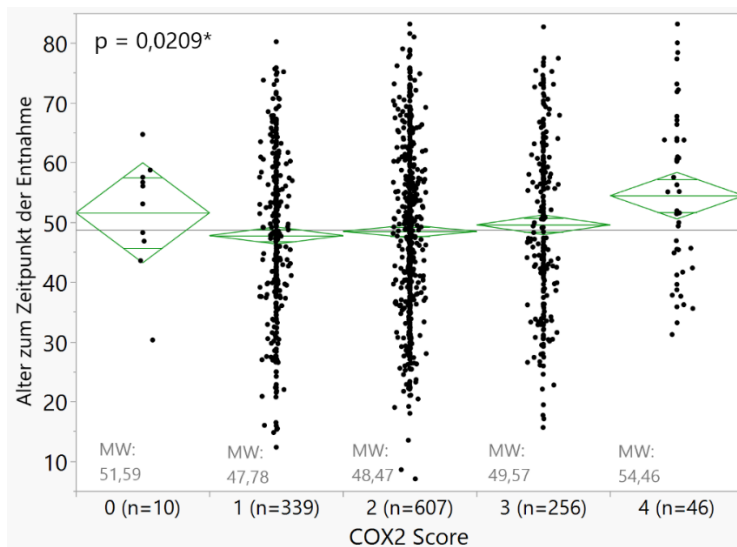


Abbildung 23: COX2 Score nach Alter. Abkürzungen: MW (Mittelwert). p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

Der Tumorursprung zeigte bei einer dichotomen Aufteilung in VS und Nicht-VS eine signifikante Korrelation ( $p < 0,0001$ ). VS konnten im Vergleich zu Nicht-VS in der dichotomen Aufteilung der Gruppe der höheren COX2-Scores zugeordnet werden, siehe hierzu Tabelle 24. Eine Aufteilung in kleinere Untergruppen war aufgrund nicht aussagekräftiger p-Werte nicht möglich.

Tabelle 24: Beziehung von Tumorursprung und COX2 bei einem Cut-Off von 2. Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven; p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant

	Gesamt	COX2 Cut-Off		p-Wert (Chi <sup>2</sup> )
		COX2 <2	COX2 ≥2	
<b>Gesamt</b>	1258	349 (27,7 %)	909 (72,3 %)	
<b>Lokalisation</b>				
NV	947	226 (23,9 %)	721 (76,1 %)	<0,0001*
HN, SN, PN	311	123 (39,5 %)	188 (60,5 %)	
<b>Lokalisation</b>				
NV	947	226 (23,9 %)	721 (76,1 %)	<0,0001*
HN	69	25 (36,2 %)	44 (63,8 %)	
SN	187	72 (38,5 %)	115 (61,5 %)	
PN	55	26 (47,3 %)	29 (52,7 %)	

In Abbildung 24 wird der Zusammenhang von COX2-Score und Tumorlokalisierung grafisch dargestellt. Die Einteilung erfolgte nach einem Cut-Off von 2, da die Gruppen sonst in der statistischen Analyse so klein wurden, dass ein nicht aussagekräftiger p-Wert entstand. Alle dargestellten Zusammenhänge waren signifikant ( $p < 0,0001$ ). In (A) wird erkenntlich, dass VS der Gruppe mit COX2-Expression über dem Cut-Off von 2 zuzuordnen waren. (B) zeigt, dass PN-Schwannome am häufigsten der dichotomen Gruppe zuzuordnen waren, die COX2-Scores von unter 2 erzielte, gefolgt von SN-Schwannomen. VS konnten am häufigsten der Gruppe mit COX2-Score über 2 zugeordnet werden.

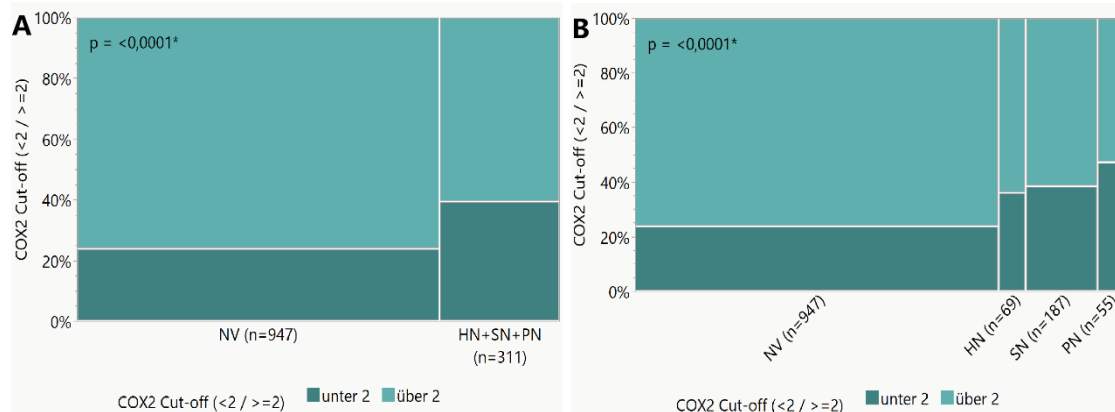


Abbildung 24: Zusammenhang von COX2-Score und Tumorursprung, aufgeteilt in VS und Nicht-VS (A), NV, HN, SN und restliche PN (B). Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven). p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

### 3.2.3 Zusammenhang der immunhistochemischen Marker untereinander

Um zu verstehen, inwiefern die einzelnen IHC-Marker miteinander in Zusammenhang stehen, wurden bivariate Analysen, ANOVA als auch Mosaikplots angefertigt. Anhand der bivariaten Analyse wurden CD3, CD8 und MIB1 miteinander verglichen. CD3 korrelierte in der bivariaten Analyse stark mit der Expression von CD8 mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,74 ( $p < 0,0001$ ). Der Korrelationseffizient  $r^2$  betrug bei CD3 und MIB1 zwar nur 0,03, dennoch ließ sich eine Tendenz betrachten, mit der bei höherer CD3-Zellzahl auch höhere MIB1-Scores assoziiert waren ( $p < 0,0001$ ). Die Beziehung von CD8 und MIB1 hatte einen Korrelationseffizient  $r^2$  von 0,02, dennoch zeigte sich ein signifikanter ( $p < 0,0001$ ) Zusammenhang, hier gingen ebenso mit höherem CD8-Score höhere MIB1-Werte einher.

ANOVA fand Anwendung in der Analyse der Expression von CD3, CD8 oder MIB1 in Zusammenhang mit den Markern CD68, CD163 und COX2. Diese können Tabelle 25 entnommen werden. Es fällt auf, dass fast alle Zusammenhänge hochsignifikant waren bis auf die Beziehung zwischen MIB1 und CD68. Lediglich das Verhältnis von MIB1 zu CD68 und CD163 zeigt keine streng ansteigende Tendenz bei höherer Markerexpression.

Tabelle 25: Darstellung der Zusammenhänge der Expression der Marker CD3, CD8, MIB1 sowie CD68, CD163 und COX2. p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

	CD3	CD8	MIB1
<b>CD68</b> Score 0	MW: 22,3		MW: 1,39

Score 1	MW: 38,7	MW: 23,8	MW: 1,51
Score 2	MW: 53,6	MW: 37,0	MW: 1,45
Score 3	MW: 61,1	MW: 52,8	MW: 1,40
Score 4	MW: 87,7	MW: 60,3	MW: 1,32
<b>p-Wert (ANOVA)</b>	<0,0001*	MW: 77,1 <0,0001*	0,0501
<b>CD163</b>			
Score 0	MW: 21,3	MW: 23,6	MW: 1,27
Score 1	MW: 45,8	MW: 44,8	MW: 1,52
Score 2	MW: 72,4	MW: 65,8	MW: 1,51
Score 3	MW: 98,2	MW: 86,1	MW: 1,80
Score 4	MW: 112,2	MW: 104,4	MW: 1,51
<b>p-Wert (ANOVA)</b>	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*
<b>COX2</b>			
Score 0	MW: 22,0	MW: 20,7	MW: 1,38
Score 1	MW: 25,6	MW: 25,4	MW: 1,39
Score 2	MW: 39,4	MW: 39,9	MW: 1,50
Score 3	MW: 83,4	MW: 72,2	MW: 1,53
Score 4	MW: 110,7	MW: 104,9	MW: 1,61
<b>p-Wert (ANOVA)</b>	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*

Um die Verhältnisse der Marker CD68, CD163 und COX untereinander zu untersuchen, wurden Mosaikplots angewendet. Da diese jedoch aufgrund der niedrigen Gruppenzahlen nicht aussagekräftige p-Werte ergaben, wurde sich für eine dichotome Aufteilung nach Cut-Offs entschieden. Die Darstellung in Tabelle 26 dient der Vereinfachung und soll die Beziehung der Marker zueinander verdeutlichen. Die Prozentzahlen in der jeweiligen Zeile zeigen auf, dass eine erhöhte Expression eines Markers immer mit einer erhöhten Expression des anderen Markers einhergeht.

Tabelle 26: Darstellung der Zusammenhänge der Expression der Marker CD68, CD163 und COX2. p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

	<b>CD163</b>		<b>COX2</b>	
	CD163<2	CD163 ≥2	COX2<2	COX2 ≥2
<b>CD68</b>				
CD68 <2	67,7 %	20,8 %	90,2 %	46,0 %
CD68 ≥2	32,3 %	79,2 %	9,8 %	54,0 %
<b>p-Wert</b>	<0,0001*		<0,0001*	
<b>COX2</b>				
COX2<2	96,0 %	72,1 %		
COX2 ≥2	4,0 %	27,9 %		
<b>p-Wert</b>	<0,0001*			

### 3.2.4 Zusammenhang von klinischen Charakteristika und Tumormikroenvironment

### 3.2.4.1 Zusammenhang von Alter und Tumormikroenvironment

Ein höheres Alter korrelierte nicht mit der CD3- oder CD8-Zellzahl, ebenso wie mit der Expression von CD68. CD163 zeigte einen signifikanten Zusammenhang mit dem Alter ( $p=0,0005$ ), wobei bei fast allen Scores eine höhere CD163-Expression mit einem höheren Patient\*innenalter korrelierte ( $p=0,0005$ ), ebenso wie bei COX2 ( $p=0,0327$ ), siehe Abbildung 25. Eine Korrelation mit Alter und MIB1 bestand ebenfalls nicht.

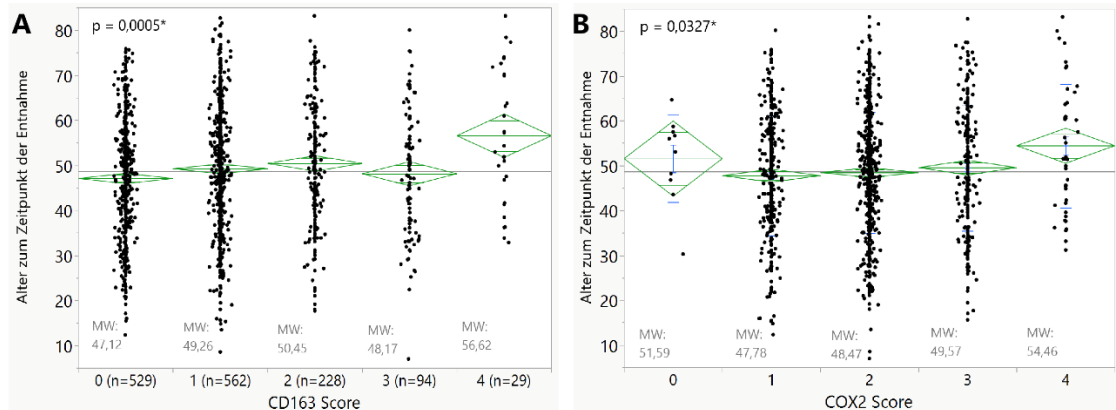


Abbildung 25: Zusammenhang von Patient\*innenalter und CD163 (A) sowie COX2 (B). Abkürzungen: MW (Mittelwert). p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

### 3.2.4.2 Zusammenhang von präoperativer Bestrahlung und Tumormikroenvironment

Schwannome, die im Vorfeld einer Strahlenbehandlung unterzogen worden sind, wiesen erhöhte CD163-Expression auf ( $p=0,0051$ ). Während von nichtbestrahlten Schwannomen 76,2 % Score 0 und 1 erreichten, waren es bei bestrahlten Schwannomen lediglich 55,3 %. Score 3 und 4 erreichten nichtbestrahlte Schwannome in 8,2 %, bei bestrahlten Schwannomen 21,1%. Auch wiesen vorbestrahlte Schwannome eine deutlich höhere COX2-Immunopositivität auf ( $p=0,0460$ ). Den Überblick hierüber zeigen Tabelle 27 und Tabelle 28. Die Zusammenhänge sind bereits in den Kapiteln 3.2.2.4 und 3.2.2.6 beschrieben. Korrelationen mit den anderen IHC-Markern lagen keine vor.

Tabelle 27: Zusammenhang von CD163-Score und präoperativer Bestrahlung. p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

	Gesamt	CD163-Score					p-Wert (Chi <sup>2</sup> )
		0: n (%)	1: n (%)	2: n (%)	3: n (%)	4: n (%)	
<b>Gesamt</b>	1434	527 (36,8 %)	558 (38,9 %)	227 (15,8 %)	94 (6,6 %)	28 (2,0 %)	
<b>Präoperative Bestrahlung</b>							

<b>Nein</b>	1396	522 (37,4 %)	542 (38,8 %)	218 (15,6 %)	88 (6,3 %)	26 (1,9 %)	0,0051*
<b>Ja</b>	38	5 (13,2 %)	16 (42,1 %)	9 (23,7 %)	6 (15,8 %)	2 (5,3 %)	

Tabelle 28: Zusammenhang von COX2-Score und präoperativer Bestrahlung. p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

		COX2-Score					p-Wert (Chi <sup>2</sup> )
	<b>Gesamt</b>	<b>0: n (%)</b>	<b>1: n (%)</b>	<b>2: n (%)</b>	<b>3: n (%)</b>	<b>4: n (%)</b>	
<b>Gesamt</b>	1250	10 (0,8 %)	336 (26,9 %)	603 (48,2 %)	256 (20,5 %)	45 (3,6 %)	
<b>Präoperative Bestrahlung Nein</b>	1214	10 (8,2 %)	333 (27,4 %)	584 (48,1 %)	243 (20,0 %)	44 (3,6 %)	0,0460*
<b>Ja</b>	36	0 (0 %)	3 (8,3 %)	19 (52,8 %)	13 (36,1 %)	1 (2,8 %)	

### 3.2.4.3 Zusammenhang von Rezidiv und Tumormikroenvironment

Im Zusammenhang mit der Expression der immunhistochemischen Markern und dem Rezidivvorkommen ergab sich lediglich eine signifikante Korrelation (p=0,0026). Rezidivschwannome wiesen geringere COX2-Scores auf als Primärschwannome. Signifikante Korrelationen mit CD3, CD8, CD68 als auch CD163 und MIB bestanden keine. Tabelle 29 stellt diesen Zusammenhang nochmals dar.

Tabelle 29: Zusammenhang von COX2-Score und Rezidiv. p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

		COX2-Score					p-Wert (Chi <sup>2</sup> )
	<b>Gesamt</b>	<b>0: n (%)</b>	<b>1: n (%)</b>	<b>2: n (%)</b>	<b>3: n (%)</b>	<b>4: n (%)</b>	
<b>Gesamt</b>	1254	10 (0,8 %)	338 (27,0 %)	604 (48,2 %)	256 (20,4 %)	46 (3,7 %)	
<b>Rezidivtumor Nein</b>	1189	7 (0,6 %)	320 (26,9 %)	577 (48,5 %)	244 (20,5 %)	41 (3,4 %)	0,0026*
<b>Ja</b>	65	3 (4,6 %)	18 (27,7 %)	27 (41,5 %)	12 (18,5 %)	5 (7,7 %)	

### 3.2.5 Zusammenhang von Tumorursprung und Tumormikroenvironment

Bei erneuter Zusammenfassung der bereits erfassten Werte mit dem Schwerpunkt TME stellte sich heraus, dass bei beinahe allen IHC-Markern hochsignifikante Korrelationen beim Vergleich VS gegen Nicht-VS bestanden: VS wiesen demnach eine niedrigere Anzahl an CD3- als auch CD8-Zellen, eine stärkere CD68-Expression, geringere MIB1-Expression sowie verstärkte COX2-Immunopositivität als Nicht-VS auf, siehe hierzu Tabelle 30. Für die IHC-Marker CD68, CD163 und COX2 wurde die duale Aufteilung durch Cut-Offs gewählt. Der Cut-Off lag bei 163 bei 1, da sich hier die Verteilung am gleichmäßigsten zeigte.

Tabelle 30: TME der Tumorlokalisationen im Vergleich VS und Nicht-VS (=Rest). Signifikante p-Werte sind mit Asterisk (\*) markiert.

	VS	Nicht-VS	p-Wert
<b>CD3</b>	MW: 38,78	MW: 70,65	<0,0001*
<b>CD3</b>	MW: 40,93	MW: 57,01	0,0113*
<b>CD68&gt;2</b>	50,4 %	19,3 %	<0,0001*
<b>CD163&gt;1</b>	39,1 %	28,0 %	0,0003*
<b>MIB1</b>	MW: 1,31 %	MW: 2,10 %	<0,0001*
<b>COX2&gt;2</b>	76,1 %	60,5 %	<0,0001*

Auch bei der detaillierteren Aufteilung in vier Untergruppen von Tumorlokalisationen zeigen sich signifikante Unterschiede.

Tabelle 31: TME der Tumorlokalisationen im Vergleich VS, HN, SN und PN. Signifikante p-Werte sind mit Asterisk (\*) markiert.

	VS	HN	SN	PN	p-Wert
<b>CD3</b>	MW: 38,78	MW: 89,80	MW: 68,60	MW: 53,61	<0,0001*
<b>CD3</b>	MW: 40,93	MW: 70,68	MW: 54,50	MW: 48,35	0,0387*
<b>CD68&gt;2</b>	50,4 %	15,9 %	17,7 %	29,1 %	<0,0001*
<b>CD163&gt;1</b>	39,1 %	34,8 %	26,2 %	25,5 %	0,0021*
<b>MIB1</b>	MW: 1,31 %	MW: 1,99 %	MW: 2,23 %	MW: 1,85 %	<0,0001*
<b>COX2&gt;2</b>	76,1 %	63,8 %	61,5 %	52,7 %	<0,0001*

In Tabelle 31 wird erkennbar, dass bei CD3- als auch CD8-Zellzahl jeweils HN-Schwannome mit der höchsten Durchschnittszahl am weitesten vorne lagen ( $p < 0,0001 - 0,0387$ ). Bei der Expression von CD68 erreichten von VS die meisten einen höheren Score, während von HN-Schwannomen die wenigsten den höheren Score erreichten. Generell lässt sich anhand von Tabelle 31 sagen, dass die höheren Scores bei VS erreicht wurden, während HN-, SN- und PN-Schwannome niedrigere Scores erreichten ( $p < 0,0001$ ). Auch bei CD163 erreichten die meisten VS den Score über oder gleich 2,

während HN-, SN- und PN-Schwannome weniger häufig einen höheren Score erreichten ( $p=0,0021$ ). Beim Vergleich von MIB1 und dem Tumorursprung wurde erkenntlich, dass SN-Schwannome mit den höchsten Mittelwerten dem höchsten Proliferationsindex zugeordnet werden konnten, während VS die niedrigsten Mittelwerte aufwiesen. Eine Aufteilung in alle sieben Untergruppen war aufgrund zu kleiner Gruppengrößen nicht mehr möglich.

Allerdings muss hier betont werden, dass die Unterschiede zwischen den Tumorlokalisationen nur solange bestanden, wenn zusätzlich mit VS verglichen wurde. Wurden nur noch die Schwannome von HN, SN, PN miteinander verglichen, bestand unter den Gruppen kein signifikanter Unterschied in der Expression der Marker mehr.

Aus den oben beschriebenen Zusammenhängen kann geschlussfolgert werden, dass VS weniger T-Lymphozytenmarker wie CD3 und CD8 exprimierten, dafür aber mehr Makrophagenmarker wie CD68 und CD163. Auch COX2 wurde im Vergleich zu Nicht-VS verstärkt exprimiert. MIB1 wurde verstärkt in Nicht-VS exprimiert.

### **3.3 Tumorsyndrome**

Für die bessere Vergleichbarkeit und Verhinderung von Interferenz wurden die Parameter NF2 und Schwannomatose einzeln betrachtet und bewertet. Von allen erhobenen Schwannomen waren 290 NF2-assoziiert. 63 Schwannome waren Schwannomatose-assoziiert. Da die Tumorsyndrom-assoziierten Schwannome eine eigene Entität darstellen, die die Analyse der sporadischen Schwannome verfälschen würde, soll im folgenden Kapitel nur auf die Tumorsyndrome eingegangen werden.

#### **3.3.1 Neurofibromatose 2**

Von den 290 Fällen waren 151 (52,1 %) Patientinnen weiblichen Geschlechts und 139 (47,9 %) Patienten männlichen Geschlechts. Das Durchschnittsalter der NF2-Patient\*innen betrug 28,7 Jahre und lag zwischen 10 und 72 Jahren. Histopathologisch lagen in 280 Fällen (96,6 %) ein Schwannom vor, in 3 (1,0 %) ein Plexiformes Schwannom und in 7 Fällen (2,4 %) ein Hybridnervenscheidentumor. Es wurden 137 VS (47,2 %) und 153 Schwannome anderer Lokalisation (52,8 %) ausgewertet. Von diesen

konnten 19 (6,6 %) anderen Hirnnerven, 65 (22,4 %) Spinalnerven und 24 (8,3 %) peripheren Nerven der oberen Extremität zugeordnet werden. Zur unteren Extremität konnten 15 Fälle (5,3 %) gezählt werden. Rumpf-Schwannome waren mit 19 Fällen (6,6 %) und Schwannome peripherer Nerven im Bereich Kopf/ Hals mit 11 Fällen (3,8 %) vertreten, siehe hierzu Abbildung 26. Häufigste Lokalisation waren neben N. vestibularis (137 Fälle - 47,2 %) periphere Nerven im Thoraxbereich (10 Fälle – 3,4 %). Mit 7 Fällen (2,4 %) waren an dritthäufigster Stelle Schwannome an C4, N. trigeminus, N. ischiadicus und Nerven am Unterarm. Mit 6 Fällen (2,1 %) folgten Schwannome im Becken/ Glutealbereich, Kopf- und Halsbereich und an C2.

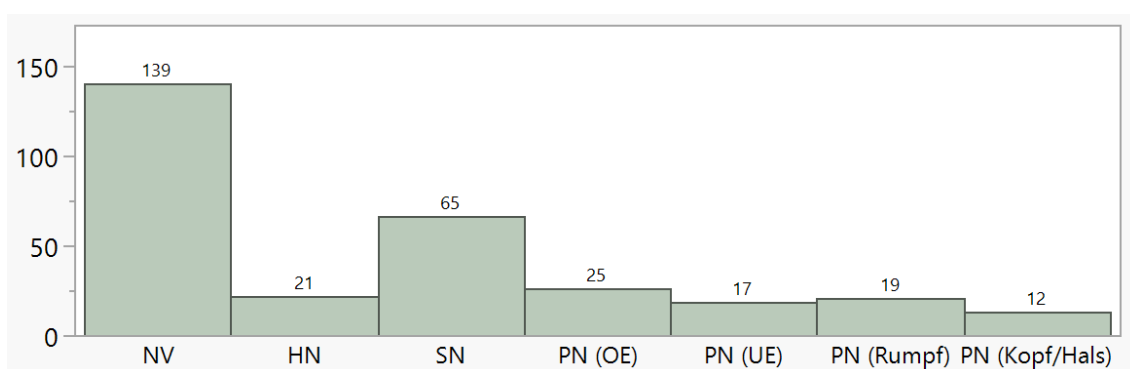


Abbildung 26: Tumorurprung der NF2-Schwannome. NV: N.vestibularis, HN: andere Hirnnerven; SN: Spinalnerven; PN (OE): Periphere Nerven der oberen Extremität; PN (UE): Periphere Nerven der unteren Extremität; PN (Rumpf): Periphere Nerven des Rumpfes; PN (Kopf, Hals): Periphere Nerven von Kopf und Hals.

In 138 Fällen (50,2 %) war die linke Körperhälfte betroffen, in 136 (49,5%) die rechte. In einem Fall waren es beide Körperhälften (0,3 %). Präoperativ bestrahlt wurden 8 (2,8 %) der Schwannome, in einem Fall fehlte die Angabe. Ein Rezidiv lag bei 38 (13,2 %) der Fälle vor, in 2 Fällen fehlte eine Angabe.

### 3.3.2 Schwannomatose

Insgesamt wurden 63 Schwannomatose-assoziierte Schwannome ausgewertet, dieser Parameter wurde nur bei Nicht-VS erhoben. Von diesen Fällen waren 29 (46,0 %) weiblichen, 34 Fälle (54,0 %) männlichen Geschlechts. Das Durchschnittsalter lag bei 46,6 Jahren und reichte von 16 bis 77 Jahren. In 33 Fällen (53,2 %) war die linke, in 29 Fällen (46,8 %) die rechte Körperhälfte betroffen. Die häufigsten Tumorlokalisationen

waren Spinalnerven mit 21 Fällen (33,3 %), periphere Nerven der unteren Extremität mit 17 Fällen (27,0 %), der oberen mit 10 Fällen (15,9 %). Es folgten periphere Nerven im Kopf/ Halsbereich mit 7 (11,1 %) und Hirnnerven als auch periphere Nerven im Rumpfbereich mit je 4 Fällen (je 6,3 %), siehe auch Abbildung 27. Detaillierter betrachtet konnten folgende Tumorlokalisationen als die häufigsten beschrieben werden: 13 Fälle (20,6 %) betrafen periphere Nerven des Unterschenkels, nicht genauer klassifiziert, 7 (11,1 %) den N. ischiadicus. 6 Schwannome (9,5 %) wurden im Bereich des Halses operiert, 4 (6,3 %) betrafen L3 und 3 (4,8 %) L2. Histopathologisch lagen in 2 Fällen (3,2 %) ein Hybridnervenscheidentumor vor, in 61 Fällen (96,8 %) ein Schwannom. Präoperativ bestrahlt wurden keine der Schwannomatose-assoziierten Schwannome. Ein Rezidiv lag in 11 Fällen (17,5 %) vor.

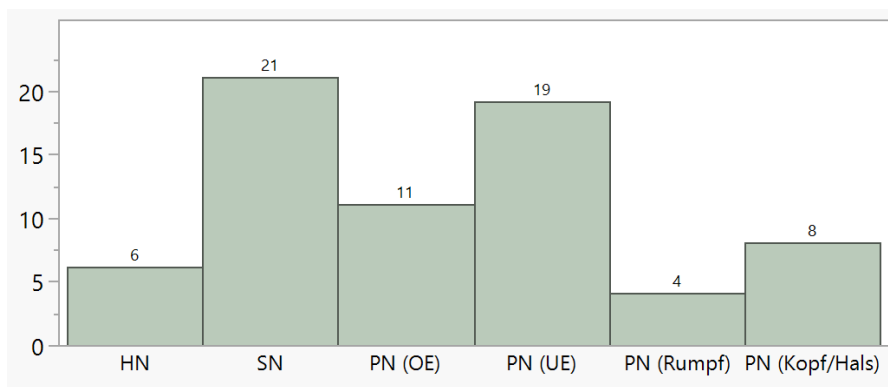


Abbildung 27: Tumorurprung der Schwannomatose-assoziierten Schwannome. NV: N.vestibularis, HN: andere Hirnnerven; SN: Spinalnerven; PN (OE): Periphere Nerven der oberen Extremität; PN (UE): Periphere Nerven der unteren Extremität; PN (Rumpf): Periphere Nerven des Rumpfes; PN (Kopf, Hals): Periphere Nerven von Kopf und Hals.

### 3.3.3 Vergleich sporadischer mit Tumorsyndrom-assoziiierter Schwannome

Tabelle 32 beleuchtet den Vergleich der sporadischen Schwannome mit NF2 und Schwannomatose.

Tabelle 32: Vergleich sporadischer mit NF2- als auch Schwannomatose-assoziierten Schwannomen. Für die Analyse der Lokalisationen wurden VS exkludiert. Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); PN1 (Periphere Nerven obere Extremität); PN2 (Periphere Nerven untere Extremität); PN3 (Periphere Nerven Rumpf); PN4 (Periphere Nerven Kopf/ Hals); NF2: Neurofibromatose Typ II; neg: negativ. p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant

	Gesamt	Sporadisch	NF2	Schwannomatose	p-Wert
<b>Geschlecht weiblich</b>	908	728 (80,2 %)	151 (16,6 %)	29 (3,2 %)	0,6533
<b>männlich</b>	899	726 (80,8 %)	139 (15,5 %)	34 (3,8 %)	
<b>Körperseite</b>					

<b>links</b>	892	721 (80,8 %)	138 (15,5 %)	33 (3,7 %)	0,9796
<b>rechts</b>	876	711 (81,2 %)	136 (15,5 %)	29 (3,3 %)	
<b>Präoperative Bestrahlung</b>					0,4204
<b>Nein</b>	1752	1404 (80,1 %)	281 (16,0 %)	63 (3,6 %)	
<b>Ja</b>	46	38 (82,6 %)	8 (17,4 %)	0 (0 %)	
<b>Rezidivtumor</b>					<0,0001*
<b>Nein</b>	1682	1380 (82,0 %)	250 (14,9 %)	52 (3,1 %)	
<b>Ja</b>	119	70 (58,8 %)	38 (31,9 %)	11 (9,3 %)	
<b>Lokalisation</b>					<0,0001*
<b>HN</b>	92	69 (75,0 %)	19 (20,7 %)	4 (4,3 %)	
<b>SN</b>	274	188 (68,6 %)	65 (23,7 %)	21 (7,7 %)	
<b>PN</b>	162	55 (34,0 %)	69 (42,6 %)	38 (23,5 %)	
<b>Lokalisation</b>					<0,0001*
<b>HN</b>	92	69 (75,0 %)	19 (20,7 %)	4 (4,3 %)	
<b>SN</b>	274	188 (68,6 %)	65 (23,7 %)	21 (7,7 %)	
<b>PN1</b>	53	19 (35,8 %)	24 (45,3 %)	10 (18,9 %)	
<b>PN2</b>	61	29 (47,5 %)	15 (24,6 %)	17 (27,9 %)	
<b>PN3</b>	28	5 (17,9 %)	19 (67,9 %)	4 (14,2 %)	
<b>PN4</b>	20	2 (10,0 %)	11 (55,0 %)	7 (35,0 %)	

Unter den Rezidivtumoren waren 31,9 % einer NF2 und 9,3 % einer Schwannomatose zuzuordnen. Ein Zusammenhang zwischen präoperativer Bestrahlung, betroffener Körperseite oder Geschlecht ergab sich nicht.

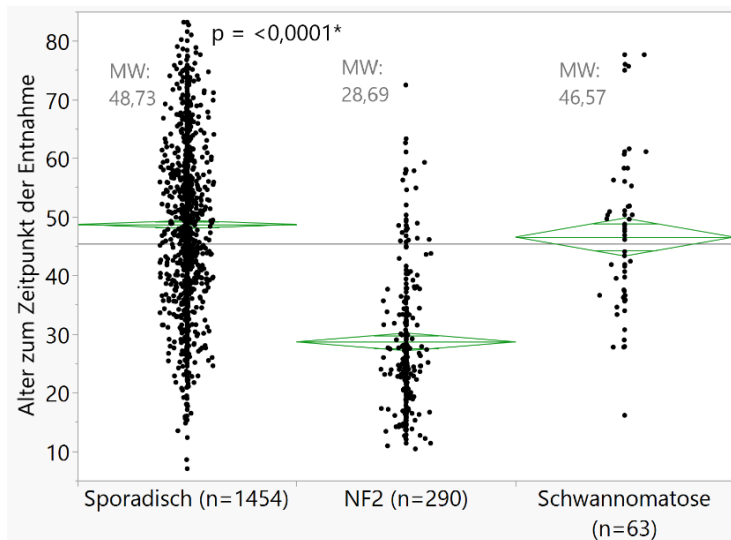


Abbildung 28: Darstellung von Patient\*innenalter in Zusammenhang mit Tumorsyndromen oder sporadischem Auftreten. Abkürzungen: MW (Mittelwert); NF2 (Neurofibromatose Typ II). *p*-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

Wie in Abbildung 28 ersichtlich, standen NF2-assoziierte Schwannome mit deutlich jüngeren Alter in Zusammenhang als sporadische oder Schwannomatose-assoziierte

Tumore. Während Patient\*innen durchschnittlich mit 28,69 Jahren operiert wurden, waren Schwannomatose-Patient\*innen im Durchschnitt 46,57 Jahre und Betroffenen mit sporadischen Schwannomen durchschnittlich 48,73 Jahre alt ( $p < 0,0001$ ).

Da der Parameter Schwannomatose nur bei Nicht-VS erhoben wurde, wurden VS zur Analyse der Lokalisation exkludiert. Während bei sporadischen Tumoren im Vergleich der Schwannome von HN, SN und PN die meisten Schwannome an Spinalnerven auftraten (274 von 528), waren bei NF2- und Schwannomatose-assoziierten Tumoren die meisten peripheren Nerven, die nicht HN oder SN entsprachen, von Schwannomen betroffen. Im detaillierteren Vergleich wird erkenntlich, dass bei sporadischen Schwannomen die häufigste periphere Lokalisation Nerven der unteren Extremität waren, während bei NF2-Tumoren die häufigste Lokalisation periphere Nerven der oberen Extremität und bei Schwannomatose erneut Nerven der unteren Extremität waren.

Da VS in Tabelle 32 ausgeklammert wurden, wurde die Analyse nochmals mit nur NF2-Schwannomen und allen Tumorlokalisationen, also auch VS gemacht. In Tabelle 33 soll der Vergleich von sporadischen Schwannome zu NF2-assoziierten Schwannomen gezogen werden. Hierfür wurden Schwannomatose-assoziierte Schwannome der Analyse exkludiert.

*Tabelle 33: Vergleich sporadischer mit NF2-assoziierten Schwannomen in Bezug auf den Tumorursprung. Schwannomatose-assoziierte Schwannome wurden dieser Analyse exkludiert. Abkürzungen: NV (N. vestibularis); HN (Hirnnerven, nicht N. vestibularis); SN (Spinalnerven); PN (Periphere Nerven, nicht Hirnnerven, nicht Spinalnerven); PN1 (Periphere Nerven obere Extremität); PN2 (Periphere Nerven untere Extremität); PN3 (Periphere Nerven Rumpf); PN4 (Periphere Nerven Kopf/ Hals). p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.*

	<b>Gesamt</b>	<b>Sporadisch</b>	<b>NF2</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Gesamt</b>	1744	1454 (83,4 %)	290 (16,6 %)	
<b>Lokalisation</b>				
NV	1279	1142 (89,3 %)	137 (10,7 %)	<0,0001*
HN + SN + PN	465	312 (67,1 %)	153 (32,9 %)	
<b>Lokalisation</b>				
NV	1279	1142 (89,3 %)	137 (10,7 %)	<0,0001*
HN	88	69 (78,4 %)	19 (21,6 %)	
SN	253	188 (74,3 %)	65 (25,7 %)	
PN	124	55 (44,4 %)	69 (55,6 %)	
<b>Lokalisation</b>				
NV	1279	1142 (89,3 %)	137 (10,7 %)	<0,0001*
HN	88	69 (78,48 %)	19 (21,6 %)	
SN	253	188 (74,39 %)	65 (25,7 %)	
PN1	43	19 (44,2 %)	24 (55,8 %)	
PN2	44	29 (65,9 %)	15 (34,1 %)	
PN3	24	5 (20,8 %)	19 (79,2 %)	
PN4	13	2 (15,4 %)	11 (84,6 %)	

In Bezug auf die Tumorlokalisation ergaben sich gemäß Tabelle 33 nur signifikante Korrelationen ( $p < 0,0001$ ). Verglichen mit sporadischen Schwannomen befinden sich mehr NF2-assoziierte Schwannome an anderen Lokalisationen als dem achten Hirnnerven. Im detaillierten Vergleich lässt sich sehen, dass NF2-assoziierte Schwannome am häufigsten an peripheren Nerven auftraten ( $p = < 0,0001$ ).

Tabelle 34: Verteilung der Immunhistochemischen Marker bei Sporadischen, NF2- und Schwannomatose-assoziierten Schwannomen. Der Parameter Schwannomatose wurde nur bei Nicht-VS erhoben.. p-Werte mit Asterisk (\*) markiert sind signifikant.

	<b>Gesamt</b>	<b>Sporadisch</b>	<b>NF2</b>	<b>Schwannomatose</b>	<b>p-Wert</b>
<b>CD3 – Gesamt</b>	1793	1446	284	63	
<b>Mittelwert</b>	44,04	45,64	28,86	75,81	<0,0001*
<b>CD8 – Gesamt</b>	1794	1447	284	63	
<b>Mittelwert</b>	42,98	44,39	30,11	68,69	<0,0001*
<b>CD68</b>					
<b>Score 0</b>	400	286 (71,5 %)	101 (25,3 %)	13 (3,2 %)	<0,0001*
<b>Score 1</b>	690	526 (76,2 %)	125 (18,1 %)	39 (5,7 %)	
<b>Score 2</b>	373	324 (86,9 %)	40 (10,7 %)	9 (2,4 %)	
<b>Score 3</b>	207	191 (92,3 %)	14 (6,8 %)	2 (1,0 %)	
<b>Score 4</b>	120	116 (96,7 %)	4 (3,3 %)	0 (0 %)	
<b>CD163</b>					
<b>Score 0</b>	686	529 (77,1 %)	144 (21,0 %)	13 (1,9 %)	<0,0001*
<b>Score 1</b>	692	562 (81,2 %)	98 (14,2 %)	32 (4,6 %)	
<b>Score 2</b>	274	228 (83,2 %)	33 (12,1 %)	13 (4,7 %)	
<b>Score 3</b>	107	94 (87,9 %)	9 (8,4 %)	4 (3,7 %)	
<b>Score 4</b>	31	29 (93,6 %)	1 (3,2 %)	1 (3,2 %)	
<b>MIB1 - Gesamt</b>	1696	1384	258	54	
<b>Mittelwert</b>	1,45	1,44	1,38	1,99	<0,0001*
<b>COX2</b>					
<b>Score 0</b>	18	10 (55,6 %)	7 (38,8 %)	1 (5,6 %)	<0,0001*
<b>Score 1</b>	485	339 (69,9 %)	127 (26,2 %)	19 (3,9 %)	
<b>Score 2</b>	737	607 (82,4 %)	104 (14,1 %)	26 (3,5 %)	
<b>Score 3</b>	303	256 (84,5 %)	31 (10,2 %)	16 (5,3 %)	
<b>Score 4</b>	48	46 (95,8 %)	1 (2,1 %)	1 (2,1 %)	

Tabelle 34 geht auf die Unterschiede der Expression von IHC-Markern im Vergleich von sporadischen und Tumorsyndrom-assoziierten Schwannomen ein. Während NF2-assoziierte Tumore deutlich niedrigere CD3-Zellzahlen als sporadische Schwannome aufwiesen, zeigten Schwannomatose-assoziierte Tumore eine deutlich höhere Immunpositivität. So verhielt es sich auch bei der CD8-Zellzahl (je  $p < 0,0001$ ). Während CD68 bei beiden Tumorsyndrom-assoziierten Schwannomen in geringer Intensivität exprimiert wurde als bei sporadischen, zeigte sich dieser Zusammenhang bei CD163 als auch COX2 nur bei NF2-Schwannomen. Der MIB1-Index zeigte sich nur signifikant im

Vergleich von Schwannomatosen mit sporadischen Tumoren, während NF2-Schwannome ähnliche Expressionsmuster aufwiesen.

## 4 Diskussion

Um die im Rahmen der vorliegenden Arbeit identifizierten Zusammenhänge einzuordnen, werden die erzielten Ergebnisse nun im Kontext des aktuellen Forschungsstands betrachtet. Die vorliegende ist die bisher größte Arbeit, die VS und Nicht-VS miteinander vergleicht. Bisher wurden VS nicht in diesem Umfang mit Schwannomen anderer Lokalisation bezüglich inflammatorischer Marker verglichen. Da sich Schwannome unabhängig ihrer Lokalisation histologisch gleichen, werden die meisten Erkenntnisse von VS in der Regel auf Nicht-VS übertragen, und vice versa.

### 4.1 Sporadische Schwannome

#### 4.1.1 *Klinische und demografische Merkmale von Schwannomen*

In der vorliegenden Arbeit konnte beobachtet werden, dass Frauen häufiger präoperativ bestrahlt wurden. Dies kann in Zusammenhang mit der Therapieentscheidung von Frauen stehen, da eine Bestrahlung anstelle einer radikalen Tumorexzision bei VS eine legitime Behandlungsalternative darstellt.<sup>250,251</sup>

Patient\*innen mit Schwannomen im Rumpfbereich waren im Durchschnitt am jüngsten, während die ältesten Patient\*innen am häufigsten von Schwannomen im Bereich der Spinalnerven betroffen waren. Einen Unterschied im Vergleich von VS und Nicht-VS gab es nicht. Da in der vorliegenden Kohorte NF2 als auch Schwannomatose herausgerechnet wurden, lässt sich vermuten, dass nicht diagnostizierte Tumorsyndrome zu dem gehäuften Auftreten von Rumpf-Schwannomen bei jüngeren Patient\*innen führten. Es besteht die Möglichkeit, dass das frühe Auftreten von Schwannomen im Rumpfbereich bei jungen Patient\*innen durch eine Kombination verschiedener Faktoren verursacht wird, die nicht ausschließlich auf anatomische Gegebenheiten zurückzuführen sind. Im Gegensatz zum Schädel- und Kopfbereich, wo die enge Anatomie dazu führen könnte, dass Schwannome früher klinisch apparent werden und Patient\*innen in einem jüngeren Alter neurochirurgische Behandlungen benötigen, sind die anatomischen Verhältnisse im Rumpfbereich weniger restriktiv. Schwannome in diesem Bereich könnten daher gar nicht operativ behandelt werden müssen oder zu einer späteren klinischen Manifestation führen. Es kann also nicht allein die Anatomie für die frühe

Manifestation der Rumpf-Schwannome verantwortlich sein. Es wäre möglich, dass andere, nicht untersuchte genetische Syndrome neben einer *NF2*-Mutation einen Einfluss genommen haben. Ein Großteil der Rumpf-Schwannome waren *NF2*-assoziiert. Von insgesamt 1807 untersuchten Tumorproben waren 290 *NF2*-assoziiert (16,0 %). 63 davon konnten einer Schwannomatose zugeordnet werden (3,5 %) Unter den insgesamt 28 Rumpf-Schwannomen waren 19 *NF2*-assoziiert (67,9 %) und 4 mit Schwannomatose (14,2 %). Ein Bias könnte das häufige Auftreten von Tumorsyndrom-assoziierten Schwannomen in der untersuchten Kohorte sein, da das Institut als Zentrum für *NF2*- und Schwannomatose-assoziierte Tumoren spezialisiert ist.

Insgesamt 5 sporadische Rumpf-Schwannome sind eine zu kleine Gruppe, um aussagekräftige p-Werte zu ergeben, daher wurde in Kapitel 3.2.5 lediglich das TME aller peripheren Schwannome an Extremitäten, Rumpf und Kopf/ Hals betrachtet. Ein Vergleich des TME der 5 sporadischen Rumpf-Schwannomen mit dem TME der anderen Lokalisationen (als eine Gruppe zusammengefasst) ergab selbst bei nicht mehr aussagekräftigen p-Werten keine signifikanten Ergebnisse, sodass davon ausgegangen werden kann, dass das TME von Rumpf-Schwannomen sich nicht signifikant von dem TME der anderen Schwannome unterscheidet. Warum Patient\*innen mit Schwannomen am Rumpf jünger sind, ist also am ehesten dem Zufall zuzuschreiben oder bleibt weiterhin ungeklärt.

Rezidivschwannome wurden signifikant seltener am achten Hirnnerv als an anderen peripheren Nerven operiert. Hier könnte mit höherer chirurgischer Sorgfalt argumentiert werden, da die Entfernung eines VS aufgrund höherer Fallzahlen häufiger in der Neurochirurgie in Tübingen durchgeführt wird als die Exstirpation eines Schwannoms an anderer Stelle. Möglicherweise wurde in diesem Fall besonderer Wert auf eine umfassende Tumorexzision gelegt, sowohl aufgrund der beengten anatomischen Verhältnisse als auch aufgrund der Sorge vor einem Rezidiv.

#### ***4.1.2 Bewertung der immunhistochemischen Marker***

Die Unterschiede in den immunhistochemischen Markern werden in dieser Studie insbesondere in Bezug auf die verschiedenen Tumorlokalisationen untersucht. Die Auswertung der IHC-Marker für VS erfolgte von 2019 bis 2021 durch Vanessa Ries und

Elisa-Maria Suhm, während die Bewertung der IHC-Marker sowie der klinischen Daten für alle anderen Tumore von der Verfasserin dieser Arbeit zwischen 2021 und 2023 durchgeführt wurde. Für CD68, CD163 und COX2 wurden die gleichen Scoringsysteme verwendet. Bei der computergestützten Analyse der MIB1-Indices wurde die bereits für VS verwendeten Einstellungen verwendet. Alle Personen haben die Tumore nach denselben Kriterien ausgewertet, jedoch kann eine gewisse Interrater-Variabilität nicht vollständig ausgeschlossen werden. Lediglich die Marker CD3 und CD8, die durch die Zählung einzelner immunopositiver Zellen erfasst wurden, dürften kaum von einer Abweichung zwischen den Beurteiler\*innen betroffen sein.

#### ***4.1.3 Unterschiede im Tumormikromilieu zwischen Vestibular- und Nicht-Vestibularschwannomen***

In der Expression des Markers CD3 fand sich eine signifikant geringere Expression bei VS verglichen mit Nicht-VS. HN-Schwannome, gefolgt von SN-Schwannomen wiesen die meisten CD3-Zellen verglichen mit VS auf. Eine erhöhte Expression von CD3- als auch CD8-Zellen wurde häufig mit einem protektiven, anti-tumorösen TME bei verschiedenen malignen Tumoren in Verbindung gebracht.<sup>161,186,187,189,190</sup> Dies lässt die Theorie zu, dass in VS möglicherweise ein weniger protektives Milieu herrscht als in beispielsweise anderen Hirnnerv- oder auch Spinalnerv-Schwannomen.

Ähnlich verhielt es sich auch mit der Expression von CD8. Hier waren im VS erneut die geringsten CD8-Zellzahlen zu finden, die meisten erneut in anderen Hirnnerv-Schwannomen. Die zweithöchste Expression von CD8 fand wie bei CD3 auch in Spinalschwannomen statt. Die Expression beider Marker korrelierte stark miteinander ( $p < 0,0001$  bei einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,74$ ). Beide Marker beschreiben eine ähnliche Population von Lymphozyten. Es ist davon auszugehen, dass CD8 spezifischer für zytotoxische T-Lymphozyten ist, da dieses Protein hier exprimiert wird, während CD3 auf allen reifen T-Zellen exprimiert wird.<sup>184-186</sup> Interessant ist hier, dass die p-Werte verglichen mit denen der CD3-Expression höher, also weniger signifikant, waren. Es wird zwar CD8 als spezifischerer Marker für anti-tumoröse T-Zellen verwendet,<sup>186</sup> die in dieser Arbeit bedeutenderen Zusammenhänge ergaben sich allerdings

mit CD3, dem unspezifischen Marker. Zur Rolle von CD8 in VS existiert noch nicht viel Forschung.

Entgegen der Theorie, dass Lymphozyten eher zu einem anti-tumorösen Mikromilieu beitragen können, steht die Arbeit von Li et al.<sup>252</sup> Sie untersuchten verschiedene Lymphozyten, darunter auch CD3 und CD8 bei an benignen als auch malignen Schwannomen erkrankten Personen. Sie fanden mehr tumorinfiltrierende CD8-Zellen in malignen als in gutartigen Schwannomen. Li et al. beschrieben die Expression von CD3 als auch CD8 in benignen Schwannomen als nicht signifikant erhöht im Vergleich zu gesunden Schwann-Zellen. Dieses Verhältnis kann in der vorliegenden Arbeit nicht beurteilt werden, da keine Kontrollen an gesunden Schwann-Zellen erfolgt sind. Amit et al. beschrieben eine höhere CD8-Zell-Infiltration bei schnell wachsenden VS.<sup>253</sup> Aufgrund der geringen Fallzahl von nur 17 VS lässt sich die Aussagekraft der Studie von Amit et al. diskutieren, da sie zumindest im Widerspruch zu den üblicherweise zugeschriebenen Eigenschaften von CD8-Zellen im Tumormikroenvironment steht. Es weist also einige Evidenz darauf hin, dass die Rolle der CD8-positiven Zellen im TME von Schwannomen eine weit komplexere ist als die Aufrechterhaltung eines protektiven TME.

Es kann also nicht sicher gesagt werden, dass die geringere CD8-Expression in VS verglichen mit Schwannomen anderer Lokalisationen für ein stärker pro-tumoröses Mikromilieu sorgt, auch wenn dies bei anderen Tumorentitäten der Fall war.<sup>188</sup> Denkbar für die Zukunft wären weitere Analysen der Rolle von CD8 im TME von Schwannomen, vor allem im Zusammenhang mit weiteren pro-tumorösen Faktoren wie Immun-Checkpoint-Genen wie PD-1 oder Tregs. Mehr hierzu siehe 4.1.7.

Die Behauptung, in VS lasse sich ein pro-tumoröseres Mikromilieu finden als in Schwannomen anderer Lokalisationen, wird ebenfalls gestützt durch die Betrachtung der Expression von CD68 in der vorliegenden Arbeit. Hier zeigte sich eine signifikant höhere Expression in VS verglichen mit dem Rest der Lokalisationen. In Bezug auf verschiedene Malignome wurde CD68 bereits mehrfach in Zusammenhang mit einem schlechteren Outcome als auch dem Gesamtüberleben gestellt, so war eine erhöhte CD68 Expression u.a. mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium bei Nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen (Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC) assoziiert,<sup>254</sup> mit

ungünstigerer klinischer Präsentation und schwerwiegenderen Symptomen bei Hodgkin Lymphomen,<sup>199</sup> sowie ausgedehnterer Tumorgröße, schlechterem Gesamtüberleben als auch Metastasierung bei Mammakarzinomen.<sup>201,255</sup> Auch in Ovarialtumoren und Larynxtumoren konnte eine erhöhte CD68-Expression mit schlechterem Outcome assoziiert werden.<sup>200,204,256</sup>

Es existieren einige Arbeiten, in denen über die Bedeutung der CD68-Expression bei VS berichtet wird: Bi et al.<sup>257</sup> beschrieben ebenfalls einen positiven Zusammenhang zwischen CD68-Expression und verstärktem Tumorwachstum bei VS, ebenso De Vries et al.<sup>135</sup> Auch Leisz et al. beschrieben eine Korrelation von CD68-Expression und Tumorprogression bei VS,<sup>258</sup> als auch Amit et al.<sup>253</sup> Dies deutet auch darauf hin, dass ein höheres CD68-Aufkommen mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist. Wach et al. konnten in ihrer Arbeit zu VS eine Korrelation von CD68 und dem MIB1-Score nachweisen.<sup>259</sup> Wie bereits in Kapitel 1.10.3 erwähnt, kann eine prognostische Beurteilung von MIB1 bei Schwannomen nicht erfolgen, dennoch ist zu erwähnen, dass in der vorliegenden Arbeit keine Korrelation zwischen dem Proliferationsindex MIB1 und dem CD68-Score nachgewiesen werden konnte (ANOVA:  $p = 0,0501$ ).

Bei der Betrachtung der Expression von CD163 in der vorliegenden Arbeit lassen sich ähnliche Schlüsse bezogen auf das TME bei Schwannomen ziehen. Auch hier weisen VS eine höhere CD163-Expression auf als Nicht-VS. Das passt erneut zur Theorie, dass sich möglicherweise ein pro-tumoröseres Milieu bei VS als in anderen Schwannomen finden lässt. Vries et al. beschrieben bereits 2013 ein höheres Wachstumsmuster in VS, welche eine stärkere CD163-Expression aufwiesen.<sup>134</sup> Perry et al. beschrieben, dass das Verhältnis von CD163 zu CD68-Zellen in VS mit ungünstiger Tumorkontrolle signifikant höher war.<sup>260</sup> Auch in der vorliegenden Arbeit wurde eine höhere CD163-Expression mit höheren MIB1-Indices in Zusammenhang gebracht (ANOVA:  $p < 0,0001$ ). In der Studie von Nisenbaum et al. war eine erhöhte CD163-Positivität mit einem ungünstigeren Hörergebnis assoziiert.<sup>261</sup> Auch in Malignomen konnte CD163 mit einem höheren Tumorstadium in Zervixkarzinomen, Ovarialkarzinomen, Mammakarzinomen und Kopf-Hals-Tumoren assoziiert werden.<sup>201-203,255,256</sup> Einige Arbeiten gehen sowohl auf CD68 als auch auf CD163 als korrelierende Marker für ein schlechteres Outcome ein.<sup>201,258</sup>

In der dichotomen Aufteilung in VS und Nicht-VS zeigte CD163 in der vorliegenden Arbeit zwar signifikante p-Werte, dies war jedoch nicht mehr der Fall bei der Betrachtung der vier unterschiedlichen Tumorursprungsgruppen NV, HN, SN und PN. Die Expression von CD163 unterschied sich also nicht signifikant zwischen den unterschiedlichen Nicht-VS. Es war lediglich zu beobachten, dass Nicht-VS häufiger einen CD163-Score von 0 oder 1 erreichten, während VS häufiger den Score von mindestens 2 erreichten. Dies ist insofern interessant, da CD163 von den verwendeten Makrophagenmarkern als der vermeintlich spezifischere Marker verstanden wird.<sup>203</sup> Während anhand von CD68 nicht unterschieden werden kann, welche Richtung die Polarisierung der Makrophagen angenommen hat, kann CD163 eher M2-ähnlichen Makrophagen zugeordnet werden.<sup>197,198</sup> Während beide Marker stark in der Monozyten-Makrophagen-Linie exprimiert werden, wurde die Expression von CD68 bereits auf Fibroblasten und anderen nicht-myeloischen Zellpopulationen wie Karzinomen und Melanomen nachgewiesen.<sup>196,262</sup> Es ist also denkbar, dass der Marker CD68 in der vorliegenden Arbeit nicht nur an Makrophagen, sondern auch an Fibroblasten gebunden hat und somit stärker positiv war als CD163. Das könnte einen Erklärungsansatz liefern, weshalb CD68 als unspezifischerer Marker signifikantere Zusammenhänge im Vergleich der Tumorursprünge zeigte. Betrachtet man diesen Zusammenhang in Hinblick auf die Polarisierung von Makrophagen in M1- und M2-Typ Makrophagen, kann damit argumentiert werden, dass die M2-Makrophagen, hier dargestellt durch CD163, eine weniger eindeutige Rolle im TME von Schwannomen spielen als zuerst angenommen. Die meisten Daten über die Wirkung von M1- oder M2-Makrophagen stammen aus Arbeiten mit malignen Tumoren und daher können diese Erkenntnisse gegebenenfalls nicht so einfach auf benigne Tumore wie Schwannome übertragen werden.

Auch ist die Polarisierung von Makrophagen ein komplexer Prozess und lässt sich nicht in eine eindeutig pro-tumoröse und eine anti-tumoröse Seite aufteilen. Im TME von Vestibularisschwannomen können Makrophagen unterschiedlicher Polarisation unterschiedliche Auswirkungen auf das Tumorwachstum und andere Aspekte haben. De Vries et al. stellten in ihrer Studie eine Verbindung zwischen der Expression von pro-tumorösen M2-TAM und dem Tumorwachstum bei sporadischen VS her.<sup>134</sup> Es wurde auch festgestellt, dass schnell wachsende Tumore eine erhöhte Mikrogefäßdichte aufweisen, wobei eine signifikante Assoziation zwischen der Expression von M2-

Makrophagen und dieser kapillären Dichte bestand.<sup>134</sup> Im Gegensatz dazu fanden Perry et al. einen starken Zusammenhang zwischen M1-TAM und progressivem VS-Wachstum nach subtotaler Resektion.<sup>260</sup> Huo et al. konnten 2024 keine signifikanten Unterschiede in den Anteilen von M1- und M2-Makrophagen zwischen schnell und langsam wachsenden VS finden.<sup>263</sup> Ebenso konnte bei ihnen keine positive Korrelation zwischen Tumorwachstumsrate und der Expression von CD68 und CD163 gefunden werden.

In Zusammenschau der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit kann schlussgefolgert werden, dass in VS weniger T-Lymphozyten, dafür aber mehr Makrophagen zu finden waren als in Nicht-VS.

In der vorliegenden Arbeit wurden Makrophagen durch die Marker CD68 und CD163 charakterisiert, obwohl diese Methode nicht die präziseste zur Unterscheidung zwischen M1- und M2-Makrophagen darstellt, da CD68-Makrophagen nicht einem Subtyp zugeordnet werden können.<sup>196-198,262</sup> Dennoch handelt es sich um eine etablierte Praxis.<sup>233,235</sup> Es gibt allerdings noch andere Marker, die ebenfalls einer immunhistochemischen Färbung zugänglich sind. Keiner dieser Marker allerdings weist mit einer 100-prozentigen Sensitivität die spezifischen Makrophagen nach. Für eine genauere Differenzierung könnten M1-Makrophagen immunhistochemisch über Marker wie CD11b<sup>165,264,265</sup> oder CD80,<sup>261,266</sup> und M2-Makrophagen über CD206 nachgewiesen werden.<sup>267</sup> So könnte eine detailliertere immunhistochemische Differenzierung des TMEs in die verschiedenen TAMs geschehen. Anhand der noch im Institut vorhandenen TMA könnte auch für die hier untersuchte Kohorte eine präzisere Klassifikation geschehen. Immunhistochemische Marker müssen vorerst erworben werden, der Kostenaufwand ist verglichen mit anderen Methoden jedoch überschaubar.

Das Konzept eines pro-tumorösen Milieus lässt die Annahme zu, dass auch das Tumorwachstum durch einen erhöhten Wachstumsindex, hier MIB1, begünstigt sein könnte. Diese Vermutung wird in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht bestätigt. VS wiesen signifikant weniger MIB1-Positivität auf als Nicht-VS auf, wobei die höchsten MIB1-Zellzahlen bei Spinalschwannomen gefunden wurden. Es bestand ein signifikanter Unterschied lediglich zwischen VS und Spinalnerven beziehungsweise Hirnnerven, die nicht dem N. vestibulocochlearis entsprachen. Besonders interessant ist, dass neben der bemerkenswert geringen Expression bei VS, SN- und HN-Schwannomen eine

widersprüchlich hohe Expression von MIB1 aufweisen, während CD68 und CD163 am geringsten in Schwannomen von SN und HN exprimiert waren. Dies entspricht nicht den bisherigen Untersuchungsergebnissen, in denen häufig eine hohe Expression von CD68 und CD163 mit einer höheren Tumorstadiumsrate in Verbindung steht.<sup>134,135,257,258,260,268</sup> In der Prüfung des Zusammenhangs von MIB1 und CD68 wurde das Signifikanzniveau knapp verfehlt. (ANOVA:  $p=0,501$ ), jedoch bestand eine Korrelation zwischen MIB1 und CD163 (ANOVA:  $p<0,0001$ ). Die Ursachen hierfür könnten vielfältig sein. Da CD68 ein Marker für Makrophagen darstellt und MIB1 die Zellproliferation kennzeichnet, kann ihre Expression durch voneinander unabhängige Prozesse wie zum Beispiel die Interaktion mit anderen Zelltypen reguliert werden. Es fehlt noch eine abschließende Begründung, warum CD68 als einziger Marker nicht mit der Expression von MIB1 korreliert. Ein höherer CD163-Score korrelierte mit einem höheren MIB1-Wert von Score 0-3, aber nicht bei einem CD163-Score von 4. MIB1 korrelierte auch jeweils positiv mit den T-Lymphozytenmarkern CD3 und CD4 (Bivariate Analyse:  $p<0,0001$ ). Die Rolle von MIB1 in Zusammenhang mit dem Tumormilieu bei Schwannomen ist also noch unklar und schwer einzuordnen.

Ein weiterer Grund, warum MIB1 nicht die erwartete hohe Aktivität in VS zeigt, könnte eine MIB1-Downregulation in VS sein. Es gibt viele verschiedene molekulare Faktoren, die einen Einfluss auf eine geringere Expression von MIB1 haben können. Beispielsweise wird die Transkription des Gens für KI-67 durch den Tumorsuppressor p53 direkt oder indirekt durch die Bindung von Komplexen an die Promotorregion herunterreguliert.<sup>269</sup> Eine Idee für die Zukunft könnten molekulare Untersuchungen der Schwannome dieser Kohorte sein, die die Downregulation von MIB1 anhand von p53 in VS untersuchen. Wie bei Uxa et al. könnten hierfür unter anderem die Durchflusszytometrie, die Chromatin-Immunpräzipitation, die quantitative Real Time Polymerase-Chain-Reaction, die Gelelektrophorese und der Western Blot zur Anwendung kommen.<sup>269</sup>

Abe et al. beschrieben, dass MIB1 in Tumoren wie Schwannomen falsch hoch sein kann, da hier eine falsche Bindung an Antigene in degenerativen Arealen wie Antoni-B-Arealen, die als degenerierte Antoni A-Areale verstanden werden, geschehen kann.<sup>4,84</sup> Prinzipiell ist dies eine unberechenbare Fehlerquelle, wobei angemerkt werden muss, dass die Rate der MIB1-Expression in Schwannomen generell relativ niedrig ist, so auch in dieser Kohorte. Dass MIB1 nicht zwingend mit einem hohen Tumorstadium von

Schwannomen assoziiert sein muss, beschrieben auch Behling et al. in einer Arbeit 2019. Hier wird beschrieben, dass der Marker MIB1 nicht mit der Tumorgröße korreliert.<sup>233</sup> 2021 wurde beschrieben, dass eher kleinere Tumore einen höheren MIB1-Index aufwiesen, diese aber radiologisch mehr Wachstum zeigten.<sup>235</sup> Ein weiterer möglicher Erklärungsansatz für die geringere MIB1-Expression in VS könnten andere Mechanismen sein, die aktiviert werden. Ein pro-tumoröses Milieu führt häufig zu einer Aktivierung von Wachstumsfaktoren wie VEGF oder TGF- $\beta$ .<sup>103,158,160,161</sup> Diese könnten das Tumorwachstum nicht nur über Proliferation, sondern auch über andere Mechanismen wie Angiogenese oder Immunmodulation fördern, wodurch der MIB1-Index nicht zwingend erhöht sein muss. Eine Untersuchung dieser Faktoren wäre auch an der vorliegenden Kohorte denkbar, da auch immunhistochemische Markierungen Aufschluss über diese Wachstumsfaktoren geben könnten. Aus den gewonnenen Informationen wäre ein besseres Einordnen der Rolle von MIB1 in VS im Vergleich zu Schwannomen anderer Lokalisationen denkbar.

Auch wenn die MIB1-Indices bei Nicht-VS höher sind, sind sie verglichen mit anderen Tumorentitäten sehr niedrig. Beispielsweise liegen MIB1-Indices beim Pankreaskarzinom zwischen 5,6 % und 42,4 %.<sup>270,271</sup> In der vorliegenden Arbeit lag der mediane MIB1-Index unter allen Schwannomen bei 1,46 %. Es lässt sich daher die Frage formulieren, in wie weit das wirkliche Wachstum von Schwannomen anhand des MIB1-Index erfasst werden kann. Denkbar ist, dass MIB1 auch die Proliferation von Makrophagen und Lymphozyten erfasst. Die vorhandene Literatur konzentriert sich hauptsächlich auf die Rolle von MIB1 als Proliferationsmarker in Tumorgewebe. Es ist jedoch bekannt, dass MIB1 in allen aktiv proliferierenden Zellen exprimiert wird, unabhängig davon, ob es sich um Tumor- oder entzündliches Gewebe handelt.<sup>207,272</sup> Lewis et al. beschrieben, dass in wachsenden Schwannomen eher Makrophagen als Schwann-Zellen die Mehrheit der proliferierenden Zellen ausmachten.<sup>182</sup> Daher könnte eine erhöhte MIB1-Expression in entzündetem Gewebe auf eine gesteigerte Zellproliferation hindeuten, die mit dem Entzündungsprozess verbunden ist. Für eine Untersuchung der Rolle von MIB1 als Inflammationsmarker würde es inflammatorisches, nicht neoplastisches Gewebe im Vergleich mit normalem, gesundem Gewebe benötigen. Hier könnte die MIB1-Expression zusammen mit anderen Markern des TMEs und der Inflammation untersucht werden.

Um die Wachstumsrate von Schwannomenen besser bestimmen zu können, könnte auf andere Möglichkeiten als die MIB1-Messung zurückgegriffen werden. So ermöglicht die Durchführung serieller MRT-Scans die Quantifizierung des Volumenwachstums von Schwannomenen. Mithilfe von spezieller Bildanalysesoftware können Volumenänderungen präzise berechnet werden. Darüber hinaus könnten diffusionsgewichtete MRT eingesetzt werden, um den zellulären Charakter des Tumors zu beurteilen und mögliche Korrelationen mit Wachstumsmustern zu identifizieren. Diese Bildgebungsdaten könnten durch klinische Beobachtungen und die Überwachung von Symptomen ergänzt werden. Auf molekularer Ebene wäre die Untersuchung von Genen, die an der Zellzyklusregulation oder Proliferation beteiligt sind, ein weiterer Ansatz.

Behling et al. führten bereits präoperative volumetrische Tumormessungen auf Grundlage von MRT-Bildern durch und berechneten das Tumolvolumen in  $\text{cm}^3$  bei der auch in der vorliegenden Studie untersuchten Kohorte von vestibulären Schwannomenen.<sup>235</sup> Hier konnte auch ein Tumorwachstum untersucht werden, wenn mehrere präoperative Bilder vorlagen.<sup>241</sup> Die in der vorliegenden Arbeit analysierten VS sind resezierte Tumoren und wurden bereits 2021 von Behling et al. auf ihr Tumolvolumen hin analysiert. Bei Schwannomenen, die aktuell einer „wait-and-scan“-Strategie unterliegen, könnten wertvolle Informationen bezüglich der Wachstumsrate und des Tumorumfanges erhoben werden.

Die Expression von COX2 war in der vorliegenden Arbeit bei VS signifikant höher als bei Nicht-VS. Dies lässt sich wiederum im Zusammenhang mit der Theorie interpretieren, dass in VS ein pro-tumoröses Milieu vorherrschen könnte. In einigen Arbeiten mit Malignomen konnte COX2 mit einer schlechteren Prognose in Zusammenhang gebracht werden.<sup>213-216</sup> Im Mausmodell führte sowohl die Blockade von COX als auch COX2 zu einer Verringerung des Tumorwachstums beim Ovarialkarzinom.<sup>227</sup> Auch beim Mammakarzinom konnte eine Proliferationshemmung durch eine COX-Inhibition erreicht werden.<sup>228</sup> Ebenso konnte bei einigen hämatologischen Neoplasien ein antiproliferativer Effekt durch eine COX-Hemmung beobachtet werden.<sup>229,230</sup>

Eine im Jahr 2014 veröffentlichte retrospektive Studie beschrieb eine negative Korrelation zwischen der Einnahme von ASS und dem Tumorwachstum bei sporadischen vestibulären Schwannomenen.<sup>232</sup> Dilwali et al. zeigten 2015 in einem in-vitro-Modell, dass

ASS eine hemmende Wirkung auf die COX2-Expression und das Zellwachstum in VS-Zellen haben kann. Dieser Effekt konnte jedoch in einer normalen Schwann-Zellkultur nicht reproduziert werden.<sup>231</sup> 2019 untersuchten Behling et al. in der Tübinger VS-Kohorte den Einfluss von ASS auf die Proliferation und der Größeausdehnung von VS. Es konnte kein signifikanter Unterschied der COX2-Expression in VS bei regelmäßiger Einnahme von COX-Inhibitoren (ASS) gefunden werden.<sup>233</sup> Allerdings wurde eine deutlich erhöhte Proliferationsneigung in Assoziation mit einer erhöhten COX2-Expression gefunden, ebenso wie in einer Arbeit von Hong et al. aus dem Jahr 2011.<sup>234</sup> Dies konnte in einer weiteren Arbeit im Jahre 2021 erneut bestätigt werden. Ebenso wurde eine Korrelation zwischen dem präoperativen Tumorzellen und der COX2-Expression gefunden.<sup>235</sup>

Die Lokalisation, an welcher in der vorliegenden Arbeit die geringste COX2-Expression gefunden wurde, waren Spinalschwannome. Generell zeigten Spinal- als auch Hirnnerven-Schwannome ein Expressionsmuster aller Marker, das sich am meisten von dem Expressionsmuster von VS unterschied. Die Lymphozytenmarker CD3 und CD8 wurden jeweils in HN-Schwannomen am stärksten exprimiert, während SN-Schwannome die zweithöchste immunpositive Zellzahl aufzeigten. In VS zeigte sich die geringste Expression der Lymphozytenmarker. Der Makrophagenmarker CD68 zeigte die geringste Expression bei HN-Schwannomen, während die Ergebnisse bei CD163 nicht eindeutig waren. VS wiederum wiesen die höchste Expression der Makrophagenmarker auf. Die Expression von MIB1 zeigte sich mit Abstand am höchsten bei SN-Schwannomen, während diese die geringste COX2-Expression aufwiesen. Auch hier zeigten sich die größten Unterschiede im Vergleich zu VS: Während die MIB1-Expression bei VS am niedrigsten war, wiesen diese die höchste COX2-Expression auf. Die Immunpositivität der Marker zeigt im Vergleich zu den anderen Lokalisationen mit Ausnahme der MIB1-Expression die Merkmale eines anti-tumorös interpretierten Milieus.

Eine hohe Lymphozyten-Positivität bei niedrigen Makrophagenzahlen und geringer Entzündungsaktivität könnte womöglich also darauf hindeuten, dass das Milieu in Spinal- und Hirnnervenschwannomen eher anti-tumorös ist. Dennoch sind Spinal- und Hirnnervenschwannome die größte Gruppe unter den Nicht-VS. Prozentuell nehmen SN 51,9 % der Nicht-VS ein, während HN mit 17,4 % an zweiter Stelle stehen. Ein Grund für die Häufung der Spinalnervenschwannome in der vorliegenden Kohorte könnte sein,

dass lediglich operierte Tumore untersucht wurden. Spinalnervenschwannome können aufgrund ihrer anatomischen Lage klinisch apparent werden und einer operativen Therapie bedürfen.<sup>26,27</sup> Schwannome anderer peripherer Nerven wie am Rumpf und an den Extremitäten werden möglicherweise nicht oder später klinisch apparent und bedürfen nicht immer einer Operation als Therapie. Auch an Spinalnerven liegen beengte anatomische Gegebenheiten vor, sodass eine mechanische Reizung denkbar wäre, die ein häufigeres Auftreten von Schwannomen begünstigt.

Warum unterscheidet sich das TME bei Spinalnerv-Tumore so deutlich von dem TME bei Vestibularisschwannomen? Ein möglicher Erklärungsansatz könnte die Lagebeziehung zur Dura Mater sein. Die meisten der spinalen Schwannome liegen intradural, ein extraduraler Anteil kann bei weit lateraler Ausdehnung des Tumors bestehen.<sup>28,273</sup> Dies könnte Einfluss auf die Immunzellinfiltration nehmen. Auch bei VS wurde bereits in manchen Fällen eine Dura-ähnliche Membran gefunden, die die Schwannome im inneren Gehörgang umhüllte.<sup>274,275</sup> Bei den in dieser Arbeit verwendeten Spinalschwannomen wurde vom Operateur oder der Operateurin nicht in allen Fällen erhoben, wo im Spinalraum sich das Schwannom befand. Die Lage, ob intra- oder extramedullär, intra- oder extradural oder intra- oder extraspinal, wurde daher nicht weiter für diese Analyse verwendet, da diese Angaben nur zu einigen Spinalschwannomen vorlagen. Um eine umfassende Antwort auf die Frage, ob der Kontakt zur Dura Mater einen Einfluss auf das TME hat, zu erhalten, sind jedoch weitere immunhistochemische und molekulare Untersuchungen und Forschungsarbeiten erforderlich, um die spezifischen Mechanismen zu verstehen, die das Tumormikromilieu in Vestibularisschwannomen und Spinalschwannomen prägen.

Im Hinblick auf spinale und Hirnnerven-Schwannome ist ein, verglichen mit VS, anti-tumorös interpretiertes Milieu denkbar. Es zeigen sich hohe Lymphozytenzahlen, relativ geringere Makrophagen-Positivität ebenso wie geringere Entzündungsaktivität. Es ist zu betonen, dass die hier angewandte Klassifizierung nach anatomischer Lage primär auf Körperregionen basiert. Wie das TME der verschiedenen Untergruppen von Schwannomen ausgesehen hätte, wenn diese nach anderen Kriterien zugeordnet worden wären, bleibt unklar, siehe hierzu auch 4.5 Limitationen.

#### ***4.1.4 Wechselwirkungen zwischen klinischen Merkmalen und dem Tumormikromilieu***

In der vorliegenden Arbeit wiesen ältere Patient\*innen höhere CD163-Scores auf. Dies steht in Einklang mit einer Arbeit von Bianchi-Frias et al, in der beschrieben wurde, dass CD163 bei Prostatakarzinompatienten über 60 Jahren deutlich hochreguliert war.<sup>276</sup> Auch Li et al. kommen zu einem ähnlichen Ergebnis, hier war allerdings die Expression von CD68 in kolorektalen Tumoren bei älteren Patient\*innen deutlich höher. Auch im Mausmodell konnten bei älteren Mäusen mehr M2-Makrophagen gefunden werden.<sup>277</sup> Dies lässt die Vermutung zu, dass pro-tumoröse Einflüsse aus dem TME im Alter zunehmen könnten. In der vorliegenden Arbeit wurde auch festgestellt, dass die COX2-Expression bei älteren Patient\*innen signifikant höher war. In ihrer Übersichtsarbeit beschrieben Chung et al. eine altersbedingte Hochregulation der COX-Gene in entzündlich verändertem Gewebe.<sup>278</sup> Auch bei der Untersuchung von altersbedingten Veränderungen der COX-Expression in Thrombozyten und Monozyten bei Menschen als auch bei Ratten lassen sich vergleichbare Ergebnisse finden. Kang et al.<sup>279</sup> vermuten hier ebenfalls eine altersbedingte Hochregulation. Die Daten aus diesen Studien legen nahe, dass mit zunehmendem Alter die Infiltration von Makrophagen in der Mikroumgebung steigt, wobei die pro-tumorösen Makrophagen die vorherrschende Untergruppe bilden.

In der vorliegenden Arbeit wiesen vorbestrahlte Schwannome mehr CD163 als auch mehr COX2 auf. Eine präoperative Bestrahlung erhalten fast ausschließlich Vestibularisschwannome,<sup>51,115</sup> welche in dieser Arbeit wiederum mit höheren CD163- und COX2-Scores assoziiert waren. Ein Erklärungsversuch könnte sein, dass invasive und schwierig zu operierende Tumore primär bestrahlt wurden, um eine bessere Tumorkontrolle zu erreichen und anschließend erst die operative Entfernung durchgeführt wurde.

Es ist erwähnenswert, dass die CD68- als auch die COX2-Expression in Rezidiv-Schwannomen signifikant reduziert war. Dies steht in Widerspruch zu den Eigenschaften, die CD68-Makrophagen und pro-inflammatorischen Mediatoren wie COX2 im Tumormilieu zugeschrieben werden. Rezidivschwannome können aufgrund einer unvollständigen Exstirpation oder zurückgelassenen Tumorkapsel entstehen.<sup>2</sup> Es könnte argumentiert werden, dass diese Tumore nicht vollständig entfernt worden sind, weil sie kein aggressives Wachstum zeigten. Eine ähnliche Konstellation konnte in der Literatur

nicht gefunden werden. Behling et al. beschrieben, dass bei Rezidiv-VS die Expression von MIB1 höher war.<sup>233</sup> Panigrahi et al. können diese Beobachtung unterstützen.<sup>280</sup> In der vorliegenden Arbeit wurde nicht die Rezidivrate, sondern der Rezidivzustand ermittelt. Schwannome wurden entweder als Primärschwannom oder als Rezidivschwannom operiert. Diese dichotome Aufteilung genügt nicht, um Aussagen über das Auftreten und den Zusammenhang von Rezidiven zu treffen. Eine Möglichkeit für die Zukunft wäre, die Rezidivrate bei dieser Kohorte zu ermitteln, also die Rezidive ihren Primärtumoren zuzuordnen und zu erfassen, in welcher Zeitspanne das Rezidiv operiert werden musste und wie oft es zu einer solchen Rezidiv-OP kam. In diesem Zusammenhang könnte auch nochmals die Expression der Marker CD68 und COX2 beleuchtet werden.

Eine weitere Korrelation, die hier zu erwähnen ist, betrifft die Beziehung zwischen MIB1 und dem Geschlecht der Betroffenen. Signifikant höhere MIB1-Expressionsniveaus wurden bei Frauen beobachtet. Darüber hinaus wurde auch eine erhöhte COX2-Expression bei weiblichen Patientinnen festgestellt. Ein unterschiedliches Entscheidungsverhalten in Bezug auf die Operation könnte einer der Gründe hierfür sein. Frauen könnten mit der Entscheidung für eine Operation zögern und sich bei Behandlungsbedarf für eine weniger invasive Option, wie z.B. der Bestrahlung, entscheiden. Zum Zeitpunkt der Operation kann der Tumor weiter gewachsen sein und möglicherweise einen höheren MIB1-Index aufweisen. Diese Theorie wird auch in der vorliegenden Arbeit gestützt durch die signifikant höhere Bestrahlungsrate bei Frauen im Vergleich zu Männern ( $p=0,0010$ ). Auch könnten Unterschiede in der Wahrnehmung von Symptomen dazu führen, dass Schwannome bei Frauen erst in einem fortgeschrittenerem Stadium diagnostiziert und demnach operiert werden.

Zudem haben Studien gezeigt, dass Frauen im Vergleich zu Männern stärkere humorale und zelluläre Immunantworten auf Infektionen oder Antigenstimulationen aufweisen. Nach Infektionen oder Impfungen zeigten sich mehr pro-inflammatorische Zytokine bei Frauen als bei Männern. Frauen zeigten eine höhere Anzahl von CD4-positiven Zellen, und ein höheres CD4/CD8 Verhältnis. Nach einer Immunstimulation wiesen Frauen eine stärkere T-Zell Antwort auf. Insgesamt haben Frauen damit möglicherweise eine stärkere Immunantwort sowohl des angeborenen als auch des adaptiven Systems auf Fremd- und Eigenantigene.<sup>281,282</sup> Diese verstärkte Immunreaktivität könnte das Tumorwachstum und die Proliferationsaktivität beeinflussen.

Es gibt auch Hinweise darauf, dass Geschlechtshormone wie Östrogen und Progesteron das Wachstum von Schwannomen beeinflussen können. Unter anderem wird ein vermehrtes Wachstum von VS in der Schwangerschaft beschrieben.<sup>283</sup> Eine Expression von Östrogen- und Progesteron-Rezeptoren in menschlichen VS wurde immer wieder untersucht, teils mit widersprüchlichen Ergebnissen.<sup>284</sup> Die klinische Bedeutung von Östrogen- und Progesteron-Rezeptoren ist jedoch noch immer umstritten.

In der Literatur gibt es einen Bericht über ein statistisch signifikantes Wachstum von VS-Explantaten als Reaktion auf Estradiol *in vivo*. Hier wurde VS-Gewebe in Mäuse implantiert. Bei mit Östrogen behandelten Mäusen zeigte sich ein statistisch signifikantes Wachstum des Tumors.<sup>285</sup> Dies lässt die Vermutung zu, dass VS unter dem Einfluss von Progesteron und Östrogen einen höheren Wachstumsindex und somit eine erhöhte MIB1-Expression aufweisen könnten. Anhand von weiteren Untersuchungen könnte dieser Zusammenhang in der Zukunft näher beleuchtet werden. Die Analyse der Hormonrezeptoren gelingt anhand von IHC nicht immer, da die Rezeptoren in der Zelle unter anderem in sehr geringen Mengen vorkommen und mit IHC schlecht nachweisbar sind. Möglich wären molekulare Untersuchungen anhand von mRNA oder Western Blot.<sup>284</sup>

#### ***4.1.5 Zusammenhang der Marker zueinander***

CD3 und CD8 sind beides Marker für T-Lymphozyten, daher war ihre Korrelation miteinander auch stark positiv. Ebenso ging eine hohe CD3-Zellzahl mit einer hohen CD68-, als auch CD163-Zellzahl einher. Dasselbe galt für CD8 und der Korrelation mit CD68 oder CD163. Das erstaunt, da die Lymphozytenmarker bei VS niedriger waren als bei Nicht-VS, während die Makrophagenmarker genau das Gegenteil zeigten: Sie waren bei VS höher. Allerdings gibt es sehr unterschiedliche Erscheinungsformen von VS. Einige präsentieren sich sehr zellreich, während andere zerklüftet imponieren.<sup>4</sup> In zellreichen Schwannomen könnten sich dadurch möglicherweise in der kleinen Stanze von 1 mm deutlich mehr Lymphozyten- als auch Makrophagen befinden als in zellärmeren Schwannomen.

Es ist zu betonen, dass sich das gleichzeitige Auftreten beider Zellarten in hoher Zahl nicht zwangsläufig ausschließt. In fast allen untersuchten Tumoren waren die Marker für

Lymphozyten als auch Makrophagen positiv, wobei die Ausprägung signifikant unterschiedliche Intensitäten aufwies. Es bleibt jedoch zu hinterfragen, ob die beschriebenen Unterschiede biologisch relevant sind, auch wenn statistisch signifikante Unterschiede nachgewiesen werden konnten. Die Beurteilung der biologischen Relevanz erfordert eine Bewertung der Prognose sowie der Wirkung von Therapien. Hierfür wären Follow-up-Untersuchungen erforderlich, die Aspekte wie das Auftreten von Rezidiven, klinische Merkmale wie Nervenfunktionsstörungen, darunter zum Beispiel Hörverlust oder Paresen und Schmerzen, die Lebensqualität sowie das Ansprechen auf die Therapie umfassen.

Ein höherer COX2-Score war mit einer höheren CD3- oder CD8-Zellzahl assoziiert, ebenso mit einer höheren CD68- oder CD163-Expression als auch einem höheren MIB1-Index. Diese Zusammenhänge lassen sich vor dem Hintergrund eines vermutlich anti- oder pro-tumorösen TMEs und anhand den in dieser Arbeit untersuchten Parametern nicht vollständig erklären.

#### ***4.1.6 Warum ist der achte Hirnnerv so oft betroffen?***

Es lässt sich die Theorie formulieren, dass in VS ein pro-tumoröseres Mikromilieu herrschen könnte als in Schwannomen anderer Lokalisationen. Diese Hypothese wird durch die Präsenz von Makrophagen unterstützt, insbesondere M2-Makrophagen, die gesteigerte Entzündungsaktivität als auch die relativ geringere Anzahl von Lymphozyten.

Warum mehr Makrophagen in VS als in Schwannomen andere Lokalisationen vorliegen, ist nicht abschließend erklärt. Erklärungsansätze könnten unter anderem häufige oder rezidivierende Infektionen in der Nähe des achten Hirnnerven sein. Der Nerv verläuft im Felsenbein nah am Mittelohr. Häufige Mittelohrentzündungen, wie sie im Kindesalter häufig sind, eventuell auch mit Ausbreitung auf das Labyrinth, könnten eine entzündungsbedingte Häufung der Einwanderung von pro-inflammatorischen Zellen wie den Makrophagen erklären. Denkbar wäre auch eine Infektion mit Viren, wie z.B. Herpes Zoster. Der sogenannte Herpes zoster oticus kann auf den achten Hirnnerven übergreifen und könnte so möglicherweise eine Makrophageninvasion begünstigen. Anhand einer prospektiven Kohortenstudie könnten Patient\*innen mit ehemals häufigen Mittelohrentzündungen oder einer anamnestischen Varizella-Zoster-Infektion mit

Ohrbeteiligung regelmäßigen MRT-Scans zugeführt werden, um potenzielle pathologische Veränderungen des achten Hirnnerven zu identifizieren und den Zusammenhang zu untersuchen.

Schulz et al. zeigten 2016 am Mausmodell, dass Schwannome häufiger bei genetisch veränderten Mäusen mit homozygoter *NF2*-Gendeletion sowie bei Mäusen mit heterozygoter *NF2*-Knockout-Mutation in Schwann-Zellen auftraten. Besonders bemerkenswert ist, dass bei Mäusen mit heterozygoter *NF2*-Mutation bereits eine einmalige Nervenquetschung ausreichte, um die Tumorbildung zu induzieren.<sup>25</sup> Durch Hochregulation von proliferativen Signalwegen in den Schwann-Zellen kam es zur raschen Schwannom-Bildung. Das warf die Theorie auf, dass lädierte Schwann-Zellen eher zur Bildung von Schwannomen neigen. Diese Theorie wird auch bekräftigt durch das häufige Vorkommen von Schwannomen in anatomisch stark eingegrenzten Regionen wie dem inneren Gehörgang, durch den der achte Hirnnerv verläuft.<sup>18</sup> Extrakraniell finden sich die meisten Schwannome typischerweise spinal oder paraspinal in enger räumlicher Beziehung zur knöchernen Begrenzung des Spinalkanals.<sup>100</sup> Es liegen also Anhaltspunkte dafür vor, dass Schwannome bevorzugt an Stellen auftreten, die für Nervenschädigungen durch Kompression oder mechanisches Trauma anfällig sind.<sup>18</sup> Diese Theorie reicht jedoch nicht, um das überproportional häufige Auftreten von Schwannomen am N. vestibularis zu erklären. Im KHBW sind die anatomischen Gegebenheiten zwar eng, jedoch sind Foramina der Schädelbasis oder andere Nervendurchtrittspunkte wie der Spinalkanal mit deutlich beengteren knöchernen Verhältnissen assoziiert.<sup>286</sup> Um die Theorie der „lädierten Schwann-Zellen“ weiter zu bekräftigen, benötigt es mehr klinische Untersuchungen.

Bisher lag das Augenmerk bezüglich der Plastizität von Schwann-Zellen auf der Regeneration von verletzten Neuronen. Distal liegende Schwann-Zellen verlieren den Kontakt zum Axon, da dieses degeneriert. Diese Schwann-Zellen reagieren mit der Expression von Zytokinen, es kommt zur Invasion von Makrophagen und zu einer Entzündungsreaktion, die die Regeneration des verletzten Axons fördern soll.<sup>287</sup> Die untersuchten Veränderungen der Schwann-Zellen sind sekundär als Reaktion auf einen vorliegenden Nervenschaden. Im Gegensatz dazu entstehen Schwannome primär durch die autonome Proliferation von Schwann-Zellen ohne vorangegangenen Nervenschaden, wobei sie als Neoplasie eigenständig das Tumorgewebe bilden. Über die direkten

Läsionen von Schwann-Zellen liegt allerdings wenig Forschung vor. Die Umsetzbarkeit einer Untersuchung von Läsionen innerhalb von Schwann-Zellen ohne Axonschaden wäre problematisch. Um solche Läsionen zu identifizieren, wäre eine Biopsie des betroffenen Nervs notwendig, einschließlich der Entnahme der Nervenhülle. Diese müsste anschließend unter dem Elektronenmikroskop analysiert werden, ein invasiver Eingriff, der sowohl medizinische Risiken birgt als auch ethische Bedenken aufwirft.

Läsionen von Schwann-Zellen könnten potenziell auch mittels MRT detektiert werden.<sup>288</sup> Eine solche Untersuchung könnte Aufschluss darüber geben, ob mechanisch vorgeschädigte Schwann-Zellen tatsächlich ein erhöhtes Proliferationspotenzial besitzen. Warum jedoch ausgerechnet der kaliberschwache N. vestibularis so häufig betroffen ist, bleibt selbst durch diese Herangehensweise unklar.

#### ***4.1.7 Besseres Verständnis des Tumormikromilieus***

Es ist ungewöhnlich, dass in gutartigen Schwannomen so viele Immunitätszellinfiltrate zu finden sind. Ein besseres Verständnis des TMEs kann sowohl prognostisch als auch therapeutisch sehr wertvoll sein.

In dieser Arbeit wurde nur ein kleiner Ausschnitt des TME untersucht, obwohl dieses aus zahlreichen weiteren Komponenten besteht. Beteiligte Zellen im TME sind Immunzellen, darunter T- und B-Lymphozyten, regulatorische T-Zellen und TAMs, Endothelzellen, extrazelluläre Matrix, Fibroblasten, neuroendokrine Zellen, Fettzellen und Signalmoleküle.<sup>136-140</sup> Eine genauere Untersuchung der Zellen im TME von Schwannomen kann Aufschluss darüber geben, wie dieses Mikromilieu zusammengesetzt ist.

Die Untersuchung weiterer immunhistochemischer Marker, die im TME vermutet werden, könnte mehr Aufschluss bringen. Perry et al. untersuchten die Rolle von PD-L1, ein Liganden für das Programmed-Cell-Death-Protein 1 (PD-1), der häufig von Tumoren überexprimiert wird, um Immunzellen zu binden und zu inaktivieren, was zu einem stärkeren Tumorwachstum führen kann.<sup>260,289</sup> Sie konnten einen Zusammenhang zwischen höherer PD-L1-Expression und Tumorprogression bei VS aufzeigen, ebenso auch Bi et al.<sup>257,260</sup> Eine Arbeit an 40 VS zeigte, dass VS mit positiver PD-L1-Expression

auch eine höhere Dichte an CD8-Lymphozyten aufwiesen, aber kein Zusammenhang von Tumorgröße und PD-L1-Expression bestand.<sup>290</sup> Ebenso keinen Zusammenhang fanden auch Archibald et al.<sup>291</sup> In der Zukunft wäre eine immunhistochemische Untersuchung der Expression von PD-L1 in der hier verwendeten Kohorte denkbar. Der immunhistochemische Marker ist bereits etabliert und könnte dazu beitragen, das TME der verschiedenen Schwannom-Lokalisationen besser zu verstehen.

Weitere Zellen des TMEs, wie Tregs, könnten u.a. durch die Analyse ihrer Aktivität mittels Marker wie TGF- $\beta$ , PGE2 und Interleukin-10 genauer untersucht werden. Tregs unterdrücken im TME CD8-Zellen und wirken so pro-tumorös.<sup>158,160,161</sup> Bisher wurde in Zusammenhang mit Schwannomen im Jahr 2020 von Tamura et al. die Anwesenheit von Tregs anhand von VEGF-A und CD25 untersucht.<sup>292</sup> Auch Li et al. beschrieben 2017 die Expression von Tregs, jedoch in malignen Schwannomen. Auch hier wurde der Marker CD25 verwendet, allerdings mithilfe der Immunfluoreszenz.<sup>252</sup> Bisher gibt es bei Schwannomen jedoch noch keine Erkenntnisse zur Rolle der Tregs im TME.

Auch Karzinom-assoziierte Fibroblasten (CAF) sind stromale Zellen, deren Aktivität im TME mit einem Tumorprogress assoziiert ist. Auch hier zeigt sich eine hohe Heterogenität bei Betrachtung der einzelnen Fibroblasten, ähnlich wie bei der Polarisierung von Makrophagen.<sup>293</sup> Sie interagieren mit Tumorzellen, indem sie eine Vielzahl von extrazellulären Matrixkomponenten oder Zell-Zell-Adhäsionen absondern, was das Wachstum, die Invasion, die Entzündung und die Angiogenese von Tumorzellen beeinflussen kann.<sup>294,295</sup> Einer malignen Transformation von Tumorzellen geht häufig ein anfängliches, auffälliges Wachstum von Fibroblasten voraus, welches auch bei frühen oder präkanzerösen Tumoren beobachtet wurde.<sup>296</sup>

CAFs bei VS wurden in einer neuen Arbeit aus dem Jahr 2024 untersucht. Anhand von RNA-Sequenzierung wurden verschiedene CAF-Subtypen klassifiziert und eine Assoziation mit dem metabolischen Verhalten von Schwannom-Zellen beschrieben.<sup>297</sup> Tumorzellen greifen in ihrer Energiegewinnung häufig auf die Glycolyse zurück, die ein saures Mikromilieu zur Folge hat. Dies hat wiederum weitere Auswirkung auf das TME und die Polarisierung von TAMs als auch CAFs.<sup>298</sup> Ebenso wurde eine Hochregulierung von des IL-6- Signalwegs beobachtet und die Autor\*innen stellten die Theorie auf, dass Anti-IL-6-Therapien wie Siltuximab und Tocilizumab auf diese CAFs abzielen

könnten.<sup>297</sup> Weitere Untersuchungen von CAFs und ihrer Rolle im TME von Schwannomen sind von Nöten, um mehr Verständnis für das TME zu generieren als auch die personalisierte Behandlung von VS zu untersuchen.

Weitere Akteure im TME sind Dendritische Zellen (DC). Diese sind eine heterogene Gruppe von Antigen-präsentierenden Immunzellen, die für die Einleitung und Regulierung von adaptiven Immunantworten von entscheidender Bedeutung sind. Durch die Antigenpräsentation an andere Immunzellen haben DCs das Potenzial, eine Anti-Tumor-Immunität einzuleiten.<sup>299</sup> Im TME ist häufig die Aktivität von DCs eingeschränkt, um der Immunabwehr zu entgehen. Anhand von verschiedenen Zytokinen kann die Rekrutierung von DCs in das TME gehemmt werden.<sup>300</sup> Die Anwendung des Wissens über die Funktionen von DCs in der Onkologie hat sich als vielversprechend erwiesen. Bestimmte Chemotherapeutika und zielgerichtete Therapien induzieren einen immunogenen Zelltod in Tumorzellen. Diese geschädigten Tumorzellen ziehen spezialisierte DCs an, die daraufhin die CD8-T-Zell-Antworten verstärken. Weitere spezialisierte DCs können T-Zell-Reaktionen sowohl lokal als auch in den tumordrainierenden Lymphknoten aktivieren.<sup>301</sup>

DCs in Schwannomen wurden bisher noch nicht ausreichend untersucht. Shi et al. untersuchten 2021 verschiedene molekulare Grundlagen und die Immunezellinfiltration in VS. Hier wurde ebenfalls eine höhere Dichte an DCs verglichen mit normalem Nervengewebe beschrieben.<sup>302</sup> Genaueres Augenmerk wurde jedoch nicht auf die Funktion von DCs im TME von VS gelegt. Weitere Untersuchungen könnten dazu beitragen, Antigene zu identifizieren, die als Ausgangspunkt für DC-Impfstoffe genutzt werden können.

#### ***4.1.8 Prognostischer und therapeutischer Einsatz***

Sporadische, nicht vestibuläre Schwannome weisen nach der Resektion eine sehr hohe Heilungsrate auf und sind mit einer sehr geringen Morbidität assoziiert.<sup>3,122</sup> Da die Resektion bereits eine effektive Behandlung darstellt, ist der Bedarf an prognostischer Sicherheit und neuen Therapieansätzen für sporadische Schwannome gering. Anders bei VS: Hier zeigt sich eine höhere Morbidität, die mit dem hohen Auftreten von einer Hypakusis und einem Tinnitus assoziiert ist.<sup>2,50</sup> Nach subtotaler Resektion zeigt sich ein

deutlich häufigeres Rezidivaufkommen.<sup>124-126</sup> Auch bei Vorliegen von Tumorsyndromen oder bei schwer resektablen Tumoren könnte eine weiterführende Analyse des resezierten Tumorgewebes wertvolle Hinweise auf die zu erwartende Prognose weitere Therapieoptionen liefern. Insbesondere diese Patient\*innen könnten erheblich von einer prognostischen und therapeutischen Bewertung des TMEs in Schwannomen profitieren.

#### 4.1.8.1 Prognostischer Einsatz

Das Verhältnis von M1- zu M2-Makrophagen wurde in verschiedenen Tumorartenarten als potenzieller prognostischer Marker und prädiktiver Faktor für den Krankheitsverlauf und die Behandlungsreaktion untersucht.<sup>174,177-181,303,304</sup> Es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass die Verwendung der Makrophagenpolarisierung als prognostischer Marker in der klinischen Praxis noch nicht weit verbreitet ist. Es sind weitere Arbeiten erforderlich, um die Validität und Anwendbarkeit dieser Marker bei verschiedenen Neoplasien zu bestätigen. Darüber hinaus ist die Interpretation der Ergebnisse oft komplex, da viele Faktoren die Makrophagenpolarisierung und den Krankheitsverlauf beeinflussen können.

Ebenso könnten das Vorhandensein und die Aktivität von CD8-positiven T-Lymphozyten als prognostischer Marker verwendet werden.<sup>161,186-191</sup> Die Bewertung von CD8-T-Zellen und anderen Immunzellen im Tumorgewebe ist ein aktives Forschungsfeld.

Auch eine Untersuchung von PD-L1 als prognostischer Faktor für die Tumorprogression ist denkbar.<sup>257,260,290</sup> Ebenso könnten Tregs und CAFs im TME auf ihre prognostische Signifikanz bei Schwannomen untersucht werden.<sup>158,161,297</sup>

#### 4.1.8.2 Bisher etablierte Therapien in Bezug auf maligne Tumore

Die gezielte Modulation des TME stellt einen wichtigen Schritt in Richtung der personalisierten Medizin dar. In Bezug auf maligne Tumore sind bereits einige Therapiestrategien etabliert worden, die auf das TME abzielen. Es seien im Folgenden nur einige dieser Therapieansätze genannt.

Als eine der ersten Therapien, die auf das TME abzielen, stellte die Ergänzung der Standard-Chemotherapie durch anti-angiogenetische Therapieoptionen eine neue und

wirksame Behandlungsoption für einige fortgeschrittene Tumore dar. Die Angiogenese ist für das Tumorwachstum und die Metastasierung von entscheidender Bedeutung.<sup>305</sup> Anti-VEGF-Antikörper wie Bevacizumab binden an den VEGF-Rezeptor und inhibieren die Angiogenese. Durch die im TME herrschende Hypoxie wird über den Hypoxie-induzierbaren Faktor 1  $\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ) der VEGF-Signalweg angestoßen, welcher die Reifung dendritischer Zellen hemmt und die Proliferation von Tregs und TAM anregt.<sup>136</sup> Der monoklonale Antikörper Bevacizumab ist seit 2004 zugelassen und findet Anwendung unter anderem beim kolorektalem Karzinom, Mammakarzinom und beim NSCLC.<sup>306</sup> Small Molecules wie Sorafenib verhindern die Entwicklung eines neuen Gefäßsystems, indem sie die Aktivität von Tyrosinkinase inhibieren.<sup>307</sup>

Auch die Blockade des PD1/ PDL1-Signalwegs anhand von monoklonalen Antikörpern wie Pembrolizumab ist seit 2014 für das fortgeschrittene Melanom zugelassen.<sup>308</sup> Seither wurde die PD1/ PD-L1-Inhibition für die Behandlung von einigen weiteren Tumorentitäten zugelassen. Unter anderem beim Hodgkin-Lymphom, kolorektalen Karzinom und beim hepatozellulären Karzinom.<sup>309-311</sup> Die PD-1/ PD-L1-Signalübertragung ist ein wichtiger Mechanismus, durch den Tumoren antigenspezifische T-Zell-Immunantworten umgehen. Die Blockade von PD-1 oder PD-L1 durch Antikörper kehrt diesen Prozess um.<sup>312</sup>

Eine weitere Methode zur gezielten Modulation des TMEs und der darin enthaltenen Immunzellen ist die CAR-T-Zell-Therapie. Hier werden T-Lymphozyten genetisch modifiziert, um Tumorzellen gezielt zu attackieren. Chimäre Antigenrezeptoren (CARs) ermöglichen es T-Zellen, spezifische tumorassoziierte Antigene zu erkennen und sich effizient zu vermehren.<sup>313</sup> Dies steigert ihre Fähigkeit, Tumorzellen direkt zu bekämpfen, und macht die Therapie besonders wirksam gegen bestimmte hämatologische Neoplasien wie Leukämien oder Lymphome, bei denen andere Behandlungsansätze oft versagen.<sup>314</sup>

In verschiedenen Studien und klinischen Versuchen wurden DCs als Träger von Impfstoffen genutzt, indem sie mit Tumorantigenen beladen und den Patient\*innen verabreicht wurden.<sup>315</sup> Die Vorläuferzellen der DCs in Patient\*innen werden isoliert und in vitro kultiviert, mit Tumorantigenen beladen und dann wieder in die Patient\*innen übertragen. Anschließend kann die Antitumorwirkung durch spezifische Antitumor-T-Zellen, die durch DCs stimuliert werden, ausgeübt werden.<sup>315</sup> Ein Beispiel für den

klinischen Erfolg ist die Zulassung eines DC-basierten Impfstoffs zur Behandlung von metastasiertem Prostatakarzinom.<sup>316</sup> Da die Antigene im Tumor jedes Betroffenen hochspezifisch sind, sind DCs, die mit personalisierten Neoantigenen beladen sind, als therapeutische Tumorimpfstoffe eine weitere attraktive Strategie.

Andere Ansätze beschreiben eine Umkehrung der Polarität von M2-Makrophagen zu M1-Makrophagen. Diese Herangehensweise stellt eine vielversprechende Antitumor-Immuntherapie dar.<sup>317-319</sup> Allerdings geht die Re-Polarisierung häufig mit gravierenden Nebenwirkungen einher, da die phänotypische Umwandlung von Makrophagen in den pro-inflammatorischen M1-Phänotyp auch in normalem Gewebe induziert werden kann.<sup>320,321</sup> Momentan wird an nebenwirkungsärmeren Therapieoptionen geforscht.<sup>322</sup> Bisher befindet sich die Forschung auf diesem Gebiet allerdings noch in einem experimentellen Stadium.

#### 4.1.8.3 Therapieoptionen in Bezug auf Schwannome:

Für die Behandlung von Schwannomen könnten in Zukunft verschiedene Therapien denkbar sein, die auf neuen Erkenntnissen und Technologien basieren. Einige potenzielle Ansätze könnten sein:

Eine bereits oben genannte therapeutische Option anhand der Unterdrückung von Antitumorimmunität ist der VEGF-R Signalweg. Eine klinische Studie (NCT06517888) untersucht aktuell das Ansprechen von unilateralen, nicht-NF2-assoziierten VS auf Bevacizumab. Weitere denkbare Ansätze für weitere Therapiestrategien sind Immuncheckpoint-Inhibitoren wie PD1/ PD-L1-Inhibitoren, welche bereits seit über 10 Jahren bei malignen Tumorentitäten Anwendung finden.<sup>308,312,323</sup> Es gibt Hinweise auf eine Überexpression vom PD-1/ PD-L1-Signalweg bei VS,<sup>257,260,289</sup> jedoch fehlt es noch an klinischen Untersuchungen zur Wirksamkeit der Immuncheckpoint-Therapie bei Schwannomen.

Die Behandlung von VS mit ASS wird derzeit intensiv diskutiert. Im Jahr 2018 wurde eine Empfehlung für VS-Patient\*innen veröffentlicht, die jedoch nur für Betroffene mit minimalem Tumorwachstum und einer "Wait-and-Scan"-Strategie galt.<sup>239</sup> Bei Patient\*innen mit schnellerem Wachstum oder größeren Tumoren kamen weiterhin

etablierte Therapiemethoden zum Einsatz.<sup>52</sup> Eine Meta-Analyse untersuchte 2021 nochmals die bisher vorliegenden Arbeiten zum Einfluss von ASS auf VS. Die Arbeiten waren von retrospektivem Charakter und zeigten eine hohe Heterogenität auf. Die ASS-Dosierung war nicht einheitlich dosiert und die Wirkung der Dosierung wurde auch nur unzureichend untersucht.<sup>231</sup> Die Autor\*innen der Meta-Analyse kamen zu dem Schluss, dass die vorliegenden Daten nicht ausreichten, um ASS generell für die Behandlung von VS zu empfehlen. Die bisherige Untersuchung der COX-Inhibition als Therapieoption zeigte nur begrenztes Potenzial. Es bedarf weiterer Studien mit einem prospektiven Design, um ihre Wirksamkeit fundierter bewerten zu können. Eine aktuell laufende prospektive Phase-II-Studie untersucht den Einfluss von ASS auf das Tumorstadium und den Erhalt des Hörvermögens bei VS (NCT03079999). Allerdings gestaltet sich die Rekrutierung geeigneter Proband\*innen schwierig, und es bleibt ungewiss, ob diese Studie signifikante Ergebnisse liefern wird.

Einzelne Fallstudien beschreiben den Einsatz von Immuntherapien bei Schwannomen: 2020 wurde eine Patientin mit einem spinalen malignen melanotischem Schwannom nach zweimaliger chirurgischer Dekompression und Radiotherapie mit adjuvanter Immuntherapie behandelt. Die Patientin wies bereits ossäre, pulmonale und hepatische Metastasen auf, als die Immuntherapie eingeleitet wurde. Sie erhielt Immuncheckpoint-Inhibitoren, die den PD1/ PD-L1 als auch den CTLA-4-Signalweg (zytotoxisches T-Lymphozyten-Antigen 4) inhibierten. Zudem kam Denosumab, ein Rezeptoraktivator des Kernfaktor-Kappa-b-Liganden-Antikörpers zum Einsatz, da diese Therapien sich bereits bei der Behandlung von primären Melanomen als wirksam erwiesen hatten. Die Patientin verstarb dennoch an der bereits sehr fortgeschrittenen Erkrankung.<sup>324</sup> Ebenfalls beim melanotischen Schwannom haben Sahay et al. 2020 eine ähnliche Vorgehensweise beschrieben. Hier wird eine Patientin mit einem malignen Spinalschwannom beschrieben. Nach Resektion und SRS wurde eine Immuntherapie mit Nivolumab eingeleitet. Bei einem Tumorrezidiv nach einem Jahr wurde die Therapie mit Ipilimumab ergänzt, beides Therapeutika, die den PD-1/ PD-L1-Signalweg inhibieren. Nach drei Jahren und über 46 Therapiezyklen zeigte sich die Erkrankung in stabilem Zustand.<sup>325</sup> Da das melanotische Schwannom seit 2021 als eigene Tumorentität zählt und nicht mehr als Unterform eines Schwannoms verstanden wird, ist die Aussagekraft dieser Arbeiten eingeschränkt.<sup>92</sup>

D'Adamo et al. untersuchten 2019 den Effekt von Sorafenib zusammen mit dem Zytostatikum Dacarbazin auf solide Tumoren, darunter auch MPNST. MPNST zeigten sich hier mit dem geringsten progressionsfreiem Überleben (nur 4,9 Wochen vs. 13,4 Wochen bei den anderen Tumorentitäten).<sup>326</sup> Die meisten Daten zur Anwendung von Immuntherapien liegen aktuell zu MPNST vor. Aber auch für an benignen Schwannomen leidende Patient\*innen, insbesondere ältere Menschen, Patient\*innen mit schweren Begleiterkrankungen oder solchen, die eine invasive Behandlung ablehnen, würde eine medikamentöse Therapie eine attraktive Alternative zur Resektion oder der SRS darstellen. Zudem könnte sie als ergänzende Behandlung bei Patient\*innen sinnvoll sein, die sich nach einer subtotalen Resektion für die Option der Beobachtung entschieden haben.

Die genaue Ursache für den Beginn der Schwannombildung bleibt ungeklärt: Entsteht zunächst ein pro-tumoröses Mikromilieu, das die Proliferation von Schwann-Zellen begünstigt, oder induziert das wachsende Schwannom selbst die Zytokinexpression, die das Tumormikroenvironment prägt?<sup>25</sup> Um diese Fragestellung weiter untersuchen zu können, wären immunhistochemische als auch molekulare Analysen sowohl an gesunden Schwann-Zellen als auch an Schwannomen in frühen Stadien denkbar. Eine direkte Gegenüberstellung mit normalem menschlichem peripherem Nervengewebe und Schwannomen in frühen Stadien könnte wertvolle Einblicke in die Mechanismen der Tumorentstehung liefern. Dazu wäre idealerweise eine Biopsie von menschlichem Gewebe notwendig. Entnommene, gesunde periphere Nerven oder Autopsiepräparate von Körperspendern könnten dazu beitragen, die hier gewonnenen Daten einzuordnen. Durch immunhistochemische Anfärbung mit den auch in dieser Arbeit verwendeten Präparaten könnte beurteilt werden, ob die hier erfassten immunhistochemischen Marker verglichen mit dem gesunden Gewebe erhöht oder erniedrigt sind. Zudem könnte untersucht werden, welche Veränderungen sich in Anfangsstadien von Schwannomen im TME abbilden. Arbeiten zu anderen, malignen Tumoren gehen häufig davon aus, dass die Tumorzellen das TME induzieren.<sup>139,142,327</sup>

## 4.2 Tumorsyndrome

## ***4.2.1 Neurofibromatose 2-Schwannome im Vergleich mit sporadischen Schwannomen***

### **4.2.1.1 Klinische Charakteristika**

Im Vergleich von sporadischen Schwannomen mit NF2-Schwannomen wurde ersichtlich, dass die von NF2 betroffenen Patient\*innen deutlich jünger waren als die Patient\*innen mit sporadischen Schwannomen. Diese Beobachtung wurde schon in multiplen Arbeiten beschrieben.<sup>19,93,233,328</sup> Durch das Vorliegen von Keimbahnmutationen kann es zu einer Manifestation bereits in frühen Lebensphasen kommen.<sup>131</sup> In der vorliegenden Arbeit hatten Patient\*innen mit NF2 zum Zeitpunkt der Operation ein Alter von durchschnittlich 28,7 Jahren, während Patient\*innen mit sporadischen Tumoren im Durchschnitt fast 20 Jahre älter waren.

Ebenso wiesen NF2-Patient\*innen deutlich häufiger Rezidive auf als Patient\*innen ohne Tumorsyndrom. Diesen Zusammenhang bestätigen auch Guha et al.<sup>329</sup> ebenso wie Peng et al.<sup>126</sup> Eine unvollständige Resektion kann häufiger zu einem Rezidiv führen, was bereits in einigen Arbeiten dargelegt wurde.<sup>251,329</sup> NF2-VS zeigen häufig ein diffuses Wachstumsmuster und neigen dazu, den siebten Hirnnerv bereits frühzeitig zu infiltrieren, was chirurgische Eingriffe herausfordernd gestaltet.<sup>126</sup> In einigen Fällen wird daher eine bewusst unvollständige Resektion durchgeführt, um die Funktion des Fazialisnerven als auch des achten Hirnnervens zu erhalten.<sup>330</sup>

### **4.2.1.2 Immunhistochemie**

Auffällig bei CD3 als auch CD8 war die geringere Expression bei NF2-assoziierten Schwannomen im Vergleich mit sporadischen Schwannomen. Bisher wurden diese Marker noch wenig in Bezug auf Schwannome untersucht, sodass sich nicht viel Erklärung in der Literatur finden lässt. Lediglich Tamura et al.<sup>292</sup> schreiben von einer signifikant höheren CD8-Zellzahl bei NF2-Schwannomen verglichen mit sporadischen Schwannomen. Dies stand auch in Verbindung mit einem kürzeren progressionsfreien Überleben. Hier wurden 22 NF2-assoziierte Schwannome mit 21 sporadischen Schwannomen verglichen. Es wurden keine TMAs verwendet, sondern 4 µm dicke Schnitte der jeweiligen Tumoren. Hier wurden dann in 5 sogenannten „Hot Spots“ unter

40-facher Vergrößerung die Zahlen der positiven Zellkerne gezählt. Die geringe Fallzahl mag sicherlich eine Limitation der Arbeit sein, dennoch ist der Vergleich mit dieser Arbeit für die Einordnung der in der vorliegenden Arbeit erzielten Ergebnisse wertvoll. Die vorliegende Studie basiert auf einer großen konsekutiven Kohorte, die nahezu alle verfügbaren Fälle einschloss, mit Ausnahme solcher, bei denen Gewebe oder Einwilligung fehlten. Durch die systematische Auszählung der Zellzahlen und die umfassendere Fallzahl bieten die hier erhobenen Daten eine hohe Validität. Die Unterschiede in beiden Arbeiten lassen sich vermutlich auf eine selektivere Fallauswahl von Tamura et al. zurückführen.

Es lässt sich die Vermutung aufstellen, dass in NF2-assoziierten Schwannomen möglicherweise weniger das TME als die genetische Mutation zur Schwannomentstehung beitragen. Wird die Expression der Makrophagenmarker CD68 und CD163 betrachtet, zeigen sich ähnliche Ergebnisse. Auch hier weisen NF2-assoziierte Schwannome eine geringere Expression der beiden Marker auf als sporadische Schwannome. Auch hier kann erneut mit Tamura et al.<sup>292</sup> verglichen werden: In ihrer immunhistochemischen Analyse fand sich signifikant mehr CD163-Expression in NF2-assoziierten Schwannomen als in sporadischen. Ebenso konnte diese Beobachtung wieder mit einem kürzeren progressionsfreien Überleben assoziiert werden. Gregory et al.<sup>331</sup> untersuchten drei Datensätze auf Genexpressionsprofile von sporadischen und NF2-assoziierten VS mittels PCR und Zytometrie. Sie identifizierten Makrophagen als die am häufigsten vorkommende Immunpopulation in VS. Einen signifikanten Unterschied in der Expression von CD68 fanden sie zwischen NF2-assoziierten und sporadischen Schwannomen nicht. CD163 war lediglich in einem Datensatz bei NF2-assoziierten Schwannomen erhöht, was wiederum in einem Validationsversuch keinen signifikanten Unterschied hervorbrachte. Ebenso konnten keine Unterschiede in der T-Zell-Population in den beiden verglichenen VS-Geweben festgestellt werden. Die Fallzahl lag in dieser Arbeit bei 83 sporadischen VS und 33 NF2-assoziierten VS. Zwar unterschieden sich die angewandten Methoden grundlegend, dennoch tragen die Ergebnisse der anderen Studie dazu bei, die eigenen Befunde einzuordnen. Das Fazit von Gregory et al. lautet, dass sich NF2- und sporadische VS in ihrer immunologischen Mikroumgebung ähneln. Die Autor\*innen werfen ebenso wie Lewis et al.<sup>332</sup> die Theorie auf, dass eine hohe Makrophagendichte in NF2- als auch in sporadischen Schwannomen in manchen Arealen

besonders verdichtet auftreten. Diese seien laut Lewis et al. vor allem in Regionen mit viel Gefäßen und hoher proliferativer Aktivität lokalisiert.<sup>332</sup>

In der vorliegenden Arbeit wurde mittels Stanzbiopsien von 1 mm Durchmesser gearbeitet, sodass zwar viele Proben direkt miteinander verglichen werden konnten, diese allerdings nur ein kleines Areal des gesamten Schwannoms abbilden. So ist es denkbar, dass besonders makrophagendichte Areale nicht im erstellten Tissue Microarray abgebildet wurden. Das würde allerdings bedeuten, dass bei insgesamt 1807 Schwannomen, darunter 290 NF2-positive Schwannome, die aussagekräftigen Bereiche verfehlt worden sind. Das ist unwahrscheinlich, zumal die zu stanzenden Bereiche zuvor von einem erfahrenen Neuropathologen gesichtet und markiert wurden. In der vorliegenden Arbeit wurden die bisher größten Kohorten unterschiedlicher Schwannome untersucht, was eine umfassende und differenzierte Analyse ermöglicht hat. Die erhobenen Daten belegen die beschriebenen Unterschiede auf überzeugende Weise und tragen wesentlich zum Verständnis der Schwannome bei.

Auch im Zusammenhang mit COX2 exprimierten NF2-assoziierte Schwannome weniger diesen Markers als sporadische Schwannome. Hong et al beobachteten ähnliche COX2-Expressionsmuster bei NF2- als auch bei sporadischen VS.<sup>234</sup> Diese Autor\*innen untersuchten jeweils 15 sporadische und NF2-assoziierte VS auf 5 µm dicken Tumorschnitten. Auch hier wurde ein semiquantitativer Score für die Ermittlung der Immunpositivität verwendet. Die Prozentzahl der Färbeintensität wurde, wie auch in der vorliegenden Arbeit, geschätzt. Der Score bestand auch aus 5 Stufen, jedoch wurde hier anders unterteilt: Keine Immunpositivität ergab den Score 0, zwischen 1 – 10 % den Score 1, zwischen 11 – 50 % den Score 2. Von 51 – 80 % ergab sich der Score 3, alles darüber ergab Score 4.<sup>234</sup> Neben der geringen Fallzahl zeigt sich auch hier eine weitere Erklärung für das nicht signifikante Ergebnis. Die Score-Stufe 2 deckt einen sehr großen Bereich ab. In der vorliegenden Arbeit wurde zwischen 5, 25, und 50 % Immunpositivität unterteilt. Diese feinere Einteilung ermöglicht es, Unterschiede zwischen Gewebeproben mit geringer bis moderater Positivität genauer zu erfassen.

In Bezug auf die MIB1-Proliferationsindices konnte in der vorliegenden Arbeit kein Unterschied bei NF2- und sporadischen Schwannomen gefunden werden. Das überrascht, da eine positive Korrelation von MIB1 und schnell oder aggressiv wachsenden Tumoren

häufiger in der Literatur beschrieben wird. Antinheimo et al. als auch Saito et al. beschrieben bereits höhere MIB1-Expression bei NF2-assoziierten VS.<sup>328,333</sup> Limitationen der genannten Arbeiten könnten die kleine Fallzahl sein. Saito et al. untersuchten insgesamt 8 NF2-Schwannome und 10 sporadische Schwannome. Zudem wurden bei Saito auch Tumore der NF2-Gruppe zugeordnet, die nur wahrscheinlich eine NF2 hatten und somit keine genetische Diagnose vorlag.<sup>333</sup> Antinheimo untersuchte insgesamt 22 NF-assoziierte VS und 27 Nicht-NF2 VS. 10 der NF2-Patient\*innen waren miteinander verwandt. Hier wurde die MIB1-Immunopositivität ähnlich wie in der vorliegenden Arbeit anhand eines Computerprogramms ermittelt, die den Anteil der positiven Zellkerne zum Anteil, der nicht gefärbten Zellkerne errechnete. Antinheimo et al. begründeten ihr Ergebnis mit der Theorie, dass es durch den Merlin-Funktionsverlust zum Verlust der Zell-Zell-Wachstumshemmung komme und dies so zu einem invasivem Wachstumsmuster führen könne.<sup>328</sup>

Auch Hong et al. untersuchten die Expression von MIB1 bei sporadischen und NF2-assoziierten VS, hier ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen. Die geringe Fallzahl von je 15 Schwannomen aber auch die Methode der Quantifizierung unterschieden sich vom hier vorliegenden Projekt: Hong et al. zählten die MIB1-positiven Zellkerne unter 1000 Zellkernen und errechneten den Prozentsatz der MIB1-Expression.<sup>234</sup>

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich eine geringere Expression der Lymphozytenmarker CD3 und CD8 bei NF2-assoziierten Schwannomen als bei sporadischen Schwannomen. Auch die Immunopositivität der Makrophagenmarker CD68 und CD163 zeigten sich bei NF2-Schwannomen geringer ausgeprägt als bei sporadischen Schwannomen. Ähnlich verhielt es sich auch bei COX2. Die Expression von MIB1 zeigte zwischen beiden Gruppen keinen Unterschied. Durch die große Fallzahl und die Anwendung von systematischen Scoring-Methoden wurden Ergebnisse ermittelt, die nicht den bisherigen Forschungsergebnissen entsprechen. Die umfassende Datenbasis und die präzise Methodik erlauben jedoch eine fundierte Aussage und bieten eine solide Grundlage für die präsentierten Ergebnisse. Denkbar wäre, dass NF2-Schwannome durch die bereits zugrunde liegende genetische Mutation nicht mehr auf pro-tumoröse und entzündliche Einflüsse aus der Mikroumgebung angewiesen sind, um weiter zu proliferieren.

## **4.2.2 Schwannomatose-Schwannome im Vergleich mit sporadischen Schwannomen**

### 4.2.2.1 Klinische Charakteristika

Schwannomatose-assoziierte Schwannome zeigten in der vorliegenden Arbeit ein signifikant höheres Rezidivvorkommen als sporadische Schwannome. Guha et al. beschrieben bei Schwannomatosen eine Korrelation zwischen subtotaler Resektion und dem Rezidivvorkommen.<sup>329</sup> In einem Fallbericht von 2013 wurde von 9 Schwannomatose-Betroffenen bei 5 davon von einem postoperativen Rezidiv berichtet.<sup>113</sup> Da der Rezidivstatus bei der vorliegenden Kohorte nur dichotom als entweder Primärtumor oder Rezidivtumor erfasst wurde und auch der Resektionsstatus nur für die Nicht-VS zur Verfügung stand, kann hier keine Aussage dazu getroffen werden. Denkbar wäre eine erneute Auswertung der Daten mit Bezug auf das Rezidivvorkommen als auch auf das Resektionsausmaß aller untersuchten Tumore. So könnten oben genannte Arbeiten weiter eingeordnet werden.

### 4.2.2.2 Immunhistochemie

Schwannomatose-assoziierte Tumore exprimierten in der vorliegenden Arbeit signifikant mehr CD3 als sporadische Schwannome. Bei CD8 ergab sich ebenfalls eine signifikante Korrelation mit höheren CD8-Zellzahlen in Verbindung mit Schwannomatose. Schwannomatose-assoziierte Schwannome zeigten also eine deutlich höhere Lymphozytenzahl als sporadische Schwannome. Dieses Ergebnis ist vor allem interessant im Vergleich mit der CD3- und CD8-Positivität in NF2-assoziierten Schwannomen. Während NF2-Schwannome deutlich weniger Lymphozyten als sporadische Tumore präsentieren, scheinen Schwannomatose-assoziierte Tumore signifikant mehr Lymphozyten aufzuweisen. Die CD68-Expression war bei Schwannomatose-Patient\*innen erniedrigt, während sich kein signifikantes Ergebnis bei der Betrachtung von CD163 ergab, obwohl hier auch die Zahl der CD163-positiven Zellen geringer war als bei sporadischen Schwannomen. Auch Schulz et al. beschrieben 2016 auch das Vorkommen von Makrophagen in Schwannomatose-assoziierten Schwannomen, jedoch

wurde hier lediglich in vorhandene/ nicht vorhandene Immunfärbung anhand des Markers CD68 unterteilt.<sup>25</sup>

Anhand der weiter oben aufgestellten Theorie des anti- und pro-tumorösen Immunzellspektrums könnte bei Schwannomatosen ein deutlich protektiveres Milieu vorliegen als in sporadischen Schwannomen.

In Bezug auf die COX2-Expression von Schwannomatose-assoziierten Tumore ergab sich kein signifikanter Unterschied zu sporadischen Schwannomen. Schwannomatose-assoziierte Schwannome zeigten jedoch einen signifikant höheren MIB1-Index als ihre Vergleichsgruppe, während NF2-assoziierte und sporadische Schwannome ein indifferentes Ergebnis zeigten. Diese Korrelation ist glaubhaft mit dem Symptombild von Schwannomatosen und ihrem multiplen und häufig aggressiven Auftreten vereinbar.<sup>111,114</sup> Wissenschaftliche Erkenntnisse zur Einordnung dieser Beobachtungen gibt es zurzeit keine. Es ist anzumerken, dass der Parameter *Schwannomatose* nur im Zusammenhang mit Schwannomen an anderen Lokalisationen erhoben wurde. Da Schwannome, die mit Schwannomatose assoziiert sind, nicht am achten Hirnnerv auftreten,<sup>114</sup> sollte die begrenzte Fallzahl keine wesentliche Einschränkung darstellen.

Es bleibt unklar, warum Schwannomatose-assoziierte Tumore gemäß der oben aufgestellten Theorie, mit einem anti-tumoröseren Mikromilieu assoziiert werden könnten als sporadische Schwannome. Zudem ähneln sie in ihrem Mikroenvironment kaum dem von NF2-Schwannomen. Letztere zeigen kaum Infiltration von Immunzellen, während bei Schwannomatose das Verhältnis der protektiven zu den pro-tumorösen Immunzellen hoch ist. Das widerspricht der Theorie, dass Tumorsyndrom-assoziierte Schwannome weniger abhängig vom TME für das Wachstum von Tumoren sein könnten, da bereits eine genetische Driver-Mutation vorliegt. Allerdings ist auch in der vorliegenden Arbeit die Fallzahl begrenzt. Dennoch ist für ein besseres Verständnis des Krankheitsbildes und der Betreuung der häufig sehr schmerzgeplagten Patient\*innen in Zukunft mehr Forschung notwendig.<sup>1,112</sup>

Die Unterschiede im Tumormikromilieu zwischen Schwannomatose-assoziierten Tumoren und NF2-assoziierten Schwannomen könnten auf verschiedene zugrunde liegende molekulare Mechanismen zurückzuführen sein. Schwannomatose ist durch Mutationen in den Genen *SMARCB1* und *LZTR1* gekennzeichnet, während NF2 durch

Mutationen im *NF2*-Gen verursacht wird. Diese genetischen Unterschiede könnten zu verschiedenen Signalwegen führen, die wiederum das Tumormilieu beeinflussen. Zusätzlich können auch Umweltfaktoren und das Mikromilieu des umgebenden Gewebes eine Rolle spielen, was die Unterschiede weiter verstärken könnte. Denkbar wäre die Untersuchung der oben genannten Gene in Zusammenhang mit dem TME. Analysen von Genom und Transkriptom könnten spezifische Signalwege, die durch Mutationen in *SMARCB1*, *LZTR1*, oder *NF2* aktiviert oder unterdrückt werden, weiter untersuchen. Auch eine erweiterte Kohorte würde mehr Aufschluss geben. Die Immunhistochemie wurde bereits bei der vorliegenden Arbeit angewandt, eine Erweiterung um andere Marker des TME, siehe hierzu Kapitel 4.1.7, würde auch hier mehr Einblicke in die unterschiedlichen Milieus von *NF2*- und Schwannomatose-assoziierten Schwannomen bieten.

### **4.3 Ausblick/ Perspektive**

Wie in den vorangegangenen Kapiteln diskutiert, liefert die vorliegende Arbeit wichtige Erkenntnisse, die gleichzeitig neue Fragen aufwerfen. Für ein tiefergehendes Verständnis der immunhistochemischen Marker-Expression, die in dieser Studie beschrieben wurde, sind weiterführende Analysen erforderlich. So könnte die Rolle von CD8 im TME von Schwannomen gezielt im Kontext von PD-1 und regulatorischen T-Zellen untersucht werden.<sup>252,257,260,290-292</sup> Ebenso könnten Makrophagen weiter differenziert werden, beispielsweise durch den Einsatz weiterer spezifischer Makrophagenmarker.<sup>165,261,265,267</sup> Wachstumsfaktoren wie VEGF und TGF- $\beta$ , die eine zentrale Rolle im TME spielen, verdienen ebenfalls eine genauere Betrachtung.<sup>103,158,160,161</sup> Die Funktion von MIB1 in Schwannomen ist ebenfalls nicht abschließend geklärt. Es bleibt unklar, ob die geringe Expression dieses Markers ausschließlich von Schwann-Zellen oder auch von Lymphozyten und Makrophagen ausgeht.<sup>182,207</sup> Molekulare Analysen könnten hier weitere Einblicke liefern, etwa durch die Untersuchung des Einflusses von p53 auf MIB1.<sup>269</sup> Darüber hinaus sind klinische Studien notwendig. Serielle MRT-Scans könnten genutzt werden, um die Wachstumsdynamik von Schwannomen, auch jenseits des achten Hirnnervens, zu charakterisieren. Diese nicht-invasive Methode würde wertvolle Informationen über das Tumorverhalten liefern.<sup>235,241</sup> Zudem könnte die Rezidivrate detaillierter analysiert werden, indem Tumorresektionen mit nachfolgenden Rezidiven

korreliert werden. Ergänzend wären langfristige klinische Follow-up-Untersuchungen sinnvoll, um Parameter wie Rezidivstatus, Ausmaß der Resektion, funktionelle Einschränkungen (z. B. Schmerzen oder Paresen) sowie die Lebensqualität der Patient\*innen systematisch zu erfassen. Prospektive oder retrospektive Studien könnten darüber hinaus Patient\*innen einschließen, die in der Anamnese häufige Entzündungen im Bereich des Mittelohrs berichten. Untersuchungen des achten Hirnnervs mittels MRT könnten strukturelle Veränderungen frühzeitig detektieren und mögliche Zusammenhänge mit der Entstehung von Schwannomen in dieser Lokalisation aufdecken. Die Erkenntnisse könnten nicht nur das Wissen über die Tumorentstehung erweitern, sondern auch neue therapeutische Zielstrukturen identifizieren.

Diese Ansätze würden entscheidend dazu beitragen, ein tieferes Verständnis für die Pathophysiologie von Schwannomen zu entwickeln und insbesondere die Frage zu beantworten, warum der achte Hirnnerv besonders häufig betroffen ist.

#### ***4.3.1 Therapieansätze***

Dass sich das Mikromilieu von VS und Nicht-VS stark unterscheidet, ist eine wichtige Erkenntnis und bereitet den Weg zur individualisierten Therapie der Schwannome.

Mögliche therapeutische Ansätze umfassen die Inhibition von Immuncheckpoints, die Umwandlung von M2- zu M1-Makrophagen sowie die Hemmung der Cyclooxygenase durch den Einsatz von ASS.<sup>231,239,317-319,324-326</sup> Gegenwärtig wird insbesondere der letzte Ansatz im Zusammenhang mit Schwannomen intensiv untersucht.

Die Hemmung von Immuncheckpoints mit Nivolumab sowie der Einsatz anderer monoklonaler Antikörper wie Denosumab wurden bereits in einzelnen klinischen Fällen von Schwannomen, vor allem jedoch bei malignen Nervenscheidentumoren, erprobt.<sup>324,325</sup> Ebenso wurden Tyrosinkinaseinhibitoren wie Sorafenib in Bezug auf MPNST untersucht.<sup>326</sup> Aktuell liegen die meisten Daten zur Anwendung von Immuntherapien bei MPNST vor. Für ältere oder schwer kranke Patient\*innen, die keiner invasiven Behandlung unterzogen werden können oder möchten, könnte eine medikamentöse Therapie eine vielversprechende Alternative zur Resektion oder SRS darstellen.

#### **4.3.2 Therapieansätze bei Neurofibromatose 2**

NF2-assoziierte Schwannome sind von allen Schwannomen mit der schlechtesten Prognose assoziiert. Durch die NF2-Genmutation kommt es zu multifokalen Schwannomen als auch zu bilateralen VS.<sup>19</sup> Dazu wird die Lebensqualität zusätzlich deutlich durch das Auftreten von Meningeomen, Ependymomen und spinalen Tumoren eingeschränkt.<sup>93,99,100</sup> Das 20-Jahres-Überleben liegt nur bei 38 %.<sup>131</sup> Die Behandlung von NF2-Patient\*innen ist komplex. Diese Patient\*innen würden ebenfalls erheblich von alternativen Therapiemethoden profitieren.

Eine Anti-VEGF-Therapie findet bei NF2-assoziierten Schwannomen bereits seit 2012 als off-label-Therapie Anwendung.<sup>52,104,105</sup> Zu den beobachteten Effekten zählen eine Stabilisierung oder Verbesserung des Hörvermögens sowie eine Reduktion des Tumolvolumens um bis zu 20 %.<sup>104,334</sup> Allerdings gibt es bei der Behandlung mit Bevacizumab mehrere Problematiken, darunter die häufige parenterale Verabreichung und Nebenwirkungen wie arterielle Hypertonie und Proteinurie. Ebenso sind renale und kardiale Toxizität mögliche Nebenwirkungen von Bevacizumab.<sup>335</sup> Zudem wird ein Rebound-Phänomen nach Absetzen des Medikaments beschrieben.<sup>336</sup> Aus diesen Gründen wird aktuell auch nach weiteren Behandlungsmöglichkeiten bei NF2 gesucht.

Lapatinib, ein EGFR (Epidermal Growth Factor Rezeptor)-Inhibitor zeigte bereits in einer klinischen Studie eine wachstumshemmende Wirkung, allerdings auf Meningeome.<sup>337</sup> Eine klinische Phase-II-Studie zeigte auch bei vorliegenden NF2-assoziierten VS positive Ergebnisse mit einer maximalen Tumorschrumpfung von minus 14 %, jedoch keine Überlegenheit im Vergleich zu Bevacizumab.<sup>338</sup>

Eine weitere klinische Phase-II-Studie beschrieb die Wirkung von Icotinib, ein oraler Tyrosinkinase-Inhibitor des EGFR. Bei Patient\*innen mit NF2 und progressiven VS kam es zu einer Verbesserung des radiologischen VS-Volumens und des Hörvermögens.<sup>339</sup> Die orale Einnahme bot einen erheblichen Vorteil zur bereits etablierten intravenösen Bevacizumab-Therapie bei NF2-Patient\*innen. Der Wirkstoff wurde gut vertragen, keine/ r der behandelten Patient\*innen musste die Behandlung aufgrund von Nebenwirkungen abbrechen. Zu den häufigsten unerwünschten Nebenwirkungen gehörten Hausausschlag und Diarrhoe. Im Vergleich zu Bevacizumab zeigte die Arbeit

von Zhao et al. vergleichbare audiologische Ergebnisse am Endpunkt, während Bevacizumab eine höhere Tumolvolumenreduktion aufwies und eine schnellere und dauerhafte Verbesserung des Hörempfindens zeigte.<sup>339</sup>

Auch Brigatinib, ein orales ALK-Derivat (Anaplastische Lymphom-Kinase) wurde in einer Phase-II-Studie bei NF2-assoziierten Schwannomen untersucht. Das beste Ansprechen zeigte sich bei nicht-vestibulären Schwannomen. Das Tumorstadium konnte verringert werden, jedoch am deutlichsten bei Meningeomen. Das progressionsfreie Überleben lag bei 83 % bei NF2-Patient\*innen mit nicht-vestibulären Schwannomen. In Bezug auf das progressionsfreie Überleben bei Meningeomen zeigte sich Brigatinib Bevacizumab überlegen.<sup>340</sup>

Zudem laufen aktuell weitere Studien, zum Beispiel zu Crizotinib bei der Behandlung von NF2-Patient\*innen mit VS (NCT04283669). Crizotinib, ein ALK- und MET-Inhibitor (Mesenchymal-Epithelial Transition Factor) zeigte präklinisch bereits eine Hemmung der Zellproliferation bei *NF2*-defizienten Zellen.<sup>341</sup>

Die Forschung richtet ihren Fokus zunehmend auf neue potenzielle Therapieziele, insbesondere im Bereich der Tumormikroumgebung. Diese Targets umfassen sowohl molekulare Mechanismen als auch Immunzellen, die in der Tumorstadiumprogression eine Rolle spielen. Dies gibt Anlass zur Hoffnung, dass sich in naher Zukunft die Behandlungsmöglichkeiten signifikant erweitern und verbessern werden, um den Betroffenen effektivere und personalisierte Therapien anzubieten.

#### **4.4 Zusammenfassung**

In dieser Arbeit wurde die Theorie aufgestellt, dass Immunzellen für ein unterschiedliches TME in Tumoren sorgen können. Es wurde auf Basis der bisherigen Erkenntnisse über das TME bei malignen Tumoren vermutet, dass Lymphozyten wie CD3- als auch CD8-positive Zellen einen anti-tumorösen Einfluss auf das TME ausübten.<sup>151-153,188,192,193,342</sup> Zusätzlich wurde angenommen, dass Tumor-assoziierte Makrophagen, insbesondere CD163-positive Makrophagen, eine M2-ähnliche Polarisation aufweisen und pro-tumoröse Aktivitäten im TME ausführen könnten.<sup>197,199-204</sup> Aufgrund der bisher

gewonnenen Einsichten wurde davon ausgegangen, dass eine hohe Expression von MIB1 und COX2 ebenso für ein pro-tumoröseres TME stehen könnte.<sup>207,213-216,221</sup>

Gestützt von Erkenntnissen aus verwandten Studien, die ein ähnliches TME bei gutartigen Schwannomen beschreiben, wurde in dieser Arbeit eine Analyse des TME bei Schwannomen verschiedener Lokalisationen durchgeführt.<sup>134,135,231-235,257,260,268</sup>

Bei Betrachtung der sporadischen VS ergab sich ein interessantes Bild: Sie wiesen sowohl signifikant weniger Lymphozyten jedoch mehr Makrophagen als Schwannome anderer Lokalisationen auf. Auch konnten VS mit höheren COX2-Scores als auch niedrigeren MIB1-Werten als andere sporadische Schwannome in Zusammenhang gebracht werden. Die Immunopositivität von Lymphozyten, Makrophagen und COX2-Expression erschien kohärent mit der Theorie eines pro-tumorösen Tumormikromilieus bei VS und lieferte somit einen potenziellen Erklärungsansatz für die Prävalenz dieses Tumortyps an dieser Lokalisation. Die MIB1-Expression zeigte sich bei VS geringer als bei Schwannomen anderer Lokalisationen.

Die bisher aufgestellte Theorie des unterschiedlichen TMEs innerhalb der Schwannome basierte auf der Betrachtung verschiedener Immunzellmarker und entzündlicher Komponenten, die im Tumormikromilieu von Nicht-VS im Vergleich zu VS gefunden wurden. Diese Unterschiede deuteten darauf hin, dass das Mikromilieu in Nicht-VS eine anti-tumoröse Rolle haben könnte, während das Milieu in VS als förderlich für das Tumorwachstum angesehen wurde.

Bei der Analyse von NF2-assoziierten Schwannomen im Vergleich zu sporadischen Schwannomen ergab sich eine niedrigere Expression der Lymphozytenmarker, der Makrophagenmarker als auch von COX2 bei NF2-Schwannomen. Dies legt nahe, dass das NF2- Mikromilieu weder eindeutig anti-tumorös noch pro-tumorös ausgerichtet ist. Die beobachtete reduzierte Expression aller Marker legt nahe, dass die genetische Driver-Mutation in NF2-Schwannomen ausreichend sein könnte, um die Entstehung der Tumore zu initiieren, ohne dass ein ausgeprägtes pro-tumoröses Mikromilieu erforderlich ist.

Auch bei der Analyse von Schwannomatose-assoziierten Schwannomen ergaben sich interessante Befunde. Im Gegensatz zu NF2-Tumoren, die eine geringe Expression von Immunzellmarkern und des Proliferationsindex aufwiesen, wiesen Schwannomatose-

assoziierte Schwannome eine hohe Anzahl von Lymphozyten bei gleichzeitig niedriger Makrophagen-Infiltration und hoher MIB1-Expression auf. Diese Befunde stehen im Widerspruch zu einer klaren Zuordnung zu einem pro- oder anti-tumorösen Milieu, da sie darauf hindeuten würden, dass Schwannomatose-assoziierte Tumore ein insgesamt anti-tumoröseres Milieu aufweisen. Diese Beobachtung steht jedoch im Widerspruch zum klinischen Bild von Schwannomatose-Tumoren.<sup>1,112</sup>

Wie genau sich das TME in Schwannomen unterschiedlicher Lokalisation also zusammensetzt, kann anhand dieser Studie nicht abschließend beurteilt werden. Es wird vermutet, dass sporadische VS ein pro-tumoröseres TME im Vergleich zu Schwannomen an anderen Lokalisationen wie beispielsweise Spinalschwannomen aufweisen könnten. Die genauen Gründe hierfür lassen sich jedoch nicht allein anhand einer retrospektiven immunhistochemischen Studie klären. Diese Arbeit vergleicht die bisher größte Kohorte an VS und Schwannomen anderer Lokalisationen und belegt, dass eindeutige Unterschiede im TME von VS und Nicht-VS bestehen.

#### **4.5 Limitationen**

Obwohl die vorliegende Arbeit wertvolle Einblicke bietet, ist es wichtig, ihre Limitationen zu berücksichtigen, um die Interpretation der Ergebnisse angemessen einzuschätzen. Eine Herausforderung ist der retrospektive Charakter der Studie und die daraus resultierende Auswahl einer rein chirurgischen Kohorte, wodurch Schwannome, die konservativ oder nur mit alleiniger Strahlentherapie behandelt wurden, nicht eingeschlossen wurden.

Ein möglicher Bias ergibt sich aus der Tatsache, dass das Zentrum, aus dem die untersuchte Kohorte stammt, auf Schädelbasis- und NF2-assoziierte Tumore spezialisiert ist. Dies könnte dazu führen, dass in der Kohorte ein überproportional hoher Anteil an komplexen Tumoren vertreten ist.

Es ist wichtig anzumerken, dass die alleinige Einschätzung durch einen Pathologen ohne Zweitmeinung die Möglichkeit einer Verzerrung der Ergebnisse birgt. Darüber hinaus erlaubt die Tissue-Microarray-Methode keine immunhistochemische Beurteilung des gesamten Tumorgewebes, was zu einer potenziellen Unterschätzung der Heterogenität

zwischen den Tumoren führen könnte. Um diesem Problem zu begegnen, wurden von besagtem Pathologen tumortypische Areale auf dem HE-Schnitt markiert, um dort eine Stanze zu entnehmen. Zusätzlich müssen mögliche Vertauschungen während des Laborprozesses als weitere Einschränkung berücksichtigt werden.

Auch die Methodik der Tissue Microarrays bringt seine Limitationen mit sich. Auch wenn das Schwannom histopathologisch ein homogenes Muster aufzeigt,<sup>82</sup> muss bedacht werden, dass von allen untersuchten Tumoren nur eine kleine Stanzprobe mit 1 mm Durchmesser für die Analyse zur Verfügung stand. Die Auswahl des zu stanzenden Bereichs wurde von einem erfahrenem Neuropathologen getätigt. Dennoch besteht die Möglichkeit, dass nicht repräsentative Areale gestanzt wurden und ein verfälschtes Bild der Markerexpression zeigten.

Aus den in der Neuropathologie Tübingen archivierten Tumorproben wurden pro Tumor in den TMAs nur eine Tumorstanze angefertigt. Das Anfertigen einer zweiten Stanze aus demselben Gewebe würde eine weitere Kontrollmöglichkeit ergeben und Fehlerquellen minimieren. Bei z.T. sehr wenig Rest-Tumorgewebe war dies allerdings nicht immer möglich, sodass darauf verzichtet wurde.

Die Studie weist einige Einschränkungen in Bezug auf die Auswertung auf, insbesondere bei der Bewertung der IHC-Färbungen. Die Bewertung der VS-Daten erfolgte durch eine Person, während eine andere Person die Nicht-VS-Daten beurteilte. Die Auswertung der Makrophagenmarker und der COX2-Expression basierte nicht auf der Anzahl einzelner immunpositiver Zellen, sondern auf einem Scoring-System. Dieser Ansatz birgt bei der Anwendung von zwei verschiedenen Personen das Risiko einer gewissen Interrater-Variabilität. Zudem kann die computergestützte Analyse der MIB1-Indices durch unterschiedliche Filtereinstellungen zu weiterer Interrater-Variabilität führen. Um dies zu minimieren, wurde bei der Auswertung der Nicht-VS-Daten auf die Einschätzungen der vorherigen Person zurückgegriffen, um die Vergleichbarkeit der Daten bestmöglich zu gewährleisten.

Die in der vorliegenden Arbeit angewandte Klassifizierung nach anatomischer Lage basiert primär auf Körperregionen. Diese Herangehensweise erwies sich als die pragmatischste, um den verschiedenen Schwannomen Lokalisationen zuzuweisen. Ob eine derartige Kategorisierung in Untergruppen sinnvoll ist, bleibt jedoch offen. Es

wurden keine Untersuchungen zur Tumorgröße oder zur radiologischen Wachstumsrate durchgeführt, die eine genauere Kontextualisierung der einzelnen Schwannome ermöglicht hätten. Es bleibt ungewiss, wie das TME der unterschiedlichen Schwannom-Untergruppen ausgesehen hätte, wenn deren Zuordnung anhand anderer Kriterien als in der vorliegenden Studie erfolgt wäre.

Die Ergebnisse bleiben Assoziationsbeobachtungen, bei denen nicht ausgeschlossen werden kann, dass sie lediglich Begleiterscheinungen anderer Prozesse sind und keinen direkten kausalen Zusammenhang haben.

## 5 Abstract

Schwannome sind Neoplasien von peripheren Nervenscheidenzellen, sogenannte Schwann-Zellen. Aufgrund ihrer benignen Entität werden sie nach WHO Grad 1 klassifiziert. Sie wachsen umkapselt entlang dem Verlauf des peripheren Nerven, infiltrieren diesen selten von jedem peripheren, kranialen oder autonomen Nerven des Körpers ausgehen. Dennoch ist der überproportional häufigste Manifestationsort der achte Hirnnerv, die dort entstehenden Schwannome werden auch Vestibularisschwannome (VS) genannt, da sie genauer genommen dem N. vestibularis des N. vestibulocochlearis entspringen. Trotz langsamer Wachstumsmuster werden Schwannome klinisch apparent durch Kompression oder Verdrängung der umgebenden Strukturen. Bei VS kann sich dies durch Hörstörungen, Tinnitus und vestibuläre Symptome zeigen. Schwannome anderer Lokalisationen können Schmerzen oder Nervenfunktionsstörungen, vor allem beim Auftreten im Spinalbereich, hervorrufen. Die geläufigste Therapieform ist die chirurgische Resektion, es kann je nach Verlauf auch die reine Observation oder eine Strahlentherapie zum Einsatz kommen.

Eine Sondergruppe stellen die Tumorsyndrom-assoziierten Schwannome dar. Bei Erkrankung an NF2 kann es schon im frühen Alter zum Auftreten von multiplen Schwannomen kommen. NF2 liegt eine Mutation des NF2-Tumorsuppressorgens Merlin zugrunde, welche bei biallelischem Verlust eine überschießende Proliferation von Schwann-Zellen mit sich bringt. Betroffene leiden häufig unter bilateralen VS, Meningeomen und Ependymomen. Durch den Befall multipler Nerven kommt es zu einem hohen Leidensdruck. Schwannomatose bezeichnet ebenfalls eine genetische Erkrankung, hier kommt es durch andere genetische Veränderungen ebenfalls zu multipler Schwannom-Bildung. Der achte Hirnnerv ist jedoch typischerweise nicht betroffen.

Die Ursache für die hohe Prävalenz von Schwannomen am achten Hirnnerven bleibt unklar. Ein multifaktorieller Ansatz, der sowohl genetische Faktoren als auch mechanische Irritationen berücksichtigt, wird diskutiert. Obwohl anatomische Lage und mechanische Belastung eine Rolle spielen könnten, erklären sie nicht vollständig die Häufigkeit von Schwannomen an dieser Stelle im Vergleich zu anderen Nerven.

Zusätzlich zu den Veränderungen in den Schwann-Zellen selbst spielen auch die angrenzenden Zellen und die Reaktionen der Umgebung von Schwannomen eine wichtige Rolle. Neben den Schwann-Zellen können in Schwannomen auch Makrophagen, T-Zellen, Endothelzellen und perivaskuläre B-Zellen nachgewiesen werden, was darauf hinweist, dass diese Zellen die Entstehung beeinflussen können. Immunzellen wie CD4- und CD8-Zellen können Tumorzellen durch anti-tumoröse Effekte bekämpfen, die das Tumorwachstum einschränken können. Die Funktionen dieser Immunzellen können jedoch von Tumorzellen unterdrückt werden, was zur Entstehung eines immunsuppressiven Umfelds beiträgt, das das Tumorwachstum begünstigt. Makrophagen, die in das Tumor-Mikromilieu eindringen, können sich in unterschiedliche Typen polarisieren, von denen einige mit einer ungünstigen Prognose bei Tumorerkrankungen in Verbindung stehen. Eine chronische Entzündungsreaktion und die Überexpression von COX2 können ebenfalls die Tumorgenese vorantreiben.

Ziel dieser Arbeit war, durch immunhistochemische Analyse von Schwannomen einen Unterschied im Tumormikromilieu von Vestibularisschwannomen und Nicht-Vestibularisschwannomen zu finden und daraus mögliche Erklärungsansätze für die überdurchschnittliche Häufigkeit von VS abzuleiten. Dafür wurden Daten von insgesamt 1807 Schwannomen unterschiedlicher Lokalisationen, die in der Neurochirurgie des Universitätsklinikums Tübingen operiert worden sind, im Zeitraum von 2004 - 2020 gesammelt. Die operierten Tumore wurden mittels Tissue-Microarrays immunhistochemisch auf die Marker CD3, CD8, CD68, CD163, MIB1 und COX2 untersucht und mit den klinischen Daten der Patient\*innen in Zusammenhang gebracht.

Die Analyse zeigte deutliche Unterschiede im TME von VS im Vergleich zu Schwannomen an anderen Lokalisationen. Insbesondere im direkten Vergleich zwischen VS und Nicht-VS traten signifikante Unterschiede zutage. Diese Unterschiede umfassten eine geringere Anzahl von lymphozytären Zellen wie CD3- und CD8-T-Zellen, jedoch eine höhere Anzahl von Makrophagen wie CD68- und CD163-positiven Zellen in VS im Vergleich zu Nicht-VS. Gleichzeitig weisen VS eine signifikant geringere Expression von MIB1 im Vergleich zu Nicht-VS auf. Darüber hinaus zeigt sich eine erhöhte entzündliche Komponente, wie durch die starke Immunopositivität von COX2 in VS im Vergleich zu anderen Lokalisationen klar wird. Es wurde die Theorie formuliert, dass in

VS ein pro-tumoröseres Mikromilieu herrschen könnte als in Schwannomen anderer Lokalisationen.

Bei der Analyse von NF2-assoziierten Schwannomen im Vergleich zu sporadischen Schwannomen ergab sich eine allgemein niedrigere Expression sämtlicher Marker im NF2-Kontext im Vergleich zu den sporadischen Fällen. Die beobachtete reduzierte Expression aller Marker legt nahe, dass die genetische Driver-Mutation in NF2 ausreichend sein könnte, um die Entstehung der Tumore zu initiieren, ohne dass ein ausgeprägtes pro-tumoröses Mikromilieu erforderlich ist. Schwannomatose-assoziierte Schwannome zeigten dahingegen eine unterschiedlichere Expression ihrer IHC-Marker. Sie wiesen eine hohe Anzahl von Lymphozyten bei gleichzeitig niedriger Makrophagenexpression und hoher MIB1-Expression auf.

Die in dieser Arbeit belegten Unterschiede im TME von VS im Vergleich zu Schwannomen an anderen Lokalisationen lassen ein pro-tumoröseres TME bei VS als bei Nicht-VS vermuten. In der vorliegenden Arbeit wurden die bisher größten Kohorten unterschiedlicher Schwannome untersucht, was eine umfassende und differenzierte Analyse ermöglicht hat. Die erhobenen Daten belegen die beschriebenen Unterschiede auf überzeugende Weise und tragen wesentlich zum Verständnis der Schwannome bei. Offene Fragen sind dabei die Bedeutung des Proliferationsindex MIB1 und die Bedeutung des TMEs für Schwannome. Die Antworten hierfür lassen sich jedoch nicht allein anhand einer retrospektiven immunhistochemischen Studie klären. Es ist erforderlich, weitere Forschung auf molekularer und immunhistochemischer Ebene durchzuführen, um zusätzliche Faktoren zu identifizieren, die das TME in Schwannomen beeinflussen können.

## 6 References

1. Dr. Cordula Matthies. S2k-Leitlinie Diagnostik und Therapie peripherer Nerventumoren: Deutsche Gesellschaft für Neurochirurgie. [AWMF-Register Nr. 008/024]. 2022. [https://register.awmf.org/assets/guidelines/008-024l\\_S2k\\_Diagnostik-Therapie-peripherer-Nerventumoren\\_2022-12.pdf](https://register.awmf.org/assets/guidelines/008-024l_S2k_Diagnostik-Therapie-peripherer-Nerventumoren_2022-12.pdf). Accessed March 23, 2024.
2. Bondi S, Limardo P, Toma S, Bussi M. Non-vestibular head and neck schwannomas: a 10-year experience. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*. 2013;270(8):2365-2369. doi:10.1007/s00405-013-2520-2.
3. Knight DMA, Birch R, Pringle J. Benign solitary schwannomas: a review of 234 cases. *J Bone Joint Surg Br*. 2007;89(3):382-387. doi:10.1302/0301-620X.89B3.18123.
4. Wippold FJ, Lubner M, Perrin RJ, Lämmle M, Perry A. Neuropathology for the neuroradiologist: Antoni A and Antoni B tissue patterns. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2007;28(9):1633-1638. doi:10.3174/ajnr.A0682.
5. Mankin HJ, Mankin KP. Schwannoma: a rare benign tumor of soft tissues. *Musculoskelet Surg*. 2014;98(2):95-99. doi:10.1007/s12306-014-0333-0.
6. Miese F, Ghadimi M, Buchbender C, Wördehoff L, Schleich C, Knoefel WT. Benigne Weichteiltumoren: Schwannome. [Differentialdiagnosen der benignen Weichteiltumoren]. In: Schultheis K-H, Mödder U, Antoch G, Germer C-T, Knoefel WT, Laniado M, eds. *Chirurgie und Bildgebung: 1050 Abbildungen*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2018:79-98.
7. Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker KH. *PROMETHEUS Kopf, Hals und Neuroanatomie*. 6., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2022. PROMETHEUS LernAtlas der Anatomie. [https://eref.thieme.de/ebooks/cs\\_18679585#](https://eref.thieme.de/ebooks/cs_18679585#).
8. Foer B de, Kenis C, van Melkebeke D, et al. Pathology of the vestibulocochlear nerve. *European Journal of Radiology*. 2010;74(2):349-358. doi:10.1016/j.ejrad.2009.06.033.

9. Agnihotri S, Jalali S, Wilson MR, et al. The genomic landscape of schwannoma. *Nature genetics*. 2016;48(11):1339-1348. doi:10.1038/ng.3688.
10. Hughes MJ, Thomas JM, Fisher C, Moskovic EC. Imaging features of retroperitoneal and pelvic schwannomas. *Clinical radiology*. 2005;60(8):886-893. doi:10.1016/j.crad.2005.01.016.
11. Ando K, Imagama S, Ito Z, et al. Differentiation of spinal schwannomas and myxopapillary ependymomas: MR imaging and pathologic features. *J Spinal Disord Tech*. 2014;27(2):105-110. doi:10.1097/BSD.0b013e31825017aa.
12. Pilavaki M, Chourmouzi D, Kiziridou A, Skordalaki A, Zarampoukas T, Drevelengas A. Imaging of peripheral nerve sheath tumors with pathologic correlation: pictorial review. *European Journal of Radiology*. 2004;52(3):229-239. doi:10.1016/j.ejrad.2003.12.001.
13. Nave K-A. Myelination and support of axonal integrity by glia. *Nature*. 2010;468(7321):244-252. doi:10.1038/nature09614.
14. Nave K-A. Myelination and the trophic support of long axons. *Nat Rev Neurosci*. 2010;11(4):275-283. doi:10.1038/nrn2797.
15. Bleich M, Draguhn A, Ehmke H, Singer D. *Physiologie: 820 Abbildungen*. 10., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2023.
16. Hildebrand C, Bowe CM, Remahl IN. Myelination and myelin sheath remodelling in normal and pathological PNS nerve fibres. *Prog Neurobiol*. 1994;43(2):85-141. doi:10.1016/0301-0082(94)90010-8.
17. Morrison H, Sherman LS, Legg J, et al. The NF2 tumor suppressor gene product, merlin, mediates contact inhibition of growth through interactions with CD44. *Genes & development*. 2001;15(8):968-980. doi:10.1101/gad.189601.
18. Helbing D-L, Schulz A, Morrison H. Pathomechanisms in schwannoma development and progression. *Oncogene*. 2020;39(32):5421-5429. doi:10.1038/s41388-020-1374-5.
19. Evans DGR. Neurofibromatosis type 2 (NF2): a clinical and molecular review. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2009;4:16. doi:10.1186/1750-1172-4-16.
20. Pećina-Šlaus N. Merlin, the NF2 gene product. *Pathology oncology research : POR*. 2013;19(3):365-373. doi:10.1007/s12253-013-9644-y.

21. Trofatter JA, McCollin MM, Rutter JL, et al. A novel moesin-, ezrin-, radixin-like gene is a candidate for the neurofibromatosis 2 tumor suppressor. *Cell*. 1993;72(5):791-800. doi:10.1016/0092-8674(93)90406-G.
22. Rouleau GA, Merel P, Lutchman M, et al. Alteration in a new gene encoding a putative membrane-organizing protein causes neuro-fibromatosis type 2. *Nature*. 1993;363(6429):515-521. doi:10.1038/363515a0.
23. Shaw RJ, McClatchey AI, Jacks T. Regulation of the neurofibromatosis type 2 tumor suppressor protein, merlin, by adhesion and growth arrest stimuli. *Journal of Biological Chemistry*. 1998;273(13):7757-7764. doi:10.1074/jbc.273.13.7757.
24. Petrilli AM, Fernández-Valle C. Role of Merlin/NF2 inactivation in tumor biology. *Oncogene*. 2016;35(5):537-548. doi:10.1038/onc.2015.125.
25. Schulz A, Büttner R, Hagel C, et al. The importance of nerve microenvironment for schwannoma development. *Acta Neuropathol*. 2016;132(2):289-307. doi:10.1007/s00401-016-1583-8.
26. Jänisch W. Pathologie der Geschwülste des Nervensystems: Tumoren des peripheren Nervensystems. In: Cervós-Navarro J, Ferszt R, eds. *Klinische Neuropathologie*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 1989:390-396.
27. Stark AM, Hugo H-H, Buhl R, Mehdorn HM. Tumoren peripherer Nerven. *Deutsches Ärzteblatt*. 2002;99(14):928-933. Accessed January 2, 2022.
28. Trenkler J. Intraspinale Neoplasien: Schwannom (Neurinom). In: Breitenseher M, ed. *Der MR-Trainer Wirbelsäule*. 2nd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2018:226-239.
29. Sinkkonen ST, Hildén O, Hagström J, Leivo I, Bäck LJ, Mäkitie AA. Experience of head and neck extracranial schwannomas in a whole population-based single-center patient series. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2014;271(11):3027-3034. doi:10.1007/s00405-013-2871-8.
30. Leblanc A. *Encephalo-peripheral nervous system: Vascularisation, anatomy, imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2001.
31. Day JD, Fukushima T. The surgical management of trigeminal neuromas. *Neurosurgery*. 1998;42(2):233-40; discussion 240-1. doi:10.1097/00006123-199802000-00015.

32. Dolenc VV. Frontotemporal epidural approach to trigeminal neurinomas. *Acta neurochirurgica*. 1994;130(1-4):55-65. doi:10.1007/BF01405503.
33. Sarma S, Sekhar LN, Schessel DA. Nonvestibular schwannomas of the brain: a 7-year experience. *Neurosurgery*. 2002;50(3):437-48; discussion 438-9. doi:10.1097/00006123-200203000-00002.
34. Yamaki T, Morimoto S, Ohtaki M, et al. Intracranial facial nerve neurinoma: surgical strategy of tumor removal and functional reconstruction. *Surgical neurology*. 1998;49(5):538-546. doi:10.1016/s0090-3019(97)00025-6.
35. Kertesz TR, Shelton C, Wiggins RH, Salzman KL, Glastonbury CM, Harnsberger R. Intratemporal facial nerve neuroma: anatomical location and radiological features. *The Laryngoscope*. 2001;111(7):1250-1256. doi:10.1097/00005537-200107000-00020.
36. Chiang CW, Chang YL, Lou PJ. Multicentricity of intraparotid facial nerve schwannomas. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2001;110(9):871-874. doi:10.1177/000348940111000912.
37. Singh K, Singh MP, Thukral C, Rao K, Singh K, Singh A. Role of magnetic resonance imaging in evaluation of cerebellopontine angle schwannomas. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2015;67(1):21-27. doi:10.1007/s12070-014-0736-0.
38. Price M, Ballard C, Benedetti J, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2017-2021. *Neuro Oncol*. 2024;26(Supplement\_6):vi1-vi85. doi:10.1093/neuonc/noae145.
39. Samii M, Matthies C. Management of 1000 vestibular schwannomas (acoustic neuromas): the facial nerve--preservation and restitution of function. *Neurosurgery*. 1997;40(4):684-94; discussion 694-5. doi:10.1097/00006123-199704000-00006.
40. Koos WT, Spetzler RF, Lang J. *Color Atlas of Microneurosurgery: Volume 1 - Intracranial Tumors: Microanatomy, Approaches and Techniques*. Thieme; 1985. <https://books.google.de/books?id=gpunSMewHZcC>.
41. Koo M, Lai J-T, Yang EY-L, Liu T-C, Hwang J-H. Incidence of Vestibular Schwannoma in Taiwan from 2001 to 2012: A Population-Based National Health Insurance Study. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2018;127(10):694-697. doi:10.1177/0003489418788385.

42. Hours M, Bernard M, Arslan M, et al. Can loud noise cause acoustic neuroma? Analysis of the INTERPHONE study in France. *Occupational and environmental medicine*. 2009;66(7):480-486. doi:10.1136/oem.2008.042101.
43. Schlehofer B, Schlaefer K, Blettner M, et al. Environmental risk factors for sporadic acoustic neuroma (Interphone Study Group, Germany). *European Journal of Cancer*. 2007;43(11):1741-1747. doi:10.1016/j.ejca.2007.05.008.
44. Cardis E, Richardson L, Deltour I, et al. The INTERPHONE study: design, epidemiological methods, and description of the study population. *Eur J Epidemiol*. 2007;22(9):647-664. doi:10.1007/s10654-007-9152-z.
45. Hardell L, Carlberg M, Söderqvist F, Hansson Mild K. Meta-analysis of long-term mobile phone use and the association with brain tumours. *International journal of oncology*. 2008;32(5):1097-1103. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18425337/>.
46. Hardell L, Mild KH, Carlberg M, Hallquist A. Cellular and cordless telephone use and the association with brain tumors in different age groups. *Archives of environmental health*. 2004;59(3):132-137. doi:10.3200/AEOH.59.3.132-137.
47. Hardell L, Carlberg M, Hansson Mild K. Use of cellular telephones and brain tumour risk in urban and rural areas. *Occupational and environmental medicine*. 2005;62(6):390-394. doi:10.1136/oem.2004.017434.
48. Mornet E, Kania R, Sauvaget E, Herman P, Tran Ba Huy P. Vestibular schwannoma and cell-phones. Results, limits and perspectives of clinical studies. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases*. 2013;130(5):275-282. doi:10.1016/j.anorl.2012.05.005.
49. Rosahl S, Bohr C, Lell M, Hamm K, Iro H. Diagnostik und Therapie des Vestibularisschwannoms – eine interdisziplinäre Herausforderung. *Laryngorhinootologie*. 2017;96(S 01):S152-S182. doi:10.1055/s-0042-122386.
50. Schwager K. Therapie des Akustikusneurinoms (Vestibularisschwannoms) aus der Sicht der HNO-Heilkunde. *HNO*. 2011;59(1):22, 24-30. doi:10.1007/s00106-010-2190-y.
51. Gupta VK, Thakker A, Gupta KK. Vestibular Schwannoma: What We Know and Where We are Heading. *Head and neck pathology*. 2020;14(4):1058-1066. doi:10.1007/s12105-020-01155-x.

52. Goldbrunner R, Weller M, Regis J, et al. EANO guideline on the diagnosis and treatment of vestibular schwannoma. *Neuro Oncol.* 2020;22(1):31-45. doi:10.1093/neuonc/noz153.
53. Yildiz E, Dahm V, Matula C, Arnoldner C. Vestibularisschwannome: Diagnose – Therapie – Nachsorge. *Wiener medizinische Wochenschrift (1946).* 2022;172(1-2):2-7. doi:10.1007/s10354-020-00800-y.
54. Hentschel M, Scholte M, Steens S, Kunst H, Rovers M. The diagnostic accuracy of non-imaging screening protocols for vestibular schwannoma in patients with asymmetrical hearing loss and/or unilateral audiovestibular dysfunction: a diagnostic review and meta-analysis. *Clinical otolaryngology : official journal of ENT-UK ; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery.* 2017;42(4):815-823. doi:10.1111/coa.12788.
55. Germano IM, Sheehan J, Parish J, et al. Congress of Neurological Surgeons Systematic Review and Evidence-Based Guidelines on the Role of Radiosurgery and Radiation Therapy in the Management of Patients With Vestibular Schwannomas. *Neurosurgery.* 2018;82(2):E49-E51. doi:10.1093/neuros/nyx515.
56. Martin TPC, Senthil L, Chavda SV, Walsh R, Irving RM. A protocol for the conservative management of vestibular schwannomas. *Otology & neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology.* 2009;30(3):381-385. doi:10.1097/mao.0b013e31819a8df6.
57. Paldor I, Chen AS, Kaye AH. Growth rate of vestibular schwannoma. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia.* 2016;32:1-8. doi:10.1016/j.jocn.2016.05.003.
58. Flint D, Fagan P, Panarese A. Conservative management of sporadic unilateral acoustic neuromas. *The Journal of laryngology and otology.* 2005;119(6):424-428. doi:10.1258/0022215054273089.
59. Seol HJ, Kim C, Park C-K, et al. Optimal extent of resection in vestibular schwannoma surgery: relationship to recurrence and facial nerve preservation. *Neurol Med Chir.(Tokyo).* 2006;46(4):176-80; discussion 180-1. doi:10.2176/nmc.46.176.

60. Mangham CA. Retrosigmoid versus middle fossa surgery for small vestibular schwannomas. *The Laryngoscope*. 2004;114(8):1455-1461. doi:10.1097/00005537-200408000-00026.
61. Vivas EX, Carlson ML, Neff BA, et al. Congress of Neurological Surgeons Systematic Review and Evidence-Based Guidelines on Intraoperative Cranial Nerve Monitoring in Vestibular Schwannoma Surgery. *Neurosurgery*. 2018;82(2):E44-E46. doi:10.1093/neuros/nyx513.
62. Barker FG, Carter BS, Ojemann RG, Jyung RW, Poe DS, McKenna MJ. Surgical excision of acoustic neuroma: patient outcome and provider caseload. *The Laryngoscope*. 2003;113(8):1332-1343. doi:10.1097/00005537-200308000-00013.
63. McClelland S, Kim E, Murphy JD, Jaboin JJ. Operative Mortality Rates of Acoustic Neuroma Surgery: A National Cancer Database Analysis. *Otology & neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology*. 2017;38(5):751-753. doi:10.1097/MAO.0000000000001362.
64. Sughrue ME, Yang I, Aranda D, et al. Beyond audiofacial morbidity after vestibular schwannoma surgery. *Journal of Neurosurgery*. 2011;114(2):367-374. doi:10.3171/2009.10.JNS091203.
65. Sughrue ME, Yang I, Rutkowski MJ, Aranda D, Parsa AT. Preservation of facial nerve function after resection of vestibular schwannoma. *British journal of neurosurgery*. 2010;24(6):666-671. doi:10.3109/02688697.2010.520761.
66. Ansari SF, Terry C, Cohen-Gadol AA. Surgery for vestibular schwannomas: a systematic review of complications by approach. *Neurosurg Focus*. 2012;33(3):E14. doi:10.3171/2012.6.FOCUS12163.
67. Carlson ML, Vivas EX, McCracken DJ, et al. Congress of Neurological Surgeons Systematic Review and Evidence-Based Guidelines on Hearing Preservation Outcomes in Patients With Sporadic Vestibular Schwannomas. *Neurosurgery*. 2018;82(2):E35-E39. doi:10.1093/neuros/nyx511.
68. Baier G, Schwager K, Helms J, Hagen R. Ergebnisse otochirurgisch operierter Patienten mit Akustikusneurinom. Fazialisfunktion nach translabyrinthärer und transtemporaler Resektion. *Laryngo- rhino- otologie*. 2008;87(8):565-572. doi:10.1055/s-2007-995644.

69. Morton RP, Ackerman PD, Pisansky MT, et al. Prognostic factors for the incidence and recovery of delayed facial nerve palsy after vestibular schwannoma resection. *Journal of Neurosurgery*. 2011;114(2):375-380. doi:10.3171/2010.5.JNS091854.
70. Myrseth E, Møller P, Pedersen P-H, Lund-Johansen M. Vestibular schwannoma: surgery or gamma knife radiosurgery? A prospective, nonrandomized study. *Neurosurgery*. 2009;64(4):654-61; discussion 661-3. doi:10.1227/01.NEU.0000340684.60443.55.
71. Wiegand DA, Fickel V. Acoustic neuroma--the patient's perspective: subjective assessment of symptoms, diagnosis, therapy, and outcome in 541 patients. *The Laryngoscope*. 1989;99(2):179-187. doi:10.1288/00005537-198902000-00010.
72. Weber DC, Chan AW, Bussiere MR, et al. Proton beam radiosurgery for vestibular schwannoma: tumor control and cranial nerve toxicity. *Neurosurgery*. 2003;53(3):577-86; discussion 586-8. doi:10.1227/01.neu.0000079369.59219.c0.
73. Persson O, Bartek J, Shalom NB, Wangerid T, Jakola AS, Förander P. Stereotactic radiosurgery vs. fractionated radiotherapy for tumor control in vestibular schwannoma patients: a systematic review. *Acta neurochirurgica*. 2017;159(6):1013-1021. doi:10.1007/s00701-017-3164-6.
74. Akpınar B, Mousavi SH, McDowell MM, et al. Early Radiosurgery Improves Hearing Preservation in Vestibular Schwannoma Patients With Normal Hearing at the Time of Diagnosis. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2016;95(2):729-734. doi:10.1016/j.ijrobp.2016.01.019.
75. Jacob JT, Carlson ML, Schiefer TK, Pollock BE, Driscoll CL, Link MJ. Significance of cochlear dose in the radiosurgical treatment of vestibular schwannoma: controversies and unanswered questions. *Neurosurgery*. 2014;74(5):466-74; discussion 474. doi:10.1227/NEU.0000000000000299.
76. Carlson ML, Jacob JT, Pollock BE, et al. Long-term hearing outcomes following stereotactic radiosurgery for vestibular schwannoma: patterns of hearing loss and variables influencing audiometric decline. *Journal of Neurosurgery*. 2013;118(3):579-587. doi:10.3171/2012.9.JNS12919.
77. Tamura M, Carron R, Yomo S, et al. Hearing preservation after gamma knife radiosurgery for vestibular schwannomas presenting with high-level hearing.

- Neurosurgery*. 2009;64(2):289-96; discussion 296.  
doi:10.1227/01.NEU.0000338256.87936.7C.
78. Muzevic D, Legcevic J, Splavski B, Cayé-Thomasen P. Stereotactic radiotherapy for vestibular schwannoma. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2014;(12):CD009897. doi:10.1002/14651858.CD009897.pub2.
79. Pruijn IMJ, Kievit W, Henschel MA, Mulder JJS, Kunst HPM. What determines quality of life in patients with vestibular schwannoma? *Clinical otolaryngology : official journal of ENT-UK ; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery*. 2021;46(2):412-420.  
doi:10.1111/coa.13691.
80. Caye-Thomasen P, Hansen S, Dethloff T, Stangerup S-E, Thomsen J. Sublocalization and volumetric growth pattern of intracanalicular vestibular schwannomas. *The Laryngoscope*. 2006;116(7):1131-1135.  
doi:10.1097/01.MLG.0000217528.37106.2D.
81. Schultheis K-H, Mödder U, Antoch G, Germer C-T, Knoefel WT, Laniado M, eds. *Chirurgie und Bildgebung: 1050 Abbildungen*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2018.
82. Brodhun M, Stahn V, Harder A. Pathogenese und Molekularpathologie des Vestibularisschwannoms. *HNO*. 2017;65(5):362-372. doi:10.1007/s00106-016-0201-3.
83. Schmitt FC, Bacchi CE. S-100 protein: is it useful as a tumour marker in diagnostic immunocytochemistry? *Histopathology*. 1989;15(3):281-288. doi:10.1111/j.1365-2559.1989.tb03078.x.
84. Abe M, Kawase T, Urano M, et al. Analyses of proliferative potential in schwannomas. *Brain tumor pathology*. 2000;17(1):35-40. doi:10.1007/BF02478916.
85. Harder A, Wesemann M, Hagel C, et al. Hybrid neurofibroma/schwannoma is overrepresented among schwannomatosis and neurofibromatosis patients. *The American journal of surgical pathology*. 2012;36(5):702-709.  
doi:10.1097/PAS.0b013e31824d3155.
86. Woodruff JM, Godwin TA, Erlandson RA, Susin M, Martini N. Cellular schwannoma: a variety of schwannoma sometimes mistaken for a malignant tumor.

- The American journal of surgical pathology*. 1981;5(8):733-744.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7337161/>.
87. Fletcher CD, Davies SE. Benign plexiform (multinodular) schwannoma: a rare tumour unassociated with neurofibromatosis. *Histopathology*. 1986;10(9):971-980. doi:10.1111/j.1365-2559.1986.tb02595.x.
88. Woodruff JM, Marshall ML, Godwin TA, Funkhouser JW, Thompson NJ, Erlandson RA. Plexiform (multinodular) schwannoma. A tumor simulating the plexiform neurofibroma. *The American journal of surgical pathology*. 1983;7(7):691-697. doi:10.1097/00000478-198310000-00009.
89. Arpornchayanon O, Hirota T, Itabashi M, et al. Malignant peripheral nerve tumors: a clinicopathological and electron microscopic study. *Japanese journal of clinical oncology*. 1984;14(1):57-74. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6423867/>.
90. Ducatman BS, Scheithauer BW. Postirradiation neurofibrosarcoma. *Cancer*. 1983;51(6):1028-1033. doi:10.1002/1097-0142(19830315)51:6<1028:aid-cncr2820510610>3.0.co;2-3.
91. Yamanaka R, Hayano A. Radiation-Induced Schwannomas and Neurofibromas: A Systematic Review. *World Neurosurgery*. 2017;104:713-722. doi:10.1016/j.wneu.2017.05.066.
92. Guerin JB, Kaufmann TJ, Eckel LJ, et al. A Radiologist's Guide to the 2021 WHO Central Nervous System Tumor Classification: Part 2-Newly Described and Revised Tumor Types. *Radiology*. 2023;307(5):e221885. doi:10.1148/radiol.221885.
93. Evans DG, Huson SM, Donnai D, et al. A clinical study of type 2 neurofibromatosis. *The Quarterly journal of medicine*. 1992;84(304):603-618. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1484939/>.
94. Antinheimo J, Sankila R, Carpén O, Pukkala E, Sainio M, Jääskeläinen J. Population-based analysis of sporadic and type 2 neurofibromatosis-associated meningiomas and schwannomas. *Neurology*. 2000;54(1):71-76. doi:10.1212/wnl.54.1.71.
95. Kresak JL, Walsh M. Neurofibromatosis: A Review of NF1, NF2, and Schwannomatosis. *Journal of Pediatric Genetics*. 2016;5(2):98-104. doi:10.1055/s-0036-1579766.

96. Evans DG, Wallace AJ, Wu CL, Trueman L, Ramsden RT, Strachan T. Somatic mosaicism: a common cause of classic disease in tumor-prone syndromes? Lessons from type 2 neurofibromatosis. *American journal of human genetics*. 1998;63(3):727-736. doi:10.1086/512074.
97. Evans DGR, Ramsden RT, Shenton A, et al. Mosaicism in neurofibromatosis type 2: an update of risk based on uni/bilaterality of vestibular schwannoma at presentation and sensitive mutation analysis including multiple ligation-dependent probe amplification. *Journal of Medical Genetics*. 2007;44(7):424-428. doi:10.1136/jmg.2006.047753.
98. Kluwe L, Mautner V, Heinrich B, et al. Molecular study of frequency of mosaicism in neurofibromatosis 2 patients with bilateral vestibular schwannomas. *Journal of Medical Genetics*. 2003;40(2):109-114. doi:10.1136/jmg.40.2.109.
99. Smith MJ, Higgs JE, Bowers NL, et al. Cranial meningiomas in 411 neurofibromatosis type 2 (NF2) patients with proven gene mutations: clear positional effect of mutations, but absence of female severity effect on age at onset. *Journal of Medical Genetics*. 2011;48(4):261-265. doi:10.1136/jmg.2010.085241.
100. Hilton DA, Hanemann CO. Schwannomas and their pathogenesis. *Brain Pathol*. 2014;24(3):205-220. doi:10.1111/bpa.12125.
101. Ragge NK, Baser ME, Riccardi VM, Falk RE. The ocular presentation of neurofibromatosis 2. *Eye (London, England)*. 1997;11 (Pt 1):12-18. doi:10.1038/eye.1997.3.
102. Ardern-Holmes S, Fisher G, North K. Neurofibromatosis Type 2. *Journal of child neurology*. 2017;32(1):9-22. doi:10.1177/0883073816666736.
103. Shih T, Lindley C. Bevacizumab: an angiogenesis inhibitor for the treatment of solid malignancies. *Clin Ther*. 2006;28(11):1779-1802. doi:10.1016/j.clinthera.2006.11.015.
104. Plotkin SR, Merker VL, Halpin C, et al. Bevacizumab for progressive vestibular schwannoma in neurofibromatosis type 2: a retrospective review of 31 patients. *Otology & neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology*. 2012;33(6):1046-1052. doi:10.1097/MAO.0b013e31825e73f5.

105. Lu VM, Ravindran K, Graffeo CS, et al. Efficacy and safety of bevacizumab for vestibular schwannoma in neurofibromatosis type 2: a systematic review and meta-analysis of treatment outcomes. *J Neurooncol*. 2019;144(2):239-248. doi:10.1007/s11060-019-03234-8.
106. Evans DG, Bowers NL, Tobi S, et al. Schwannomatosis: a genetic and epidemiological study. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 2018;89(11):1215-1219. doi:10.1136/jnnp-2018-318538.
107. Hulsebos TJM, Plomp AS, Wolterman RA, Robanus-Maandag EC, Baas F, Wesseling P. Germline mutation of INI1/SMARCB1 in familial schwannomatosis. *American journal of human genetics*. 2007;80(4):805-810. doi:10.1086/513207.
108. Mansouri S, Suppiah S, Mamatjan Y, et al. Epigenomic, genomic, and transcriptomic landscape of schwannomatosis. *Acta Neuropathol*. 2021;141(1):101-116. doi:10.1007/s00401-020-02230-x.
109. Carroll SL. Molecular mechanisms promoting the pathogenesis of Schwann cell neoplasms. *Acta Neuropathol*. 2012;123(3):321-348. doi:10.1007/s00401-011-0928-6.
110. Hadfield KD, Newman WG, Bowers NL, et al. Molecular characterisation of SMARCB1 and NF2 in familial and sporadic schwannomatosis. *Journal of Medical Genetics*. 2008;45(6):332-339. doi:10.1136/jmg.2007.056499.
111. Koontz NA, Wiens AL, Agarwal A, Hingtgen CM, Emerson RE, Mosier KM. Schwannomatosis: the overlooked neurofibromatosis? *AJR. American journal of roentgenology*. 2013;200(6):W646-53. doi:10.2214/AJR.12.8577.
112. MacCollin M, Woodfin W, Kronn D, Short MP. Schwannomatosis: a clinical and pathologic study. *Neurology*. 1996;46(4):1072-1079. doi:10.1212/wnl.46.4.1072.
113. Alaidarous A, Parfait B, Ferkal S, Cohen J, Wolkenstein P, Mazereeuw-Hautier J. Segmental schwannomatosis: characteristics in 12 patients. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2019;14(1):207. doi:10.1186/s13023-019-1176-4.
114. Plotkin SR, Blakeley JO, Evans DG, et al. Update from the 2011 International Schwannomatosis Workshop: From genetics to diagnostic criteria. *American journal of medical genetics. Part A*. 2013;161A(3):405-416. doi:10.1002/ajmg.a.35760.

115. Yafit D, Horowitz G, Vital I, Locketz G, Fliss DM. An algorithm for treating extracranial head and neck schwannomas. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2015;272(8):2035-2038. doi:10.1007/s00405-014-3156-6.
116. Russell SM. Preserve the nerve: microsurgical resection of peripheral nerve sheath tumors. *Neurosurgery*. 2007;61(3 Suppl):113-7; discussion 117-8. doi:10.1227/01.neu.0000289724.89588.bc.
117. Kim SH, Kim NH, Kim KR, Lee JH, Choi H-S. Schwannoma in head and neck: preoperative imaging study and intracapsular enucleation for functional nerve preservation. *Yonsei Medical Journal*. 2010;51(6):938-942. doi:10.3349/ymj.2010.51.6.938.
118. Liu H-L, Yu S-Y, Li GK-H, Wei WI. Extracranial head and neck Schwannomas: a study of the nerve of origin. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2011;268(9):1343-1347. doi:10.1007/s00405-011-1491-4.
119. Sawada T, Sano M, Ogihara H, Omura T, Miura K, Nagano A. The relationship between pre-operative symptoms, operative findings and postoperative complications in schwannomas. *J Hand Surg Br*. 2006;31(6):629-634. doi:10.1016/j.jhsb.2006.06.008.
120. Donner TR, Voorhies RM, Kline DG. Neural sheath tumors of major nerves. *Journal of Neurosurgery*. 1994;81(3):362-373. doi:10.3171/jns.1994.81.3.0362.
121. Wager M, Lapierre F, Blanc JL, Listrat A, Bataille B. Cauda equina tumors: a French multicenter retrospective review of 231 adult cases and review of the literature. *Neurosurgical review*. 2000;23(3):119-29; discussion 130-1. doi:10.1007/PL00011940.
122. Tanaka H, Takaishi Y, Miura S, Mizowaki T, Kondoh T, Sasayama T. Long-term recurrence after surgery for schwannoma of the cauda equina. *Surgical Neurology International*. 2022;13:272. doi:10.25259/SNI\_471\_2022.
123. Mistarz N, Reznitsky M, Høstmark K, Jakobsen KK, Cayé-Thomasen P, Stangerup S-E. Life Expectancy After Diagnosis of a Vestibular Schwannoma in Patients 70 Years and Older. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2024;150(1):7-13. doi:10.1001/jamaoto.2023.3485.

124. Chen Z, Prasad SC, Di Lella F, et al. The behavior of residual tumors and facial nerve outcomes after incomplete excision of vestibular schwannomas. *Journal of Neurosurgery*. 2014;120(6):1278-1287. doi:10.3171/2014.2.JNS131497.
125. Martin TPC, Fox H, Ho E-C, Holder R, Walsh R, Irving RM. Facial nerve outcomes in functional vestibular schwannoma surgery: less than total tumour excision significantly improves results. *The Journal of laryngology and otology*. 2012;126(2):120-124. doi:10.1017/S0022215111003124.
126. Peng KA, Chen BS, Lorenz MB, et al. Revision Surgery for Vestibular Schwannomas. *Journal of Neurological Surgery. Part B, Skull Base*. 2018;79(6):528-532. doi:10.1055/s-0038-1635256.
127. Nakatomi H, Jacob JT, Carlson ML, et al. Long-term risk of recurrence and regrowth after gross-total and subtotal resection of sporadic vestibular schwannoma. *Journal of Neurosurgery*. 2017;133(4):1052-1058. doi:10.3171/2016.11.JNS16498.
128. Kwon Y, Khang SK, Kim CJ, Lee DJ, Lee JK, Kwun BD. Radiologic and histopathologic changes after Gamma Knife radiosurgery for acoustic schwannoma. *Stereotactic and functional neurosurgery*. 1999;72 Suppl 1:2-10. doi:10.1159/000056433.
129. Pollock BE, Lunsford LD, Kondziolka D, et al. Vestibular schwannoma management. Part II. Failed radiosurgery and the role of delayed microsurgery. *Journal of Neurosurgery*. 1998;89(6):949-955. doi:10.3171/jns.1998.89.6.0949.
130. Flickinger JC, Kondziolka D, Niranjan A, Lunsford LD. Results of acoustic neuroma radiosurgery: an analysis of 5 years' experience using current methods. *Journal of Neurosurgery*. 2001;94(1):1-6. doi:10.3171/jns.2001.94.1.0001.
131. Otsuka G, Saito K, Nagatani T, Yoshida J. Age at symptom onset and long-term survival in patients with neurofibromatosis Type 2. *Journal of Neurosurgery*. 2003;99(3):480-483. doi:10.3171/jns.2003.99.3.0480.
132. MacCollin M, Chiocca EA, Evans DG, et al. Diagnostic criteria for schwannomatosis. *Neurology*. 2005;64(11):1838-1845. doi:10.1212/01.WNL.0000163982.78900.AD.
133. Merker VL, Esparza S, Smith MJ, Stemmer-Rachamimov A, Plotkin SR. Clinical features of schwannomatosis: a retrospective analysis of 87 patients. *The oncologist*. 2012;17(10):1317-1322. doi:10.1634/theoncologist.2012-0162.

134. Vries M de, Briaire-de Bruijn I, Malessy MJA, Bruïne SFT de, van der Mey AGL, Hogendoorn PCW. Tumor-associated macrophages are related to volumetric growth of vestibular schwannomas. *Otology & neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology*. 2013;34(2):347-352. doi:10.1097/MAO.0b013e31827c9fbf.
135. Vries M de, Hogendoorn PCW, Briaire-de Bruyn I, Malessy MJA, van der Mey AGL. Intratumoral hemorrhage, vessel density, and the inflammatory reaction contribute to volume increase of sporadic vestibular schwannomas. *Virchows Arch*. 2012;460(6):629-636. doi:10.1007/s00428-012-1236-9.
136. Chen F, Zhuang X, Lin L, et al. New horizons in tumor microenvironment biology: challenges and opportunities. *BMC medicine*. 2015;13:1-13. doi:10.1186/s12916-015-0278-7.
137. Del Prete A, Schioppa T, Tiberio L, Stabile H, Sozzani S. Leukocyte trafficking in tumor microenvironment. *Current opinion in pharmacology*. 2017;35:40-47. doi:10.1016/j.coph.2017.05.004.
138. Spill F, Reynolds DS, Kamm RD, Zaman MH. Impact of the physical microenvironment on tumor progression and metastasis. *Current opinion in biotechnology*. 2016;40:41-48. doi:10.1016/j.copbio.2016.02.007.
139. LeBleu VS. Imaging the Tumor Microenvironment. *Cancer journal (Sudbury, Mass.)*. 2015;21(3):174-178. doi:10.1097/PPO.000000000000118.
140. Balkwill FR, Capasso M, Hagemann T. The tumor microenvironment at a glance. *J Cell Sci*. 2012;125(Pt 23):5591-5596. doi:10.1242/jcs.116392.
141. Korneev KV, Atretkhany K-SN, Drutskaya MS, Grivennikov SI, Kuprash DV, Nedospasov SA. TLR-signaling and proinflammatory cytokines as drivers of tumorigenesis. *Cytokine*. 2017;89:127-135. doi:10.1016/j.cyto.2016.01.021.
142. Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer cell*. 2012;21(3):309-322. doi:10.1016/j.ccr.2012.02.022.
143. Boon T, Cerottini JC, van den Eynde B, van der Bruggen P, van Pel A. Tumor antigens recognized by T lymphocytes. *Annual review of immunology*. 1994;12:337-365. doi:10.1146/annurev.iy.12.040194.002005.

144. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. *Annual review of immunology*. 2004;22:329-360.  
doi:10.1146/annurev.immunol.22.012703.104803.
145. Bromberg JF, Horvath CM, Wen Z, Schreiber RD, Darnell JE. Transcriptionally active Stat1 is required for the antiproliferative effects of both interferon alpha and interferon gamma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(15):7673-7678.  
doi:10.1073/pnas.93.15.7673.
146. Kumar A, Commane M, Flickinger TW, Horvath CM, Stark GR. Defective TNF-alpha-induced apoptosis in STAT1-null cells due to low constitutive levels of caspases. *Science (New York, N.Y.)*. 1997;278(5343):1630-1632.  
doi:10.1126/science.278.5343.1630.
147. Luster AD, Leder P. IP-10, a -C-X-C- chemokine, elicits a potent thymus-dependent antitumor response in vivo. *The Journal of experimental medicine*. 1993;178(3):1057-1065. doi:10.1084/jem.178.3.1057.
148. Schoenberger SP, Toes RE, van der Voort EI, Offringa R, Melief CJ. T-cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions. *Nature*. 1998;393(6684):480-483. doi:10.1038/31002.
149. Yu P, Spiotto MT, Lee Y, Schreiber H, Fu Y-X. Complementary role of CD4+ T cells and secondary lymphoid tissues for cross-presentation of tumor antigen to CD8+ T cells. *The Journal of experimental medicine*. 2003;197(8):985-995.  
doi:10.1084/jem.20021804.
150. Srivastava P. Interaction of heat shock proteins with peptides and antigen presenting cells: chaperoning of the innate and adaptive immune responses. *Annual review of immunology*. 2002;20:395-425.  
doi:10.1146/annurev.immunol.20.100301.064801.
151. Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(12):958-969. doi:10.1038/nri2448.
152. Fan Z, Yu P, Wang Y, et al. NK-cell activation by LIGHT triggers tumor-specific CD8+ T-cell immunity to reject established tumors. *Blood*. 2006;107(4):1342-1351. doi:10.1182/blood-2005-08-3485.
153. Finn OJ. Cancer immunology. *N Engl J Med*. 2008;358(25):2704-2715.  
doi:10.1056/NEJMra072739.

154. Tietze JK, Wilkins DEC, Sckisel GD, et al. Delineation of antigen-specific and antigen-nonspecific CD8(+) memory T-cell responses after cytokine-based cancer immunotherapy. *Blood*. 2012;119(13):3073-3083. doi:10.1182/blood-2011-07-369736.
155. Marincola FM, Jaffee EM, Hicklin DJ, Ferrone S. Escape of Human Solid Tumors from T-Cell Recognition: Molecular Mechanisms and Functional Significance. In: Dixon FJ, ed. *Advances in immunology*. Vol. 74. London, New York, NY, San Diego, Calif., New York, NY: Elsevier; Academ. Press; früher:181-273.
156. Kaplan DH, Shankaran V, Dighe AS, et al. Demonstration of an interferon gamma-dependent tumor surveillance system in immunocompetent mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(13):7556-7561. doi:10.1073/pnas.95.13.7556.
157. Catlett-Falcone R, Landowski TH, Oshiro MM, et al. Constitutive activation of Stat3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells. *Immunity*. 1999;10(1):105-115. doi:10.1016/s1074-7613(00)80011-4.
158. Vicari AP, Caux C. Chemokines in cancer. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2002;13(2):143-154. doi:10.1016/S1359-6101(01)00033-8.
159. Mao Y, Keller ET, Garfield DH, Shen K, Wang J. Stromal cells in tumor microenvironment and breast cancer. *Cancer metastasis reviews*. 2013;32(1-2):303-315. doi:10.1007/s10555-012-9415-3.
160. Liu VC, Wong LY, Jang T, et al. Tumor evasion of the immune system by converting CD4+CD25- T cells into CD4+CD25+ T regulatory cells: role of tumor-derived TGF-beta. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2007;178(5):2883-2892. doi:10.4049/jimmunol.178.5.2883.
161. Hadrup S, Donia M, Thor Straten P. Effector CD4 and CD8 T cells and their role in the tumor microenvironment. *Cancer Microenviron*. 2013;6(2):123-133. doi:10.1007/s12307-012-0127-6.
162. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature*. 2002;420(6917):846-852. doi:10.1038/nature01320.
163. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *Journal of leukocyte biology*. 2009;86(5):1065-1073. doi:10.1189/jlb.0609385.

164. Locati M, Curtale G, Mantovani A. Diversity, Mechanisms, and Significance of Macrophage Plasticity. *Annual review of pathology*. 2020;15:123-147. doi:10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012718.
165. Movahedi K, Laoui D, Gysemans C, et al. Different tumor microenvironments contain functionally distinct subsets of macrophages derived from Ly6C(high) monocytes. *Cancer Res*. 2010;70(14):5728-5739. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-4672.
166. Italiani P, Boraschi D. From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical vs. Functional Differentiation. *Frontiers in Immunology*. 2014;5:514. doi:10.3389/fimmu.2014.00514.
167. Solinas G, Schiarea S, Liguori M, et al. Tumor-conditioned macrophages secrete migration-stimulating factor: a new marker for M2-polarization, influencing tumor cell motility. *The Journal of Immunology*. 2010;185(1):642-652. doi:10.4049/jimmunol.1000413.
168. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends in immunology*. 2002;23(11):549-555. doi:10.1016/S1471-4906(02)02302-5.
169. Choi J, Gyamfi J, Jang H, Koo JS. The role of tumor-associated macrophage in breast cancer biology. *Histology and histopathology*. 2018;33(2):133-145. doi:10.14670/HH-11-916.
170. Balkwill F, Charles KA, Mantovani A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer cell*. 2005;7(3):211-217. doi:10.1016/j.ccr.2005.02.013.
171. Boutilier AJ, ElSawa SF. Macrophage Polarization States in the Tumor Microenvironment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(13):1-21. doi:10.3390/ijms22136995.
172. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol*. 2003;3(1):23-35. doi:10.1038/nri978.
173. Pixley FJ, Stanley ER. CSF-1 regulation of the wandering macrophage: complexity in action. *Trends in Cell Biology*. 2004;14(11):628-638. doi:10.1016/j.tcb.2004.09.016.

174. Allavena P, Mantovani A. Immunology in the clinic review series; focus on cancer: tumour-associated macrophages: undisputed stars of the inflammatory tumour microenvironment. *Clin Exp Immunol*. 2012;167(2):195-205. doi:10.1111/j.1365-2249.2011.04515.x.
175. Martinez FO, Helming L, Gordon S. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective. *Annual review of immunology*. 2009;27:451-483. doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132532.
176. Mantovani A, Allavena P, Sica A. Tumour-associated macrophages as a prototypic type II polarised phagocyte population: role in tumour progression. *European Journal of Cancer*. 2004;40(11):1660-1667. doi:10.1016/j.ejca.2004.03.016.
177. Zheng X, Weigert A, Reu S, et al. Spatial Density and Distribution of Tumor-Associated Macrophages Predict Survival in Non-Small Cell Lung Carcinoma. *Cancer Res*. 2020;80(20):4414-4425. doi:10.1158/0008-5472.CAN-20-0069.
178. Sumitomo R, Hirai T, Fujita M, Murakami H, Otake Y, Huang C-L. M2 tumor-associated macrophages promote tumor progression in non-small-cell lung cancer. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2019;18(6):4490-4498. doi:10.3892/etm.2019.8068.
179. Kawachi A, Yoshida H, Kitano S, Ino Y, Kato T, Hiraoka N. Tumor-associated CD204+ M2 macrophages are unfavorable prognostic indicators in uterine cervical adenocarcinoma. *Cancer Science*. 2018;109(3):863-870. doi:10.1111/cas.13476.
180. Larionova I, Tuguzbaeva G, Ponomaryova A, et al. Tumor-Associated Macrophages in Human Breast, Colorectal, Lung, Ovarian and Prostate Cancers. *Front Oncol*. 2020;10:1-34. doi:10.3389/fonc.2020.566511.
181. Macciò A, Gramignano G, Cherchi MC, Tanca L, Melis L, Madeddu C. Role of M1-polarized tumor-associated macrophages in the prognosis of advanced ovarian cancer patients. *Scientific Reports*. 2020;10(1):6096. doi:10.1038/s41598-020-63276-1.
182. Lewis D, Roncaroli F, Agushi E, et al. Inflammation and vascular permeability correlate with growth in sporadic vestibular schwannoma. *Neuro Oncol*. 2019;21(3):314-325. doi:10.1093/neuonc/noy177.

183. Jones ML. Histotechnology a self instructional text, 5 th edition. *Journal of Histotechnology*. 2020;43(4):210. doi:10.1080/01478885.2020.1828682.
184. Wang S, Liechty B, Patel S, et al. Programmed death ligand 1 expression and tumor infiltrating lymphocytes in neurofibromatosis type 1 and 2 associated tumors. *Journal of neuro-oncology*. 2018;138(1):183-190. doi:10.1007/s11060-018-2788-6.
185. Murphy K, Weaver C. Die T-Zell-vermittelte Immunität. *Janeway Immunologie*:443-515. doi:10.1007/978-3-662-56004-4\_9.
186. Ruiter EJ de, Ooft ML, Devriese LA, Willems SM. The prognostic role of tumor infiltrating T-lymphocytes in squamous cell carcinoma of the head and neck: A systematic review and meta-analysis. *Oncoimmunology*. 2017;6(11):e1356148. doi:10.1080/2162402X.2017.1356148.
187. Gooden MJM, Bock GH de, Leffers N, Daemen T, Nijman HW. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *British Journal of Cancer*. 2011;105(1):93-103. doi:10.1038/bjc.2011.189.
188. Wang Y-Q, Chen Y-P, Zhang Y, et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in nondisseminated nasopharyngeal carcinoma: A large-scale cohort study. *International journal of cancer*. 2018;142(12):2558-2566. doi:10.1002/ijc.31279.
189. Al-Rajhi N, Soudy H, Ahmed SA, et al. CD3+T-lymphocyte infiltration is an independent prognostic factor for advanced nasopharyngeal carcinoma. *BMC Cancer*. 2020;20(1):240. doi:10.1186/s12885-020-06757-w.
190. Ono T, Azuma K, Kawahara A, et al. Prognostic stratification of patients with nasopharyngeal carcinoma based on tumor immune microenvironment. *Head & Neck*. 2018;40(9):2007-2019. doi:10.1002/hed.25189.
191. Lu J, Chen X-M, Huang H-R, et al. Detailed analysis of inflammatory cell infiltration and the prognostic impact on nasopharyngeal carcinoma. *Head & Neck*. 2018;40(6):1245-1253. doi:10.1002/hed.25104.
192. Garrido-Martin EM, Mellows TWP, Clarke J, et al. M1hot tumor-associated macrophages boost tissue-resident memory T cells infiltration and survival in human lung cancer. *Journal for immunotherapy of cancer*. 2020;8(2). doi:10.1136/jitc-2020-000778.

193. Liu N, Wang X, Steer CJ, Song G. MicroRNA-206 promotes the recruitment of CD8+ T cells by driving M1 polarisation of Kupffer cells. *Gut*. 2022;71(8):1642-1655. doi:10.1136/gutjnl-2021-324170.
194. Xie Z-J, Liu Y, Jia L-M, He Y-C. Heparanase expression, degradation of basement membrane and low degree of infiltration by immunocytes correlate with invasion and progression of human gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2008;14(24):3812-3818. doi:10.3748/wjg.14.3812.
195. Uppaluri R, Dunn GP, Lewis JS. Focus on TILs: prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in head and neck cancers. *Cancer immunity*. 2008;8:16. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19053167/>. Published December 4, 2008.
196. Falini B, Flenghi L, Pileri S, et al. PG-M1: a new monoclonal antibody directed against a fixative-resistant epitope on the macrophage-restricted form of the CD68 molecule. *Am J Pathol*. 1993;142(5):1359-1372. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1886928/>.
197. Nguyen TT, Schwartz EJ, West RB, Warnke RA, Arber DA, Natkunam Y. Expression of CD163 (hemoglobin scavenger receptor) in normal tissues, lymphomas, carcinomas, and sarcomas is largely restricted to the monocyte/macrophage lineage. *The American journal of surgical pathology*. 2005;29(5):617-624. doi:10.1097/01.pas.0000157940.80538.ec.
198. Heusinkveld M, van der Burg SH. Identification and manipulation of tumor associated macrophages in human cancers. *Journal of Translational Medicine*. 2011;9:216. doi:10.1186/1479-5876-9-216.
199. Mavili HS, Isisag A, Tan A, Miskioglu M, Baraz LS, Nese N. Relationship of Tumor-Associated Macrophage Population Detected by CD68 PG-M1, CD68 KP1, and CD163 with Latent EBV Infection and Prognosis in Classical Hodgkin Lymphoma. *Turk patoloji dergisi*. 2021;37(2):130-138. doi:10.5146/tjpath.2020.01514.
200. Sun S, Pan X, Zhao L, Zhou J, Wang H, Sun Y. The Expression and Relationship of CD68-Tumor-Associated Macrophages and Microvascular Density With the Prognosis of Patients With Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *Clinical*

- and Experimental Otorhinolaryngology*. 2016;9(3):270-277.  
doi:10.21053/ceo.2015.01305.
201. Ni C, Yang L, Xu Q, et al. CD68- and CD163-positive tumor infiltrating macrophages in non-metastatic breast cancer: a retrospective study and meta-analysis. *Journal of Cancer*. 2019;10(19):4463-4472. doi:10.7150/jca.33914.
  202. Troiano G, Caponio VCA, Adipietro I, et al. Prognostic significance of CD68+ and CD163+ tumor associated macrophages in head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncology*. 2019;93:66-75. doi:10.1016/j.oraloncology.2019.04.019.
  203. Chen X-J, Han L-F, Wu X-G, et al. Clinical Significance of CD163+ and CD68+ Tumor-associated Macrophages in High-risk HPV-related Cervical Cancer. *Journal of Cancer*. 2017;8(18):3868-3875. doi:10.7150/jca.21444.
  204. Zhang J, Li S, Liu F, Yang K. Role of CD68 in tumor immunity and prognosis prediction in pan-cancer. *Scientific Reports*. 2022;12(1):7844. doi:10.1038/s41598-022-11503-2.
  205. Kaiserling E, Xiao JC, Ruck P, Horny HP. Aberrant expression of macrophage-associated antigens (CD68 and Ki-M1P) by Schwann cells in reactive and neoplastic neural tissue. Light- and electron-microscopic findings. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 1993;6(4):463-468. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8415593/>.
  206. Gloghini A, Volpe R, Canzonieri V, Carbone A. Immunohistochemical characterization of Ki-M6 monoclonal antibody in Bouin-fixed, paraffin-embedded sections of normal and neoplastic human tissues. *Virchows Archiv. A, Pathological anatomy and histopathology*. 1991;418(4):355-360. doi:10.1007/BF01600166.
  207. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *International journal of cancer*. 1983;31(1):13-20. doi:10.1002/ijc.2910310104.
  208. Cattoretti G, Becker MH, Key G, et al. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *The Journal of Pathology*. 1992;168(4):357-363. doi:10.1002/path.1711680404.

209. Mondal SK, Basak B, Bhattacharya S, Panda UK. Role of WT1, B-cell lymphoma 2, Ki-67 (Mib1), and Her2/Neu as diagnostic and prognostic immunomarkers in ovarian serous and endometrioid carcinoma. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2021;17(1):164-169. doi:10.4103/jcrt.JCRT\_311\_19.
210. Petrelli F, Viale G, Cabiddu M, Barni S. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast Cancer Res Treat (Breast Cancer Research and Treatment)*. 2015;153(3):477-491. doi:10.1007/s10549-015-3559-0.
211. Sobolewski C, Cerella C, Dicato M, Ghibelli L, Diederich M. The role of cyclooxygenase-2 in cell proliferation and cell death in human malignancies. *International Journal of Cell Biology*. 2010;2010:215158. doi:10.1155/2010/215158.
212. Chandrasekharan NV, Simmons DL. The cyclooxygenases. *Genome Biology*. 2004;5(9):241. doi:10.1186/gb-2004-5-9-241.
213. Cao Y, Prescott SM. Many actions of cyclooxygenase-2 in cellular dynamics and in cancer. *J Cell Phys*. 2002;190(3):279-286. doi:10.1002/jcp.10068.
214. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 1998;12(12):1063-1073. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9737710/>.
215. Ristimäki A, Sivula A, Lundin J, et al. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. *Cancer Res*. 2002;62(3):632-635. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11830510/>.
216. Secchiero P, Barbarotto E, Gonelli A, et al. Potential pathogenetic implications of cyclooxygenase-2 overexpression in B chronic lymphoid leukemia cells. *Am J Pathol*. 2005;167(6):1599-1607. doi:10.1016/S0002-9440(10)61244-8.
217. Chan MWY, Wong CYP, Cheng ASL, et al. Targeted inhibition of COX-2 expression by RNA interference suppresses tumor growth and potentiates chemosensitivity to cisplatin in human gastric cancer cells. *Oncology reports*. 2007;18(6):1557-1562. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17982644/>.

218. Philip M, Rowley DA, Schreiber H. Inflammation as a tumor promoter in cancer induction. *Seminars in cancer biology*. 2004;14(6):433-439. doi:10.1016/j.semcancer.2004.06.006.
219. Zrieki A, Farinotti R, Buyse M. Cyclooxygenase inhibitors down regulate P-glycoprotein in human colorectal Caco-2 cell line. *Pharmaceutical research*. 2008;25(9):1991-2001. doi:10.1007/s11095-008-9596-1.
220. Choi E-M, Kwak S-J, Kim Y-M, et al. COX-2 inhibits anoikis by activation of the PI-3K/Akt pathway in human bladder cancer cells. *Experimental & molecular medicine*. 2005;37(3):199-203. doi:10.1038/emm.2005.27.
221. Johnson GE, Ivanov VN, Hei TK. Radiosensitization of melanoma cells through combined inhibition of protein regulators of cell survival. *Apoptosis : an international journal on programmed cell death*. 2008;13(6):790-802. doi:10.1007/s10495-008-0212-y.
222. Castellone MD, Teramoto H, Williams BO, Druey KM, Gutkind JS. Prostaglandin E2 promotes colon cancer cell growth through a Gs-axin-beta-catenin signaling axis. *Science (New York, N.Y.)*. 2005;310(5753):1504-1510. doi:10.1126/science.1116221.
223. Green GA. Understanding NSAIDs: from aspirin to COX-2. *Clinical cornerstone*. 2001;3(5):50-60. doi:10.1016/s1098-3597(01)90069-9.
224. Ferreira SH, Moncada S, Vane JR. Indomethacin and aspirin abolish prostaglandin release from the spleen. *Nature: New biology*. 1971;231(25):237-239. doi:10.1038/newbio231237a0.
225. Pasa S, Bayan K, Kucukoner M, et al. The effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on platelet function and severity of upper gastrointestinal haemorrhage. *J Thromb Thrombolysis*. 2009;28(1):83-89. doi:10.1007/s11239-008-0263-5.
226. Hudson M, Rahme E, Richard H, Pilote L. Risk of congestive heart failure with nonsteroidal antiinflammatory drugs and selective Cyclooxygenase 2 inhibitors: a class effect? *Arthritis Rheum*. 2007;57(3):516-523. doi:10.1002/art.22614.
227. Xin B, Yokoyama Y, Shigeto T, Mizunuma H. Anti-tumor effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on human ovarian cancers. *Pathology oncology research : POR*. 2007;13(4):365-369. doi:10.1007/BF02940318.

228. Howe LR. Inflammation and breast cancer. Cyclooxygenase/prostaglandin signaling and breast cancer. *Breast cancer research : BCR*. 2007;9(4):210. doi:10.1186/bcr1678.
229. Wun T, McKnight H, Tuscano JM. Increased cyclooxygenase-2 (COX-2): a potential role in the pathogenesis of lymphoma. *Leukemia research*. 2004;28(2):179-190. doi:10.1016/s0145-2126(03)00183-8.
230. Zhang G-S, Liu D-S, Dai C-W, Li R-J. Antitumor effects of celecoxib on K562 leukemia cells are mediated by cell-cycle arrest, caspase-3 activation, and downregulation of Cox-2 expression and are synergistic with hydroxyurea or imatinib. *American journal of hematology*. 2006;81(4):242-255. doi:10.1002/ajh.20542.
231. Dilwali S, Kao S-Y, Fujita T, Landegger LD, Stankovic KM. Nonsteroidal anti-inflammatory medications are cytostatic against human vestibular schwannomas. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine*. 2015;166(1):1-11. doi:10.1016/j.trsl.2014.12.007.
232. Kandathil CK, Dilwali S, Wu C-C, et al. Aspirin intake correlates with halted growth of sporadic vestibular schwannoma in vivo. *Otology & neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology*. 2014;35(2):353-357. doi:10.1097/MAO.000000000000189.
233. Behling F, Ries V, Skardelly M, et al. COX2 expression is associated with proliferation and tumor extension in vestibular schwannoma but is not influenced by acetylsalicylic acid intake. *Acta Neuropathologica Communications*. 2019;7(1):105. doi:10.1186/s40478-019-0760-0.
234. Hong B, Krusche CA, Schwabe K, et al. Cyclooxygenase-2 supports tumor proliferation in vestibular schwannomas. *Neurosurgery*. 2011;68(4):1112-1117. doi:10.1227/NEU.0b013e318208f5c7.
235. Behling F, Suhm E, Ries V, et al. COX2 expression is associated with preoperative tumor volume but not with volumetric tumor growth in vestibular schwannoma. *Neurol Res Pract*. 2021;3(1):11. doi:10.1186/s42466-021-00111-6.
236. Dong X-F, Liu T-Q, Zhi X-T, et al. COX-2/PGE2 Axis Regulates HIF2 $\alpha$  Activity to Promote Hepatocellular Carcinoma Hypoxic Response and Reduce the

- Sensitivity of Sorafenib Treatment. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2018;24(13):3204-3216.  
doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-2725.
237. Shi L, Xu L, Wu C, et al. Celecoxib-Induced Self-Assembly of Smart Albumin-Doxorubicin Conjugate for Enhanced Cancer Therapy. *ACS applied materials & interfaces*. 2018;10(10):8555-8565. doi:10.1021/acsami.8b00875.
238. Barac A, Mitulovic G, Hallström S, Zehetmayer S, Grasl MC, Erovcic BM. Impact of combined treatment with nimesulide and cisplatin on oral carcinoma cells. *OncoTargets and therapy*. 2017;10:3607-3616. doi:10.2147/OTT.S131106.
239. van Gompel JJ, Agazzi S, Carlson ML, et al. Congress of Neurological Surgeons Systematic Review and Evidence-Based Guidelines on Emerging Therapies for the Treatment of Patients With Vestibular Schwannomas. *Neurosurgery*. 2018;82(2):E52-E54. doi:10.1093/neuros/nyx516.
240. Ignacio KHD, Espiritu AI, Diestro JDB, Chan KI, Dmytriw AA, Omar AT. Efficacy of aspirin for sporadic vestibular schwannoma: a meta-analysis. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*. 2021;42(12):5101-5106.  
doi:10.1007/s10072-021-05193-3.
241. Gonçalves VM, Suhm E-M, Ries V, et al. Macrophage and Lymphocyte Infiltration Is Associated with Volumetric Tumor Size but Not with Volumetric Growth in the Tübingen Schwannoma Cohort. *Cancers*. 2021;13(3).  
doi:10.3390/cancers13030466.
242. Moch H, Kononen T, Kallioniemi OP, Sauter G. Tissue microarrays: what will they bring to molecular and anatomic pathology? *Advances in anatomic pathology*. 2001;8(1):14-20. doi:10.1097/00125480-200101000-00002.
243. Milanes-Yearsley M, Hammond MEH, Pajak TF, et al. Tissue micro-array: a cost and time-effective method for correlative studies by regional and national cancer study groups. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2002;15(12):1366-1373.  
doi:10.1097/01.MP.0000036345.18944.22.

244. Fodi C-K. *Expression von Somatostatinrezeptoren in Meningeomen*. [Dissertation]. Tübingen: Eberhard Karls Universität; 2023. <http://dx.doi.org/10.15496/publikation-83870>.
245. Chan JKC. The wonderful colors of the hematoxylin-eosin stain in diagnostic surgical pathology. *International journal of surgical pathology*. 2014;22(1):12-32. doi:10.1177/1066896913517939.
246. McNicol AM, Richmond JA. Optimizing immunohistochemistry: antigen retrieval and signal amplification. *Histopathology*. 1998;32(2):97-103. doi:10.1046/j.1365-2559.1998.00342.x.
247. Malik NJ, Daymon ME. Improved double immunoenzyme labeling using alkaline phosphatase and horseradish peroxidase. *J Clin Pathol*. 1982;35(10):1092-1094. doi:10.1136/jcp.35.10.1092.
248. Elias JM, Gown AM, Nakamura RM, et al. Quality control in immunohistochemistry. Report of a workshop sponsored by the Biological Stain Commission. *American journal of clinical pathology*. 1989;92(6):836-843. doi:10.1093/ajcp/92.6.836.
249. Heyderman E. Immunoperoxidase technique in histopathology: applications, methods, and controls. *J Clin Pathol*. 1979;32(10):971-978. doi:10.1136/jcp.32.10.971.
250. Conley GS, Hirsch BE. Stereotactic radiation treatment of vestibular schwannoma: indications, limitations, and outcomes. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery*. 2010;18(5):351-356. doi:10.1097/MOO.0b013e32833c71a2.
251. Jordan JT, Plotkin SR. Benign Intracranial Tumors. *Neurologic Clinics*. 2018;36(3):501-516. doi:10.1016/j.ncl.2018.04.007.
252. Li Z, Liu X, Guo R, Wang P. TIM-3 plays a more important role than PD-1 in the functional impairments of cytotoxic T cells of malignant Schwannomas. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 2017;39(5):1010428317698352. doi:10.1177/1010428317698352.
253. Amit M, Xie T, Gleber-Netto FO, et al. Distinct immune signature predicts progression of vestibular schwannoma and unveils a possible viral etiology. *Journal*

- of Experimental & Clinical Cancer Research : CR.* 2022;41(1):292.  
doi:10.1186/s13046-022-02473-4.
254. Li Z, Maeda D, Yoshida M, et al. The intratumoral distribution influences the prognostic impact of CD68- and CD204-positive macrophages in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2018;123:127-135. doi:10.1016/j.lungcan.2018.07.015.
255. Medrek C, Pontén F, Jirström K, Leandersson K. The presence of tumor associated macrophages in tumor stroma as a prognostic marker for breast cancer patients. *BMC Cancer.* 2012;12:306. doi:10.1186/1471-2407-12-306.
256. Kawamura K, Komohara Y, Takaishi K, Katabuchi H, Takeya M. Detection of M2 macrophages and colony-stimulating factor 1 expression in serous and mucinous ovarian epithelial tumors. *Pathol Int.* 2009;59(5):300-305. doi:10.1111/j.1440-1827.2009.02369.x.
257. Bi WL, Gupta S, Mei Y, et al. Immunophenotype of Vestibular Schwannomas. *Otology & neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology.* 2020;41(10):e1290-e1296. doi:10.1097/MAO.0000000000002782.
258. Leisz S, Klause CH, Vital Dos Santos T, et al. Vestibular Schwannoma Volume and Tumor Growth Correlates with Macrophage Marker Expression. *Cancers.* 2022;14(18). doi:10.3390/cancers14184429.
259. Wach J, Brandecker S, Güresir A, Schuss P, Vatter H, Güresir E. The impact of the MIB-1 index on facial nerve outcomes in vestibular schwannoma surgery. *Acta neurochirurgica.* 2020;162(5):1205-1213. doi:10.1007/s00701-020-04283-z.
260. Perry A, Graffeo CS, Carlstrom LP, et al. Predominance of M1 subtype among tumor-associated macrophages in phenotypically aggressive sporadic vestibular schwannoma. *Journal of Neurosurgery.* 2020;133(6):1637-1645.  
doi:10.3171/2019.7.JNS19879.
261. Nisenbaum E, Misztal C, Szczupak M, et al. Tumor-Associated Macrophages in Vestibular Schwannoma and Relationship to Hearing. *OTO Open.* 2021;5(4):1-9.  
doi:10.1177/2473974X211059111.
262. Gottfried E, Kunz-Schughart LA, Weber A, et al. Expression of CD68 in non-myeloid cell types. *Scandinavian journal of immunology.* 2008;67(5):453-463.  
doi:10.1111/j.1365-3083.2008.02091.x.

263. Huo Z, Wang Z, Luo H, et al. Single-cell transcriptomes reveal the heterogeneity and microenvironment of vestibular schwannoma. *Neuro Oncol.* 2024;26(3):444-457. doi:10.1093/neuonc/noad201.
264. Kalinski AL, Yoon C, Huffman LD, et al. Analysis of the immune response to sciatic nerve injury identifies efferocytosis as a key mechanism of nerve debridement. *eLife.* 2020;9:1-41. doi:10.7554/eLife.60223.
265. Zigmond RE, Echevarria FD. Macrophage biology in the peripheral nervous system after injury. *Prog Neurobiol.* 2019;173:102-152. doi:10.1016/j.pneurobio.2018.12.001.
266. Peach RJ, Bajorath J, Naemura J, et al. Both extracellular immunoglobulin-like domains of CD80 contain residues critical for binding T cell surface receptors CTLA-4 and CD28. *Journal of Biological Chemistry.* 1995;270(36):21181-21187. doi:10.1074/jbc.270.36.21181.
267. Sun X, Gao D, Gao L, et al. Molecular imaging of tumor-infiltrating macrophages in a preclinical mouse model of breast cancer. *Theranostics.* 2015;5(6):597-608. doi:10.7150/thno.11546.
268. Hannan CJ, Lewis D, O'Leary C, et al. The inflammatory microenvironment in vestibular schwannoma. *Neurooncol Adv.* 2020;2(1):vdaa023. doi:10.1093/noajnl/vdaa023.
269. Uxa S, Castillo-Binder P, Kohler R, Stangner K, Müller GA, Engeland K. Ki-67 gene expression. *Cell death and differentiation.* 2021;28(12):3357-3370. doi:10.1038/s41418-021-00823-x.
270. Gentil Perret A, Mosnier JF, Buono JP, et al. The relationship between MIB-1 proliferation index and outcome in pancreatic neuroendocrine tumors. *American journal of clinical pathology.* 1998;109(3):286-293. doi:10.1093/ajcp/109.3.286.
271. Shimura T, Kofunato Y, Okada R, et al. MIB-1 labeling index, Ki-67, is an indicator of invasive intraductal papillary mucinous neoplasm. *Molecular and Clinical Oncology.* 2016;5(2):317-322. doi:10.3892/mco.2016.908.
272. Sjöqvist U, Ost A, Löfberg R. Increased expression of proliferative Ki-67 nuclear antigen is correlated with dysplastic colorectal epithelium in ulcerative colitis. *International journal of colorectal disease.* 1999;14(2):107-113. doi:10.1007/s003840050194.

273. Takahashi T, Hirai T, Yoshii T, et al. Risk factors for recurrence and regrowth of spinal schwannoma. *J Orthop Sci.* 2023;28(3):554-559.  
doi:10.1016/j.jos.2022.03.003.
274. Tomio R, Yoshida K, Kohno M, Kamamoto D, Mikami S. The outermost "dura-like membrane" of vestibular schwannoma. *Surgical Neurology International.* 2016;7:71. doi:10.4103/2152-7806.185008.
275. Oishi Y, Tamura R, Yoshida K, Toda M. Histopathological Investigation of Dura-like Membrane in Vestibular Schwannomas. *Brain Sciences.* 2021;11(12). doi:10.3390/brainsci11121649.
276. Bianchi-Frias D, Damodarasamy M, Hernandez SA, et al. The Aged Microenvironment Influences the Tumorigenic Potential of Malignant Prostate Epithelial Cells. *Molecular cancer research : MCR.* 2019;17(1):321-331.  
doi:10.1158/1541-7786.MCR-18-0522.
277. Li Y, Zhao Y, Gao Y, et al. Age-related macrophage alterations are associated with carcinogenesis of colorectal cancer. *Carcinogenesis.* 2022;43(11):1039-1049.  
doi:10.1093/carcin/bgac088.
278. Chung HY, Cesari M, Anton S, et al. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing research reviews.* 2009;8(1):18-30.  
doi:10.1016/j.arr.2008.07.002.
279. Kang KB, van der Zyp A, Iannazzo L, Majewski H. Age-related changes in monocyte and platelet cyclooxygenase expression in healthy male humans and rats. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine.* 2006;148(6):289-294. doi:10.1016/j.trsl.2006.06.004.
280. Panigrahi M, Kumar D, Vooturi S, Madigubba S. MIB Index as Predictor of Recurrence in Sporadic Vestibular Schwannomas. *World Neurosurgery.* 2018;120:e1203-e1207. doi:10.1016/j.wneu.2018.09.039.
281. Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol.* 2016;16(10):626-638. doi:10.1038/nri.2016.90.
282. Lehnen N, Hallek M. Geschlechtsspezifische Unterschiede spezieller Tumorerkrankungen. *Innere Medizin (Heidelberg, Germany).* 2023;64(8):717-726.  
doi:10.1007/s00108-023-01551-9.

283. Allen J, Eldridge R, Koerber T. Acoustic neuroma in the last months of pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1974;119(4):516-520. doi:10.1016/0002-9378(74)90212-9.
284. Brown CM, Ahmad ZK, Ryan AF, Doherty JK. Estrogen receptor expression in sporadic vestibular schwannomas. *Otology & neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology*. 2011;32(1):158-162. doi:10.1097/MAO.0b013e3181feb92a.
285. Stidham KR, Roberson JB. Effects of estrogen and tamoxifen on growth of human vestibular schwannomas in the nude mouse. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1999;120(2):262-264. doi:10.1016/S0194-5998(99)70416-X.
286. Bone I, Hadley DM. Syndromes of the orbital fissure, cavernous sinus, cerebello- pontine angle, and skull base. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 2005;76 Suppl 3(Suppl 3):iii29-iii38. doi:10.1136/jnnp.2005.075259.
287. Jessen KR, Mirsky R. The repair Schwann cell and its function in regenerating nerves. *The Journal of physiology*. 2016;594(13):3521-3531. doi:10.1113/JP270874.
288. Ota Y, Liao E, Capizzano AA, et al. Diagnostic Role of Diffusion-Weighted and Dynamic Contrast-Enhanced Perfusion MR Imaging in Paragangliomas and Schwannomas in the Head and Neck. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2021;42(10):1839-1846. doi:10.3174/ajnr.A7266.
289. Gordon SR, Maute RL, Dulken BW, et al. PD-1 expression by tumour-associated macrophages inhibits phagocytosis and tumour immunity. *Nature*. 2017;545(7655):495-499. doi:10.1038/nature22396.
290. Lee SA, Chin S, Jung S, Lee K-H, Moon K-S, Lee JD. The significance of programmed cell death-ligand 1 expression in vestibular schwannoma. *Brain and behavior*. 2023;13(9):e3137. doi:10.1002/brb3.3137.
291. Archibald DJ, Neff BA, Voss SG, et al. B7-H1 expression in vestibular schwannomas. *Otology & neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology*. 2010;31(6):991-997. doi:10.1097/MAO.0b013e3181e40e4f.

292. Tamura R, Morimoto Y, Sato M, et al. Difference in the hypoxic immunosuppressive microenvironment of patients with neurofibromatosis type 2 schwannomas and sporadic schwannomas. *Journal of neuro-oncology*. 2020;146(2):265-273. doi:10.1007/s11060-019-03388-5.
293. Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(9):582-598. doi:10.1038/nrc.2016.73.
294. Zhao Y, Shen M, Wu L, et al. Stromal cells in the tumor microenvironment: accomplices of tumor progression? *Cell death & disease*. 2023;14(9):587. doi:10.1038/s41419-023-06110-6.
295. Ping Q, Yan R, Cheng X, et al. Cancer-associated fibroblasts: overview, progress, challenges, and directions. *Cancer gene therapy*. 2021;28(9):984-999. doi:10.1038/s41417-021-00318-4.
296. Lockwood DSR, Yeadon TM, Clouston AD, et al. Tumor progression in hepatocellular carcinoma: relationship with tumor stroma and parenchymal disease. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2003;18(6):666-672. doi:10.1046/j.1440-1746.2003.03018.x.
297. Sung J-Y, Lee JW. Cancer-Associated Fibroblast Subtypes Reveal Distinct Gene Signatures in the Tumor Immune Microenvironment of Vestibular Schwannoma. *Cells*. 2024;13(19):1669. doi:10.3390/cells13191669.
298. Sung J-Y, Cheong J-H. New Immunometabolic Strategy Based on Cell Type-Specific Metabolic Reprogramming in the Tumor Immune Microenvironment. *Cells*. 2022;11(5):768. doi:10.3390/cells11050768.
299. Albert ML, Darnell JC, Bender A, Francisco LM, Bhardwaj N, Darnell RB. Tumor-specific killer cells in paraneoplastic cerebellar degeneration. *Nature medicine*. 1998;4(11):1321-1324. doi:10.1038/3315.
300. Spranger S, Bao R, Gajewski TF. Melanoma-intrinsic  $\beta$ -catenin signalling prevents anti-tumour immunity. *Nature*. 2015;523(7559):231-235. doi:10.1038/nature14404.
301. Wculek SK, Cueto FJ, Mujal AM, Melero I, Krummel MF, Sancho D. Dendritic cells in cancer immunology and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(1):7-24. doi:10.1038/s41577-019-0210-z.

302. Shi J, Lu D, Gu R, et al. Identification of Key Biomarkers and Immune Infiltration in Sporadic Vestibular Schwannoma Basing Transcriptome-Wide Profiling. *World Neurosurgery*. 2022;160:e591-e600. doi:10.1016/j.wneu.2022.01.077.
303. van Vos Steenwijk PJ de, Ramwadhoebe TH, Goedemans R, et al. Tumor-infiltrating CD14-positive myeloid cells and CD8-positive T-cells prolong survival in patients with cervical carcinoma. *International journal of cancer*. 2013;133(12):2884-2894. doi:10.1002/ijc.28309.
304. Ohri CM, Shikotra A, Green RH, Waller DA, Bradding P. Macrophages within NSCLC tumour islets are predominantly of a cytotoxic M1 phenotype associated with extended survival. *The European respiratory journal*. 2009;33(1):118-126. doi:10.1183/09031936.00065708.
305. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber H-P, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2004;3(5):391-400. doi:10.1038/nrd1381.
306. Garcia J, Hurwitz HI, Sandler AB, et al. Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook. *Cancer treatment reviews*. 2020;86:102017. doi:10.1016/j.ctrv.2020.102017.
307. Qin S, Li A, Yi M, Yu S, Zhang M, Wu K. Recent advances on anti-angiogenesis receptor tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy. *J Hematol Oncol*. 2019;12(1):27. doi:10.1186/s13045-019-0718-5.
308. Seiwert TY, Burtneß B, Mehra R, 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. *The Lancet. Oncology*. 2016;17(7):956-965. doi:10.1016/S1470-2045(16)30066-3.
309. El-Khoueiry AB, Sangro B, Yau T, et al. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial. *Lancet (London, England)*. 2017;389(10088):2492-2502. doi:10.1016/S0140-6736(17)31046-2.
310. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high

- colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *The Lancet. Oncology*. 2017;18(9):1182-1191. doi:10.1016/S1470-2045(17)30422-9.
311. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 2015;372(4):311-319. doi:10.1056/NEJMoa1411087.
312. Gong J, Chehrazi-Raffle A, Reddi S, Salgia R. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations. *Journal for immunotherapy of cancer*. 2018;6(1):8. doi:10.1186/s40425-018-0316-z.
313. Davila ML, Brentjens R, Wang X, Rivière I, Sadelain M. How do CARs work?: Early insights from recent clinical studies targeting CD19. *Oncoimmunology*. 2012;1(9):1577-1583. doi:10.4161/onci.22524.
314. Chen Zhang, Seren Durer, Krishna C. Thandra, Anup Kasi. Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. In: Zhang C, Durer S, Thandra KC, Kasi A, eds. *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing; 2022.
315. Tang L, Zhang R, Zhang X, Yang L. Personalized Neoantigen-Pulsed DC Vaccines: Advances in Clinical Applications. *Front Oncol*. 2021;11:701777. doi:10.3389/fonc.2021.701777.
316. Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(5):411-422. doi:10.1056/NEJMoa1001294.
317. van den Bossche J, Baardman J, Otto NA, et al. Mitochondrial Dysfunction Prevents Repolarization of Inflammatory Macrophages. *Cell Rep*. 2016;17(3):684-696. doi:10.1016/j.celrep.2016.09.008.
318. Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest*. 2012;122(3):787-795. doi:10.1172/JCI59643.
319. Rodell CB, Arlauckas SP, Cuccarese MF, et al. TLR7/8-agonist-loaded nanoparticles promote the polarization of tumour-associated macrophages to enhance cancer immunotherapy. *Nat Biomed Eng*. 2018;2(8):578-588. doi:10.1038/s41551-018-0236-8.

320. Sun W, Zhang H, Wang H, et al. Targeting Notch-Activated M1 Macrophages Attenuates Joint Tissue Damage in a Mouse Model of Inflammatory Arthritis. *J Bone Miner Res.* 2017;32(7):1469-1480. doi:10.1002/jbmr.3117.
321. Tacke F, Zimmermann HW. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis. *J Hepatol.* 2014;60(5):1090-1096. doi:10.1016/j.jhep.2013.12.025.
322. Xiao H, Guo Y, Li B, et al. M2-Like Tumor-Associated Macrophage-Targeted Codelivery of STAT6 Inhibitor and IKK $\beta$  siRNA Induces M2-to-M1 Repolarization for Cancer Immunotherapy with Low Immune Side Effects. *ACS central science.* 2020;6(7):1208-1222. doi:10.1021/acscentsci.9b01235.
323. Schlaak M, Baues C, Trommer-Nestler M, Berking C, Belka C, Theurich S. Immuncheckpoint-Inhibitoren: Aktuelle Indikationen und mögliche zukünftige Konzepte. *Dtsch Med Wochenschr.* 2018;143(14):1014-1021. doi:10.1055/s-0043-125001.
324. Solomou G, Dulanka Silva AH, Wong A, Pohl U, Tzerakis N. Extramedullary malignant melanotic schwannoma of the spine: Case report and an up to date systematic review of the literature. *Ann Med Surg (Lond).* 2020;59:217-223. doi:10.1016/j.amsu.2020.10.003.
325. Sahay A, Epari S, Gupta P, et al. Melanotic Schwannoma, a Deceptive Misnomer for a Tumor With Relative Aggressive Behavior: A Series of 7 Cranial and Spinal Cases. *International journal of surgical pathology.* 2020;28(8):850-858. doi:10.1177/1066896920923146.
326. D'Adamo DR, Dickson MA, Keohan ML, et al. A Phase II Trial of Sorafenib and Dacarbazine for Leiomyosarcoma, Synovial Sarcoma, and Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors. *The oncologist.* 2019;24(6):857-863. doi:10.1634/theoncologist.2018-0160.
327. Visser KE de, Joyce JA. The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth. *Cancer cell.* 2023;41(3):374-403. doi:10.1016/j.ccell.2023.02.016.
328. Antinheimo J, Haapasalo H, Seppälä M, Sainio M, Carpen O, Jääskeläinen J. Proliferative potential of sporadic and neurofibromatosis 2-associated schwannomas as studied by MIB-1 (Ki-67) and PCNA labeling. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1995;54(6):776-782. doi:10.1097/00005072-199511000-00004.

329. Guha D, Davidson B, Nadi M, et al. Management of peripheral nerve sheath tumors: 17 years of experience at Toronto Western Hospital. *Journal of Neurosurgery*. 2018;128(4):1226-1234. doi:10.3171/2017.1.JNS162292.
330. Troude L, Boucekine M, Montava M, et al. Does NF2 status impact the results of combined surgery and adjunctive Gamma Knife surgery for large vestibular schwannomas? *Neurosurgical review*. 2020;43(4):1191-1199. doi:10.1007/s10143-019-01143-y.
331. Gregory GE, Jones AP, Haley MJ, et al. The comparable tumour microenvironment in sporadic and NF2-related schwannomatosis vestibular schwannoma. *Brain communications*. 2023;5(4):fcad197. doi:10.1093/braincomms/fcad197.
332. Lewis D, Donofrio CA, O'Leary C, et al. The microenvironment in sporadic and neurofibromatosis type II-related vestibular schwannoma: the same tumor or different? A comparative imaging and neuropathology study. *Journal of Neurosurgery*. 2020;134(5):1419-1429. doi:10.3171/2020.3.JNS193230.
333. Saito K, Kato M, Susaki N, Nagatani T, Nagasaka T, Yoshida J. Expression of Ki-67 antigen and vascular endothelial growth factor in sporadic and neurofibromatosis type 2-associated schwannomas. *Clinical neuropathology*. 2003;22(1):30-34. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12617191/>.
334. Plotkin SR, Stemmer-Rachamimov AO, Barker FG, et al. Hearing improvement after bevacizumab in patients with neurofibromatosis type 2. *N Engl J Med*. 2009;361(4):358-367. doi:10.1056/NEJMoa0902579.
335. Slusarz KM, Merker VL, Muzikansky A, Francis SA, Plotkin SR. Long-term toxicity of bevacizumab therapy in neurofibromatosis 2 patients. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2014;73(6):1197-1204. doi:10.1007/s00280-014-2456-2.
336. Mautner V-F, Nguyen R, Knecht R, Bokemeyer C. Radiographic regression of vestibular schwannomas induced by bevacizumab treatment: sustain under continuous drug application and rebound after drug discontinuation. *Ann Oncol*. 2010;21(11):2294-2295. doi:10.1093/annonc/mdq566.

337. Osorio DS, Hu J, Mitchell C, et al. Effect of lapatinib on meningioma growth in adults with neurofibromatosis type 2. *J Neurooncol*. 2018;139(3):749-755. doi:10.1007/s11060-018-2922-5.
338. Karajannis MA, Legault G, Hagiwara M, et al. Phase II trial of lapatinib in adult and pediatric patients with neurofibromatosis type 2 and progressive vestibular schwannomas. *Neuro Oncol*. 2012;14(9):1163-1170. doi:10.1093/neuonc/nos146.
339. Zhao F, Li S-W, Zhang S, et al. Phase II trial of icotinib in adult patients with neurofibromatosis type 2 and progressive vestibular schwannoma. *Journal of Neurosurgery*. 2023;138(6):1680-1687. doi:10.3171/2022.9.JNS22699.
340. Plotkin SR, Yohay KH, Nghiemphu PL, et al. Brigatinib in NF2-Related Schwannomatosis with Progressive Tumors. *N Engl J Med*. 2024;390(24):2284-2294. doi:10.1056/NEJMoa2400985.
341. Troutman S, Moleirinho S, Kota S, et al. Crizotinib inhibits NF2-associated schwannoma through inhibition of focal adhesion kinase 1. *Oncotarget*. 2016;7(34):54515-54525. doi:10.18632/oncotarget.10248.
342. Wall EM, Milne K, Martin ML, Watson PH, Theiss P, Nelson BH. Spontaneous mammary tumors differ widely in their inherent sensitivity to adoptively transferred T cells. *Cancer Res*. 2007;67(13):6442-6450. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-0622.

## **7 Anhang**

### **7.1 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift**

Die Arbeit wurde im Department für Neurochirurgie und Neurotechnologie der Universitätsklinik Tübingen unter Betreuung von Herrn PD Dr. med. F. Behling durchgeführt. Die Konzeption der Studie erfolgte durch Herrn PD Dr. med. F. Behling.

Die Erstellung der klinischen Datenbank erfolgte durch Frau Vanessa Ries und Frau Elisa-Maria Suhm (Vestibularisschwannome) und mich (Schwannome aller anderer Lokalisationen). Die Anfertigung der TMAs wurde nach Einarbeitung durch Herrn Prof. Dr. med. J. Schittenhelm und Herrn PD Dr. med. F. Behling durch mich durchgeführt. Die TMAs der Vestibularisschwannome wurden von Vanessa Ries und Elisa-Maria Suhm erstellt. Das Schneiden der Blöcke mit dem Mikrotom wie auch die Durchführung der HE- und immunhistochemischen Färbungen erfolgte durch die Mitarbeiter\*innen des Labors des Neuropathologischen Instituts. Die anschließende Auswertung wurde nach Einarbeitung durch Herrn Prof. Dr. med. J. Schittenhelm und Herrn PD Dr. med. F. Behling durch mich durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte durch mich in Zusammenarbeit mit Herrn PD Dr. med. F. Behling. Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 05.02.2026

Julia Lea Zinn

## **7.2 Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen meinen großen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben. Mein besonderer Dank gilt PD. Dr. med. Felix Behling für die Themenstellung und die engagierte und zuverlässige Betreuung bei der Durchführung der gesamten Arbeit. Einen weiteren Dank möchte ich an Prof. Dr. med. J. Schittenhelm aussprechen, der durch seine fachkundige Unterstützung wesentlich zum Fortschritt der Arbeit beigetragen hat. Des Weiteren möchte ich mich bei den Mitarbeitern des Labors der Neuropathologie bedanken. Auch möchte ich Vanessa Ries und Elisa-Maria Suhm danken, die mir ihre Daten zu Vestibularschwannomen zur Verfügung gestellt haben. Des Weiteren möchte ich meinen Dank dem Institut für klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen aussprechen. Mein Dank gilt vor allem Dr. Gunnar Blumenstock, welcher mir mit seinen statistischen Ratschlägen zur Seite stand. Außerdem möchte ich mich bei meinem Ehemann bedanken, der mich bereits Jahre vor dem Studium und der Dissertation auf ganzer Linie unterstützt und an mich geglaubt hat. Meinen Eltern danke ich in besonderer Weise für ihre bedingungslose Liebe und Unterstützung während des Studiums als auch außerhalb.