

Aus der
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU)
München

Direktor: Prof. Dr. med. Sven Mahner

Molekularbiologische Prognosefaktoren beim Endometriumkarzinom



Habilitationsschrift

Zur Erlangung der Venia Legendi
für das Fach

Frauenheilkunde und Geburtshilfe

Vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München

von

Dr. med. Susanne Beyer

aus

München

2023

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	3
1.1 Das Endometriumkarzinom – ein Überblick	3
1.2 Histologische Einteilung des Endometriumkarzinoms	4
1.3 Histondeacetylase Sirtuin-1	5
1.4 Blutgruppenantigene: Sialyl Lewis X, Sialyl Lewis A und Lewis Y	6
1.5 RIG-I und EFTUD2	7
1.6 Regulatorische T-Zellen	8
2. Zielsetzung	9
3. Eigene Arbeiten	10
3.1 Sirtuin-1 Expression im Endometriumkarzinom korreliert mit dem Überleben	10
3.2 Die Blutgruppenantigene Sialyl Lewis X, Sialyl Lewis A und Lewis Y als prognostische Marker im Endometriumkarzinom	12
3.3 RIG-I und EFTUD2: Prognosefaktoren für ein schlechtes Outcome im Endometriumkarzinom	13
3.4 Regulatorische T-Zellen im Endometriumkarzinom und deren Prognose für das Überleben ..	15
4. Zusammenfassung und Ausblick	18
5. Abkürzungsverzeichnis	21
6. Literaturverzeichnis	22
7. Übersicht über die eigenen Arbeiten	27
8. Danksagung	29

1. Einleitung

1.1 Das Endometriumkarzinom – ein Überblick

Weltweit ist das Endometriumkarzinom mit einer jährlichen Inzidenz von ca 471.000 die sechst häufigste maligne Erkrankung der Frau [1]. In Deutschland ist es mit 12.400 Neuerkrankungen das häufigste Karzinom der weiblichen Genitalorgane, wobei bedingt durch den westeuropäischen Lebensstil und die damit einhergehenden Risikofaktoren eine steigende Inzidenz prognostiziert wird [1-3]. Zu diesen Risikofaktoren gehören beispielsweise eine frühe Menarche, eine späte Menopause, Nulliparität, Tamoxifen-Therapie, Diabetes, Hyperlipidämie oder Adipositas, wobei all diese Faktoren in einem relativen Übergewicht von Östrogen resultieren. Die Exposition des Endometriums gegenüber diesem Östrogenübergewicht wird als Hauptrisikofaktor für die Entstehung des Endometriumkarzinoms angesehen [4]. Weitere 5% der Endometriumkarzinome sind durch erbliche Faktoren, wie dem Lynch-Syndrom (HNPCC) bedingt [5]. Klinisch wegweisend ist die uterine Blutung bei postmenopausalen Frauen, wobei die abschließende Diagnose nur durch eine histologische Untersuchung gestellt werden kann.

Die Stadieneinteilung des Endometriumkarzinoms erfolgt anhand der TNM und FIGO-Klassifikation (siehe **Tabelle 1**) [3].

Tabelle 1: TNM- und FIGO-Klassifikation des Endometriumkarzinoms (nach [3])

TNM	FIGO	Definition
TX		Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0		Kein Anhalt für Primärtumor
T1	I	Tumor begrenzt auf Corpus uteri
T1a	IA	Tumor begrenzt auf Endometrium oder weniger als die Hälfte des Myometriums
T1b	IB	Tumor infiltriert die Hälfte oder mehr des Myometriums
T2	II	Tumor infiltriert das Stroma der Zervix, breitet sich jedoch nicht jenseits des Uterus aus
T3 und/oder N1	III	Lokal und/oder regionäre Ausbreitung des Tumors
T3a	IIIA	Tumor infiltriert die Serosa des Uterus und/oder der Adnexe (direkt oder Metastasen)
T3b	IIIB	Vaginal- oder Parametrienbefall (direkt oder Metastasen)
N1	IIIC	Metastasen in pelvinen und/oder paraaortalen Lymphknoten
	IIIC1	Metastasen in Beckenlymphknoten
	IIIC2	Metastasen in paraaortalen Lymphknoten
T4	IVA	Befall der Blasen- oder Rektumschleimhaut und/oder Fernmetastasen
M1	IVB	Fernmetastasen, einschließlich intraabdomineller Metastasen oder inguinaler Lymphknotenmetastasen

75% aller Endometriumkarzinome werden in Stadium FIGO I diagnostiziert und haben mit einem 5-Jahres-Überleben von 95% eine exzellente Prognose [3, 6]. Weltweit ist das 5-

Jahresüberleben stadienunabhängig bei ca. 80% mit einer Mortalität von 90.000 [2, 7, 8]. Etwa 20% der Erstdiagnosen erfolgen in fortgeschrittenem Stadium (FIGO III/IV) und bis zu 12% der Patientinnen erleiden ein Rezidiv [9, 10]. In solchen Situationen sinkt das 5-Jahres-Überleben auf 17%, da die therapeutischen Optionen limitiert sind [8, 11-13]. In den letzten Jahren wurde mit neuen Therapiestrategien, wie zum Beispiel dem PD-1 Inhibitor Pembrolizumab, bereits gute Erfolge erzielt [14, 15]. Die Basis bilden Untersuchungen, die das Tumor-Mikroenvironment und andere immunologische Faktoren berücksichtigen [16, 17]. Bei Versagen dieser therapeutischen Option sind die weiteren Optionen jedoch limitiert [12], sodass der Bedarf an neuen Therapiekonzepten bestehen bleibt.

1.2 Histologische Einteilung des Endometriumkarzinoms

Basierend auf den genannten Risikofaktoren erfolgte die klassische Einteilung des Endometriumkarzinoms nach Bokhman in einen Östrogen-abhängigen (Typ I) sowie einen Östrogen-unabhängigen Typ (Typ II) [18]. Der Östrogen-abhängige Typ beinhaltet das endometrioides Endometriumkarzinom. Andere histologische Subtypen, wie zum Beispiel das klarzellige, seröse, undifferenzierte oder neuroendokrine Endometriumkarzinom werden dem Typ II zugeordnet [18].

Nicht alle histologischen Subtypen konnten jedoch in dem Modell nach Bokhmann dualistisch klassifiziert werden. Verbesserte molekulardiagnostische Möglichkeiten führten 2013 zu einem neuen Ansatz der Klassifizierung nach molekularen Subtypen [19-21]: der ProMisE-Algorithmus. Dieser berücksichtigt die Mismatch-repair-Defizienz (MMR), sowie das Vorhandensein einer Polymerase ϵ (POLE)- Mutation und p53-Mutation [21, 22].

Tumore mit POLE-Mutation sind dabei meist endometrioides Karzinome mit guter Prognose. Karzinome mit Mikrosatelliteninstabilität (MSI) sowie Tumore mit p53-wildtyp und gleichzeitiger Mikrosatellitenstabilität (MSS) weisen eine intermediäre Prognose auf. Seröse und zusätzlich high-grade endometrioides Karzinome sind in der Regel p53 mutiert und haben eine schlechte Prognose [21].

Neben wissenschaftlichen Zwecken ist diese Einteilung in Hinblick auf die Therapie-Empfehlung, welche sich aus den Säulen Operation, Strahlentherapie und Chemotherapie zusammensetzt, inzwischen vor allem in frühen Stadien (FIGO I-II) relevant [6, 23].

1.3 Histondeacetylase Sirtuin-1

Zu den Risikofaktoren für die Entwicklung eines Endometriumkarzinoms, insbesondere des klassischen, östrogenabhängigen Typ I, gehören Adipositas, Hyperlipidämie, Infertilität oder eine späte Menopause. Diese Faktoren führen zu einer erhöhten Expression des Endometriums gegenüber Östrogen.

Sirtuin-1 (Sirt-1), eine NAD⁺-abhängige Histon-Deacetylase ist im Nucleus lokalisiert und an epigenetischen Modulationen beteiligt [24]. Sirt-1 ist in die Regulation des Lipid- und Glucosestoffwechsels involviert, spielt jedoch auch eine bedeutende Rolle in der Tumorphathogenese [25, 26]. Es führt beispielweise zu einer Deacetylierung von p53 und FoxP3 [27]. Im Rahmen der Tumorgenese kann Sirt-1 entweder als Tumorsuppressor oder als Tumorpromotor dienen [28]. Im kleinzelligen Lungenkarzinom und B-Zell-Lymphom scheint Sirt-1 mit einem schlechten Outcome assoziiert zu sein, während seine Expression im Retinoblastom keine prognostische Rolle zu spielen scheint [29-34]. In Bezug auf gynäkologische Tumore ist Sirt-1 vor allem im Zervixkarzinom untersucht: Ein knockdown scheint das Wachstum Paclitaxel-resistenter Zellen zu inhibieren und die Expression erhöht die Effektivität einer neoadjuvanten Chemotherapie [35, 36]. Für das Ovarialkarzinom gibt es widersprüchliche Daten: eine erhöhte Sirt-1 Expression scheint mit schlechteren Überlebensraten assoziiert zu sein [37]. Andere Daten zeigten, dass eine erniedrigte Expression im serösen Ovarialkarzinom ebenfalls mit schlechten Überlebensraten assoziiert ist [38]. Am Beispiel dieses Widerspruches ist hervorzuheben, dass die Rolle der Sirt-1 Expression abhängig von der genauen Tumorentität zu sein scheint. Für das Endometriumkarzinom gibt es bisher zur Expression von Sirtuin-1 keine eindeutigen prognostischen Daten [39]. Seine Expression scheint im Gegensatz zu gesunden Gewebe erhöht zu sein. Außerdem gibt es Hinweise, dass seine Expression in vitro zu einer Cisplatin-Resistenz endometrioider Karzinomzellen führt [40]. Andere Daten lassen eine Progression durch Sirt-1 Stimulation vermuten [41]. Weitere Daten, insbesondere in Hinblick auf die prognostische Bedeutung fehlten jedoch.

1.4 Blutgruppenantigene: Sialyl Lewis X, Sialyl Lewis A und Lewis Y

Neben den bekannten ABO- und Rhesus Blutgruppenantigene gibt es weitere Blutgruppen-Merkmale: Lewis-Antigene. Hierzu gehören Sialyl Lewis X (SLeX), Sialyl Lewis A (SLeA) und Lewis Y (LeY). Es handelt sich um Glykokonjugate auf der Zelloberfläche. Bereits in fetalen Zellen spielen sie eine wichtige Rolle in der Zelldifferenzierung [42, 43]. Bei Erwachsenen sind sie auf diversen Zelltypen präsent und sind involviert in Prozesse wie Zelladhäsion und Signaltransduktion [44-46]. Hierdurch kommt ihnen eine wichtige Rolle in der Regulation des Immunsystems sowie bei der der Tumorgenese zu [47, 48]. Eine Überexpression der Lewis Antigene ist in verschiedenen Tumorzellen beschrieben [43, 49, 50].

SLeX kann über eine Überexpression von E-Selektin zu einer vermehrten hämatogenen Metastasierung führen [51-53]. Im Mammakarzinom sowie Lungenkarzinom waren erhöhte SLeX Expression ebenfalls mit einer fortgeschrittenen Erkrankung assoziiert [49, 54].

Hohe SLeX-Konzentrationen können jedoch auch über immunologische Mechanismen zu einer verbesserten Immunantwort gegenüber dem Tumor führen: Das SLeX Derivat 6-sulfo-SLeX ist in die Rekrutierung von T-Lymphozyten involviert [55] und wirkt sich positiv auf die Rolle der natürlichen Killerzellen bei der Tumorantwort aus [56]. Aus diesen gegensätzlichen Wirkungen von SLeX schlussfolgerte Ohyama, dass für die Wirkung des SLeX die verschiedenen Expressionslevel entscheidend seien [56], wobei die Rolle von SLeX in Hinblick auf Tumorsuppression und Progression abschließend unklar bleibt.

Das Isomer zu SLeX ist SLeA. Als Epitop von CA19-9 ist es als Tumormarker bei Pankreas-, Mamma- und kolorektalem Karzinom überexprimiert [43, 48, 54]. In Analogie zu SLeX führt auch SLeA zu einer Überexpression von E-Selektin und fördert so die hämatogene Metastasierung [57-59].

LeY ist ebenfalls in verschiedenen Tumoren überexprimiert, unter anderem Mamma-, Ovarial-, Prostata- und kolorektalem Karzinomen [50, 60]. Eine Überexpression ist in der Regel mit einer verschlechterten Prognose assoziiert [42, 50]. Im Kolonkarzinom führt beispielsweise eine LeY Expression zu einer Abnahme der Apoptoserate und damit zu einem Tumorprogress [61].

Neben der Korrelation der Lewis-Antigene mit dem Tumorwachstum darf auch deren immunologische Bedeutung nicht außer Acht gelassen werden: Als Oberflächenmerkmal von Leukozyten führt beispielsweise der vollständige Verlust von SLeX zu schweren Immundefekten [62].

Insbesondere vor dem immunologischen Hintergrund des Endometriumkarzinoms können Lewis Antigene daher ein interessantes Target sein, wenngleich größere Studien hierzu bislang fehlen.

1.5 RIG-I und EFTUD2

RIG-I (retinoic acid-inducible gene I) ist ein Nukleinsäure-Rezeptor im Zytoplasma [63]. Er gehört zur Familie der RIG-I ähnlichen Rezeptoren und wird kodiert vom Gen DDX58 [64]. RIG-I erkennt und bindet virale Partikel, was über einen Signalprozess schlussendlich zu einer Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B und einer Hoch-Regulation von pro-inflammatorischen Gene und Interferone führt [65]. Hierdurch werden natürliche Killerzellen stimuliert und es kommt zu einem tumorsuppressivem Effekt [66]. Außerdem werden Signalwege zu intrinsischen sowie extrinsischen Apoptosemechanismen aktiviert [67]. Die Expression von RIG-I wird reguliert durch den alternativen Splicing-Faktor EFTUD2 [68].

EFTUD2 ist bekannt geworden durch seine Assoziationen mit Mund-Kiefer-Gesichtsfehlbildungen [69]. Als alternativer Splicing-Faktor rückte jedoch seine immunologische und onkologische Bedeutung in den letzten Jahren in den Vordergrund: EFTUD2 ist in die Zelldifferenzierung und die Immunantwort involviert [68, 70]. Im kolorektalen Karzinom führt es, vor allem im Milieu einer Colitis, über Modulation von Makrophagen zu einem Tumorwachstum [71]. Die Hochregulation von RIG-I durch EFTUD2 wurde erstmals bei Hepatitis C beschrieben, wobei RIG-I in dieser Studie einen protektiven Effekt hatte [72, 73]. Ohne Zweifel ist RIG-I ein bedeutender Teil des angeborenen Immunsystems. Dennoch bleibt seine Rolle in Tumorzellen kontrovers diskutiert:

Prinzipiell wird von einem tumorsuppressivem Effekt ausgegangen [66]. Dies wurde im Ovarialkarzinom auf molekularer Ebene untersucht: es konnte gezeigt werden, dass die Aktivierung von RIG-I verschiedene MHC-Klasse-1-Proteine stimulierte und so zu einer Sekretion pro-inflammatorischer Mediatoren führte. Dies führte schließlich zum Untergang der Krebszellen in vitro [74]. Beim Mammakarzinom scheint die Rolle von RIG-I nicht so klar zu sein: einerseits ist eine Apoptose durch RIG-I beschrieben [75], andererseits scheint RIG-I hier über verschiedene Mechanismen zur einer Therapieresistenz zu führen und schließlich zu vermehrtem Tumorwachstum und zunehmender Metastasierung [76, 77]. Eine abschließende Bewertung ist somit aktuell nicht möglich. Obwohl RIG-I und EFTUD2

Bestandteil des Immunsystems sind und dieses beim Endometriumkarzinom eine wichtige Rolle spielt, gibt es bisher in Bezug auf das Endometriumkarzinom kaum Untersuchungen für RIG-I und EFTUD2.

1.6 Regulatorische T-Zellen

Die Zulassung von Pembrolizumab als Immuncheckpointinhibitor beim Endometriumkarzinom hat die Rolle des Immunsystems bei dieser Tumorerkrankung hervorgehoben. Als Checkpointinhibitor greift Pembrolizumab in das körpereigene Immunsystem ein und verändert die Immunhämostase zu Gunsten der körpereigenen Immunabwehr gegen den Tumor über die PD-1 Inhibition. So spielt die TME (tumor microenvironment) eine zunehmende Rolle. Hierzu werden neben Immunzellen auch mesenchymale Zellen, die extrazelluläre Matrix sowie inflammatorische Mediatoren gezählt [78]. Über die Interaktion mit der TME wird das biologische Verhalten des Tumors in Hinblick auf Wachstum, Metastasierung und Apoptose reguliert [79]. Als Bestandteil der Immunzellen in der TME gelten regulatorisch T-Zellen (Treg) [80]. Hierbei handelt es sich um CD4⁺CD25⁺-Lymphozyten [81]. Während sie im gesunden Individuum vor einer überschießenden Immunantwort und damit vor Autoimmunerkrankungen schützen, führen sie in der Umgebung von Tumorzellen zum Phänomen des *immune escape* und schließlich zu schlechteren Überlebensraten der Patient*innen [82-84]. FoxP3, ein Transkriptionsfaktor, ist ein spezifischer Marker für Treg [85], insbesondere in Kombination mit CD4 und CD25 [86-88]. Es existieren diverse Untergruppen an regulatorischen T-Zellen. Für ihre weitere Subtypisierung dient unter anderem CCR4, der Rezeptor für das Chemokin CCL22. Die Identifikation der immunosuppressiven Subpopulation aller Tregs ist ebenfalls von Bedeutung [89-91]. Das Vorkommen von Treg in der TME führte in einigen Entitäten zu einer verschlechterten Prognose, beispielsweise im Ovarialkarzinom [92-96].

Je nach Tumortyp kann die FoxP3 Expression herunter/herauf-reguliert werden, wobei FoxP3 dann entweder als Tumorpromotor oder -suppressor dienen kann [97, 98]. Für das Endometriumkarzinom ist eine erhöhte FoxP3 Expression in der TME bereits mit verschlechterten Überlebensraten assoziiert [99-101]. Der genaue Interaktionsmechanismus zwischen Endometriumkarzinomzellen und regulatorischen T-Zellen ist dabei noch unbekannt.

2. Zielsetzung

Die Entwicklung der Therapiemodalitäten hat in den letzten Jahren die Bedeutung molekularer Faktoren in den Vordergrund gerückt. Während bis vor kurzem noch das TNM/FIGO-Stadium ausschlaggebend für das Ausmaß der Operation sowie die adjuvante Therapie waren, sind heute mit p53, den Mismatch-Repair-Proteinen sowie der Polymerase Epsilon bereits molekulare Marker identifiziert worden, die zusätzlich zum TNM/FIGO-Stadium in die Therapieentscheidung mit einfließen. Auch in der Rezidiv-Situation haben molekulare Marker vor dem Hintergrund der Immuncheckpointinhibitoren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Wenngleich die genannten Faktoren im klinischen Alltag bereits etabliert sind, so gibt es dennoch weiterhin Forschungsbedarf zur Identifikation weiterer molekularbiologischer Prognosefaktoren.

Vor dem Hintergrund der immunologischen Bedeutung im Endometriumkarzinom und der steigenden Inzidenz wurden in dieser Habilitationsarbeit molekularbiologischen Faktoren sowie die Rolle der regulatorischen T-Zellen im Endometriumkarzinom untersucht. Hieraus sollen Erkenntnisse über Korrelationen zu histopathologischen Merkmalen (Tumorgröße, Lymphknotenstatus, FIGO, Grading) sowie die Prognose (Gesamt- und progressionsfreies Überleben) beim Endometriumkarzinom gewonnen werden. Die Ergebnisse dienen einerseits der Erfassung molekularbiologischer Prognosefaktoren. Andererseits sollen sie als Grundlage für weitere Arbeiten dienen, auf deren Basis in Zukunft die Entwicklung neuer therapeutischer Strategien im Endometriumkarzinom, insbesondere in fortgeschrittenen Stadien, angestrebt werden kann.

3. Eigene Arbeiten

3.1 Sirtuin-1 Expression im Endometriumkarzinom korreliert mit dem Überleben

Die Histondeacetylase Sirt-1 ist nicht nur in die Tumorphogenese involviert, sondern auch an Prozessen des Fett- und Zuckerstoffwechsels beteiligt. Das Wissen um Risikofaktoren wie Adipositas und Diabetes beim Endometriumkarzinom macht Sirt-1 daher zu einem interessanten Zielmolekül.

Um die prognostische Bedeutung von Sirtuin-1 (Sirt-1) im Endometriumkarzinom zu untersuchen, wurden Proben von 65 Patientinnen mit Endometriumkarzinom (endometrioid: 59 Patientinnen oder klarzellig: 6 Patientinnen) eingeschlossen. Die Patientinnen wurden zwischen 1990 und 2001 aufgrund eines Endometriumkarzinoms operiert. Ihre histologischen Präparate wurden immunhistochemisch mit Sirtuin-1-Antikörpern (Anti-SIRT1-Antibody; polyklonaler Antikörper; Atlas antibodies; Bestellnummer HPA006295) gefärbt und auf dessen Expression untersucht. Das Ausmaß der Expression wurde dabei mittels dem Immunreactive-Score (IRS) quantifiziert: die Intensität der Färbung (Intensität: 0= keine; 1= mild; 2= mäßig; 3= stark) wurde mit dem Anteil der gefärbten Zellen (0 = keine gefärbten Zellen; 1 = 1- 10 % positive Zellen; 2 = 11-50 % positiv gefärbte Zellen; 3 = 51-80 % positiv gefärbte Zellen; 4 = 81-100% positiv gefärbte Zellen) multipliziert. Es ergaben sich Werte zwischen 0 und 12, wobei die Expression umso stärker ist, je höher der IRS [102].

Der Median der Färbung betrug 4, wobei die Sirt-1-Expression im endometrioiden Karzinom verglichen mit dem klarzelligen Karzinom signifikant höher war ($p=0.007$). Obwohl keine signifikante Korrelation zu klinisch-pathologischen Markern bei Erstdiagnose gefunden wurde (T-Stadium: $p=0.267$; pN-Stadium: $p=0.572$; FIGO-Stadium: $p=0.162$; Grading: $p=0.760$), so zeigte sich dennoch eine signifikante Korrelation zwischen der Sirt-1 Expression bei Erstdiagnosen und dem Überleben: Eine erhöhte Expression zeigte einen Trend zu einem besserem Gesamtüberlebensraten (overall-survival; OS) im endometrioiden Karzinom ($p=0.070$) und korrelierte signifikant mit verbessertem Progressions-freiem Überleben (progression-free survival; PFS) im endometrioiden und klarzelligen Endometriumkarzinom ($p=0.042$). Da Sirt-1 auch in den Lipid- und Glukosestoffwechsel involviert ist, wurde zu den erhobenen Daten Adipositas, Diabetes und Übergewicht ebenfalls eine Korrelationsanalyse durchgeführt, diese erbrachte keinen signifikanten Zusammenhang. Die Korrelation zwischen erhöhter Sirt-1 Expression im Endometriumkarzinom sowie dem verbesserten

Überleben scheint also nicht direkt in Zusammenhang zu den metabolisch erhobenen Befunden zu stehen.

Eine Endometriose in der Vorgeschichte ist ebenfalls signifikant mit der Entstehung eines Endometriumkarzinoms assoziiert. Die hier vermehrt exprimierten Tumorsuppressoren β -Catenin und ARID1A wurden daher ebenfalls mit Sirt-1 korreliert: Es zeigte sich eine signifikant positive Korrelation mit diesen Tumorsuppressorgenen (β -Catenin: $p=0.028$ und ARID1A: $p=0.021$).

Zusammenfassend lässt sich eine Korrelation zwischen erhöhter Sirt-1 Expression und endometrioidem Typ im untersuchten Gesamtkollektiv sowie verbessertem PFS im Endometriumkarzinom feststellen. Die Korrelation zu den Tumorsuppressorgenen ARID1A und β -Catenin sowie die Korrelation zu Überlebensdaten lässt die Vermutung zu, dass Sirt-1 im Endometriumkarzinom über Deacetylierung als Tumorsuppressor wirkt, wenngleich die zugrundeliegenden Mechanismen noch nicht verstanden sind.

Histochemistry and Cell Biology (2020) 154:189–195
<https://doi.org/10.1007/s00418-020-01873-x>

ORIGINAL PAPER



Sirtuin1 expression and survival in endometrial and clear-cell uterine cancer

Susanne Beyer¹ · Fangfang Chen¹ · Sarah Meister¹ · Bastian Czogalla¹ · Theresa M. Kolben¹ · Anna Hester¹ · Alexander Burges¹ · Fabian Trillsch¹ · Elisa Schmöckel² · Doris Mayr² · Artur Mayerhofer³ · Sven Mahner¹ · Udo Jeschke¹ · Thomas Kolben¹

Accepted: 11 March 2020 / Published online: 9 May 2020
© The Author(s) 2020

Abstract

Several risk factors like obesity and hyperlipidemia were described for endometrial cancer. Here, the nuclear NAD-dependent histone-deacetylase Sirtuin1 (SIRT1) seems to be important. SIRT1 is also involved in cell regulatory mechanisms and can serve as tumor promotor or suppressor. Its role in tumor biology is not clear yet. In this study, we evaluated and correlated the SIRT1 expression with patients' tumor characteristics in endometrioid and clear-cell cancer of the uterus. 65 paraffin-embedded samples of patients with endometrial and clear-cell cancer of the uterus were immunohistochemically stained and SIRT1 expression was evaluated by immunoreactive score. The results were correlated to clinical and pathological tumor characteristics as well as to the expression of ARID1A and β -Catenin. The staining was significantly more intensive in uterine endometrioid carcinoma compared to uterine clear-cell carcinoma ($p=0.007$). The expression of SIRT1 correlated significantly with the membranous expression of β -Catenin ($p=0.028$) and ARID1A ($p=0.021$). Patients with positive Sirtuin1 expression had a significantly better progression-free survival ($p=0.042$), the overall survival showed a trend towards a better prognosis ($p=0.070$). SIRT1 expression seems to be associated with improved progression-free survival in uterine cancer (endometrioid and clear-cell) and is correlated to the tumor suppressors β -Catenin and ARID1A. Further studies are necessary to elucidate the role of SIRT1 in uterine and ovarian cancer and its potential as a therapeutic target.

3.2 Die Blutgruppenantigene Sialyl Lewis X, Sialyl Lewis A und Lewis Y als prognostische Marker im Endometriumkarzinom

Die Glykokonjugate Sialyl Lewis X und A, sowie Lewis Y spielen nicht nur bei der Charakterisierung der Erythrozyten als Blutgruppenmerkmale, sondern auch bei verschiedenen Signalwegen eine bedeutenden Rolle. Zudem sind sie auf Leukozyten unabdinglich für ein intaktes Immunsystem. Vor dem Hintergrund der wachsenden Bedeutung immunogener Mechanismen beim Endometriumkarzinom und des darauf basierenden Einsatzes von Immuncheckpointinhibitoren, wurde der prognostische Faktor der genannten Glykokonjugate untersucht:

234 Proben von Patientinnen mit Endometriumkarzinom und einer Operation zwischen 1990 und 2001 wurden eingeschlossen. Aus den Paraffinblöcken wurden Tissue microarrays (TMA) gewonnen, welche immunhistochemisch mit Antikörpern für Sialyl Lewis X (SLeX; BD Pharmingen; Monoklonaler Antikörper; Bestellnummer: 551344), Sialyl Lewis A (SLeA; SIGMA Alderich; Monoklonaler Antikörper; Bestellnummer: SAB4700773) und Lewis Y (LeY; LSBio; Monoklonaler Antikörper; Bestellnummer: LS-C311942) gefärbt wurden. Die Stärke der Expression wurde erneut mittels IRS (siehe oben) ausgewertet.

Eine erhöhte Expression von SLeX korrelierte mit niedrigem pT-Stadium ($p=0.013$), niedrigem FIGO-Stadium ($p=0.006$) und niedrigem Grading ($p<0.001$). Übereinstimmend hierzu korrelierte eine erhöhte Expression signifikant mit besseren Gesamtüberlebensraten ($p=0.023$).

Ähnliche Beobachtungen in Hinblick auf klinisch-pathologische Merkmale mit Ausnahme für das FIGO-Stadium wurden für die Expression von SLeA gemacht (pT: $p=0.013$; Grading: $p=0.001$). Hier zeigte sich eine positive Korrelation für das PFS ($p=0.043$).

Ein signifikant niedrigeres Grading ($p=0.005$) bei jedoch häufig positivem Lymphknoten-Status ($p=0.038$) wurde bei erhöhter LeY Expression beobachtet. Die LeY Expression korrelierte signifikant mit dem PFS der Patientinnen, wobei eine erhöhte Expression mit schlechterem Überleben assoziiert war ($p=0.022$). LeY war für das PFS auch ein unabhängiger Marker.

Auch wenn die genaue Rolle der Blutgruppenantigene SLeX, SLeA und LeY noch nicht verstanden ist, so scheinen sie in der Tumorgenese eine bedeutende Rolle zu spielen. Untersuchungen in Hinblick auf das Endometriumkarzinom existierten bisher hierfür noch kaum: es war lediglich eine erhöhte Expression im Vergleich zu gesunden Endometrium

beschrieben [103, 104], die prognostische Bedeutung war hierbei nicht untersucht. Für etwaige zugrunde liegende Mechanismen und Theorien muss mangels Untersuchungen beim Endometriumkarzinom auf andere Entitäten verweisen werden, wobei hier die Rolle von LeY im Ovarialkarzinom gut untersucht ist: Für LeY wurde eine Korrelation zur Entwicklung einer Chemoresistenz sowie zur vermehrten Invasion und Metastasierung im Ovarialkarzinom vorgeschlagen [42, 46, 105-107]. Zudem scheint LeY in den PIK3/Akt Signalweg involviert zu sein [105]. Ähnliche Untersuchungen für das Endometriumkarzinom existieren bisher nicht.

Journal of Cancer Research and Clinical Oncology (2022) 148:3323–3335
<https://doi.org/10.1007/s00432-022-04098-8>

ORIGINAL ARTICLE – CANCER RESEARCH



Blood group antigens SLeX, SLeA, and LeY as prognostic markers in endometrial cancer

Thomas Kolben¹ · Lena Müller¹ · Sarah Meister¹ · Lucia Keilmann¹ · Christina Buschmann¹ · Fabian Trillsch¹ · Alexander Burges¹ · Bastian Czogalla¹ · Sophie Mitter¹ · Elisa Schmoeckel² · Stefanie Corradini³ · Sven Mahner¹ · Udo Jeschke^{1,4}  · Mirjana Kessler¹ · Susanne Beyer¹

Received: 7 February 2022 / Accepted: 27 May 2022 / Published online: 21 June 2022
© The Author(s) 2022

Abstract

Purpose Endometrial cancer (EC) is the most common gynecological cancer worldwide. Treatment has been improved in recent years, but, in advanced stages, therapeutical options are still limited. It has been reported that the expression of the blood group antigens Sialyl Lewis X (SLeX), Sialyl Lewis A (SLeA) and Lewis Y (LeY) is associated with prognosis in several tumors. Large studies on endometrial and cervical cancer are still pending.

Methods Specimens of 234 patients with EC were immunohistochemically stained with antibodies for SLeX, SLeA and LeY. Expression was correlated to histopathological variables.

Results High expression of SLeX was correlated to low pT-stage ($p=0.013$), low grade ($p<0.001$), low FIGO-stage ($p=0.006$) and better overall survival rates (OS; $p=0.023$). High expression of SLeA was associated with low pT-stage ($p=0.013$), low grade ($p=0.001$) and better progression-free survival (PFS; $p=0.043$). LeY staining was correlated to pN+ ($p=0.038$), low grade ($p=0.005$) and poorer PFS ($p=0.022$).

Conclusion This is the first study examining the expression of SLeX, SLeA and LeY in EC, which can serve as additional future prognostic markers. Further studies are necessary to understand the underlying mechanisms. The study was approved by the local ethics committee of the Ludwig-Maximilians University Munich (reference number 19-249).

3.3 RIG-I und EFTUD2: Prognosefaktoren für ein schlechtes Outcome im Endometriumkarzinom

Sowohl RIG-I als auch der alternative Splicing Faktor EFTUD-2 spielen eine zentrale Rolle im angeborenen Immunsystem. Spätestens seit den Erkenntnissen über die positive Wirkung

von Immuncheckpointinhibitoren beim Endometriumkarzinom wird dieses als immunogener Tumor angesehen. Dennoch existierte bis dato keine Studie, die RIG-I und EFTUD-2 als wichtige Modulatoren des angeborenen Immunsystems im Endometriumkarzinom untersucht [71, 108].

Es wurden daher Proben von 225 Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom gewonnen und mit Antikörpern gegen RIG-I (LSBio; monoklonaler Antikörper; Bestellnummer: LS-C331000) gefärbt. Da RIG-I durch den alternativen Splicing Faktor EFTUD2 reguliert werden kann [68], erfolgte außerdem eine immunhistochemische Färbung des Kollektivs für EFTUD-2 (Abcam; polyklonaler Antikörper; Bestellnummer: ab72456). Auch diese Auswertung erfolgte mittels IRS (siehe oben).

Eine hohe RIG-I Expression korrelierte dabei mit erhöhtem FIGO-Stadium ($p=0.027$), pT-Stadium ($p=0.010$) sowie hohem Grading ($p=0.007$). In Übereinstimmung zu den erhöhten Tumorstadien ging eine erhöhte RIG-I Expression auch signifikant mit einem verschlechtertem OS ($p=0.009$) sowie einem erniedrigtem PFS ($p=0.022$) einher.

Obwohl die Expression von EFTUD2 nicht mit histopathologischen Merkmalen (pT, pN, FIGO, Grading) korrelierte, so zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zu den Überlebensdaten: eine erhöhte EFTUD2 Expression ging einher mit einem signifikant verschlechtertem Outcome, sowohl in Hinblick auf das OS ($p=0.015$), als auch auf das PFS ($p=0.001$). In Bezug auf das PFS stellte sich EFTUD2 in der COX-Regression als unabhängigen Marker dar. Bisher existieren wenige Daten zu EFTUD2 bei Tumorerkrankungen. Im hepatozellulären Karzinom konnten dennoch ähnliche Ergebnisse beobachtet werden [109, 110].

Wenngleich RIG-I in einigen Tumoren als Tumorsuppressor beschrieben wurde (z.B. Pankreaskarzinom und malignes Melanom) [111, 112], so wurde beispielsweise für das Ovarialkarzinom ein ähnlicher Effekt der RIG-I Expression beschrieben, wie er in diesen Ergebnissen zu Stande kam: Auch im Ovarialkarzinom scheint die RIG-I Expression ein negativer Prognosemarker zu sein [113]. Hierbei wurden ebenfalls Korrelationen zu FOXP3 sowie PD-L1 und Interferon- β detektiert [114, 115]. Es wird diskutiert, dass die tumorsuppressive Wirkung von RIG-I durch ein immun-escape-Phänomen in der TME neutralisiert werden [113]. Im Endometriumkarzinom ist bereits bekannt, dass das Vorhandensein regulatorischer T-Zellen und ihres Markers FOXP3 zu verschlechterten Überlebensraten führen [99, 116]. Insbesondere in Hinblick auf das Endometriumkarzinom

als immunogener Tumor könnte die TME und die Interaktion von RIG-I mit dieser eine bedeutende Rolle spielen bei der Erforschung der Rolle von RIG-I.



High RIG-I and EFTUD2 expression predicts poor survival in endometrial cancer

Susanne Beyer¹ · Lena Müller¹ · Sophie Mitter¹ · Lucia Keilmann¹ · Sarah Meister¹ · Christina Buschmann¹ · Fabian Kraus¹ · Nicole E. Topalov¹ · Bastian Czogalla¹ · Fabian Trillsch¹ · Alexander Burges¹ · Sven Mahner¹ · Elisa Schmoeckel² · Sanja Löb³ · Stefanie Corradini⁴ · Mirjana Kessler¹ · Udo Jeschke^{1,5} · Thomas Kolben¹

Received: 25 July 2022 / Accepted: 5 August 2022
© The Author(s) 2022

Abstract

Purpose Endometrial cancer is the most common gynecological malignancy. The helicase RIG-I, a part of the innate immune system, and EFTUD2, a splicing factor which can upregulate RIG-I expression, are shown to influence tumor growth and disease progression in several malignancies. For endometrial cancer, an immunogenic cancer, data about RIG-I and EFTUD2 are still missing. The aim of this study was to examine the expression of RIG-I and EFTUD2 in endometrial cancer.

Methods 225 specimen of endometrial cancer were immunohistochemically stained for RIG-I and EFTUD2. The results were correlated to clinicopathological data, overall survival (OS) and progression-free survival (PFS).

Results High RIG-I expression correlated with advanced tumor stages (FIGO: $p = 0.027$; pT: $p = 0.010$) and worse survival rates (OS: $p = 0.009$; PFS: $p = 0.022$). High EFTUD2 expression correlated to worse survival rates (OS: $p = 0.026$; PFS: $p < 0.001$) and was determined to be an independent marker for progression-free survival.

Conclusion Our data suggest that the expression of RIG-I and EFTUD2 correlates with survival data, which makes both a possible therapeutic target in the future.

3.4 Regulatorische T-Zellen im Endometriumkarzinom und deren Prognose für das Überleben

Insbesondere in fortgeschrittenen Stadien des Endometriumkarzinoms gewinnen Immuntherapien, beispielsweise mit Pembrolizumab, zunehmend an Bedeutung [14]. Ein Bestandteil der TME sind regulatorische T-Zellen [78, 80]. Diese CD4⁺CD25⁺-Lymphozyten supprimieren die Proliferation von Effektor-T-Zellen und die proinflammatorische Zytokinproduktion [83, 117]. Während regulatorische T-Zellen im gesunden Gewebe vor einer Autoimmunreaktion schützen [82], können sie in der TME zu Immunevasion und insgesamt schlechteren Überlebensraten führen [83, 84]. Als Marker für regulatorische T-Zellen dient FoxP3, wobei im Endometriumkarzinom einige Daten bereits auf eine Korrelation zwischen FoxP3 und Überlebensraten hindeuten [99]. Ziel der Studie war es,

regulatorische T-Zellen im Endometriumkarzinom genauer immunhistochemisch mittels FoxP3 sowie in der Zellkultur zu untersuchen.

Proben von 275 Patientinnen mit Endometriumkarzinom wurden eingeschlossen, zusätzlich ein Kontrollkollektiv mit 28 gesunden Endometrium-Proben. Es folgte zunächst eine immunhistochemische Färbung der gewonnenen TMAs für FoxP3. Die Auswertung erfolgte mittels IRS (siehe oben), zusätzlich wurden FoxP3 positive Zellen pro Gesichtsfeld gezählt. Zur Charakterisierung der FoxP3 positiven Zellen wurde im Anschluss eine Immunfluoreszenz-Doppelfärbung mit zusätzlich Anti-CD3-Antikörper und Anti-CCR4-Antikörper durchgeführt.

Im gesunden Gewebe waren kaum FoxP3 positive Zellen nachzuweisen. In den Tumorproben zeigte sich eine nukleäre FoxP3 Expression der Stroma-infiltrierenden Lymphozyten, die sowohl nach Doppelfärbung mit CD4 als regulatorische T-Zellen identifiziert wurden [89-91]. FoxP3 positive Zellen waren signifikant vermehrt in G2/G3 Tumoren ($p < 0.001$). Proben mit frühen sowie weit fortgeschrittene Tumorstadien (pT1, FIGO I und pT4, FIGO IV) zeigten eine erniedrigte FoxP3 Expression im Vergleich zu FIGO II/III bzw pT2/4. Eine hohe Anzahl FoxP3 positiver Zellen korrelierte mit schlechteren Gesamtüberlebensraten ($p = 0.013$).

Aus humanen PBMC wurden regulatorische T-Zellen ($CD4^+CD25^+CD127^{dim/-}$ cells) gewonnen und mit humanen Endometriumkarzinomzelllinie RL95-2 sowie Ishikawa kultiviert. Dabei stieg der Anteil an $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Treg unter den PBMC signifikant nach einer Ko-Kultur über 72h an. Um die Wirkung regulatorischer T-Zellen auf die Tumorzellen in vitro zu untersuchen, wurden verschiedene Funktionsassays nach Ko-Kultur von Treg und Endometriumkarzinomzelllinien (RL95-2 sowie Ishikawa) durchgeführt: es zeigte sich eine erhöhte Migrations- sowie Invasionsfähigkeit der Tumorzellen, die Viabilität stieg ebenfalls signifikant an. Die Apoptoserate, ermittelt über Caspase 3/7 Elisa, blieb unverändert. Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass eine erhöhte Infiltration von regulatorischen T-Zellen mit einem hohen Grading und signifikant schlechteren Gesamtüberlebensraten einherging. Nach Ko-Kultur mit $CD4^+CD25^+CD127^{dim}$ führten erhöhte Konzentrationen regulatorischer T-Zellen zu gesteigerter Migrations- und Invasionsfähigkeit sowie gesteigerter Viabilität der Tumorzellen. Im Gegensatz dazu waren in gesundem Endometrium kaum regulatorische T-Zellen zu finden.

Für ein besseres Verständnis der Rekrutierung regulatorischer T-Zellen muss die Interaktion mit den daran beteiligten Chemokinen, wie zum Beispiel CCL22 und CCL1, genauer untersucht werden [118, 119].

Cellular Oncology (2022) 45:1171–1185
<https://doi.org/10.1007/s13402-022-00708-2>

ORIGINAL ARTICLE



Presence of regulatory T-cells in endometrial cancer predicts poorer overall survival and promotes progression of tumor cells

Thomas Kolben¹ · Mareike Mannewitz¹ · Carolin Perleberg² · Konstantin Schnell² · David Anz² · Laura Hahn¹ · Sarah Meister¹ · Elisa Schmoeckel³ · Alexander Burges¹ · Bastian Czogalla¹ · Anna Hester¹ · Sven Mahner¹ · Mirjana Kessler¹ · Udo Jeschke^{1,4} · Stefanie Corradini⁵ · Fabian Trillsch¹ · Susanne Beyer¹

Accepted: 17 August 2022 / Published online: 13 September 2022
© The Author(s) 2022

Abstract

Purpose Endometrial cancer (EC) is one of the most common gynaecologic malignancies. Tumor infiltrating regulatory T-cells (Treg) have been reported to have a prognostic impact in many malignancies. Immunotherapeutic strategies are gaining interest for advanced and recurrent EC cases, where treatment options are rare. Our study was aimed at determining the value of Treg in EC progression.

Methods EC specimens from 275 patients and 28 controls were screened immunohistochemically for the presence of Treg represented by FoxP3. Correlations with clinicopathological and survival parameters were performed. Functional assays were performed using EC cell lines Ishikawa + and RL95-2 after co-culturing with isolated CD4 + CD25 + CD127dim Treg. To assess the influence of EC on the composition of peripheral blood mononuclear cells (PBMC), flow cytometric analyses were performed.

Results We found that an increased infiltration of Treg was associated with high grades and a reduced overall survival. Treg were almost absent in endometrium tissues from healthy control patients. Co-culture of tumor cells with CD4 + CD25 + CD127dim Treg led to functional changes: enhanced invasion, migration and viability indicated that increased levels of Treg in the tumor microenvironment may promote tumor growth. Furthermore, we found that the presence of EC cells led to phenotypic changes in PBMC, showing significantly increased levels of CD25 and FoxP3.

Conclusion Our results indicate that the presence of Treg in the EC tumor environment is associated with a poorer outcome. A remarkable impact of Treg on tumor cell behaviour and vice versa of tumor cells on PBMC subpopulations support this notion mechanistically. Our findings provide a basis for focusing on Treg as potential future therapeutic targets in EC.

4. Zusammenfassung und Ausblick

Das Endometriumkarzinom ist in Deutschland das häufigste Genitalkarzinom der Frau und weltweit die sechst häufigste maligne Erkrankung der Frau. Zu den bekannten Risikofaktoren gehören neben Adipositas und Diabetes weitere Faktoren, die schlussendlich zu einer erhöhten Exposition des Endometriums gegenüber Östrogen führen. Bedingt durch den westlichen Lebensstil und der damit einhergehenden steigenden Inzidenz rückt die Erkrankung zunehmend in den Fokus. In den letzten Jahren wurde die klassische Einteilung in einen Östrogen-abhängigen und Östrogenunabhängigen Typ zugunsten der Molekularen Subtypisierung verlassen. Hierbei werden die Faktoren Mismatch repair (MMR)-Defizienz, Polymerase ϵ (POLE)- Mutation, sowie die p53-Mutation berücksichtigt und es erfolgt eine risikoadaptierte Eingruppierung. Während das 5-Jahres-Überleben im Frühstadium (FIGO I) bei 95% liegt, sinkt es auf 17% bei fortgeschrittener (FIGO III-IV) beziehungsweise rezidivierender Erkrankung. Auf Basis von Untersuchungen, die das Tumor-Mikroenvironment und weitere immunologische Faktoren berücksichtigten, konnten neue Therapiekonzepte etabliert werden. Ein bekannter Vertreter ist der Immuncheckpointinhibitor Pembrolizumab, ein PD-1-Inhibitor. So konnte in fortgeschrittenen Erkrankungsstadien das Überleben verbessert werden, dennoch bleiben bei Versagen dieser Therapie die therapeutischen Optionen limitiert. Basierend auf der zunehmenden Bedeutung molekularer Marker sowie immunologischer Mechanismen und der steigenden Inzidenz, war es das Ziel dieser kumulativen Habilitationsarbeit, molekularbiologische Faktoren im Endometriumkarzinom zu untersuchen. Hieraus sollten Erkenntnisse über Korrelationen zu histopathologischen Merkmalen sowie die Prognose (Gesamt-und progressionsfreies Überleben) gewonnen werden. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse können in Zukunft als Grundlage für weitere Forschung zur Etablierung neuer therapeutischer Ansätze dienen.

Aufgrund des Einflusses von Adipositas und Diabetes auf das Endometriumkarzinom wurde zunächst die Expression der Histondeacetylase Sirt-1 im Endometriumkarzinom immunhistochemisch untersucht. Sie ist sowohl in den Zucker- und Fett-Stoffwechsel involviert als auch in die Tumorphathogenese über epigenetische Mechanismen [25, 26], wie beispielsweise die Deacetylierung des Treg-Markers FoxP3 [27]. Dabei wird kontrovers diskutiert, ob Sirt-1 als Tumorsuppressor oder Tumorpromotor fungiert. Die Rolle der Sirt-1 Expression scheint abhängig von der genauen Tumorentität zu sein. Es wurde eine

Korrelation zwischen erhöhter Sirt-1 Expression und verbessertem PFS sowie zu den Tumorsuppressorgenen ARID1A und β -Catenin. Dies lässt die Vermutung zu, dass Sirt-1 Expression im Endometriumkarzinom als Tumorsuppressor wirkt, wenngleich die zugrundeliegenden Mechanismen noch nicht verstanden sind.

Neben Sirt-1 als epigenetischen Modulator wurden im Weiteren die Glykokonjugate der Sialyl-Lewis-Gruppe als Zelloberflächenmerkmale untersucht: ihnen wird eine Beteiligung an Prozessen der Zelladhäsion, Signaltransduktion sowie an der Regulation des Immunsystems zugeschrieben. Lewis Antigene (SLeX, SLeA, LeY) sind in verschiedenen Tumorzellen überexprimiert. In Anbetracht der neuen immunologischen Therapieoptionen können Lewis-Antigene vor dem Hintergrund der Beteiligung an der Regulation des Immunsystems ein interessantes Target sein. Die LeY Expression korrelierte mit einem niedrigem Grading sowie positivem Lymphknoten Status und stellte sich als unabhängiger Marker für ein verschlechtertes PFS heraus. Eine vermehrte Invasion sowie Metastasierung bei hoher LeY Expression wurde an anderen Tumorentitäten bereits gezeigt [105]. Eine erhöhte Expression von SLeA korrelierte mit niedrigem Tumorstadium (pT), niedrigem Grading und besserem PFS. Ähnliche Untersuchungsergebnisse wurden für die Expression von SLeX festgestellt (pT, FIGO, Grading), wobei hier die Expression mit dem OS korrelierte. Als zugrunde liegender Mechanismus wird eine verbesserte Immunantwort gegenüber dem Tumor vermutet [55].

Ebenfalls an der Immunantwort beteiligt ist der Nukleinsäure-Rezeptor RIG-I: über Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B und einer Hoch-Regulation pro-inflammatorischer Gene kommt zu einem tumorsuppressivem Effekt [66, 67]. RIG-I kann über verschiedene Mechanismen jedoch auch zu einer Therapieresistenz und schließlich zunehmenden Metastasierung führen [75]. Seine Expression wird reguliert durch den alternativen Splicing-Faktor EFTUD2. Eine erhöhte EFTUD2 Expression ging mit signifikant verschlechtertem Outcome einher. Nach immunhistochemischer Färbung für RIG-I zeigte sich eine Korrelation zu erhöhtem FIGO- und pT-Stadium, hohem Grading und signifikant verschlechtertem Gesamtüberleben. Es wird diskutiert, dass die tumorsuppressive Wirkung von RIG-I durch ein immun-escape-Phänomen im Tumor-Mikroenvironment neutralisiert wird [113].

Sowohl RIG-I, als auch Lewis-Antigene und Sirtuin-1 scheinen in Interaktion mit dem TME zu treten. Ein Bestandteil davon sind Treg: während sie im gesunden Individuum vor Autoimmunerkrankungen schützen, führen sie bei Karzinomerkrankungen zum Phänomen

des Immune escape [82-84]. Nach Färbung der Proben mit dem Treg-Marker FoxP3 zeigte sich einerseits eine signifikant höhere FoxP3 Expression im Tumorgewebe im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Andererseits war eine erhöhte FoxP3-Expression ein negativer prognostischer Faktor für das OS. Um den Interaktionsmechanismus zwischen Endometriumkarzinomzelle und regulatorischen T-Zellen im Endometriumkarzinom genauer zu untersuchen, wurden aus humanen PBMC regulatorische T-Zellen (CD4⁺CD25⁺CD127dim/-cells) isoliert und mit Endometriumkarzinomzellen ko-kultiviert. In Funktionsassays konnte eine erhöhte Migrations- und Invasionsfähigkeit der Tumorzellen sowie eine vermehrte Viabilität gezeigt werden. Unterschiede in der Apoptoserate waren nicht zu detektieren. Außerdem stieg der Anteil an Treg im PBMC-Pool nach Ko-Kultur mit Endometriumkarzinomzellen. Insgesamt lässt sich zusammenfassen, dass nach Ko-Kultur mit Tumorzellen es zu einer vermehrten Rekrutierung von Treg kommt und diese das Tumorverhalten negativ beeinflussen.

Die Expression der in dieser Habilitationsarbeit untersuchten Marker Sirt-1, SLeX, SLeA, LeY, RIG-I, EFTUD-2 und FoxP3 korrelierten signifikant mit dem Überleben der Patientinnen. In Funktionstest konnte außerdem der negative Effekt von regulatorischen T-Zellen auf das Tumorverhalten gezeigt werden. Die dargestellten Ergebnisse sollen als Grundlage für weitere Arbeiten dienen, um den zugrundeliegenden Mechanismus der Korrelationen zu untersuchen. Aktuell erfolgen dazu in unserem Forschungslabor bereits Untersuchungen in Hinblick auf RIG-I sowie die Interaktion zwischen CCL-22 und Treg. Auf deren Basis und unter Hinzunahme neuer wissenschaftlicher Methoden kann in Zukunft die Entwicklung neuer therapeutischer Strategien im Endometriumkarzinom angestrebt werden. Insbesondere vor dem Hintergrund einer individualisierten Medizin und der Notwendigkeit weiterer therapeutischer Mechanismen im fortgeschrittenen Endometriumkarzinom dienen mir die Ergebnisse dieser Habilitationsarbeit als Motivation für meine weitere wissenschaftliche Arbeit.

5. Abkürzungsverzeichnis

FIGO	International Federation of Gynecology and Obstetrics
FoxP3	Forkhead-Box-Protein P3
IRS	Immunoreactive Score
LeY	Lewis Y
OS	Overall Survival / Gesamtüberleben
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell
PFS	Progression-free Survival / Progressions-freies Überleben
pN	Lymphknotenstatus
pT	Tumorgröße
RIG-I	Retinoic acid-inducible gene I
Sirt-1	Sirtuin-1
SLeA	Sialyl Lewis A
SLeX	Sialyl Lewis A
TMA	Tissue Microarray
TME	Tumor microenvironment
TNM	TNM-Stadium (Tumorgröße; Lymphknotenstatus; Fernmetastasierung)
Treg	Regulatorische T-Zellen

6. Literaturverzeichnis

1. IARC, *International Agency for research on cancer. WHO. Estimated number of new cases in 2020, corpus uteri, female, all ages.* 2020.
2. RKI, *Robert-Koch-Institut. Zentrum für Krebsregisterdaten. Cancer in Germany.* 2021.
3. AGO, *AGO Leitlinie: S3 Leitlinie Endometriumkarzinom. Langversion 2-0. September 2022.* 2022.
4. Braun, M.M., E.A. Overbeek-Wager, and R.J. Grumbo, *Diagnosis and Management of Endometrial Cancer.* Am Fam Physician, 2016. **93**(6): p. 468-74.
5. Gruber, S.B. and W.D. Thompson, *A population-based study of endometrial cancer and familial risk in younger women.* Cancer and Steroid Hormone Study Group. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1996. **5**(6): p. 411-7.
6. Clarke, M.A., et al., *Association of Endometrial Cancer Risk With Postmenopausal Bleeding in Women: A Systematic Review and Meta-analysis.* JAMA Intern Med, 2018. **178**(9): p. 1210-1222.
7. Bray, F., et al., *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries.* CA Cancer J Clin, 2018. **68**(6): p. 394-424.
8. Siegel, R.L., et al., *Cancer Statistics, 2021.* CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2021. **71**(1): p. 7-33.
9. Hong, J.H., et al., *Genomic landscape of advanced endometrial cancer analyzed by targeted next-generation sequencing and the cancer genome atlas (TCGA) dataset.* J Gynecol Oncol, 2022.
10. Huijgens, A.N. and H.J. Mertens, *Factors predicting recurrent endometrial cancer.* Facts Views Vis Obgyn, 2013. **5**(3): p. 179-86.
11. Colombo, N., et al., *ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: Diagnosis, Treatment and Follow-up.* Int J Gynecol Cancer, 2016. **26**(1): p. 2-30.
12. Legge, F., et al., *Clinical outcome of recurrent endometrial cancer: analysis of post-relapse survival by pattern of recurrence and secondary treatment.* Int J Gynecol Cancer, 2020. **30**(2): p. 193-200.
13. Arend, R.C., et al., *Endometrial cancer: Molecular markers and management of advanced stage disease.* Gynecol Oncol, 2018. **150**(3): p. 569-580.
14. Ott, P.A., et al., *Safety and Antitumor Activity of Pembrolizumab in Advanced Programmed Death Ligand 1-Positive Endometrial Cancer: Results From the KEYNOTE-028 Study.* J Clin Oncol, 2017. **35**(22): p. 2535-2541.
15. Arora, S., et al., *FDA Approval Summary: Pembrolizumab plus Lenvatinib for Endometrial Carcinoma, a Collaborative International Review under Project Orbis.* Clin Cancer Res, 2020. **26**(19): p. 5062-5067.
16. Chen, P., et al., *Identification of prognostic immune-related genes in the tumor microenvironment of endometrial cancer.* Aging (Albany NY), 2020. **12**(4): p. 3371-3387.
17. Ding, H., et al., *Prognostic Implications of Immune-Related Genes' (IRGs) Signature Models in Cervical Cancer and Endometrial Cancer.* Front Genet, 2020. **11**: p. 725.
18. Bokhman, J.V., *Two pathogenetic types of endometrial carcinoma.* Gynecol Oncol, 1983. **15**(1): p. 10-7.
19. Brinton, L.A., et al., *Etiologic heterogeneity in endometrial cancer: evidence from a Gynecologic Oncology Group trial.* Gynecol Oncol, 2013. **129**(2): p. 277-84.
20. Zannoni, G.F., et al., *Does high-grade endometrioid carcinoma (grade 3 FIGO) belong to type I or type II endometrial cancer? A clinical-pathological and immunohistochemical study.* Virchows Arch, 2010. **457**(1): p. 27-34.
21. Kandath, C., et al., *Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma.* Nature, 2013. **497**(7447): p. 67-73.
22. Kommos, S., et al., *Final validation of the ProMisE molecular classifier for endometrial carcinoma in a large population-based case series.* Ann Oncol, 2018. **29**(5): p. 1180-1188.
23. Concin, N., et al., *ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma.* Int J Gynecol Cancer, 2021. **31**(1): p. 12-39.
24. Brunet, A., et al., *Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase.* Science, 2004. **303**(5666): p. 2011-5.
25. Vaquero, A., et al., *Human SirT1 interacts with histone H1 and promotes formation of facultative heterochromatin.* Mol Cell, 2004. **16**(1): p. 93-105.
26. Lavu, S., et al., *Sirtuins--novel therapeutic targets to treat age-associated diseases.* Nat Rev Drug Discov, 2008. **7**(10): p. 841-53.
27. Chadha, S., et al., *Sirtuin-1 in immunotherapy: A Janus-headed target.* J Leukoc Biol, 2019. **106**(2): p. 337-343.
28. Lin, Z. and D. Fang, *The Roles of SIRT1 in Cancer.* Genes Cancer, 2013. **4**(3-4): p. 97-104.
29. Chen, Y., et al., *Prognostic and clinicopathological significance of SIRT1 expression in NSCLC: a meta-analysis.* Oncotarget, 2017. **8**(37): p. 62537-62544.
30. Jang, K.Y., et al., *SIRT1 expression is associated with poor prognosis of diffuse large B-cell lymphoma.* Am J Surg Pathol, 2008. **32**(10): p. 1523-31.

31. Noh, S.J., et al., *Expression of SIRT1 and cortactin is associated with progression of non-small cell lung cancer*. Pathol Res Pract, 2013. **209**(6): p. 365-70.
32. Noh, S.J., et al., *Acetylation status of P53 and the expression of DBC1, SIRT1, and androgen receptor are associated with survival in clear cell renal cell carcinoma patients*. Pathology, 2013. **45**(6): p. 574-80.
33. Wang, J. and C. Wang, *Prognostic and Predictive Role of Sirtuin1 Expression in Lung Adenocarcinoma*. Clin Lab, 2016. **62**(10): p. 1989-1994.
34. Batra, A., et al., *Sirtuin1 Expression and Correlation with Histopathological Features in Retinoblastoma*. Ocul Oncol Pathol, 2015. **2**(2): p. 86-90.
35. Xia, X. and X. Zhou, *Knockdown of SIRT1 inhibits proliferation and promotes apoptosis of paclitaxel-resistant human cervical cancer cells*. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2018. **64**(6): p. 36-41.
36. Teramae, M., et al., *Sirtuin1 expression predicts the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for locally advanced uterine cervical cancer*. Mol Clin Oncol, 2015. **3**(1): p. 73-78.
37. Mvunta, D.H., et al., *Overexpression of SIRT1 is Associated With Poor Outcomes in Patients With Ovarian Carcinoma*. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2017. **25**(6): p. 415-421.
38. Jang, K.Y., et al., *Expression and prognostic significance of SIRT1 in ovarian epithelial tumours*. Pathology, 2009. **41**(4): p. 366-71.
39. De, U., et al., *A New Synthetic Histone Deacetylase Inhibitor, MHY2256, Induces Apoptosis and Autophagy Cell Death in Endometrial Cancer Cells via p53 Acetylation*. Int J Mol Sci, 2018. **19**(9).
40. Asaka, R., et al., *Sirtuin 1 promotes the growth and cisplatin resistance of endometrial carcinoma cells: a novel therapeutic target*. Lab Invest, 2015. **95**(12): p. 1363-73.
41. Deus, C.M., et al., *Sirtuin 1-dependent resveratrol cytotoxicity and pro-differentiation activity on breast cancer cells*. Archives of Toxicology, 2017. **91**(3): p. 1261-1278.
42. Liu, J., et al., *Lewis(y) antigen-mediated positive feedback loop induces and promotes chemotherapeutic resistance in ovarian cancer*. Int J Oncol, 2018. **53**(4): p. 1774-1786.
43. Ugorski, M. and A. Laskowska, *Sialyl Lewis(a): a tumor-associated carbohydrate antigen involved in adhesion and metastatic potential of cancer cells*. Acta Biochim Pol, 2002. **49**(2): p. 303-11.
44. Phillips, M.L., et al., *ELAM-1 mediates cell adhesion by recognition of a carbohydrate ligand, sialyl-Lex*. Science, 1990. **250**(4984): p. 1130-2.
45. Crucho, C.I., et al., *Recent progress in the field of glycoconjugates*. Carbohydr Res, 2015. **402**: p. 124-32.
46. Liu, J., et al., *Co-expression of Lewis y antigen and CD147 in epithelial ovarian cancer is correlated with malignant progression and poor prognosis*. Int J Mol Med, 2019. **43**(4): p. 1687-1698.
47. Lin, Y., et al., *Blood group antigens and normal red blood cell physiology: a Canadian blood services research and development symposium*. Transfus Med Rev, 2009. **23**(4): p. 292-309.
48. Trinchera, M., A. Aronica, and F. Dall'Olio, *Selectin Ligands Sialyl-Lewis a and Sialyl-Lewis x in Gastrointestinal Cancers*. Biology (Basel), 2017. **6**(1).
49. Iwanari, O., et al., *Clinical evaluations of the tumor marker sialyl SSEA-1 antigen for clinical gynecological disease*. Gynecol Obstet Invest, 1990. **29**(3): p. 214-8.
50. Madjd, Z., et al., *High expression of Lewis y/b antigens is associated with decreased survival in lymph node negative breast carcinomas*. Breast Cancer Res, 2005. **7**(5): p. R780-7.
51. Okuno, K., et al., *Role of sialyl Lewis X in liver metastasis in view of liver-associated immunity*. Hepatogastroenterology, 2003. **50**(51): p. 756-60.
52. Shah, M.H., et al., *E-Cadherin truncation and sialyl Lewis-X overexpression in oral squamous cell carcinoma and oral precancerous conditions*. Neoplasma, 2009. **56**(1): p. 40-7.
53. Jin, F. and F. Wang, *The physiological and pathological roles and applications of sialyl Lewis x, a common carbohydrate ligand of the three selectins*. Glycoconj J, 2020. **37**(2): p. 277-291.
54. Jeschke, U., et al., *Expression of sialyl lewis X, sialyl Lewis A, E-cadherin and cathepsin-D in human breast cancer: immunohistochemical analysis in mammary carcinoma in situ, invasive carcinomas and their lymph node metastasis*. Anticancer Res, 2005. **25**(3a): p. 1615-22.
55. Taga, M., et al., *A potential role for 6-sulfo sialyl Lewis X in metastasis of bladder urothelial carcinoma*. Urol Oncol, 2015. **33**(11): p. 496.e1-9.
56. Ohyama, C., et al., *Natural killer cells attack tumor cells expressing high levels of sialyl Lewis x oligosaccharides*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(21): p. 13789-94.
57. Kannagi, R., *Molecular mechanism for cancer-associated induction of sialyl Lewis X and sialyl Lewis A expression-The Warburg effect revisited*. Glycoconj J, 2004. **20**(5): p. 353-64.
58. Kannagi, R., *Carbohydrate antigen sialyl Lewis a--its pathophysiological significance and induction mechanism in cancer progression*. Chang Gung Med J, 2007. **30**(3): p. 189-209.
59. Tozawa, K., et al., *Positive correlation between sialyl Lewis X expression and pathologic findings in renal cell carcinoma*. Kidney Int, 2005. **67**(4): p. 1391-6.

60. Arai, Y. and M. Nishida, *Differential diagnosis between normal endometrium and endometrial hyperplasia with immunostaining cytology using anti-LeY monoclonal antibody*. Int J Gynecol Cancer, 2003. **13**(1): p. 42-6.
61. Baldus, S.E., et al., *Lewis(y) antigen (CD174) and apoptosis in gastric and colorectal carcinomas: correlations with clinical and prognostic parameters*. Histol Histopathol, 2006. **21**(5): p. 503-10.
62. DeLisser, H.M., et al., *Loss of endothelial surface expression of E-selectin in a patient with recurrent infections*. Blood, 1999. **94**(3): p. 884-94.
63. Wicherska-Pawłowska, K., T. Wróbel, and J. Rybka, *Toll-Like Receptors (TLRs), NOD-Like Receptors (NLRs), and RIG-I-Like Receptors (RLRs) in Innate Immunity. TLRs, NLRs, and RLRs Ligands as Immunotherapeutic Agents for Hematopoietic Diseases*. Int J Mol Sci, 2021. **22**(24).
64. Onoguchi, K., M. Yoneyama, and T. Fujita, *Retinoic acid-inducible gene-I-like receptors*. J Interferon Cytokine Res, 2011. **31**(1): p. 27-31.
65. Quicke, K.M., M.S. Diamond, and M.S. Suthar, *Negative regulators of the RIG-I-like receptor signaling pathway*. Eur J Immunol, 2017. **47**(4): p. 615-628.
66. Elion, D.L. and R.S. Cook, *Harnessing RIG-I and intrinsic immunity in the tumor microenvironment for therapeutic cancer treatment*. Oncotarget, 2018. **9**(48): p. 29007-29017.
67. Rameshbabu, S., et al., *Targeting Innate Immunity in Cancer Therapy*. Vaccines (Basel), 2021. **9**(2).
68. Zhu, C., et al., *EFTUD2 Is a Novel Innate Immune Regulator Restricting Hepatitis C Virus Infection through the RIG-I/MDA5 Pathway*. Journal of Virology, 2015. **89**(13): p. 6608-6618.
69. Lines, M.A., et al., *Haploinsufficiency of a spliceosomal GTPase encoded by EFTUD2 causes mandibulofacial dysostosis with microcephaly*. Am J Hum Genet, 2012. **90**(2): p. 369-77.
70. Asghar, U. and T. Meyer, *Are there opportunities for chemotherapy in the treatment of hepatocellular cancer?* Journal of Hepatology, 2012. **56**(3): p. 686-695.
71. Lv, Z., et al., *Spliceosome protein Eftud2 promotes colitis-associated tumorigenesis by modulating inflammatory response of macrophage*. Mucosal Immunol, 2019. **12**(5): p. 1164-1173.
72. Stok, J.E., M.E. Vega Quiroz, and A.G. van der Veen, *Self RNA Sensing by RIG-I-like Receptors in Viral Infection and Sterile Inflammation*. J Immunol, 2020. **205**(4): p. 883-891.
73. Breiman, A., et al., *Inhibition of RIG-I-dependent signaling to the interferon pathway during hepatitis C virus expression and restoration of signaling by IKKepsilon*. J Virol, 2005. **79**(7): p. 3969-78.
74. Kübler, K., et al., *Targeted activation of RNA helicase retinoic acid-inducible gene-I induces proimmunogenic apoptosis of human ovarian cancer cells*. Cancer Res, 2010. **70**(13): p. 5293-304.
75. Elion, D.L., et al., *Therapeutically Active RIG-I Agonist Induces Immunogenic Tumor Cell Killing in Breast Cancers*. Cancer Res, 2018. **78**(21): p. 6183-6195.
76. Boelens, M.C., et al., *Exosome transfer from stromal to breast cancer cells regulates therapy resistance pathways*. Cell, 2014. **159**(3): p. 499-513.
77. Nabet, B.Y., et al., *Exosome RNA Unshielding Couples Stromal Activation to Pattern Recognition Receptor Signaling in Cancer*. Cell, 2017. **170**(2): p. 352-366.e13.
78. Pakish, J.B., et al., *Immune Microenvironment in Microsatellite-Unstable Endometrial Cancers: Hereditary or Sporadic Origin Matters*. Clin Cancer Res, 2017. **23**(15): p. 4473-4481.
79. Hinshaw, D.C. and L.A. Shevde, *The Tumor Microenvironment Innately Modulates Cancer Progression*. Cancer Res, 2019. **79**(18): p. 4557-4566.
80. Thornton, A.M. and E.M. Shevach, *CD4+CD25+ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation in vitro by inhibiting interleukin 2 production*. J Exp Med, 1998. **188**(2): p. 287-96.
81. Sakaguchi, S., et al., *Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases*. J Immunol, 1995. **155**(3): p. 1151-64.
82. Shimizu, J., S. Yamazaki, and S. Sakaguchi, *Induction of tumor immunity by removing CD25+CD4+ T cells: a common basis between tumor immunity and autoimmunity*. J Immunol, 1999. **163**(10): p. 5211-8.
83. Ormandy, L.A., et al., *Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma*. Cancer Res, 2005. **65**(6): p. 2457-64.
84. Takenaka, M., et al., *FOXP3 expression in tumor cells and tumor-infiltrating lymphocytes is associated with breast cancer prognosis*. Mol Clin Oncol, 2013. **1**(4): p. 625-632.
85. Charbonnier, L.M., et al., *Functional reprogramming of regulatory T cells in the absence of Foxp3*. Nat Immunol, 2019. **20**(9): p. 1208-1219.
86. Viguier, M., et al., *Foxp3 expressing CD4+CD25(high) regulatory T cells are overrepresented in human metastatic melanoma lymph nodes and inhibit the function of infiltrating T cells*. J Immunol, 2004. **173**(2): p. 1444-53.
87. Roncador, G., et al., *Analysis of FOXP3 protein expression in human CD4+CD25+ regulatory T cells at the single-cell level*. Eur J Immunol, 2005. **35**(6): p. 1681-91.
88. Wolf, D., et al., *Treg(s) in Cancer: Friends or Foe?* J Cell Physiol, 2015. **230**(11): p. 2598-605.

89. Saito, T., et al., *Two FOXP3(+)/CD4(+) T cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers*. Nat Med, 2016. **22**(6): p. 679-84.
90. Sugiyama, D., et al., *Anti-CCR4 mAb selectively depletes effector-type FoxP3+CD4+ regulatory T cells, evoking antitumor immune responses in humans*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013. **110**(44): p. 17945-50.
91. Ishida, T. and R. Ueda, *CCR4 as a novel molecular target for immunotherapy of cancer*. Cancer Sci, 2006. **97**(11): p. 1139-46.
92. Curiel, T.J., et al., *Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival*. Nat Med, 2004. **10**(9): p. 942-9.
93. Kono, K., et al., *CD4(+)/CD25^{high} regulatory T cells increase with tumor stage in patients with gastric and esophageal cancers*. Cancer Immunol Immunother, 2006. **55**(9): p. 1064-71.
94. Schaefer, C., et al., *Characteristics of CD4+CD25+ regulatory T cells in the peripheral circulation of patients with head and neck cancer*. Br J Cancer, 2005. **92**(5): p. 913-20.
95. Ke, X. and L. Shen, *Targeting cytokines secreted by CD4(+) CD25^{high} CD127^{low} regulatory T cells inhibits ovarian cancer progression*. Scand J Immunol, 2019. **89**(2): p. e12736.
96. Zhu, Q., et al., *Interaction between Treg cells and tumor-associated macrophages in the tumor microenvironment of epithelial ovarian cancer*. Oncol Rep, 2016. **36**(6): p. 3472-3478.
97. Douglass, S., et al., *Breast cancer metastasis: demonstration that FOXP3 regulates CXCR4 expression and the response to CXCL12*. J Pathol, 2014. **234**(1): p. 74-85.
98. Jia, H., et al., *The expression of FOXP3 and its role in human cancers*. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2019. **1871**(1): p. 170-178.
99. Xi, Z., et al., *Evaluation of PTEN and CD4+FOXP3+ T cell expressions as diagnostic and predictive factors in endometrial cancer: A case control study*. Medicine (Baltimore), 2019. **98**(30): p. e16345.
100. Asaka, S., et al., *T cell-inflamed phenotype and increased Foxp3 expression in infiltrating T-cells of mismatch-repair deficient endometrial cancers*. Mod Pathol, 2019. **32**(4): p. 576-584.
101. de Jong, R.A., et al., *Presence of tumor-infiltrating lymphocytes is an independent prognostic factor in type I and II endometrial cancer*. Gynecologic Oncology, 2009. **114**(1): p. 105-110.
102. Remmele, W., et al., *Comparative histological, histochemical, immunohistochemical and biochemical studies on oestrogen receptors, lectin receptors, and Barr bodies in human breast cancer*. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol, 1986. **409**(2): p. 127-47.
103. Tsukazaki, K., et al., *Abnormal expression of blood group-related antigens in uterine endometrial cancers*. Jpn J Cancer Res, 1991. **82**(8): p. 934-41.
104. Inoue, M., et al., *Expression of blood group antigens A, B, H, Lewis-a, and Lewis-b in fetal, normal, and malignant tissues of the uterine endometrium*. Cancer, 1987. **60**(12): p. 2985-93.
105. Liu, J., et al., *Lewis y antigen promotes the proliferation of ovarian carcinoma-derived RMG-1 cells through the PI3K/Akt signaling pathway*. J Exp Clin Cancer Res, 2009. **28**(1): p. 154.
106. Iwamori, M., et al., *Alterations in the glycolipid composition and cellular properties of ovarian carcinoma-derived RMG-1 cells on transfection of the alpha1,2-fucosyltransferase gene*. Cancer Sci, 2005. **96**(1): p. 26-30.
107. Yan, L.M., et al., *Enhancement of the adhesive and spreading potentials of ovarian carcinoma RMG-1 cells due to increased expression of integrin alpha5beta1 with the Lewis Y-structure on transfection of the alpha1,2-fucosyltransferase gene*. Biochimie, 2010. **92**(7): p. 852-7.
108. Horvath, L., et al., *Overcoming immunotherapy resistance in non-small cell lung cancer (NSCLC) - novel approaches and future outlook*. Mol Cancer, 2020. **19**(1): p. 141.
109. Tu, M., et al., *EFTUD2 maintains the survival of tumor cells and promotes hepatocellular carcinoma progression via the activation of STAT3*. Cell Death Dis, 2020. **11**(10): p. 830.
110. Lv, C., et al., *Over-activation of EFTUD2 correlates with tumor propagation and poor survival outcomes in hepatocellular carcinoma*. Clin Transl Oncol, 2021.
111. Ellermeier, J., et al., *Therapeutic efficacy of bifunctional siRNA combining TGF-β1 silencing with RIG-I activation in pancreatic cancer*. Cancer Res, 2013. **73**(6): p. 1709-20.
112. Poeck, H., et al., *5'-Triphosphate-siRNA: turning gene silencing and Rig-I activation against melanoma*. Nat Med, 2008. **14**(11): p. 1256-63.
113. Wolf, D., et al., *High RIG-I expression in ovarian cancer associates with an immune-escape signature and poor clinical outcome*. Int J Cancer, 2020. **146**(7): p. 2007-2018.
114. Zhang, T., et al., *PD-L1 Expression in Endometrial Serous Carcinoma and Its Prognostic Significance*. Cancer Manag Res, 2021. **13**: p. 9157-9165.
115. Wieser, V., et al., *BRCA1/2 and TP53 mutation status associates with PD-1 and PD-L1 expression in ovarian cancer*. Oncotarget, 2018. **9**(25): p. 17501-17511.
116. de Jong, R.A., et al., *Presence of tumor-infiltrating lymphocytes is an independent prognostic factor in type I and II endometrial cancer*. Gynecol Oncol, 2009. **114**(1): p. 105-10.

117. Liyanage, U.K., et al., *Prevalence of Regulatory T Cells Is Increased in Peripheral Blood and Tumor Microenvironment of Patients with Pancreas or Breast Adenocarcinoma*. *The Journal of Immunology*, 2002. **169**(5): p. 2756-2761.
118. Wiedemann, G.M., et al., *Peritumoural CCL1 and CCL22 expressing cells in hepatocellular carcinomas shape the tumour immune infiltrate*. *Pathology*, 2019. **51**(6): p. 586-592.
119. Zhang, N.N., et al., *Accumulation Mechanisms of CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) Regulatory T Cells in EBV-associated Gastric Carcinoma*. *Sci Rep*, 2015. **5**: p. 18057.

7. Übersicht über die eigenen Arbeiten

Sirtuin1 expression and survival in endometrial and clear-cell uterine cancer

Beyer S, Chen F, Meister S, Czogalla B, Kolben TM, Hester A, Burges A, Trillsch F, Schmöckel E, Mayr D, Mayerhofer A, Mahner S, Jeschke U, Kolben T. *Histochem Cell Biol.* 2020 Aug;154(2):189-195. doi: 10.1007/s00418-020-01873-x. Epub 2020 May 9. PMID: 32388637.

(IF 2020: 3.418)

Expression of H3K4me3 and H3K9ac in breast cancer

Berger L, Kolben T, Meister S, Kolben TM, Schmoeckel E, Mayr D, Mahner S, Jeschke U, Ditsch N, **Beyer S**.

J Cancer Res Clin Oncol. 2020 Aug;146(8):2017-2027. doi: 10.1007/s00432-020-03265-z. Epub 2020 May 28. PMID: 32468423.

(IF 2020: 4.553)

Late presentation at primary diagnosis of breast cancer: Patients' personality characteristics and attitudes

Kolben T & **Beyer S**, Ghasemi S, Hermelink K, Meister S, Degenhardt T, Himsl I, von Koch F, Kolben TM, Wuerstlein R, Mahner S, Harbeck N, Hester A

Breast Care; June 2020; DOI: 10.1159/000509597.

(IF 2020: 2.860)

The role of resveratrol, Sirtuin1 and RXR α as prognostic markers in ovarian cancer.

Chen F, Kolben T, Meister S, Czogalla B, Kolben TM, Hester A, Burges A, Trillsch F, Schmoeckel E, Mayr D, Mayerhofer A, Mahner S, Jeschke U, **Beyer S**.

Arch Gynecol Obstet. 2022 Jun;305(6):1559-1572. doi: 10.1007/s00404-021-06262-w. Epub 2021 Dec 6. PMID: 34870752; PMCID: PMC9166836.

(IF 2021: 2.344)

High RIG-I and EFTUD2 expression predicts poor survival in endometrial cancer

Beyer S, Müller L, Mitter S, Keilmann L, Meister S, Buschmann C, Kraus F, Topalov NE, Czogalla B, Trillsch F, Burges A, Mahner S, Schmoeckel E, Löb S, Corradini S, Kessler M, Jeschke U, Kolben T.

J Cancer Res Clin Oncol. 2022 Sep 7. doi: 10.1007/s00432-022-04271-z. Online ahead of print. PMID: 36068443

(IF 2021: 4.322)

Galectin-8 and -9 as prognostic factors for cervical cancer

Beyer S, Wehrmann M, Meister S, Kolben TM, Trillsch F, Burges A, Czogalla B, Schmoeckel E, Mahner S, Jeschke U, Kolben T.

Arch Gynecol Obstet. 2022 Oct;306(4):1211-1220. doi: 10.1007/s00404-022-06449-9. Epub 2022 Apr 4. PMID: 35377045.

(IF 2021: 2.344)

Blood group antigens SLeX, SLeA, and LeY as prognostic markers in endometrial cancer

Kolben T, Müller L, Meister S, Keilmann L, Buschmann C, Trillsch F, Burges A, Czogalla B, Mitter S, Schmoeckel E, Corradini S, Mahner S, Jeschke U, Kessler M, **Beyer S.**

J Cancer Res Clin Oncol. 2022 Dec;148(12):3323-3335. doi: 10.1007/s00432-022-04098-8.

Epub 2022 Jun 21.PMID: 35729354.

(IF 2021: 4.322)

Presence of regulatory T-cells in endometrial cancer predicts poorer overall survival and promotes progression of tumor cells

Kolben T, Mannewitz M, Perleberg C, Schnell K, Anz D, Hahn L, Meister S, Schmoeckel E, Burges A, Czogalla B, Hester A, Mahner S, Kessler M, Jeschke U, Corradini S, Trillsch F, **Beyer S.**

Cell Oncol (Dordr). 2022 Dec;45(6):1171-1185. doi: 10.1007/s13402-022-00708-2. Epub 2022 Sep 13.PMID: 36098901.

(IF 2021: 6.73)

8. Danksagung

Es ist mir ein sehr großes Anliegen, mich an dieser Stelle bei allen Menschen zu bedanken, die das Gelingen dieser Arbeit erst möglich gemacht haben: hierzu möchte ich an erster Stelle Herr Prof. Dr. med. Sven Mahner sowie Herr Prof. Dr. med. Thomas Kolben und Frau PD Dr. Stefanie Corradini nennen. Sie haben mir die Habilitation an der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der LMU ermöglicht und durch ihre kontinuierliche Begleitung und die Unterstützung sowie die vertrauensvolle Zusammenarbeit maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Herrn Prof. Dr. med. Fabian Trillsch danke ich für seinen wissenschaftlichen Input sowie für die Unterstützung meines akademischen Werdeganges.

Herrn Prof. Sven Mahner, Herrn Prof. Thomas Kolben sowie Prof. Fabian Trillsch möchte ich außerdem für die großartige Unterstützung in meiner beruflichen Laufbahn danken!

Ein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Udo Jeschke: Er begleitet meine wissenschaftliche Laufbahn bereits seit meiner Doktorarbeit und stand als Mentor über die gesamte Dauer der Forschungsarbeit zur Verfügung. Der Austausch hat mich stets motiviert und inspiriert. Meinen Kolleg*innen aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der LMU möchte ich an dieser Stelle für die gute Zusammenarbeit danken. Ebenso danke ich allen aktuellen und ehemaligen Mitarbeiter*innen des LMU Frauenkliniklabors, ohne deren Unterstützung dieses Projekt nicht möglich gewesen wäre. Den Doktorandinnen Maya Wehrmann, Mareike Mannewitz, Sophie Mitter und Lena Müller danke ich für ihren überaus engagierten Einsatz und die vertrauensvollen Zusammenarbeit bei der Umsetzung gemeinsamer Projekte. Allen Kooperationspartnern danke ich für die hervorragende und vertrauensvolle Zusammenarbeit im Rahmen meiner Forschungsprojekte. Hier sind insbesondere das Pathologische Institut der LMU München mit Frau Prof. Dr. med. Doris Mayr und Frau Dr. med. Elisa Schmoeckel sowie Frau Dr. Carolin Perleberg und Prof. David Anz aus der AG Immunoregulation zu nennen.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank meiner Familie und meinen Freunden, für ihren liebevollen Beistand, ihre Geduld und den immer währenden Zuspruch mit der sie mich durch diese Arbeit hindurch genauso wie in jeder Lebenslage unterstützen. Ein besonderer Dank gilt an dieser Stelle meinen Freundinnen und Kolleginnen Frau PD Dr. med. Sarah Meister sowie Frau Dr. med. Kathrin Heinrich für zahlreiche inspirierende fachliche Diskussionen und unermüdlichen Beistand sowie Unterstützung. Vielen Dank!