

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik III
Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. Michael von Bergwelt

Die prognostische Bedeutung von Indolamin-2,3-Dioxygenase,
regulatorischen T-Zellen und T-Effektorzellen im Tumorgewebe
von Patient*innen mit Pankreaskarzinom

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

vorgelegt von

Diplom-Ökonomin/Medizin (FH) Anja Verena Rösgen-Petzold

aus Bonn

2023

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. Stefan Böck
Mitberichterstatter:	PD Dr. Christian Schulz
Mitbetreuung durch die promovierten Mitarbeiter:	PD Dr. Stephan Kruger PD Dr. med. Steffen Ormanns
Dekan:	Prof. Dr. med. Thomas Gudermann
Tag der mündlichen Prüfung:	05.10.2023

Gewidmet

*allen onkologischen & hämatoonkologischen Patient*innen,*

*ihren Familien und Freund*innen*

sowie

*ihren Behandler*innen*

„In der lebendigen Natur geschieht nichts,
was nicht in einer Verbindung mit dem Ganzen stehe,“ [...]

„Es ist nur die Frage:

Wie finden wir die Verbindung dieser Phänomene?“

Johann Wolfgang von Goethe (1749–1832)

Schriften zur Naturwissenschaft

INHALTSVERZEICHNIS

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	7
TABELLENVERZEICHNIS	9
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	11
1. Einleitung.....	14
1.1 Motivation und Zielsetzung.....	14
1.2 Das Pankreaskarzinom	15
1.2.1 Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese	15
1.2.2 Klassifikationen.....	18
1.2.3 Therapieprinzipien	19
1.3 Das humane Immunsystem.....	21
1.3.1 Angeborene/unspezifische Immunität.....	22
1.3.2 Erworbene/spezifische Immunität.....	23
1.3.3 Tumormunologie und Tumorentstehung	26
1.3.4 Bedeutung von Tryptophan und IDO für das humane Immunsystem	28
1.4 Biomarker: prädiktiv und prognostisch	30
2. Material, Methodik und Patient*innen-Kollektiv	31
2.1 Datenbank: Der Informative Patient.....	31
2.2 Experimenteller Teil	34
2.2.1 Tissue Microarrays	36
2.2.2 IDO-Antikörper-Implementierung, immunhistochemische Färbungen von IDO, FOXP3, CD8 und deren Auswertung	39
2.3 Statistische Analysen.....	42
3. Ergebnisse – deskriptiv.....	44
3.1 Datenbank.....	44
3.1.1 Fehlende Werte	44
3.1.2 Patient*innen-Kollektiv, Patient*innen-Charakteristika.....	45
3.1.3 Tumorspezifische Charakteristika.....	47
3.1.4 Therapien.....	52
3.2 Experimenteller Teil	55
3.2.1 Pathologie-Kohorte und histologische Präparate	55
3.2.2 IDO-Expression.....	57
3.2.3 CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration	57

3.2.4	Nachweis FOXP3+-regulatorischer T-Zellen im Tumorgewebe	58
3.2.5	Klinische Charakteristika: IDO, CD8+, FOXP3	59
4.	Ergebnisse – Korrelations- und Überlebensanalysen	65
4.1	Univariate Analysen	65
4.1.1	Klinische Variablen.....	65
4.1.2	Tumormarker.....	72
4.1.3	Inflammatorische Biomarker im peripheren Blut und Diabetes mellitus	74
4.2	Immunologische Biomarker im Tumorgewebe	77
4.2.1	IDO-Expression.....	77
4.2.2	CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration	81
4.2.3	Nachweis FOXP3+-regulatorischer T-Zellen im Tumorgewebe	85
4.3	Korrelationen zwischen IDO-Expression, CD8+-Effektor-T-Zellen, FOXP3+-regulatorischen-T-Zellen und klinischen Parametern.....	89
4.4	Zusammenhänge von IDO-Expression, CD8+-Effektor-T-Zellen und FOXP3+-regulatorischen T-Zellen.....	90
4.5	Multivariate Cox-Regressionsanalysen	92
4.5.1	Multivariate Cox-Regression – Gesamtüberleben	92
4.5.2	Multivariate Cox-Regression – <i>DFS</i>	93
5.	Diskussion	94
5.1	Klinische Variablen, Tumormarker, inflammatorische Biomarker im peripheren Blut und Diabetes mellitus	94
5.2	IDO-Expression	96
5.2.1	IDO-Inhibitoren.....	97
5.3	CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration.....	99
5.4	FOXP3+-regulatorische T-Zellen.....	100
5.5	Korrelationen und Zusammenhänge zwischen IDO-Expression, CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration, FOXP3+-TRegs und klinischen Parametern	102
5.6	Multivariate Cox-Regression und <i>AIO-PK0104-Studie</i>	104
5.7	Limitationen.....	106
6.	Zusammenfassung und Ausblick.....	108
	LITERATURVERZEICHNIS	109
	DANKSAGUNG	118
	EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	119

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Altersverteilung und Fallzahlen der bösartigen Neubildungen des Pankreaskarzinoms	15
Abbildung 2: Zelluläre Bestandteile des Blutes	21
Abbildung 3: Teilsystem der Immunabwehr	22
Abbildung 4: Eine Antigen-präsentierende Zelle aktiviert eine T-Helferzelle mithilfe des MHC-II-Komplexes.	23
Abbildung 5: Cancer Immunoediting	26
Abbildung 6: Aktivierung von IDO.....	29
Abbildung 7: IDO-Antikörper-Etablierung mittels Westernblot und Xenograft	35
Abbildung 8: Exemplarischer Herstellungsprozess eines TMA-Blockes	36
Abbildung 9: Beispielbild: Wenig differenziertes duktales Adenokarzinom des Pankreas.....	37
Abbildung 10: Beispielbild: TMA.....	38
Abbildung 11: Erkrankungsstadien bei Erstdiagnose.....	45
Abbildung 12: Anteil der Diabetes-mellitus-Erkrankungen im Patient*innen-Kollektiv.....	47
Abbildung 13: Tumorlokalisation	48
Abbildung 14: Lokalisation Rezidiv.....	50
Abbildung 15: Lokalisation Metastasen bei Beginn palliativer Chemotherapie.....	51
Abbildung 16: Neoadjuvante Chemotherapie	52
Abbildung 17: Palliative Chemotherapie	54
Abbildung 18: Differenzierung Pathologie-Kohorte und histologische Präparate.....	55
Abbildung 19: Differenzierung histologischer Präparate.....	56
Abbildung 20: IDO-Expression.....	57
Abbildung 21: CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration.....	57
Abbildung 22: Nachweis FOXP3+-TRegs im Tumorgewebe.....	58
Abbildung 23: Kaplan-Meier-Schätzer für das Alter	66
Abbildung 24: Kaplan-Meier-Schätzer für das Geschlecht.....	67
Abbildung 25: Kaplan-Meier-Schätzer für <i>ECOG</i>	68
Abbildung 26: Kaplan-Meier-Schätzer für Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose	70
Abbildung 27: Kaplan-Meier-Schätzer für Operation.....	71
Abbildung 28: Kaplan-Meier-Schätzer des Tumormarkers CEA	72
Abbildung 29: Kaplan-Meier-Schätzer des Tumormarkers CA 19-9	73
Abbildung 30: Kaplan-Meier-Schätzer für den Entzündungswert CRP	74
Abbildung 31: Kaplan-Meier-Schätzer für Thrombozyten	75
Abbildung 32: Kaplan-Meier-Schätzer für Diabetes mellitus	76
Abbildung 33: Kaplan-Meier-Schätzer: OS für IDO-Expression (Patient*innenpopulation: resektabel)	77
Abbildung 34: Kaplan-Meier-Schätzer: DFS für IDO-Expression (Patient*innenpopulation: resektabel).....	78
Abbildung 35: Kaplan-Meier-Schätzer: OS für IDO-Expression (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)...	79
Abbildung 36: Kaplan-Meier-Schätzer: PFS für IDO-Expression (Patient*innenpopulation: LAPC und MET) .	80
Abbildung 37: Kaplan-Meier-Schätzer OS für CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: resektabel)	81

Abbildung 38: Kaplan-Meier-Schätzer DFS: CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: resektabel)	82
Abbildung 39: Kaplan-Meier-Schätzer OS für CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: LAPC und MET).....	83
Abbildung 40: Kaplan-Meier-Schätzer PFS: CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: LAPC und MET).....	84
Abbildung 41: Kaplan-Meier-Schätzer OS für FOXP3+-regulatorische T-Zellen (Patient*innenpopulation: resektabel)	85
Abbildung 42: Kaplan-Meier-Schätzer DFS: FOXP3+-regulatorische T-Zellen (Patient*innenpopulation: resektabel)	86
Abbildung 43: Kaplan-Meier-Schätzer OS für FOXP3+-regulatorische T-Zellen (Patient*innenpopulation: LAPC und MET).....	87
Abbildung 44: Kaplan-Meier-Schätzer PFS: FOXP3+-regulatorische T-Zellen (Patient*innenpopulation: LAPC und MET).....	88
Abbildung 45: IDO-Inhibitoren und deren Ziele.....	97
Abbildung 46: Verstärkte immunogene Wirkung des Oxaliplatin durch Hemmung des IDO-Signalwegs	103
Abbildung 47: AIO-PK01014-Phase-III-Studie	104

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: 8. TNM-Klassifikation des Pankreaskarzinoms nach AJCC/UICC 2018.....	18
Tabelle 2: Stadieneinteilung nach AJCC/UICC 2018	18
Tabelle 3: Histopathologisches Tumorgrading:	19
Tabelle 4: Tabellarisches Protokoll zu IDO (rabbit monoclonal)	40
Tabelle 5: Tabellarisches Protokoll zur Doppelmarkierung von CD8 und FOXP3	41
Tabelle 6: Anzahl fehlender Werte.....	44
Tabelle 7: Allgemeine Charakteristika des Patient*innen-Kollektivs.....	46
Tabelle 8: Tumorspezifische Patient*innen-Charakteristika.....	49
Tabelle 9: Laborklinische Parameter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose.....	50
Tabelle 10: Adjuvante-Chemotherapie-Schemata mit absoluten und relativen Werten	53
Tabelle 11: Anzahl histologischer Präparate	55
Tabelle 12: Übersicht der Expression von IDO und Infiltration von CD8+-T-Effektorzellen und regulatorischen FOXP3+-T-Zellen	58
Tabelle 13: Übersicht klinischer Charakteristika und Expression von IDO	60
Tabelle 14: Übersicht klinischer Charakteristika und CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration.....	62
Tabelle 15: Übersicht klinischer Charakteristika und Nachweis FOXP3+-regulatorischer T-Zellen im Tumorgewebe	64
Tabelle 16: Median des OS entsprechend Alter und Log-Rank-Test.....	65
Tabelle 17: Median des OS entsprechend Geschlecht und Log-Rank-Test	67
Tabelle 18: Median des OS entsprechend ECOG und Log-Rank-Test	68
Tabelle 19: Median des OS entsprechend Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose und Log-Rank-Test	69
Tabelle 20: Median des OS entsprechend OP und Log-Rank-Test.....	71
Tabelle 21: Median des OS entsprechend CEA und Log-Rank-Test.....	72
Tabelle 22: Median des OS entsprechend CA 19-9 und Log-Rank-Test	73
Tabelle 23: Median des OS entsprechend CRP und Log-Rank-Test	74
Tabelle 24: Median des OS nach Thrombozyten und Log-Rank-Test.....	75
Tabelle 25: Median des OS entsprechend dem Vorliegen eines Diabetes mellitus	76
Tabelle 26: Median des OS entsprechend der IDO-Expression (Patient*innenpopulation: resektabel).....	77
Tabelle 27: Median des DFS entsprechend der IDO-Expression (Patient*innenpopulation: resektabel).....	78
Tabelle 28: Median des OS entsprechend der IDO-Expression (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)	79
Tabelle 29: Median des PFS entsprechend der IDO-Expression (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)....	80
Tabelle 30: Median des OS nach CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: resektabel) ...	81
Tabelle 31: Median des DFS CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: resektabel).....	82
Tabelle 32: Median des OS nach CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: LAPC und MET).....	83
Tabelle 33: Median des PFS: CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: LAPC und MET).....	84
Tabelle 34: Median des OS entsprechend FOXP3+-regulatorische T-Zellen (Patient*innenpopulation: resektabel)	85

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 35: Median des DFS: FOXP3+-regulatorischer T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: resektabel)	86
Tabelle 36: Median des OS entsprechend FOXP3+-regulatorische T-Zellen (Patient*innenpopulation: LAPC und MET).....	87
Tabelle 37: Median des PFS: FOXP3+-regulatorische-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: LAPC und MET).....	88
Tabelle 38: Punktbiseriale Korrelationen zwischen klinischen Parametern und IDO, CD8+ sowie FOXP3+.....	89
Tabelle 39: Kreuztabelle: Chi-Quadrat-Test für IDO-Expression und FOXP3+-TRegs	90
Tabelle 40: Kreuztabelle: Chi-Quadrat-Test für IDO-Expression und CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration	90
Tabelle 41: Kreuztabelle: Chi-Quadrat-Test für CD8+-Effektor-T-Zell-Infiltration und Infiltration durch FOXP3+-TRegs	91
Tabelle 42: Ergebnisse der Cox-Regression bezüglich Gesamtüberleben	92
Tabelle 43: Ergebnisse der Cox-Regression bezüglich DFS	93
Tabelle 44: Unabhängige prognostische Faktoren	105

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abkürzung	Beschreibung
ASCO	American Society of Clinical Oncology
APC	Antigen-präsentierende Zelle/Adenomatous-polypsis-coli-Protein
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
AR	<i>engl. Antigen Retrieval</i>
ATM	<i>engl. Ataxia Telangiectasia Mutated</i>
BRCA 1/2	<i>engl. Breast cancer 1/2</i>
BMI	<i>engl. Body Mass Index</i>
ca.	circa
CA19-9	Carbohydrate-Antigen 19-9
CD	<i>engl. Cluster of Differentiation</i>
CDKN2A	<i>engl. Cyclin dependent kinase inhibitor 2A</i>
CEA	Carcino-embryonale Antigen
CIPSM	<i>engl. Center for Integrated Protein Science Munich</i>
Cis	Cisplatin
cm	Zentimeter
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomografie
CTL	cytotoxische T-Zellen
CTLA-4	<i>engl. Cytotoxic T-lymphocyte-associated Protein 4</i>
cTNM	klinisch TNM
DAB	Diaminobenzidin
DC	<i>engl. Dendritic cell</i>
DFS	<i>Disease-free survival, Erkrankungsfreies Überleben</i>
e. V.	eingetragener Verein
ECOG	<i>engl. Eastern Cooperative Oncology Group Performance</i>
<i>engl.</i>	<i>English</i>
ERCP	endoskopisch retrograde Cholangio-Pankreatikografie
Erlo	Erlotinib
et al.	et alii
FA/FU	5-Fluoruracil + Folsäure
FAMMM oder FAMMMPC-Syndrom	familiäres atypisches multiples Muttermal- und Melanom-Syndrom/Pankreaskarzinom-Syndrom
FAP	familiäre adenomatöse Polyposis
FFPE-Gewebe	in Formalin fixiertes und in Paraffin eingebettetes Gewebe
FOLFIRINOX	<i>engl. FOL – folinic acid, F – fluorouracil (5-FU), IRIN – irinotecan OX – oxaliplatin</i>

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

FOLFOX	FOL: Folinsäure, F: 5-Fluorouracil, OX: Oxaliplatin
FOXP3	<i>engl. Forkhead-Box-Protein 3</i>
FPC	familiäres Pankreaskarzinom
G	<i>engl. Grading</i>
G/L	Giga pro Liter
Gem	Gemcitabin
ggf.	gegebenenfalls
Hb	Hämoglobin
HCC	hepatozelluläre Karzinom
HE	Hämatoxylin-Eosin
HNO	Hals-Nasen-Ohren
HNPCC	hereditäres nicht-polypöses Kolonkarzinom
HR	<i>engl. Hazard Ratio</i>
IBM	<i>engl. International Business Machines Corporation</i>
IDO	Indolamin-2,3-Dioxygenase
IgG	Immunglobulin-G
ILC-Zellen	<i>engl. Innate lymphoid cells,</i>
kg	Kilogramm
KI/CI	Konfidenzintervall
KPS	<i>engl. Karnofsky performance status scale</i>
KRAS	<i>engl. Kirsten Rat Sarcoma</i>
KRK	kolorektales Karzinom
L	Liter
LDH	Lactatdehydrogenase
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
m	Meter
m ²	Quadratmeter
MAPK	<i>engl. Mitogen activated protein kinase</i>
MHC	<i>engl. Major histocompatibility complex</i>
ml	Milliliter
MLH1/2	<i>engl. MutL homolog 1/2</i>
MRT	Magnetresonanztomografie
MSH6	<i>engl. MutS homolog 6</i>
N	Anzahl
nab-Pac	Nab-Paclitaxel
NK-T-Zellen	natürliche Killer T-Zellen
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
NSAR	nicht-steroidale Antirheumatika
OP	Operation
ORR	<i>engl. Objective Response Rate</i>
OS	<i>engl. Overall survival / Gesamtüberleben</i>
p16	<i>CDK-Inhibitor 2A, Abk. engl. Cyclin dependent kinase inhibitor 2A</i>
p53	<i>engl. Tumor protein 53</i>

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

PALB2	<i>engl. Partner and localizer of BRCA2</i>
Pat.	Patient*in/Patient*innen
PD-1	<i>engl. Programmed cell death protein 1</i>
PET-CT	Positronen-Emissions-Tomografie
<i>PFS</i>	<i>engl. Progression-free survival (Progressionsfreies Überleben)</i>
<i>PMS1/2</i>	<i>engl. Protein homolog 1/ 2</i>
<i>PRSSI-Gen</i>	<i>engl. Serine protease 1</i>
pTNM	pathologisch TNM
<i>R</i>	Resektionsstatus
RCT	Radiochemotherapie
<i>SMAD4</i>	<i>engl. Mothers against decapentaplegic homolog 4</i>
<i>sPD-1</i>	<i>engl. Soluble programmed death protein 1</i>
<i>sPD-L1</i>	<i>engl. Soluble programmed death protein Ligand 1</i>
<i>SPINK1</i>	<i>engl. Serine protease inhibitor Kazal-type 1</i>
<i>SPSS</i>	<i>engl. Statistical Package for the Social Sciences</i>
STK11	Serin/Threonin-Kinase 11
TCR	T-Zell-Rezeptor
<i>TMA</i>	<i>Tissue Microarrays</i>
TRegs	Regulatorische T-Zellen
Trp	Tryptophan
<i>TTF</i>	<i>engl. Time to treatment failure</i>
<i>UICC</i>	<i>frz. Union internationale contre le cancer</i>
µg	Mikrogramm

1. Einleitung

So wie Johann Wolfgang von Goethe zu Lebzeiten schon auf der Suche nach bedeutsamen Verbindungen wissenschaftlicher Phänomene in der lebendigen Natur war, um „*das Ganze*“ zu verstehen und Lösungsansätze zu finden, so sind wir es noch heute.

1.1 Motivation und Zielsetzung

Die Prognose des Pankreaskarzinoms stellt sich, trotz erweiterter und verbesserter diagnostischer und therapeutischer Möglichkeiten der letzten Jahre, weiterhin als sehr schlecht dar. Die 5-Jahres-Überlebensrate über alle Tumorstadien hinweg ist mit circa (ca.) 4 % äußerst niedrig [1–3]. Es wird ein konstanter Anstieg der Inzidenz des Pankreaskarzinoms prognostiziert und somit könnte bis 2030 die Mortalitätsrate des Pankreaskarzinoms die des Darm- und Brustkrebs übersteigen und dieses somit die zweithäufigste krebsbedingte Ursache für Todesfälle darstellen [4]. Daher ist es von höchster Relevanz, weitere Prädiktoren, prognostische Biomarker und neue Targets für eine zielgerichtete und effektive Therapie zu finden, um die Überlebenszeiten für betroffene Patient*innen zu steigern und die Lebensqualität auch in der palliativen Situation zu verbessern. In den letzten Jahren gelang es durch umfangreiche Forschungsarbeiten, vermehrt Einblicke in die Wechselbeziehungen zwischen Tumorzellen und dem Immunsystem zu erhalten, wodurch gezielte Immuntherapien bei Krebspatient*innen möglich wurden [5].

Angriffspunkte der Immuntherapie sind Moleküle, die als Kontrollmechanismen bei der Regulierung der Immunantwort dienen [6]. Im Fokus standen dabei bisher insbesondere die sogenannten Immun-Checkpoints, PD-1 (*engl. Programmed cell death protein 1*) und CTLA-4 (*engl. cytotoxic T-lymphocyte-associated Protein 4*). Hierbei handelt es sich um Oberflächenrezeptoren auf T-Zellen, welche eine Kontrollfunktion in der Aktivierungsphase von T-Zellen ausüben. Es gibt eine Reihe weiterer immunregulatorischer Mechanismen. Hierzu gehören beispielsweise bestimmte T-Zellsubpopulationen wie regulatorische FOXP3 (*engl. Forkhead-Box-Protein 3*) positive T-Zellen oder CD8⁺-T-Effektor-Zellen. In präklinischen Modellen wurde auch das Enzym Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) als weiterer immunregulatorischer Faktor beim Pankreaskarzinom beschrieben [7, 8]. Im Rahmen von klinischen Studien werden aktuell verschiedene IDO-Inhibitoren als mögliche Therapeutika für Patient*innen mit fortgeschrittenen Tumorerkrankungen untersucht [7, 9, 10].

Die vorliegende Arbeit soll den klinischen, prädiktiven und prognostischen Stellenwert von immunologischen Biomarkern im Rahmen der Behandlung des Pankreaskarzinoms untersuchen, insbesondere die Bedeutung von **CD8+-Effektor-T-Zellen**, **FOXP3+-regulatorischen-T-Zellen (TRegs)** und dem immun-inhibitorischen Enzym **IDO**. Indirekt soll sich so der Fragestellung genähert werden, ob die medikamentöse Inhibition von IDO eine mögliche therapeutische Strategie für Patient*innen mit fortgeschrittenem Pankreaskarzinom sein könnte.

1.2 Das Pankreaskarzinom

1.2.1 Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese

1936 beschrieb Mondier erstmals das Pankreaskarzinom und seitdem besteht eine stetige Zunahme der Erkrankungsinzidenz [5, S. 984, 11, 12]. Das Pankreaskarzinom ist die dritthäufigste Tumorentität des gastrointestinalen Trakts nach dem Kolon- und Magenkarzinom. Bei Männern stand es mit 9860 Neuerkrankungen im Jahr 2018 auf Platz 7 der häufigsten Krebserkrankungen und bei Frauen auf Platz 6 mit 9160 Neuerkrankungen [3]. Vor allem bei Frauen sind die Erkrankungs- und Sterberaten in den letzten Jahren leicht angestiegen. Bei beiden Geschlechtern stellt das Pankreaskarzinom die vierthäufigste Todesursache durch eine Krebserkrankung dar [3, 13]. In der Regel sind Patient*innen im höheren Lebensalter betroffen. Das Hauptmanifestationsalter liegt zwischen 70 und 75 Jahren [13, 14].

Aus Gründen des Copyrights wurde diese Abbildung
in der Veröffentlichung entfernt.

Abbildung 1: Pankreaskarzinom: Altersspezifische Neuerkrankungen nach Geschlecht, ICD-10 C25, Deutschland 2017-2018, übernommen und Copyright: GEKID, Zentrum für Krebsregisterdaten [3]

Hochrechnungen der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (eingetragener Verein) und des Onkopedia-Leitlinienportals der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie (DGHO) zufolge kann man aufgrund der demografi-

schen Entwicklung in Deutschland und der aktuellen Erkrankungshäufigkeit von einem Zuwachs der Pankreaskarzinom-Inzidenzen um 30 % bis zum Jahr 2040 ausgehen. Dies würde in Deutschland bis 2040 ca. 22.000 neue Erkrankungsfälle ausmachen [4, 15].

Zahlreiche Studien zur Ätiologie des Pankreaskarzinoms blieben bislang ohne zufriedenstellende Ergebnisse. Aktuell wird von einer multifaktoriellen Genese ausgegangen. Prinzipiell wird zwischen hereditären und erworbenen Faktoren für ein Karzinom unterschieden. Als prädisponierende, erworbene Faktoren gelten [1, 13, 16, 17]:

- Nikotingenuss (gilt als gesicherter Risikofaktor und ist ursächlich für ca. 22 % der vorliegenden Pankreaskarzinome [18])
- Alkoholabusus
- Überwiegend faserarme, hochkalorische Kost bei einem Großteil an tierischen Fetten
- Übermäßiger Konsum von rotem Fleisch
- Ein erhöhter Body-Mass-Index ($\geq 30 \text{ kg/m}^2$), Adipositas
- Diabetes mellitus Typ 2
- chronische Pankreatitis
- Gallensteine
- Helicobacter-pylori-Infektionen

Als hereditäre Faktoren und Krankheitsbilder, mit denen eine Erhöhung des Krankheitsrisikos einhergeht, gelten [19, 20]:

- hereditäre Pankreatitis (Keimbahnmutation im *SPINK1*-Gen (*engl. serine protease inhibitor Kazal-type 1*) oder im *PRSSI*-Gen (*engl. serine protease 1*))
- hereditäres Mamma- und Ovarialkarzinom (Keimbahnmutationen im *BRCA1*-, *BRCA2*- (*engl. Breast Cancer 1/2*) oder *PALB2*-Gen (*engl. partner and localizer of BRCA2*))
- FPC (familiäres Pankreaskarzinom): Familien mit mind. 2 Verwandten ersten Grades mit Pankreaskarzinom
- FAMMM oder FAMMMPC-Syndrom (familiäres atypisches multiples Muttermal- und Melanom-Syndrom/Pankreaskarzinom-Syndrom) mit Mutation in der Keimbahn (*CDKN2A*-Gen ; *engl. cyclin dependent kinase inhibitor 2A*)
- Peutz-Jeghers-Syndrom (Keimbahnmutationen im *STK11*-Gen (Serin/Threonin-Kinase 11))
- FAP (familiäre adenomatöse Polyposis) und HNPCC (hereditäres nicht-polypöses Kolonkarzinom) mit Mutationen im *APC*-Gen (Adenomatous-polyposis-coli-Protein) beziehungsweise den *Mismatch*-Reparatur-Genen (*MLH1* (*engl. MutL homolog 1*))

MSH2 (engl. *MutS homolog 2*), *MSH6* (engl. *MutS homolog 6*), *PMS1* (engl. *Protein homolog 1*), *PMS2* (engl. *Protein homolog 2*)

- Ataxia Teleangiectasia (Keimbahnmutationen im ATM-Gen (engl. *Ataxia Telangiectasia Mutated*))

In weniger als 10 % der Erkrankungsfälle des Pankreaskarzinoms spielen Keimbahnmutationen eine Rolle [21]. Bei der Pathogenese des Pankreaskarzinoms wird von einem Modell der Tumorprogression ausgegangen, bei dem es durch mehrere verschiedene Mutationen in Onkogenen – insbesondere *KRAS* (engl. *Kirsten Rat Sarcoma*) – sowie die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen wie beispielsweise *p53* (engl. *Tumor protein 53*), *p16* (*CDK-Inhibitor 2A*, Abk. engl. *cyclin dependent kinase inhibitor 2A*), *SMAD4* (engl. *Mothers against decapentaplegic homolog 4*) und *BRCA2* über Tumorstufenläsionen zur Ausbildung eines Karzinoms im Pankreas kommt [21–23].

Die häufigste Lokalisation der Pankreaskarzinome befindet sich mit etwa 70 % im Pankreaskopf (Caput), gefolgt von einer Lokalisation im Pankreaskörper (Corpus, ca. 20 %) und im Pankreasschwanz (Cauda, ca. 10 %) [5]. Häufige Metastasenlokalisationen sind Leber, Peritoneum und Lunge [24].

1.2.2 Klassifikationen

Die Tumorklassifikation erfolgt je nach Ausbreitungsmuster und folgt der jeweils aktuellen TNM-Klassifikation in Zusammenarbeit mit der *UICC* (frz. *Union internationale contre le cancer*). Das T-Stadium (T1-T4) gibt dabei die Tumorgroße sowie eine mögliche Infiltration umliegender anatomischer Strukturen an. Das N-Stadium (N1 und N2) beschreibt die Anzahl der befallenen regionären Lymphknotenmetastasen und das M-Stadium (M0 oder M1) zeigt das Vorliegen oder Fehlen von Fernmetastasen auf [25]. Im Folgenden wird die aktuelle, 8. TNM-Klassifikation von 2018 abgebildet:

TNM	Ausdehnung
T1	maximaler Tumordurchmesser ≤ 2 cm
T2	maximaler Tumordurchmesser ≤ 4 cm
T3	maximaler Tumordurchmesser > 4 cm
T4	Infiltration des Truncus coeliacus, der A. hepatica communis oder der A. mesenterica superior
N1	1–3 regionäre Lymphknotenmetastasen
N2	≥ 4 regionäre Lymphknotenmetastasen
M1	Fernmetastasen

Tabelle 1: 8. TNM-Klassifikation des Pankreaskarzinoms nach AJCC/UICC, 2018 [25]

Auf Grundlage der TNM-Klassifikation kann eine Einteilung in die *UICC*-Stadien vorgenommen werden.

UICC-Stadium	TNM
Stadium 0	Tis (Carcinoma in situ)
Stadium I	T1 (IA) oder T2 (IB)
Stadium II	T3 (IIA) oder N1 (IIB)
Stadium III	T4
Stadium IV	M1

Tabelle 2: Stadieneinteilung nach AJCC/UICC 2018[25]

Zur Diagnosestellung und TNM-Klassifikation stehen die Anamnese und klinische Untersuchung sowie bildgebende Verfahren (z. B. Sonografie, CT (Computer-Tomografie), MRT (Magnetresonanztomografie), ERCP (endoskopisch retrograde Cholangio-Pankreatikografie) und ggf. PET-CT (Positronen-Emissions-Tomografie)) zur Verfügung. Zur Diagnosesicherung muss die Diagnose zudem histologisch gesichert werden. Je nach Stadium kann dies entweder

im Rahmen einer kurativ intendierten Resektion oder einer diagnostischen Biopsie erfolgen [26, 27]. Zusätzlich zur TNM-Klassifikation erfolgt die Bestimmung des Differenzierungsgrades des Tumorgewebes (*Grading*). Hier wird der Differenzierungsgrad des vom Tumor befallenen Gewebes mit dem Ursprungsgewebe verglichen und in drei Kategorien eingeteilt. Das *Grading* besitzt auch einen prognostischen Stellenwert [28].

G	Beschreibung
G1	Gut differenziert
G2	Mäßig differenziert
G3	Schlecht differenziert

Tabelle 3: Histopathologisches Tumorgrading: Übernommen von WHO classification of tumours of the digestive system (Bosman F. et al.) [29]

Die Symptome bei der Erstdiagnose eines Pankreaskarzinoms sind relativ unspezifisch. Auftreten können: Gewichtsverlust, Appetitlosigkeit, Schmerzen (abdominelle Schmerzen, Rückenschmerzen), anhaltendes Völlegefühl, Übelkeit, Verdauungsstörungen, Ikterus (bei Vorliegen eines Pankreaskopftumors) [5]. In seltenen Fällen kann ein Courvoisier-Zeichen oder eine Thrombophlebitis beobachtet werden [5].

1.2.3 Therapieprinzipien

Therapie und Prognose des Pankreaskarzinoms hängen unmittelbar vom Erkrankungsstadium zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ab. Die 5-Jahres-Überlebensrate über alle Stadien hinweg beträgt durchschnittlich ca. 4 % [30, 31]. Die einzige kurative Behandlungsoption im Falle des Vorliegens eines primär-resektablen Tumors stellt die radikale chirurgische Entfernung dar. Diese ist in ca. 15 % der Fälle möglich [32]. Bei Vorliegen eines Pankreaskopfkarcinoms kommen dabei die pyloruserhaltende partielle Duodenopankreatektomie nach *Traverso* (Methode der ersten Wahl) oder die partielle Duodenopankreatektomie mit Magenteilresektion, die *Whipple-Operation*, infrage [27, 33]. Befindet sich das Karzinom im Pankreaskörper oder Pankreasschwanz, so sollten je nach Tumorlokalisierung eine Pankreaslinkresektion mit Splenektomie oder eine totale Duodenopankreatektomie mit vollständiger Pankreasresektion und Entfernung der Milz erfolgen [27, 34]. Im Anschluss an die Resektion empfiehlt die aktuelle deutsche S3-Leitlinie eine adjuvante Chemotherapie über 6 Monate [27]. Diese sollte spätestens 8–12 Wochen nach Resektion eingeleitet werden [35]. In Einzelfällen kann möglicherweise auch ein späterer Beginn sinnvoll sein [35]. Bei gutem bis sehr gutem Allgemeinzustand (beschrieben durch: *ECOG* – „Eastern Cooperative Oncology Group“-Performance – 0 und 1) wird aufgrund

internationaler Studien eine medikamentöse, chemotherapeutische Therapie nach dem FOLFIRINOX-Protokoll (*engl. FOL – folinic acid, F – fluorouracil (5-FU), IRIN – irinotecan OX – oxaliplatin*) empfohlen, da bei dieser ein verlängertes Gesamtüberleben im Gegensatz zu einer Gemcitabin-Monotherapie festgestellt wurde. Liegen ein reduzierter Allgemeinzustand (*ECOG* 2 oder schlechter) oder Kontraindikationen für eine adjuvante Chemotherapie mit FOLFIRINOX vor, so kann eine Chemotherapie mit Gemcitabin durchgeführt werden [36, 37]. Auch die adjuvante Behandlung nach dem *Mayo-Protokoll* (5-Fluorouracil und Folinsäure) wird in der S3-Leitlinie aufgeführt [27]. Aufgrund der tendenziell schlechteren Verträglichkeit wird diese jedoch nur in Ausnahmefällen eingesetzt. Die Effektivität des Einsatzes einer adjuvanten Radiochemotherapie ist bisher nicht abschließend geklärt [38, 39]. Bei Patient*innen mit lokal fortgeschrittenem Pankreaskarzinom kann gegebenenfalls (ggf.) ein individuelles Konzept aus neoadjuvanter Chemotherapie, ggf. neoadjuvanter Bestrahlung und einer anschließenden Resektion durchgeführt werden.

Patient*innen mit palliativer Ausgangssituation steht als first-line Therapie, bei gutem Allgemeinzustand (*ECOG* 0 und 1), die Behandlung nach dem FOLFIRINOX-Protokoll oder eine Behandlung mit Gemcitabin und nab-Paclitaxel zur Verfügung [40]. Patient*innen in einem schlechteren Allgemeinzustand oder Vorliegen von Kontraindikation für FOLFIRINOX oder nab-Paclitaxel werden in der Regel mit einer Gemcitabin-Monotherapie behandelt. In Einzelfällen kommt die Therapie mit Gemcitabin und dem Tyrosinkinasehemmer Erlotinib zum Einsatz [41].

1.3 Das humane Immunsystem

Das humane Immunsystem ist ein hochkomplexer Abwehrapparat und hat die Aufgabe, unseren Körper vor „Eindringlingen“ wie Bakterien, Viren, Pilzen, Protozoen und Parasiten zu schützen. Außerdem kann es die Entstehung von malignen Tumorerkrankungen bereits im Anfangsstadium verhindern [42, S. 1]. Prinzipiell lässt sich das Immunsystem in zwei Teile unterteilen: in die angeborene, unspezifische Immunität und die erworbene, spezifische Immunität [43]. Alle Zellen des Immunsystems entstehen aus pluripotenten, hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks, wie in der folgenden Abbildung 2 gezeigt wird.

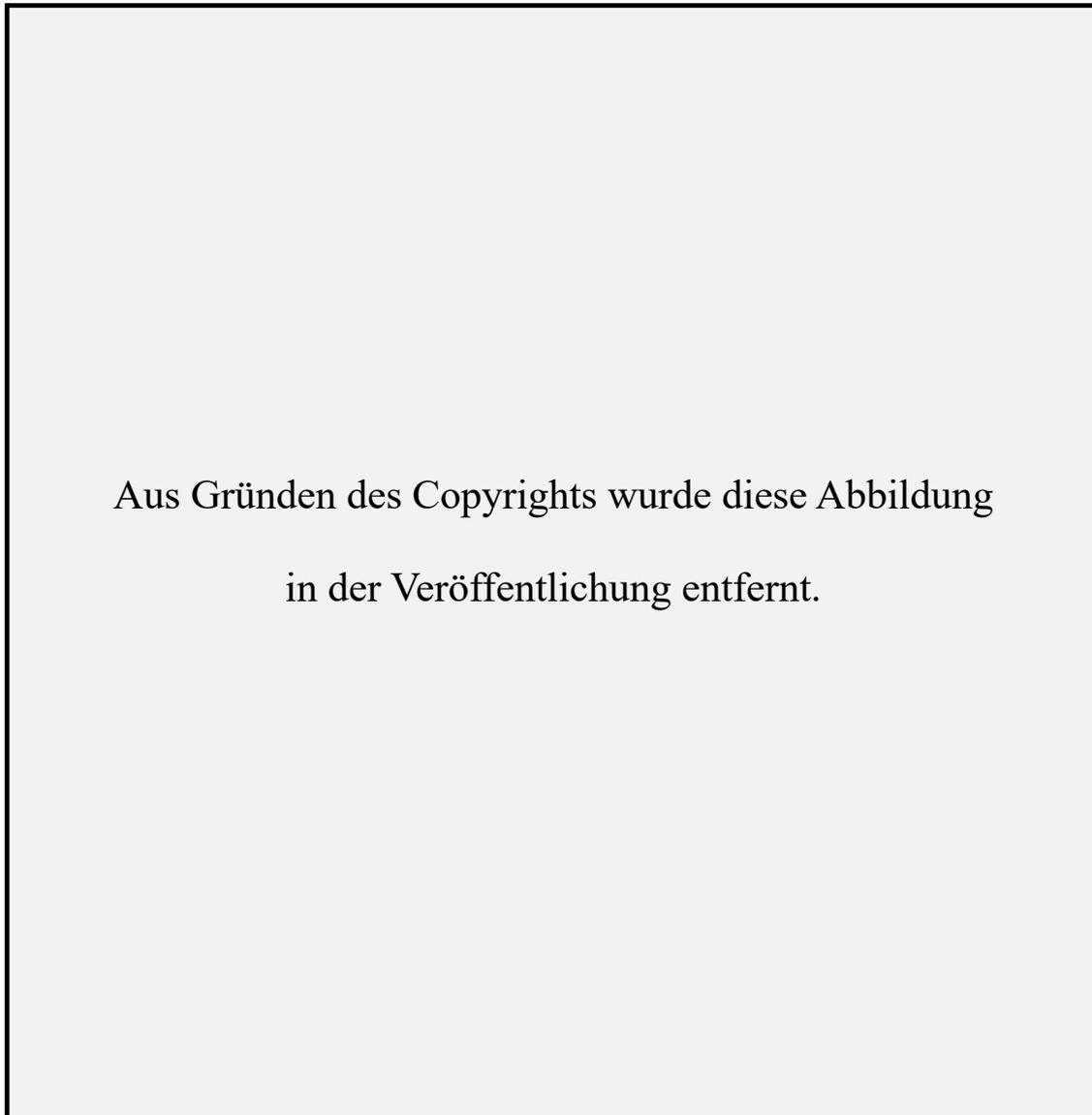


Abbildung 2: Zelluläre Bestandteile des Blutes, übernommen und Copyright: Janeway [43, S. 6]

Aus der pluripotenten Stammzelle gehen eine lymphatische und eine myeloische Vorläuferzelle hervor. Aus der lymphatischen Vorläuferzelle bildet sich die lymphatische Zelllinie der Leukozyten, die sich in vier verschiedene Zellen aufteilt: in die angeborenen lymphatischen Zellen

(engl. *innate lymphoid cells*, ILC-Zellen,), die natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) sowie in B- und T-Lymphozyten. Aus der myeloischen Vorläuferzelle gehen die übrigen Leukozyten, Megakaryozyten sowie Erythrozyten hervor. Unreife dendritische Zellen sind Phagozyten und können sich sowohl aus lymphatischen als auch aus myeloischen Vorläuferzellen entwickeln. Der Großteil geht allerdings aus myeloischen Zellen hervor [43].

1.3.1 Angeborene/unspezifische Immunität

In der folgenden Abbildung 3 sind die Teilsysteme der Immunabwehr abgebildet. Funktion und Wirkungsweise der einzelnen Komponenten der Immunabwehr werden in den darauffolgenden Kapiteln dargestellt.



Abbildung 3: Teilsystem der Immunabwehr, modifiziert nach:
www.medizininfo.de/immunsystem/abwehr/unspezifisch.htm

Die angeborene Immunantwort wird auch als unspezifische Immunantwort bezeichnet, da sie beim Eindringen von Erregern als Erstes und unspezifisch aktiviert wird. Zu ihr gehören chemische und anatomische Barrieren wie die Haut und die Mundschleimhaut [43]. Werden diese Strukturen durch den Erreger durchbrochen, kommt zunächst das Komplementsystem zum Einsatz. Dieses System besteht aus einer Reihe von Proteinen, die sich hauptsächlich im Darm und im Serum befinden. Das Komplementsystem spielt sowohl für die Funktion des angeborenen als auch des adaptiven Immunsystems eine Rolle, da es sowohl bei Vorliegen als auch bei Fehlen spezifischer Antikörper reagiert. Dringt ein Erreger weiter in das Körperinnere ein, so werden Zellen der angeborenen Immunität wie die Makrophagen aktiviert und es kommt zu einer schnellen zellulären Abwehrreaktion. Im Anschluss an diese Immunreaktion schaltet sich das erworbene Immunsystem ein [43].

1.3.2 Erworbene/spezifische Immunität

An der spezifischen Immunität sind zelluläre und humorale Faktoren beteiligt. Zur humoralen Immunantwort gehören Antikörper, die durch Plasmazellen produziert werden, welche sich aus B-Lymphozyten differenzieren [42]. Es handelt sich dabei um Y-förmige Proteine, die körperfremdes oder verändertes körpereigenes Material anhand von Antigenen erkennen, an diese Antigene binden und damit eine Immunreaktion auslösen [43, S. 179]. Bei der zellulären Immunabwehr spielen, wie in der folgenden Abbildung 4 dargestellt, vor allem T-Lymphozyten eine Rolle. Auf der Oberfläche der B- und T-Lymphozyten finden sich Antigen-Rezeptoren, welche hoch spezialisiert, je Zelle divers aufgebaut sind und jeweils nur ein bestimmtes Antigen binden (Schlüssel-Schloss-Prinzip) [42].

Aus Gründen des Copyrights wurde diese Abbildung
in der Veröffentlichung entfernt.

Abbildung 4: Eine Antigen-präsentierende Zelle aktiviert eine T-Helferzelle mithilfe des MHC-II-Komplexes (Modifiziert nach © Mario Schubert/CC-by-sa 2.5)[44]

Die Entstehung der T-Zelle beginnt im Knochenmark und zur weiteren Ausdifferenzierung wandert diese in den Thymus, daher auch das „T“ in dem Begriff T-Zelle. Hier findet eine negative Selektion statt. Es werden MHC (*major histocompatibility complex*)-Rezeptoren, die man als Haupthistokompatibilitätskomplex bezeichnet, auf der Oberfläche der Zelle gebildet und all diejenigen Zellen, die auf körpereigene Proteine reagieren, ausselektiert, um Autoimmunreaktionen zu verhindern [43]. Die T-Zelle erkennt das Antigen über den T-Zell-Rezeptor (TCR) nur, wenn das Antigen über eine Antigen-präsentierende Zelle (APC) angeboten wird. Antigen-präsentierende Zellen, die eine T-Zellen-Aktivierung veranlassen können, sind B-Lymphozyten, dendritische Zellen, Makrophagen und Monozyten [43].

Um eine stabile Bindung des Molekül-Komplexes zu gewährleisten, werden „Hilfsmoleküle“ (*CD = Cluster of Differentiation*) benötigt [42, 43]. Aufgrund der hohen Plastizität der T-Zellen unterscheidet man unterschiedliche Arten von T-Zellen [42, 43, 45]:

- **T-Helferzellen:**

T-Zellen, die ein CD4-Molekül tragen, nennt man T-Helferzellen. Diese erkennen Antigene, welche von Antigen-präsentierenden Zellen an MHC-Klasse-II-Moleküle gebunden präsentiert werden. Sie sezernieren Zytokine und stimulieren dadurch eine zellvermittelte (Aktivierung von Makrophagen) oder humorale Immunantwort (Stimulation der B-Lymphozyten zur Antikörperproduktion).

- **T-Effektor-Zellen:**

T-Effektor-Zellen tragen in der Regel CD8-Moleküle auf ihrer Oberfläche und erkennen vor allem Tumorzellen und virusinfizierte Zellen. Diese präsentieren Fremdartigene gebundene MHC-Klasse-I-Moleküle. Durch die T-Effektor-Zellen wird in den pathologisch veränderten Zellen die Apoptose ausgelöst.

- **Regulatorische T-Zellen (TRegs):**

Regulatorische T-Zellen haben die Aufgabe, die Immunantwort zu regulieren, um die Entstehung von Autoimmunprozessen im Körper zu verhindern. Charakteristischer Marker der TRegs ist der Transkriptionsfaktor FOXP3.

- **T-Gedächtniszellen:**

Die langfristige Erhaltung der Immunität wird durch die T-Gedächtniszellen (zusammen mit den B-Gedächtniszellen) gewährleistet. Nach abgelaufener Infektion verbleiben diese Zellen im Blutplasma und können bei erneutem Kontakt mit demselben Erreger erneut aktiviert werden, um im Folgenden eine Proliferation von antigenspezifischen T- und B-Zellen auszulösen.

- **Natürliche Killer T-Zellen (NK-T-Zellen):**

Die NK-T-Zellen können Effektorzellen auch ohne das Vorhandensein von MHC-Molekülen erkennen und eliminieren [5]. Sie spielen ebenfalls eine wichtige Rolle in der Erkennung und Eliminierung maligner Zellen.

- **$\gamma\delta$ -Antigenrezeptor-positive T-Lymphozyten:**

Diese T-Zellen haben ihre Funktion am Schnittpunkt der angeborenen und erworbenen Immunität und ihre Bedeutung variiert je nach Organ. Wird der $\gamma\delta$ -Antigenrezeptor-positive T-Lymphozyt aktiviert, so wird die Lyse der Zielzelle eingeleitet [42, S. 28].

Hier sei nochmals der Expressionsfaktor FOXP3 zu erwähnen, der spezifisch für regulatorische T-Zellen ist und eine entscheidende Bedeutung in der Polarisierung von T-Zellen hin zu TReg-Zellen besitzt [46]. Möchte man, wie in der vorliegenden Arbeit, regulatorische T-Zellen nachweisen, kann man diese über den Transkriptionsfaktor FOXP3 bestimmen [47]. T-Effektor-Zellen können, wie in der vorliegenden Arbeit, anhand des Oberflächenproteins CD8 nachgewiesen werden.

1.3.3 Tumorimmunologie und Tumorentstehung

Die meisten Tumore exprimieren immunogene Tumorantigene, also Antigene, die in der Lage sind, eine Immunantwort auszulösen [48]. Hierbei kann es sich um tumorspezifische Antigene – auch als Neoantigene bezeichnet – oder um tumorassoziierte Antigene handeln. Patient*innen mit einer Tumorerkrankung verfügen in der Regel über T-Zellen, die spezifisch auf Tumorantigene reagieren [49]. Somit sollte das humane Immunsystem prinzipiell dazu in der Lage sein, den Tumor zu erkennen und im besten Falle zu zerstören. Gelingt es malignen Zellen, der Erkennung durch das Immunsystem zu entgehen und unkontrolliert zu proliferieren, so spricht man auch vom sogenannten *Immune escape* [50]. Die wechselseitige Einflussnahme von Immunsystem und Tumor wird auch als „*Immunoediting*“ bezeichnet [51]. Dieses kann vereinfacht in drei Phasen eingeteilt werden, die in der folgenden Abbildung 5 skizziert werden:

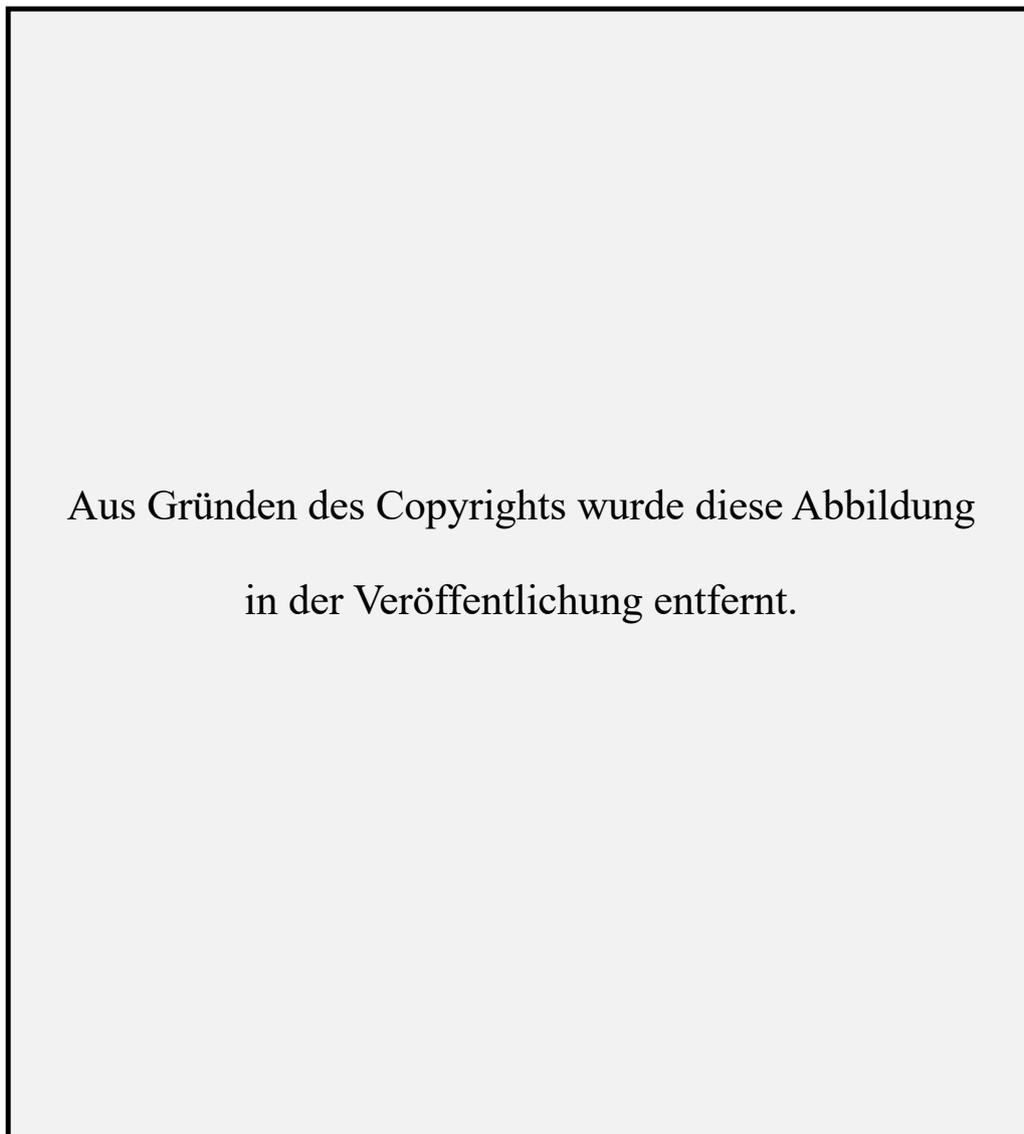


Abbildung 5: *Cancer Immunoediting*, übernommen und Copyright: Laurie Menger[52]

Die drei Phasen sind: „**Elimination**“, „**Equilibrium**“ und „**Entweichen**“ [5, 51]. Die „**Elimination**“ stellt die Immunüberwachung im Sinne der Beseitigung pathogener, maligner Zellen dar. Das „**Equilibrium**“ stellt eine Latenzphase dar. Hier können sich einige transformierte Zellen der Immunüberwachung entziehen, werden nicht abgestoßen und bleiben weiter fortbestehen [5]. Im Rahmen der dritten Phase, dem „**Entweichen**“, oder auch „*Immune escape*“ genannt, unterliegen die transformierten Zellklone nicht mehr der Immunüberwachung und proliferieren ungehemmt [5, 51, 53].

Im Rahmen der Tumorentstehung und Tumorummunologie gibt es eine große Anzahl unterschiedlicher Akteure. Es liegen zelluläre Bestandteile wie beispielsweise regulatorische T-Zellen, cytotoxische T-Zellen und T-Helferzellen vor. Deren Aktivität wird wiederum durch das komplexe Zusammenspiel zwischen T-Zellrezeptor, MHC-Molekülen, co-stimulatorischen Molekülen und weiteren regulatorischen Oberflächenmolekülen bestimmt [54]. Zudem spielen verschiedene Zytokine (z. B. Interferone und Interleukine) sowie Transkriptionsfaktoren wie z. B. FOXP3 eine Rolle. In letzter Zeit wurde auch zunehmend der Einfluss bestimmter Stoffwechsel-Enzyme auf die humane Immunität diskutiert. Ein besonderes Augenmerk lag hier unter anderem auf dem Enzym Indolamin-2,3-Dioxygenase, welches eine immunsupprimierende Rolle ausüben kann [8]. Insgesamt bieten die vorgenannten Interaktionen neue Ansätze, um die Tumorentstehung und Tumorentwicklung besser zu verstehen und mögliche neue therapeutische Ansatzpunkte zu entwickeln [7].

1.3.4 Bedeutung von Tryptophan und IDO für das humane Immunsystem

Tryptophan ist eine essenzielle Aminosäure. Sie kann nicht eigenständig durch den Körper synthetisiert werden, sondern muss über die Nahrung aufgenommen werden [55, S. 63 ff.]. Der Aminosäure Tryptophan werden umfangreiche Aufgaben im menschlichen Körper zugeschrieben. Sie fungiert als Baustein bei der Proteinbiosynthese und hat darüber hinaus Einfluss auf den Tag-und-Nacht-Rhythmus, vermittelt über das Serotonin-System [55, S. 63 ff.]. Darüber hinaus ist Tryptophan ein essenzieller Bestandteil für die Proliferation von T-Zellen [56]. Tryptophan und dessen beim Stoffwechsel-Abbau beteiligtes Enzym IDO spielt dadurch eine wesentliche Rolle in der Regulation des Immunsystems [8].

IDO wird in allen humanen Gewebetypen exprimiert. Eine vermehrte Expression von IDO findet man innerhalb der Plazenta. Hier ist IDO dafür zuständig, die Abstoßung des allogenen Fötus während der Schwangerschaft durch die maternalen T-Zellen zu verhindern [57]. Außerdem findet man eine vermehrte IDO-Anreicherung innerhalb des Immunsystems in den primären und sekundären lymphatischen Organen [58]. Beim Stoffwechsel-Abbau der Aminosäure Tryptophan spielen zwei Enzyme eine vorrangige Rolle. Beide Enzyme katalysieren den ersten und geschwindigkeitsbestimmenden Schritt des Tryptophan-Abbaus [59]. Die Tryptophan-2,3-Dioxygenase (TDO) wird jedoch im Gegensatz zur Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) hauptsächlich innerhalb der Leber exprimiert und oxidiert L-Tryptophan durch die Bindung an zwei Sauerstoffatome [60]. Das Abbauprodukt des Tryptophans ist das N-formyl-D-Kynurein. Dieses hat eine zytotoxische Wirkung und kann dadurch ebenfalls auf die T-Zell-Regulierung Einfluss nehmen [58]. IDO hat eine Tryptophan-degradierende und immunologische Eigenschaft und beeinflusst die T-Zellregulation. Es hat somit einen wichtigen Einfluss auf das humane Immunsystem [58]. IDO steuert somit einen Weg in der Immunüberwachung in der Mikroumgebung von Tumoren durch die Katalyse des Kynureninstoffwechsels [61, 62]. Durch die Umwandlung des Tryptophans in Kynurein wird die Verfügbarkeit des Tryptophans in den malignen Zellen durch IDO reduziert. Dadurch wird die Entwicklung zytotoxischer T-Zellen gestört und die Entwicklung regulatorischer T-Zellen induziert [61, 63]. Die Expression von IDO in der dendritischen Zelle wird durch die T-Zelle über einen CTLA-4-Signalweg (B7-inhibitorischer Rezeptorsignalweg) induziert. Über die Aktivierung von IDO wird die T-Zellimmunität supprimiert [7, 64]. IDO übt über seine Tryptophan-degradierende Funktion eine immunsupprimierende Funktion aus und unterstützt so Tumore bei deren *Immune escape* [6].

Aus Gründen des Copyrights wurde diese Abbildung
in der Veröffentlichung entfernt.

Abbildung 6: Aktivierung von IDO, übernommen und Copyright: Prendergast et al. Oncogene 2008 [7]

Der Ursprung der Hypothese, dass IDO einen Zusammenhang mit Karzinomen haben könnte, liegt in den 1950er-Jahren begründet. Boyland, Sims und Williams beobachteten einen erhöhten Tryptophan-Katabolismus bei Krebspatient*innen [65]. 1981 wurde IDO erstmals als ein von Interferonen aktivierendes Enzym beschrieben [66]. Zudem kann eine vermehrte Expression von IDO in von Tumor befallenen Lymphknoten, insbesondere antigenexprimierenden Zellen nachgewiesen werden [67]. Im Jahr 1998 veröffentlichten Munn und Kollegen Daten, aus denen ersichtlich wurde, dass die IDO-vermittelte Immunsuppression vermutlich auf die Wechselwirkung zwischen Tryptophan und T-Zellfunktion zurückzuführen ist [68].

1.4 Biomarker: prädiktiv und prognostisch

Prognostische Biomarker dienen der Abschätzung des Krankheitsverlaufes, also der Prognose. Prädiktive Biomarker sollen helfen, die Effektivität der Therapien prospektiv besser abschätzen zu können [69, S. 120 ff., S. 136, 70, 71]. Weiterhin sollen Biomarker dabei helfen, individualisierte und effektive Therapien zu entwickeln, um so das Gesamtüberleben der Patient*innen zu verlängern und die Lebensqualität zu verbessern [70, 72–74]. Zusätzlich können Biomarker, wie etwa der Tumormarker CA19-9, ein sinnvolles Instrument zur Früherkennung, Diagnose-sicherung oder Verlaufskontrolle beim Pankreaskarzinom sein [75]. Für das Pankreaskarzinom sind aktuell folgende prognostische Biomarker beschrieben [70, 72–74, 76–78]:

- das TNM-Stadium
- der Karnofsky-Index, der den Allgemeinzustand widerspiegelt
- der CRP-Serumwert (C-reaktives Protein)
- der Tumormarker CA 19-9 und
- der Tumormarker CEA

Auch wird dem *KRAS* (engl. *Kirsten Rat Sarcoma*)-Gen, welches ein essenzieller Bestandteil des *MAPK* (engl. *Mitogen activated protein kinase*)-Signalweges ist, teilweise ein prognostischer Stellenwert zugesprochen. So zeigten Patient*innen ohne Vorliegen einer *KRAS*-Mutation in verschiedenen Studien ein signifikant besseres Überleben [78, 22].

In der vorliegenden Arbeit sollen verschiedene Biomarker auf deren prognostische beziehungsweise prädiktive Relevanz für die Diagnose, Prognose und Therapie des Pankreaskarzinoms untersucht werden.

Die untersuchten Biomarker lassen sich grob in drei Kategorien einteilen:

1. Klinische Variablen, wie beispielsweise Alter, Geschlecht, Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose sowie das Vorliegen einer Diabetes-mellitus-Erkrankung
2. Inflammatorische Biomarker im peripheren Blut, wie zum Beispiel der CRP-Wert und die Thrombozytenanzahl der Patient*innen
3. Immunologische Biomarker im Tumorgewebe

Darüber hinaus soll insbesondere die Bedeutung der IDO-Expression, die Infiltration von CD8+T-Effektor-Zellen und das Vorliegen von FOXP3+-Regulatorischen-T-Zellen im tumorinfiltrierenden Gewebe betrachtet werden.

2. Material, Methodik und Patient*innen-Kollektiv

2.1 Datenbank: Der Informative Patient

Die Daten der vorliegenden Arbeit wurden im Rahmen des Studienprojektes „*Der Informative Patient*“ in der Medizinischen Klinik und Poliklinik III der Universität München, Campus Großhadern, erhoben (Ethikvotum LMU München, Nr.: 284–10).

Das Ziel des Studienprojektes war die Evaluation des Ansprechens einer Tumorthherapie bei Patient*innen mit gastrointestinalen Tumoren anhand klinischer, laborchemischer und genetischer Faktoren. Patient*innen wurden dazu prospektiv in das Projekt eingeschlossen. Die Datenauswertung erfolgte retrospektiv. Für die Datenbank des Patient*innen-Kollektivs wurde eine Vielzahl an Behandlungsdaten aus den Patient*innenakten erhoben. Außerdem wurden im Rahmen des experimentellen Anteils der Arbeit Tumorproben untersucht, die den Patient*innen im Rahmen der Routineversorgung zur Diagnosestellung entnommen wurden. In Abschnitt 2.2 wird detailliert auf die Methodik des experimentellen Anteils der vorliegenden Arbeit eingegangen. Alle Datenerhebungen und Untersuchungen wurden pseudonymisiert vorgenommen.

Um in das Studienprojekt des „*Informativen Patienten*“ aufgenommen zu werden, mussten folgende Kriterien erfüllt sein:

1. Vorliegen einer durch die Patient*innen unterschriebene Einverständniserklärung
2. Vorliegen eines exokrinen Pankreaskarzinoms

Um experimentelle Untersuchungen, wie in Abschnitt 2.2 aufgeführt, durchführen zu können, musste die Diagnose unabhängig vom Erkrankungsstadium (resektabel, lokal fortgeschritten oder metastasiert) histologisch gesichert sein.

Die Patient*innen wurden über die Medizinische Klinik und Poliklinik III rekrutiert. Über den Zeitraum von 2014 bis 2018 wurden die Daten erhoben und im Anschluss analysiert. Der Beobachtungszeitraum beinhaltet den Zeitraum vom 15.01.2004 (Erstdiagnose einer Patient*in) bis zum 23.08.2018 (letzter *Follow-up*-Zeitpunkt). Bei allen Patient*innen wurden die folgenden Variablen erfasst (Umgang mit fehlenden Werten siehe Abschnitt 3.1.1):

Allgemeine Patient*innendaten:

- Geschlecht
- Geburtsdatum
- Größe (cm)
- Gewicht (kg)

- Teilnahme an einer interventionellen Studie
- Datum Erstdiagnose
- Einnahme von nicht-steroidalen Antirheumatika (NSAR)
- Vorliegen einer Diabestes-mellitus-Erkrankung
- *ECOG*
- *KPS (engl. Karnofsky performance status scale)*

Tumorspezifische Variablen:

- Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose
- Tumorlokalisation
- Histologischer Typ sowie *Grading*
- *TNM-Staging* (klinisch, nach bildgebenden Kriterien, wie Ultraschall, MRT, CT oder pathologisch)
- Erkrankungsstadium und Datum des Beginns einer neoadjuvanten, adjuvanten und palliativen Therapie (bis zur Drittlinientherapie)
- Lokalisation der Metastasen bei Beginn der palliativen Therapie
- Operationsstatus und das Operationsdatum
- Resektionsstatus
- Durchgeführte neoadjuvante, adjuvante oder palliative Therapien (bis zur Drittlinientherapie bei palliativer Therapie) mit jeweiligen Angaben zum Chemotherapeutikum oder Radiochemotherapie, Start- und Enddatum sowie der Anzahl der durchgeführten Zyklen
- Datum und Lokalisation eines Rezidivs und/oder Progress
- Datum des Versterbens oder Datum des letzten „*Follow-up*“-Zeitpunktes.

Werte der Klinischen Chemie der Patient*innen im Serum:

(Die folgenden Werte wurden zum Datum der Erstdiagnose aufgenommen)

- CA 19-9 (U/ml)
- CEA (ng/ml)
- Bilirubin (mg/dl)
- CRP (mg/dl)

Die nachfolgenden Werte wurden zum Datum des Beginns der ersten palliativen Therapie aufgenommen:

- LDH (U/l)
- Leukozyten (G/l)
- Thrombozyten(G/l)
- Hb (g/dl)
- Segmentkernige Granulozyten (%)
- Eosinophile Granulozyten (%)
- Monozyten (%)
- Lymphozyten (%)

An dieser Stelle wird auf die Dissertation von Marie-Louise Legenstein hingewiesen. Im Rahmen ihrer Dissertation wurden Untersuchungen zum Teil an demselben Patient*innen-Kollektiv durchgeführt, wie es in dieser Monografie vorliegt. Ihre wissenschaftliche Arbeit beschäftigt sich mit dem Serumspiegel von *sPD-1* (engl.: *Soluble programmed death protein 1*) und *sPD-L1* (engl.: *Soluble programmed death protein Ligand 1*) bei fortgeschrittenem Pankreaskarzinom. Die Erstellung der Datenbank sowie die Mitarbeit im pathologischen Labor des Pathologischen Instituts der LMU München am Standort Innenstadt und am Campus des Klinikums Großhadern wurde durch uns gemeinsam durchgeführt.

2.2 Experimenteller Teil

Der experimentelle Anteil der vorliegenden Arbeit wurde zusammen mit den Kolleg*innen des Pathologischen Instituts der Ludwig-Maximilian-Universität München des Campus Großhadern durchgeführt. Federführend war hier die Arbeitsgruppe von PD Dr. Steffen Ormanns involviert. Die Herstellung der *TMA (Tissue Microarrays)*, die Etablierung des IDO-Antikörpers und Färbungen der Immunhistochemie zur Detektion der IDO-Expression sowie zur Untersuchung des Ausmaßes der Infiltration von CD8⁺-Effektor-T-Zellen sowie von FOXP3⁺-TRegs wurden in Kooperation mit dem medizinisch-technischen Personal (Andrea Sendelhofert und Anja Heier) des Pathologischen Institutes der Ludwig-Maximilians-Universität München an den Standorten des Klinikums Großhadern und Innenstadt durchgeführt. Die immunhistochemischen Auswertungen wurden gemeinsam mit Herrn PD Dr. Steffen Ormanns durchgeführt.

Die IDO-Expression, das Ausmaß der Infiltration von CD8⁺-Effektor-T-Zellen sowie das Vorliegen von FOXP3-positiven-regulatorischen T-Zellen wurde anhand von *Tissue Microarrays* per Immunhistochemie an Tumorproben untersucht. Um das Ausmaß der Infiltration von CD8⁺-Effektor-T-Zellen sowie FOXP3-positiven-regulatorischen T-Zellen zu untersuchen, wurden bereits etablierte Färbeprotokolle verwendet. In einem zeitlich und technisch sehr aufwendigen Prozess wurde, unter Verwendung von subkutanen Xenotransplantaten (siehe Abbildung 7) aus humanen Zelllinien und in einem murinen Tiermodell, ein neuer, eigener Antikörper etabliert, mit dem es möglich ist, die IDO-Expression auf FFPE-Gewebe (Formalin fixiertes und in Paraffin eingebetteten Gewebe) sicher nachzuweisen [79, S. 155 ff.]. Die Spezifität des Antikörpers wurde dabei mittels eines *Westernblots* zum Nachweis von Proteinen nachgewiesen [79, S. 81]. Die einzelnen Prozessschritte für die Etablierung des Antikörpers sind dabei in der folgenden Abbildung 7 grafisch dargestellt.

Aus Gründen des Copyrights wurde diese Abbildung
in der Veröffentlichung entfernt.

*Abbildung 7: IDO-Antikörper-Etablierung mittels Westernblot und Xenograft,
Copyright: Pathologisches Instituts der Ludwig-Maximilian-Universität München des Campus
Großhadern, AG: PD Dr. med. Steffen Ormanns*

Im Folgenden werden die einzelnen Prozessschritte beschrieben.

2.2.1 Tissue Microarrays

Microarray bezeichnet ein System, welches es ermöglicht, gleichzeitig ablaufende molekularbiologische Untersuchungen und Analysen an geringen Mengen von z. B. Tumormaterial durchzuführen [80]. Bei einem *Tissue Microarray* handelt es sich um ausgestanzte Gewebezylinder von unterschiedlichen Patient*innen, in einem Paraffinblock zusammengesetzt [80]. In der vorliegenden Arbeit wurden Tumorproben untersucht, die den Patient*innen im Rahmen der Diagnosestellung entnommen wurden. Die histologischen Präparate wurden aus dem Primarius oder einer Metastase entnommen. Die Präparate lagen in Form eines Paraffinblocks vor. Lagen die Gewebeproben dem Pathologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München, Campus Großhadern nicht vor, da beispielsweise die Diagnosestellung in einer anderen Klinik erfolgte, wurden die ausstehenden Paraffinblöcke in den entsprechenden Kliniken angefordert. In der folgenden Abbildung 8 ist der Herstellungsprozess eines *TMA*-Blockes und die anschließende Untersuchung des Tumormaterials per Immunhistochemie exemplarisch dargestellt:



Abbildung 8: Exemplarischer Herstellungsprozess eines TMA-Blockes; Copyright und modifiziert nach The Pathology Blog at Johns Hopkins [81]

(1) Zunächst muss in den Paraffinblöcken der vom Tumor befallene Bereich identifiziert werden. (2) Um zwischen normal differenziertem Gewebe und Tumorgewebe unterscheiden zu können, wird ein Schnitt je Paraffinblock mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt.

(3) Mittels Lichtmikroskop können die nun unterschiedlich eingefärbten Areale als malignes oder gesundes Gewebe markiert werden. In der folgenden Abbildung 9 ist exemplarisch ein Auszug eines wenig differenzierten duktales Adenokarzinoms des Pankreas (Blick durch ein Lichtmikroskop) abgebildet.



Abbildung 9: Beispielbild: Wenig differenziertes duktales Adenokarzinom des Pankreas, Copyright und Quelle:[22]

Anschließend werden aus dem Tumoreal Gewebestanden entnommen. Diese werden dann zusammen mit anderen Stanzylindern in einen Paraffinblock eingebettet. Dieser kann anschließend in dünnen Schnitten auf Objektträger aufgebracht werden. Es wurde ein *TMA* aus 98 verschiedenen Tumorproben von 98 verschiedenen Patient*innen angefertigt, aus denen pro Tumorprobe drei jeweils einen Millimeter durchmessende Stanze aus drei unterschiedlichen Tumorlokalisationen entnommen wurde (siehe folgende Abbildung 10) [82].

Aus Gründen des Copyrights wurde diese Abbildung
in der Veröffentlichung entfernt.

*Abbildung 10: Beispielbild: TMA, Modifiziert nach und Copyright:
The Johns Hopkins University Oncology Tissue Services: <https://tmalab.jhmi.edu/>*

(4) Diese TMA-Schnitte wurden dann per Immunhistochemie angefärbt. (5) Die Auswertung erfolgte im Rahmen der vorliegenden Arbeit, abweichend von der Darstellung der Abbildung 8 der John Hopkins Universität nicht digital, sondern manuell gemeinsam mit einem Facharzt für Pathologie (PD Dr.med. Steffen Ormanns).

2.2.2 IDO-Antikörper-Implementierung, immunhistochemische Färbungen von IDO, FOXP3, CD8 und deren Auswertung

Mithilfe von immunhistochemischen Färbungen lässt sich die Expression bestimmter Proteine, hier IDO, CD8 und FOXP3, in Gewebeschnitten nachweisen [79, S. 15]. Im Folgenden wird die Durchführung des immunhistochemischen Nachweises der IDO-Expression im Tumorgewebe beschrieben. Es wurden Paraffinschnittpräparate (4 µm stark) mittels Xylol entparaffiniert und in Wasser rehydriert. Im Anschluss wurde die Antigenität durch eine Hitzebehandlung in einer Mikrowelle mittels „*Antigen-Retrieval*“-Puffer (AR-10, DCS, BioGenex, HK057-5K, Deutschland) hergestellt. In einem Primärantikörper-Puffer wurde der IDO-Primärantikörper (monoklonal Hase, Klon D5J4E, Cell Signaling, Danvers, Massachusetts, USA) in 1:180 verdünnter Form eingesetzt und inkubiert (eine Stunde bei Raumtemperatur). Daraufhin wurde mittels Anti-Hase-Immunglobulin-G-(IgG)-Polymer-Kit (Firma Vector, Burlingame, California, USA) der Primärantikörper detektiert. Die Detektion wurde mit dem Diaminobenzidin-Kit (DAB+, *Agilent Technologies, Santa Clara, United States*) durchgeführt. Eine Gegenfärbung der Zellkerne wurde durch Hematoxylin nach Gill (Vector) erreicht. Weiterhin wurde ein Deckmedium aufgebracht und der Gewebeschnitt mit einem Deckglas versiegelt.

Der Nachweis von FOXP3-positiven-regulatorischen T-Zellen und CD8+-Effektor-T-Zellen wurde am gleichen Gewebeschnitt als Doppelfärbung durchgeführt. Mittels Hitzebehandlung wurde nach Entparaffinierung die Antigenität wiederhergestellt (*Target Retrieval Solution, Agilent Technologies*). Der erste Primärantikörper wurde über 60 Minuten bei Raumtemperatur bei einer Verdünnung von 1:100 inkubiert (CD8, monoklonal Kaninchen, Klon SP16, DCS, Hamburg, Deutschland). Die Expression wurde durch IgG-Polymer-Kit und DAB+, wie bei dem Färbeprozess von IDO, detektiert. Anschließend wurde der zweite Primärantikörper (FOXP3, monoklonal Maus, Klon 236A/E7, Abcam, Cambridge, UK) über 60 Minuten bei Raumtemperatur bei einer Verdünnung von 1:120 inkubiert. Mittels Anti-Maus-Polymer-Kit (ZytoChem Plus (AP) Polymer Anti-Mouse, Zytomed Systems, Berlin, Deutschland) und einer alkalischen-Phosphatase-Reaktion (Permanent AP Red Kit, Zytomed) wurde das Signal nachgewiesen. Die Gegenfärbung erfolgte nach dem gleichen Prozess wie bei IDO beschrieben. Für die Positivkontrolle der IDO-Expression diente gesundes lymphatisches Gewebe einer Tonsille, welches auf jedes der untersuchten Schnittpräparate zusätzlich aufgetragen wurde.

Die Auswertung erfolgte wie folgt: Wiesen Tumore in ihrer Mehrheit eine kräftige zytoplasmatische Expression von IDO auf, so wurden diese als positiv gewertet, alle anderen wurden als negativ angesehen. Die Auswertung der Infiltration des Tumorgewebes durch CD8+-Effektor-T-Zellen bzw. FOXP3+-regulatorische-T-Zellen erfolgte semiquantitativ unter Mithilfe eines Facharztes für Pathologie (PD Dr.med. Steffen Ormanns).

Im Folgenden sind die tabellarischen Protokolle zur Färbung von IDO sowie zur simultanen Doppelfärbung von CD8 und FOXP3 abgebildet.

Protokoll zur IDO Markierung (<i>rabbit monoclonal</i>)	
Firma Antikörper:	Cell Signaling
Produktnummer Antikörper:	86630
Vorbehandlung:	Hitzevorbehandlung mit Antigen Retrieval AR-10 (Fa. DCS, HK057-5KE)
Inkubation Primärantikörper:	60 Minuten bei Raumtemperatur (RT), Verdünnung 1:180
Detektionssystem:	ImmPRESS Anti-Rabbit IgG Polymer Kit (Fa. Vector, MP-7401)
Chromogen:	DAB+ (Fa. Agilent Technologies, K3468)
Gegenfärbung:	Hematoxylin Gill's Formula (Fa. Vector, H-3401)

Tabelle 4: Tabellarisches Protokoll zu IDO (*rabbit monoclonal*)

Protokoll zur Doppelmarkierung CD8+FOXP3	
Vorbehandlung:	Hitzevorbehandlung mit Target Retrieval Solution (Fa. Agilent Technologies, S1699)
1. Primär-Antikörper: CD8 (<i>rabbit monoclonal</i>)	
Firma Antikörper:	DCS
Produktnummer Antikörper:	CI008
Inkubation:	60 Minuten bei Raumtemperatur, Verdünnung 1:100
Detektionssystem:	ImmPRESS Anti-Rabbit IgG Polymer Kit (Fa. Vector, MP-7401)
Chromogen:	DAB+ (Fa. Agilent Technologies, K3468)

2. Primär-Antikörper: FOXP3 (<i>mouse monoclonal</i>)	
Firma Antikörper:	Abcam
Produktnummer	ab20034
Antikörper:	
Inkubation:	60 Minuten bei Raumtemperatur, Verdünnung 1:120
Detektionssystem:	ZytoChem Plus AP Polymer anti-Mouse (Fa. Zytomed Systems, ZUC-077)
Chromogen:	Permanent AP Red Kit (Fa. Zytomed Systems, ZUC-001)
Gegenfärbung:	Hematoxylin Gill's Formula (Fa. Vector, H-3401)

Tabelle 5: Tabellarisches Protokoll zur Doppelmarkierung von CD8 und FOXP3

2.3 Statistische Analysen

Die statistischen Analysen wurden mit *IBM SPSS Statistics* – Version 23.0 (engl. *International Business Machines, Corporation Statistical Package for the Social Sciences*) durchgeführt. Dabei wurden zur Stichprobenbeschreibung deskriptive Statistiken berechnet. Für alle Analysen wurde als Signifikanzniveau $\alpha < 0,05$ bei zweiseitiger Testung festgelegt.

Zur Analyse univariater Zusammenhänge zwischen Alter, Geschlecht, *ECOG*, Stadium bei Erstdiagnose, Resektion des Primarius, CEA, CA19-9, CRP, Thrombozyten, vorliegender Diabetes-mellitus-Erkrankung, IDO-Expression, Infiltration von CD8+-Effektor-T-Zellen und FOXP3+-regulatorischen-T-Zellen mit dem Gesamtüberleben wurden Überlebenszeitanalysen mittels der Kaplan-Meier-Methode durchgeführt [83]. Dabei wurde als Zeitvariable das Gesamtüberleben (*Overall survival, OS*) verwendet. Dafür wurde die Zeit von der Erstdiagnose bis zum Todesdatum verwendet. Bei Patient*innen, die zum Zeitpunkt des letzten *Follow-up* nicht verstorben waren oder bei denen das Todesdatum nicht bekannt war, wurde der Zeitraum bis zur letzten Beobachtung verwendet (zensiert). Als Statusvariable wurde der Überlebensstatus zum Zeitpunkt der letzten Information, also des letzten *Follow-up*, verwendet. Als Gruppenvariable wurde der jeweilige zu untersuchende Prädiktor verwendet.

Zur Analyse univariater Zusammenhänge zwischen IDO-Expression, Infiltration von CD8+-Effektor-T-Zellen und FOXP3+-regulatorischen-T-Zellen mit dem erkrankungsfreien Überleben (*DFS = Disease-free survival*) und dem progressionsfreien Überleben (*PFS = Progression-free survival*) wurden ebenfalls Überlebenszeitanalysen mittels der Kaplan-Meier-Methode [83,84] durchgeführt.

Als Zeitvariable wurde das *DFS*, welches nur Patient*innen mit resektabler Ausgangssituation bei Erstdiagnose und erfolgter Operation in kurativer Absicht inkludiert, wie folgt definiert: Zeitspanne in Monaten vom Zeitpunkt des Operationsdatums bis zum Datum des Auftretens eines Rezidivs oder Tod (jedweder Ursache). Als Statusvariable wurde der Rezidivstatus oder Todeszeitpunkt zum Zeitpunkt der letzten Information verwendet. Als Gruppenvariable diente der jeweilige Prädiktor von Interesse.

Weiterhin wurde als Zeitvariable das *PFS*, welches Patient*innen inkludiert, welche bei Erstdiagnose als lokal fortgeschritten erkrankt oder metastasiert eingestuft wurden, wie folgt definiert: Zeitspanne in Monaten vom Zeitpunkt des Beginns der Systemtherapie (erste palliative Chemotherapie) bis zum Datum des Auftretens eines Progresses oder Tod (jedweder Ursache). Als Statusvariable wurde der Progress-Status oder Todeszeitpunkt zum Zeitpunkt der letzten Information verwendet. Als Gruppenvariable diente der jeweilige Prädiktor von Interesse.

Zur Überprüfung statistisch signifikanter Unterschiede zwischen den Überlebenskurven (sowohl Gesamtüberleben als auch *DFS* und *PFS*) wurde der Log-Rank-Test verwendet [85].

Um Zusammenhänge zwischen klinischen Parametern wie beispielsweise CEA, CA19-9, CRP, Thrombozyten und der IDO-Expression, Infiltration CD8+-Effektor-T-Zellen und FOXP3+-regulatorischen-T-Zellen zu untersuchen, wurden punktbiseriale Korrelationen zwischen diesen Variablen berechnet. Um Zusammenhänge zwischen der IDO-Expression, der Infiltration von CD8+-Effektor-T-Zellen und FOXP3+-regulatorischen-T-Zellen zu untersuchen, wurden Kreuztabellen mit Chi-Quadrat-Tests verwendet, zur Quantifizierung der Stärke der Zusammenhänge wurde Cramers V verwendet. Zur multivariaten Analyse von Zusammenhängen zwischen IDO, CD8+ und FOXP3 und dem Gesamtüberleben wurde eine Cox-Regression [86] mit zusätzlicher Adjustierung für Grading (1+2 vs. 3+4), Stadium bei Erstdiagnose (lokal fortgeschritten vs. resektabel sowie metastasiert vs. resektabel), Alter bei Erstdiagnose sowie *ECOG-Score* (0+1 vs. 2+3) berechnet. Dabei wurde als Einschlussmethode der gleichzeitige Einschluss sämtlicher Variablen verwendet. Als Zeitvariable wurde das Gesamtüberleben verwendet. Als Statusvariable wurde der Überlebensstatus zum Zeitpunkt des letzten *Follow-ups* verwendet. Dabei wurden für die einzelnen Prädiktoren die *Hazard Ratio (HR)* sowie das zugehörige 95 %-Konfidenzintervall (KI) berechnet.

Zur Analyse multivariater Zusammenhänge zwischen IDO, CD8+ und FOXP3 mit dem *DFS* wurde ebenfalls eine Cox-Regression berechnet, wobei ebenfalls die Variablen *Grading* (1+2 vs. 3+4), Alter bei Erstdiagnose sowie der *ECOG-Score* (0+1 vs. 2+3) aufgenommen wurden. Auch hier wurden alle Variablen in einem Schritt eingeschlossen.

3. Ergebnisse – deskriptiv

3.1 Datenbank

3.1.1 Fehlende Werte

Der Prozentsatz fehlender Werte der einzelnen Variablen variierte zwischen 0,0 % und 17,4 % (Mittelwert = 5,60 %). Alle Analysen wurden auf Grundlage der vorhandenen Werte durchgeführt (paarweiser Fallausschluss). Tabelle 6 zeigt die Anzahl fehlender Werte der einzelnen Variablen.

Variable	Anzahl (n)	Fehlende Werte (n)	Fehlende Werte (%)
Geburtsdatum	207	0	0,0
Größe	195	12	5,8
Gewicht	181	26	12,6
Datum Erstdiagnose	207	0	0,0
Alter bei Erstdiagnose	207	0	0,0
Datum Tod / letztes <i>Follow up</i>	207	0	0,0
Bilirubin	192	15	7,2
CA19-9	181	26	12,6
CEA	171	36	17,4
CRP	190	17	8,2
Thrombozyten	191	16	7,7
Geschlecht	207	0	0,0
Staging bei Erstdiagnose	207	0	0,0
Lokalisation Primärtumor	205	2	1,0
Histologie	207	0	0,0
Grading	181	26	12,6
OP	207	0	0,0
OP-Resektionsstatus	96	111	53,6
Diabetes mellitus	162	45	21,7
<i>ECOG</i>	168	39	18,8
IDO im Tumorgewebe	98	109	52,7
CD8 im Tumorgewebe	97	110	53,1
FOXP3 im Tumorgewebe	96	111	53,6

Tabelle 6: Anzahl fehlender Werte

3.1.2 Patient*innen-Kollektiv, Patient*innen-Charakteristika

Das Patient*innen-Kollektiv umfasste insgesamt 207 Patient*innen. Der Median des Alters bei Erstdiagnose betrug 66 Jahre (Range 29–84 Jahre), dabei waren 48,8 % (n = 101) der Patient*innen weiblichen und 51,2 % (n = 106) männlichen Geschlechts. Etwa zwei Drittel der Stichprobe zeigten im *ECOG* keine oder nur leichte Einschränkungen im Aktivitätsniveau (*ECOG* 0 und 1: 72,5 %), lediglich 1 % der Patient*innen zeigte schwere Einschränkungen im Aktivitätsniveau (*ECOG* 3). Die folgende Abbildung 11 zeigt die Erkrankungsstadien der Patient*innen bei Erstdiagnose auf.

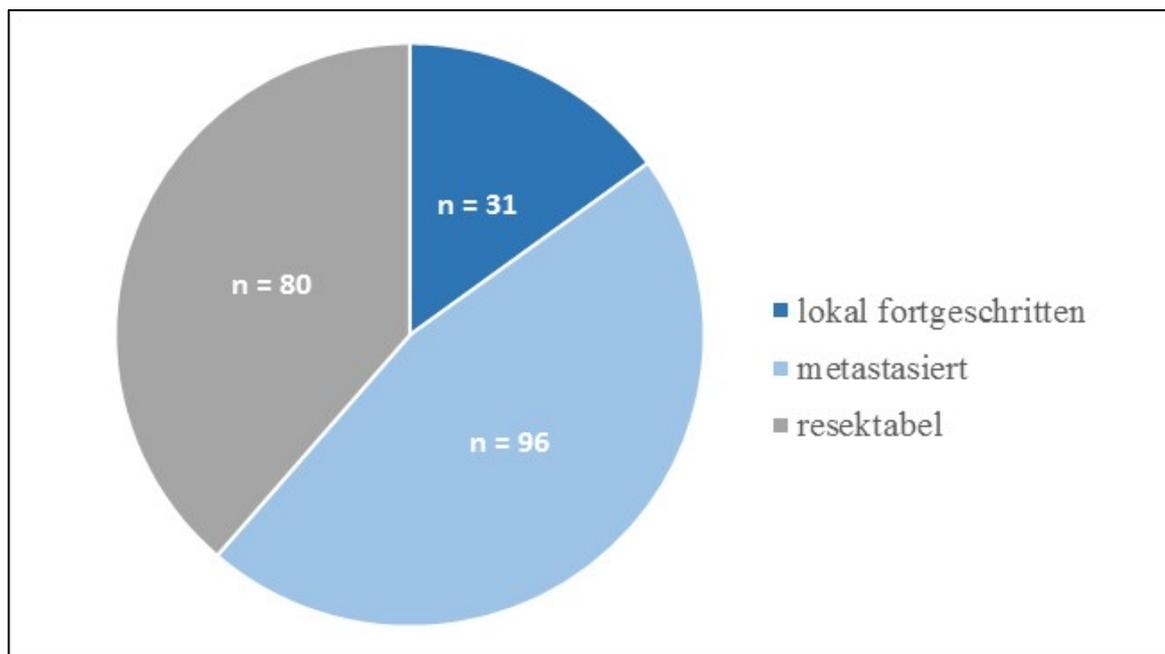


Abbildung 11: Erkrankungsstadien bei Erstdiagnose (n = 207)

Bei 38,7 % (n = 80) der Patient*innen lag bei Erstdiagnose eine resektable Erkrankung ohne Fernmetastasierung vor. Bei 14,9 % (n = 31) der Patient*innen lag ein lokal fortgeschrittenes Stadium vor und bei 46,4 % (n = 96) der Patient*innen lag bei Erstdiagnose eine Fernmetastasierung vor (auf die Lokalisation und Häufigkeiten der Fernmetastasen wird im nächsten Abschnitt eingegangen). Bei 47,3 % (n = 98) der Patient*innen wurde im Verlauf der Erkrankung eine Resektion des Primärtumors durchgeführt.

Die mediane Überlebenszeit des gesamten Kollektivs betrug 18 Monate. 85,5 % der Patient*innen waren bis zum letzten *Follow-up*-Zeitpunkt verstorben. Die folgende Tabelle zeigt allgemeine Charakteristika des Patient*innen-Kollektivs auf:

Charakteristik	Median	Range
Alter (in Jahren)	66	29–84
Körpergröße (in cm)	170,0	150–190
Körpergewicht (in kg)	66,0	41–109
Gesamtüberleben (in Monaten)	18,0	0–122
	n =	%
Geschlecht		
weiblich	101	48,8
männlich	106	51,2
ECOG		
0	72	34,8
1	78	37,7
2	16	7,7
3	2	1,0
Angabe fehlt	39	18,8
Resektion des Primärtumors		
ja	98	47,3
nein	109	52,7
Resektionsstatus		
R0	77	37,2
R1	17	8,2
Rx	2	1,0
Angabe fehlt	111	46,2
Zum Zeitpunkt des letzten Follow-Up:		
Verstorben		
nein	25	12,1
ja	177	85,5
Angabe fehlt	5	2,4

Tabelle 7: Allgemeine Charakteristika des Patient*innen-Kollektivs (n = 207)

Bei etwa der Hälfte des Patient*innen-Kollektives lag, wie in der folgenden Abbildung 12 aufgezeigt, keine Diabetes-mellitus-Erkrankung bei Erstdiagnose vor, etwa ein Fünftel der Patient*innen litt unter einer Diabetes-mellitus-Typ II-Erkrankung.

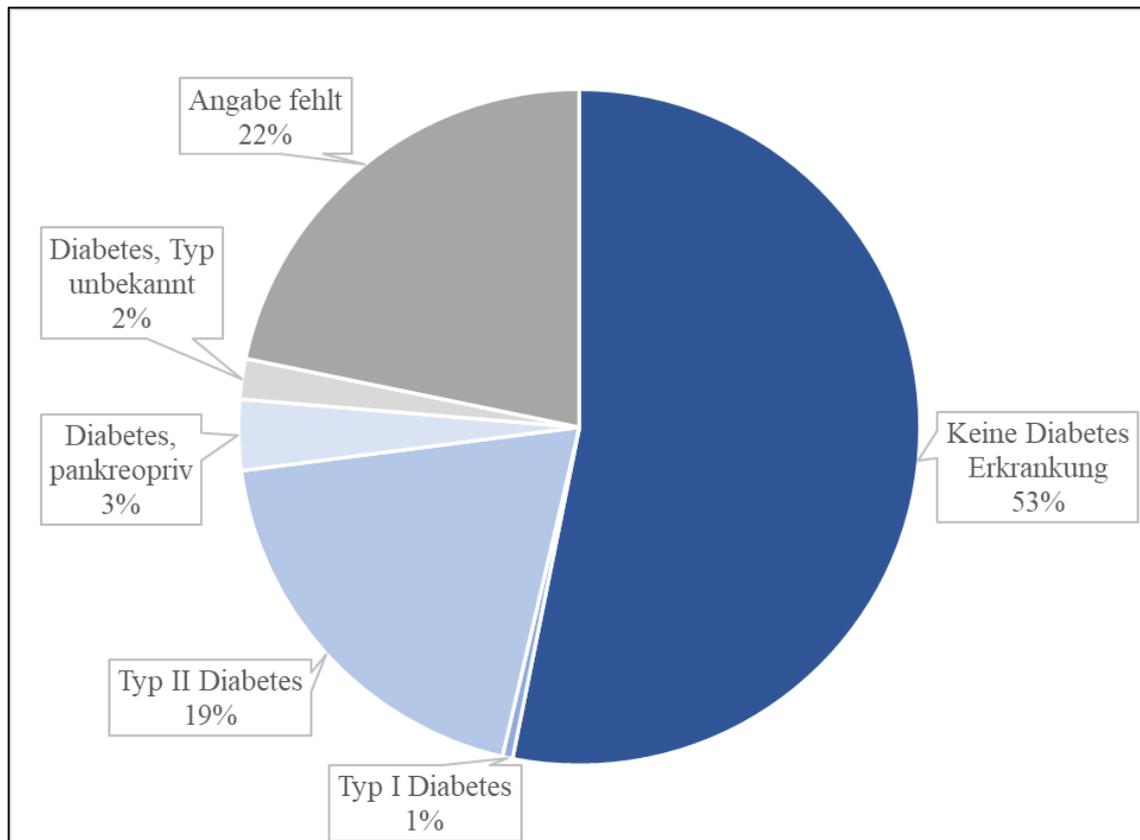


Abbildung 12: Anteil der Diabetes-mellitus-Erkrankungen im Patient*innen-Kollektiv (n = 207)

3.1.3 Tumorspezifische Charakteristika

Im Folgenden werden die tumorspezifischen Charakteristika des Patient*innen-Kollektives dargestellt und erläutert. Mit 91,8 % (n = 190) war das duktales Adenokarzinom der häufigste histologische Typus. Die restlichen 8,2 % verteilten sich in absteigender Reihenfolge auf die folgenden histologischen Typen: Azinuszellkarzinom (2,4 %, n = 5), muzinöses Karzinom (2,4 %, n = 5), adenosquamöses Karzinom (1,4 %, n = 3), papillär-muzinöses Karzinom (0,5 %, n = 1), teilweise siegelringzellig differenziertes Adenokarzinom (0,5 %, n = 1).

Der Primärtumor befand sich am häufigsten im Bereich des Pankreaskopfes: 61,8 % (n = 128). Hingegen sind in dem hier dargestellten Kollektiv nur zwei Patient*innen mit einem Primärtumor im Bereich der Papilla duodeni enthalten (Papillenkarzinom). Die folgende Abbildung 13 zeigt die prozentuale Verteilung der Tumorlokalisation.

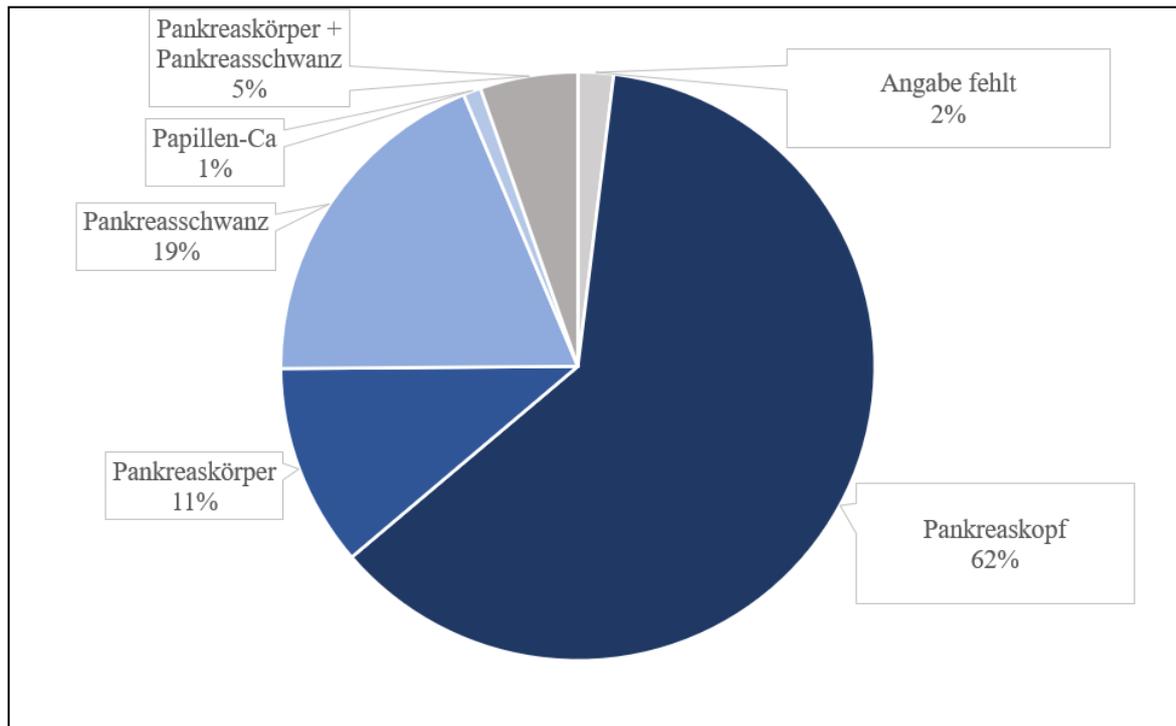


Abbildung 13: Tumorlokalisation (n = 207)

In 206 Fällen wurde eine TNM-Klassifikation erhoben, wobei bei 120 Patient*innen (58 %) klinische Angaben als Grundlage für die TNM-Klassifikation dienten. Bei 86 Patient*innen (41,5 %) konnte eine exakte Klassifizierung anhand histopathologischer Angaben erfolgen. Die folgende Tabelle zeigt eine Übersicht der tumorspezifischen Charakteristika des Patient*innen-Kollektivs.

Charakteristika	n =	%
Tumorlokalisation		
Pankreaskopf	128	61,8
Pankreasschwanz	39	18,8
Pankreaskörper	23	11,1
Pankreaskörper und Pankreasschwanz	11	5,3
Papillen-Karzinom	2	1,0
Angabe fehlend	4	2,0
Histologischer Typ		
Duktales Adenokarzinom	190	91,8
Azinuszellkarzinom	5	2,4
Muszinöses Karzinom	5	2,4
Adenosquamöses Karzinom	3	1,4
Papillär-muzinöses Karzinom	1	0,5

Teilweise siegelringzellig differenziertes Adenokarzinom	1	0,5
Unbekannt	2	1,0
Grading		
G1: Gut differenziert	7	3,4
G2: Mäßig differenziert	61	29,5
G3: Gering differenziert	108	52,2
G4: Undifferenziert	5	2,4
Angabe fehlt	26	12,6
TNM-Klassifikation		
Klinisch (cTNM)	120	58,0
Pathologisch (pTNM)	86	41,5
Angabe fehlt	1	0,5
T		
1	6	2,9
2	20	9,7
3	118	57,0
4	54	26,1
Angabe fehlt	9	4,3
N		
0	52	25,1
1	130	62,8
2	1	0,5
Angabe fehlt	24	11,6
M		
0	105	50,7
1	98	47,4
Angabe fehlt	4	1,9

Tabelle 8: Tumorspezifische Patient*innen-Charakteristika

Zusätzlich wurden laborchemische Parameter aus Blutproben der Patient*innen, erhoben. In der folgenden Tabelle 9 sind die Höhe der Tumormarker CA19-9, CEA, LDH sowie Werte der Thrombozyten, des Bilirubins und des Entzündungswertes, CRP, zum Zeitpunkt der Erstdiagnose angegeben.

Laborchemische Parameter, erhoben zum Zeitpunkt der Erstdiagnose	Median	Range
CA19-9 (U/ml)	166,0	0–422000,0
CEA (ng/ml)	4,2	0–483,0
LDH (U/l)	217,0	112,0–670,0
Thrombozyten (G/l)	243,0	33,60–919,0
Bilirubin (mg/dl)	0,7	0,2–39,8
CRP (mg/dl)	0,67	0,0–39,0

Tabelle 9: Laborklinische Parameter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose

Bei 68 Patient*innen, die sich im Vorfeld einer Primarius-Resektion unterzogen hatten, trat im Verlauf ein Rezidiv auf. In der folgenden Abbildung 14 wird die Verteilung der Lokalisationen der Rezidive dargestellt.

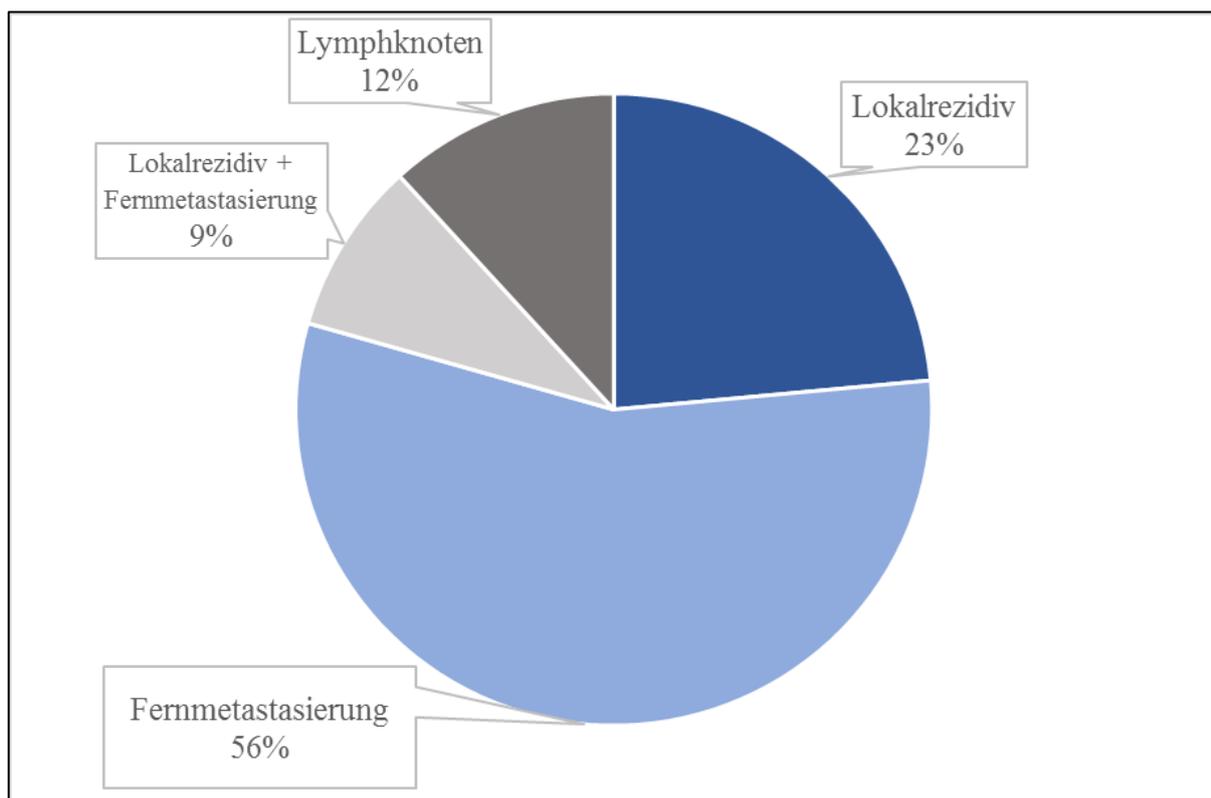
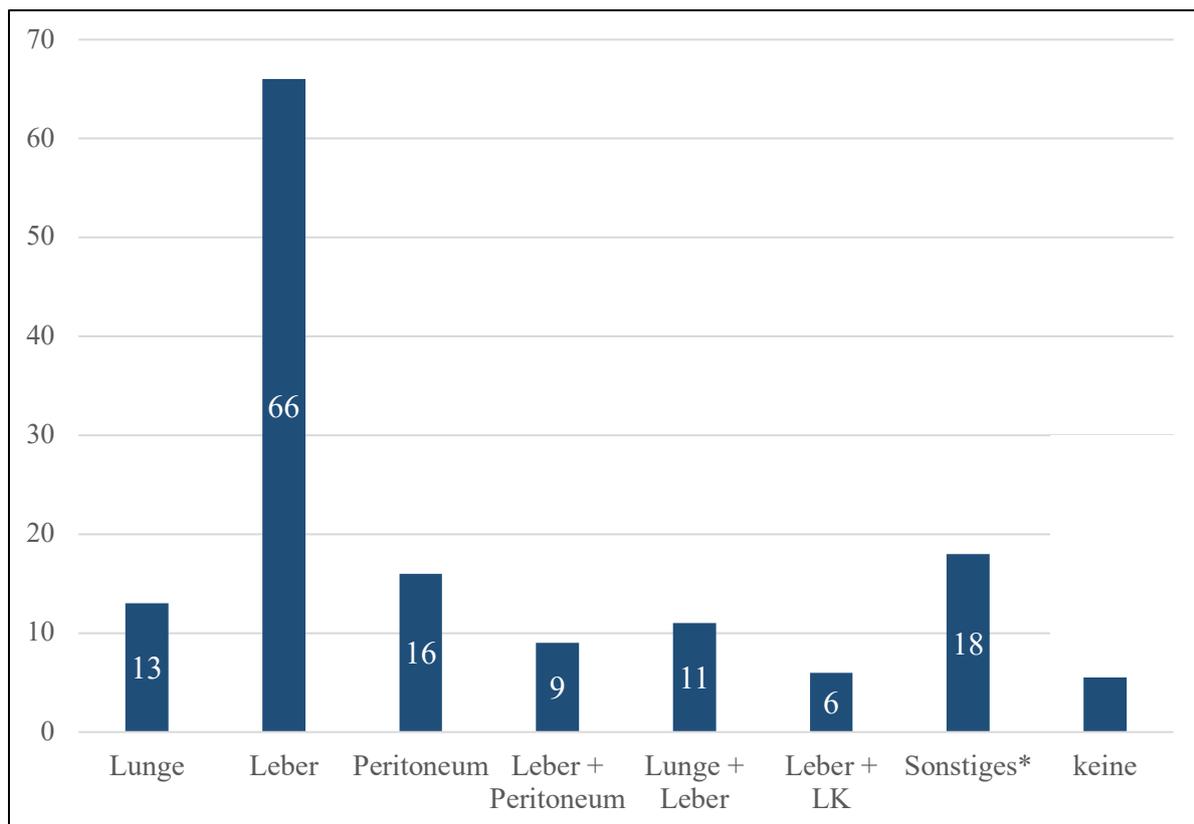


Abbildung 14: Lokalisation Rezidiv (n = 68, Angabe fehlt = 139)

Wie im letzten Abschnitt bereits dargestellt, lag bei 61,3 % (n = 127) der Patient*innen eine lokal fortgeschrittene oder metastasierte Ausgangssituation bei Erstdiagnose vor.

Bei Beginn der ersten palliativen Chemotherapie lagen bei 139 Patient*innen (67,2 %) Fernmetastasen vor. Dieses Patient*innen-Kollektiv inkludiert Patient*innen, welche initial eine resektable Erkrankung aufwiesen und im Verlauf Metastasen zeigten und daraufhin eine palliative Therapie erhielten. Am häufigsten befanden sich Metastasen in der Leber, 66 Patient*innen (31,8 %) waren von einer Lebermetastasierung betroffen. Bei 16 Patient*innen lag ein Peritonealbefall vor und bei 13 Patient*innen war die Lunge von einer hämatogenen Streuung betroffen. In der folgenden Abbildung 15 werden weitere Lokalisationen der Metastasen an einem oder mehreren Organen im vorliegenden Patient*innen-Kollektiv aufgezeigt.



*Sonstiges: Häufigkeiten kleiner gleich 5: Knochen (1), Lunge + abdominelle LK (4), Abdominelle LK (5), Leber + Lunge + Lymphknoten (3), Leber + Peritoneum (1), Abtropfmetastasen auf das Ovar (1), Peritoneum + Knochen (1), „Sonstiges“ (2).

Abbildung 15: Lokalisation Metastasen bei Beginn palliativer Chemotherapie (n = 158, da hier Mehrfachnennungen möglich waren, ist hier n > 139, Angabe fehlt = 49; Summe = 207)

3.1.4 Therapien

3.1.4.1 Neoadjuvante Chemotherapie

Eine neoadjuvante Chemotherapie erhielten 10 Patient*innen (4,8 %). Die Wirkstoffe und Verteilungen der neoadjuvanten Chemotherapeutika werden in der folgenden Abbildung 16 aufgezeigt.

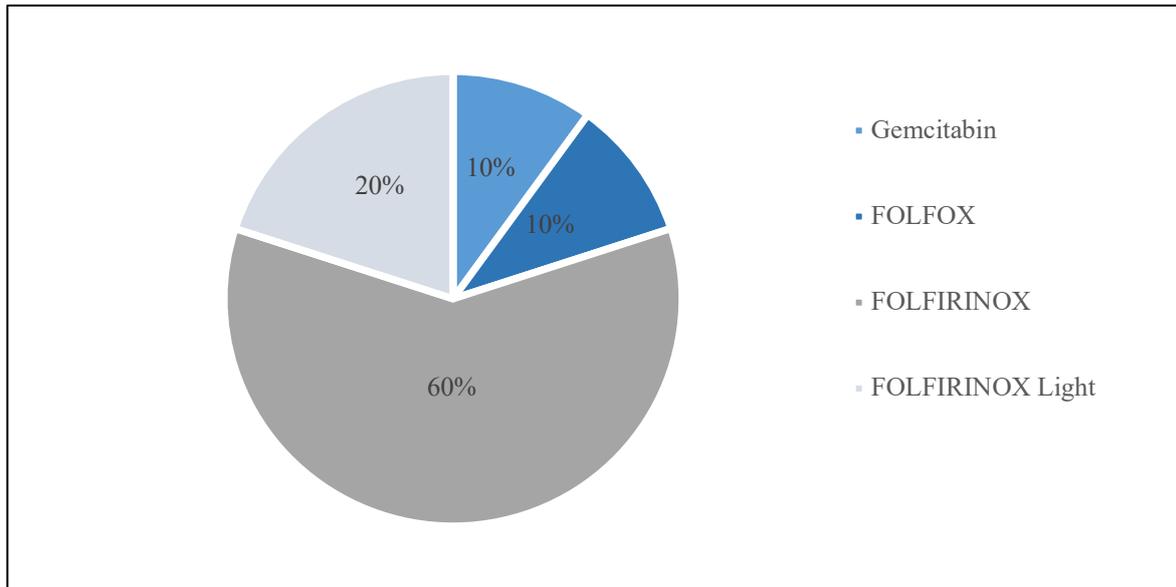


Abbildung 16: Neoadjuvante Chemotherapie (n = 10)

3.1.4.2 Adjuvante Chemotherapie

83 Patient*innen erhielten eine adjuvante Chemotherapie. 80,7 % der Patient*innen (n = 67) erhielten eine Mono-Chemotherapie mit Gemcitabin. 6 Patient*innen (7,2 %) erhielten eine Radiochemotherapie. Weiterhin erhielten jeweils 2 Patient*innen (1 %) folgende Therapien: Gemcitabin (Gem) plus Cisplatin (Cis), FA/FU (5-Fluoruracil + Folsäure), Teysuno (Tegafur/Gimeracil/Oteracil). Weiterhin erhielt jeweils eine Patient*in die in der nachstehenden Tabelle beschriebenen Therapien.

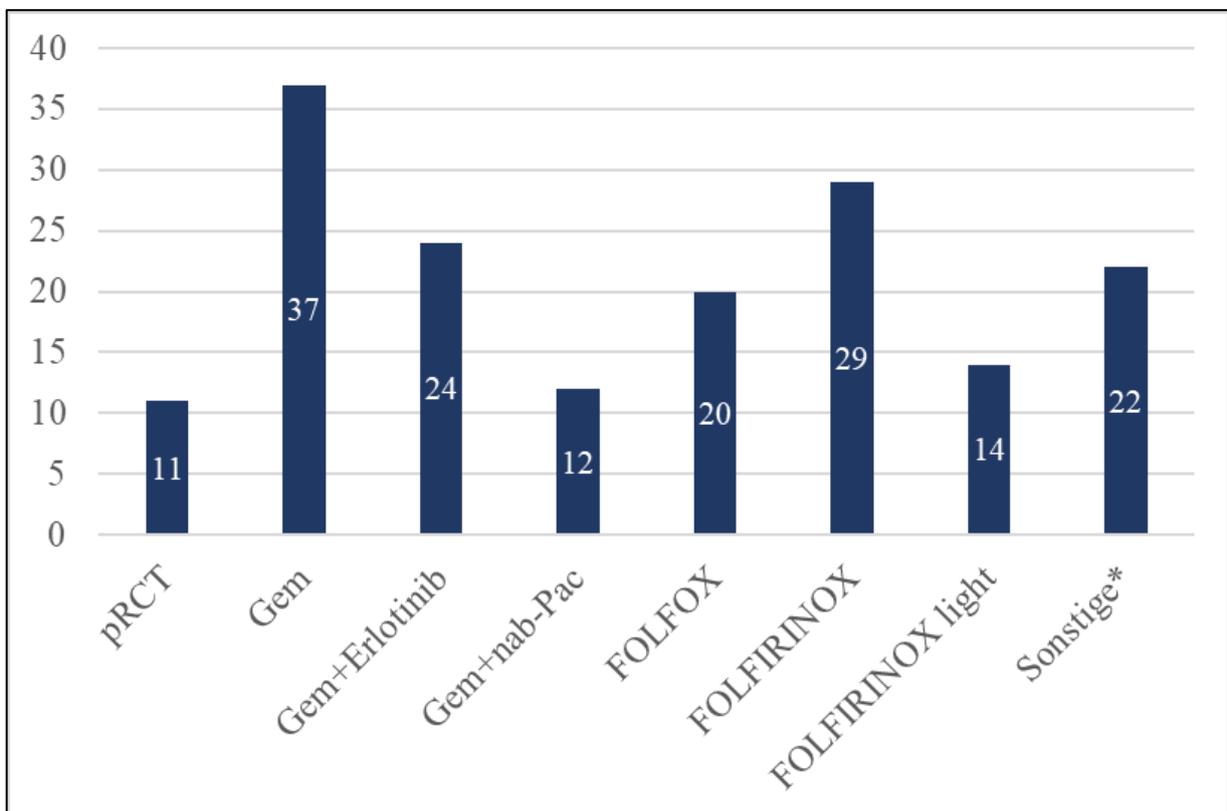
Adjuvante Therapie	Häufigkeit (n = 83)	Prozentwerte (in %)
Gemcitabin	67	80,7
aRCT	6	7,2
Gemcitabin + Cisplatin	2	2,4
Teysono	2	2,4
Gemcitabin + Erlotinib	1	1,2
Capecitabin	1	1,2
Gemcitabin + Nab-Paclitaxel	1	1,2
HEAT-Studie*	1	1,2
FA/FU	2	2,4

* Gemcitabin + Cisplatin + lokoregionäre Hyperthermiebehandlung

Tabelle 10: Adjuvante-Chemotherapie-Schemata mit absoluten und relativen Werten

3.1.4.3 Palliative Chemotherapie

Es erhielten 167 Patient*innen eine palliative Erstlinie-Chemotherapie (es wurden Daten bis zur Drittlinienchemotherapie aufgenommen, aufgrund der vorliegenden Fragestellung werden hier lediglich die Daten für die palliative Erstlinientherapie abgebildet). 37 Patient*innen (22,2 %) wurden mit Gemcitabin, 29 Patient*innen (17,4 %) mit FOLFIRINOX, 24 Patient*innen (14,4 %) mit Gemcitabin plus Erlotinib, 20 Patient*innen (12,0 %) mit FOLFOX, 14 Patient*innen (8,4 %) mit FOLFIRINOX light, 12 Patient*innen (7,2 %) mit Gemcitabin plus nab-Paclitaxel (Gem+nab-Pac) und weitere 11 Patient*innen (6,6 %) mit einer Radiochemotherapie behandelt. Darüber hinaus erhielten 20 Patient*innen (12 %) andere Therapiekonstellationen, welche in der folgenden Abbildung 17 in der Legende aufgeführt werden.



* Sonstiges: Häufigkeiten kleiner gleich 5: Gem + Cis (1), Capeciatbin (4), Capecitabin+Erlotinib (2), FAFU (1), Gemcitabin+Everolimus(1), SIRT+FOLFOX (1), FOLFIRI (2), Chemoembolisation (1), Gemcitabin+Refamitinib (3), Teysuno (1), Gemcitabin+Afatinib (3)

Abbildung 17: Palliative Chemotherapie (n = 167, Angabe fehlt = 40)

3.2 Experimenteller Teil

3.2.1 Pathologie-Kohorte und histologische Präparate

Wie in Tabelle 11 und Abbildung 18 dargestellt, lagen dem Pathologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München des Campus Großhadern bei 98 Patient*innen (47,3 %) histologische Präparate für die folgenden Analysen vor. Bei 109 Patient*innen (52,7 %) lagen keine histologischen Präparate zur weiteren Analyse vor. Gründe für das fehlende Vorliegen der histologischen Präparate waren unter anderem, dass die Erstdiagnose in einer anderen Klinik gestellt wurde und uns die Paraffinblöcke nicht zur Verfügung gestellt werden konnten oder dass die vorhandenen Paraffinblöcke zu geringes Tumormaterial für die Analysen beinhalteten.

Charakteristik	n =	%
Histologisches Präparat für Analysen vorliegend		
ja	98	47,3
nein	109	52,7
Gesamt:	207	100 %

Tabelle 11: Anzahl histologischer Präparate

Abbildung 18 zeigt einen Überblick über die differenzierte Darstellung der Pathologie-Kohorte. Zum einen werden die unterschiedlichen Erkrankungsstadien der Patient*innen bei Erstdiagnose innerhalb der Pathologie-Kohorte aufgezeigt und zum anderen wird eine Differenzierung der untersuchten histologischen Präparate dargestellt (siehe hierzu auch Abb. 19).

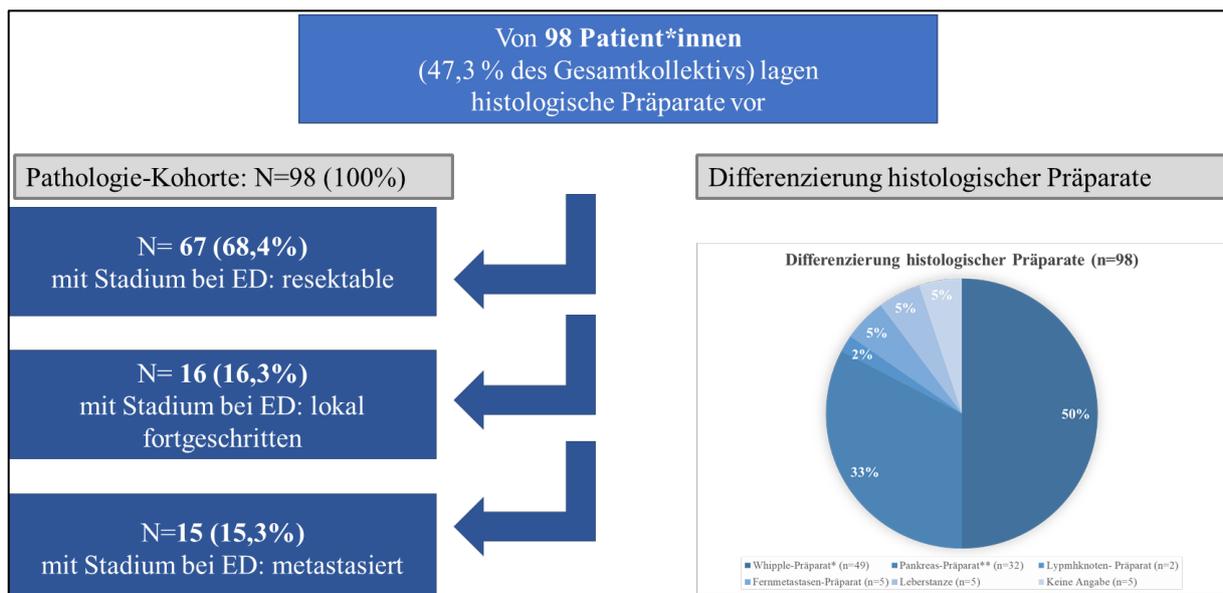
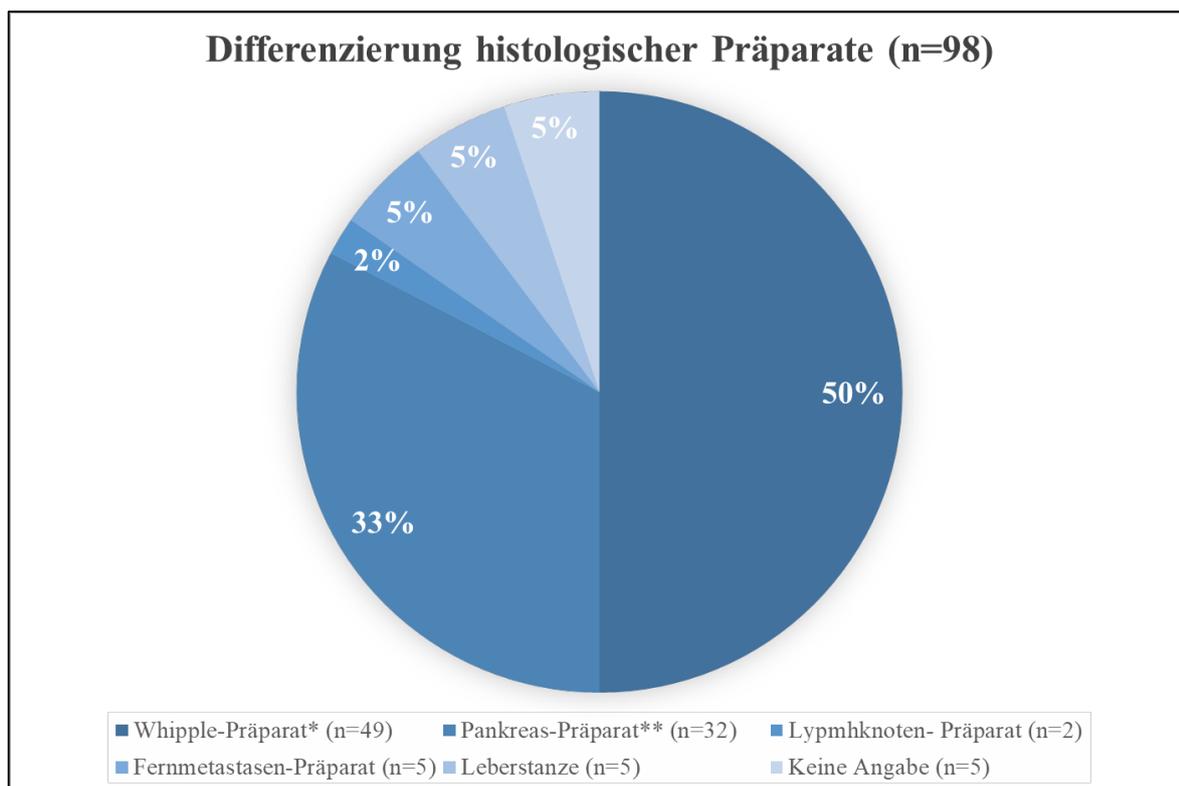


Abbildung 18: Differenzierung Pathologie-Kohorte und histologische Präparate

Für die Analysen lagen von 98 Patient*innen (47,3 %) histologische Präparate vor. Diese Pathologie-Kohorte beinhaltet Patient*innen mit unterschiedlichen Erkrankungsstadien bei Erstdiagnose. Der größte Anteil der Kohorte, 68,4 % (n = 67), hatte ein resektables Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose, bei 16,3 % (n = 16) der Patient*innen lag ein lokal fortgeschrittenes Erkrankungsstadium vor und bei 15,3 % (n = 15) war die Erkrankung bei Erstdiagnose bereits in einem metastasierten Zustand.

Abbildung 19 zeigt die Differenzierung der untersuchten histologischen Präparate. Der Großteil der Analysen (83 %) wurde an Präparaten des Primarius durchgeführt. Bei 12 % der histologischen Präparate handelte es sich um Biopsien aus Leberstanzen, Lymphknotenmetastasen oder Fernmetastasen. Bei 5 % der analysierten histologischen Präparate konnte das untersuchte Ursprungsgewebe nicht explizit benannt werden, da die externen Pathologien keine umfangreichen Informationen zur Verfügung stellten oder die spezifische Dokumentation fehlte.



* inkl. n = 4 (Whipple + LK), ** inkl. n = 10 (Pankreas + Milz), n = 1 (Pankreas + Milz + Leber), n = 1 (Pankreas + LK)

Abbildung 19: Differenzierung histologischer Präparate (n = 98)

3.2.2 IDO-Expression

Abbildung 20 zeigt, dass im Rahmen der Untersuchung der IDO-Expression in Tumorzellen und Stroma alle vorliegenden 98 Gewebeproben untersucht wurden. Hier lag bei 15 Patient*innen (15,3 %) eine IDO-Expression vor. Bei 83 Patient*innen (84,7 %) konnte keine IDO-Expression nachgewiesen werden.

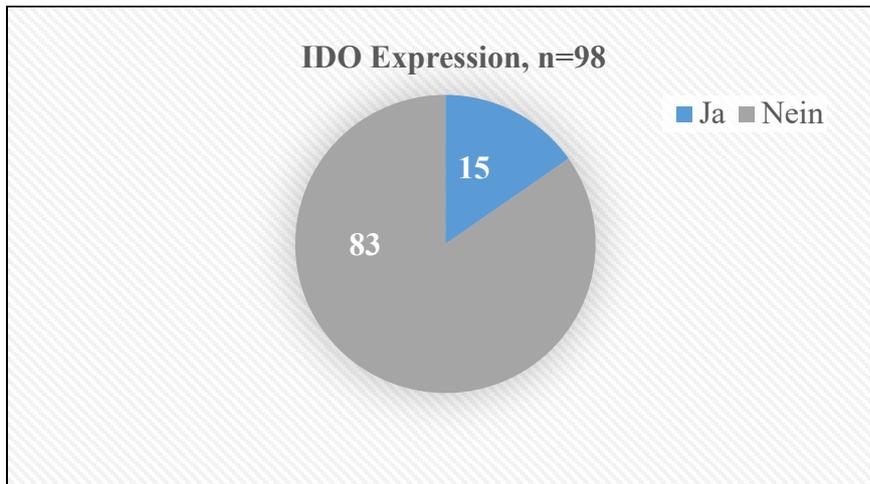


Abbildung 20: IDO-Expression (untersuchte Gewebeproben, n = 98)

3.2.3 CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration

Im Rahmen der Untersuchung auf eine mögliche CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration des Tumorgewebes wurden 97 Gewebeschnitte untersucht (eine Gewebeprobe konnte aufgrund unzureichenden Tumormaterials nicht für diese Untersuchung verwendet werden). Eine messbare CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration lag bei 28 Patient*innen (28,9 %) vor. Bei 69 Patient*innen (71,1 %) konnte keine nennenswerte CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration nachgewiesen werden, wie in Abbildung 21 dargestellt.

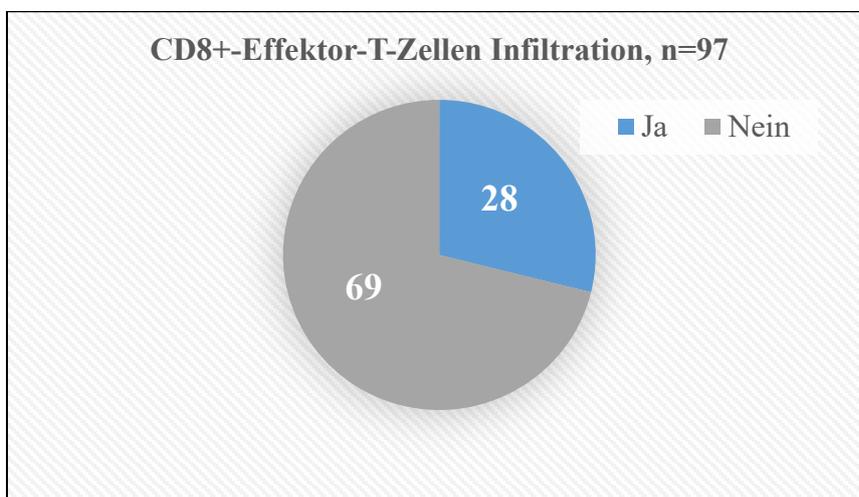


Abbildung 21: CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (untersuchte Gewebeproben, n = 97)

3.2.4 Nachweis FOXP3+-regulatorischer T-Zellen im Tumorgewebe

Im Rahmen der Untersuchung des Tumorgewebes auf eine mögliche Infiltration durch FOXP3+-regulatorische-T-Zellen im Tumorgewebe wurden 96 Gewebeschritte untersucht (zwei Gewebeproben konnten aufgrund von unzureichendem Tumormaterial nicht für diese Untersuchung verwendet werden). Ein Nachweis von FOXP3+-TRegs im Tumorgewebe gelang bei 48 Patient*innen (50 %) vor. Bei den anderen 48 untersuchten Gewebeproben (50 %) des Kollektivs konnte, wie in Abbildung 22 dargestellt, keine signifikante Infiltration durch FOXP3+-TRegs im Tumorgewebe nachgewiesen werden.

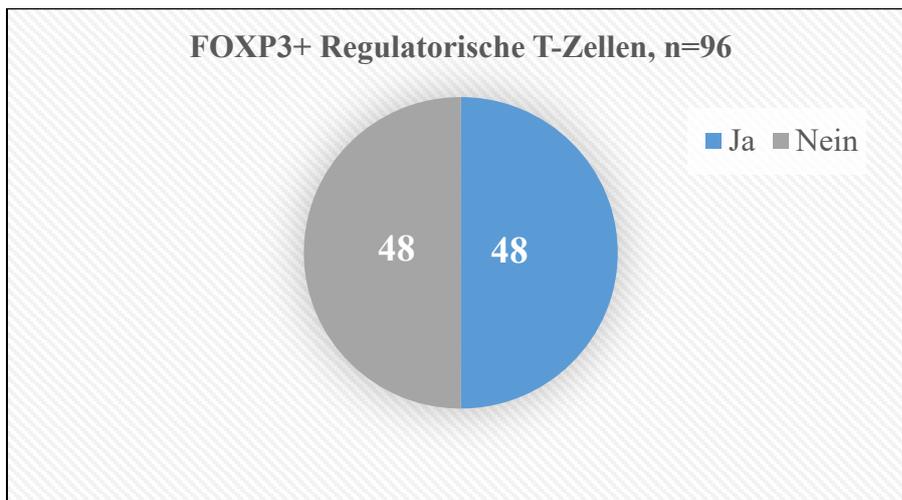


Abbildung 22: Nachweis FOXP3+-TRegs im Tumorgewebe (untersuchte Gewebeproben, n = 96)

In der folgenden Tabelle sind die zuvor beschriebenen Daten noch einmal zusammengefasst:

IDO-Expression			Signifikante Infiltration des Tumorgewebes durch CD8+-T-Effektorzellen			Signifikante Infiltration des Tumorgewebes durch regulatorische FOXP3+-T-Zellen		
Ja	Nein	Σ	Ja	Nein	Σ	Ja	Nein	Σ
n = 15	n = 83	n = 98	n = 28	n = 69	n = 97	n = 48	n = 48	n = 96
15,3 %	84,7 %	100 %	28,9 %	71,1 %	100 %	50 %	50 %	100 %

Tabelle 12: Übersicht der Expression von IDO und Infiltration von CD8+-T-Effektorzellen und regulatorischen FOXP3+-T-Zellen

3.2.5 Klinische Charakteristika: IDO, CD8+, FOXP3

Im folgenden Abschnitt wird die Kohorte, die im Pathologischen Institut untersucht und analysiert worden ist, nach ausgewählten klinischen Charakteristika und dem Expressions- und Infiltrationsstatus von IDO, CD8+-Effektor-T-Zellen und dem Nachweis von FOXP3+-regulatorischen T-Zellen im Tumorgewebe beschrieben.

3.2.5.1 Expression von IDO

Tabelle 13 stellt ausgewählte klinische Charakteristika wie Alter, Geschlecht, *ECOG*, das Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose und ob eine Operation in kurativer Absicht durchgeführt wurde dar. Die klinischen Charakteristika werden jeweils aufgesplittet beschrieben in Abhängigkeit davon, ob eine Expression von IDO in Tumorzellen und dem Stroma vorliegt oder nicht.

		Expression von IDO		
Charakteristika		Nein Anzahl	Ja Anzahl	Gesamt
Geschlecht	Männlich	45 (54,2 %)	6 (40 %)	51
	Weiblich	38 (45,8 %)	9 (60 %)	47
	Gesamt	83 (100 %)	15 (100 %)	98
Charakteristika		Nein	Ja	Gesamt
<i>ECOG</i>	0	30 (44,8 %)	4 (40 %)	34
	1	29 (43,3 %)	6 (60 %)	35
	2	7 (10,4 %)	0 (0 %)	7
	3	1 (1,5 %)	0 (0 %)	1
	Gesamt	67 (100 %)	10 (100 %)	77
Charakteristika		Nein	Ja	Gesamt
Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose	lokal fortgeschritten	13 (15,7 %)	4 (26,7 %)	17

	metastasiert	15 (18,1 %)	1 (6,7 %)	16
	resektabel	55 (66,3 %)	10 (66,7 %)	65
	Gesamt	83 (100 %)	15 (100 %)	98
Charakteristika		Nein	Ja	Gesamt
OP in kurativer Absicht	Keine OP	16 (19,3 %)	1 (6,7 %)	17
	OP	67 (80,7 %)	14 (93,3 %)	81
	Gesamt	83 (100 %)	15 (100 %)	98
Charakteristika	Alter in Jahren			
		64,0	68,3	

Tabelle 13: Übersicht klinischer Charakteristika und Expression von IDO

Das Durchschnittsalter der Patient*innen war bei vorliegender IDO Expression 4,3 Jahre höher als wenn keine IDO-Expression vorlag. Die Geschlechterverteilung lag bei 40 % Männern und 60 % Frauen. Es wurde nur eine IDO-Expression im Tumorgewebe oder Stroma gesehen bei Patient*innen mit einem *ECOG* von 0 und 1 sowie vor allem bei Patient*innen mit einem resektablen Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose (66,7 %). Bei 93,3 % der Patient*innen, bei denen eine IDO-Expression gesehen wurde, wurde eine OP in kurativer Absicht durchgeführt.

3.2.5.2 CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration

Tabelle 14 stellt ausgewählte klinische Charakteristika wie Alter, Geschlecht, *ECOG*, das Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose und ob eine Operation in kurativer Absicht durchgeführt wurde dar. Die klinischen Charakteristika werden jeweils aufgesplittet dargestellt in Abhängigkeit davon, ob eine Infiltration von CD8+-Effektor-T-Zellen vorliegt oder nicht.

		CD8+-Effektor-T-Zellen Infiltration		
Charakteristika		Nein	Ja	Gesamt
Geschlecht	Männlich	36 (52,2 %)	14 (50 %)	50
	Weiblich	33 (47,8 %)	14 (50 %)	47
	Gesamt	69 (100 %)	28 (100 %)	97
Charakteristika		Nein	Ja	Gesamt
<i>ECOG</i>	0	27 (49,0 %)	6 (28,5 %)	33
	1	22 (40 %)	13 (61,9 %)	35
	2	6 (11,0 %)	1 (4,8 %)	7
	3	0 (0 %)	1 (4,8 %)	1
	Gesamt	55 (100 %)	21 (100 %)	76
Charakteristika		Nein	Ja	Gesamt
Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose	lokal fortgeschritten	11 (15,9 %)	6 (21,4%)	17
	metastasiert	11 (15,9 %)	4 (14,3 %)	15
	resektabel	47 (68,2 %)	18 (64,3 %)	65
	Gesamt	69	28	97

		(100 %)	(100 %)	
Charakteristika		Nein	Ja	Gesamt
OP in kurativer Absicht	Keine OP	13 (18,8 %)	3 (10,7 %)	16
	OP	56 (81,2 %)	25 (89,3 %)	81
	Gesamt	69 (100 %)	28 (100 %)	97
Charakteristika	Alter in Jahren			
		63,9	66,3	

Tabelle 14: Übersicht klinischer Charakteristika und CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration

Die Geschlechterverteilung der hier dargestellten Kohorte ist genau ausgeglichen verteilt (50 % Männer und 50 % Frauen). Das Durchschnittsalter der Patient*innen war bei vorliegender Infiltration von CD8+-Effektor-T-Zellen 3,6 Jahre höher gegenüber dem Zustand, dass keine Infiltration durch CD8+-Effektor-T-Zellen vorlag. Eine Infiltration von CD8+-Effektor-T-Zellen wurde bei 61,9 % der Patient*innen gesehen, die einen *ECOG* von 1 aufzeigten, 28,5 % der Patient*innen hatten einen *ECOG* von 0 und jeweils nur ein*e Patient*in (4,8 %) hatten bei Erstdiagnose einen *ECOG* von 2 oder 3. Bei 89,3 % der Patient*innen, bei denen eine Infiltration durch CD8+-Effektor-T-Zellen gesehen wurde, wurde eine OP in kurativer Absicht durchgeführt.

3.2.5.3 Nachweis FOXP3+-regulatorischer T-Zellen im Tumorgewebe

Tabelle 15 stellt ausgewählte klinische Charakteristika wie Alter, Geschlecht, *ECOG*, das Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose und ob eine Operation in kurativer Absicht durchgeführt wurde dar. Die klinischen Charakteristika werden jeweils aufgesplittet dargestellt in Abhängigkeit davon, ob ein Nachweis FOXP3+-regulatorischer T-Zellen im Tumorgewebe vorliegt oder nicht.

		Nachweis FOXP3+-regulatorischer T-Zellen im Tumorgewebe		
Charakteristika		Nein	Ja	Gesamt
Geschlecht	Männlich	26 (54,2 %)	23 (48 %)	49
	Weiblich	22 (45,8 %)	25 (52 %)	47
	Gesamt	48 (100 %)	48 (100 %)	96
Charakteristika		Nein	Ja	Gesamt
<i>ECOG</i>	0	17 (48,6 %)	16 (40 %)	33
	1	13 (37,1 %)	21 (52,5 %)	34
	2	5 (14,3 %)	2 (5 %)	7
	3	0 (0 %)	1 (2,5 %)	1
	Gesamt	35 (100 %)	40 (100 %)	75
Charakteristika		Nein	Ja	Gesamt
Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose	lokal fortgeschritten	8 (16,7 %)	9 (18,7 %)	17
	metastasiert	7 (14,5 %)	8 (16,7 %)	15

	resektabel	33 (68,8 %)	31 (64,6 %)	64
	Gesamt	48 (100 %)	48 (100 %)	96
Charakteristika		Nein	Ja	Gesamt
OP in kurativer Absicht	Keine OP	9 (18,8 %)	7 (14,6 %)	16
	OP	39 (81,2 %)	41 (85,4 %)	80
	Gesamt	48 (100 %)	48 (100 %)	96
Charakteristika	Alter in Jahren			
		64,2	65,2	

Tabelle 15: Übersicht klinischer Charakteristika und Nachweis FOXP3+-regulatorischer T-Zellen im Tumorgewebe

Die Geschlechterverteilung der hier dargestellten Kohorte ist ausgeglichen verteilt (48 % Männer und 52 % Frauen). Das Alter der Patient*innen lag durchschnittlich beim Nachweis von FOXP3+-regulatorischen T-Zellen ein Jahr höher gegenüber dem Zustand, dass keine FOXP3+-regulatorischen T-Zellen im Tumorgewebe nachgewiesen werden konnten. Ein Nachweis von FOXP3+-regulatorischen T-Zellen im Tumorgewebe wurde vor allem bei Patient*innen gesehen, die einen ECOG von 0 (40 %) oder 1 (52,5 %) aufzeigten. Bei 85,4 % der Patient*innen, bei denen FOXP3+-regulatorische T-Zellen im Tumorgewebe nachgewiesen wurden, wurde eine OP in kurativer Absicht durchgeführt.

4. Ergebnisse – Korrelations- und Überlebensanalysen

4.1 Univariate Analysen

Im Folgenden werden die durchgeführten univariaten Analysen dargestellt. Klinische Variablen wie Alter, Geschlecht, Allgemeinzustand, Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose, Resektion des Primärtumors, Vorliegen einer Diabetes-mellitus-Erkrankung und laborchemische Parameter (CRP, CEA, CA19-9 und Thrombozytenanzahl) wurden mit dem Gesamtüberleben korreliert. Hier wurde das gesamte Patient*innen-Kollektiv in die Analysen inkludiert. Unter 4.2 werden für die Korrelations- und Überlebensanalysen für die immunologischen Biomarker im Tumorgewebe Subgruppen gebildet.

4.1.1 Klinische Variablen

4.1.1.1 Alter

Um den Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben (*Overall survival, OS*) und dem Alter der Patient*innen zu untersuchen, wurde ein Median-Split, orientiert am medianen Alter von 66 Jahren, durchgeführt. Tabelle 16 zeigt das mediane Überleben der Altersgruppen und das Ergebnis des Log-Rank-Tests. Abbildung 23 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven der Altersgruppen. Bezüglich des medianen *OS* der beiden Gruppen zeigte sich ein numerischer Unterschied von 2,4 Monaten zugunsten der älteren Patient*innengruppe. Dieser Unterschied erreichte jedoch keine statistische Signifikanz ($p = 0,38$).

Alter	n =	Medianes <i>OS</i> in Monaten	p-Wert
Unter 66	103	16,75	0,38
Größer gleich 66	104	19,13	

Tabelle 16: Median des *OS* entsprechend Alter und Log-Rank-Test

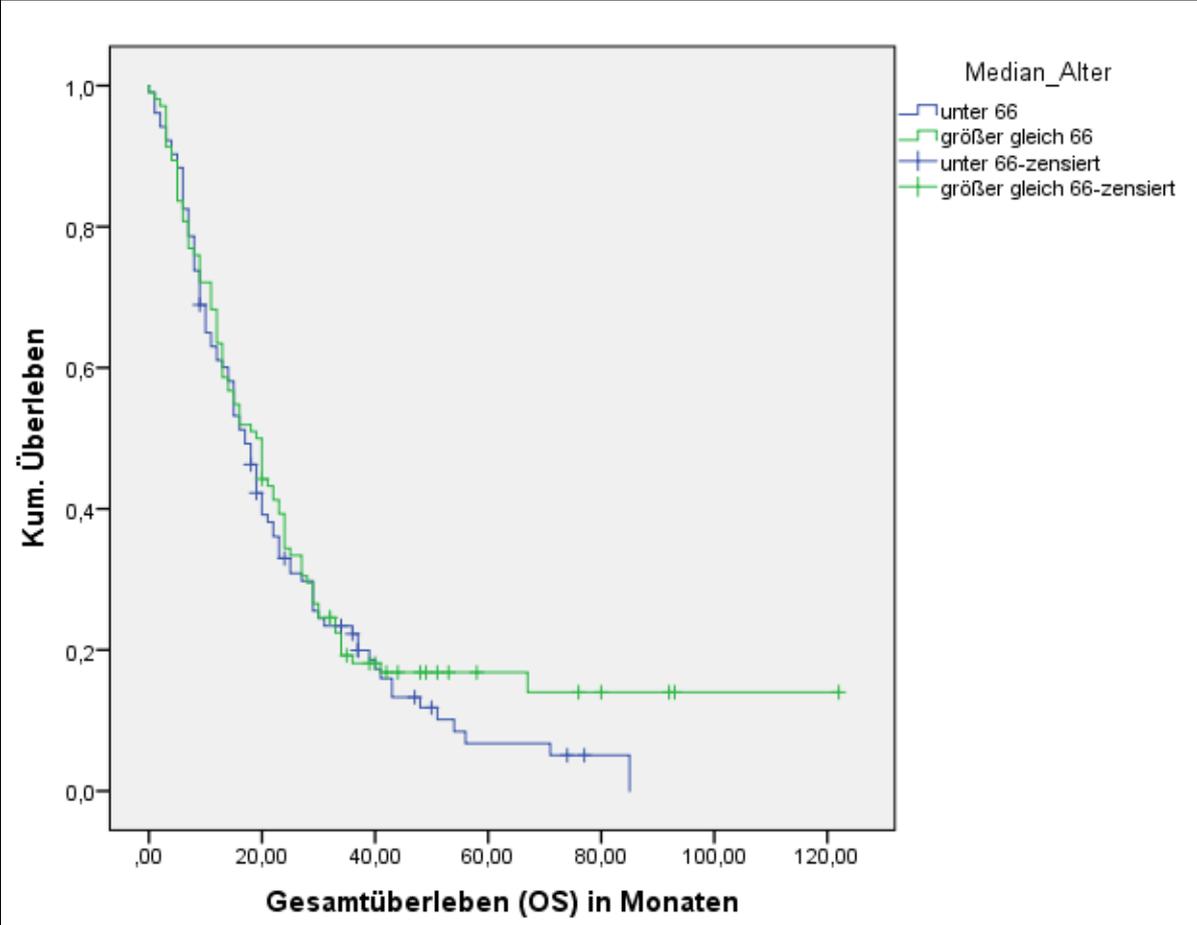


Abbildung 23: Kaplan-Meier-Schätzer für das Alter

4.1.1.2 Geschlecht

Die folgende Tabelle 17 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben (OS) und dem Geschlecht der Patient*innen sowie das Ergebnis des Log-Rank-Tests. Abbildung 24 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven der Geschlechter. Bezüglich des medianen Gesamtüberlebens der beiden Gruppen zeigte sich ein Überlebensvorteil von 3,2 Monaten zugunsten der männlichen Patient*innen bei fehlender statistischer Signifikanz ($p = 0,82$).

Geschlecht	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
Weiblich	101	15,88	0,82
Männlich	106	19,00	

Tabelle 17: Median des OS entsprechend Geschlecht und Log-Rank-Test

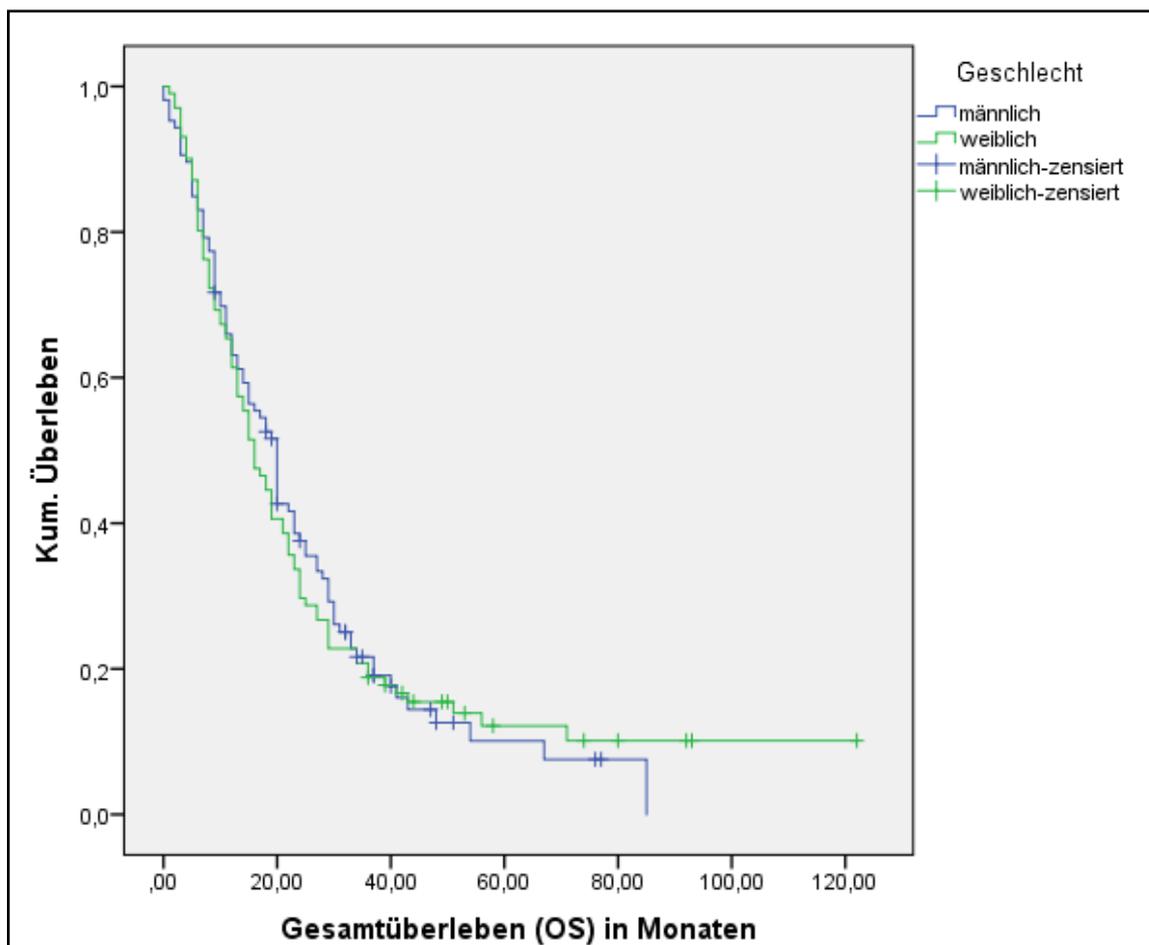


Abbildung 24: Kaplan-Meier-Schätzer für das Geschlecht

4.1.1.3 ECOG

Die folgende Tabelle 18 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben (OS) und dem Allgemeinzustand der Patient*innen. Abbildung 25 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven des Allgemeinzustandes der Patient*innen. Bezüglich des medianen Überlebens der beiden Gruppen zeigte sich ein statistisch signifikanter Überlebensvorteil von 10,4 Monaten zugunsten der Gruppe der Patient*innen mit keinen oder wenigen Einschränkungen im Alltag (*ECOG* von 0 und 1 ($p < 0,01$)).

<i>ECOG</i>	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
0–1	150	18,86	<0,01
2–3	18	8,50	

Tabelle 18: Median des OS entsprechend ECOG und Log-Rank-Test

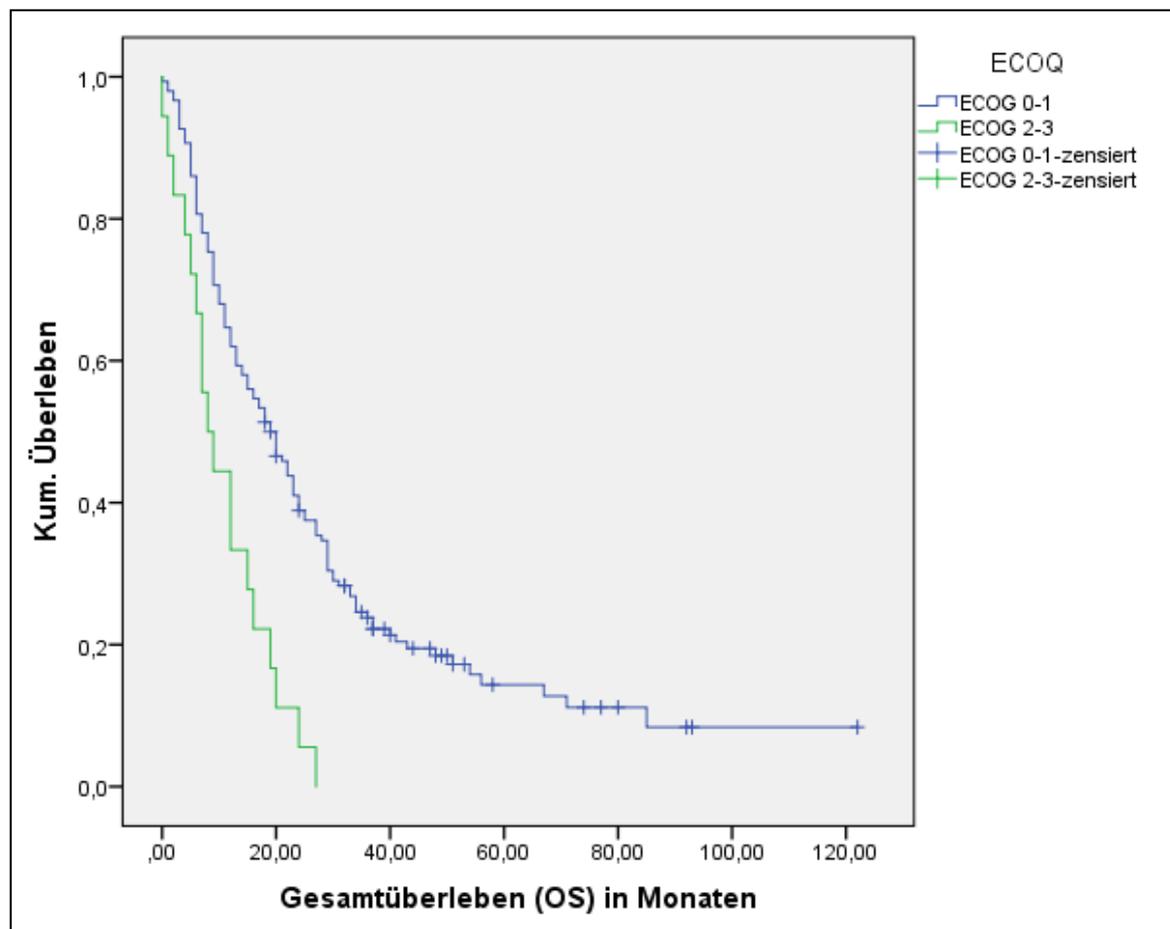


Abbildung 25: Kaplan-Meier-Schätzer für ECOG

4.1.1.4 Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose

Im Folgenden wird der Zusammenhang zwischen dem medianen Gesamtüberleben und dem Erkrankungsstadium der Patient*innen bei Erstdiagnose (Tabelle 19) dargestellt. Abbildung 26 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven zum Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose. Bezüglich des medianen Gesamtüberlebens der drei Gruppen zeigte sich deskriptiv ein Überlebensvorteil der Patient*innen, die sich bei Erstdiagnose in einem resektablen Erkrankungsstadium befanden. Dabei handelt es sich um Patient*innen, bei denen eine Resektion des Primärtumors durchgeführt werden konnte. Im Vergleich zu Patient*innen im lokal fortgeschrittenen Erkrankungsstadium lag ein Überlebensvorteil von 12,3 Monaten vor. Im Vergleich zu Patient*innen mit Metastasen bei Erstdiagnose lag ein Überlebensvorteil von 19,4 Monaten vor. Weiterhin hatten Patient*innen mit lokal fortgeschrittenem Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose einen Überlebensvorteil von 7,2 Monaten gegenüber der Gruppe der Patient*innen, bei der eine systemische Streuung des Tumors in Form von Metastasen vorlag. Diese Patient*innengruppe hatte die kürzeste mediane Überlebenszeit von 9,8 Monaten. Der p-Wert des log-Rank-Tests zeigte eine deutliche Signifikanz ($p < 0,01$).

Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
Lokal fortgeschritten	31	17,00	<0,01
Metastasiert	96	9,83	
Resektabel	80	29,29	

Tabelle 19: Median des OS entsprechend Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose und Log-Rank-Test

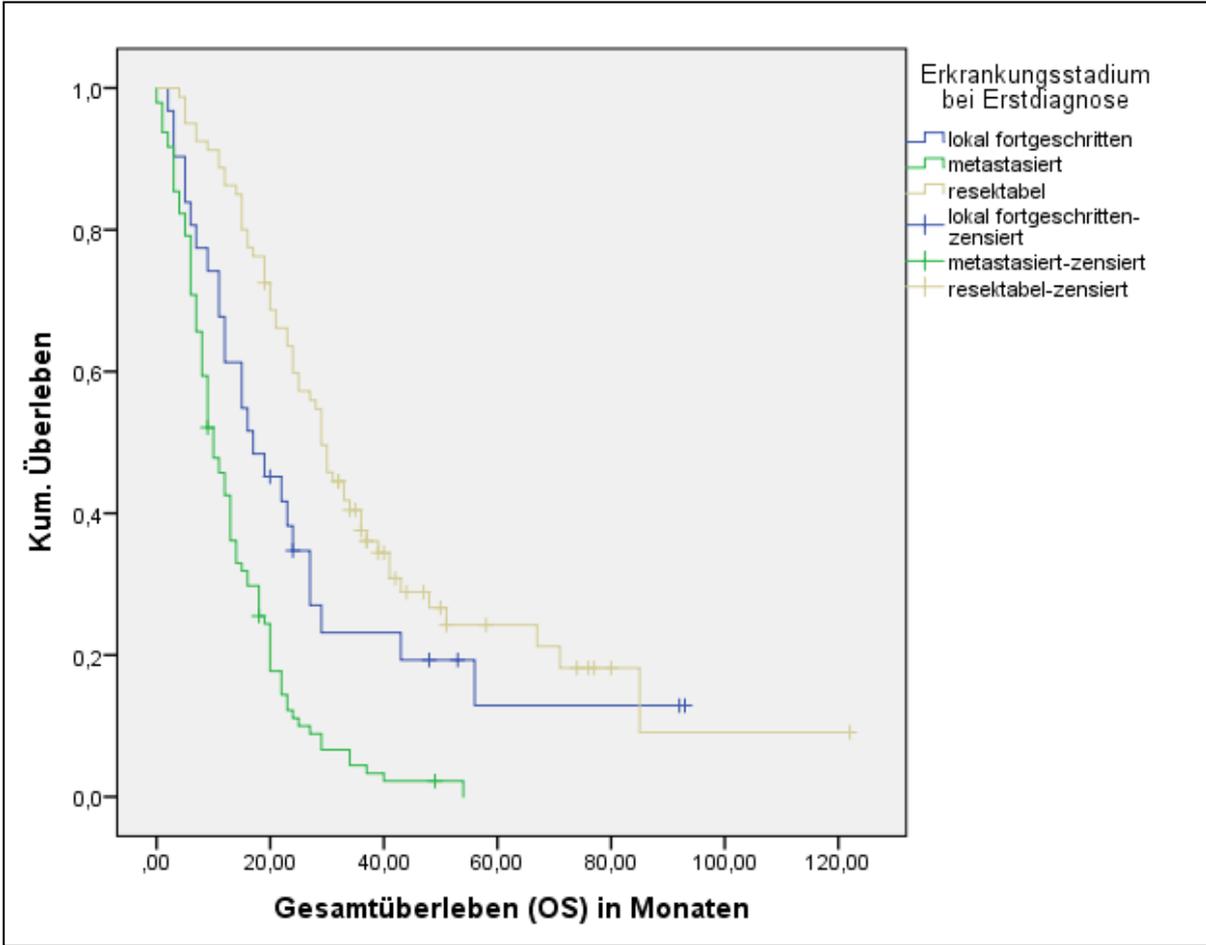


Abbildung 26: Kaplan-Meier-Schätzer für Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose

4.1.1.5 Resektion des Primärtumors

Die folgende Tabelle 20 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben (OS) und dem Vorliegen einer durchgeführten Resektion des Primärtumors in kurativer Intention. Abbildung 27 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven der Gruppen der Patient*innen bezüglich der durchgeführten oder nicht durchgeführten Operation. Bezüglich des medianen OS der beiden Gruppen zeigte sich ein Überlebensvorteil von 19,6 Monaten zugunsten der Gruppe der Patient*innen, die eine Operation erhalten haben, bei einer vorliegenden Signifikanz von $p < 0,01$.

Operation	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
Keine Resektion	109	9,77	<0,01
Resektion in kurativer Intention	98	29,38	

Tabelle 20: Median des OS entsprechend OP und Log-Rank-Test

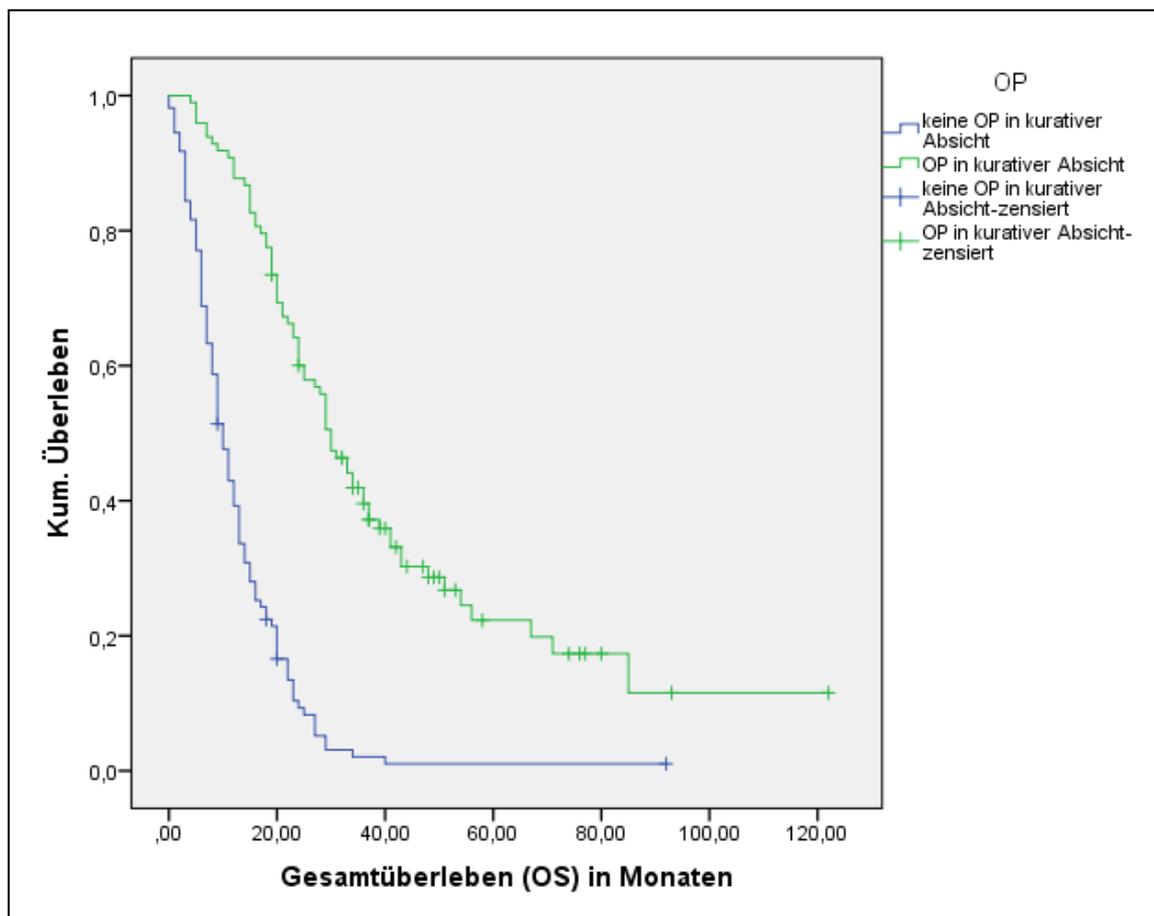


Abbildung 27: Kaplan-Meier-Schätzer für Operation

4.1.2 Tumormarker

4.1.2.1 CEA

Der Tumormarker CEA wurde ebenfalls hinsichtlich eines vorliegenden Zusammenhangs auf das mediane Gesamtüberleben untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 21 dargestellt. Abbildung 28 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven des Tumormarkers CEA. Es wurde ein Median-Split, orientiert an der medianen Konzentration von 4,2 µg/l zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, durchgeführt und somit wurden zwei Gruppen gebildet. Es zeigte sich ein signifikanter Überlebensvorteil der Patient*innen-Gruppe mit geringerer CEA Konzentration im Serum von 13 Monaten ($p < 0,01$).

CEA	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
< 4,2	85	24,00	<0,01
≥ 4,2	86	11,00	

Tabelle 21: Median des OS entsprechend CEA und Log-Rank-Test

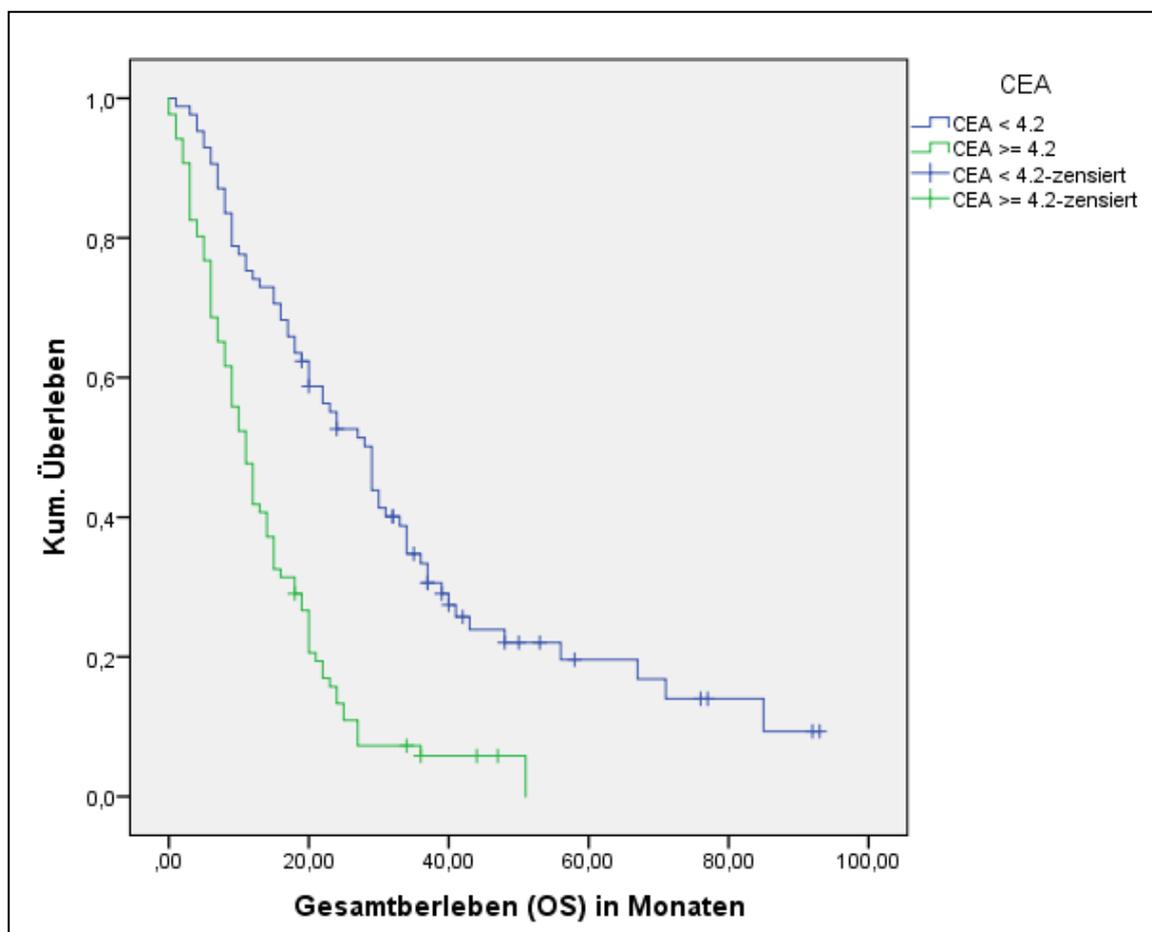


Abbildung 28: Kaplan-Meier-Schätzer des Tumormarkers CEA

4.1.2.2 CA19-9

Ein weiterer Tumormarker, der Marker CA19-9, wurde hinsichtlich eines vorliegenden Zusammenhangs auf das mediane Gesamtüberleben untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 22 dargestellt. Abbildung 29 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven des Tumormarkers CA19-9. Auch hier wurde ein Median-Split, orientiert an der medianen Konzentration von 166 U/l zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, durchgeführt und somit zwei Gruppen gebildet. Es zeigte sich ein signifikanter Überlebensvorteil der Patient*innen-Gruppe mit geringerer CA19-9 Konzentration im Serum von 10,5 Monaten ($p < 0,01$).

CA 19-9	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
< 166	89	22,67	<0,01
≥ 166	92	12,14	

Tabelle 22: Median des OS entsprechend CA 19-9 und Log-Rank-Test

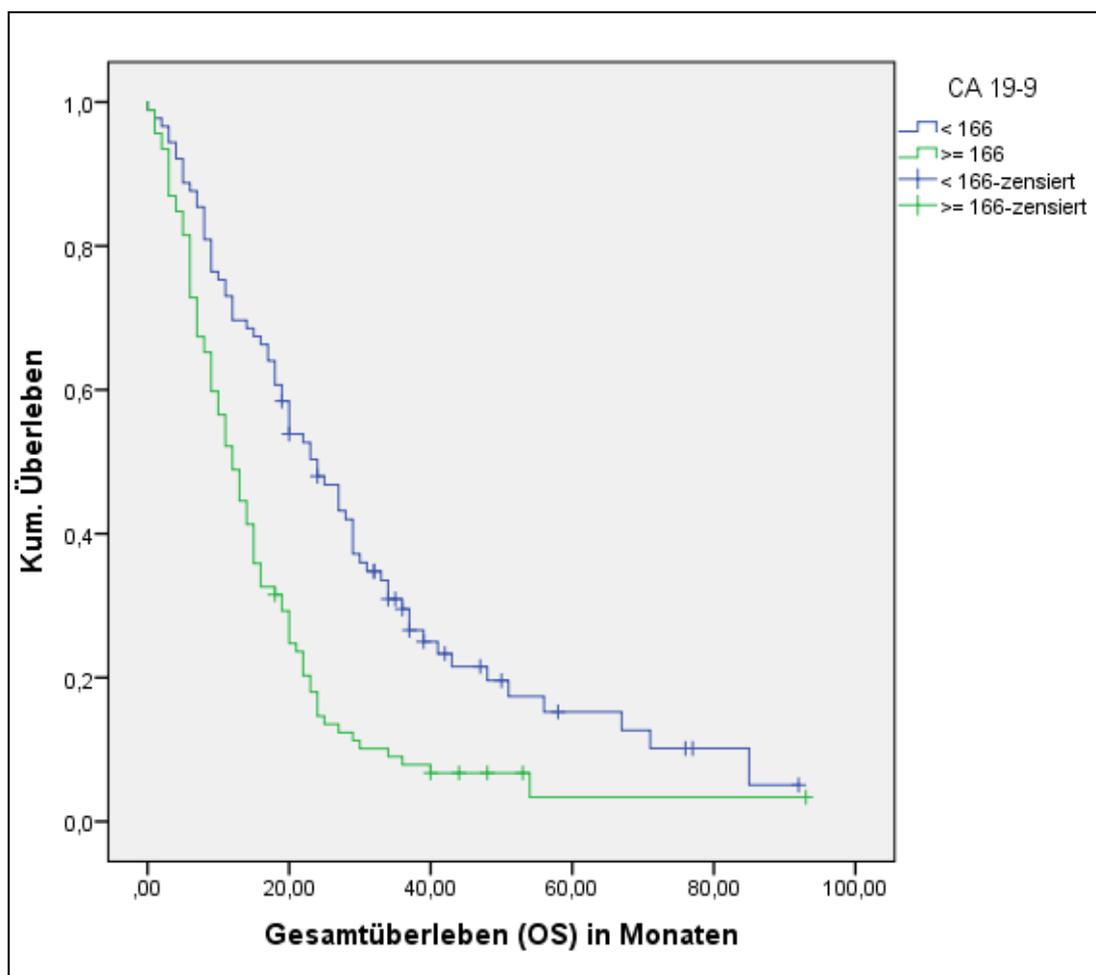


Abbildung 29: Kaplan-Meier-Schätzer des Tumormarkers CA 19-9

4.1.3 Inflammatorische Biomarker im peripheren Blut und Diabetes mellitus

4.1.3.1 CRP

Ein weiterer untersuchter laborchemischer Parameter aus dem Serum der Patient*innen war der Entzündungswert CRP. Dieser Parameter wurde ebenfalls hinsichtlich eines vorliegenden Zusammenhangs auf das mediane Gesamtüberleben untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 23 dargestellt. Abbildung 30 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven des Entzündungswertes CRP. Auch hier wurde ein Median-Split, orientiert an der medianen Konzentration von 0,67 (mg/dl) zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, durchgeführt. Daraufhin wurden zwei Gruppen gebildet. Es zeigte sich ein signifikanter Überlebensvorteil der Gruppe der Patient*innen, bei denen ein geringerer CRP-Wert vorlag. Patient*innen mit niedrigeren CRP-Werten zeigten einen Überlebensvorteil von 10,4 Monaten gegenüber Patient*innen mit höheren CRP-Werten. Der p-Wert des Log-Rank-Tests zeigte eine Signifikanz auf ($p < 0,01$).

CRP	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
≤ 0,67	94	22,40	<0,01
> 0,67	96	12,00	

Tabelle 23: Median des OS entsprechend CRP und Log-Rank-Test

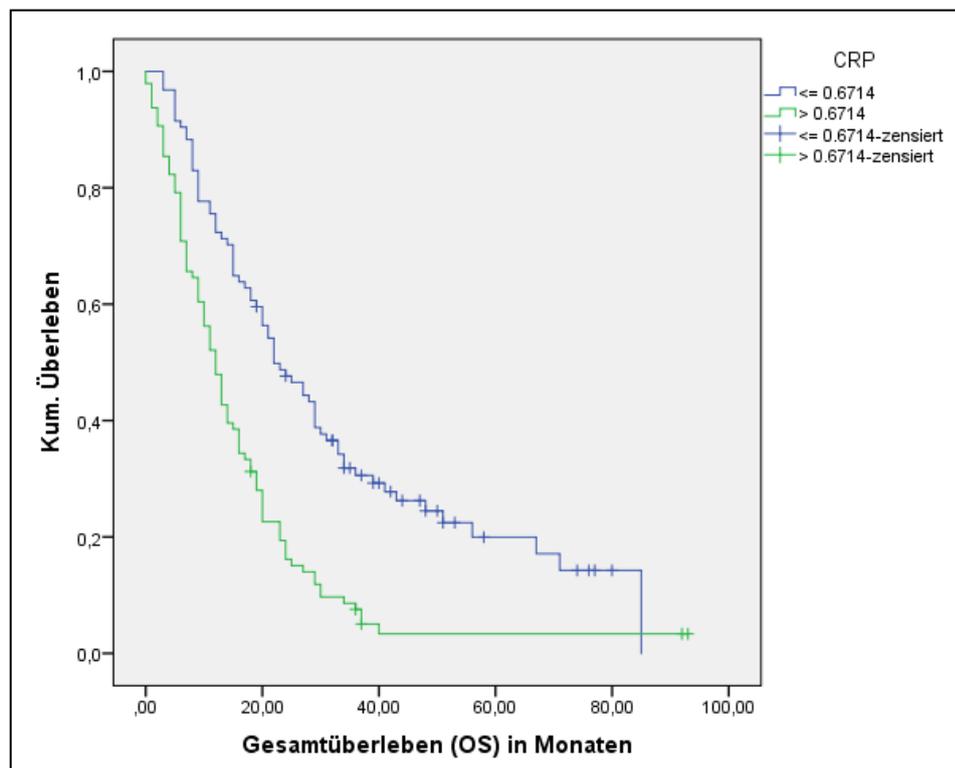


Abbildung 30: Kaplan-Meier-Schätzer für den Entzündungswert CRP

4.1.3.2 Thrombozyten

Im Folgenden wurde der Zusammenhang zwischen Thrombozyten-Konzentration (G/l) und medianen Gesamtüberleben untersucht. Auch hier wurde ein Median-Split, orientiert an der medianen Konzentration von 243 (G/l) zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, durchgeführt. Die folgende Tabelle 24 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben (OS) und der Thrombozyten-Konzentration. Abbildung 31 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven des Überlebens in Abhängigkeit der Thrombozytenzahl bei Erstdiagnose. Bezüglich des medianen OS der beiden Gruppen zeigte sich ein numerischer Unterschied von 5,3 Monaten zugunsten der Gruppe der Patient*innen mit erhöhter Thrombozyten-Konzentration. Der p-Wert des Log-Rank-Tests zeigte keine Signifikanz ($p = 0,13$).

Thrombozyten	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
≤ 243	96	14,20	0,13
> 243	95	19,50	

Tabelle 24: Median des OS nach Thrombozyten und Log-Rank-Test

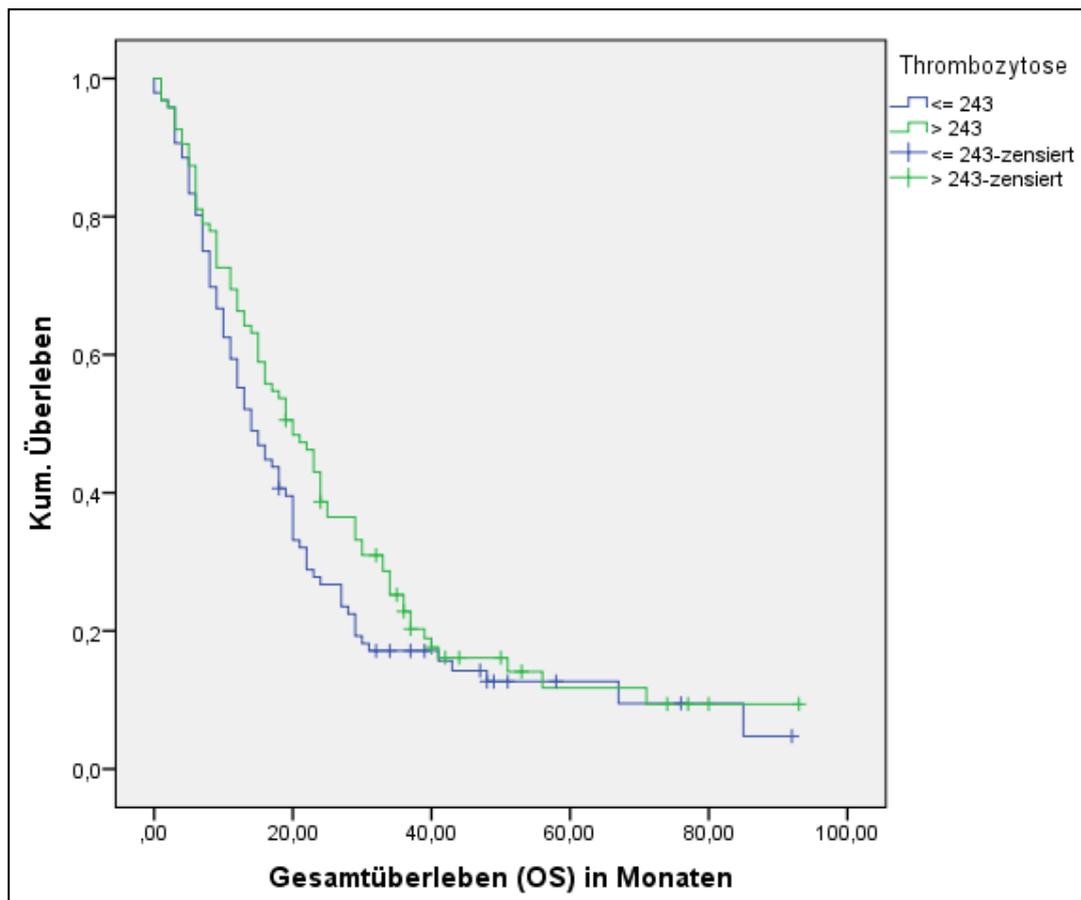


Abbildung 31: Kaplan-Meier-Schätzer für Thrombozyten

4.1.3.3 Diabetes mellitus

Die folgende Tabelle 25 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben (OS) und dem Vorliegen einer Diabetes-mellitus-Erkrankung bei Erstdiagnose. Abbildung 32 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven bezüglich des Vorliegens einer Diabetes-mellitus-Erkrankung. Bezüglich des medianen OS der beiden Gruppen zeigte sich ein numerischer Unterschied von 2,3 Monaten zugunsten der Gruppe der Patient*innen ohne Diabetes-mellitus-Erkrankung, bei ausbleibender Signifikanz ($p = 0,99$).

Diabetes mellitus	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
Kein Diabetes	110	18,29	0,99
Diabetes	52	16,00	

Tabelle 25: Median des OS entsprechend dem Vorliegen eines Diabetes mellitus

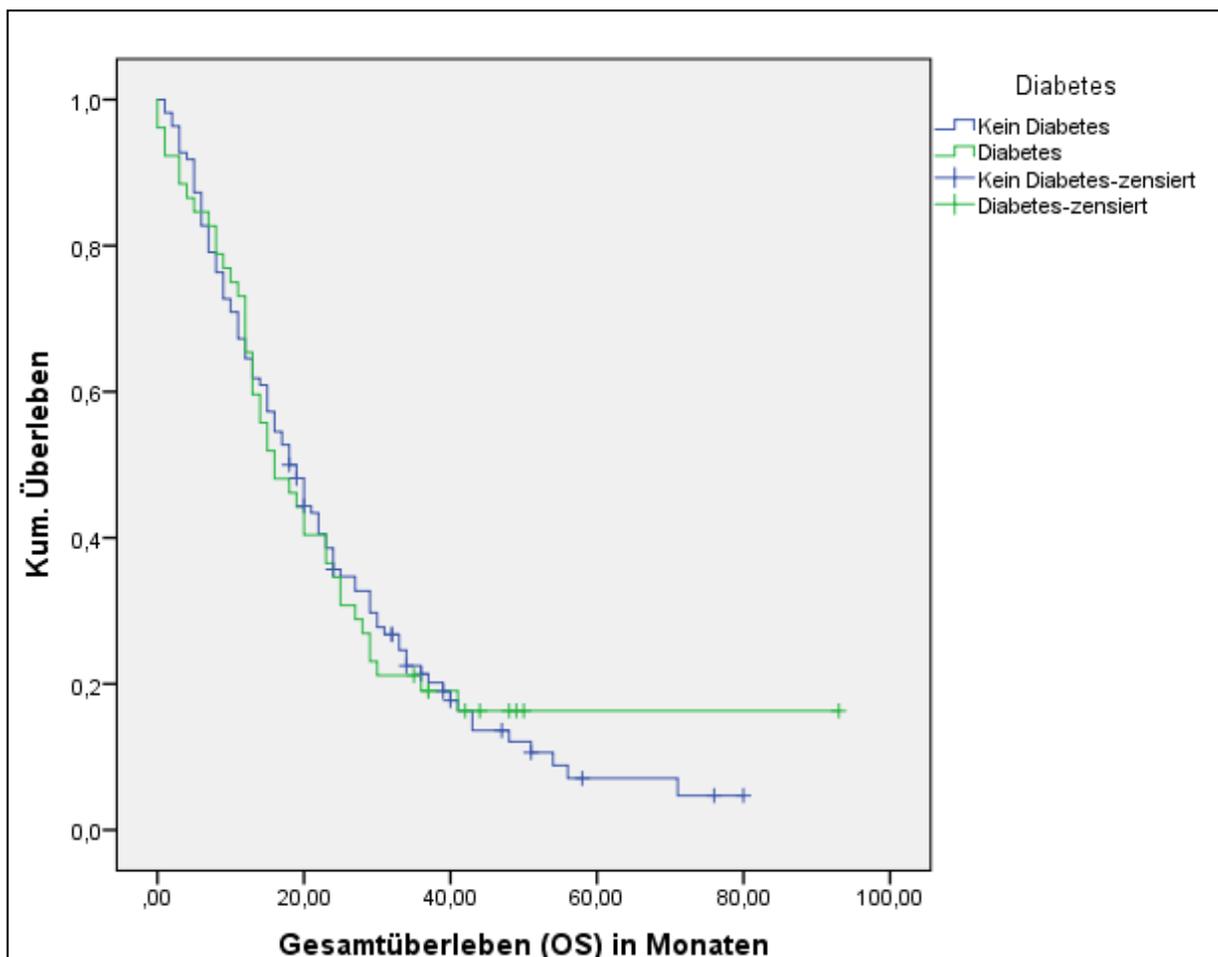


Abbildung 32: Kaplan-Meier-Schätzer für Diabetes mellitus

4.2 Immunologische Biomarker im Tumorgewebe

4.2.1 IDO-Expression

4.2.1.1 IDO-Expression – Patient*innenpopulation: resektabel

4.2.1.1.1 Gesamtüberleben

Die folgende Tabelle 26 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben (*OS*) und der IDO-Expression im Tumorgewebe. Abbildung 33 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven der IDO-Expression im Tumorgewebe (Gesamtüberleben). Hier wurde das Gesamtüberleben der Patient*innen analysiert, die bei Erstdiagnose eine resektable Ausgangssituation aufzeigten und eine Operation in kurativer Absicht erhielten. Bezüglich des *OS* beider Gruppen zeigte sich ein numerischer Unterschied von 4,2 Monaten zugunsten der Gruppe der Patient*innen mit vorliegender IDO-Expression. Der p-Wert des Log-Rank-Tests zeigte jedoch keine statistische Signifikanz ($p = 0,63$).

IDO-Expression	n =	Medianes <i>OS</i> in Monaten	p-Wert
Nein	55	29,30	0,63
Ja	10	33,50	

Tabelle 26: Median des *OS* entsprechend der IDO-Expression (Patient*innenpopulation: resektabel)

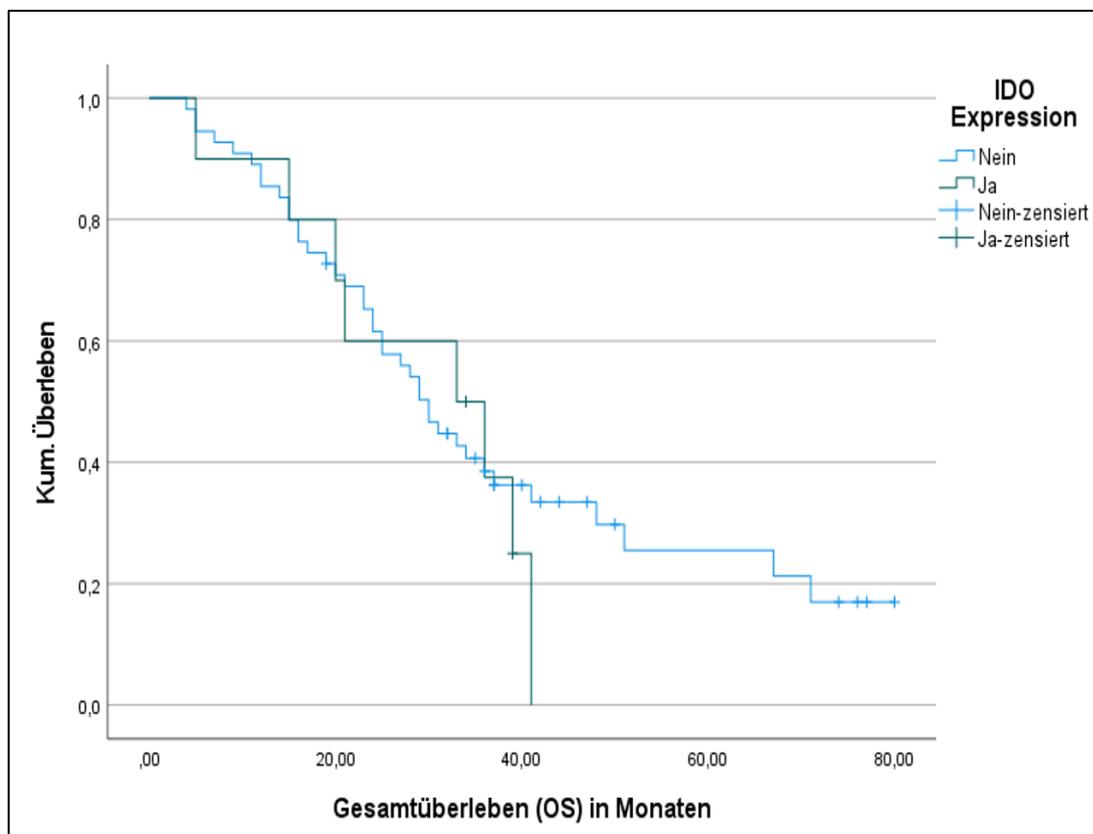


Abbildung 33: Kaplan-Meier-Schätzer: *OS* für IDO-Expression (Patient*innenpopulation: resektabel)

4.2.1.1.2 DFS

Im Folgenden wird der Zusammenhang zwischen dem *DFS* in Monaten und der *IDO*-Expression im Stroma und im Tumorgewebe sowie das Ergebnis des Log-Rank-Tests bezüglich des *DFS* beider Gruppen in Tabelle 27 dargestellt. Bei der Berechnung des *DFS* wurden nur Patient*innen mit resektabler Ausgangssituation bei Erstdiagnose und erfolgter Operation in kurativer Absicht inkludiert. Abbildung 34 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven für das *DFS* in Abhängigkeit der *IDO*-Expression. Es zeigte sich ein geringer numerischer Unterschied im *OS* von 1,8 Monaten der Patient*innen mit vorliegender *IDO*-Expression. Der p-Wert des Log-Rank-Tests zeigte keine Signifikanz ($p = 0,45$).

IDO-Expression	n =	DFS in Monaten	p-Wert
Nein	45	12,5	0,45
Ja	9	14,3	

Tabelle 27: Median des *DFS* entsprechend der *IDO*-Expression (Patient*innenpopulation: resektabel)

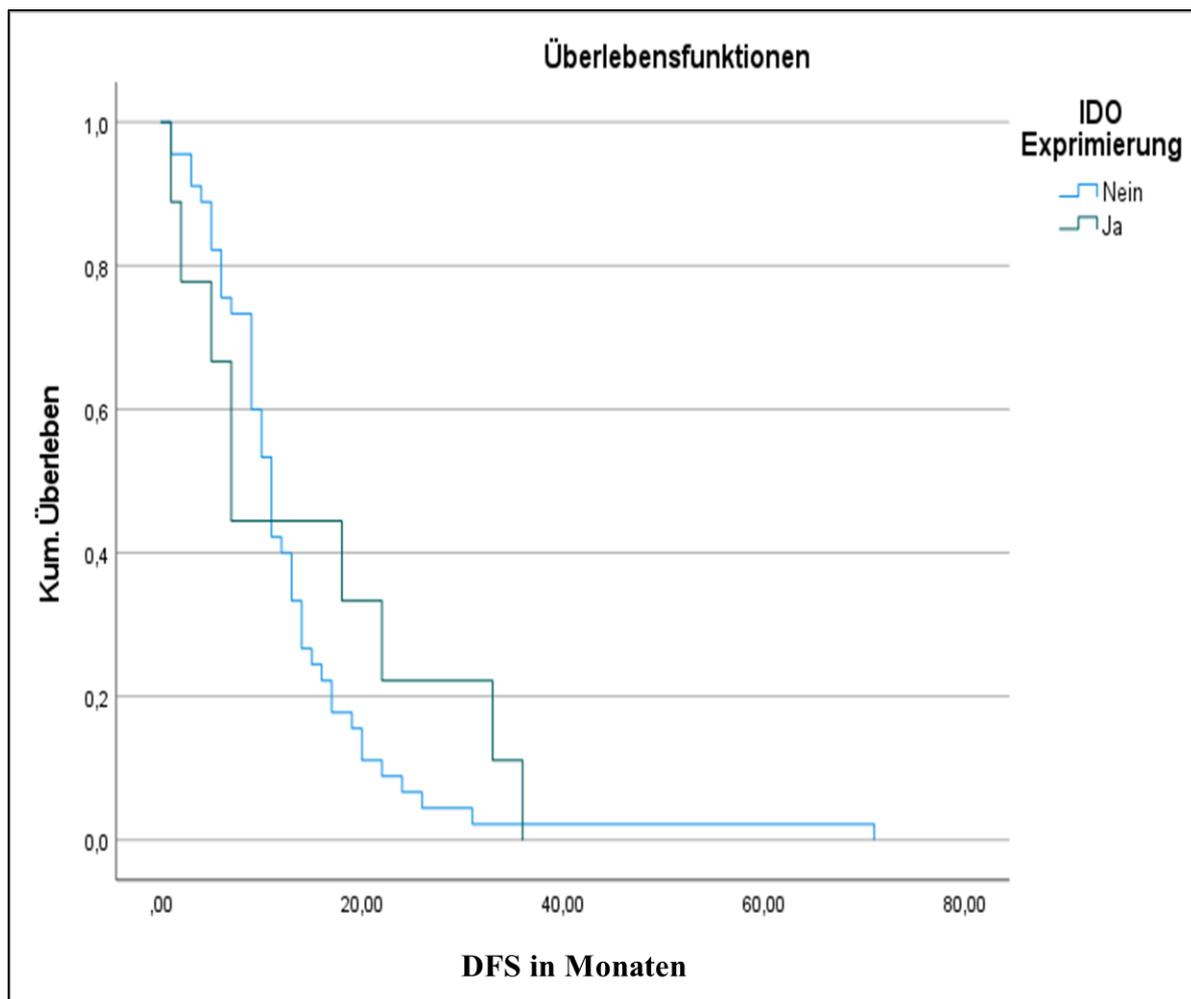


Abbildung 34: Kaplan-Meier-Schätzer: *DFS* für *IDO*-Expression (Patient*innenpopulation: resektabel)

4.2.1.2 IDO-Expression – Patient*innen- Population: LAPC und MET

4.2.1.2.1 Gesamtüberleben

Die folgende Tabelle 28 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben (OS) und der IDO-Expression im Tumorgewebe. Hier wurde das Gesamtüberleben der Patient*innen analysiert, die bei Erstdiagnose eine lokal fortgeschrittene oder metastasierte Ausgangssituation aufzeigten. Abbildung 35 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven der IDO-Expression im Tumorgewebe (Gesamtüberleben). Bezüglich des medianen Gesamtüberlebens beider Gruppen zeigte sich ein numerischer Unterschied von 3,3 Monaten zugunsten der Gruppe der Patient*innen mit vorliegender IDO-Expression. Der p-Wert des Log-Rank-Tests zeigte jedoch keine Signifikanz ($p = 0,22$).

IDO-Expression	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
Nein	28	16,70	0,22
Ja	5	20,00	

Tabelle 28: Median des OS entsprechend der IDO-Expression (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)

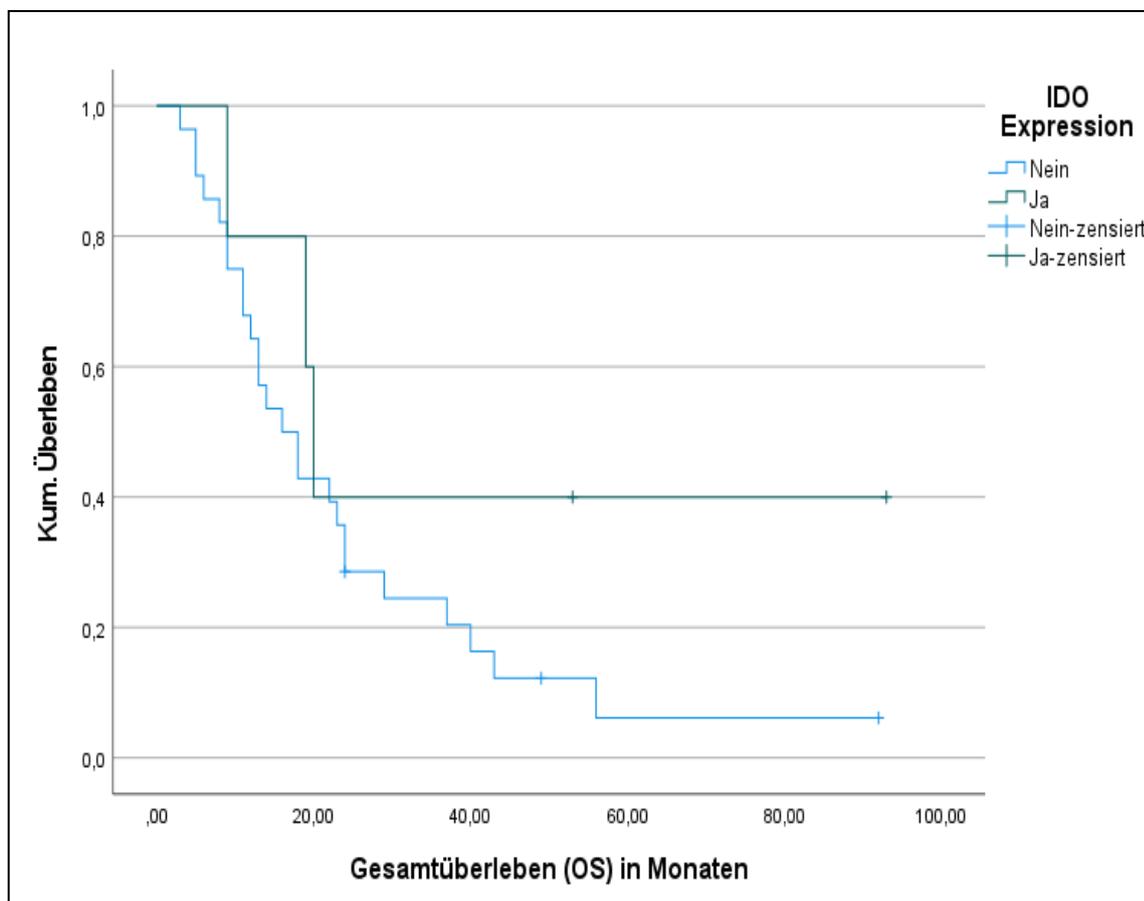


Abbildung 35: Kaplan-Meier-Schätzer: OS für IDO-Expression (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)

4.2.1.3 PFS

Im Folgenden wird der Zusammenhang zwischen dem PFS in Monaten und der IDO-Expression im Stroma und im Tumorgewebe sowie das Ergebnis des Log-Rank-Tests bezüglich des PFS beider Gruppen in Tabelle 29 dargestellt. Abbildung 36 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven für das PFS in Abhängigkeit der IDO-Expression. Bei der Berechnung des PFS wurden nur Patient*innen inkludiert, welche bei Erstdiagnose als lokal fortgeschritten erkrankt oder metastasiert eingestuft wurden. Es zeigte sich kein Unterschied im PFS, der p-Wert des Log-Rank-Tests zeigte keine Signifikanz ($p = 0,12$).

IDO-Expression	n =	PFS in Monaten	p-Wert
Nein	24	4,5	0,12
Ja	3	4,0	

Tabelle 29: Median des PFS entsprechend der IDO-Expression (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)

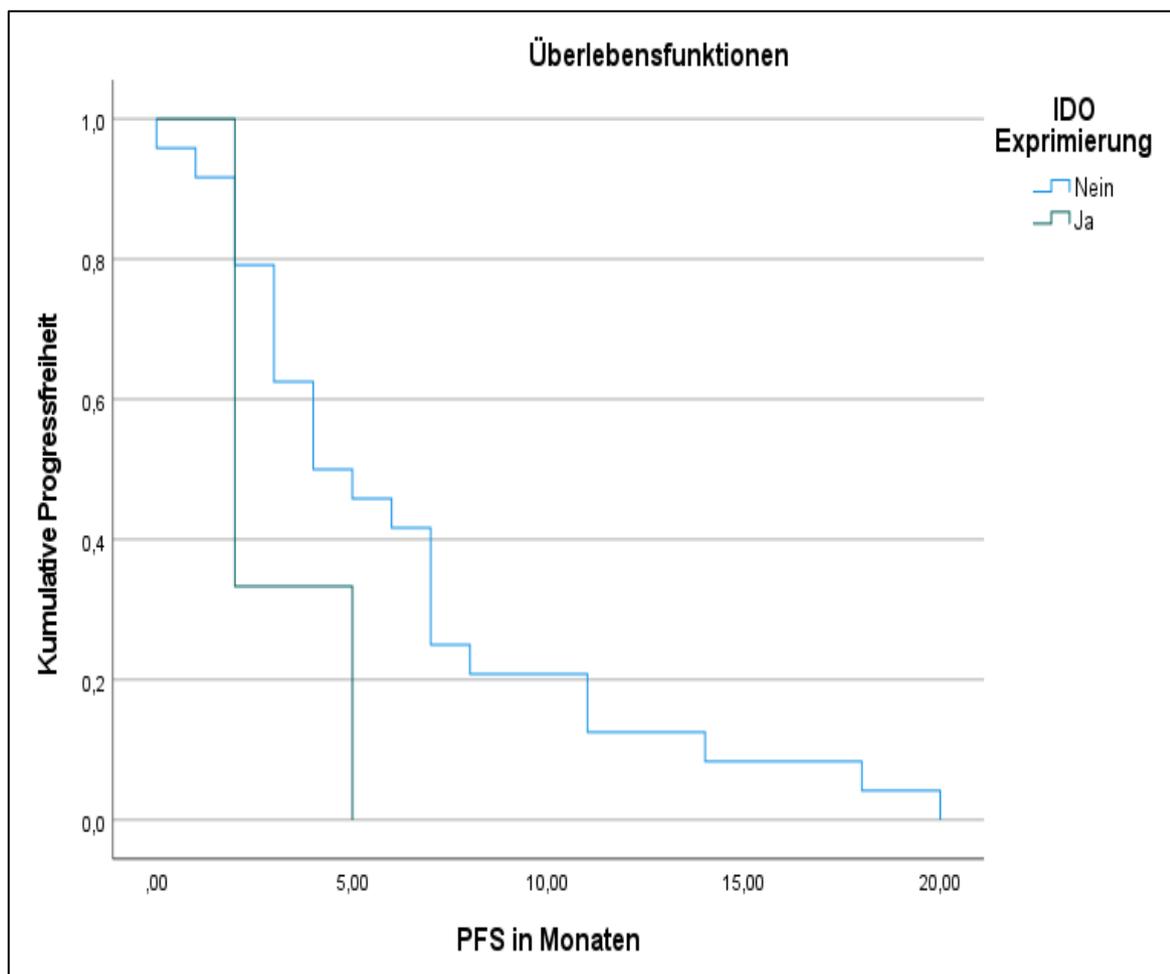


Abbildung 36: Kaplan-Meier-Schätzer: PFS für IDO-Expression (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)

4.2.2 CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration

4.2.2.1 CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration – Patient*innenpopulation: resektabel

4.2.2.1.1 Gesamtüberleben

Die folgende Tabelle 30 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben (*OS*) und der Infiltration des Tumorgewebes durch CD8+-Effektor-T-Zellen sowie das Ergebnis des Log-Rank-Tests. Abbildung 37 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven der Infiltration von CD8+-Effektor-T-Zellen der Tumorzellen. Hier wurde das Gesamtüberleben der Patient*innen analysiert, die bei Erstdiagnose eine resektable Ausgangssituation aufzeigten und eine Operation in kurativer Absicht erhielten. Bezüglich des medianen Gesamtüberlebens beider Gruppen zeigte sich ein numerischer Unterschied von 2,2 Monaten zugunsten der Gruppe der Patient*innen mit vorliegender CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration der Tumorzellen. Der p-Wert des Log-Rank-Tests zeigte keine Signifikanz ($p = 0,61$).

CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
Nein	47	29,33	0,61
Ja	18	31,50	

Tabelle 30: Median des OS nach CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: resektabel)

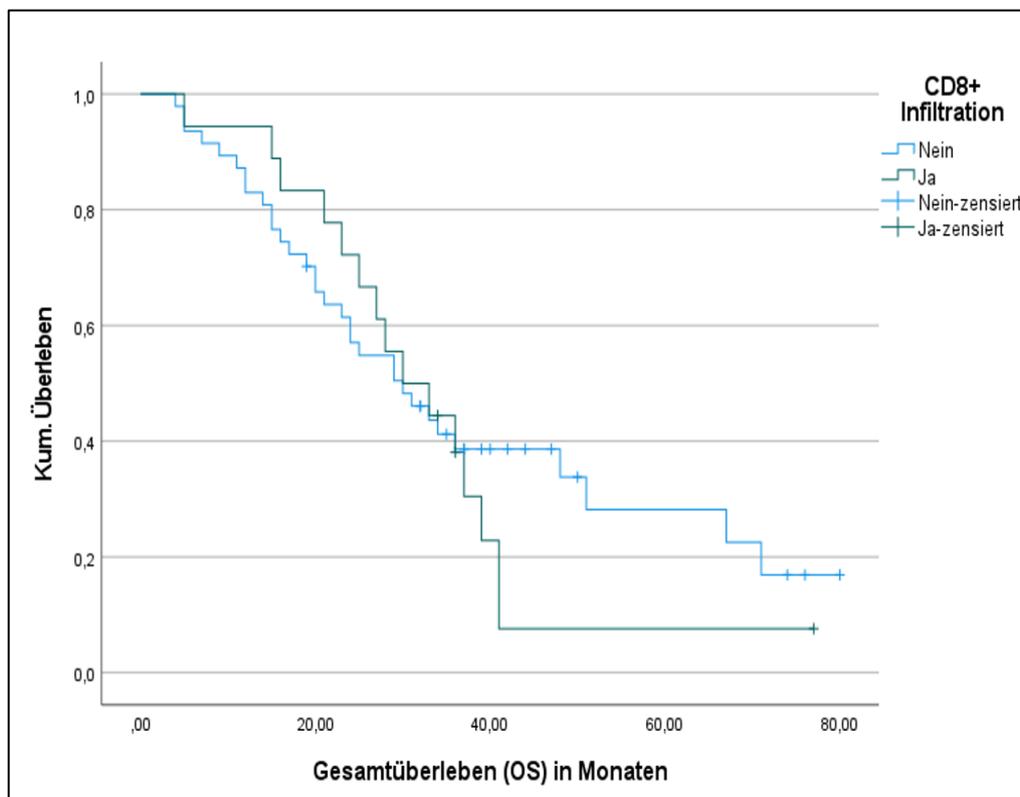


Abbildung 37: Kaplan-Meier-Schätzer OS für CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: resektabel)

4.2.2.1.2 DFS

Im Folgenden wird der Zusammenhang zwischen dem *DFS* in Monaten und der CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration im Tumorgewebe sowie das Ergebnis des Log-Rank-Tests bezüglich des *DFS* beider Gruppen in Tabelle 31 dargestellt. Abbildung 38 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven der CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration im Tumorgewebe. Bei der Berechnung des *DFS* wurden nur Patient*innen mit resektabler Ausgangssituation bei Erstdiagnose und erfolgter Operation in kurativer Absicht inkludiert. Es zeigte sich ein knapp nicht signifikanter Überlebensvorteil von 3,8 Monaten der Patient*innen ohne vorliegende CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration. Der p-Wert des Log-Rank-Tests lag bei 0,05.

CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration	n =	DFS in Monaten	p-Wert
Nein	38	14,00	0,05
Ja	16	10,20	

Tabelle 31: Median des DFS CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: resektabel)

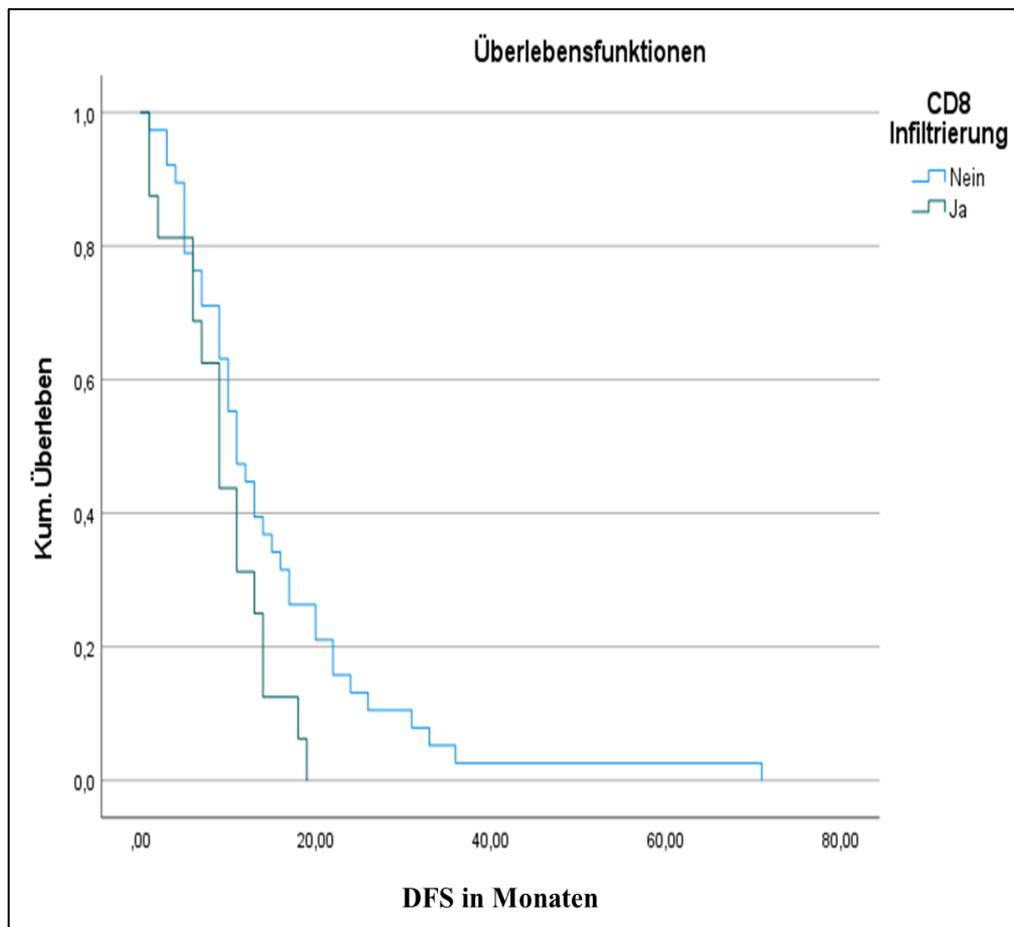


Abbildung 38: Kaplan-Meier-Schätzer DFS: CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: resektabel)

4.2.2.2 CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration –

Patient*innen-population: LAPC und MET

4.2.2.2.1 Gesamtüberleben

Die folgende Tabelle 32 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben (*OS*) und der Infiltration des Tumorgewebes durch CD8+-Effektor-T-Zellen sowie das Ergebnis des Log-Rank-Tests. Abbildung 39 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven der Infiltration von CD8+-Effektor-T-Zellen der Tumorzellen. Hier wurde das Gesamtüberleben der Patient*innen analysiert, die bei Erstdiagnose eine lokal fortgeschrittene oder metastasierte Ausgangssituation aufzeigten. Bezüglich des *OS* beider Gruppen zeigte sich ein deutlich längeres medianes Gesamtüberleben von 13,7 Monaten bei der Gruppe der Patient*innen mit vorliegender CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration der Tumorzellen. Der p-Wert des Log-Rank-Tests zeigte eine Signifikanz ($p = 0,03$).

CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
Nein	22	13,67	0,03
Ja	10	27,33	

Tabelle 32: Median des OS nach CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)

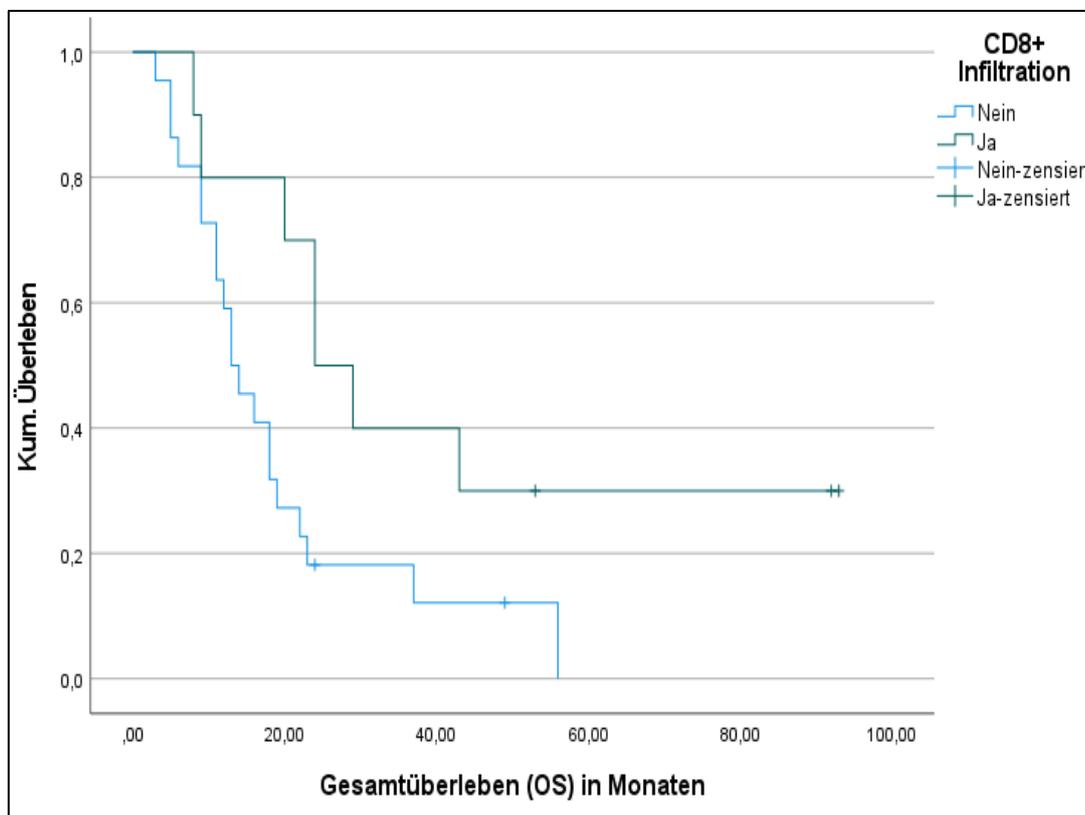


Abbildung 39: Kaplan-Meier-Schätzer OS für CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)

4.2.2.2.2 PFS

Im Folgenden wird der Zusammenhang zwischen dem *PFS* in Monaten und der CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration im Tumorgewebe sowie das Ergebnis des Log-Rank-Tests bezüglich des *PFS* beider Gruppen in Tabelle 33 dargestellt. Abbildung 40 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven der CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration im Tumorgewebe. Bei der Berechnung des *PFS* wurden nur Patient*innen inkludiert, welche bei Erstdiagnose als lokal fortgeschritten erkrankt oder metastasiert eingestuft wurden. Es zeigte sich ein numerischer nur geringer Unterschied von 1,8 Monaten zugunsten der Gruppe der Patient*innen ohne vorliegende CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration. Der p-Wert des Log-Rank-Tests zeigte keine Signifikanz auf ($p = 0,76$).

CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration	n =	<i>PFS</i> in Monaten	p-Wert
Nein	19	4,8	0,76
Ja	7	3,0	

Tabelle 33: Median des *PFS*: CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)

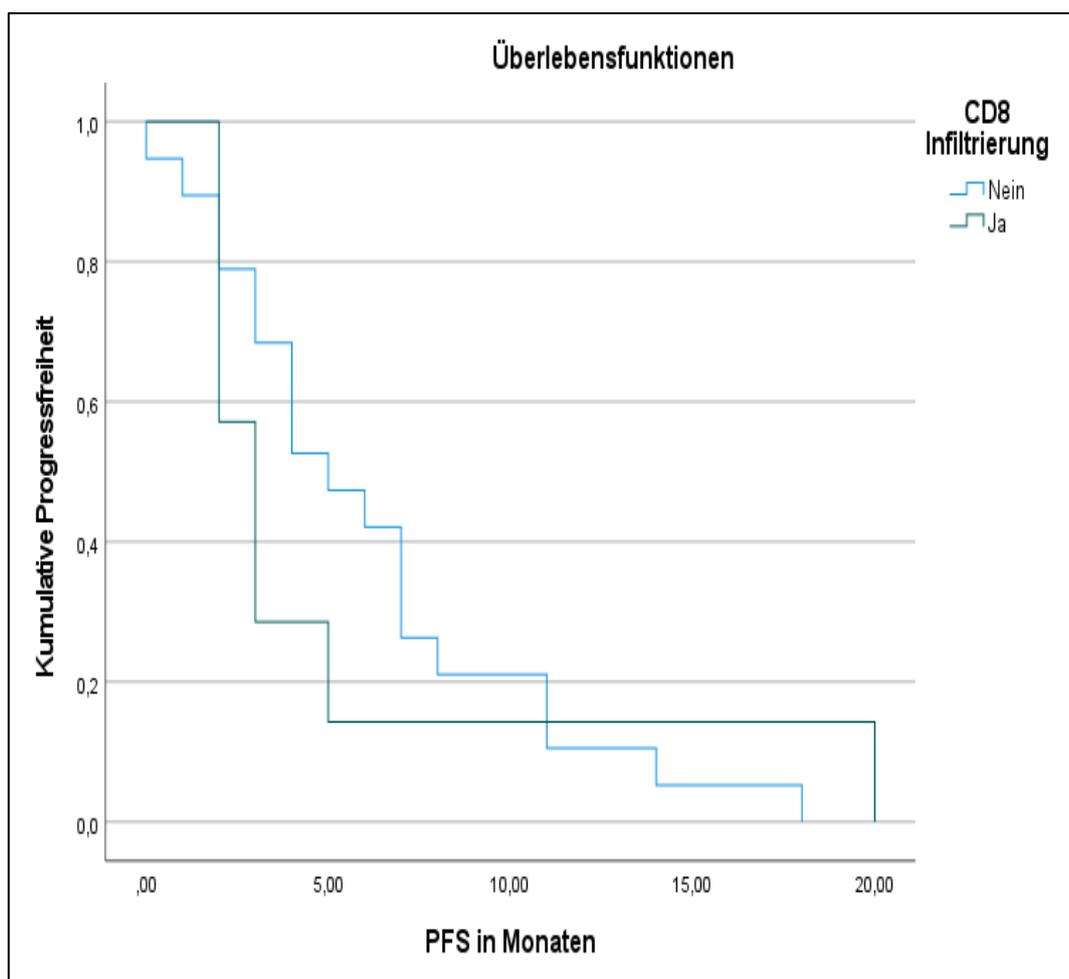


Abbildung 40: Kaplan-Meier-Schätzer *PFS*: CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)

4.2.3 Nachweis FOXP3+-regulatorischer T-Zellen im Tumorgewebe

4.2.3.1 Nachweis FOXP3+-regulatorischer T-Zellen –

Patient*innenpopulation: resektabel

4.2.3.1.1 Gesamtüberleben

Die folgende Tabelle 34 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben (OS) und dem Nachweis FOXP3-positiver-regulatorischer-T-Zellen. Abbildung 41 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven für den Nachweis FOXP3-positiver-regulatorischer-T-Zellen. Hier wurde das Gesamtüberleben der Patient*innen analysiert, die bei Erstdiagnose eine resektable Ausgangssituation aufzeigten und eine Operation in kurativer Absicht erhielten. Bezüglich des medianen Gesamtüberlebens zeigte sich kein Unterschied zwischen beiden Gruppen. Der p-Wert des Log-Rank-Tests zeigte keine Signifikanz ($p = 0,77$).

FOXP3+-TRegs im Tumorgewebe	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
Nein	33	30,00	0,77
Ja	31	30,00	

Tabelle 34: Median des OS entsprechend FOXP3+-regulatorische T-Zellen (Patient*innenpopulation: resektabel)

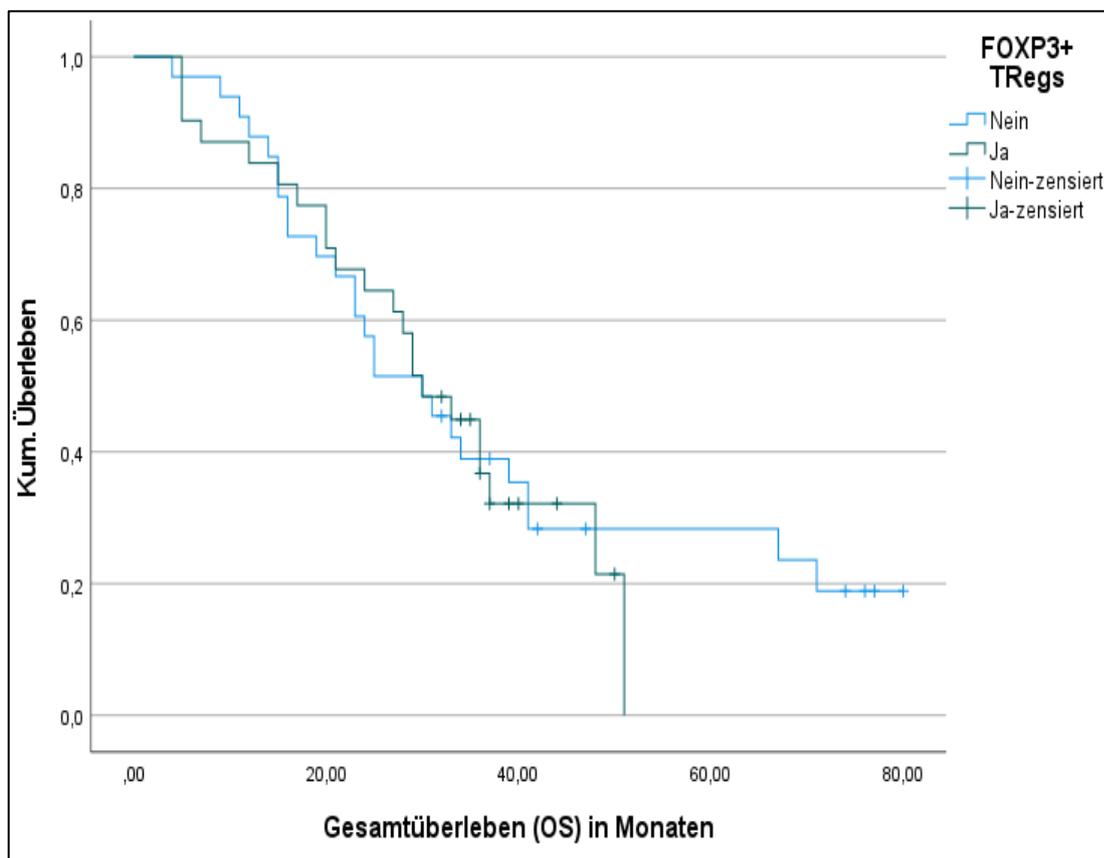


Abbildung 41: Kaplan-Meier-Schätzer OS für FOXP3+-regulatorische T-Zellen (Patient*innenpopulation: resektabel)

4.2.3.1.1.1 DFS

Im Folgenden wird der Zusammenhang zwischen dem *DFS* in Monaten und der Infiltration durch FOXP3+-regulatorische-T-Zellen sowie das Ergebnis des Log-Rank-Tests bezüglich des *DFS* beider Gruppen in Tabelle 35 dargestellt. Abbildung 42 zeigt die Kaplan-Meier Kurven für die FOXP3+-regulatorische-T-Zellen-Infiltration. Bei der Berechnung des *DFS* wurden nur Patient*innen mit resektabler Ausgangssituation bei Erstdiagnose und erfolgter Operation in kurativer Absicht inkludiert. Es zeigte sich ein geringer Überlebensvorteil von einem Monat für die Gruppe der Patient*innen mit vorliegender Infiltration durch FOXP3+-regulatorische T-Zellen im Tumorgewebe bei fehlender Signifikanz ($p = 0,90$).

FOXP3+-TRegs im Tumorgewebe	n =	DFS in Monaten	p-Wert
Nein	28	12,00	0,90
Ja	26	13,00	

Tabelle 35: Median des *DFS*: FOXP3+-regulatorischer T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: resektabel)

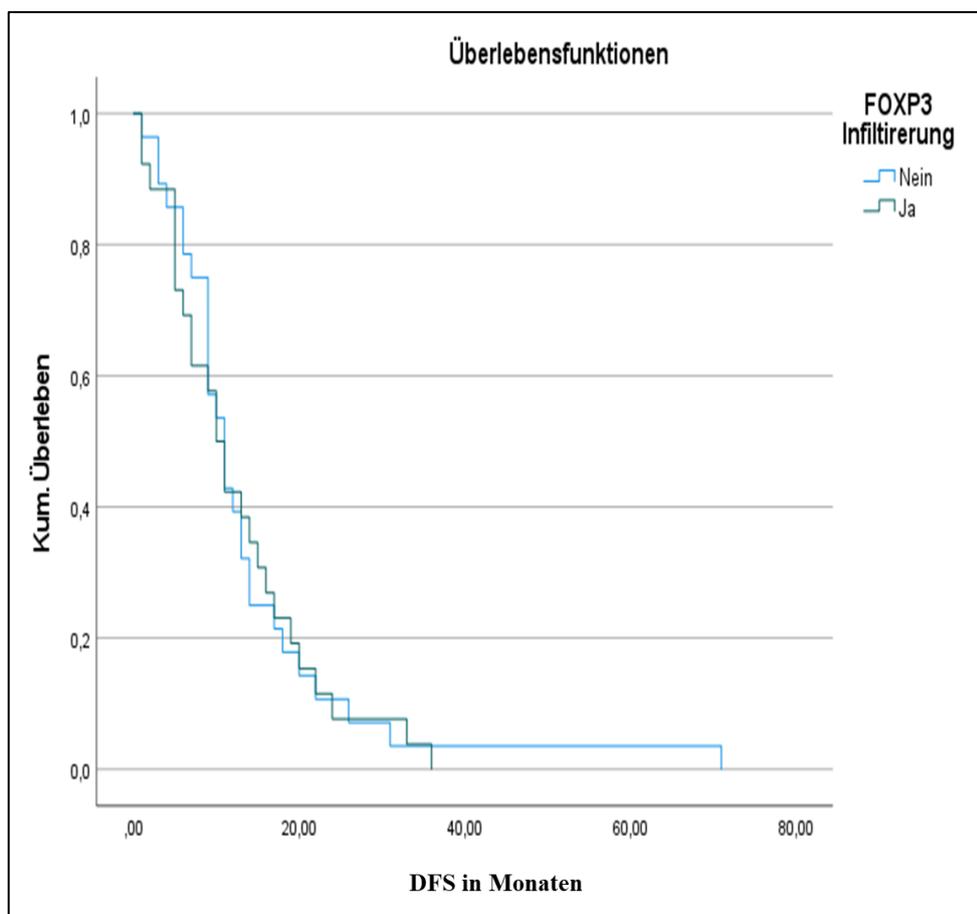


Abbildung 42: Kaplan-Meier-Schätzer *DFS*: FOXP3+-regulatorische T-Zellen (Patient*innenpopulation: resektabel)

**4.2.3.2 Nachweis FOXP3+-regulatorischer T-Zellen –
Patient*innenpopulation: LAPC und MET**

4.2.3.2.1 Gesamtüberleben

Die folgende Tabelle 36 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben (OS) und dem Nachweis FOXP3-positiver-regulatorischer T-Zellen. Abbildung 43 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven für den Nachweis FOXP3-positiver regulatorischer T-Zellen. Hier wurde das Gesamtüberleben der Patient*innen analysiert, die bei Erstdiagnose eine lokal fortgeschrittene oder metastasierte Ausgangssituation aufzeigten. Bezüglich des medianen Gesamtüberlebens beider Gruppen zeigte sich ein numerischer Unterschied von 5 Monaten zugunsten der Gruppe der Patient*innen mit Nachweis von FOXP3+-regulatorischer T-Zellen im Tumorgewebe. Der p-Wert des Log-Rank-Tests zeigte keine Signifikanz ($p = 0,55$).

FOXP3+-TRegs im Tumorgewebe	n =	Medianes OS in Monaten	p-Wert
Nein	15	14,00	0,55
Ja	17	19,00	

Tabelle 36: Median des OS entsprechend FOXP3+-regulatorische T-Zellen (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)

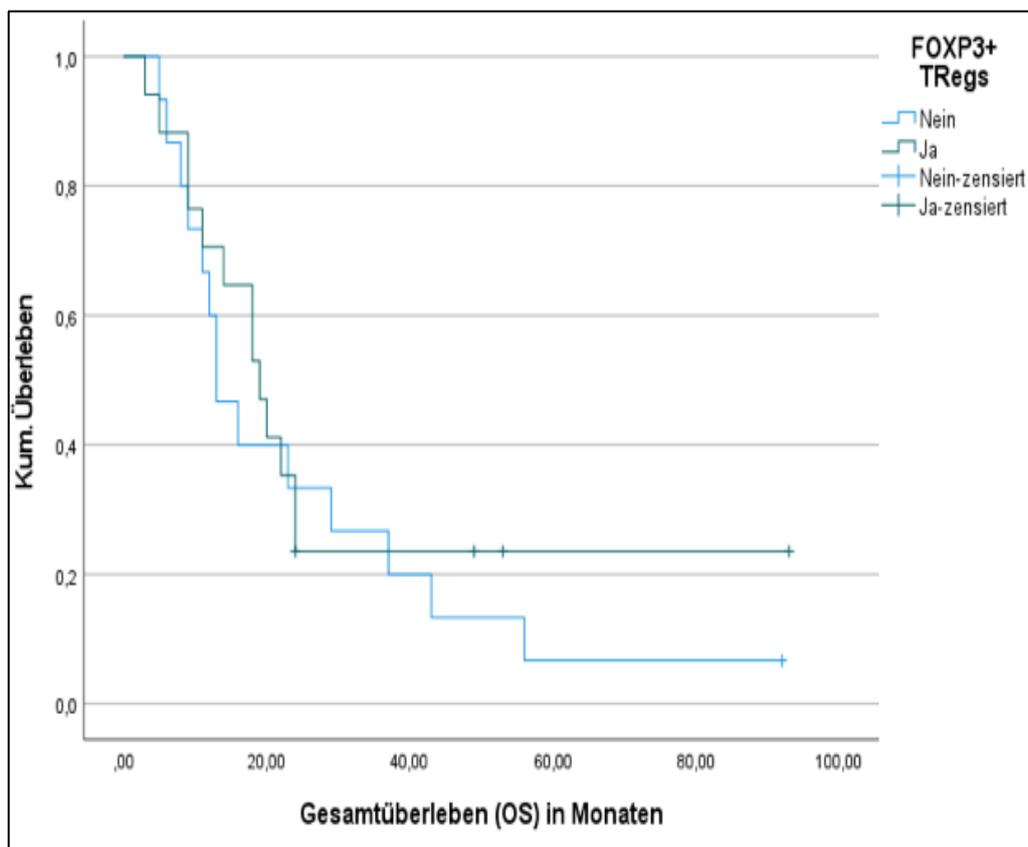


Abbildung 43: Kaplan-Meier-Schätzer OS für FOXP3+-regulatorische T-Zellen (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)

4.2.3.2.1.1 PFS

Im Folgenden wird der Zusammenhang zwischen dem *PFS* in Monaten und der Infiltration durch FOXP3+-regulatorische T-Zellen im Tumorgewebe sowie das Ergebnis des Log-Rank-Tests bezüglich des *PFS* beider Gruppen in Tabelle 37 dargestellt. Abbildung 44 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven für die FOXP3+-regulatorische-T-Zellen-Infiltration im Tumorgewebe. Bei der Berechnung des *PFS* wurden nur Patient*innen inkludiert, welche bei Erstdiagnose als lokal fortgeschritten erkrankt oder metastasiert eingestuft wurden. Es zeigte sich ein knapp nicht signifikanter ($p = 0,05$) Überlebensvorteil von 2,7 Monaten zugunsten der Gruppe der Patient*innen ohne Infiltration durch FOXP3+-regulatorische-T-Zellen im Tumorgewebe.

FOXP3+-TRegs im Tumorgewebe	n =	<i>PFS</i> in Monaten	p-Wert
Nein	13	6,0	0,05
Ja	13	3,3	

Tabelle 37: Median des *PFS*: FOXP3+-regulatorische-T-Zellen-Infiltration (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)

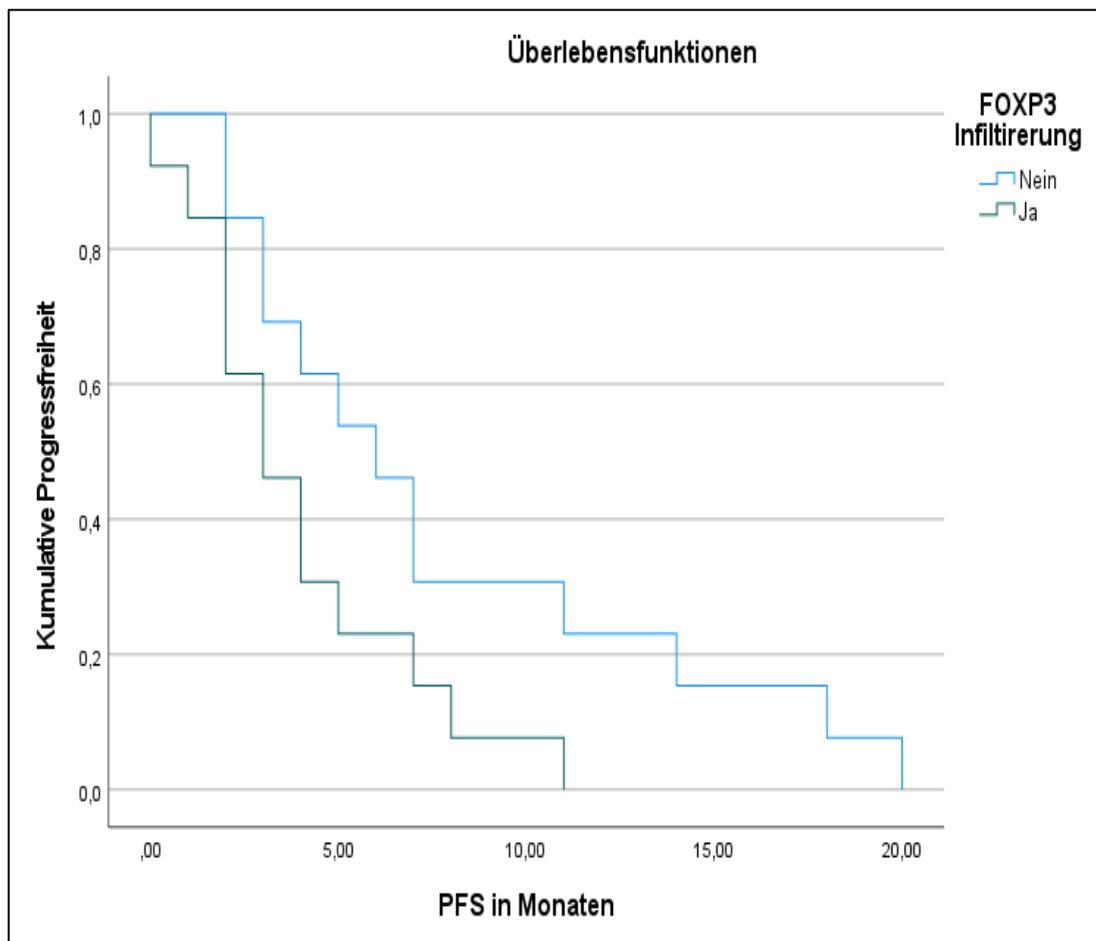


Abbildung 44: Kaplan-Meier-Schätzer *PFS*: FOXP3+-regulatorische T-Zellen (Patient*innenpopulation: LAPC und MET)

4.3 Korrelationen zwischenIDO-Expression, CD8+-Effektor-T-Zellen, FOXP3+-regulatorischen-T-Zellen und klinischen Parametern

In den punktbiserialen Korrelationen zeigte sich ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen der Expression von IDO im Tumorgewebe mit dem Tumormarker CEA zum Zeitpunkt der Erstdiagnose. Weiterhin zeigte sich ein signifikanter positiver Zusammenhang von FOXP3+-regulatorischen T-Zellen im Tumorgewebe und dem Tumormarker CEA zum Zeitpunkt der Erstdiagnose. Lag eine Expression von IDO oder eine Infiltration durch FOXP3+-regulatorische T-Zellen in den untersuchten Tumor-Gewebeproben vor, so lag im Durchschnitt eine höhere Konzentration des Tumormarkers CEA im Serum vor. Bei allen anderen untersuchten Parametern konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Die quantitativen Ergebnisse sind der folgenden Tabelle 35 zu entnehmen.

		CRP	CA19-9	CEA	Thrombozyten
IDO-Expression	Korrelation	-0,039	-0,049	0,353**	-0,104
	Signifikanz	0,713	0,657	0,002	0,320
	N	93	84	78	94
CD8+-Effektor T-Zellen-Infiltration	Korrelation	0,086	-0,080	0,053	0,118
	Signifikanz	0,415	0,473	0,648	0,259
	N	92	83	77	93
FOXP3+-TRegs-Infiltration	Korrelation	0,074	-0,102	0,265*	-0,165
	Signifikanz	0,484	0,361	,021	0,117
	N	91	82	76	92

* Signifikant auf 0,05-Niveau ** Signifikant auf 0,01-Niveau

Tabelle 28: Punktbiserial Korrelationen zwischen klinischen Parametern und IDO, CD8+ sowie FOXP3+

4.4 Zusammenhänge von IDO-Expression, CD8+-Effektor-T-Zellen und FOXP3+-regulatorischen T-Zellen

IDO-Expression und FOXP3+-TRegs

Hinsichtlich des gemeinsamen Vorliegens einer IDO-Expression und einer Infiltration durch FOXP3+-regulatorische T-Zellen im Tumorgewebe ergab sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang bezüglich der Ausprägung beider Variablen ($p = 0,002$). Patient*innen, bei denen eine Expression von IDO im Tumorgewebe vorlag, zeigten mit einer höheren Wahrscheinlichkeit ebenfalls eine Infiltration von FOXP3+-regulatorischen T-Zellen. Die quantitativen Ergebnisse sind der folgenden Tabelle 36 zu entnehmen.

IDO-Expression	FOXP3+-TRegs		
	Nein	Ja	Gesamt
Nein	46	35	81
Ja	2	13	15
Gesamt	48	48	96

$$(\chi^2(1) = 9,56, p = 0.002, \varphi = 0.316)$$

Tabelle 29: Kreuztabelle: Chi-Quadrat-Test für IDO-Expression und FOXP3+-TRegs

IDO-Expression und CD8+-Infiltration

Hinsichtlich des gemeinsamen Vorliegens einer IDO-Expression und einer CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration im Tumorgewebe zeigte sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang bezüglich der Ausprägung beider Variablen ($p = 0,004$). Patient*innen, bei denen eine Expression von IDO im Tumorgewebe vorlag, zeigten mit einer höheren Wahrscheinlichkeit ebenfalls eine Infiltration durch CD8+-Effektor-T-Zellen. Die quantitativen Ergebnisse sind der folgenden Tabelle zu entnehmen.

IDO-Expression	CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration		
	Nein	Ja	Gesamt
Nein	63	19	82
Ja	6	9	15
Gesamt	69	28	97

$$(\chi^2(1) = 8,38, p = 0.004, \varphi = 0.294)$$

Tabelle 30: Kreuztabelle: Chi-Quadrat-Test für IDO-Expression und CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration

CD8+-Effektor-T-Zellen und FOXP3+-regulatorische-T-Zellen

Hinsichtlich des gemeinsamen Vorliegens einer Infiltration durch CD8+ Effektor-T-Zellen und einer Infiltration durch FOXP3+-regulatorische T-Zellen im Tumorgewebe zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang bezüglich der Ausprägung beider Variablen ($p = 0.369$). Die quantitativen Ergebnisse sind der folgenden Tabelle 38 zu entnehmen.

CD8+-Effektor-T-Zell- Infiltration	Infiltration von FOXP3+-TRegs		
	Nein	Ja	Gesamt
Nein	36	32	68
Ja	12	16	28
Gesamt	48	48	96

$(\chi^2(1) = 0,81, p = 0.369, \varphi = 0.092)$

Tabelle 31: Kreuztabelle: Chi-Quadrat-Test für CD8+-Effektor-T-Zell-Infiltration und Infiltration durch FOXP3+-TRegs

4.5 Multivariate Cox-Regressionsanalysen

Im folgenden Abschnitt werden die durchgeführten multivariaten Analysen mit den Variablen IDO, CD8+, FOXP3 und dem Gesamtüberleben sowie dem *DFS* dargestellt.

4.5.1 Multivariate Cox-Regression – Gesamtüberleben

Tabelle 32 zeigt die Ergebnisse der multivariaten Cox-Regression bezüglich des Gesamtüberlebens. Hier wurde das gesamte Patient*innen-Kollektiv, unabhängig von dem Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose, inkludiert. Es wurden die Patient*innen zur Analyse herangezogen, in deren Fällen die zu untersuchenden Variablen (siehe Tabelle 32) vorlagen ($n = 70$).

Dabei erwies sich weder IDO, CD8+ noch FOXP3 als signifikanter prognostischer Faktor bezüglich des Gesamtüberlebens. Als signifikante negative prognostische Faktoren hinsichtlich des Gesamtüberlebens erwiesen sich ein metastasiertes Erkrankungsstadium (verglichen mit resektablem Erkrankungsstadium), ein höheres Grading (3 + 4 vs. 1 + 2) sowie ein schlechterer Allgemeinzustand der Patient*innen bei Erstdiagnose.

Variable	<i>Hazard Ratio</i>	95 % Konfidenzintervall (engl. <i>CI</i>)	Signifikanz
IDO-Expression	1,19	0,46–3,09	0,72
CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration	0,74	0,37–1,50	0,40
FOXP3+-TRegs-Infiltration	0,82	0,43–1,59	0,56
Alter	1,0	0,97–1,02	0,75
Erkrankungsstadium lokal fortgeschritten ^a	0,85	0,33–2,19	0,74
Erkrankungsstadium metastasiert ^b	2,17	1,07–4,40	0,03*
<i>Grading</i> ^c	1,85	1,01–3,38	0,05*
<i>ECOG</i> ^d	4,29	1,75–10,51	>0,01**

* Signifikant auf 0,05-Niveau; ** Signifikant auf 0,01-Niveau; ^a Im Vergleich mit Stadium resektabel; ^b Im Vergleich mit Stadium resektabel; ^c Grade 1 + 2 vs. 3 + 4; ^d *ECOG Performance Status*: 0 + 1 vs. 2 + 3

Tabelle 32: Ergebnisse der Cox-Regression bezüglich Gesamtüberleben ($n=70$)

4.5.2 Multivariate Cox-Regression – DFS

Tabelle 33 zeigt die Ergebnisse der multivariaten Cox-Regression bezüglich des DFS. Hier wurden nur Patient*innen inkludiert, welche eine resektable Ausgangssituation bei Erstdiagnose aufzeigten und eine Operation in kurativer Absicht erhielten. Dabei erwies sich weder IDO, CD8+ noch FOXP3 als signifikanter prognostischer Faktor bezüglich des erkrankungsfreien Überlebens. Die weiteren untersuchten Variablen zeigten ebenfalls keine signifikante prognostische Funktion bezüglich des DFS.

Variable	Hazard Ratio	95 % Konfidenzintervall (engl. CI)	Signifikanz
IDO-Expression	0,57	0,20–1,65	0,30
CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration	1,60	0,72–3,52	0,24
FOXP3+-TRegs-Infiltration	1,35	0,63–2,91	0,44
Alter	1,01	0,97–1,04	0,76
Grading ^a	0,91	0,43–1,94	0,81
ECOG ^b	2,22	0,75–6,58	0,15

* Signifikant auf 0,05-Niveau; ** Signifikant auf 0,01-Niveau; ^a Grade 1 + 2 vs. 3 + 4; ^b Eastern Coop Performance Status: 0 + 1 vs. 2 + 3

Tabelle 33: Ergebnisse der Cox-Regression bezüglich DFS (n = 39)

5. Diskussion

5.1 Klinische Variablen, Tumormarker, inflammatorische Biomarker im peripheren Blut und Diabetes mellitus

Im untersuchten Patient*innen-Kollektiv zeigte sich ein deutlich verlängertes medianes Gesamtüberleben bei Patient*innen mit Pankreaskarzinom bei gutem Allgemeinzustand (*ECOG* 0 und 1). So zeigte sich dabei ein signifikanter Überlebensvorteil von 10,4 Monaten im medianen Gesamtüberleben (*ECOG* 0 bis 1: 18,86 Monate vs. *ECOG* 2 bis 3: 8.5 Monate, $p < 0,01$). Gleichmaßen zeigte sich im vorliegenden Datensatz das Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose als signifikanter prognostischer Faktor. Im Vergleich zu Patient*innen mit Metastasierung bei Erstdiagnose zeigte sich bei Patient*innen mit resektabler Ausgangssituation ein medianer Überlebensvorteil von 19,4 Monaten ($p < 0,01$). Auch der Tumormarker CA19-9 wurde hinsichtlich eines vorliegenden Zusammenhangs auf das mediane Gesamtüberleben untersucht und zeigte ebenfalls eine signifikante prognostische Bedeutung. Es zeigte sich ein signifikanter Überlebensvorteil der Patient*innen-Gruppe mit niedriger CA-19-9-Konzentration im Serum (<166 Einheiten) bei Erstdiagnose von 10,5 Monaten ($p < 0,01$). Weiterhin konnte in den vorliegenden Analysen dem Tumormarker CEA eine signifikante prognostische Rolle bezüglich des medianen Gesamtüberlebens zugesprochen werden. Somit konnten die oben genannten gesicherten Prognosefaktoren auch in dem hier untersuchten Patient*innen-Kollektiv bestätigt werden sowie die Integrität der Daten der vorliegenden Datenbank validiert werden.

Weiterhin näherten wir uns der Frage, ob inflammatorische Biomarker mit dem *OS* der Patient*innen mit Pankreaskarzinom korrelieren könnten. Ein erhöhter CRP-Wert war ebenso wie in der Literatur beschrieben signifikant mit einem kürzeren medianen Gesamtüberleben assoziiert [72, 76]. Die Anzahl der Thrombozyten, die bei inflammatorischen Prozessen im Körper erhöht sein können, ergab in den vorliegenden Analysen keine signifikante Aussage bezüglich des *OS*. Da inflammatorische Prozesse und die Inzidenz, an einem Pankreaskarzinom zu erkranken, mit dem Vorliegen einer Diabetes-mellitus-Erkrankung assoziiert sein können [87], korrelierten wir weiterhin das *OS* mit dem Vorliegen einer Diabetes-mellitus-Erkrankung. Hier zeigte sich ein nicht signifikanter Überlebensvorteil von circa 2,3 Monaten ($p = 0,99$) bei Fehlen einer Diabetes-mellitus-Erkrankung.

In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, dass die Neudiagnose einer Diabetes mellitus auf eine Pankreaskarzinom-Erkrankung hinweisen könnte. Da Screening-Instrumente zur Früherkennung des Pankreaskarzinoms unabdingbar und bisher selten sind, sollte Biomarkern zur Erkennung von Hochrisikopopulationen Beachtung geschenkt werden [88].

Unter der Hypothese, dass eine IDO-Expression im Tumorgewebe mit dem OS korrelieren könnte, etablierten wir in einem zeitlich und technisch aufwendigen Prozess, wie in Kapitel 2.2.2 ausführlich beschrieben, einen neuen und eigenen Antikörper, da bis dato kein zuverlässiger IDO-Nachweis mittels Immunhistochemie etabliert worden war. Insbesondere war unklar, ob die in bisherigen Studien verwendeten Antikörper in der immunhistochemischen Untersuchung eine mögliche IDO-Expression verlässlich nachweisen können [89].

Wie in der Einleitung beschrieben, zeigen präklinische Studien, dass IDO einen immunsuppressiven Effekt im Tumormikromilieu ausüben kann. Hierbei spielen insbesondere T-Zellen eine entscheidende Rolle. Zusätzlich zur IDO-Expression bestimmten wir daher CD8⁺-T-Effektorzellen sowie regulatorische FOXP3⁺-T-Zellen im Tumorgewebe.

5.2 IDO-Expression

In der Literatur findet man unterschiedliche Zusammenhänge und Studienergebnisse bezüglich der prognostischen und prädiktiven Bedeutung der IDO-Expression bei verschiedenen Tumorentitäten. Bislang wird davon ausgegangen, dass eine Expression von IDO im Tumorgewebe mit einer schlechteren Prognose einhergeht [90–92]. Zahlreiche Studien haben bestätigt, dass eine vermehrte IDO-Expression in unterschiedlichen Krebsentitäten nachweisbar ist und die Expression von IDO den malignen Zellen einen Überlebensvorteil verschaffen kann [92–96]. In Tiermodellen konnte durch die Inhibition von IDO eine Unterdrückung der Tumorbildung erreicht werden [91, 92, 97, 98]. In einer in *Nature Medicine* im Jahr 2005 veröffentlichten Studie konnte an Mausmodellen gezeigt werden, dass durch eine Kombinationstherapie aus einem Chemotherapeutikum plus IDO-Inhibitor die Ansprechraten gegenüber einer Mono-Chemotherapie bei Malignomen unterschiedlicher Entität verbessert werden konnten [97]. Präklinische Daten konnten weiterhin zeigen, dass die Kombinationstherapie aus Checkpoint-Inhibitoren und die Applikation eines IDO-Inhibitors zu einer veränderten Tumor-Mikroumgebung führt und die Immunantwort der T-Zellen gegen den Tumor verbessert [92].

Das Einhergehen einer schlechteren Prognose bei erhöhter IDO-Expression im tumorinfiltrierenden Gewebe konnte z. B. für folgende Tumorentitäten nachgewiesen werden [92, 99–106]:

- Akute myeloische Leukämie
- Mammakarzinom
- Zervixkarzinom
- Endometrium- und Ovarialkarzinom
- Nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom
- Glioblastom multiforme
- Melanom

Für das Pankreaskarzinom untersuchte eine im März 2017 veröffentlichte Studie den Zusammenhang zwischen einer erhöhten IDO-Expression im Adenokarzinom der an Pankreaskarzinom erkrankten Patient*innen und dem Fortschreiten der Erkrankung. Dabei wurde gezeigt, dass eine hohe IDO-Expression im Pankreaskarzinom mit einer schlechteren Prognose für die Patient*innen einhergeht [96].

5.2.1 IDO-Inhibitoren

In unterschiedlichen Studien wird aktuell die Wirksamkeit von IDO-Inhibitoren, wie Indoximod, Epcadostat, Navoximod und BMS-986205, als Monotherapie und in Kombination mit Checkpoint-Inhibitoren bei unterschiedlichen Tumorentitäten untersucht [92, 107]. Epcadostat, Navoximod und BMS-986205 sind direkte IDO-Inhibitoren. Indoximod wirkt als indirekter IDO-Inhibitor über Signalwege, an denen IDO beteiligt ist [92]. In der folgenden Abbildung 45 sind die beschriebenen IDO-Inhibitoren mit ihren Zielstrukturen und deren Wirkungsweisen abgebildet.



Abbildung 45: IDO-Inhibitoren und deren Ziele, Copyright: Cancer Research Reviews [8]

Für das maligne Melanom konnte in jüngsten Studien gezeigt werden, dass das therapeutische Ansprechen auf eine PD-1-Inhibition durch die gleichzeitige Gabe von IDO-Inhibitoren möglicherweise verbessert werden kann [108]. Insgesamt erwecken diese Daten die Hoffnung, dass IDO-Inhibitoren, die in Mono- oder Kombinationstherapien eingesetzt werden, einen antineoplastischen Effekt haben könnten [8, 92, 97; 109–110].

Jedoch zeigen sich in randomisierten Studien auch negative Ergebnisse. Im Sommer 2016 wurde eine randomisierte, Placebo-kontrollierte Phase-III-Studie (ECHO-301/KEYNOTE-252) mit 700 Patient*innen bei metastasiertem Melanom durchgeführt. Die Patient*innen erhielten Pembrolizumab (ein PD-1-Inhibitor) in Kombination mit Epcadostat oder Placebo. Primäre Endpunkte der Studie waren das progressionsfreie Überleben sowie das Gesamtüberleben. Es konnte in der Studie kein statistisch signifikanter Vorteil zugunsten von Epcadostat gezeigt werden, sodass die Studie im April 2018 abgebrochen wurde [111]. In einer weiteren randomisierten Phase-II-Studie (NCT01685255) wurde Epcadostat als Monotherapie im Vergleich zu Tamoxifen bei Patient*innen mit Ovarialkarzinom, Tuben- oder Peritonealkarzinom untersucht [112]. Die Studie wurde aufgrund des schlechteren Ansprechens der Epcadostat-Monotherapie abgebrochen. Das mediane progressionsfreie Überleben betrug bei Studienabbruch 3,8 Monate im Epcadostat-Studienarm (n = 22) im Gegensatz zum medianen progressionsfreien Überleben von 5,6 Monaten im Tamoxifen-Studienarm (n = 20) [112].

Speziell für das Pankreaskarzinom wurde in einer kürzlich abgeschlossenen Studie von Bahary et al. (NCT02077881) die Wirksamkeit der Kombination des IDO-Inhibitors Indoximod plus Gemcitabin und nab-Paclitaxel in einer Phase-II-Studie bei Patient*innen mit metastasiertem Pankreaskarzinom untersucht. Die Studie konnte ihr primäres Studienziel nicht erreichen (30-prozentige Reduktion des *HR* für das mittlere *OS*) [113]. In der Studie zeigte sich weiterhin, dass Patient*innen mit einem Ansprechen auf eine Kombinationstherapie des IDO-Inhibitors Indoximod plus Gemcitabin und nab-Paclitaxel eine erhöhte intra-tumorale CD8+-Dichte aufwiesen. Wenngleich der definierte primäre Endpunkt nicht erreicht wurde, unterstützen die Kolleg*innen Bahary et al. jedoch die Durchführung weiterer klinischer Studien zur IDO-Kombinationstherapie für das metastasierte Pankreaskarzinom [113]. In einer seit Juli 2019 laufenden Phase-II-Studie (NCT03432676) an der Universität von Texas (*MD Anderson Cancer Center*) wurde die Wirksamkeit von Epcadostat und Pembrolizumab bei der Behandlung von Patient*innen mit Pankreaskarzinom untersucht. Die Studie wurde im Mai 2019 abgebrochen. Die Nennung der Gründe für den Studienabbruch sowie Auswertungen und Ergebnisse wurden für April 2021 angekündigt, sind jedoch, Stand 26.03.2023, weiterhin ausstehend. Darüber hinaus laufen aktuell weitere Studien, die sich mit IDO-Inhibitoren und deren Wirksamkeit in soliden Tumoren und speziell für das fortgeschrittene Pankreaskarzinom beschäftigen (NCT03006302, NCT00739609) [10].

Im vorliegenden untersuchten Patient*innen-Kollektiv lag bei 15 Patient*innen (15,3 %) eine IDO-Expression vor. Bei 83 Patient*innen (84,7 %) konnte keine IDO-Expression nachgewiesen werden. Bezüglich des medianen Gesamtüberlebens beider Gruppen zeigten sich sowohl in der Population der Patient*innen mit resektabler Ausgangssituation ($OS = 4,2$ Monate, $p = 0,63$) als auch für die Gruppe der Patient*innen mit lokal fortgeschrittener oder metastasierter Erkrankung ($OS = 3,3$ Monate, $p = 0,22$) nicht signifikante numerische Unterschiede für das OS zugunsten der Patient*innen mit vorliegender IDO-Expression. Bei Patient*innen mit resektablen Tumoren bei Erstdiagnose zeigte sich bezüglich dem Endpunktes DFS ein nicht signifikanter Überlebensvorteil von 1,8 Monaten zugunsten der Patient*innen mit vorliegender IDO-Expression ($p = 0,45$). Bezüglich des Endpunktes PFS zeigte sich bei Patient*innen mit lokal fortgeschrittener oder metastasierter Erkrankung ein numerischer Unterschied von 0,5 Monaten zugunsten der Gruppe ohne vorliegende IDO-Expression ($p = 0,12$).

Hier ist zu betonen, dass keine der univariaten Korrelations- und Überlebenszeitanalysen zur IDO-Expression im vorliegenden Patient*innen-Kollektiv eine statistische Signifikanz erreichte. Es kann keine endgültige Aussage über den Trend für eine mögliche Korrelation bezüglich einer IDO-Expression und einer Prognose für das Pankreaskarzinom auf der Grundlage des vorliegenden Patient*innen-Kollektivs getroffen werden. In Abschnitt 5.7 zu den Limitationen der vorliegenden Arbeit wird dieser Sachverhalt weiterführend diskutiert.

5.3 CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration

Im November 2020 wurde in *Nature Reviews Cancer* über den Stellenwert des *Immunscore* von Galon et al. berichtet. Es wurde für das kolorektale Karzinom (KRK) gezeigt, dass der *Immunscore*, bestehend aus der Stärke der Immunzellinfiltration, möglicherweise besser geeignet sein könnte als die TNM-Klassifikation [114]. Für das hepatozelluläre Karzinom (HCC) ergab sich in einer 2019 veröffentlichte Metaanalyse mit insgesamt 3509 Patient*innen, dass höhere Konzentrationen von CD8+-T-Effektorzellen mit einer signifikant besseren Prognose (kleinere Tumorgröße, längeres OS und PFS) einhergehen. Diese Studie deutet darauf hin, dass die Infiltration von CD8+-T-Effektorzellen möglicherweise ein Prognosefaktor für das HCC darstellen könnte [115].

Im vorliegenden Patient*innen-Kollektiv lag bei 28 Patient*innen (28,9 %) eine CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration vor. Bei 69 Patient*innen (71,1 %) konnte keine Infiltration von CD8+-Effektor-T-Zellen nachgewiesen werden. Bezüglich des medianen Gesamtüberlebens beider Gruppen zeigte sich, in Einklang mit den Ergebnissen in verschiedenen aktuellen Stu-

dien, sowohl in der Population der Patient*innen mit resektabler Ausgangssituation (+2,2 Monate, $p = 0,61$) als auch für die Gruppe der Patient*innen mit lokal fortgeschrittener oder metastasierter Erkrankung bei Erstdiagnose ein Überlebensvorteil zugunsten der Patient*innen mit erhöhter CD8+-Effektor-T-Zellen Infiltration der Tumorzellen. Bei der Gruppe der Patient*innen mit lokal fortgeschrittener oder metastasierter Erkrankung zeigte sich ein statistisch signifikanter ($p = 0,03$) deutlicher Überlebensvorteil von 13,67 Monaten zugunsten der Gruppe der Patient*innen mit erhöhter CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration der Tumorzellen. Somit zeigt sich auch im untersuchten Patient*innen-Kollektiv ein möglicher Trend für eine Korrelation zwischen CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration und einer günstigen Prognose.

Bei Patient*innen mit resektablen Tumoren bei Erstdiagnose zeigte sich bezüglich des Endpunktes *DFS* ein knapp nicht signifikanter Überlebensvorteil von 3,8 Monaten zugunsten der Patient*innen ohne vorliegende CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration ($p = 0,05$). Bezüglich des Endpunktes *PFS* zeigte sich bei Patient*innen mit lokal fortgeschrittener oder metastasierter Erkrankung ein numerischer Unterschied von 1,8 Monaten zugunsten der Gruppe ohne vorliegende CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration ($p = 0,76$). In Abschnitt 5.7 zu den Limitationen der vorliegenden Arbeit wird dieser Sachverhalt weiterführend diskutiert.

5.4 FOXP3+-regulatorische T-Zellen

Eine umfangreiche Metaanalyse von Shang B. et al. von über 76 Studien mit 17 unterschiedlichen Krebsentitäten und 15.512 Patient*innen zeigte signifikante Korrelationen zwischen der Infiltration von FOXP3+-TRegs im Tumorgewebe und dem Gesamtüberleben (*OS* 1,46, $p < 0,001$). Die prognostische Funktion variierte hier je nach Tumorentität. Beim Zervixkarzinom, Mammakarzinom, Nierenzellkarzinom und beim malignen Melanom war die Infiltration von FOXP3+-TRegs im Tumorgewebe signifikant mit einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert. Hingegen war die Infiltration von FOXP3+-TRegs-Tumorgewebe beim Kolonkarzinom, Ösophaguskarzinom und Tumoren im HNO-Bereich mit einem verlängerten Gesamtüberleben in Zusammenhang zu bringen. Diese Studie schlussfolgerte, dass die prognostische Funktion von FOXP3+-TRegs abhängig ist von der Tumorentität, dem Tumorstadium sowie möglicherweise auch von verschiedenen molekularen Subtypen innerhalb einer Entität [116].

Eine weitere Studie, veröffentlicht im August 2019, untersuchte die Korrelation zwischen FOXP3+-TRegs und CD8+-Effektor-T-Zellen bei Patient*innen mit Mammakarzinom hinsichtlich ihrer prognostischen Bedeutung. Das vermehrte Auftreten von FOXP3+-TRegs war mit einer schlechteren Prognose (kürzeres *OS* und kürzeres *PFS*) verbunden, wohingegen die Infiltration von CD8+-Effektor-T-Zellen mit einer verbesserten Prognose assoziiert war. Somit

konnte in dieser Studie FOXP3+-TRegs und CD8+-Effektor-T-Zellen eine potenzielle prädikative Funktion zugesprochen werden [117].

Im vorliegenden Patient*innen-Kollektiv konnte eine Infiltration durch FOXP3+-TRegs bei 48 Patient*innen (50 %) gezeigt werden. Bezüglich des medianen Gesamtüberlebens (*OS*) beider Gruppen zeigte sich in der Gruppe der Patient*innen mit resektablen Tumoren kein Hinweis auf einen Zusammenhang. Das *OS* war bei beiden Gruppen identisch mit 30 Monaten ($p = 0,77$). In der Gruppe der Patient*innen mit lokal fortgeschrittener oder metastasierter Erkrankung bei Erstdiagnose zeigte sich ein numerischer Unterschied von 5 Monaten ($p = 0,55$) zugunsten der Gruppe der Patient*innen mit vorliegender Infiltration durch FOXP3+-TRegs. Bei Patient*innen mit resektablen Tumoren bei Erstdiagnose zeigte sich bezüglich des Endpunktes *DFS* ein nicht signifikanter Überlebensvorteil von einem Monat zugunsten der Patient*innen mit vorliegender Infiltration durch FOXP3+-TRegs ($p = 0,90$). Bezüglich des Endpunktes *PFS* zeigte sich bei Patient*innen mit lokal fortgeschrittener oder metastasierter Erkrankung ein knapp nicht signifikanter numerischer Unterschied von 2,7 Monaten zugunsten der Gruppe ohne vorliegende Infiltration durch FOXP3+-TRegs ($p = 0,05$).

Eine im März 2020 in *Cancer Discovery* veröffentlichte Studie zeigte auf, dass regulatorische FOXP3+-T-Zellen ggf. eine günstige prognostische Bedeutung für das Pankreaskarzinom haben könnten, während sie bei anderen Tumorentitäten eine negative prognostische Bedeutung zugesprochen bekommen [118].

Hier ist deutlich zu betonen, dass ein komplexes Zusammenspiel der T-Zellen vorliegt, weshalb sich gegebenenfalls auch in unserem Datensatz aktuell kein klar ersichtlicher Effekt aufzeigen lässt. Somit bleibt der endgültige Stellenwert für FOXP3+-TRegs aktuell noch unklar und weitere Studienergebnisse sind abzuwarten.

5.5 Korrelationen und Zusammenhänge zwischenIDO-Expression, CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration, FOXP3+-TRegs und klinischen Parametern

In Korrelationsanalysen der vorliegenden Arbeit zeigte sich, dass Patient*innen mit vorliegender Expression von IDO oder einer Infiltration des Tumorgewebes durch FOXP3+-regulatorische T-Zellen signifikant höhere Werte des Tumormarkers CEA zum Zeitpunkt der Erstdiagnose aufwiesen, was die mögliche Schlussfolgerung zulässt, dass eine erhöhte IDO-Expression oder der Nachweis FOXP3+-regulatorischer T-Zellen im Tumorgewebe mit einer höheren Tumormast einhergehen könnte. Weiterhin wurde im vorliegenden Patient*innen-Kollektiv hinsichtlich des gemeinsamen Vorliegens einer IDO-Expression und der Infiltration durch FOXP3+-regulatorische T-Zellen im Tumorgewebe ein statistisch signifikanter Zusammenhang bezüglich der Ausprägung beider Variablen gefunden. Patient*innen, bei denen eine Expression von IDO im Tumorgewebe vorlag, zeigten mit einer höheren Wahrscheinlichkeit ebenfalls eine Tumordinfiltration durch FOXP3+-regulatorischer T-Zellen. Auch in anderen Studien wird die Korrelation zwischen tumoraler IDO-Expression und Infiltration des Tumor durch FOXP3+-regulatorische T-Zellen beschrieben [105].

Hinsichtlich IDO-Expression und Infiltration durch CD8+-T-Effektor-Zellen im Tumorgewebe zeigte sich ebenfalls ein statistisch signifikanter Zusammenhang bezüglich der Ausprägung beider Variablen. Patient*innen, bei denen eine Expression von IDO im Tumorgewebe vorlag, zeigten mit einer höheren Wahrscheinlichkeit ebenfalls Infiltrationen des Tumorgewebes durch CD8+-T-Effektorzellen.

Eine im Oktober 2019 veröffentlichte Studie zeigte, dass CD4+- und CD8+-T-Effektor-Zellen, FOXP3+-TRegs und IDO-Expression Prognosefaktoren für Patient*innen mit einer Magenkarzinom-Diagnose darstellen könnten [119]. In dieser Studie korrelierte eine geringe Tumorgroße (< 5 cm) mit einem höheren Infiltrationsniveau von CD4+- ($p = 0,003$) und CD8+-T-Zellen ($p = 0,002$) und einer geringeren Expression von IDO im Tumorgewebe ($p = 0,044$). Die Expression von IDO korrelierte positiv mit der Infiltration durch FOXP3+-regulatorische-T-Zellen des Tumorgewebes ($p < 0,001$) und negativ mit dem CD4+/CD8+-T-Zell-Verhältnis des untersuchten Tumormaterials. Es lag ein geringeres tumorinfiltrierendes CD4+-/CD8+-T-Zell-Verhältnis ($p = 0,023$) vor. FOXP3 und IDO korrelierten signifikant mit der Prognose ($p < 0,05$).

In einer 2017 veröffentlichten Studie zum duktalen Pankreaskarzinom in *Nature Communications* wird ebenfalls ein Zusammenhang dieser Biomarker dargestellt. Das Chemotherapeutikum Oxaliplatin wurde hier in einem murinen Tiermodell zusammen mit dem IDO-Inhibitor Indoxamid verabreicht. Durch die gleichzeitige Gabe des IDO-Inhibitors wurde die immunogene Wirkung von Oxaliplatin verstärkt. Mechanistisch war eine deutliche Rekrutierung von T-Effektorzellen bei gleichzeitig verringerter Infiltration durch regulatorische T-Zellen in dem genannten murinen Tiermodell nachweisbar. Der von den Autor*innen postulierte Mechanismus ist in Abbildung 46 detailliert dargestellt [61].



Aus Gründen des Copyrights wurde diese Abbildung
in der Veröffentlichung entfernt.

Abbildung 46: Verstärkte immunogene Wirkung des Oxaliplatins durch Hemmung des IDO-Signalwegs. Copyright: Lu, Jianqin et al. [61]

5.6 Multivariate Cox-Regression und AIO-PK0104-Studie

Auch wenn sich im vorliegenden Patient*innen-Kollektiv in den multivariaten Cox-Regressionen bezüglich des Gesamtüberlebens sowie des *DFS* weder *IDO*, *CD8+*-Effektor-T-Zellen noch *FOXP3+*-TRegs als signifikante prognostische Faktoren darstellten, gab die Zusammenschau der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit Anstoß für weiterführende Analysen an unserem Zentrum. Hierzu wurden Tumorproben aus einer prospektiven klinischen Phase-III-Studie untersucht (AIO-PK0104-Studie). Die Studie verglich eine Erstlinientherapie mit Capecitabin plus Erlotinib gegenüber einer Erstlinientherapie mit Gemcitabin plus Erlotinib. Im Falle eines Progresses fand ein prädefinierter Crossover zum jeweils anderen Chemotherapeutikum statt (Capecitabin beziehungsweise Gemcitabin) [120, 121]. In diese Studie wurden insgesamt 281 Patient*innen eingeschlossen. Von 66 Patient*innen standen Tumorproben für eine translationale Analyse zur Verfügung.



Aus Gründen des Copyrights wurde diese Abbildung
in der Veröffentlichung entfernt.

Abbildung 47: AIO-PK0104-Phase-III-Studie (Copyright: AG Böck S., Ormanns S., Kruger S. [120, 121])

In dem genannten Kollektiv zeigte sich bei Vorliegen einer *IDO*-Expression im Tumorgewebe eine verkürzte mittlere Überlebenszeit von 4,5 Monaten. Patient*innen, bei denen eine hohe Infiltration von *CD8+*-Effektor-T-Zellen im Tumorgewebe vorlag, zeigten einen signifikanten Überlebensvorteil von 3,3 Monaten [120, 121]. Innerhalb dieser Studie konnte weiterhin bei vorliegender Signifikanz aufgezeigt werden, dass die *IDO*-Expression, die Infiltration von *FOXP3+*-TRegs, ein hoher Infiltrationswert von *CD8+*-Effektor-T-Zellen sowie der *KPS* unabhängige prognostische Faktoren für das Gesamtüberleben darstellen.

Die folgende Tabelle zeigt die Testergebnisse dieser Studie anhand der p-Werte.

Aus Gründen des Copyrights wurde diese Abbildung
in der Veröffentlichung entfernt.

Tabelle 34: Unabhängige prognostische Faktoren (Copyright: AG Böck S., Ormanns S., Kruger S. [121])

5.7 Limitationen

Bei dem vorliegenden Datensatz handelt es sich um ein heterogenes „*real-world*“ Patient*innen-Kollektiv. Insbesondere beinhaltet es Patient*innen mit resektablem, lokal fortgeschrittenem und metastasiertem Pankreaskarzinom. Weiterhin wurden unterschiedliche Behandlungen (Primärtumorresektionen, keine Resektionen, neoadjuvante, adjuvante, first-line bis third-line palliative Chemotherapie, Strahlentherapie und kombinierte Strahlen- und Chemotherapie) in der Studie abgebildet. Dadurch ergibt sich ein heterogenes, dem klinischen Behandlungsalltag nahes Patient*innen-Kollektiv, was die Generalisierbarkeit der Ergebnisse bzw. die externe Validität grundsätzlich erhöht. Gleichzeitig führt diese Heterogenität jedoch zu einer höheren Varianz in der Stichprobe, was ggf. zu einer geringeren internen Validität führt und Limitationen der vorliegenden Studie mit sich bringt.

Beispielsweise ist zu erwähnen, dass bezüglich der Überlebenszeitanalysen bezüglich der Endpunkte des *OS*, *DFS* und *PFS* bei vorliegender IDO-Expression davon ausgegangen werden könnte, dass es sich dabei um zufällige Schwankungen innerhalb der Stichprobe handelt, was sich auch anhand der nicht signifikanten Teststatistiken zeigt. Es ist zudem zu erwähnen, dass die Stichproben teilweise relativ klein waren. Die vorliegende Datenbank umfasst 207 Patient*innen, wir konnten jedoch von nur 98 Patient*innen Tumorproben für die immunhistochemischen Untersuchungen nutzen und beispielsweise konnten wir Untersuchungen zur IDO-Expression nur an 15 Tumorproben durchführen, da nur 15 Gewebeprobe eine IDO-Expression zeigten. Bei der Bildung weiterer Subgruppen für beispielsweise die Berechnung des *PFS* konnten nur 3 Patient*innen mit vorliegender IDO-Expression inkludiert werden. Eine ähnliche Situation lag bei der Berechnung des *PFS* für die Gruppe der Patient*innen mit lokal fortgeschrittener oder metastasierter Erkrankung und der CD8+-Effektor-T-Zellen-Infiltration vor. Bei den Untersuchungen der Infiltrationen zu den CD8+-T-Effektorzellen standen uns 28 Gewebeschnitte und zu den regulatorischen FOXP3+-T-Zellen standen uns 48 Gewebeschnitte mit positiven Befunden zur Verfügung. Bezüglich der Überlebenszeitanalysen mit dem Endpunkt Gesamtüberleben für die Gruppe der Patient*innen mit resektablen Tumoren bei Infiltration von CD8+-T-Effektorzellen im Tumorgewebe zeigte sich deskriptiv der in vorherigen Studien beschriebene Zusammenhang eines Überlebensvorteils bei Infiltration von CD8+-T-Effektorzellen im Tumorgewebe. Dass in dieser Analyse keine Signifikanz erreicht wurde, könnte möglicherweise ebenfalls durch die sehr heterogene Stichprobe erklärt werden.

Innerhalb der prospektiven AIO-PK0104-Studie lag eine deutlich homogenere Patient*innenpopulation (bezüglich des Erkrankungsstadiums bei Erstdiagnose und bezüglich der verabreichten Chemotherapien) vor. Während in der vorliegenden Arbeit, wie oben beschrieben, sehr unterschiedliche Chemotherapie-Protokolle verabreicht wurden, wurde im Rahmen der AIO-PK0104-Studie ein festes Therapieschema verfolgt. Es sind daher weitere prospektive Studien mit größeren und homogeneren Kohorten unabdingbar, welche in unserer gemeinsamen Arbeitsgruppe mit der AIO-PK0104-Studie bereits durchgeführt werden.

6. Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde ein repräsentatives Patient*innen-Kollektiv zusammengestellt, in dem bereits etablierte Biomarker für das Pankreaskarzinom wie beispielsweise *ECOG*, *CRP* oder *CA-19-9* bestätigt werden konnten. Weiterhin wurde für einen sicheren Nachweis der *IDO*-Expression im Tumorgewebe in einem aufwendigen Prozess über Gewebeschnitte und immunhistochemische Färbungen an humanen *Xenografts* ein neuer *IDO*-Antikörper etabliert. In der vorliegenden Arbeit konnte hinsichtlich der vorrangig untersuchten Einflussgrößen *IDO*, *FOXP3+* und *CD8+* kein klarer prognostischer Wert hinsichtlich des Gesamtüberlebens oder des *DFS* und *PFS* nachgewiesen werden. Mögliche Gründe dafür könnten das sehr heterogene Patient*innen-Kollektiv, eine zu geringe Stichprobengröße sowie das vorliegende retrospektive Studiendesign sein, welches insbesondere bei den uni- und multivarianten Analysen zu *IDO*, *CD8+* und *FOXP3+* zu kleinen Fallzahlen führte. Die korrelativen Zusammenhänge des untersuchten Patient*innen-Kollektivs lassen jedoch Schlussfolgerungen zu, dass eine erhöhte *IDO*-Expression oder der Nachweis *FOXP3+*-regulatorischer T-Zellen im Tumorgewebe mit einer höheren Tumorlast einhergehen könnte. Zudem konnte gezeigt werden, dass *IDO* mit *FOXP3* und *CD8* korreliert. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit gaben darüber hinaus Anstoß, weiterführende Analysen an den Tumorproben der *AIO-PK0104*-Studie zu initiieren. Hier wurde der Expression von *IDO*, dem Nachweis von *FOXP3+*-TRegs und einem hohen Infiltrationswert von *CD8+*-T-Effektorzellen eine unabhängige prognostische Funktion als Biomarker für das Gesamtüberleben zugesprochen.

Während weitere prospektive Studien notwendig sind, um die prognostische Bedeutung von *IDO* für Patient*innen mit Pankreaskarzinom endgültig zu klären, liegen mittlerweile erste Daten aus klinischen Studien mit *IDO*-Inhibitoren bei Patient*innen mit Pankreaskarzinom vor. Diese konnten bislang keinen eindeutigen Hinweis auf den Nutzen einer *IDO*-Inhibition in Kombination mit Chemotherapie oder weiteren Immunmodulatoren (insbesondere *PD-1*-Inhibitoren) liefern.

Insgesamt befinden wir uns noch in der Anfangsphase der personalisierten Immuntherapie für das Pankreaskarzinom. Obwohl bisher in klinischen Studien kein durchschlagender Erfolg erzielt werden konnte, lohnt es sich weiterhin in diesem Themenfeld zu forschen. Der Stellenwert von prognostischen und prädiktiven Biomarkern für die Entwicklung solcher Ansätze sollte weiterhin als hoch eingestuft werden.

LITERATURVERZEICHNIS

1. **Vincent A., et al.,** *Pancreatic cancer*, The Lancet, 2011, 378:607–20, doi:10.1016/S0140-6736(10)62307-0
2. **Pfeifer B., Preiß J., Unger C.,** *Onkologie integrativ: Konventionelle und komplementäre Therapie*, 1. Auflage, 2006, München, Urban & Fischer
3. **Zentrum für Krebsregisterdaten,** https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publicationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2021/krebs_in_deutschland_2021.pdf?__blob=publicationFile, S.60, letzter Abruf: 26.02.2023
4. **Quante A.S., et al.,** *Projections of cancer incidence and cancer-related deaths in Germany by 2020 and 2030*, Cancer Medicine, 2016, 5: 2649–56, doi: 10.1002/cam4.767
5. **Hiddemann W., Huber H. and Bartram C.R.,** *Die Onkologie: Solide Tumore, Lymphome, Leukämien*, 1. Auflage, 2004, Heidelberg, Springer.
6. **Moon Y.W., et al.,** *Targeting the indoleamine 2,3-dioxygenase pathway in cancer*, Journal for ImmunoTherapy of Cancer, 2015, 3:16013, doi:10.1186/s40425-015-0094-9
7. **Prendergast G.C.,** *Immune escape as a fundamental trait of cancer: focus on IDO*, Oncogene, 2008, 27:3889–900, doi:10.1038/onc.2008.35
8. **Prendergast G.C., et al.,** *Discovery of IDO1 Inhibitors: From Bench to Bedside*, Cancer Research, 2017, 77:6795–811, doi:10.1158/0008-5472.CAN-17-2285
9. **Labadie B.W., Bao R. and Luke J.J.,** *Reimagining IDO Pathway Inhibition in Cancer Immunotherapy via Downstream Focus on the Tryptophan–Kynurenine–Aryl Hydrocarbon Axis*, Clinical Cancer Research, 2019, 25:1462–71, doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-2882
10. **NIH clinicaltrials.gov.** <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?recrs=&cond=Pancreas+Cancer&term=IDO&cntry=&state=&city=&dist=>, letzter Abruf: 26.02.2021
11. **Heinemann V., Haas M. and Boeck S.,** *Systemic treatment of advanced pancreatic cancer*, Cancer Treatment Reviews, 2012, 38: 843–53, doi:10.1016/j.ctrv.2011.12.004
12. **Siegel R., et al.,** *Cancer statistics, 2022*, CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2022,72(1):7–33, doi:10.3322/caac.21708
13. **Kaatsch P., et al.,** *Krebs in Deutschland für 2013/2014*, Robert Koch-Institut: Gesellschaft der Epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V., 2017, S. 7–20, 48–51
14. **XU Y., et al.,** *Prognostic Effect of Age in Resected Pancreatic Cancer Patients: A Propensity Score Matching Analysis*, Frontiers in Oncology, 2022, doi.org/10.3389/fonc.2022.789351
15. **Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland/ Robert Koch-Institut:** *Krebs in Deutschland 2013 - 2014, Häufigkeiten und Trends: Bauchspeicheldrüse*, 11. Auflage, 2017, 48–51

16. **AWMF Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten und der Deutschen Krebsgesellschaft: Exokrines Pankreaskarzinom 2021**, https://register.awmf.org/assets/guidelines/032-010OL1_Exokrines-Pankreaskarzinom_2022-01.pdf, letzter Abruf: 27.11.2022
17. **Petersen G.M.**, *Familial Pancreatic Adenocarcinoma*, Hematology/Oncology Clinics of North America, 2015, 641–53, doi:[10.1016/j.hoc.2015.04.007](https://doi.org/10.1016/j.hoc.2015.04.007)
18. **Blackford A., et al.**, *Genetic Mutations Associated with Cigarette Smoking in Pancreatic Cancer*, Cancer Research, 2009, 69(8):3681-8, doi:10.1158/0008-5472
19. **FaPaCA.**, *Nationale Fallsammlung Familiäres Pankreaskarzinom*, <http://www.fapaca.de/arzt-inf.html>, letzter Abruf:17.04.2020
20. **Grant, T., Hua K., Singh A.**, *Molecular Pathogenesis of Pancreatic Cancer*, Progress in Molecular Biology and Translational Science, 2016,144:241-275, doi:10.1016/bs.pmbts.2016.09.008.
21. **Morris J.P, Wang S.C. and Hebrok M.**, *KRAS, Hedgehog, Wnt and the twisted developmental biology of pancreatic ductal adenocarcinoma*, Nature Reviews Cancer, 2010, 10(10):683-95, doi: 10.1038/nrc2899
22. **Ormanns, S., et al.** *Pathologie und Molekularpathologie des Pankreaskarzinoms*, Trilium Krebsmedizin, 2014, Band 23, Heft 3, S.110-115
23. **Ryan D.P., Hong T.S. and Bardeesy N.**, *Pancreatic Adenocarcinoma*, The New England Journal of Medicine, 2014, 371:1039–49, doi:10.1056/NEJMra1404198
24. **Graversen M., et al.**, *Peritoneal metastasis from pancreatic cancer treated with pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy (PIPAC)* Clinical & Experimental Metastasis, 2017, 34(5):309-314, doi: 10.1007/s10585-017-9849-7
25. **Cong L., et al.**, *Tumor size classification of the 8th edition of TNM staging system is superior to that of the 7th edition in predicting the survival outcome of pancreatic cancer patients after radical resection and adjuvant chemotherapy*, Scientific Reports, 2018, 8:1039, doi:10.1038/s41598-018-28193-4
26. **Onkopedia.**, *Pankreaskarzinom*, 2018, <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/pankreaskarzinom/@@guideline/html/index.html#litID0ETRAG>, letzter Abruf:17.04.2020
27. **Seufferlein T., et al.**, *S3-Leitlinie zum exokrinen Pankreaskarzinom, 2021*, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35671996/>, letzter Abruf: 21.10.2022
28. **Hlavsa, J., et al.**, *Tumor grade as significant prognostic factor in pancreatic cancer: validation of a novel TNMG staging system*, Neoplasma, 2018, 65(4):637–643, doi: 10.4149/neo_2018_171012N650
29. **Bosman F., et al.**, *WHO classification of tumours of the digestive system*, 2010, 4 ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer

30. **Bengtsson A., Andersson, R., Ansari D.,** *The actual 5-year survivors of pancreatic ductal adenocarcinoma based on real-world data*, Nature Scientific Reports, 2020, doi.org/10.1038/s41598-020-73525-y
31. **Tonini, V. and Zanni M,** *Pancreatic cancer in 2021: What you need to know to win*, World Journal of Gastroenterology, 2021, 27(35):5851-5889, doi: 10.3748/wjg.v27.i35.5851
32. **Park, W. Chawla A., O'Reilly E.,** *Pancreatic Cancer: A Review*, JAMA, 2021, 326(9):851-862, doi: 10.1001/jama.2021.13027
33. **Taher M., et al.,** *Pylorus Preserving Pancreaticoduodenectomy vs. Standard Whipple's Procedure in Case of Carcinoma head of the Pancreas and Periampullary Carcinoma*, Mymensingh Med J, 2015 Apr;24(2):319–25, letzter Abruf: 27.11.2022
34. **Korenkov M., Christoph T. Germer, H. Lang,** *Viszeralchirurgische Operationen und technische Varianten*, 1. Auflage, 2021, Heidelberg, Springer
35. **Ma S.J., et al.,** *Association of Timing of Adjuvant Therapy With Survival in Patients With Resected Stage I to II Pancreatic Cancer*, JAMA Network Open, 2019; 2(8):e199126, doi:10.1001/jamanetworkopen.2019.9126
36. **Conroy T., et al.,** *FOLFIRINOX or Gemcitabine as Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer*, The New England Journal of Medicine, 2018, 379:2395–406 doi:10.1056/NEJMoa1809775
37. **Kruger S., et al.,** *Palliative Chemotherapie des Pankreaskarzinoms*, Trillium Krebsmedizin, 2014, Band 23, Heft 3, 2014:136–41
38. **Badiyan S.N., et al.,** *The Role of Radiation Therapy for Pancreatic Cancer in the Adjuvant and Neoadjuvant Settings*, Surgical Oncology Clinics of North America, 2017, 26:431–53, doi:10.1016/j.soc.2017.01.012
39. **Kamisawa T., et al.,** *Pancreatic cancer*, Lancet, 2016, 2;388(10039):73-85, doi:10.1016/S0140-6736(16)00141-0
40. **Conroy T., et al.,** *FOLFIRINOX versus Gemcitabine for Metastatic Pancreatic Cancer*, The New England Journal of Medicine, 2011, 364:1817–25, doi:10.1056/NEJMoa1011923
41. **Mie, T., et al.,** *Treatment outcomes of erlotinib plus gemcitabine as late-line chemotherapy in unresectable pancreatic cancer*, Japanese Journal of Clinical Oncology, 2021, 30;51(9):1416-1422, doi: 10.1093/jjco/hyab091
42. **Pezzutto A., Ulrichs T., Burmester G.R.,** *Taschenatlas der Immunologie: Grundlagen-Labor-Klinik*: 2. Auflage, 2006, Stuttgart, Thieme
43. **Janeway,** *Immunologie*, 9. Auflage, 2018, Heidelberg, Springer
44. **Schubert M.,** [https://www.scinexx.de/diaschauen/autoimmun-erkrankungen/nggal-lery/image/01-24188-autoimmun06\(=\)](https://www.scinexx.de/diaschauen/autoimmun-erkrankungen/nggal-lery/image/01-24188-autoimmun06(=)), letzter Abruf: 18.03.2022

45. **Phimister E.G. and Sarantopoulos S.**, *Allogeneic Stem-Cell Transplantation — A T-Cell Balancing ACT*, *The New England Journal of Medicine*, 2018, 378:480–2, doi:10.1056/NEJMcibr1713238
46. **Van der Veeke, J.**, *The Transcription Factor Foxp3 Shapes Regulatory T Cell Identity by Tuning the Activity of trans-Acting Intermediaries*, *Immunity*, 2020, 53: 971–984, doi.org/10.1016/j.immuni.2020.10.010
47. **Josefowicz S.Z. and Rudensky A.**, *Control of Regulatory T Cell Lineage Commitment and Maintenance*, *Immunity*, 2009, 30(5):616-25, doi:10.1016/j.immuni.2009.04.009
48. **Morisaki, T., et al.**, *Neoantigens elicit T cell responses in breast cancer*, *Scientific Reports*, 2021, 11(1):13590, doi: 10.1038/s41598-021-91358-1
49. **Ercolini A.M., et al.**, *Recruitment of latent pools of high-avidity CD8 + T cells to the antitumor immune response*, *Journal of Experimental Medicine*, 2005, 201:1591–602, doi:10.1084/jem.20042167
50. **Zhu, Y., et al.**, *Immunosuppression, immune escape, and immunotherapy in pancreatic cancer: focused on the tumor microenvironment*, *Cellular Oncology*, 2022, doi:10.1007/s13402-022-00741-1
51. **Tavakoli, F., et al.**, *Cancer immunoediting: A game theoretical approach*, *In Silico Biology | Journal of Biological Systems Model*, 2021, 14(1-2):1-12, doi:10.3233/ISB-200475
52. **Menger L.**, *Cancer Immunediting*. https://www.researchgate.net/figure/Immunoediting-du-cancer-role-du-systeme-immunitaire-dans-la-suppression-et-la-promotion_fig1_280791897, letzter Abruf: 17.03.2020
53. **Villalba M., et al.**, *From tumor cell metabolism to tumor immune escape*, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2013, 45:106–13, doi:10.1016/j.biocel.2012.04.024
54. **Gressner A. M. und Arndt T.**, *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*, S.147, 3. Auflage, 2019, Heidelberg, Springer
55. **Rassow J., Netzker R., Hauser K.**, *Duale Reihe, Biochemie*, 5. Auflage, 2022, Stuttgart, Thieme
56. **Proding, J., et al.**, *The tryptophan metabolite picolinic acid suppresses proliferation and metabolic activity of CD4+ T cells and inhibits c-Myc activation*, *Journal of Leukocyte Biology*, 2005, doi.org/10.1189/jlb.3A0315-135R
57. **Munn D.H.**, *Inhibition of T cell proliferation by macrophage tryptophan catabolism*, *Journal of Experimental Medicine*, 1999, 189(9): 1363–1372, doi: 10.1084/jem.189.9.1363
58. **Quan J., et al.**, *Manipulation of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) for clinical transplantation: promises and challenges*, *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2008, 8(11): 1705–19, doi:10.1517/14712598.8.11.1705

59. **Mellor A.L. and Munn D.H.**, *Ido expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism*, Nature Review Immunology, 2004, 4(10), 762–74, doi:10.1038/nri1457
60. **Thomas S.R. and Stocker R.**, *Redox reactions related to indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophan metabolism along the kynurenine pathway*, Redox Report, 2013, 4:199–220, doi:10.1179/135100099101534927
61. **Lu J., et al.**, *Nano-enabled pancreas cancer immunotherapy using immunogenic cell death and reversing immunosuppression*, Nature Communications, 2017, 8:260, doi:10.1038/s41467-017-01651-9
62. **Prendergast G.C., et al.**, *Indoleamine 2,3-dioxygenase pathways of pathogenic inflammation and immune escape in cancer*, Cancer Immunology Immunotherapy, 2014, 63:721–35, doi:10.1007/s00262-014-1549-4
63. **Qin, R., et al.**, *Tryptophan potentiates CD8+ T cells against cancer cells by TRIP12 tryptophanylation and surface PD-1 downregulation*, Journal for Immunotherapy of Cancer, 2021, 9(7): e002840, doi: 10.1136/jitc-2021-002840
64. **Das S., Berlin J. and Cardin D.**, *Harnessing the Immune System in Pancreatic Cancer*, Current Treatment Options in Oncology, 2018, 19:2224, doi:10.1007/s11864-018-0566-5
65. **Boyland E. and Williams DC.**, *The metabolism of tryptophan. 2. The metabolism of tryptophan in patients suffering from cancer of the bladder*, Biochemical Journal, 1956, 64:578–82. doi:10.1042/bj0640578
66. **R. Yoshida**, *Induction of pulmonary indoleamine 2,3-dioxygenase by interferon*, Proceedings of the National Academy of Sciences, 1981, 78(1):129-32, doi: 10.1073/pnas.78.1.129
67. **Katz J.B., Muller A.J. and Prendergast G.C.**, *Indoleamine 2,3-dioxygenase in T-cell tolerance and tumoral immune escape*, Immunological Review, 2008, Apr. 2022:206-21, doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00610.x
68. **Munn D.H. et al.**, *Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism*, Science, 1998, 281(5380):1191-3, doi:10.1126/science.281.5380.1191
69. **Ballman K.V.**, *Biomarker: Predictive or Prognostic?*, Journal of Clinical Oncology, 2015, 33:3968–71, doi:10.1200/JCO.2015.63.3651
70. **Rietzler S.N.**, *Die Rolle des KRAS-Mutationsstatus beim fortgeschrittenen Pankreaskarzinom: Differenzierung zwischen prognostischem und prädiktivem Stellenwert*, 2018, Dissertation München, https://edoc.ub.uni-muenchen.de/23138/1/Rietzler_Sibylle_N.pdf, letzter Abruf: 18.03.2022
71. **Schmitz G., Endres S., Götte D.**, *Biomarker: Bedeutung für medizinischen Fortschritt und Nutzenbewertung*, 1. Auflage, 2008, Stuttgart, Schattauer

72. **Bilici A.**, *Prognostic factors related with survival in patients with pancreatic adenocarcinoma*, World Journal of Gastroenterology, 2014, 20:10802, doi:10.3748/wjg.v20.i31.10802
73. **Boeck S., et al.**, *EGFR pathway biomarkers in erlotinib-treated patients with advanced pancreatic cancer: translational results from the randomised, crossover phase 3 trial AIO-PK0104*, British Journal of Cancer, 2013, 108:469–76, doi:10.1038/bjc.2012.495
74. **Heinemann V. et al.**, *Randomized Phase III Trial of Gemcitabine Plus Cisplatin Compared With Gemcitabine Alone in Advanced Pancreatic Cancer*, Journal of Clinical Oncology, 2006, 24:3946–52, doi:10.1200/JCO.2005.05.1490
75. **Wong D., et al.**, *Serum CA19-9 Decline Compared to Radiographic Response as a Surrogate for Clinical Outcomes in Patients With Metastatic Pancreatic Cancer Receiving Chemotherapy*, Pancreas, 2008, Oct;37(3):269-74, doi:10.1097/MPA.0b013e31816d8185
76. **Haas M., et al.**, *Prognostic value of CA 19-9, CEA, CRP, LDH and bilirubin levels in locally advanced and metastatic pancreatic cancer: results from a multicenter, pooled analysis of patients receiving palliative chemotherapy*, Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 2013, 139:681–9, doi:10.1007/s00432-012-1371-3
77. **Lee K.J., et al.** *Serum CA 19-9 and CEA Levels as a Prognostic Factor in Pancreatic Adenocarcinoma*, Yonsei Medical Journal, 2013, 54:643, doi:10.3349/ymj.2013.54.3.643
78. **Ogura T., et al.**, *Prognostic value of K-ras mutation status and subtypes in endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration specimens from patients with unresectable pancreatic cancer*, Journal of Gastroenterology, 2013, 48:640–6, doi:10.1007/s00535-012-0664-2
79. **Arnold M. Raem und P. Rausch**, Immunassays, 1. Auflage, 2006, Springer, Heidelberg
80. **Kuefer R., et al.**, *Tissue-Microarrays*, der Urologe, 2004, Band. 43, Ausgabe. 6, 659-668: 43, doi:10.1007/s00120-004-0576-8
81. **The Pathology Blog at Johns Hopkins**, Theme by Colorlib Powered by WordPress, *Tissue Microarrays at Johns Hopkins*. <http://apps.pathology.jhu.edu/blogs/pathology/tissue-microarrays>, letzter Abruf: 02.02. 2021
82. **Guenther M., et al.**, *Bacterial lipopolysaccharide as negative predictor of gemcitabine efficacy in advanced pancreatic cancer – translational results from the AIO-PK0104 Phase 3 study*, British Journal of Cancer, 2020, 123:1370–6, doi:10.1038/s41416-020-01029-7
83. **Zwiener, I., Blettner, M., Hommel, G.**, *Überlebenszeitanalyse*, Deutsches Ärzteblatt, 2011, 108(10):163-9; doi:0.3238/arztebl.2011.0163
84. **Nie, R-C., et al.**, *Disease-free survival as a surrogate endpoint for overall survival in adjuvant trials of pancreatic cancer: a meta-analysis of 20 randomized controlled trials*, BMC Cancer 2020, 421, doi.org/10.1186/s12885-020-06910-5

85. **Bland J.M and Altman D.G.** *The logrank test*, The BMJ, 2004, 328:1073, doi:10.1136/bmj.328.7447.1073
86. **Ziegler A., Lange S. und Bender R.**, *Survival analysis: Cox regress*, Deutsche Medizinische Wochenschrift, 2004, 129:T1-T3, doi:10.1055/s-2004-8360742004
87. **Chang S. and Yang W.V.**, *Hyperglycemia, tumorigenesis, and chronic inflammation*, 2016, Critical Reviews in Oncology Hematology, 108:146–153, doi:10.1016/j.critrevonc.2016.11.003
88. **Li D., Petersen G. and Boffetta P.**, *Diabetes and pancreatic cancer*, Molecular Carcinogenesis, 2012, 51(1): 64–74, doi:10.1002/mc.20771Mol
89. **Théate I., et al.**, *Extensive Profiling of the Expression of the Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1 Protein in Normal and Tumoral Human Tissues*, Cancer Immunology Research, 2015, 3: 161–72, doi:10.1158/2326-6066.CIR-14-0137
90. **Godin-Ethier J., et al.**, *Indoleamine 2,3-Dioxygenase Expression in Human Cancers: Clinical and Immunologic Perspectives*, Clinical Cancer Research, 2011, 17:6985–91, doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-1331
91. **Li F., et al.**, *Indoleamine-2,3-dioxygenase and Interleukin-6 associated with tumor response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer*, Oncotarget, 2017, 8(64): 107844–107858, doi:10.18632/oncotarget.222532017
92. **Yentz S. and Smith D.**, *Indoleamine 2,3-Dioxygenase (IDO) Inhibition as a Strategy to Augment Cancer Immunotherapy*, BioDrugs, 2018, 32:311–7, doi:10.1007/s40259-018-0291-4
93. **Bahary N., et al.**, *Results of the phase Ib portion of a phase I/II trial of the indoleamine 2,3-dioxygenase pathway (IDO) inhibitor indoximod plus gemcitabine/nab-paclitaxel for the treatment of metastatic pancreatic cancer*, Journal of Clinical Oncology, 2016, 34(4):452
94. **Pantouris, G., Loudon-Griffiths, J. and Mowat, C.**, *Insights into the mechanism of inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase by isatin derivatives*, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2016, 31(sup1):70–78, doi:10.3109/14756366.2016.1170013
95. **Vareki S.M., et al.**, *Indoleamine 2,3-dioxygenase mediates immune-independent human tumor cell resistance to olaparib, gamma radiation, and cisplatin*, Oncotarget, 2014, 5(9): 2778–2791, doi:10.18632/oncotarget.19162014
96. **Zhang T., et al.**, *Expression and Prognostic Value of Indoleamine 2,3-dioxygenase in Pancreatic Cancer*, Chinese Medical Journal, 2017, 130:710–6, doi:10.4103/0366-6999.201613
97. **Muller AJ., et al.**, *Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase, an immunoregulatory target of the cancer suppression gene Bin1, potentiates cancer chemotherapy*, Nature Medicine, 2005, 11:312–9, doi:10.1038/nm1196

98. **Liu, W., et al.,** *Apo-Form Selective Inhibition of IDO for Tumor Immunotherapy* Journal of Immunology, 2022, 209(1):180-191, doi: 10.4049/jimmunol.2100938
99. **Chen J., et al.,** *Cancer/stroma interplay via cyclooxygenase-2 and indoleamine 2,3-dioxygenase promotes breast cancer progression,* Breast Cancer Research, 2014, 16:7908, doi:10.1186/s13058-014-0410-1
100. **Corm S., et al.,** *Indoleamine 2,3-dioxygenase activity of acute myeloid leukemia cells can be measured from patients' sera by HPLC and is inducible by IFN- γ ,* Leukemia Research, 2009, 33:490–4, doi:10.1016/j.leukres.2008.06.014
101. **Creelan B.C., et al.,** *Indoleamine 2,3-dioxygenase activity and clinical outcome following induction chemotherapy and concurrent chemoradiation in Stage III non-small cell lung cancer,* OncoImmunology, 2014, 2:e23428, doi:10.4161/onci.23428
102. **Ferns D.M., et al.,** *Indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO) metabolic activity is detrimental for cervical cancer patient survival,* OncoImmunology, 2015, 4: e981457, doi:10.4161/2162402X.2014.981457
103. **Inaba T., et al.** *Role of the immunosuppressive enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase in the progression of ovarian carcinoma,* Gynecologic Oncology, 2009;115:185–92, doi:10.1016/j.ygyno.2009.07.015
104. **Ino K., et al.,** *Inverse Correlation between Tumoral Indoleamine 2,3-Dioxygenase Expression and Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Endometrial Cancer: Its Association with Disease Progression and Survival,* Clinical Cancer Research, 2008;14:2310–7, doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-4144
105. **Speeckaert R., et al.** *Indoleamine 2,3-dioxygenase, a new prognostic marker in sentinel lymph nodes of melanoma patients,* European Journal of Cancer, 2012, 48(13):2004-11, doi:10.1016/j.ejca.2011.09.007
106. **Wainwright D.A., et al.,** *IDO Expression in Brain Tumors Increases the Recruitment of Regulatory T Cells and Negatively Impacts Survival,* Clinical Cancer Research, 2012, 18:6110–21, doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-2130
107. **Günther J., Däbritz J. and Wirthgen E.,** *Limitations and Off-Target Effects of Tryptophan-Related IDO Inhibitors in Cancer Treatment,* Frontiers Immunology, 2019, 10:973548, doi:10.3389/fimmu.2019.01801
108. **Rubel F., et al.,** *Indoleamine 2,3-Dioxygenase Expression in Primary Cutaneous Melanoma Correlates with Breslow Thickness and Is of Significant Prognostic Value for Progression-Free Survival,* Journal of Investigative Dermatology, 2018, 138:679–87, doi:10.1016/j.jid.2017.09.036
109. **Holmgaard R.B., et al.,** *Indoleamine 2,3-dioxygenase is a critical resistance mechanism in antitumor T cell immunotherapy targeting CTLA-4,* The Journal of Experimental Medicine, 2013, 210:1389–402, doi:10.1084/jem.20130066
110. **Le Naour, J., et al.,** *Trial watch: IDO inhibitors in cancer therapy,* Oncoimmunology, 2020, 9(1):1777625, doi:10.1080/2162402X.2020.1777625

111. **Long, G. et al.**, *Epacadostat plus pembrolizumab versus placebo plus pembrolizumab in patients with unresectable or metastatic melanoma (ECHO-301/KEYNOTE-252): a phase 3, randomised, double-blind study*, *Lancet Oncology*, 2019, 20(8):1083-1097, doi:10.1016/S1470-2045(19)30274-8.
112. **Kristeleit R., et al.**, *A randomised, open-label, phase 2 study of the IDO1 inhibitor epacadostat (INCB024360) versus tamoxifen as therapy for biochemically recurrent (CA-125 relapse)-only epithelial ovarian cancer, primary peritoneal carcinoma, or fallopian tube cancer*, *Gynecologic Oncology*, 2017, 146:484–90, doi:10.1016/j.ygyno.2017.07.005
113. **Bahary N., et al.**, *Phase 2 trial of the IDO pathway inhibitor indoximod plus gemcitabine / nab-paclitaxel for the treatment of patients with metastatic pancreas cancer*, *Journal of Clinical Oncology*, 2018, 36:15_suppl, 4015-4015, doi:10.1200/JCO.2018.36.15suppl.4015
114. **Bruni D., Angell H.K. and Galon J.**, *The immune contexture and Immunoscore in cancer prognosis and therapeutic efficacy*, *Nature Reviews Cancer*, 2020, 20:662–80, doi:10.1038/s41568-020-0285-7
115. **Xu X., et al.**, *Clinicopathologic and prognostic significance of tumor-infiltrating CD8+ T cells in patients with hepatocellular carcinoma*, *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(2): e13923, doi:10.1097/MD.00000000000013923
116. **Shang B., et al.**, *Prognostic value of tumor-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis*. *Scientific Reports*, 2015, 5:1960, doi:10.1038/srep15179
117. **Gong-Ling P., et al.** *CD8+ cytotoxic and FoxP3+ regulatory T lymphocytes serve as prognostic factors in breast cancer*, *American Journal of Translational Research*, 2019, 15;11(8):5039-5053
118. **Aykut B., Chen R. and Miller G.**, *Regulatory T Cells Keep Pancreatic Cancer at Bay*, *Cancer Discovery*, 2020, 10(3):345-34, doi:10.1158/2159-8290.CD-20-0002
119. **Li F., et al.**, *CD4/CD8 + T cells, DC subsets, Foxp3, and IDO expression are predictive indicators of gastric cancer prognosis*, *Cancer Medicine*, 2019, 15:5087, doi:10.1002/cam4.2596
120. **Heinemann V., et al.**, *Gemcitabine plus erlotinib followed by capecitabine versus capecitabine plus erlotinib followed by gemcitabine in advanced pancreatic cancer: final results of a randomised phase 3 trial of the 'Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie' (AIO-PK0104)*, *Gut*, 2013, 62:751–9, doi:10.1136/gutjnl-2012-302759
121. **Kruger S., et al.**, *IDO1 expression as biomarker in erlotinib-treated patients with advanced pancreatic cancer: translational results from the AIO-PK0104 phase III trial*, *Oncology Research and Treatment*, 2017, Vol. 40: S. 235

DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich mit ganz besonderem Dank an **Herrn PD Dr. med. Stephan Kruger** richten. Seine unermüdliche Motivation, ständige Erreichbarkeit, ausdauernde, intensive, kompetente und freundschaftliche Betreuung über einen doch sehr langen Zeitraum hinweg waren für das Gelingen dieser Arbeit unverzichtbar.

Nicht weniger gebührt mein Dank meinem Doktorvater **Prof. Dr. med. Stefan Böck** (Medizinische Klinik III, Klinikum Großhadern) für die Möglichkeit, mich mit diesem Thema wissenschaftlich beschäftigen zu dürfen, das Überlassen der Arbeit, dem großen Vertrauen sowie die stetige, verständnisvolle und kompetente Betreuung meiner Arbeit. Außerdem möchte ich mich sehr herzlich für die Möglichkeit bedanken, die Daten AIO-PK0104-Studie in meiner Monografie diskutieren zu dürfen.

Ich möchte mich inständig bei den Kolleg*innen des Pathologischen Instituts der Ludwig-Maximilian-Universität München des Campus Großhadern und der Innenstadt bedanken, besonders bei **PD. Dr. med. Steffen Ormanns**, der mich bei der praktischen Durchführung des experimentellen Anteils meiner Arbeit gewissenhaft und kompetent unterstützt hat. Außerdem möchte ich mich von Herzen für die Durchführung der Etablierung des IDO-Antikörpers sowie der Färbungen und Auswertung der Immunhistochemie bei dem medizinisch-technischen Personal (**Andrea Sendelhofert** und **Anja Heier**) und hier ebenfalls bei PD Dr. med. Steffen Ormanns bedanken.

Weiterhin möchte ich mich bei **PD Dr. med. Michael Haas** (Medizinische Klinik III, Klinikum Großhadern) für die Überlassung der Methodik der Datenbank und der Variablenbeschreibung bedanken und bei **Marie-Louise Legenstein** für die kollegiale Zusammenarbeit bei der Erstellung der Datenbank und der Zusammenarbeit im pathologischen Institut.

Ein ganz besonderer Dank geht an meinen Ehemann **Dr. Moritz Petzold**, der mir bei statistischen Fragen und Problemen mit größter Kompetenz und Energie zur Seite stand und mir vor allem zum Ende hin durch die Betreuung unserer kleinen Tochter Lotta Flora Petzold den Rücken freigehalten hat. Ohne ihn wäre mir längst die Puste ausgegangen.

Außerdem bedanke ich mich bei meinem Bruder **Marc Rösger** für sein Lektorat in der Endphase meiner Dissertation sowie bei **Dr. Jana Barbara Ernst** für ihr allseits offenes Ohr, ihren emotionalen Support und ihren wissenschaftlichen Rat. Und bei allen Menschen, die ich hier nicht explizit nennen kann, für die Unterstützung.

EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

Ich, **Anja Verena Rösgen-Petzold, geb. Rösgen**, erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema: „*Die Prognostische Bedeutung von Indolamin-2,3-Dioxygenase, regulatorischen T-Zellen und T-Effektorzellen im Tumorgewebe von Patient*innen mit Pankreaskarzinom*“ selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

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

Berlin, den 29.11.2023

Ort, Datum

Anja Verena Rösgen-Petzold

Unterschrift Doktorandin/ Doktorand