

**Aus der Frauenklinik und Poliklinik**

**der Universität Würzburg**

**Direktor: Professor Dr.med. Johannes Dietl**

**Tumor infiltrierende dendritische Zellen im Adenokarzinom des  
Uterus, eine Studie von 115 Neoplasien mit Korrelation zu anderen  
Prognosefaktoren und zur Überlebensrate**

**Inaugural - Dissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der**

**Medizinischen Fakultät**

**der**

**Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg**

**vorgelegt von**

**Nicole Schaller**

**aus Künzell**

**Würzburg, Januar 2005**

**Referentin:** Frau Priv.-Doz. Dr. med. J. Backe

**Koreferent:** Herr Prof. Dr. med. H. Griesser

**Dekan:** Prof. Dr. med. S. Silbernagl

Tag der mündlichen Prüfung: 25. Januar 2005

Die Promovendin ist Ärztin

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>1. Einleitung</b>	1
<u>1.1. Endometriumkarzinom</u>	1
1.1.1. Epidemiologie	1
1.1.2. Risikofaktoren	1
1.1.3. Einteilung	2
1.1.4. Pathogenese	5
1.1.5. Prognosefaktoren	11
<u>1.2. S100</u>	14
<u>1.3. Dendritische Zellen</u>	14
1.3.1. Herkunft und Entwicklung	14
1.3.2. Aufgaben und Funktionen	16
<b>2. Material und Methoden</b>	18
<u>2.1. Patientinnen und Methode</u>	18
<u>2.2. Immunhistochemischer Nachweis S100 positiver         dendritischer Zellen</u>	19
2.2.1. Durchführung der Immunhistochemischen Färbung	20
2.2.2. Auszählung	21
<u>2.3. Statistik</u>	21
<b>3. Ergebnisse</b>	22
<u>3.1. Beschreibung des Patientenkollektivs</u>	23
3.1.1. Klinische Daten und Risikofaktoren	23
3.1.2. Histopathologische Parameter und Prognosefaktoren	24
3.1.3. Immunhistochemische Parameter	25

<u>3.2. Dendritische Zellen und klinische, histopathologische und immunhistochemische Faktoren</u>	27
3.2.1. Anzahl dendritischer Zellen und Kerngrading	28
3.2.2. Anzahl dendritischer Zellen und p53	29
3.2.3. Anzahl dendritischer Zellen und Proliferationsrate	30
<u>3.3. Immunhistochemische Auswertung der Ergebnisse</u>	31
<u>3.4. Univariate Analysen, Einfluss der einzelnen Faktoren auf das Überleben</u>	34
3.4.1. Der Einfluss dendritischer Zellen auf Gesamtüberleben, bereinigtes Überleben und rezidivfreies Überleben	35
<u>3.5. Multivariate Analysen</u>	37
3.5.1. Rezidivfreies Intervall	37
3.5.2. Gesamtüberleben	37
3.5.3. Bereinigtes Überleben	38
<b>4. Diskussion</b>	39
<u>4.1. Zusammenhang von DC und Prognose</u>	39
<u>4.2. Zusammenhang von DC und Tumor Progredienz</u>	39
<b>5. Zusammenfassung</b>	43
<b>6. Literaturverzeichnis</b>	45

# **1. Einleitung**

## **1.1. Endometriumkarzinom**

### **1.1.1. Epidemiologie**

Das Endometriumkarzinom ist das häufigste Karzinom des weiblichen Genitales und die vierthäufigste Neoplasie der Frau insgesamt. Der Altersgipfel liegt zwischen dem 55. und 80. Lebensjahr, jedoch erkranken zwischen zwei und 14% vor dem 40. Lebensjahr<sup>1,2</sup>. Die Inzidenz wird nach einer Krebsinzidenzschätzung für Deutschland auf der Basis der Daten des Saarländischen Krebsregisters vom Robert-Koch-Institut mit etwa 18 Neuerkrankungen pro 100.000 Frauen und Jahr angegeben, die Neuerkrankungsraten in Deutschland fallen in den letzten 20 Jahren geringfügig aber anhaltend ab. Wesentlich deutlicher, vergleichbar mit der Sterblichkeit am Zervixkarzinom, geht die Mortalität an Gebärmutterkrebs zurück. Da ein Großteil der Karzinome (etwa 75 %), wohl auch aufgrund der frühzeitig einsetzenden Symptome, im Stadium 1 diagnostiziert werden, liegt die relative 5-Jahresüberlebensrate bei rund 80%, diese sinkt mit steigendem Tumorstadium von 86 % im Stadium eins bis auf unter 16 % im Stadium vier<sup>3</sup>.

### **1.1.2. Risikofaktoren**

Es werden für das Endometriumkarzinom Risikofaktoren wie Hypertonie, Adipositas, Nulliparität und Diabetes Mellitus beschrieben<sup>4,5,6</sup>.

Eine besondere Bedeutung kommt der Östrogeneinwirkung auf das Endometrium zu, bzw. der Imbalance zwischen Östrogen und Gestagen, wobei hier zwischen Steroidhormonrezeptor-positiven und Steroidhormonrezeptor-negativen Karzinomen unterschieden werden muss. Die selteneren Steroidhormonrezeptor-negativen Karzinome treten auch bei Patientinnen ohne das o.g. charakteristische Risikoprofil auf<sup>5</sup>.

Zur verlängerten endogenen Östrogenexposition kommt es bei früher Menarche mit später Menopause, zu vermehrter Östrogenproduktion kommt es bei Adipositas<sup>6</sup>.

Auch bei Frauen mit wiederholten anovulatorischen Zyklen, mit hormonproduzierendem Ovarialtumor, oder bei Leberzirrhose, kommt es zu gesteigerten Östrogeneinwirkungen<sup>4</sup>. In diesem Zusammenhang betrachtet man auch das PCO (Polyzystisches Ovar) Syndrom als Risikofaktor, das durch anovulatorische Zyklen gekennzeichnet ist<sup>7</sup>.

Auch exogene, alleinige Östrogenzufuhr z.B. bei der Hormonersatztherapie in der Postmenopause erhöht das Risiko an einem Endometriumkarzinom zu erkranken, während eine Kombination mit Gestagenen das Risiko jedoch sogar vermindern soll, bzw. kontrovers diskutiert wird.<sup>8,9</sup>. In der „Million women study<sup>10</sup>“ (2003) konnte eine signifikante Erhöhung des Brustkrebsrisikos besonders durch die Einnahme von Oestrogen-Progestagen Präparaten gezeigt werden, während für das Endometriumkarzinom eine signifikante Häufung der Fälle bei der Einnahme reiner Östrogenpräparate beobachtet wurde.

Als histopathologische Vorstufe des Adenokarzinoms gilt die atypische adenomatöse Hyperplasie (syn: komplexe Hyperplasie), keine Vorstufe dagegen stellt die glandulär zystische Hyperplasie des Endometriums dar<sup>11</sup>.

Einen weiteren Risikofaktor stellt die Genetische Disposition dar. Das Endometriumkarzinom tritt z.B. gehäuft in Familien mit HNPCC (Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer) und bei Cowden-Syndrom auf.

### **1.1.3. Einteilung**

#### Histopathologische Einteilung

Die histopathologische Einteilung des Endometriumkarzinoms erfolgt nach der WHO Klassifikation von 1994<sup>12</sup>, wobei der endometrioiden Typ mit etwa 80% den größten Anteil hat. Man unterscheidet folgende histopathologische Typen (Tabelle 1): das endometrioiden Adenokarzinom mit den Sonderformen der adenosquamösen Differenzierung und das Adenoakanthom. Weiterhin werden unterschieden: das seröse, klarzellige, muzinöse, squamöse, gemischte- und das undifferenzierte Adenokarzinom.

**Tabelle 1: histopathologische Typen des Endometriumkarzinoms nach WHO Klassifikation 1994**

Endometrioides Adenokarzinom (Sonderformen: adenosquamöse Differenzierung, Adenokanthom)
Seröses Adenokarzinom
Klarzelliges Adenokarzinom
Muzinöses Adenokarzinom
Squamöses Adenokarzinom
Gemischtes Adenokarzinom
Undifferenziertes Karzinom

### Stadieneinteilung

Die Stadieneinteilung erfolgt klinisch, vor der Therapie, nach den 1988 geänderten Richtlinien der FIGO<sup>13</sup> bzw. der UICC-(TNM-1997)<sup>14</sup> Einteilung (Tabelle 2). Erst intraoperativ ist ein genaues Staging möglich. Nach der Hysterektomie erfolgt die Bestimmung der myometranen Infiltrationstiefe und eine Peritonealzytologie.

Im histopathologischen Kerngrading unterscheidet man nach WHO drei Differenzierungsstufen, die GI Tumoren weisen einen hohen Differenzierungsgrad auf, GII Tumoren sind mäßig differenziert, bei GIII Tumoren handelt es sich um schlecht bzw. undifferenzierte Karzinome.

**Tabelle 2: Staging des Endometriumkarzinoms nach FIGO(1988) und TNM/ UICC(1997)**

<b>TNM</b>	<b>FIGO</b>	
Tx		Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0		Kein Anhalt für einen Primärtumor
Tis	0	Carcinoma in Situ
T1	I	Tumor begrenzt auf Corpus Uteri
T1a	Ia	Tumor begrenzt auf das Endometrium
T1b	Ib	Myometrium weniger als 50% Infiltriert
T1c	Ic	Myometrium mehr als 50% Infiltriert
T2	II	Zervixinfiltration
T2a	IIa	Endozervikale Drüseninfiltration
T2b	IIb	Stromainvasion der Zervix
T3	III	Ausbreitung über den Uterus hinaus
T3a	IIIa	Serosa und/oder Adnexbefall (direkt oder d. Metastasierung) und/oder positive Peritoneallavage
T3b	IIIb	Vaginabefall (direkt oder d. Metastasierung)
N1	IIIc	Metastasierung in pelvine und/oder paraaortale Lymphknoten
T4	IV	Ausdehnung über das kleine Becken hinaus oder in angrenzende Organe
	Iva	Infiltration von Blasen- und/oder Darmschleimhaut
M1	IVb	Fernmetastasen

### Steroidhormonrezeptoren

In biologischer und klinischer Hinsicht unterscheidet man zwei unterschiedliche Typen des Endometriumkarzinoms. Typ I exprimiert Östrogenrezeptoren, Typ II exprimiert keine Östrogenrezeptoren<sup>23</sup>.

Die Steroidhormonrezeptor-positiven Karzinome nehmen einen Anteil von ca. 80% ein, sind meist vom endometrioiden Typ und häufig mit adenomatöser Hyperplasie assoziiert<sup>11</sup>.



Sie weisen in der Regel einen hohen Differenzierungsgrad auf (G1 und G2 Tumoren), durch ihr schnelles hormonstimuliertes Wachstum werden sie in der Regel früh z.B. durch Blutungen symptomatisch, die Diagnosestellung erfolgt meist im Stadium 1, weshalb diese Karzinome durch eine relativ gute Prognose gekennzeichnet sind<sup>4</sup>.

Die Steroidhormonrezeptor-negativen Karzinome sind meist vom klarzelligen (hellzelligen) Typ, es handelt sich um seröse, solide, undifferenzierte G3 Tumoren. Die Diagnosestellung erfolgt häufig erst spät im Stadium drei oder vier<sup>4</sup>.

#### **1.1.4. Pathogenese**

Es ist sehr wahrscheinlich, dass unterschiedliche, teils parallele Mechanismen zur Entstehung verschiedener Typen des Endometriumkarzinoms führen. Es werden insbesondere Unterschiede in der Pathogenese endometrioider und seröser Endometriumkarzinome angenommen<sup>23,15</sup>.

#### Wachstumsfaktoren

Steroidhormone haben Einfluss auf Wachstumsfaktoren, wie Epidermal Growth Factor (EGF) und Transforming Growth Factor- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), die an parakriner und autokriner Regulation der Endometriumproliferation beteiligt sind. EGF und TGF- $\alpha$  stimulieren das Wachstum in Karzinomzellen des Endometriums<sup>26,16</sup>; TGF- $\beta$  ist ein endogener Wachstumshemmer, der ebenfalls eine Rolle in der Karzinogenese spielt<sup>17</sup>.

Weitere involvierte Wachstumsfaktoren sind basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) und Insulin-like Growth Factor I (IGF-I)<sup>18</sup>. Ein erhöhtes Risiko für das Endometriumkarzinom steht im Zusammenhang mit einem erhöhten Spiegel an IGF-I sowohl in post- als auch prämenopausalen Frauen<sup>19</sup>.

Die Angiogenese, also das Wachstum und die Aussprossung von Gefäßen in einen Tumor, wird z.B. durch den Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) vermittelt, der nicht nur im Endometriumkarzinom eine wichtige Rolle spielt, und im Endometriumkarzinom durch Progesterone wahrscheinlich direkt beeinflusst wird<sup>20</sup>.

## Genetische Aspekte

Als pathogenetisch relevant zeigten sich in den letzten Jahren besonders Veränderungen der Protoonkogene k-ras<sup>15,26,27</sup> und Her-2/neu (c-erb B2)<sup>28,29</sup>, sowie der Tumorsuppressorgene p53<sup>31,32,33</sup>, p21 (WAF 1/Cip1)<sup>51,52,53,54,55</sup>, p16<sup>58,59,61</sup> und PTEN<sup>43,44,45,46,47</sup>, das Phänomen der MIN-<sup>64,65,23</sup> und  $\beta$ -Catenin-Mutationen<sup>62,63</sup>.

Es sind viele verschiedene Mechanismen genetischer Veränderungen bekannt. Dazu gehören z.B. Deletionen, Mutationen, somatische- oder Keimbahnmutationen, Allelverluste (loss of heterozygosity =LOH) und Promotermethylierungen<sup>21</sup>.

Wann und in welcher Reihenfolge diese Veränderungen im Laufe der Karzinogenese stattfinden, ist nicht geklärt. Das Modell der Mehrschrittonkogenese nach Kinzler und Vogelstein<sup>22</sup> beschreibt die Karzinogenese des kolorektalen Karzinoms als sequentiellen Prozess, in dem genetische Alterationen akkumulieren und letztendlich zu einem neoplastischen Phänotyp führen. Mutationen im Adenomatous Polyposis Coli (APC) Tumorsuppressorgen stehen am Anfang der Entwicklung von adenomatösen Polypen des Kolons. Bereits in frühen Adenomstadien kommt es zur aktivierenden Mutation des Onkogens K-ras, wie es auch für das Endometriumkarzinom beschrieben ist<sup>15</sup>. Im weiteren Verlauf mutiert der DCC (Deleted in Colorectal Cancer)-Lokus und Mutationen des Tumorsuppressors p53 koinzidieren mit der Entartung von Kolon-Polypen zu Karzinomen. Dieses Modell kann zumindest teilweise auch auf das Endometriumkarzinom angewandt werden<sup>23</sup>. So finden sich z.B. PTEN Mutationen schon bei sehr frühen Stadien des endometrioiden Endometriumkarzinoms und auch in Vorstufen wie der atypischen Endometriumhyperplasie<sup>24</sup>.

Protoonkogene: K-ras und Her-2/neu (c-erb B-2)

Protoonkogene sind normale Gensequenzen, deren physiologische Aufgabe darin besteht, die Spiegel von Zweitbotenstoffen zu regulieren und/oder die Aktivität des Transkriptionsvorganges im Zellkern zu modellieren. Während der Onkogenese soll die Wirkung von Wachstumsfaktoren durch die Genprodukte der Protoonkogene vermittelt werden, die auch bei der Regeneration, sowie der Tumorentstehung transkribiert

werden. Nach fehlerhafter Aktivierung können sie eine maligne Zelltransformation auslösen<sup>25</sup>.

### K-ras

In etwa 20 bis 30% der endometrioiden Endometriumkarzinome finden sich eine mutationsbedingte Aktivierung des K-ras-Protoonkogens<sup>15,26</sup>. Ebenso wurden K-ras Mutationen bei der Endometriumhyperplasie mit Atypien beobachtet, die wahrscheinlich schon früh in der Entwicklung eines Endometriumkarzinoms entstehen<sup>27</sup>.

### Her-2/neu (c-erb B-2)

Veränderungen werden auch in weiteren Onkogenen, wie Her-2/neu (c-erb B-2), im Endometriumkarzinom in etwa 20% der nicht-familiären Karzinome gefunden<sup>28</sup>. Es kommt hier zu einer Überexpression und Amplifikation des Gens<sup>29</sup>.

Tumorsuppressorgene (= Antionkogene, rezessive Onkogene), Cowden Syndrom (CS)

Tumorsuppressorgene sind Gene, die physiologischerweise das Zellwachstum hemmen und so eine gewisse Kontrolle auf das Zellwachstum ausüben. Sie sind rezessive Gene, d.h. ein intaktes Allel genügt, um die Funktion aufrechtzuerhalten<sup>25</sup>. Für einen Funktionsverlust bedarf es nach dem „Zwei-Treffer-Modell“ nach Knudson<sup>30</sup> also mindestens zweier Ereignisse, um auch das zweite Allel bedeutend zu schädigen.

### p53

Mit molekulargenetischen Veränderungen des Endometriumkarzinoms werden besonders Überexpression des Proteins p53 und Deletion des p53 Tumorsuppressorgens in Verbindung gebracht<sup>31,32,33</sup>. P53 steuert wichtige Zellvorgänge wie Zellzyklus und Apoptose. P53 Mutationen werden nur in 10% der endometrioiden Karzinome, jedoch in ca. 90% der serösen Karzinome gefunden<sup>34</sup>. Durch p53 Mutationen kommt es zur Überexpression eines veränderten p53 Proteins, welches funktionell defekt ist und eine verlängerte Halbwertszeit aufweist, wodurch es immunhistochemisch nachweisbar wird. Dennoch kann das Protein auch durch andere Mechanismen stabilisiert werden, so dass der Nachweis des Proteins nicht zwingend eine Mutation des Gens bedeutet<sup>35,36</sup>.

Die Überexpression von p53 wurde als wichtiger Prognosefaktor ermittelt, der mit fortgeschrittenem Stadium, niedrigerer Überlebensrate<sup>37</sup> und aggressivem histologischem Typ<sup>38</sup> assoziiert ist. Vermutlich stellt diese Veränderung einen relativ späten Prozess in der Karzinogenese des Endometriumkarzinoms dar, da sie in der Hyperplasie nicht nachgewiesen wurde<sup>39</sup>. Die p53 Überexpression wurde von einigen Autoren als unabhängiger Prognosefaktor beschrieben<sup>40</sup>, von anderen Untersuchern konnte dies jedoch nicht bestätigt werden<sup>41,42</sup>.

### PTEN

PTEN wird ebenfalls als Tumorsuppressorgen betrachtet, liegt auf dem Chromosom 10q23 und kodiert für ein Protein mit Tyrosinkinasefunktion. Ein Verlust der PTEN-Expression im Endometriumkarzinom ist mit metastasiertem Stadium assoziiert<sup>43</sup> und findet sich in Tumoren mit Mikrosatelliteninstabilität signifikant häufiger als in Tumoren ohne Mikrosatelliteninstabilität<sup>44</sup> (s.u.). Das intakte PTEN hemmt normalerweise die Zellmigration und reguliert fokale Adhäsionen<sup>45</sup> und die Tumorzellproliferation<sup>46</sup>. Ein Heterogenitätsverlust (Loss of heterozygosity= LOH) des Chromosoms 10q23 kann für die fehlende Funktion des Gens verantwortlich sein und wurde für das Endometriumkarzinom beschrieben<sup>47</sup>. Somatische Inaktivierungen von PTEN konnten für den endometrioiden Typ in über 90% nachgewiesen werden<sup>48</sup>.

### Cowden Syndrom

Stammzell-PTEN Mutationen werden in >80% des Cowden-Syndroms (CS) beschrieben<sup>49</sup>. Das Cowden Syndrom ist eine autosomal dominante Erkrankung, welches durch das Auftreten multipler Hamartome und einem erhöhten Risiko für Brust-, Endometrium- und Schilddrüsentumore gekennzeichnet ist<sup>50</sup>.

### p21

P53 aktiviert die Transkription des Cyclin abhängigen Kinase Inhibitors p21.

P21 (WAF1/CIP1) wird durch den Wildtyp, nicht jedoch durch mutantes p53 induziert. Das kleine Protein hat negativ regulatorischen Effekt auf eine Cyclin abhängige Kinaseaktivität und fungiert als nachgeschalteter Mediator der wachstumshemmenden und apoptoseinduzierenden Funktion des Wildtyp p53<sup>51,52,53,54,55</sup>. Im Endometriumkarzinom zeigte sich die Expression von p21 jedoch nicht assoziiert mit der p53 Expression, ebenso wenig, wie mit der Proliferationsaktivität<sup>56</sup>. In einer kürzlich veröffentlichten Arbeit über das Ovarialkarzinom wurde im Zusammenhang

mit einer hohen Zellproliferation keine, oder eine nur schwacher Färbung für p21WAF1 gefunden. Auch hier zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen p53 und p21WAF1 Expression<sup>57</sup>.

#### p16

P16 (CDKN2A MTS1/INK4a), eine weiteres Tumorsuppressorgen kodiert für das p16 Protein, das ebenfalls an eine Cyklin abhängigen Kinase bindet (CDK4) und so an regulatorischen Aufgaben des Zellzyklus beteiligt ist. Es scheint bei der Tumorgnese des Endometriumkarzinoms nur von untergeordneter Bedeutung zu sein<sup>58</sup>, obwohl es besonders bei aggressiven Endometriumkarzinomen mit hoher proliferativer Aktivität nachweisbar ist<sup>59</sup>. Seine Inaktivierung besonders durch Promoterhypermethylierung wird dagegen beim endometrioiden und muzinösen Ovariakarzinom gehäuft beobachtet<sup>60</sup> und wurde auch bei einer atypischen Endometriose beschrieben<sup>61</sup>. Eine große norwegische Studie beschreibt den Expressionsverlust von p16 als starken unabhängigen Prognosefaktor mit schlechter Prognose<sup>59</sup>.

#### E-cadherine, $\beta$ -Catenin

Weitere genetische Veränderungen beziehen sich z.B. auf die Bedeutung von Zelladhäsionsmolekülkomplexen, wie dem E-Cadherin/ $\beta$ -Catenin Zusammenspiel, die nicht nur eine Rolle bei der Zelladhäsion spielen.  $\beta$ -Catenin Mutationen beeinflussen weiterhin z.B. Signaltransduktion und Aktivierung des APC (Adenomatous Poliposis Coli)/beta-catenin/Tcf pathways, der zur Karzinomentstehung zumindest beiträgt, und werden zu einem gewissen Teil beim Endometriumkarzinom gefunden<sup>62,63</sup>.

#### Mismatch-Reparaturgene, Mikrosatelliteninstabilität (MIN), HNPCC (=Lynch Syndrom)

Mikrosatelliten sind repetitive DNA-Sequenzen, die über das ganze Genom verteilt sind und aufgrund ihrer inter-individuellen Variabilität breite molekulargenetische Anwendung u.a. beim Vaterschaftsnachweis und der Knochenmarkstypisierung finden. Das Auftreten von neuen Allel-Längen im Tumor-, verglichen zum Normalgewebe, wird als Mikrosatelliteninstabilität (MSI/MIN) bezeichnet<sup>64</sup>.

Mikrosatelliteninstabilität findet sich häufig beim HNPCC (=Lynch Syndrom) und damit vergesellschafteten Tumoren, zu denen auch das familiäre Endometriumkarzinom gehört<sup>65</sup>. Das Endometriumkarzinom ist das häufigste außerhalb des Gastrointestinaltraktes auftretende Karzinom im Rahmen des HNPCC. Typisch für das HNPCC ist ein besonders frühes Manifestationsalter kolorektaler Karzinome (mittleres Lebensalter 46 Jahre), häufige synchrone/metachrone kolorektale Zweitkarzinome und eine Häufung bestimmter Tumormanifestationen außerhalb des Gastrointestinaltraktes. Neben dem Endometriumkarzinom sind dies v.a. Tumoren des Magens, des hepatobiliären Systems, der ableitende Harnwege, der Mamma, des Dünndarmes, des Ovars und des Gehirns<sup>65</sup>. Die familiären Karzinome, die im Rahmen des HNPCC Syndroms vorkommen, treten meist 10-20 Jahre früher auf als die sporadischen Karzinome<sup>66</sup>. Sie zeigen ein hohes Aufkommen von MIN, ebenso wie die Kolonkarzinome. Untersuchungen haben gezeigt, dass Keimbahnmutationen des DNA Reparaturgens MSH 6 in den MI+ Karzinomen im Rahmen des HNPCC, im Gegensatz zu den sporadischen Endometriumkarzinomen, relativ häufig sind<sup>67</sup>.

Doch auch beim sporadischen Endometriumkarzinom treten MIN<sup>23</sup> auf.

Es gibt Untersuchungen, die einen LOH für das Endometriumkarzinom zeigen<sup>68</sup>, wobei vergleichende Untersuchungen zwischen MI+ Endometriumkarzinomen und gastrointestinalen MI+ Tumoren zeigten, dass hier teilweise unterschiedliche Targets, also Zielgene eine Rolle spielen. Während bei gastrointestinalen Tumoren schon eine Vielzahl solcher Gene identifiziert werden konnten, fand man in diesen Genen beim Endometriumkarzinom bisher nur selten entsprechende Mutationen (z.B. TGFβ RII)<sup>69</sup>. Auch der zugrundeliegende molekulare Defekt, der zur MIN führt, scheint beim Endometriumkarzinom ein anderer zu sein, als bei den Kolorektalkarzinomen, bei denen hauptsächlich somatische Mutationen der Mismatch-Reparaturgene MSH2 und MLH1 beobachtet werden. Diese Mutationen sind im Endometriumkarzinom sehr selten<sup>70,71</sup>. Als Ursache der MIN bei sporadischem Endometriumkarzinom kann dagegen eine Methylierung der Promotorregion des DNA-Reparaturgens MLH1 mit nachfolgender Inaktivierung des Gens und Blockierung der Proteinexpression angenommen werden<sup>72,21</sup>.

### 1.1.5. Prognosefaktoren

Das Endometriumkarzinom gehört mit einer relativen 5-Jahresüberlebensrate von etwa 70%<sup>1</sup> zu den prognostisch günstigen Karzinomen. Die Prognose unterscheidet sich jedoch erheblich, abhängig vom Zusammentreffen unterschiedlicher Merkmale. Diese werden als Prognosefaktoren bezeichnet.

#### Klinische Prognosefaktoren

##### FIGO Kriterien

Klinisch wird die Prognose heute nach den revidierten FIGO Kriterien von 1988 ermittelt<sup>13</sup>. In das Staging gehen die Parameter Myometriuminvasion, Peritonealzytologie, Adnexbeteiligung, Isthmus-Cervix Extension und Lymphknotenmetastasen ein, und dienen der Zuteilung in eine „Low Risk“ oder „High Risk“ Gruppe<sup>73</sup>. Daneben haben weitere klinische Faktoren wie das Erkrankungsalter, der histologische Typ, histologisches Grading, und die Lymphgefäßinvasion eine prognostische Bedeutung.

##### Alter

Das Alter ist als unabhängiger Prognosefaktor umstritten. Generell zeigen junge Frauen mit einem Endometriumkarzinom eine schlechtere Prognose als ältere Frauen<sup>74</sup>. Im fortgeschrittenen Alter befinden sich häufig Patientinnen mit histopathologisch ungünstigen Tumortypen, fortgeschrittenen Tumorstadien und schlechtem Differenzierungsgrad<sup>75</sup>.

##### Histologischer Typ

Prognostische Unterschiede verschiedener histologischer Typen sind beschrieben. Als prognostisch besonders ungünstig mit 5JÜR von 42% und 27% stellen sich Klarzellkarzinome und papillär-seröse Karzinome dar, eine wesentlich bessere Prognose haben endometrioiden Adenokarzinome mit einer Fünf-Jahres-Überlebensrate (5JÜR) von etwa 75%<sup>76</sup>.

### Histologisches Grading

Die prognostische Bedeutung des histologischen Gradings für das Endometriumkarzinom ist gut belegt<sup>77</sup>, bis heute wird über die prognostische Überlegenheit unterschiedlicher Grading-Systeme diskutiert. Am häufigsten werden WHO<sup>12</sup> und FIGO<sup>13</sup> Kriterien verwendet, andere architektonische Grading Systeme weisen auf eine bessere Reproduzierbarkeit im Vergleich zu den FIGO Kriterien hin<sup>78</sup>.

Ein hohes histologisches Grading ist mit verstärkter myometraner Invasion und schlechter Prognose assoziiert<sup>79</sup> und wurde auch als unabhängiger Prognosefaktor beschrieben<sup>37</sup>.

### Lymphgefäßbrauminfiltration

Die Invasion des Lymphgefäßraumes wird als unabhängiger Prognosefaktor betrachtet, obwohl sie mit schlechtem histologischem Grading und tiefer myometraner Invasion zunimmt<sup>76</sup>. Sie hat einen Einfluss auf die Rezidivrate, diese liegt bei Patientinnen mit Lymphgefäßbrauminvasion höher als bei Patientinnen ohne entsprechenden Befall<sup>80</sup>.

### Biochemische und immunhistochemische Prognosefaktoren

Zu den wichtigsten biochemischen und immunhistochemischen Laborparametern gehören Steroidhormonrezeptorstatus, p53 Überexpression, und der Proliferationsmarker Ki-S1, die sich als Prognosefaktoren durchgesetzt haben.

### Proliferationsrate

Die Proliferationsaktivität eines Tumors dient der Einschätzung seiner malignen Potenz. Sie kann durch unterschiedliche Methoden bestimmt werden. Neben DNA-Flowzytometrie<sup>81</sup>, AgNOR (Silber gefärbte Nukleolen Organizer Regionen) Färbungen<sup>82</sup>, immunhistochemischer DNA-Polymerase  $\alpha$  Bestimmung<sup>83</sup> und der Mitosezahl<sup>77</sup> kann dies auch mittels des Antikörpers Ki-S1 gegen das Antigen Ki-67 erfolgen. Die Bestimmung mittels Ki-S1 scheint sowohl in der Durchführbarkeit als auch in ihrem prognostischen Wert den anderen Methoden überlegen<sup>73,84</sup>.



### Genetische Veränderungen

Genetische Veränderungen wie DNA Aneuploidie, d.h. einer numerischen Veränderung des euploiden, kompletten Chromosomensatzes, zeigen in einer großen Zahl an Studien Korrelationen mit verminderten Überlebensraten und etablierten Prognosefaktoren<sup>81,85</sup>.

Häufig mit schlechter Prognose verbunden sind v.a. Veränderungen bzw. Inaktivierungen der Tumorsuppressorgene PTEN, p53, p16 und p21 (s.o.). Auch Punktmutationen des K-ras Onkogens<sup>86</sup>, Amplifikation von Her-2/neu (c-erb B-2)<sup>87</sup> sind als Faktoren mit schlechter Prognose beschrieben, die Amplifikation des Onkogens c-myc findet sich gehäuft in Verbindung mit niedriger histologischer Differenzierung<sup>88</sup>. Eine prognostische Bedeutung der immunhistochemisch bestimmten Kathepsin D-Synthese konnte im Gegensatz zum Mammakarzinom beim Endometriumkarzinom nicht bestätigt werden<sup>89</sup>.

Prognosefaktoren ermöglichen es, Patientinnen in ein Hoch- und ein Niedrig-Risikokollektiv einzuteilen, wonach die Therapieplanung individuell und exakt getroffen werden kann. Hierdurch ist es möglich, die Anwendungen besonders nebenwirkungsreicher und belastender Therapien den Patientinnen aus einem Niedrig-Risikokollektiv zu ersparen. Umso wichtiger ist es hier jedoch eine möglichst exakte Risikoeinschätzung zu erhalten, um die Patientinnen in die richtige, risikoadaptierte Gruppe einzuordnen und damit der für sie individuell angepassten Therapieform zuzuführen.

Hierbei ist von praktischer Bedeutung, einen von den anderen Prognosefaktoren unabhängigen Parameter zu finden. Anhand des hier vorliegenden Kollektivs von 115 Patientinnen werden S100 positive dendritische Zellen mit immunhistochemischen und klinischen Prognosefaktoren verglichen und ihre Bedeutung für die Prognose in Bezug auf Überleben und rezidivfreies Intervall untersucht.

## **1.2. S100**

S-100 ist ein Ca-bindendes Protein (Ca=Calcium), das an der Regulation intrazellulärer Prozesse wie Zellwachstum, Zellzyklus-Regulation, Transkription und Differenzierung beteiligt ist. S100 Proteine repräsentieren die größte Untergruppe der Familie Ca-bindender Proteine und wird relativ gewebespezifisch von Zellen neuraler Herkunft, Melanomzellen<sup>90</sup> und auch dendritischen Zellen exprimiert<sup>91</sup>.

Der Antikörpernachweis für S100 ist mehrfach zum Nachweis dendritischer Zellen in paraffinierten Gewebeschnitten beschrieben<sup>91,92,93,94</sup>. Verwendet wurde in dieser Studie ein polyklonales anti-S100 Serum aus Kaninchenblut, da bisher keine monoklonalen Antikörper verfügbar sind.

Außer dendritischen Zellen werden Ependymzellen, Gliazellen und diverse Tumoren des Gehirns, Schwann-Zellen des PNS, diverse Speicheldrüsentumore, melanozytäre Hauttumore und Metastasen des Melanoms durch S100 angefärbt<sup>95,96, 97, 98</sup>. Die Unterscheidung dendritischer Zellen von anderen evtl. gefärbten Geweben ist jedoch durch ihre charakteristische Form der dendritischen, zytoplasmatischen Ausläufer, die Verteilung als einzelne abgrenzbare Zellen und die kräftige Anfärbung von Zellkern und Zytoplasma zu treffen. Die Anfärbbarkeit von Nervenzellen interferiert nicht mit der Untersuchung von dendritischen Zellen im Endometrium, da im Endometrium Nervenzellen so gut wie nicht vorkommen.

## **1.3. Dendritische Zellen**

### **1.3.1. Herkunft und Entwicklung**

Dendritische Zellen gehören zur zellulären Komponente angeborener Immunität und umfassen ein System Antigen präsentierender Zellen (APC) mit entscheidenden immunstimulatorischen und -modulatorischen Fähigkeiten.

1972 wurde in einer Versuchsreihe zum Verständnis immunstimulatorischer Vorgänge erstmals ein Zelltyp mit dendritischen Ausläufern beschrieben, der die Fähigkeiten zur Aufnahme von Antigen, Migration in lymphatische Gewebe und zur Induktion einer T-

Zell Antwort besaß<sup>99</sup>. Dendritische Zellen kommen in allen menschlichen Organen vor, außer dem Gehirn und der Kornea<sup>100</sup>.

Unterschiede bestehen in immunphänotypischen, bzw. ontogenetischen Merkmalen oder der Gewebelokalisation. Man unterscheidet dendritische Zellen des peripheren Blutes, Schleierzellen (Veiled Cells) der afferenten Lymphe, interdigitierende dendritische Zellen im Parakortex (T-Zellregion) der Lymphknoten und der Lymphozytenscheide der Milz, interstitielle dendritische Zellen parenchymatöser Organe (außer Gehirn und Retina), folliculäre dendritische Zellen im Keimzentrum der Lymphknoten und die Langerhans Zellen der Haut, erstmals beschrieben von Paul Langerhans 1868<sup>101</sup>. Allen dendritischen Zellen gemeinsam ist die Abstammung von hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks, spätere Stadien zirkulieren dann durch das Blut und durch lymphatische Organe um weitere Differenzierungssignale zu erhalten<sup>102,103</sup>.

Es handelt sich bei dem Begriff „dendritische Zellen“ nicht um einen einzelnen Zelltyp, sondern um eine heterogene Sammlung von Zellen, die sich aus unterschiedlichen hämatopoetischen Vorläuferzellen in verschiedenen Entwicklungslinien differenzieren<sup>104,105</sup>.

Die Zellreihen unterscheiden sich in der Expression von Oberflächenmarker und Zytokinen und v.a. auch in ihrer Funktion<sup>106</sup>. Sie entwickeln sich sowohl aus Zellen der lymphatischen – als auch der myeloischen Reihe<sup>103</sup>.

### Lymphoide dendritische Zellen

Im Knochenmark konnten Vorläuferzellen eines bestimmten Phänotyps bestimmt werden, bei deren Kultivierung sich T-Zellen, B-Zellen, Natürliche Killerzellen (NK) und DC entwickelten, jedoch keine myeloiden Zelltypen<sup>107</sup>. Im Thymus und in T-Zell Arealen sekundärer lymphatischer Organe fanden sich Zellen, aus denen sich T-Lymphozyten und NK-Zellen differenzierten<sup>108,109,103</sup>. Ihre Aufgabe ist weitgehend ungeklärt, jedoch scheinen einige Untergruppen an der negativen Selektion potentiell autoreaktiver T-Lymphozyten im Thymus beteiligt zu sein<sup>110</sup>, andere wiederum induzieren eine TH 2 Antwort<sup>111</sup>. TH2 Zellen sind T-Helferzellen, Zellen aus der Gruppe der Lymphozyten, die durch die Produktion von Botenstoffen, den Zytokinen

die Interaktionen verschiedener Immunzellen regeln. Durch die Sekretion von Interleukin 4, 5 und 6 wird z.B. die Sekretion protektiver Antikörper durch B-Zellen angeregt<sup>130</sup>.

### Myeloide dendritische Zellen

Dendritische Zellen konnten aus verschiedenen myeloischen Vorläuferzellen des Knochenmarks<sup>112</sup> entwickelt werden. Deutlich wurde eine enge Verwandtschaft zwischen Makrophagen und dendritischen Zellen<sup>113, 114</sup>. Es ist anzunehmen, dass proliferierende Vorläufer dendritischer Zellen im Blut zirkulieren, bevor sie in die Gewebe eintreten<sup>115</sup>. Ein typischer Vertreter sind die Langerhans Zellen. Ihre Funktionen beziehen sich im Wesentlichen auf Aufnahme, Prozessierung und Präsentation von Antigenen, mit der Fähigkeit zur selektiven Migration durch Gewebe und der Stimulation naiver T-Zellen.

### 1.3.2. Aufgaben und Funktionen

Zu den Aufgaben und Funktionen der dendritischen Zellen gehören Aufnahme, Prozessierung, Transport und Präsentation von Antigenen, welche je nach Reifungsgrad der Zelle ausgeführt werden. Unreife dendritische Zellen nehmen Antigene auf. Dies geschieht durch Pinocytose oder Makropinocytose, rezeptorvermittelter Aufnahme via Fc-Rezeptoren und Lektine wie dem Makrophagen Mannose-Rezeptor (MMR)<sup>116</sup>, oder Phagozytose von Mikroben und Zelldetritus<sup>117,118,119</sup>.

Die Aufnahme von Antigenen, bzw. bestimmte aufgenommene Substanzen stellen ein Reifungssignal für die dendritische Zelle dar. Als weitere Reifungssignale konnten inflammatorische Cytokine, TNF, mikrobiologische Bestandteile wie Lipopolysaccharide und Traumata wie Transplantation oder Nekrosen herausgestellt werden<sup>120</sup>. Mit zunehmender Reifung verlieren die dendritischen Zellen die Fähigkeit der Endocytose und ändern ihre Gestalt. Von großer Bedeutung für die Antigenaufnahme sind die Major-Histokompatibilitäts-Moleküle der Klasse II (MHC II), an die Antigene gebunden werden und die typisch für Antigen-präsentierende Zellen (APC) sind (120). Im Gegensatz zu anderen Antigen-präsentierenden Zellen (APCs)

besitzen dendritische Zellen ein Vielfaches mehr an MHC-II und verfügen über Mechanismen, welche die Antigenaufnahme und die Expression über MHC-II noch verstärken können<sup>120,121</sup>.

Weiterhin besteht die Fähigkeit Fremdantigene auf MHC-I Molekülen zu präsentieren. Auf MHC-I Molekülen werden normalerweise nur zelleigene Antigene präsentiert, oder von der Zelle selbst hergestellte Substrate. Die Präsentation „exogener“ Substrate sterbender Zellen oder Immunkomplexe auf MHC-I Molekülen stellt eine Besonderheit dar<sup>122,123,124</sup>. Dendritische Zellen können Antigene auf beiden MHC Typen präsentieren, daher sowohl MHC-II abhängige CD-4 Lymphozyten als auch MHC-I abhängige CD8-Lymphozyten aktivieren.

Mit wachsendem Reifungsgrad verlieren die Zellen ihre Fähigkeit zur Antigenaufnahme und steigern sowohl ihre Präsentation auf MHC als auch die Expression costimulatorischer Moleküle, die eine spätere T-Zell Aktivierung ermöglichen. Nach der Antigenaufnahme beginnen die Zellen über die Lymphe (Veiled Cells)<sup>125</sup> oder das Blut<sup>126</sup> in die sekundär lymphatischen Organe zu wandern. Dort siedeln sie sich in den parakortikalen Zonen (T-Zellregion) der Lymphknoten, oder den periarteriellen Lymphozytenscheiden der Milz ab, um dann in engem Kontakt Aggregate mit den T-Lymphozyten zu bilden und eine Immunantwort zu induzieren<sup>127,128</sup>. Aktivierte dendritische Zellen (interdigitierende dendritische Zellen) haben das Potential, naive T-Zellen zu stimulieren, da sie außer MHC Molekülen auch costimulatorische Moleküle wie z.B. CD 40 und B7 an ihrer Oberfläche exprimieren<sup>129</sup>. Über MHC-II werden Th-Zellen aktiviert, die wiederum weitere Immunologische Reaktionen veranlassen, wie z.B. die Antikörperproduktion durch B- Zellen oder eine Makrophagen-Aktivierung. Über MHC-I Moleküle werden zytotoxische T-Lymphozyten aktiviert, die direkt infizierte Zellen abtöten können.

Auch im Sinne einer sekundären Immunantwort können dendritische Zellen als APCs für B-Zellen und B-Gedächtniszellen dienen, indem sie diese über den Kontakt im Keimzentrum der lymphatischen Gewebe aktivieren (follikuläre dendritische Zellen; FDCs)<sup>130</sup>. Diese FDCs stammen nicht aus dem Knochenmark und sind keine Leukozyten<sup>131</sup>.

Dendritische Zellen sind eine heterogene Zellpopulation, die in der Lage sind, ein breites Spektrum von Pathogenen als Antigene aufzubereiten und in einem wachsendem Reifungsprozess durch Migration in lymphatische Organe zu transportieren, um sie dort auf MHC Klasse-I und -II Molekülen den dortigen T und B Lymphozyten zu präsentieren. Daraus resultierend ergibt sich die immunstimulatorische und immunmodulatorische Funktion dieser Zellen.

In der vorliegenden Arbeit soll geprüft werden, ob das gehäufte Auftreten dendritischer Zellen einen Einfluss auf die Prognose von Patientinnen hat, die an einem Endometriumkarzinom erkrankt sind.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1. Patientinnen und Methode**

Die Anzahl S100 positiver dendritischer Zellen wurde retrospektiv am paraffinierten Gewebblock bestimmt. Die Operationspräparate / Abradate stammten aus dem histopathologischen Archiv der UFK Würzburg von Patientinnen, die in den Jahren 1980-1985 an der UFK wegen eines Endometriumkarzinoms in Behandlung waren.

Alle Gewebeproben wurden histologisch nach der WHO Klassifikation von 1994<sup>12</sup> und den FIGO Kriterien reklassifiziert, das Grading entsprechend nach AFIP (Armed Forces Institut of Pathology) -Kriterien<sup>132</sup> bestimmt. Diese Daten wurden von früheren Untersuchungen übernommen, in denen die Erhebung der Patientendaten, die Bestimmung des Steroidhormonrezeptorgehaltes mittels Immunperoxidase-reaktion (Dako-Hamburg) und die Bestimmung der Proliferationsrate mittels Ki-67 Antigenreaktion durchgeführt und beschrieben wurde<sup>73</sup>.

Die immunhistochemische Darstellung der Parameter p-53, Her-2/neu (c-erbB-2) wurde ebenfalls in früheren Arbeiten durchgeführt und genau beschrieben<sup>37</sup>.

## **2.2. Immunhistochemischer Nachweis S100 positiver dendritischer Zellen**

### Materialliste

Objektträger (OT) : Menzel Gläser GmbH OT, Braunschweig, Deutschland.

Xylol, Merk Nr.: 1.08685. 2500 Darmstadt, Germany

Methanol: Merck 1.06009. 2500 Darmstadt, Germany

Technischer Alkohol vergällt über Uni-Versorgung. Universität Würzburg, Deutschland

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Merck 1.07209. 0250

Mikrowellenpuffer : Zitronensäure-Monohydrat 0,6g/300 ml Aqua-dest., 1N NaOH

Zitronensäure-Monohydrat: Merck 1.00244.1000

NaOH 2N Merck 1.09136.1000

Phosphat gepufferte Saline ( PBS ), Oxid 10 Tabl.auf 1Liter Aqua dest.

PBS Oxoid Tab. BR 0014G/Basingstoke, Hampshire England

Beriglobin 1:200 PBS

Beriglobin: Aventis Behring GmbH, Marburg Deutschland

Antikörper Färbekit: ABC-K 0492 Dako, Hamburg Germany

Antikörper S100: Z 0311 Dako, Hamburg Germany

Kaninchen-Normalserum: X 0902 Dako, Hamburg Germany

Hämalaun S2020 Dako, Hamburg Germany

Entwicklerlösung DAB (Diamino-Benzidin), D-3652 Sigma, Taufkirchen Germany

APES, Sigma Taufkirchen Germany

Vitro-Clud: Langenbrinck, Emmendingen Germany

Der Antikörper gegen S100 wurde in mehreren Studien zum Nachweis dendritischer Zellen in paraffinierten Gewebeschnitten evaluiert<sup>91,92,93,94</sup>.

Als Untersuchungsmaterial wurden paraffinierte Gewebeschnitte von Endometriumkarzinomen verwendet, der Nachweis dendritischer Zellen erfolgte mittels ABC (Avidin-biotin-peroxidase complex) Antikörperfärbekit der Firma DAKO in unten angegebener Weise.

Der S100 Antikörper bindet an Membranantigene dendritischer Zellen und wird dann mit dem DAB Substrat visualisiert.

Anschließend wurde die Anzahl der angefärbten Dendritischen Zellen pro cm<sup>2</sup> mikroskopisch bestimmt.

### **2.2.1. Durchführung der Immunhistochemischen Färbung**

Die zwei µm dicken Paraffinschnitte wurden auf APES (3-Aminopropyltri-Ethoxysilan) beschichtete Objektträger aufgetragen und eine Stunde bei 60<sup>0</sup> C getrocknet.

Nach der Trocknung erfolgte die Entparaffinisierung in Xylol für etwa 15 Minuten, anschließend ein erneutes Bad in frischem Xylol für etwa fünf Minuten, danach für zweimal fünf Minuten eine Überführung in frischen Alkohol.

Zur Blockierung der endogenen Peroxidase wurden die Präparate in ein 20 minütiges Bad von 3% Methanol gestellt, anschließend mit Aqua dest. gewaschen, in Pufferlösung (Zitronensäure-monohydrat 0,6 g / 300 ml Aqua-dest. mit NaOH auf pH 6 titriert) bei 800 Watt für 15 Minuten in der Mikrowelle gekocht und nach dem Abkühlen mit Aqua-dest. gespült.

Anschließend ruhten die Schnitte für zehn Minuten in PBS-Lösung (Phosphat gepufferte Saline, 10 Tabletten auf 1 Liter Aqua-dest.).

Um unspezifische Bindungen der Moleküle zu blocken erfolgte eine Behandlung mit humanem Immunglobulin (Beryglobin) in PBS 1:200 für 20 Minuten. Danach wurde die Antikörperlösung aus dem S100-Kaninchen polyklonalem Serum und PBS 1:500 hergestellt und die Gewebeschnitte damit bedeckt. Parallel wurde eine Negativkontrolle mit Kaninchen Normalserum 1:1000 angefertigt. Nach 45 minütiger Inkubation in der feuchten Kammer wurden die Schnitte mit PBS gewaschen und Lösung 1 des Nachweissystems aufgetragen und 15 Minuten inkubiert. Mit dem Sekundäntikörper wurde in gleicher Weise verfahren (Streptavidin –HRP).

Anschließend erfolgte die Applikation der Entwicklerlösung DAB mit einer Einwirkzeit von zehn Minuten.

Die gespülten Präparate wurden in Hämalaun gebläut, in Leitungswasser gespült und in der aufsteigenden Alkoholreihe entwässert. Die Abdeckung erfolgte mit Vitro-Clud.



### **2.2.2. Auszählung**

Zur Bestimmung der Anzahl DC wurde das gesamte Tumorgewebe bei maximaler Vergrößerung (x400) ausgezählt und vermessen, danach die Anzahl DC/cm<sup>2</sup> Tumorgewebe berechnet. Zur statistischen Berechnung wurden die Daten dann jeweils einer Gruppe zugeteilt:

0-10 DC/cm<sup>2</sup> : im Folgenden als DC negativ bezeichnet

>10 DC/cm<sup>2</sup> : im Folgenden als DC positiv bezeichnet.

Diese Einteilung wurde in Anlehnung an Studien anderer Autoren gewählt<sup>91,94</sup>. Als Auswahlkriterien für dendritische Zellen galten: eindeutige S100 Protein positive Färbereaktion mit sichtbarem Zellkern und zytoplasmatischen dendritischen Ausläufern. Die Auswertung der Gewebeschnitte erfolgte durchgängig durch ein und dieselbe Person, so dass die Matchingkriterien für gezählte dendritische Zellen bei allen untersuchten Schnitten gleich waren.

### **2.3. Statistik**

Die statistische Beschreibung der erhobenen Daten erfolgte mit SPSS für Windows, Version 11 und MEDAS<sup>133</sup>.

Zur Überprüfung eines Zusammenhanges zwischen dendritischen Zellen und anderen Prognosefaktoren wurden der Chi-quadrat Test oder - bei zu geringen Erwartungswerten - der zweiseitige exakte Test nach Fisher und Yates eingesetzt.

Der Einfluß der Parameter auf Gesamtüberleben, bereinigtes Überleben und rezidivfreies Intervall wurde univariat nach Kaplan und Meier berechnet und als Überlebenstafeln dargestellt. Die „bereinigte“ Überlebensrate umfasste dabei alle am Tumor verstorbenen Patientinnen. Zur Beschreibung der Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen wurde der „Log-Rank-Test“ verwendet.

Die multivariate Analyse erfolgte mit dem „proportional hazard model“ nach Cox mit sukzessiver Entfernung der am wenigsten signifikanten Parameter. Hierbei wurden fehlende Werte einzelner Variablen durch das Programm durch Mittelwerte ersetzt.

Besonders hohe Anzahlen fehlender Werte finden sich für das nur postoperativ zu erhebende FIGO Stadium. In unserem Patientenkollektiv wurde über ein Drittel durch primäre Radiatio behandelt, weshalb hier keine Daten zum FIGO Stadium vorliegen.

Einige andere Parameter konnten wegen nicht ausreichendem Tumormaterial retrospektiv nicht mehr an allen Präparaten bestimmt werden, hieraus ergeben sich die Differenzen in den Fallzahlen (Gewicht: n=97, histologischer Typ:n=101, Infiltrationstiefe des Myometriums: n=46, Kerngrading: n=102, TNM-FIGO Klassifikation: n=48, Östrogenrezeptorstatus: n=56, Progesteronrezeptorstatus: n=95, c-erb-B2: n=98, p53: n=93, Ki-S1 (MIB-1): n=95). Zur vergleichbaren Quantifizierung der Testergebnisse wurden p-Werte ermittelt. p-Werte < 0,05 wurden als signifikant bezeichnet und als wesentlich interpretiert.

Signifikante p-Werte wurden mit ein bis drei Sternen markiert: p<0.05\*, p<0.01\*\*, p<0.001\*\*\*.

### **3. Ergebnisse**

In unserer Studie wurde retrospektiv die Anzahl S100 positiver dendritischer Zellen am paraffinierten Gewebepblock von 115 an einem Endometriumkarzinom erkrankten Patientinnen, die in den Jahren 1980-1985 an der UFK wegen eines Endometriumkarzinoms in Behandlung waren bestimmt. Ihre Korrelation zu anderen prognostischen Variablen wurde überprüft. In früheren Arbeiten am Patientenkollektiv wurden die klinischen Daten und alle histopathologischen Parameter außer der Anzahl dendritischer Zellen (DC) erfasst und aus diesen übernommen.

Wir untersuchten die Bedeutung des Auftretens dendritischer Zellen im Endometriumkarzinom für die Gesamtüberlebensrate, die bereinigte Überlebensrate und das rezidivfreie Überleben und ihre Korrelation zu anderen Prognosefaktoren.

Als Methode wählten wir den immunhistochemischen ABC (Avidin-biotin-peroxidase complex) Antikörperfärbenachweis für S100, da bereits langjährige Erfahrungen mit diesem Marker für dendritischer Zellen vorliegen und die Färbung, auch an paraffinierten Gewebeschnitten, in jedem histologischen Labor durchführbar ist.

### **3.1. Beschreibung des Patientenkollektivs**

Untersucht wurden die Präparate von insgesamt 115 am Endometriumkarzinom erkrankten Patientinnen, die vom 1.1.1980 bis 31.12.1985 an der Frauenklinik der Universität Würzburg in Behandlung waren.

#### **3.1.1. Klinische Daten und Risikofaktoren**

Das mediane Patientenalter betrug 67,8 Jahre mit einem 68%-Konfidenzintervall von 56,9 bis 78,9 Jahren. Davon waren 5 Patientinnen jünger als 50 Jahre und 110 Patientinnen älter als 50 Jahre. Die jüngste Patientin war 30 Jahre alt, die älteste 95 Jahre. Der mediane Beobachtungszeitraum betrug 4 Jahre (min: 4 Tage; max. 15 Jahre), in dieser Zeit verstarben insgesamt 80 Patientinnen (69,6 %), davon 44 (55%) tumorbedingt, 71 Patientinnen (61,7%) starben aus anderer Ursache oder überlebten im Beobachtungszeitraum. Ein Rezidiv erlitten 19 (16,5%) Frauen. Bei 72 Patientinnen (62,6%) erfolgte die Primärtherapie operativ, bei 43 (37,4%) aufgrund eingeschränkter Operabilität oder internistischer Komorbidität durch primär kombinierte Radiatio in Form von intrakavitärer Kontakttherapie und perkutaner Teletherapie.

Risikofaktoren wie Diabetes Mellitus wiesen 34 (29,6%) Patientinnen auf, an Hypertonie litten 67 (58,3%) Patientinnen. Die Ermittlung der Parität ergab bei 29 (25,2%) Frauen Nullipara und bei 86 (74,8%) Multipara. Der Body Mass Index (BMI), definiert als Körpergewicht (kg)/ [Körpergröße (m)]<sup>2</sup>, wurde bei 97 Patientinnen bestimmt. Übergewichtig (=BMI>24) waren davon 68 (70,1%) Patientinnen.

Da retrospektiv nicht alle Parameter vollständig zu erheben waren, unterscheiden sich im Einzelnen die Fallzahlen (Tabelle 3: Klinische Daten und Risikofaktoren).

Tabelle 3: Klinische Daten und Risikofaktoren

<b>Klinische Parameter</b>	<b>n (%)</b>
Follow up in Jahren (n=115)	min. 0,01 max.15,2 Median 4 J
Erkrankungsalter in Jahren (n=115)	min.30,36 max. 94,6
Erkrankungsalter <=50J (n=115)	5 (4,3%)
>50J	110 (95,7%)
Verstorben nicht am Tumor (n=115)	80 (69,6%)
Verstorben am Tumor (n=115)	44 (38,3%)
Rezidiv (n=115)	19 (16,5 %)
Übergewicht (n=97)	68 (70,1 %)
Diabetes Mellitus (n=115)	34 (29,6%)
Hypertonie (n=115)	67 (58,3%)
Parität (n=115)	
Nullipara	29 (25,2%)
Multipara	86 (74,8%)
Primärtherapie (n=115)	
-Operation	72 (62,6%)
-primäre Radiatio	43 (37,4%)

n=Anzahl der Patientinnen, für die Angaben zur Variablen bekannt waren

*Tabelle 3 zeigt die Verteilung klinisch erfasster Daten im untersuchten Patientenkollektiv*

### 3.1.2. Histopathologische Parameter und Prognosefaktoren

Der histologische Tumortyp war in 101 von 115 Fällen zu ermitteln. Es wurden 70 histologische Präparate als endometrioiden Adenokarzinome (69,3%), 17 als Adenokarzinome mit plattenepithelialer Differenzierung (16,8%), 4 als adenosquamöse Karzinome (4%), 3 als seröse Karzinome (3%), 4 als Klarzellkarzinome (4%) und 3 als undifferenzierte Karzinome (3%) klassifiziert. Die Infiltration des Myometriums betrug bei 25 (54,3%) von 46 Patientinnen weniger als 50%, bei 21 (45,7%) mehr als 50%.

Im histopathologischen Kerngrading lagen Befunde von 102 Patientinnen vor, davon wiesen 23 (22,5%) GI, 44 (43,1%) GII, und 35 (34,3%) GIII Tumore auf. Postoperativ wurde nach FIGO (n=48) das Stadium I 39 mal (81,3%), Stadium II 4 mal (8,3%) und Stadium III 5 mal (10,4%) diagnostiziert. Hierbei wurden als GI Stadium Zellen mit

ovalen Nuclei und homogenem Chromatin bezeichnet. Es handelt sich hierbei um Zellen mit hohem Differenzierungsgrad. Als GIII wurden Zellen mit großen pleomorphen Kernen und scholligem Chromatin als Merkmale schlecht differenzierter Zellen klassifiziert. GII bezeichnet Zellen im Stadium zwischen GI und GII. (Tabelle 4: Histopathologische Parameter).

**Tabelle 4: Histopathologische Parameter**

<b>Histopathologische Parameter</b>	<b>n (%)</b>
histologischer Typ (n=101)	
-endometrioides Adenokarzinom	70 (69,3%)
-Adenokarzinom mit plattenepithelialer Differenzierung	17 (16,8)
-adenosquamöses Karzinom	4 (4%)
-seröses Karzinom	3 (3%)
-Klarzellkarzinom	4 (4%)
-undifferenziertes Karzinom	3 (3%)
Infiltration des Myometriums (n=46)	
<= 50%	25 (54,3%)
> 50%	21 (45,7%)
Kerngrading (n=102)	
GI	23 (22,5%)
GII	44 (43,1%)
GIII	35 (34,3%)
TNM-FIGO Klassifikation (n=48)	
I	39 (81,3%)
II	4 (8,3%)
III	5 (10,4%)

n= Anzahl der Patientinnen, für die Angaben zur Variablen bekannt waren

GI= hoch differenzierte Tumoren

GII= Tumoren mittleren Differenzierungsgrades

GIII= schlecht differenzierte Tumoren

*Tabelle 4 zeigt die Verteilung Histopathologischer Parameter im untersuchten Patientenkollektiv*

### **3.1.3. Immunhistochemische Parameter**

Immunhistochemisch wurden die Anzahl S100 positiver DC/cm<sup>2</sup> Tumorgewebe bestimmt.

Weniger als 10 DC/cm<sup>2</sup> fanden sich bei 44 (38,3%), mehr als 10 DC/cm<sup>2</sup> bei 71(61,7%) Präparaten. Das Minimum war bei 0 DC/cm<sup>2</sup>, das Maximum bei 252 DC/cm<sup>2</sup>.

Als weiterer prognostischer Marker wurden der Östrogen und Progesteron – Rezeptorstatus erhoben. Östrogenrezeptor-negativ waren 26 (46,4%) von 56 Karzinomen, 30 (53,6%) waren Östrogenrezeptor-positiv. Für Progesteronrezeptoren zeigten 52 (54,7%) von 95 eine positive Färbereaktion, 43 (45,3%) wurden als Progesteronrezeptor-negativ beurteilt. Positiv für die Expression des Onkoproteins Her-2/neu (c-erb B-2) waren 50 (51%) von 98 Gewebeproben, negativ 48 (49%). Die Überexpression des Proteins p-53 fand sich in 29 (31,2%) von 93 Fällen, 64 (68,8%) waren negativ. Die immunhistochemisch mit dem Antikörper Ki-67 bestimmte Proliferationsaktivität stellte sich in 40 (42,1%) von 95 Tumoren als gering, in 39 (41,1%) als mittel und in 16 (16,8%) Tumoren als hoch dar (Tabelle 5: Immunhistochemische Parameter).

**Tabelle 5: Immunhistochemische Parameter**

<b>Immunhistochemische Parameter</b>	<b>n (%)</b>
S100 positive DC/cm <sup>2</sup> (n=115)	min.: 0      max.: 252
0-10 DC/cm <sup>2</sup>	44 (38,3%)
>10 DC/cm <sup>2</sup>	71 (61,7%)
Östrogen-IRS (n=56)	
IRS (0-2)	26 (46,4%)
IRS (3-12)	30 (53,6%)
Progesteron-IRS (n=95)	
IRS (0-2)	43 (45,3%)
IRS (3-12)	52 (54,7%)
c-erb-B2-IRS (n=98)	
IRS (0-2)	48 (49%)
IRS (3-12)	50 (51%)
p53-IRS (n=93)	
IRS (0-2)	64 (68,8%)
IRS (3-12)	29 (31,2%)
Ki-S1-(MIB-1) (n=95)	
0-20% Proliferation	40 (42,1%)
21-50% Proliferation	39 (41,1%)
51-100% Proliferation	16 (16,8%)

n= Anzahl der Patientinnen, für die Angaben zur Variablen bekannt waren  
IRS= Immunreaktiver Score

*Tabelle 5: Verteilung immunhistochemischer Parameter im untersuchten Patientenkollektiv*

### 3.2. Dendritische Zellen und klinische, histopathologische und immunhistochemische Faktoren

Das Vorkommen dendritischer Zellen zeigte im Chi-Quadrat Test keine signifikante Beziehung zu den Risikofaktoren Hypertonie, Adipositas, Nullipara und Diabetes Mellitus. Da nur 5 von 115 Patientinnen jünger als 50 Jahre waren, war hier eine Korrelation zur Anzahl dendritischer Zellen nicht möglich.

Der Vergleich mit den prognostischen Variablen FIGO-Stadium, Myometriuminfiltration, Lymphgefäßrauminfiltration, Histologischer Typ, c-erb und Steroidhormonrezeptorgehalt ergab ebenfalls keinen signifikanten Zusammenhang. Die Proliferationsrate wurde in 3 Gruppen unterteilt: „mild“ 0-20% gefärbte Zellen, „moderate“: 21 – 50% gefärbte Zellen und „high“ mit 51-100% gefärbter Zellen<sup>37</sup>. Zum Nachweis der p53 und Her-2/neu Expression wurde ein immunreaktiver Score mit zwei Gruppen gebildet. Eine Färbereaktion von null bis zwei Zellen wurde als negativ, mehr als zwei angefärbte Zellen als positiv bezeichnet<sup>56</sup>. (Tabelle 6: Anzahl dendritischer Zellen und klinische, histopathologische und immunhistochemische Faktoren).

**Tabelle 6: Anzahl dendritischer Zellen und klinische, histopathologische und immunhistochemische Faktoren**

Parameter		p-Wert
Alter	n=115	
Hypertonie	n=115	0,177
Adipositas	n=97	0,494
Parität	n=115	0,508
Diabetes Mellitus	n=115	1,0
Myometriuminfiltration	n=46	1,0
Histologischer Typ	n=101	0,87
Staging (FIGO)	n=48	0,59
Grading	n=102	0,045 *
Lymphangiosis Carcinomatosa	n=115	0,058
Östrogenrezeptoren	n=56	0,179
Progesteronrezeptoren	n=95	0,834
Proliferationsrate (Ki-S1)	n=95	0,028 *
p53	n=93	0,021 *
Her-2/neu (c-erb B2)	n =98	0,311

n= Anzahl gültiger Fälle

*Tabelle 6 zeigt die p Werte für den Vergleich der Anzahl dendritischer Zellen im Endometriumkarzinom mit anderen Variablen im Chi-Quadrat Test.*

Im Chi-Quadrat Test zeigte sich im Vergleich des Vorkommens dendritischer Zellen und den Variablen Kerngrading, Proliferationsrate und p53 Expression ein signifikanter Zusammenhang mit  $p= 0,045$ ,  $p= 0,028$  und  $p= 0,021$  (siehe Tabelle 6: Anzahl dendritischer Zellen und klinische, histopathologische und immunhistochemische Faktoren). Diese Zusammenhänge werden im Folgenden näher erklärt.

### 3.2.1. Anzahl dendritischer Zellen und Kerngrading

DC negative Tumore waren in 10,8% (n=4) gut differenziert (GI), in 43,2% (n=16) mäßig (GII) und in 45,9% (n=17) niedrig differenziert (GIII).

DC positive Tumore zeigten in 29,2% (n=19) eine gute Differenzierung, in 43,1% (n=28) waren sie mäßig, und in 27,7% (n=18) schlecht differenziert.

Bei den gut differenzierten Tumoren waren 17,4% (n=4) DC negativ und 82,6% (n=19) DC positiv. Im mittleren Differenzierungsgrad zeigten 36,4% (n=16) weniger als zehn DC/cm<sup>2</sup>, mehr als zehn DC/cm<sup>2</sup> fanden sich in 63,6% (n=28). Die schlecht differenzierten Karzinome sind in 48,6% (n=17) DC negativ und in 51,4% (n=18) DC positiv. Diese Ergebnisse waren mit  $p= 0,045$  signifikant. (Tabelle 7: Kreuztabelle: Anzahl DC/cm<sup>2</sup> und Kerngrading)

**Tabelle 7: Kreuztabelle: Anzahl DC/cm<sup>2</sup> und Kerngrading**

		<b>Kerngrading</b>			
<b>DC/cm<sup>2</sup></b>		<b>G I</b>	<b>G II</b>	<b>G III</b>	<b>Gesamt</b>
<b>0-10</b>	<b>Anzahl</b>	<b>4</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>37</b>
	% bezogen auf S100	10,8%	43,2%	45,9%	100,0%
	% bezogen auf das Grading	17,4%	36,4%	48,6%	36,3%
	% der Gesamtzahl	3,9%	15,7%	16,7%	36,3%
<b>&gt;10</b>	<b>Anzahl</b>	<b>19</b>	<b>28</b>	<b>18</b>	<b>65</b>
	% bezogen auf S100	29,2%	43,1%	27,7%	100,0%
	% bezogen auf das Grading	82,6%	63,6%	51,4%	63,7%
	% der Gesamtzahl	18,6%	27,5%	17,6%	63,7%
<b>Gesamt</b>	<b>Anzahl</b>	<b>23</b>	<b>44</b>	<b>35</b>	<b>102</b>
	% aller auf S100 getesteten Fälle	22,5%	43,1%	34,3%	100,0%
	% bezogen auf das Grading	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% der Gesamtzahl	22,5%	43,1%	34,3%	100,0%

*Tabelle 7 zeigt den Zusammenhang zwischen der Anzahl dendritischer Zellen und dem Kerngrading im Chi Quadrat Test.*



### 3.2.2. Anzahl dendritischer Zellen und p53

DC negative Tumore waren in 54,1% (n=20) auch negativ für p53, in 45,9% (n=17) zeigte sich eine positive Färbereaktion für p53.

Für DC positive Karzinome fand sich in 78,6% (n=44) keine p53 Überexpression, in 21,4% (n=12) war sie nachweisbar.

Die Karzinome ohne entsprechende Überexpression von p53 waren in 31,3% (n=20) DC negativ und in 68,8% (n=44) DC positiv.

Die p53 positiven Karzinome waren in 58,6% (n=17) DC negativ und in 41,4% (n=12) DC positiv. Der p-Wert lag mit  $p=0,021$  im signifikanten Bereich. (Tabelle 8: Kreuztabelle Anzahl DC/cm<sup>2</sup> und p53)

**Tabelle 8: Kreuztabelle Anzahl DC/cm<sup>2</sup> und p53**

		p53		
DC/cm <sup>2</sup>		neg	pos	Gesamt
<b>0-10</b>	<b>Anzahl</b>	<b>20</b>	<b>17</b>	<b>37</b>
	% bezogen auf S100	54,1%	45,9%	100,0%
	% bezogen auf p53	31,3%	58,6%	39,8%
	% der Gesamtzahl	21,5%	18,3%	39,8%
<b>&gt;10</b>	<b>Anzahl</b>	<b>44</b>	<b>12</b>	<b>56</b>
	% bezogen auf S100	78,6%	21,4%	100,0%
	% bezogen auf p53	68,8%	41,4%	60,2%
	% der Gesamtzahl	47,3%	12,9%	60,2%
<b>Gesamt</b>	<b>Anzahl</b>	<b>64</b>	<b>29</b>	<b>93</b>
	% aller auf S100 getesteten Fälle	68,8%	31,2%	100,0%
	% von p53	100,0%	100,0%	100,0%
	% der Gesamtzahl	68,8%	31,2%	100,0%

*Tabelle 9 zeigt den Zusammenhang zwischen der Anzahl DC und der Überexpression von p53 im Chi Quadrat Test*

### 3.2.3. Anzahl dendritischer Zellen und Proliferationsrate

Die Proliferationsrate, bestimmt durch den Marker KI-67 (MIB-1), wurde in die drei Gruppen mild (geringe Proliferationsrate, 0-20% Färbereaktion), moderate (mittlere Proliferationsrate, 21-50% Färbereaktion) und high (hohe Proliferationsrate, 51-100% Färbereaktion) unterteilt.

Die DC negativen Tumore wiesen mit einer Signifikanz von  $p=0,028$  in 31,6% ( $n=12$ ) eine geringe Proliferationsrate auf. In 39,5% ( $n=15$ ) war die Proliferationsrate als mittel, in 28,9% ( $n=11$ ) als hoch zu bezeichnen.

DC positive Tumore zeigten in 49,1% ( $n=28$ ) eine geringe, in 42,1% ( $n=24$ ) eine mittlere und in 8,8% ( $n=5$ ) eine hohe Proliferationsrate.

War die Proliferationsrate niedrig, waren die Tumore in 30% ( $n=12$ ) DC negativ und in 70% ( $n=28$ ) DC positiv. Bei mittlerer Proliferationsrate waren 38,5% ( $n=15$ ) DC negativ und 61,5% ( $n=24$ ) DC positiv. Bei stark proliferierenden Tumoren fanden sich nur wenige DC in 68,8% ( $n=11$ ) und mehr als zehn DC/cm<sup>2</sup> in 31,3% ( $n=5$ ) der hochproliferierenden Karzinome. (Tabelle 9: Kreuztabelle: Anzahl DC/cm<sup>2</sup> und Proliferationsrate)

**Tabelle 9: Kreuztabelle: Anzahl DC/cm<sup>2</sup> und Proliferationsrate**

KI-S1 (MIB-1)					
DC/cm <sup>2</sup>		Mild	Moderate	High	Gesamt
<b>0-10</b>	<b>Anzahl</b>	<b>12</b>	<b>15</b>	<b>11</b>	<b>38</b>
	% bezogen auf S100	31,6%	39,5%	28,9%	100,0%
	% bezogen auf KI-S1	30,0%	38,5%	68,8%	40,0%
	% der Gesamtzahl	12,6%	15,8%	11,6%	40,0%
<b>&gt;10</b>	<b>Anzahl</b>	<b>28</b>	<b>24</b>	<b>5</b>	<b>57</b>
	% bezogen auf S100	49,1%	42,1%	8,8%	100,0%
	% bezogen auf KI-S1	70,0%	61,5%	31,3%	60,0%
	% der Gesamtzahl	29,5%	25,3%	5,3%	60,0%
<b>Gesamt</b>	<b>Anzahl</b>	<b>40</b>	<b>39</b>	<b>16</b>	<b>95</b>
	% aller auf S100 getesteten Fälle	42,1%	41,1%	16,8%	100,0%
	% bezogen auf KI-S1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% der Gesamtzahl	42,1%	41,1%	16,8%	100,0%

KI-S1 (MIB-1): Mild: geringe Proliferation  
Moderate: mittlere Proliferation  
High: hohe Proliferation

*Tabelle 9 Zusammenhang zwischen der Anzahl dendritischer Zellen und der Proliferationsrate im Chi Quadrat Test*

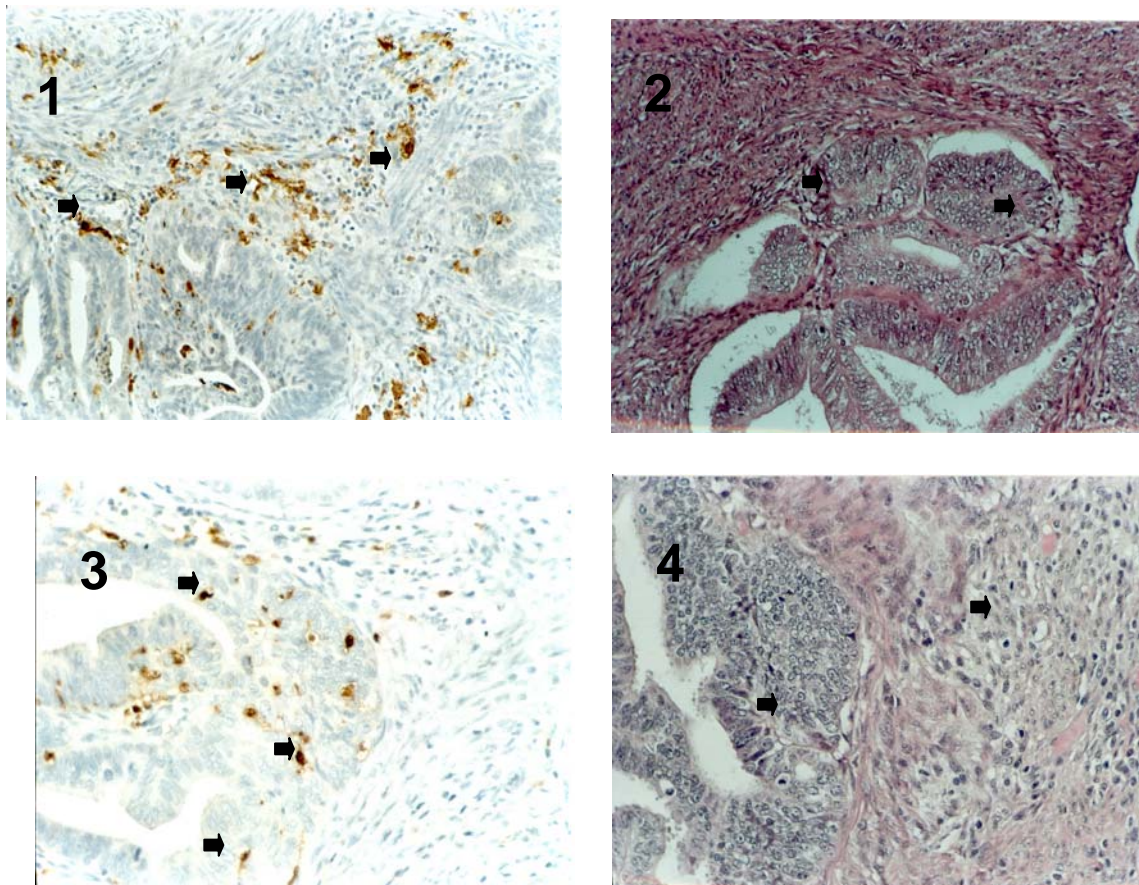
### **3.3. Immunhistochemische Auswertung der Ergebnisse**

Mit dem Marker S100 sind die dunkel gefärbten Zellen mit fingerförmigen zytoplasmatischen Ausläufern in der S100 Färbung zu erkennen.

In der HE Färbung lässt sich das Tumorareal vom Stromagewebe abgrenzen. (Abb.1-4)  
Die Abbildungen 5-8 zeigen dendritische Zellen in ihrer Verteilung im Endometriumkarzinom-Gewebe.

In der 25-fachen Vergrößerung ist die Präsenz dendritischer Zellen im unmittelbaren Tumorareal zu erkennen. (Abb. 5) Aus dem umliegenden Stromagewebe infiltrieren sie die Drüsenareale. (Abb. 6)

Bei 40-facher Vergrößerung wird der enge Kontakt zwischen DC und Tumorzellen deutlich. Mit ihren dendritischen Ausläufern umfassen DC die Tumorzellen. (Abb. 7 und 8)



*Abb. 1*

*Abbildung 1 zeigt die mit dem Antikörper S100 angefärbten dendritischen Zellen bei 25-facher Vergrößerung im Randgebiet der veränderten Drüsenzellen.*

*Abb. 2*

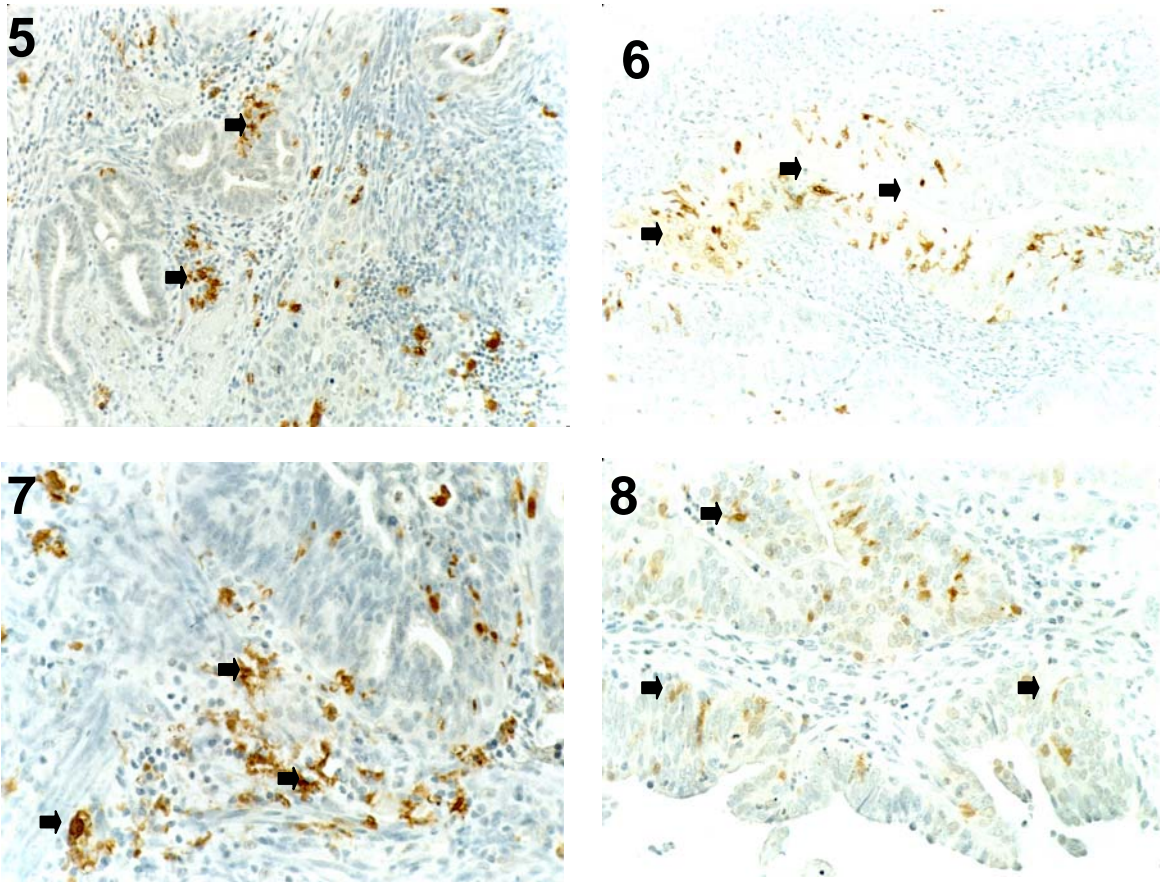
*Die HE-Färbung in Abbildung 2 zeigt das karzinomatös entartete Drüsengewebe des Endometriumkarzinoms bei 25-facher Vergrößerung. In dieser Färbung lässt sich das Drüsengewebe gut vom Myometrium abgrenzen.*

*Abb. 3*

*Abbildung 3 lässt bei 40facher Vergrößerung die mit dem Antikörper S100 angefärbten dendritischen Zellen als einzel abgrenzbare Zellen mit dendritischen Ausläufern erkennen. Sie stehen in engem Kontakt zu den entarteten Endometriumsdrüsen*

*Abb. 4*

*Abbildung 4 zeigt das entartete Gewebe des Endometriumkarzinoms bei 40facher Vergrößerung.. Zu erkennen sind links das Endometrium mit den Kernatypien, rechts Karzinomzellen die das Myometrium infiltrieren.*



*Abb. 5*  
Abbildung 5 zeigt die, mit dem Antikörper S100 angefärbten dendritischen Zellen in Gruppen zusammengelagert in unmittelbarer Lagebeziehung zu den Drüsenzellen des Endometriums.

*Abb. 6*  
Abbildung 6 zeigt bei 25-facher Vergrößerung eine langgestreckte tubuläre Drüse eines Endometriumkarzinoms, die von dendritischen Zellen durchsetzt ist.

*Abb. 7*  
Abb. 7 zeigt bei 40facher Vergrößerung mehrere S100 positive dendritische Zellen, die von Lymphozyten umgeben aus dem Myometrium in das Endometrium einwandern. Links im Bild ist ein Makrophage mit großem Zellkern zu sehen

*Abb. 8*  
In Abbildung 8 kann man bei 40facher Vergrößerung die dendritischen Ausläufer der dendritischen Zellen sehen, wie sie sich an die Drüsenzellen des Endometriums heften.

### **3.4. Univariate Analysen, Einfluss der einzelnen Faktoren auf das Überleben**

In der univariaten Überlebensanalyse nach Kaplan Meier wurde der Einfluss der Infiltration durch S100 positive DC auf das bereinigte Überleben im Log Rank Test mit  $p=0,0031$  deutlich. Als signifikante Prognosefaktoren bezüglich bereinigter Überlebensrate und Gesamtüberleben erwiesen sich außerdem: das FIGO-Stadium ( $p=0,000000$  bzw.  $p=0,000003$ ), der Östrogenrezeptorstatus ( $p=0,041$  bzw.  $p=0,035$ ) und die Proliferationsrate ( $p=0,0012$  bzw.  $p=0,0045$ ). Durch das Kerngrading ( $p=0,0026$ ) und die p-53 Überexpression ( $p=0,023$ ) wurde nur die bereinigte Überlebensrate signifikant beeinflusst.

Für das rezidivfreie Überleben zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang für die untersuchten Faktoren Alter, histologischer Typ, Myometriuminfiltration, FIGO-Staging, Kerngrading, Lymphangiosis carcinomatosa Östrogenrezeptorstatus, Proliferationsrate, p53-Überexpression, Her-2/neu (c-erb B2). (Tabelle 10: Univariate Analysen nach Kaplan Meier, Log Rank)

**Tabelle 10: Univariate Analysen nach Kaplan Meier, Log Rank**

<b>Parameter</b>	<b>bereinigtes Überleben p</b>	<b>rezidivfreies Überleben p</b>	<b>Gesamt- überleben p</b>
dendritische Zellen	0,0031**	0,28	0,063
Alter	0,27	0,86	0,054
histologischer Typ <sup>1</sup>	0,41	0,88	0,44
Myometriuminfiltration	0,40	0,24	0,075
Staging (FIGO) <sup>2</sup>	0,000000***	0,079	0,000003***
Kerngrading	0,0026**	0,11	0,06
Lymphangiosis Carcinomatosa	0,25	0,8	0,38
Östrogenrezeptorstatus	0,041*	0,57	0,035*
Progesteronrezeptorstatus	0,47	0,19	0,39
Proliferationsrate (Ki-S1)	0,0012**	0,17	0,0045**
p53-Überexpression	0,023*	0,29	0,088
Her-2/neu (c-erb B2)	0,55	0,76	0,74

- 1: Endometrioider Typ  
Nicht-endometrioider Typ  
2: Low Stage: FIGO I+II  
High Stage: FIGO III+IV

*Tabelle 10 Bedeutung der untersuchten Parameter auf bereinigtes Überleben, rezidivfreies Überleben und Gesamtüberleben.*

### 3.4.1. Der Einfluss Dendritischer Zellen auf Gesamtüberleben, bereinigtes Überleben und rezidivfreies Überleben

Bezüglich der Anzahl S100 positiver dendritischer Zellen im Endometriumkarzinom zeigte sich, dass Patientinnen mit DC positiven Tumoren eine mit  $p= 0,0031$  signifikant höhere Überlebensrate als Patientinnen mit DC negativen Tumoren haben.

Dieser Zusammenhang ist statistisch signifikant in Bezug auf die bereinigte Überlebensrate ( $p=0,0031$ ) (Abb. 9). Ein ähnlicher Trend im Kurvenverlauf ergibt sich auch für die Gesamtüberlebensrate, dies jedoch ist statistisch mit  $p= 0,063$  nicht signifikant (Abb. 10). Keinen signifikanten Einfluss haben DC mit  $p= 0,28$  auf das rezidivfreie Überleben (Abb. 11).

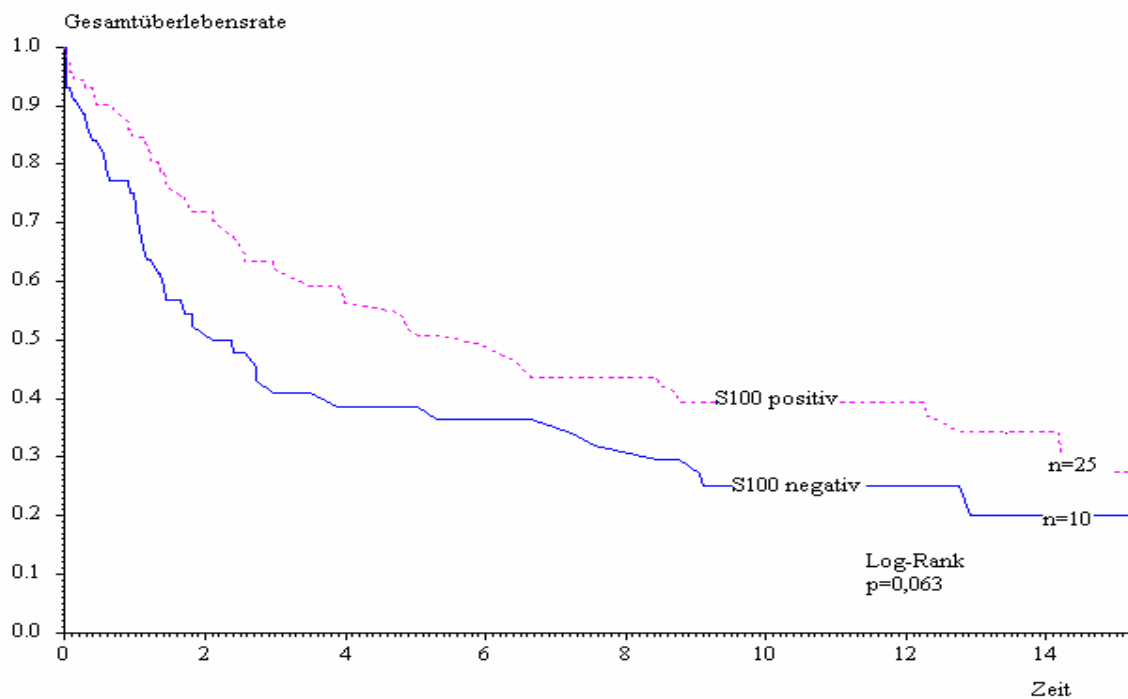


Abb. 9: Einfluss S100 positiver DC auf die Gesamtüberlebensrate bei am Endometriumkarzinom erkrankten Patientinnen

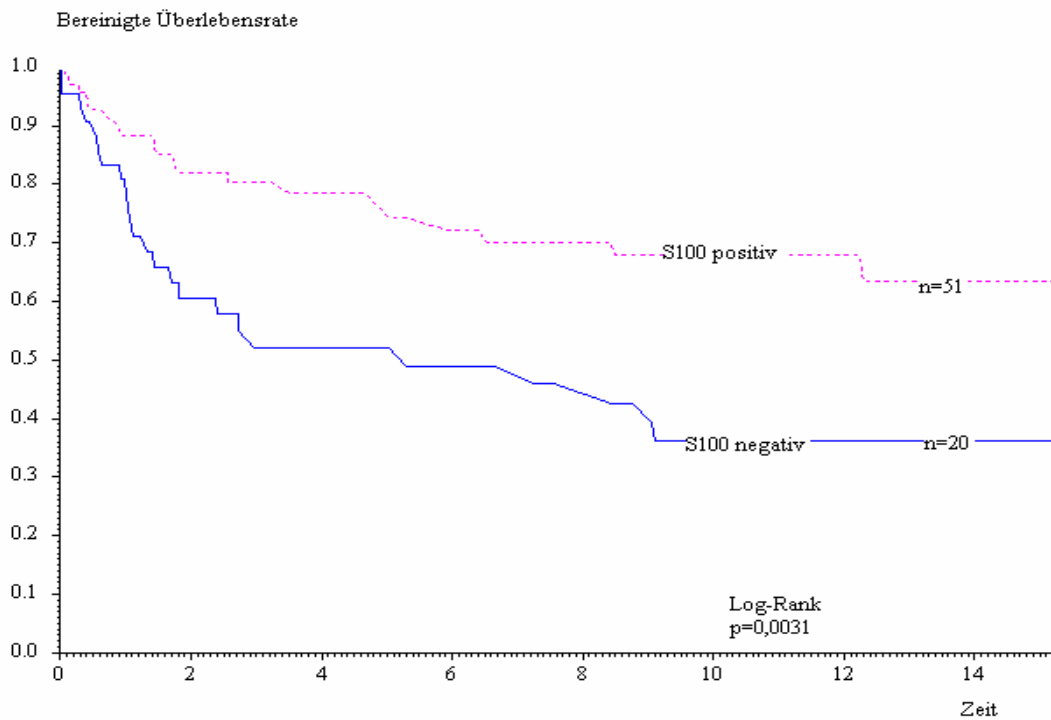


Abb. 10: Einfluss S100 positiver DC auf die bereinigte Überlebensrate bei am Endometriumkarzinom erkrankten Patientinnen

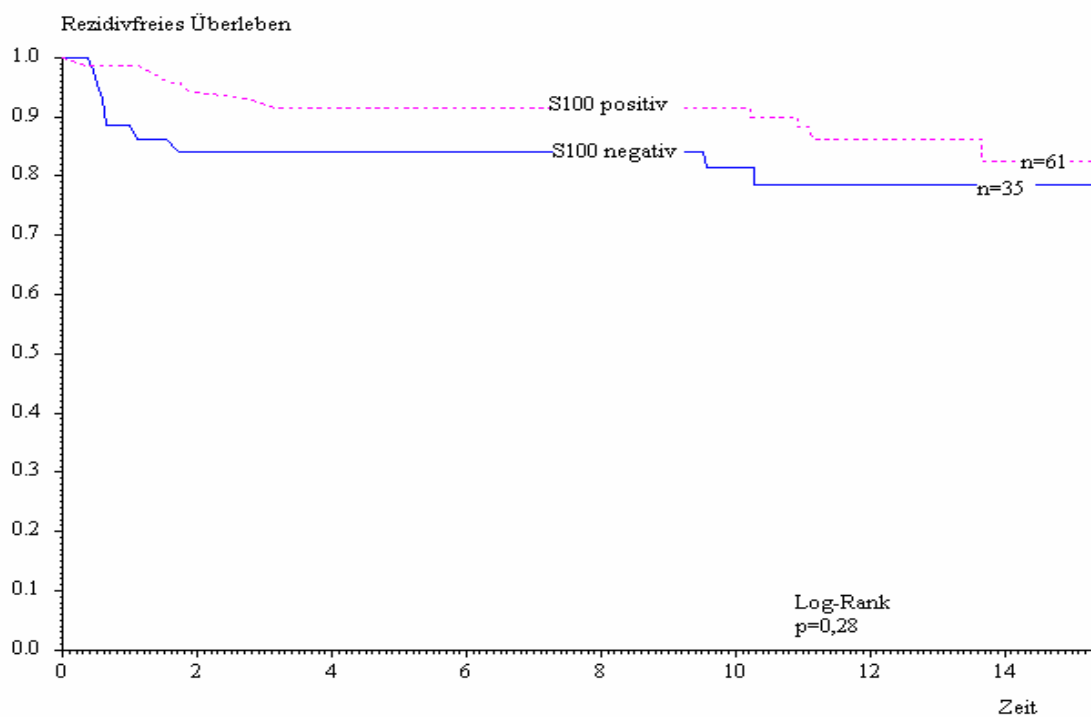


Abb. 11: Einfluss S100 positiver DC auf das rezidivfreie Überleben bei am Endometriumkarzinom erkrankten Patientinnen



### 3.5. Multivariate Analysen

#### 3.5.1. Rezidivfreies Intervall

In der multivariaten Überlebensstatistik, berechnet nach dem Proportional hazard-Modell nach Cox, wurden die Variablen Erkrankungsalter, histologischer Tumortyp, Lymphgefäßrauminfiltration, p53 Überexpression, Steroidhormonrezeptorstatus, Proliferationsrate Her-2/neu, FIGO Stadium, Myometriuminfiltration und die Infiltration durch S100 positive dendritische Zellen bezüglich ihres prognostischen Einflusses auf die Rezidivfreie Zeit untersucht.

Nach sukzessiver Entfernung der am wenigsten signifikanten Parameter blieb einzig das Kerngrading in seiner Bedeutung signifikant ( $p=0,037$ ) in Bezug auf das rezidivfreie Intervall.

Tabelle 11: Prognostische Variablen in Bezug auf das rezidivfreie Intervall)

**Tabelle 11: Prognostische Variablen in Bezug auf das rezidivfreie Intervall**

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>p</b>
Kerngrading	102	0.037*
Progesteronrezeptorstatus	95	0.059

Test ob Koeffizienten signifikant von Null abweichen  
 $\chi^2 = 6.72$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0.035^*$   
 n= Anzahl gültiger Werte

*Tabelle 11 Bedeutung der Variablen Kerngrading und Progesteronrezeptorstatus bezüglich der rezidivfreien Zeit bei am Endometriumkarzinom erkrankten Patientinnen in der Multivariaten Analyse nach Cox*

#### 3.5.2. Gesamtüberleben

Die Variablen wurden in gleicher Weise mit Hilfe des Proportional hazard-Modell nach Cox auf ihren prognostischen Einfluss bezüglich der Gesamtüberlebensrate untersucht. Hierbei erwiesen sich Erkrankungsalter und FIGO Stadium als Variablen mit signifikant prognostischem Einfluss auf die Gesamtüberlebensrate. (Tabelle 12: Prognostische Variablen in Bezug auf die Gesamtüberlebensrate)

**Tabelle 12: Prognostische Variablen in Bezug auf die Gesamtüberlebensrate**

Variable	n	p
Alter	81	0.00002***
FIGO	48	0.00011***

Test ob Koeffizienten signifikant von Null abweichen

chi = 33.76, df = 3, p= 0.000000\*\*\*

n= Anzahl gültiger Werte

*Tabelle12 Bedeutung der Variablen Alter und FIGO Stadium für das Gesamtüberleben, bei am Endometriumkarzinom erkrankten Patientinnen in der Multivariaten Analyse nach Cox, als verbleibende signifikante Variablen.*

### 3.5.3. Bereinigtes Überleben

Die „bereinigte“ Überlebensrate umfasste alle am Tumor verstorbenen Patientinnen. Patientinnen die aus anderer Ursache verstorben sind, werden in dieser Berechnung nicht berücksichtigt.

In Bezug auf das bereinigte Überleben erwiesen sich dendritische Zellen (p=0,013), Alter (p=0,00051), FIGO-Stadium (p=0,00062) und Kerngrading (p=0,021) als signifikante Prognosefaktoren. (Tabelle 13 Prognostische Variablen in Bezug auf die bereinigte Überlebensrate)

**Tabelle 13 Prognostische Variablen in Bezug auf die bereinigte Überlebensrate**

Variable	n	p
Alter	115	0.00051***
FIGO	48	0.00062***
Kerngrading	102	0.021*
S100(+)/DC/cm <sup>2</sup>	115	0.013*

Test ob Koeffizienten signifikant von Null abweichen

chi = 39.32, df = 4, p= 0.000000\*\*\*

n= Anzahl gültiger Werte

*Tabelle13 zeigt die Variablen Alter, FIGO-Stadium, Kerngrading und die Anzahl DC als signifikante prognostische Variablen für das Gesamtüberleben bei am Endometriumkarzinom erkrankten Patientinnen in der Multivariaten Analyse nach Cox.*

## 4. Diskussion

### 4.1. Zusammenhang von DC und Prognose

Immunologische Funktionen Dendritischer Zellen spielen eine wichtige Rolle in einer Vielzahl menschlicher Karzinome<sup>91</sup>. Elagöz et al. (2000)<sup>134</sup> beschrieben, dass die Infiltration von Tumoren mit dendritischen Zellen ein zuverlässiger Faktor sein könnte, der mit der Prognose von am Endometriumkarzinom erkrankten Patientinnen korreliert.

In der vorliegenden Arbeit zeigt sich ein Zusammenhang zwischen dem vermehrten Vorkommen dendritischer Zellen und verbesserter Prognose bei Patientinnen mit einem Endometriumkarzinom.

Patientinnen mit Tumoren, die S100 positive dendritische Zellen enthielten, hatten in der univariaten Analyse eine signifikant bessere bereinigte Überlebensrate als Patientinnen mit DC negativen Tumoren. Auch in der multivariaten Analyse blieb der prognostische Einfluss auf das bereinigte Überleben signifikant.

Eine Reihe verschiedener Studien beschreibt den Zusammenhang zwischen dendritischen Zellen und verbesserter Prognose für das Ösophaguskarzinom<sup>143</sup>, Larynxkarzinom<sup>135</sup>, Harnblasenkarzinom<sup>136</sup>, Zervixkarzinom<sup>137</sup>, Ovarialkarzinom<sup>138</sup> und auch für das Endometriumkarzinom<sup>91</sup>.

Ebenfalls konnten wir einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten dendritischer Zellen und verschiedenen Prognosefaktoren darstellen.

In der multivariaten Analyse konnte die Anzahl DC/cm<sup>2</sup> Tumorgewebe als unabhängiger Prognosefaktor in Bezug auf die bereinigte Überlebensrate gewertet werden.

### 4.2. Zusammenhang von DC und Tumor Progredienz

#### Grading

DC negative Tumoren sind gemäss den hier vorliegenden Auswertungen in nur 10,8% gut differenziert, der Rest zeigt einen mäßigen oder schlechten Differenzierungsgrad.

Von allen gut differenzierten Tumoren sind 82,6% DC positiv, bei den schlecht differenzierten sind es nur noch 51,4% die mehr als 10 DC/cm<sup>2</sup> aufweisen.

Ähnliche Ergebnisse wurden auch von anderen Autoren für das Endometriumkarzinom veröffentlicht. Elagöz et al.<sup>134</sup> fanden signifikant mehr S100 positive dendritische Zellen in gut differenzierten (Grade I) Tumoren des Endometriumkarzinoms als in schlechteren Differenzierungsgraden. Auch Coppola<sup>91</sup> beschreibt bei 57% der low grade (Grad I) Tumoren dendritische Zellen von mehr als 50/HPF, jedoch nur bei 23% der high grade (Grad II u. III) Tumoren. Bei Coppola wurden allerdings nur 50 Patientinnen, bei Elagöz wurden nur 20 Patientinnen untersucht.

Außerdem wurde die Anzahl der dendritischen Zellen teils unterschiedlich bestimmt. Während bei Coppola und Elagöz die Anzahl S100 positiver Zellen pro zehn HPF bestimmt wurde, bestimmten wir die Anzahl der S100 positiven dendritischen Zellen pro cm<sup>2</sup> Tumorgewebe. Zur statistischen Berechnung wurden ebenfalls unterschiedliche Einteilungen der dendritischen Zellen in den verschiedenen Arbeitsgruppen gewählt, Coppola unterscheidet 3 verschiedene Gruppen, 1. mehr als 10 S100ppL/10HPF, 2. mehr als 10-50 S100ppL/HPF, 3. mehr als 50 S100ppL/10HPF. Elagöz rechnet mit den reinen Zahlenwerten. Wir wählten die Einteilung in Anlehnung an Coppola<sup>91</sup> und Inoue<sup>136</sup> mit 1. weniger als 10 DC/cm<sup>2</sup> Tumorgewebe (=DC neg.) und 2. mehr als 10 DC/cm<sup>2</sup> Tumorgewebe (=DC pos.). Wir konnten die Ergebnisse von Coppola et al.<sup>91</sup> und Elagöz<sup>134</sup> in einer größeren Studienpopulation bestätigen und zeigen, dass der Infiltrationsgrad dendritischer Zellen im Endometriumkarzinom mit einer besseren Tumor-Differenzierung assoziiert war. Beim Magenkarzinom und beim Zervixkarzinom des Uterus wurde keine Korrelation zwischen Infiltrationsgrad dendritischer Zellen und Tumordifferenzierung beschrieben<sup>137,139</sup>.

#### Proliferationsrate Ki-S1, MIB-1

In den hier vorliegenden Daten für DC positive Tumoren ergab sich in 8,8% (n=5) der Fälle eine hohe Proliferationsrate. Karzinome mit niedriger Proliferationsrate waren in 70% (n=28) DC positiv.

Angaben anderer Autoren hierzu waren für das Endometriumkarzinom nicht zu finden. Ähnlich zu unseren Ergebnissen beschrieb Maehara et al. (1997) eine negative Korrelation zwischen Tumordinfiltration durch S100 positive dendritische Zellen und Proliferationsrate, bestimmt durch den PCNA-labeling Index im Magen-Karzinom<sup>140</sup>.

Beim Mammakarzinom wurde kein signifikanter Zusammenhang der mit KI-67 (MIB-1) ermittelten Proliferationsfraktion und der Anzahl Dendritischer Zellen (CD1a) festgestellt<sup>141</sup>.

Beim Ösophaguskarzinom wurde die Proliferationsrate mittels PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) Methode ermittelt, auch hier konnte kein signifikanter Zusammenhang mit der Anzahl Dendritischer Zellen gefunden werden<sup>142</sup>.

Die Überexpression von p53 wurde in früheren Arbeiten als wichtiger Prognosefaktor ermittelt, der mit fortgeschrittenem Stadium, schlechter Überlebensrate<sup>37</sup> und aggressivem histologischem Typ<sup>38</sup> assoziiert ist. In unserer Studie korreliert Expression von p53 signifikant mit der Infiltration dendritischer Zellen, d.h. in Karzinomen ohne p53 Überexpression werden vermehrt DCs gefunden, Karzinome mit p53 Expression sind meist DC negativ.

Beobachtungen in diesem Sinne wurden bereits beim Ösophagus Karzinom beschrieben. Eine Regulation der Funktion oder der Aktivität dendritischer Zellen durch das p53 Protein aus den Karzinomzellen wird diskutiert<sup>142</sup>.

Bei allen oben genannten Prognosefaktoren, die fortschreitende oder aggressive Tumore ausweisen, zeigt sich, dass sie negativ mit der Infiltration durch dendritische Zellen korreliert sind, d.h. dendritische Zellen finden sich vermehrt bei weniger aktiven Tumoren. Bei hochaktiven, fortgeschrittenen Karzinomen scheinen sie zumindest in ihrer Anzahl reduziert zu sein.

Ähnliche Beobachtungen wurden für das Endometriumkarzinom von Coppola<sup>91</sup> geschildert, auch für extrauterine Karzinome wurden vergleichbare Erkenntnisse veröffentlicht. (Matsuda 1989 Ösophaguskarzinom<sup>143</sup>, Inoue 1993 Harnblasenkarzinom<sup>136</sup>, Eisenthal 2001 Ovarialkarzinom<sup>138</sup>), wobei zu berücksichtigen ist, dass für DC verschiedene Marker verwendet werden können und auch dadurch Unterschiede in den Ergebnissen entstehen. z.B. sind CD1a-Populationen nicht mit S100 Populationen identisch<sup>138</sup>. Daher sind Daten anderer Untersucher bezüglich Endometriumkarzinom nur bedingt vergleichbar. Zum Mamma-Karzinom existieren widersprüchliche Angaben. Keine Korrelation zwischen DC und Kerngrading, Tumorgröße, KI-67 (MIB-1), Lymphknotenstatus und Prognose beschreibt Coventry

2003<sup>141</sup>, in einer Studie aus dem Jahr 1999 beschreibt Lespagnard<sup>94</sup> vermehrt dendritische Zellen in entdifferenzierten Tumoren (Grad III) ohne Signifikanz bezüglich der Prognose.

Ein Erklärungsversuch dieser Beobachtungen könnte einerseits durch die Annahme gemacht werden, dass DC in aggressiveren Tumoren ihrer immunologischen Aufgabe als Antigen-Präsentierende Zellen (APC) nachgekommen sind, und das Tumorgewebe bereits verlassen haben, um die Tumorantigene in den sekundär Lymphatischen Organen den T-Zellen zu präsentieren.

Naheliegender, und auch durch viele richtungsweisende Forschungsergebnisse in dieser Thematik unterstützt, ist die Annahme einer Immunsuppression im Tumorgewebe besonders aktiver Tumoren.

Dass Immunsuppression einen Einfluss auf dendritische Zellen als Teil des Immunsystems hat, wurde anhand des Zervixkarzinoms diskutiert. Als Hinweis hierauf könnte die Beobachtung gewertet werden, dass sich dendritische Zellen weniger häufig im Gebärmutterhals von Patientinnen mit einer intraepithelialen cervikalen Neoplasie (CIN)<sup>144</sup>, bei einer Reihe viraler Infektionen<sup>145</sup> und bei Raucherinnen<sup>146</sup> nachweisen lassen.

Dies führte zu der Annahme, dass eine Schwächung der lokalen Immunität hinter der Assoziation dieser Faktoren mit einer malignen Entartung stehen könnte<sup>147</sup>.

Für die verminderte Anzahl dendritischer Zellen im Gewebe wachsender Karzinome scheinen Zytokine, die von den Tumoren ausgeschüttet werden, von entscheidender Bedeutung zu sein.

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) ist eines dieser Zytokine. VEGF wird von den meisten Tumoren produziert und ist eng assoziiert mit schlechter Prognose<sup>148</sup>. Eine inverse Korrelation zwischen der Dichte dendritischer Zellen und der Expression von VEGF wurde innerhalb von Tumorgewebe<sup>149</sup> und peripherem Blut<sup>150</sup> an Karzinompatienten gefunden. Vermutlich inhibiert VEGF die Entwicklung und Differenzierung dendritischer Zellen aus unreifen Vorläuferzellen, welche dadurch im Gegenzug vermehrt gefunden werden können<sup>151</sup>.

Auch andere Faktoren, wie M-CSF, IL-6, IL-10, die von Tumoren ausgeschüttet werden, sind durch vielfältige Mechanismen an einer fehlerhaften Differenzierung

dendritischer Zellen beteiligt<sup>152,153</sup>. Als Folge der verminderten Anzahl dendritischer Zellen kommt es auch zur verminderten T-Zell Aktivierung, und damit zu einer regelrechten Umgehung des Tumor-protectiven Immunsystems, was letztendlich zur Tumortoleranz und Prognoseverschlechterung führt. Diese Mechanismen sind eingebettet in sehr komplexe und in weiten Teilen noch ungeklärte immunologische Vorgänge. Von besonderem Interesse scheint hierbei ein weiteres Phänomen zu sein, das in unmittelbarem Zusammenhang mit einem Differenzierungsblock DC steht. Unreife DC sind besonders anfällig für Lyse-Angriffe durch Natürliche Killerzellen (NK)<sup>154</sup>, was das von uns beobachtete Phänomen der numerischen Suppression DC in proliferierenden Tumoren u.a. verursachen, oder zumindest verstärken könnte.

## 5. Zusammenfassung

Das Endometriumkarzinom ist die häufigste Neoplasie des weiblichen Genitales. Trotz guter Therapieerfolge und deutlich verbesserter Früherkennungsrate liegt die relative 5-JÜR im Stadium 4 bei unter 16%. Zur Wahl einer möglichst individuell angepassten Therapie ist es wichtig die Prognose möglichst gut einschätzen zu können, hierzu dienen die Prognosefaktoren. Neben aggressiven Eigenschaften eines Tumors wird der klinische Verlauf maßgeblich von der Immunabwehr der Patientin bestimmt.

Einige Studien weisen darauf hin, dass dendritische Zellen (DC) an der Tumorummunität teilhaben, und somit den Verlauf maligner Tumorerkrankungen beeinflussen. Wir untersuchten, ob die Tumor-Infiltration durch S100 positive dendritische Zellen ein prognostischer Marker für das Endometriumkarzinom sein könnte.

In dieser retrospektiven Studie wurden 115 Gewebeproben von Endometriumkarzinomen mit bekanntem histologischem Grading, Hormonrezeptorstatus, Ki-67, Her-2/neu und p53 Expression analysiert. Die paraffinierten Gewebeschnitte wurden immunhistochemisch mit dem Antikörper S100 gefärbt. Anschließend wurde die Anzahl tumorinfiltrierender S100 positiver dendritischer Zellen mikroskopisch bestimmt und die Anzahl S100 positiver DC/cm<sup>2</sup> Tumorgewebe berechnet. Die Ergebnisse wurden anschließend in zwei Gruppen unterteilt, wobei die erste Gruppe weniger als 10 S100 positive DC/cm<sup>2</sup> (n=44) und die

zweite Gruppe mehr als 10 S100 positive DC/cm<sup>2</sup> (n=71) enthielt. Die Korrelation der histopathologischen und klinischen Parameter mit der Anzahl S100 positiver DC wurde mit dem Chi-Quadrat-Test berechnet. Verglichen mit Gruppe eins zeigte Gruppe zwei einen höheren Differenzierungsgrad (p=0,045), eine geringere Expression von p53 (p=0,021) und eine geringere Proliferationsrate (p=0,028). Die Infiltration durch dendritische Zellen war nicht korreliert mit Her-2/neu, Hormonrezeptorstatus und FIGO-Stage. Obwohl keine signifikante Korrelation bestand, schien die DC-arme Gruppe mit einem höheren FIGO-Stadium assoziiert zu sein als die DC-reiche Gruppe. In der uni- und multivariaten Analyse konnte die Infiltration durch dendritische Zellen als signifikanter prognostischer Marker bezüglich bereinigter Überlebensrate, jedoch nicht bezüglich Gesamtüberlebensrate bestätigt werden.

#### Schlussfolgerung

Unsere Ergebnisse zeigen, dass der immunhistochemische Nachweis S100 positiver dendritischer Zellen im Endometriumkarzinom zur Identifizierung einer High-Risk Gruppe beitragen könnte und deshalb einen guten Prognosefaktor für diese Erkrankung darstellt. Unsere Beobachtung, dass eine verstärkte Infiltration des Karzinomgewebes durch dendritische Zellen mit einer verbesserten Prognose assoziiert ist, deutet auf die wichtige Rolle der Immunantwort auf den klinischen Verlauf von Patientinnen, die an einem Endometriumkarzinom erkrankt sind hin.



## 6. Literaturverzeichnis

---

- 1 Robert Koch Institut: [www.rki.de](http://www.rki.de)
- 2 Gitsch, G., Hanzal, E., Jensen, D., Hacker, N.F. (1995) Endometrial cancer in premenopausal women, 45 years and younger. *Obstet and Gynecol*, 85: 504-508
- 3 Pettersson, F. (1995) Annual report on the results of treatment in gynecological cancer. Vol.22: statements of results obtained in patients treated in 1987 to 1989 inclusive actuarial survival up to 1993. Editorial Office Radium Hemmet, Stockholm
- 4 Pfeleiderer, A., Breckwoldt, M., Martius, G. (2001) *Gynäkologie und Geburtshilfe*. Thieme Verlag Stuttgart (4. Auflage)
- 5 Baltzer, J., Meerpohl, H.G., Bahnsen, J. (1999) *Praxis der gynäkologischen Onkologie, Praxis der Frauenheilkunde III*. Thieme Verlag Stuttgart
- 6 Diedrich, T.M., Holzgreve, W., Jonat, W., Schneider, K., Weiss, J.M., Bonatz, G. (2000) *Gynäkologie und Geburtshilfe*. Springer Verlag S.595-599.
- 7 Konishi, I., Koshiyama, M., Mandai, M., et al. (1997) Increased expression of LH/hCG receptors in endometrial hyperplasia and carcinoma in anovulatory women. *Gynecol Oncol*, 65: 273–280
- 8 Woodruff, J.D., Pickar, J.H. (1994) For the Menopause Study Group: Incidence of endometrial hyperplasia in postmenopausal women taking conjugated oestrogens (Premarin with Medroxyprogesteronacetat or conjugated oestrogens alone). *Amer J Obstet Gynecol*, 170: 1213-1223
- 9 Gambacciani, M., Monteleone, P., Sacco, A., Genazzani, A. R. (2003) Hormone replacement therapy and endometrial, ovarian and colorectal cancer. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, Mar; 17(1): 139-147
- 10 Beral, V., et al. (2003) Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *The Lancet*, 362; Aug. 9: 419-427
- 11 Schmidt, D., Horn, L.C. (2002) Präkanzeröse Läsionen des Endometriums und Veränderungen nach Tamoxifentherapie. *Zentralbl Gynäkol*, 124: 3-10
- 12 Scully, R.E., Bonfiglio, T.A., Kurman, R.J., Silverberg, S.G., Wilkinson, E.J. (1994) *Histological typing of female genital tract tumours*. 2nd ed. WHO International Histological Classification of Tumours, Springer, Berlin

---

Heidelberg New York

- 13 Creasman, W.T. (1989) Announcement FIGO-Stages 1988: Revisions. *Gynecol and Oncol*, 35: 125-127
- 14 Wittekind, C., Wagner, G. (1997) *TNM-Klassifikation maligner Tumoren*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York (5.Auflage)
- 15 Lax, S.F, Kendall, B., Tashiro, H., Slebos, R.J., Hedrick, L. (2000) The frequency of p53, K-ras mutations, and microsatellite instability differs in uterine endometrioid and serous carcinoma: evidence of distinct molecular genetic pathways. *Cancer*, 88(4); Feb 15: 814-824
- 16 Hata, H., Hamano, M., Watanabe, J., Kuramoto, H. (1998) Role of estrogen and estrogen-related growth factor in the mechanism of hormone dependency of endometrial carcinoma cells. *Oncology*, 55 Suppl 1; Dec: 35-44
- 17 Gold, L.I., Parekh, T.V. (1999) Loss of growth regulation by transforming growth factor-beta (TGF-beta) in human cancers: studies on endometrial carcinoma. *Semin Reprod Endocrinol*, 17(1): 73-92
- 18 Gold, L.I., Saxena, B., Mittal, K.R., Marmor, M., Goswami, S., Nactigal, L., Korc, M., Demopoulos, R.I. (1994) Increased expression of transforming growth factor beta isoforms and basic fibroblast growth factor in complex hyperplasia and adenocarcinoma of the endometrium: evidence for paracrine and autocrine action. *Cancer Res*, 54(9); May 1: 2347-58
- 19 Druckmann R, Rohr, U.D. (2002) IGF-1 in gynaecology and obstetrics: update 2002. *Maturitas*, 41(1); Apr 15: 65-83
- 20 Mueller, M.D., Vigne, J.L., Pritts, E.A., Chao, V., Dreher, E., Taylor, R.N. (2003) Progestins activate vascular endothelial growth factor gene transcription in endometrial adenocarcinoma cells. *Fertil Steril*, 79(2); Feb: 386-392
- 21 Estreller, M., Levine, R., Baylin, S.B., Ellenson, L.H., Herman, J.G. (1998) MLH1 Promoter hypermethylation is associated with the microsatellite instability phenotype in sporadic endometrial carcinomas. *Oncogene*, 17: 2413-2417
- 22 Cho, K.R., Vogelstein, B. (1992) Genetic alterations in the adenoma-carcinoma sequence. *Cancer*, 70(6); Sep 15: 1727-1731

- 
- 23 Lax, S.F. (2002) Dualistic model of molecular pathogenesis in endometrial carcinoma. *Zentralbl Gynakol*, 124(1); Jan: 10-16. Review
- 24 Mutter, G.L., Lin, M.C., Fitzgerald, J.T., Kum, J.B., Baak, J.P., Lees, J.A., Weng, L.P., Eng, C. (2000) Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst*, 92(11); Jun 7: 924-30
- 25 Riede, U.N., Schaefer, H.E. *Allgemeine und spezielle Pathologie*. Georg Thieme Verlag Stuttgart/New York S. 309-310 (4.Auflage)
- 26 Salvesen, H.B., Akslen, L.A. (2002) Molecular pathogenesis and prognostic factors in endometrial carcinoma. *APMIS*, 110(10); Oct: 673-89. Review
- 27 Sun, H., Enomoto, T., Shroyer, K.R., Ozaki, K., Fujita, M., Ueda, Y., Nakashima, R., Kuragaki, C., Ueda, G., Murata, Y. (2002) Clonal analysis and mutations in the PTEN and the K-ras genes in endometrial hyperplasia. *Diagn Mol Pathol*, 11(4); Dec: 204-211
- 28 Niederacher, D., An, H.X., Cho, Y.J., Hantschmann, P., Bender, H.G., Beckmann, M.W. (1999) Mutations and amplification of oncogenes in endometrial cancer. *Oncology*, 56(1): 59-65
- 29 Rolitsky, C.D., Theil, K.S., McGaughy, V.R., Copeland, L.J., Niemann, T.H. (1999) Her-2/neu amplification and overexpression in endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Pathol*, 18: 138-143
- 30 Knudson, A.G. (1996) Hereditary cancer: two hits revisited. *J Cancer Res Clin Oncol*, 122: 135-140
- 31 Kihana, T., Hamada, K., Inoue, Y., Yano, N., Iketani, H., Murao, S., et al. (1995) Mutation and allelic loss of the p53 gene in endometrial carcinoma. *Cancer*, 76: 72-78
- 32 Soong, R., Robbins, P.D., Dix, B.R., Grieu, F., Lim, B., Knowles, S., et al. (1996) Concordance between protein overexpression and gene mutation in a large series of common human carcinomas. *Hum Pathol*, 27: 1050-1055
- 33 Kohler, M.F., Berchuck, A., Davidoff, A.M., Humphrey, P.A., Dodge, R.K., Iglehart, J.D., et al. (1992) Overexpression and mutation of p53 in endometrial carcinoma. *Cancer Res*, 52: 1622-1627
- 34 Tashiro, H., Isacson, C., Levine, R., Kurman, R.J., Cho, K.R., Hedrick, L. (1997) p53 gene mutations are common in uterine serous carcinoma and occur early in

- 
- their pathogenesis. *Am J Pathol*, 150: 177-185
- 35 Battifora, H. (1994) P53 immunohistochemistry: a word of caution. *Hum Pathol*, 25: 435-437
- 36 Kastan, M.B., Onyekwere, O., Sidransky, D., Vogelstein, B., Craig, R.W. (1991) Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Res*, 51(23 Pt 1); Dec 1: 6304-6311
- 37 Gassel, A.M., Backe, J., Krebs, S., Schön, S., Caffier, H., Müller-Hermelink, H.K. (1998) Endometrial carcinoma: immunohistochemically detected proliferation index is a prognosticator of long term outcome. *J Clin Pathol*, 51: 25-29
- 38 Lax, S.F., Pizer, E.S., Ronnett, B.M., Kurman, R.J. (1998) Clear cell carcinoma of the endometrium is characterized by a distinctive profile of p53, Ki-67, estrogen, and progesterone receptor expression. *Hum Pathol*, 29(6); Jun: 551-8
- 39 Berchuck, A. (1995) Biomarkers in the endometrium. *J Cell Biochem Suppl*, 23: 174-178
- 40 Ohkouchi, T., Sakuragi, N., Watari, H., Nomura, E., Todo, Y., Yamada, H., Fujimoto, S. (2002) Prognostic significance of Bcl-2, p53 overexpression, and lymph node metastasis in surgically staged endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol*, 187(2); Aug: 353-159
- 41 Ozalp, S., Yalcin, O.T., Mete Tanir, H., Kabukcuoglu, S., Erol, G. (2003) P53 overexpression as a prognostic indicator in endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol*, 24(3-4): 275-278
- 42 Fernando, S.S., Wu, X., Perera, L.S. (2000) P53 Overexpression and Steroid Hormone Receptor Status in Endometrial Carcinoma. *Int J Surg Pathol*, 8(3); Jul: 213-222
- 43 Salvesen, H.B., Stefansson, I., Kalvenes, M.B., Das, S., Akslén, L.A. (2002) Loss of PTEN expression is associated with metastatic disease in patients with endometrial carcinoma. *Cancer*, 94(8): 2185-2191
- 44 Tashiro, H., Blazes, M.S., Wu, R., Cho, K.R., Bose, S., Wang, S.I., Li, J., Parsons, R., Ellenson, L.H. (1997) Mutations in PTEN are frequent in endometrial carcinoma but rare in other common gynecological malignancies. *Cancer Res*, 57: 3935-3940

- 
- 45 Masahito, Tamura, Jianguo, Gu, Kazue Matsumoto, Shin-ichi Aota, Ramon Parsons, Kenneth M. Yamada. (1998) Inhibition of Cell Migration, Spreading, and Focal Adhesions by Tumor Suppressor PTEN. *Science*, 280(5369); Jun 5:1614-1617
- 46 Matsushima-Nishiu, M., Unoki, M., Ono, K., Tsunoda, T., Minaguchi, T., Kuramoto, H., Nishida, M., Satoh, T., Tanaka, T., Nakamura, Y. (2001) Growth and gene expression profile analyses of endometrial cancer cells expressing exogenous PTEN. *Cancer Res*, 61(9); May 1: 3741-3749
- 47 Peiffer, S.L., Herzog, T.J., Tribune, D.J., Mutch, D.G., Gersell, D.J., Goodfellow, P.J. (1995) Allelic loss of sequences from the long arm of chromosome 10 and replication errors in endometrial cancers. *Cancer Res*, 55(9); May 1: 1922-1926
- 48 Mutter, G.L., Lin, M.C., Fitzgerald, J.T., Kum, J.B. et al. (2000) Altered-PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst*, 92: 924-930
- 49 Marsh, D.J., Coulon, V., Lunetta, K.L., Rocca-Serra, P., Dahia, P.L., Zheng, Z., Liaw, D., Caron, S., Duboue, B., Lin, A.Y., Richardson, A.L., Bonnetblanc, J.M., Bressieux JM, Cabarrot-Moreau A, Chompret A, Demange L, Eeles RA, Yahanda AM, Fearon, E.R., Fricker, J.P., Gorlin, R.J., Hodgson, S.V., Huson, S., Lacombe, D., Eng, C., et al. (1998) Mutation spectrum and genotype-phenotype analyses in Cowden disease and Bannayan-Zonana syndrome, two hamartoma syndromes with germline PTEN mutation. *Hum Mol Genet*, 7(3); Mar: 507-15
- 50 Eng, C. (2000) Will the cowden syndrom please stand up: revised diagnostic criteria. *J Med Genet*, 37: 828-830
- 51 Elledge, S.J., Harper, J.W. (1994) Cdk inhibitors: on the threshold of checkpoints and development. *Curr Opin Cell Biol*, 6(6); Dec: 847-52
- 52 Harper, J.W., Adami, G.R., Wei, N., Keyomarsi, K., Elledge, S.J. (1993) The p21 Cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. *Cell*, 75(4); Nov 19: 805-816
- 53 el-Deiry, W.S., Tokino, T., Velculescu, V.E., Levy, D.B., Parsons, R., Trent, J.M., Lin, D., Mercer, W.E., Kinzler, K.W., Vogelstein, B. (1993) WAF1, a

- 
- potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell*, 75(4); Nov 19: 817-25
- 54 Xiong, Y., Hannon, G.J., Zhang, H., Casso, D., Kobayashi, R., Beach, D. (1993) P21 is a universal inhibitor of cyclin kinases. *Nature*, 366(6456); Dec 16: 701-704
- 55 Noda, A., Ning, Y., Venable, S.F., Pereira-Smith, O.M., Smith, J.R. (1994) Cloning of senescent cell-derived inhibitors of DNA synthesis using an expression screen. *Exp Cell Res*, 211(1); Mar: 90-98
- 56 Backe, J., Gassel, A.M., Hauber, K., Krebs, S., Bartek, J., Caffier, H., Kreipe, H.H., Muller-Hermelink, H.K., Dietl, J. (1997) P53 protein in endometrial cancer is related to proliferative activity and prognosis but not to expression of p21 protein. *Int J Gynecol Pathol*, 16(4); Oct: 361-368
- 57 Harlozinska, A., Bar, J.K., Montenarh, M., Kartarius, S. (2002) Relations between immunologically different p53 forms, p21(WAF1) and PCNA expression in ovarian carcinomas. *Oncol Rep*, 9(6); Nov-Dec: 1173-1179
- 58 Hatta, Y., Hirama, T., Takeuchi, S., Lee, E., Pham, E., Miller, C.W., Strohmeyer, T., Wilczynski, S.P., Melmed, S., Koeffler, H.P. (1995) Alterations of the p16 (MTS1) gene in testicular, ovarian, and endometrial malignancies. *J Urol*, 154(5); Nov: 1954-1957
- 59 Salvesen, H.B., Das, S., Akslen, L.A. (2000) Loss of nuclear p16 protein expression is not associated with promoter methylation but defines a subgroup of aggressive endometrial carcinomas with poor prognosis *Clin Cancer Res*, 6(1); Jan: 153-159
- 60 Milde-Langosch, K., Ocon, E., Becker, G., Loning, T. (1998) P16/MTS1 inactivation in ovarian carcinomas: high frequency of reduced protein expression associated with hyper-methylation or mutation in endometrioid and mucinous tumors. *Int J Cancer*, 79(1); Feb 20: 61-65
- 61 Martini, M., Ciccarone, M., Garganese, G., Maggiore, C., Evangelista, A., Rahimi, S., Zannoni, G., Vittori, G., Larocca, L.M. (2002) Possible involvement of hMLH1, p16(INK4a) and PTEN in the malignant transformation of endometriosis. *Int J Cancer*, 102(4); Dec 1: 398-406
- 62 Palacios, J., Catusus, L., Moreno-Bueno, G., Matias-Guiu, X., Prat, J., Gamallo, C. (2001) Beta- and gamma-catenin expression in endometrial carcinoma.

- 
- Relationship with clinicopathological features and microsatellite instability. *Virchows Arch*, 438(5); May: 464-469
- 63 Moreno-Bueno, G., Hardisson, D., Sarrío, D., Sánchez, C., Cassia, R., Prat, J., Herman, J.G., Esteller, M., Matias-Guiu, X., Palacios, J. (2003) Abnormalities of E- and P-cadherin and catenin (beta-, gamma-catenin, and p120ctn) expression in endometrial cancer and endometrial atypical hyperplasia. *J Pathol*, 199(4); Apr: 471-478
- 64 *Schweizerische Ärztezeitung / Bulletin des médecins suisses / Bollettino dei medici svizzeri* (2000), 81: Nr 36
- 65 <http://nt1.chir.med.tu-muenchen.de/HNPCC/hnpcc.htm>
- 66 Vasen, H.F., Watson, P., Mecklin, J.P., Jass, J.R., Green, J.S., Npmizu, T., Muller, H., Lynch, H.T. (1994) The epidemiology of endometrial cancer. *Anticancer Res*, 14: 1675-1678
- 67 Goodfellow, P.J., Buttin, B.M., Herzog, T.J., Rader, J.S., Gibb, R.K., Swisher, E., Look, K., Walls, K.C., Fan, M.Y., Mutch, D.G. (2003) Prevalence of defective DNA mismatch repair and MSH6 mutation in an unselected series of endometrial cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(10); May 13: 5908-5913
- 68 Gurin, C.C., Federici, M.G., Kang, L., Boyd, J. (1999) Causes and consequences of microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Cancer Res*, 59: 462-466
- 69 Myeroff, L.L., Parsons, R., Kim, S-J., Hedrick, L., Cho, K. R., Orth, K., Mathis, M., Kinzler, K.W., Lutterbaugh, J., Park, K., Bang, Y-J., Lee, H. Y., Park, J-G., Lynch, H. T., Roberts, A. B., Vogelstein, B., and Markowitz, S.D. (1995) A transforming growth factor b receptor type II gene mutation common in colon and gastric but rare in endometrial cancers with microsatellite instability. *Cancer Res*, 55: 5545–5547
- 70 Lim, P.C., Tester, D., Cliby, W., Ziesmer, S.C., Roche, P.C., Hartmann, L., Thibodeau, S.N., Podratz, K.C., Jenkins, R.B. (1996) Absence of mutations in DNA mismatch repair genes in sporadic endometrial tumors with microsatellite instability. *Clin Cancer Res*, 2(11); Nov: 1907-11
- 71 Kowalski, L.D., Mutch, D.G., Herzog, T.J., Rader, J.S., and Goodfellow, P.J. (1997) Mutational analysis of MLH1 and MSH2 in 25 prospectively acquired RER1 endometrial cancers. *Genes Chromosomes Cancer*, 18: 219–227

- 
- 72 Simpkins, S.B., Bocker, T., Swisher, E.M., Mutch, D.G., Gersell, D.J., Kovatich, A.J., Palazzo, J.P., Fishel, R., Goodfellow, P.J. (1999) MLH1 Promoter methylation and gene silencing is the primary cause of microsatellite instability in sporadic endometrial cancers. *Hum Mol Genet*, 8: 661-666
- 73 Backe, J., Gassel, A.M., Müller, T., Schön, S., Kaesemann, H. (1997) Die Proliferationsrate als Prognosekriterium beim Endometriumkarzinom-eine immunhistochemische Analyse mit dem monoklonalen Antikörper KI-S1. *Zentralbl Gynäkol*, 119:334-342
- 74 Crissman, J.D., Azoury, R.S., Banner, A.R.E., Schellas, H.F. (1981) Endometrial carcinoma in women 40years of age and younger. *Obstet. Gynecol*, 57: 699-704
- 75 Abeler, V.M., Kjørstad, K.E. (1991) Endometrial adenocarcinoma in Norway. A study of a total population. *Cancer*, 67: 3093-103
- 76 Abeler, V.M., Kjørstad, K.E., Berle, E. (1992) Carcinoma of the endometrium in Norway: a histopathological and prognostic survey of a total population. *Int J Gynecol Cancer*, 2: 9-22
- 77 Mittal ,K.R., Schwartz, P.E., Barwick, K.W. (1988) Architectural (FIGO) grading, nuclear grading and other prognostic indicators in stage I endometrial adenocarcinoma with identification of high risk and low risk groups. *Cancer*, 61: 538-45
- 78 Lax, S.F., Kurmann, R.J., Pizer, E.S., Wu, L., Ronnet,t B.M. (2000) A binary architectural grading system for uterine endometrial endometrioid carcinoma has superior reproducibility compared with FIGO grading and identifies subsets of advance-stage tumors with favorable and unfavorable prognosis. *Am J Surg Pathol*, 24: 1201-1208
- 79 Boronow R.C., Morrow, C.P., Creasman, W.T., Disaia, P.J., Silverberg, S.G., Miller, A., et al. (1984) Surgical staging in endometrial cancer: clinical-pathologic findings of a prospective study. *Obstet Gynecol*, 63: 825-32
- 80 Hanson, M.B., Van Nagell, Jr., Powell, D.E., Donaldson, E.S., Gallion, H., Merhige, M., et al. (1985) The prognostic significance of lymph-vascular space invasion in stage I endometrial cancer. *Cancer*, 55: 1753-7
- 81 Kaleli, S., Kosebay, D., Bese, T., Demirkiran, F., Oz, U.A., Arvas, M., Aydinli, K., Erkun, E. (1997) A strong prognostic variable in endometrial carcinoma:



- 
- flow cytometric S-phase fraction. *Cancer*, 79(5); Mar 1: 944-51
- 82 Wilkinson, N., Buckley, C.H., Chawner, L., Fox, H. (1990) Nucleolar organiser regions in normal, hyperplastic, and neoplastic endometria. *Int J Gynecol Pathol*, 9(1):55-9
- 83 Kokeguchi, S., Hayase, R., Sekiba, K. (1992) Proliferative activity in normal endometrium and endometrial carcinoma measured by immunohistochemistry using Ki-67 and anti-DNA polymerase alpha antibody, and by flow cytometry. *Acta Med Okayama*, 46(2); Apr: 113-21
- 84 Salvesen, H.B., Iversen, O.E., Akslen, L.A. (1998) Identification of high-risk patients by assessment of nuclear Ki-67 expression in a prospective study of endometrial carcinomas. *Clin Cancer Res*, 4(11); Nov: 2779-85
- 85 Larson, D.M., Berg, R., Shaw, G., Krawisz, B.R. (1999) Prognostic significance of DNA ploidy in endometrial cancer *Gynecol Oncol*, 74(3); Sep: 356-60
- 86 Mizuuchi, H., Nasim, S., Kudo, R., Silverberg, S.G., Greenhouse, S., Garrett, C.T. (1992) Clinical implications of K-ras mutations in malignant epithelial tumors of the endometrium. *Cancer Res*, 52(10); May: 2777-2781
- 87 Saffari, B., Jones, L.A., el-Naggar, A., Felix, J.C., George, J., Press, M.F. (1995) Amplification and overexpression of HER-2/neu (c-erbB2) in endometrial cancers: correlation with overall survival. *Cancer Res*, 55(23); Dec 1: 5693-8
- 88 Kim, J.W., Kim, S.H., Kim, Y.T., Kim, D.K. (2002) Clinicopathologic and biological parameters predicting the prognosis in endometrial cancer. *Yonsei Med J*, 43(6); Dec: 769-78
- 89 Backe, J., Gassel, A.M., Krebs, S., Caffier, H. (1997) Die Prognostische Bedeutung der immunhistochemisch ermittelten Kathepsin D-Synthese beim Endometriumkarzinom. *Geburtsh u Frauenheilk*, 57: 429-434
- 90 Heizmann, C.W., Fritz, G., Schafer, B.W. (2002) S100 proteins: structure, functions and pathology. *Front Biosci*, 7: 1356-1368
- 91 Coppola, D., Fu, L., Nicosia, S.V., Kounelis, S., Jones, M. (1998) Prognostic Significance of p53, bcl-2, vimentin and S100 protein positive Langerhans Cells in endometrial Carcinoma. *Hum Pathology*, 29: 454-462
- 92 Hammar, S., Bockus, D., Remington, F., Maureen, B. (1986) The Widespread distribution of Langerhans cells in pathologic tissues. *Hum. Pathology*, 17: 894-

- 
- 905
- 93 Oka, K., Nakano, T., Arai, T. (1992) Adenocarcinoma of the cervix treated with radiation alone: Prognostic significance of S100 Protein and Vimentin immunostaining. *Obstet Gynecol*, 79: 347-350
- 94 Lespagnard, L., Gancberg, D., Rouas, G., Leclercq, G., De Saint-Aubain Somerhausen, N., Di Leo, A., Piccart, M., Verhest, A. (1999) Larsimont D. Tumor infiltrating Dendritic Cells in Adenocarcinomas of the Breast : A Study of 143 neoplasms with a correlation to usual prognostic factors and to clinical outcome. *Int J Cancer ( Pred. Oncol. )*, 84: 309-314
- 95 Moore, B.W. (1965) A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Comm*, 19: 739-44
- 96 Kindblom, L.G., Lodding, P., Rosengren, L., Baudier, J., Haglid, K. (1984) S100 protein in melanocytic tumors. *Acta path microbiol immunol scand Sect A*, 92: 219-230
- 97 Lauriola, L., Michetti, F., Sentinelli, S., Cocchia, D. (1984) Detection of S100 labelled cells in nasopharyngeal carcinoma. *J Clin Pathol*, 37: 1235-1238
- 98 Winek, R.R., Scheithauer, B.W., Wick, M.R. (1989) Meningioma, meningeal hemangiopericytoma (angioblastic meningioma), peripheral hemangiopericytoma, and acoustic schwannoma. A comparative immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol*, 13(4): 251-61
- 99 Steinman, R.M., Cohn, Z.A. (1973) Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med*, 137: 1142-1162
- 100 Steinman, R.M. (1991) The dendritic Cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol*, 9:271-296
- 101 Langerhans, P. ( 1868) Über die Nerven der menschlichen Haut. *Virchows Arch (A)*, 44: 325-327
- 102 Cella, M., Sallusto, F., Lanzavecchia, A. (1997) Origin, maturation and antigen presenting function of dendritic cells. *Curr Opin Immunol*, 9: 10-16
- 103 Hart, D.N. (1997) Dendritic Cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood*, 90: 3245-87
- 104 Shortman, K., Caux, C. (1997) Dendritic cell development: multiple pathways to

- 
- nature's adjuvants. *Stem Cells*, 15: 409-19
- 105 Reid, C.D. (1997) The Dendritic Cell lineage in haemopoiesis. *Br J Haematol*, 96: 217-223
- 106 Kronin, V., Winkel, K., Suss, G., Kelso, A., Heath, W., Kirberg, J., von Boehmer, H., Shortman, K. (1996) A subclass of dendritic cells regulates the response of naive CD 8 T-cells by limiting their IL-2 production. *J. Immunol*, 157: 3819
- 107 Galy, A., et al. (1995) Human T, B, NK and dendritic cells arise from a common bone marrow progenitor cell subset. *Immunity*, 3: 459-73
- 108 Marquez, C. et al. (1998) Identification of a common developmental pathway for thymic natural killer cells and Dendritic Cells. *Blood*, 91: 2760-71
- 109 Bykovskaja, S.N. et al. (1999) The generation of human Dndritic and NK cells fom hemopoetic progenitors induced by interleukin -15. *J Leudoc Biol*, 66: 659-66
- 110 Süss, G., Shortman, K. (1996) A subclass of dendritic cells kills CD4-T-Cells via Fas/Fas -ligand -induced apoptosis. *J Exp Med*, 183: 1789-1796
- 111 Austyn, J.M. (1998) Dendritic cells. *Curr Opin Hematol*, 5: 3-15
- 112 Reid, C.D., Fryer, P.R., Clifford, C., et al. (1990) Identification of hematopoetic progenitors of macrophages and dendritic Langerhans Cells (DL-CFU) in human bone marrow and peripheral blood. *Blood*, 76: 1139-1149
- 113 Szabolcs, P., et al. (1996) Dendritic cells and macrophages can mature independently from a human bone-marrow derived , post colony-forming unit intermediate. *Blood* 87: 4520-30
- 114 Peters, J.H., et al. (1996) Dendritic Cells: from ontogenetic orphans to myelomonocytic descendants. *Immunol Today*, 17: 273-8
- 115 Romani, N., Gunner, S., Brang, D., et al. (1994) Proliferating dendritic cells progenitors in human blood. *J Exp Med*, 180: 83-93.
- 116 Sallusto, F., Cella, M., Danieli, C., Lanzavecchia, A. (1995) Dendritic cells use macropinocytosis and the mannose receptor to concentrate antigen in the major histocompatibility class 2 compartment. Downregulation by cytokines and bacterial products. *J Exp Med*, 182: 389-400
- 117 Svensson, M., Stockinger, B., Wick, M.J. (1997) Bone Marrow-derived

- 
- Dendritic Cells can process bacteria for MHC-1 and MHC 2 presentation to T-Cells. *J Immunol*, 158: 4229-36
- 118 Inaba, K., Inaba, M., Naito, M., Steinman, R.M. (1993) Dendritic cell progenitors phagocytose particulates, including bacillus Calmette-Guerin organisms, and sensitize mice to mycobacterial antigens in vivo. *J Exp Med*, 178: 479-488
- 119 Albert, M.L, Pearce, S.F.A., Francisco, L.M., et al. (1998) Dendritic cell progenitors phagocytose apoptotic cells via Alpha v Beta 5 and CD-36 , and cross-present antigens to cytotoxic T lymphocytes. *J Exp Med*, 188: 1359-1368
- 120 Ralph, M., Steinman, M.D. (2001) Dendritic Cells and the Control of Immunity: Enhancing the Efficiency of Antigen Presentation. *The Mount Sinai Journal of Medicine*, 68: 160-166
- 121 Mahnke, K., Guo, M., Lee, S., et al. (2000) The dendritic cell receptor for endocytosis , DEC-205, can recycle and enhance antigen presentation via MHC 2+ lysosomal compartments. *J Cell Biol*, 151: 673-683
- 122 Albert, M.L., Sauter, B., Bhardwaj, N. (1998) Dendritic cell s acquire antigen from apoptotic cells and induce class I restricted CTLs. *Nature*, 329: 86-89
- 123 Regnault, A., Lankar, D., Lacabanne, V., et al. (1999) Fc Gamma receptor-mediated induction of dendritic cell maturation and major histocompatibility complex class I-restricted antigen presentation after immune complex internalization. *J Ecp Med*, 189: 371-380
- 124 Rodruiguez, A., Regnault, A., Kleijmeer, M., et al. (1999) Selective transport of internalized antigens to the cytosol for MHC class I presentation in dendritic cells. *Nature Cell Biol*, 1: 362-368
- 125 Brand, C. et al. (1995) Studies on Langerhans cell phenotype in human afferent skin lymph from allergic contact dermatitis. *Adv Exp Med Biol*, 378: 523-5
- 126 Larsen, C.P., Morris, P.J., Austyn, J.M. (1990) Donor dendritic leukocytes migrate from cardiac allografts into recipients spleens. *Transplant Proc*, 22: 1943-4
- 127 Austin, J.M., Weinstein, D.E., Steinman, R.M. (1988) Clustering with dendritic cells preceded and is essential for T-Cell proliferation in a mitogenous model. *Immunology*, 63: 691-696

- 
- 128 Inaba, K., Steinman, R. (1987) Accessory cell T-lymphocyte interaction. Antigen dependent and independent clustering. *J Exp Med*, 48: 1039-1048
- 129 van Kooten, C., Banchereau, J. (1997) Functions of CD40 on B cells, Dendritic cells and other cells. *Curr Opin Immunol*, 9: 330-7
- 130 Peter, J., Delves, H.D., Ivan, M., Roitt, Ph.D. (2000) The Immune System , Second of Two Parts. Review Articles. *The New England Journal of Medicine*, 343: 108-117
- 131 Fritsch et al. (1998) *Dermatologie und Venerologie- Lehrbuch und Atlas*. Springerverlag
- 132 Silverberg, S.G., Kurman, R.J. (1992) Tumors of the Uterine Corpus and Gestational Trophoblastic Disease. In: *Armed Forces Institute of Pathology. Atlas of Tumor Pathology 3*, Washington D.C. USA
- 133 Grund C 1995/ 1999 MEDAS, Statistikprogramm für Medizin und Biowissenschaften, Universität Würzburg
- 134 Sahande Elagöz, Dilek Sema Arici, Handan Aker. (2000) Relationship between FIGO grade and AgNOR, S100-positive Langerhans Cells in endometrial carcinoma. *Pathology International*, 50: 616-619
- 135 Gallo, O., Libonati, G.A., Gallina, E., Fini-Storchi, O., Giannini, A., Urso, C., Bondi, R. (1991) Langerhans cells related to prognosis in patients with laryngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 117(9); Sept: 1007-10
- 136 Inoue K., Mutsuo, F., Yuji, O., Yukitoshi, F. (1993) Distribution of S-100 protein-positive dendritic cells and expression of HLA-DR antigen in transitional cell carcinoma of the urinary bladder in relation to tumour progression and prognosis. *Virchows Archiv A Pathol Anat*, 422: 351-355
- 137 Bethwaite, P.B., Holloway, L.J., Thornton, A., Delahunt, B. (1996) Infiltration by immunocompetent cells in early stage invasive carcinoma of the uterine cervix: a prognostic study. *Pathology*, 28(4); Nov: 321-7
- 138 Avi Eisenthal, Ph.D., Polyvkin, N., Bramante-Schreiber, L., Misonznik, F., Hassner, A., Lifschitz-Mercer, B. (2001) Expression of Dendritic Cells in Ovarian Tumors Correlates with Clinical Outcome in Patients with Ovarian Cancer. *Human Pathol*, 32(8); Aug: 803-7
- 139 Okuyama, T., Maehara, Y., Kakeji, Y., Tsuijritani, S., Korenaga, D., Sugimach,

- 
- K. (1998) Interrelation between tumor-associated cell surface glycoprotein and host immune response in gastric carcinoma patients. *Cancer*, 82(8); Apr 15: 1468-75
- 140 Maehara, Y., Tomisaki, S., Oda, S., Kakefi, Y., Tsujitani, S., Ichiyoshi, Y., Akazawa, K., Sugimachi, K. (1997) Lymph node metastasis and relation to tumor growth potential and local immune response in advanced gastric cancer. *Int J Cancer*, 74(2): 224-8
- 141 Coventry, B.J., Morton, J. (2003) CD Ia-positive infiltrating-dendritic cell density and 5 year survival from human breast cancer. *British Journal of Cancer*, 89, 533-538
- 142 Ikeguchi, M., Ikeda, M., Tatebe, S., Maeta, M., Kaibara, N. (1998) Clinical significance of dendritic cell infiltration in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep*, 5(5); Sep-Oct: 1185-1189
- 143 Hiroyuki, Matsuda, Masaki Mori, Shunichi Tsujitani, Shinji Ohno, Hiroyuki Kuwano, Keizo Sugimachi. (1990) Immunohistochemical Evaluation of Squamous Cell Carcinoma Antigen and S100 Protein-Positive Cells in Human Malignant Esophageal Tissues. *Cancer*, 65(10); May 15: 2261-2265
- 144 Hughes, R., Norval, M., Howie, S. (1988) Expression of MHC class II antigens by Langerhans cells in cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Pathol*, 41: 253-9
- 145 Viac, J., Guerin-Reverchon, I., Chardonnet, Y., Bremond, A. (1990) Langerhans cells and epithelial cell modifications in cervical intraepithelial neoplasia: correlation with human papilloma virus infection. *Immunobiology*, 180: 328-38
- 146 Winkelstein, W. (1990) Smoking and cervical cancer-current status: a review. *Am J Epidemiol*, 131: 945-57
- 147 Barton, S., Hollingworth, A., Maddox, P., Edward, R., Cuzick, J., McCance, D., Jenkins, K., Singer, A. (1989) Possible cofactors in the etiology of cervical intraepithelial neoplasia. An immunopathologic study. *J Reprod Med*, 34: 613-6
- 148 Toi, M., Taniguchi, T., Yamamoto, Y., Kuriasaki, T., Suzuki, H., Tominaga, T. (1996) Clinical significance of the determination of angiogenic factors [review]. *Eur J Cancer* 32A: 2513
- 149 Saito, H., Tsujitani, S., Ikeguchi, M., Maeta, M., Kaibara, N. (1998) Relationship between the expression of vascular endothelial growth factor and

- 
- the density of dendritic cells in gastric carcinoma tissue. *Br J Cancer*, 78: 1573
- 150 Lissoni, P., Malugani, F., Bonfanti, A., Bucovec, R., Secondino, S., Brivio, F., Ferrari-Bravo, A., Ferrante, R., Vigore, L., Rovelli, F. et al. (2001) Abnormally enhanced blood concentrations of vascular endothelial growth factor (VEGF) in metastatic cancer patients and their relation to circulating dendritic cells, IL-12 and endothelin, 1. *J Biol Regul Homeost Agents*, 15: 140
- 151 Oyama, T., Ran, S., Ishida, T., Nadaf, S., Kerr, L., Carbone, D., Gabrilovich, D. (1998) Vascular endothelial growth factor affects dendritic cell maturation through the inhibition of nuclear factor-kappa B activation in hemopoietic progenitor cells. *J Immunol*, 160: 1224
- 152 Allavena, P., Piemonti, L., Longoni, D., Bernasconi, S., Stoppaciario, A., Ruco, L., Mantovani, A. (1998) IL-10 prevents the differentiation of monocytes to dendritic cells but promotes their maturation to macrophages. *Eur J Immunol*, 28:359
- 153 Menetrier-Caux, C., Montmain G., Dieu, M., Brain, C., Favrot, M., Caux, C., Blay, J. (1998) Inhibition of the differentiation of dendritic cells from CD 34(+) progenitors by tumor cells: role of interleukin-6 and macrophage-colony-stimulating-factor. *Blood*, 92: 4778
- 154 Wilson, J.L., Heffler, L.C., Charo, J., Scheynius, A., Befarano, M.T., Ljunggren, H.G. (1999) Targeting of Human Dendritic Cells by Autologous NK Cells. *J Immunol*, 163(12); Dec 15: 6365-6370

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und Großeltern, die durch ihre liebevolle und großzügige Unterstützung meinen bisherigen Lebensweg und beruflichen Werdegang entscheidend mitgeprägt und ermöglicht haben.

Herzlichen Dank

Ein Dankeschön auch in Gedenken an meinen Kollegen Steffan Krebs, der mich in diese Arbeit einführte, und durch einen tragischen Unfall ums Leben kam.