

Aus dem
Department für Diagnostische Labormedizin
der Universität Tübingen
Institut für Pathologie und Neuropathologie

**Das Tumormicroenvironment in high-grade serösen
Ovarialkarzinomen -
Prognostische Relevanz von tumorinfiltrierenden
CD20⁺ B-Zellen und Galektin-1**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Blome, Freya

2026

Dekanin: Professorin Dr. S. Y. Brucker

1. Berichterstatterin: Professorin Dr. A. E. Staebler

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. S. Forchhammer

Tag der Disputation: 02.07.2026

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis	11
1 Einleitung	13
1.1 Epidemiologie, Inzidenz und Mortalität des Ovarialkarzinoms	13
1.2 Risikofaktoren und protektive Faktoren	13
1.3 Klassifikation von Ovarialtumoren	14
1.4 High-grade seröse Karzinome	15
1.5 Screening und Staging des Ovarialkarzinoms	16
1.6 Therapiemöglichkeiten des high-grade serösen Ovarialkarzinoms	17
1.7 Immunsystem	19
1.7.1 Unspezifisches Immunsystem	19
1.8 Spezifisches Immunsystem	20
1.9 Hallmarks of Cancer – Immunescape und Tumormicroenvironment	21
1.10 Tumor-infiltrierende B-Lymphozyten	23
1.10.1 CD20 ⁺ B-Lymphozyten	23
1.11 Langzeitüberlebende in HGSC und die Rolle von CD20 ⁺ B-Lymphozyten	24
1.12 Molekulare Subtypen und immunologische Einteilung von Ovarialkarzinomen	25
1.13 Antigen-Kandidaten für die Immunantwort im Ovarialkarzinom	26
1.13.1 Immunpeptidom von Ovarialkarzinomen	27
1.13.2 Galektin-1	28
1.14 Ziele dieser Arbeit	31
2 Material und Methoden	33
2.1 Kollektiv	33
2.2 Tissue Microarrays	34
2.3 Immunhistochemie	35
2.3.1 Allgemeines Prinzip immunhistochemischer Färbungen	35
2.3.2 Immunhistochemie CD20	36
2.3.3 Immunhistochemie Galektin-1	37
2.4 Statistik	40

2.4.1	Statistische Analyse CD20 ⁺ B-Lymphozyten	40
2.4.2	Statistische Analysen der Galektin-1 Daten	40
3	Ergebnisse	40
3.1	CD20 ⁺ B-Lymphozyten	40
3.1.1	CD20 ⁺ B-Zellen infiltrieren vorrangig das Stroma, aber auch das Epithel in HGSC	40
3.1.2	CD20 ⁺ B-Lymphozyten haben einen positiven Einfluss auf das Gesamtüberleben	42
3.1.3	Ko-Existenz von CD8 ⁺ T-Lymphozyten neben CD20 ⁺ B-Zellen	46
3.2	LGALS-1	50
3.2.1	LGALS-1 Genexpression und Galektin-1 auf Proteinebene	50
3.2.2	Das Protein Galektin-1 kommt in HGSC vor allem stromal vor	50
3.2.3	Hohe Galektin-1 Werte im tumorassoziierten Stroma sind ein negativer prognostischer Faktor	51
3.2.4	Hohes intraepitheliales Galektin-1 ist ambivalent mit der Prognose korreliert	54
3.2.5	Korrelation Galektin-1 mit Tumor-infiltrierenden Lymphozyten	57
3.2.6	Korrelation Galektin-1 mit dem Erkrankungsalter	60
3.2.7	Keine Korrelation von erhöhter Galektin-1-Expression und dem FIGO-Stadium	61
3.2.8	Korrelation Galektin-1 mit dem R-Status	61
4	Diskussion	61
4.1	CD20 ⁺ B-Lymphozyten	62
4.2	Galektin-1	65
4.2.1	Hohe stromale Galektin-1 Werte korrelieren mit signifikant weniger TILs und einer schlechteren Prognose	67
4.2.2	Hohe tumorale Galektin-1 Werte als positiver prognostischer Faktor	72
4.2.3	Ist Galektin-1 ein brauchbarer prognostischer Biomarker in HGSC?	74
4.2.4	Ist Galektin-1 ein potenzielles therapeutisches Target in HGSC?	77
4.3	Limitationen der Studie und Implikationen für zukünftige Untersuchungen	79
5	Zusammenfassung	81

6	Literaturverzeichnis _____	83
7	Anhang _____	96
7.1	Zusatztabellen _____	96
7.1.1	Zusatzabbildungen _____	98
8	Erklärung zum Eigenanteil _____	101
9	Danksagung _____	102

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Überblick über die histologischen Subtypen der Ovarialkarzinome, modifiziert nach Schubert et Al. (2022).....	15
Tabelle 2: Grundlegende Eigenschaften der vier molekularen Subtypen in HGSC: immunoreaktiv, differenziert, proliferativ und mesenchymal. Tabelle modifiziert nach Chen et al. (2018) und Leong et al. (2015).....	25
Tabelle 3: Tabellarische Darstellung der möglichen Werte und ihrer Aussage der genutzten Scores, geordnet vom höchsten Wert oben zum niedrigsten Wert unten	39
Tabelle 4: Gerundete Mittelwerte im Remmele-Score	39
Tabelle 5: Cut-Offs der CD8 ⁺ und CD20 ⁺ Lymphozyten in Gruppen 1-3	47
Tabelle 6: Cut-Offs der CD4 ⁺ , CD8 ⁺ und CD20 ⁺ -Lymphozyten in den Gruppen 1-4	48
Tabelle 7: Zusammenfassung Überlebensanalysen CD20- Färbung	49
Tabelle 8: Zusammenfassung Überlebensanalysen Galektin-1-Färbung	56
Tabelle 9: Vorkommen von Lymphozyten in der oberen Quintile des intrastromalen Galektin-1 Remmele-Scores verglichen mit dem Vorkommen bei geringeren intrastromalen Galektin-1 Werten	57
Tabelle 10: Vorkommen von Lymphozyten in der Gruppe mit einem intrastromalen Galektin-1 Intensitäts-Score von <1,4 und der Gruppe mit einem intrastromalen Galektin-1 Intensitätsscore $\geq 1,4$	58
Tabelle 11: Vorkommen von Lymphozyten in der Gruppe mit einem intratumoralen Galektin-1 Intensitätsscore von <1,4 und der Gruppe mit einem intratumoralen Intensitätsscore $\geq 1,4$	59
Tabelle 12: Vorkommen von Lymphozyten in der Gruppe mit einem intratumoralen Galektin-1 Remmele-Score <2,5 und in der Gruppe mit einem intratumoralen Remmele-Score von $\geq 2,5$	60
Tabelle 13: Korrelation des intratumoralen Galektin-1 Intensitätsscores mit dem Alter.....	60
Tabelle 14: Ein hoher stromaler Galektin-1 Remmele Score korreliert mit einem höheren R-Status	61

Tabelle 15: FIGO-Stadieneinteilung des Ovarialkarzinoms modifiziert nach Kaufmann (2013)	96
Tabelle 16: Darstellung der erhobenen und eingetragenen CD20-Daten in das Statistik Programm SPSS	97
Tabelle 17: Darstellung der erhobenen und eingetragenen Galektin-1 Daten in das Statistik-Programm SPSS	97

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Histologischer Ursprung der Ovarialtumore aus „Die Gynäkologie“; Kapitel „Adnexe“ (Dose and Jänicke, 2003)	14
Abbildung 2: Therapiealgorithmus Ovarialkarzinom Rezidiv, modifiziert nach dem KEM Therapiealgorithmus Ovarialkarzinomrezidiv 02/2023; P. Harter, S. Kümmel	19
Abbildung 3: Hallmarks of Cancer, modifiziert nach Hanahan (2022)	21
Abbildung 4: Klassifikation der Immunphänotypen von high-grade serösen Ovarialkarzinome. Darstellung der Tumor-Mikroumgebung (engl.: Tumormicroenvironment) in inflammatorischen („heißen“) Tumoren, immunologisch ausgeschlossenen Tumoren und immunologisch kalten Tumoren. Modifiziert nach Kandalaft et al. (2022)	26
Abbildung 5: Darstellung der über MHC-I präsentierten Antigene auf Ovarialkarzinomen als word cloud. Die Schriftgröße repräsentiert die Frequenz des Auftretens des Antigens auf Ovarialkarzinomen. Modifiziert nach Schuster et al. (2017)	27
Abbildung 6: Korrelation von LGALS-1 Genexpression mit dem Überleben. Die Tertilenanalyse zeigt ein ein signifikant schlechteres 10-Jahresüberlebe der oberen Tertile (hohe Galektin-1 mRNA Menge, lilane Kurve) (bisher unveröffentliche Daten des OTTA-Konsortiums)	28
Abbildung 7: Galektin-1 ist ein Prototyp Galektin mit einer Carbohydrat-Bindungsstelle. Die Abbildung zeigt Galektin-1 vorliegend als Homodimer aus zwei Galektin-1 Proteinen. Erstellt mit Biorender.com	29
Abbildung 8: a) Galektin-1 ist an Zell-Matrix-Interaktion beteiligt; b) auch auf Zell-Zell-Kontakten hat Galektin-1 Einfluss; c) potentiell kommt Galektin-1 somit eine entscheidende Rolle in der Tumormetastasierung zu. Abbildung modifiziert nach Thijssen et al. (2015); Erstellt mit BioRender.com	30
Abbildung 9: Bei hohen Konzentrationen kann Galektin-1 Adhäsionen zwischen Zellen bzw. Zelle und Matrix verhindern. Abbildung modifiziert nach Elola et al. (2007) und Cousin and Cloninger (2016); Erstellt mit BioRender.com	30
Abbildung 10: Beispielhafte Abbildung eines der verwendeten TMAs (CD20-Färbung an TMA 52.2)	34

Abbildung 11: Darstellung der ABC Immunhistochemie angelehnt an Mulisch (2014); Erstellt mit Biorender.com	35
Abbildung 12: : Immunhistochemische Färbung CD20; lymphoide Aggregate in dem peritumoralen Bindegewebe; der schwarze Pfeil markiert intratumoral gelegene B-Lymphozyten	36
Abbildung 13: Beispielhafte Darstellung des Intensitäts-Scores der Galektin-1 immunhistochemischen Färbung; a) Stroma=3, Epithel= 3; b) Stroma=1, Epithel=2; c) Stroma=3, Epithel=1	38
Abbildung 14: Beispielhafte Darstellung des Prozent-Scores der Galektin-1 immunhistochemischen Färbung; a) Stroma= 3 (Intensität 3), Epithel= 2 (Intensität 3); b) Stroma= 3 (Intensität 3), Tumor= 3 (intensität 1); c) Stroma= 4 (Intensität 3), Tumor=0 (Intensität=0)	38
Abbildung 15: Gruppierte Darstellung der Verteilung intrastromaler CD20 ⁺ B-Zellen im Stroma in HGSC (n=345); Gruppe 1: 0 Lymphozyten (n=70, 20,3%), Gruppe 2: >0-1 Lymphozyten (n=106, 30,70%), Gruppe 3: ≥1-5 Lymphozyten (n=85, 24,6%), Gruppe 4: ≥5- 20 Lymphozyten (n=51, 14,8%) Gruppe 5: ≥20 Lymphozyten (n=33, 9,6%).....	41
Abbildung 16: Gruppierte Darstellung der Verteilung intratumoraler CD20 ⁺ B-Zellen in HGSC (n=345); Gruppe 1 (n=206, 59,7%) 0 Lymphozyten, Gruppe 2 (n=102, 29,6%) >0- <1, Gruppe 3 (n=37, 10,7%) ≥1 Lymphozyten.....	41
Abbildung 17: Überlebenskurven bei Vorkommen intratumoraler CD20 ⁺ B-Lymphozyten verglichen mit Fällen ohne intratumorale CD20 ⁺ B-Lymphozyten, p=<0,001	43
Abbildung 18: Überlebenskurven bei Vorkommen intrastromaler CD20 ⁺ B-Lymphozyten verglichen mit Fällen ohne CD20 ⁺ B-Lymphozyten im Stroma, p=0,012.....	43
Abbildung 19: Überlebenskurven der 3 Gruppen mit unterschiedlicher Anzahl von intrastromalen CD20 ⁺ B-Lymphozyten (1: 0 CD20 ⁺ B-Lymphozyten; 2: >0-5 CD20 ⁺ B-Lymphozyten; 3: ≥5 CD20 ⁺ B-Lymphozyten; p=0,003).....	44
Abbildung 20: Überlebenskurven von 2 Gruppen mit unterschiedlichen Maximalwerte intrastromaler CD20 ⁺ B-Lymphozyten (1: <20 max. CD20 ⁺ B-Lymphozyten; 2: ≥ CD20 ⁺ B-Lymphozyten; p=0,003).....	45

Abbildung 21: Darstellung der Überlebenskurven von Fällen, die lymphoide Aggregate aufweisen (Gruppe 1) und Fällen, die keine lymphoiden Aggregate aufweisen (Gruppe 2), $p=0,033$	46
Abbildung 22: Einfluss der intraepithelialen CD20 ⁺ B-Lymphozyten auf die prognostische Aussagekraft der intraepithelial vorkommenden CD8 ⁺ T-Lymphozyten; Gruppe 1: Top Tertile CD8 ⁺ und höchste Gruppe CD20 ⁺ ; Gruppe 2: Top Tertile CD8 ⁺ und niedrigste zwei Gruppen CD20 ⁺ ; Gruppe 3: niedrigsten zwei Gruppen CD8 ⁺ und alle CD20 ⁺ Gruppen; $p=<0,001$	47
Abbildung 23: Einfluss der intraepithelialen CD4 ⁺ T-Lymphozyten auf die prognostische Aussagekraft der intraepithelial vorkommenden CD8 ⁺ und CD20 ⁺ Lymphozyten; Gruppe 1: Top Tertile CD8 ⁺ und höchste Gruppe CD20 ⁺ und CD4 ⁺ ; Gruppe 2: Top Tertile CD8 ⁺ und niedrigste zwei Gruppen CD20 ⁺ und CD4 ⁺ ; Gruppe 3: niedrigsten zwei Gruppen CD8 ⁺ und alle CD20 ⁺ Gruppen; $p=<0,001$	48
Abbildung 24: Darstellung der gerundeten Werte des Remmele-Scores von Galektin-1 im Stroma (Score 0: n=1, 0,3%; Score 1: n=2, 0,6%; Score 2: n=3, 0,9%; Score 3: n=3, 0,9%; Score 4: n=20, 5,8%; Score 6: n=59, 17,3%; Score 8: n=59, 17,3%; Score 9: n=103, 30,1%; Score 12: n=92, 26,9%) verglichen mit den gerundeten Werte des Remmele-Scores von Galektin-1 im Tumor (Score 0: n=29, 8,5%; Score 1: n=60, 17,5%; Score 2: n=78, 22,8%; Score 3: n=82, 24%; Score 4: n=59, 17,3%; Score 6: n=20, 5,8%; Score 8: n=9, 2,6%; Score 9: n=3, 0,9%; Score 12: n=2, 0,6%)	51
Abbildung 25: Darstellung der Überlebenskurven von Fällen mit einer Galektin-1 Färbeintensität von 3 (Gruppe 2) und den Fällen, die einen geringeren Intensitätsscore als 3 im Mittel aufweisen (Gruppe 1), $p=0,017$	52
Abbildung 26: Darstellung der Überlebenskurven der oberen Quintile (Gruppe 2) des Remmele-Scores Galektin-1 im Stroma und der Gruppe 1, die die restlichen Fälle beinhaltet, $p=0,007$	53
Abbildung 27: Darstellung der Überlebenskurve von Fällen, die eine Galektin-1 Färbeintensität von 3 im Tumor aufweisen (Gruppe 2) und den restlichen Fälle mit geringeren Galektin-1 Färbeintensitäten, $p=0,03$	54

Abbildung 28: Darstellung der Überlebenskurven der Fälle, die eine Galektin-1 Färbeintensität von $\geq 1,4$ im Tumor aufweisen (Gruppe 2) und den restlichen Fällen, die eine geringere Galektin-1 Färbeintensitäten aufweisen, $p=0,026$	55
Abbildung 29: Darstellung der Überlebenskurven von Fällen, die einen Galektin-1 Prozentsscore ≥ 3 im Stroma (Gruppe 2) aufweisen und Fällen, die weniger großflächig stromales Galektin-1 exprimieren (Gruppe 1); $p=0,624$	98
Abbildung 30: Darstellung der Überlebenskurven der Fälle, die einen Galektin-1 Prozentscore ≥ 3 (Gruppe 2) aufweisen und Fällen die weniger großflächig gefärbtes Galektin-1 im Tumor exprimieren (Gruppe 1); $p=0,853$	98
Abbildung 31: Darstellung der Überlebenskurven der Fälle, die einen Remmele-Scores im Tumor von ≥ 2 (Gruppe 2) aufweisen und Gruppe 1 mit einem tumoralen Remmele-Score < 2	99
Abbildung 32: Darstellung der Überlebenskurven unseres Kollektivs mit dem IRS-Cut-Off von Schulz et al.	99
Abbildung 33: Einfluss der stromalen Maximalwerte von CD20 ⁺ B-Lymphozyten in Abhängigkeit von gemeinsamen Vorkommen mit TILs. Gruppe 1: stromale CD20 ⁺ B-Lymphozyten mit Maximalwerten < 20 und tumor-infiltrierende CD20 ⁺ Lymphozyten, Gruppe 2: stromale CD20 ⁺ B-Lymphozyten mit Maximalwerten ≥ 20 ohne tumor-infiltrierende CD20 ⁺ Lymphozyten; $p= 0,092$	100

Abkürzungsverzeichnis

AGO	Arbeitsgemeinschaft für gynäkologische Onkologie
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
BRCA 1	Breast cancer gen 1, Brustkrebsgen 1
BRCA 2	Breast cancer gen 2, Brustkrebsgen 2
CCC	Clear cell carcinoma, klarzelliges Karzinom
EC	Endometrioid carcinoma, endometrioides Karzinom
EMA	European Medicines Agency, Europäische Arzneimittel-Agentur
EOC	Epithelial ovarian carcinomas, epitheliales Ovarialkarzinom
FAS-L	Fas-Ligand, Apoptose Antigen Ligand
FIGO-Stadium	International Federation of Gynecology and Obstetrics Anmerkung: In der Gynäkologie wird neben der TNM-Klassifikation die FIGO-Klassifikation zur Einteilung gynäkologischer Tumoren verwendet
HGSC	High grade serous carcinoma, high-grade seröses Karzinom
HLA	Humanes Leukozyten-Antigen
HOMEK	Humane omentale microvaskuläre Endothelzellen
HRD	Homologe Rekombinationsdefizienz
IHC	Immunhistochemie
LAMN	Low-grade muzinöse Neoplasie der Appendix
LGSC	Low-grade serous carcinoma, low-grade seröses Karzinom
MC	Mucinous carcinoma, muzinöses Karzinom
MHC	Major Histocompatibility Complex, Haupthistokompatibilitätskomplex
Napsin-A	Aspartat-Protease der Pepsin A Familie
OS	Overall survival, Gesamtüberleben
PFS	Progression free survival, Progressionsfreies Überleben
PR-Rezeptor	Progesteron Rezeptor
SBOT	Serous Borderline tumour, seröser Borderline Tumor

STIC	Seröses tubares intraepitheliales Karzinom
TCGA	The Cancer Genome Atlas, Sammlung genomischer Daten verschiedener Krebsarten (DNA-Sequenzen, epigenetische Veränderungen, Genexpressionsdaten)
TMA	Tissue micro array, Multigewebeblöcke
TME	Tumormicroenvironment, Tumormikroumgebung
WT-1	Wilms-Tumor Gen 1

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie, Inzidenz und Mortalität des Ovarialkarzinoms

Ovarialkarzinome stellen die achthäufigste maligne Neoplasie der Frau in Deutschland dar und sind für 5,3% aller Krebsterbefällen von Frauen verantwortlich. Etwa eine von 74 Frauen in Deutschland erkrankt im Laufe ihres Lebens an Eierstockkrebs (Koch-Institut and e.V., 2019) (Schubert et al., 2022).. Im Durchschnitt erkranken Frauen in Deutschland mit 69 Jahren, die Erkrankungsraten steigen jedoch bis zum 85. Lebensjahr kontinuierlich an. Das 5-Jahres-Überleben liegt bei zirka 40% und hängt primär davon ab, in welchem FIGO-Stadium die Diagnose erfolgt. Eine Diagnose im Stadium I geht beispielsweise mit einem 5-Jahresüberleben von 90% einher. Da Ovarialkarzinome im Frühstadium häufig unspezifische Symptome zeigen resultiert jedoch oft eine Diagnosestellung im fortgeschrittenen Stadium. 73% der Erkrankungen werden im Stadium III/IV entdeckt, das 5-Jahresüberleben sinkt dabei von 42% (Stadium III) auf 21% im Stadium IV (Ronckers et al., 2023). Laut dem globalen Krebsregister Globocan gab es weltweit im Jahr 2022 324.603 neue Fälle und 206.956 Todesfälle durch Ovarialtumoren (Ferlay J, 2024).

1.2 Risikofaktoren und protektive Faktoren

5-10% der Ovarialkarzinome zeigen eine familiäre Häufung, in der überwiegenden Anzahl der Fälle treten sie sporadisch auf. Ein wichtiger Risikofaktor ein Ovarialkarzinom zu entwickeln ist jedoch ein bereits aufgetretenes Karzinom in der Familie (Holschneider & Berek, 2000). Auch BRCA1-(17q21) und BRCA2-Mutationen (13q12-13) führen zu einem erhöhten Risiko an einem Ovarialkarzinom zu erkranken (Momenimovahed et al., 2019). Ein weiterer Risikofaktor sind Hormontherapien in der Peri- und Postmenopause, das Risiko gleicht jedoch 2-4 Jahre nach Beendigung der Behandlung wieder dem für Frauen ohne Hormontherapie (Beral et al., 2015, Morch et al., 2009, Shi et al., 2016). Auch Übergewicht ist mit einem erhöhten Risiko an einem Ovarialkarzinom zu erkranken assoziiert. Frauen mit einem BMI von über 30 (Adipositas Grad I) haben ein 30% höheres Risiko an einem

Ovarialkarzinom zu erkranken als normalgewichtigen Frauen, bei übergewichtigen Frauen mit einem BMI von 25-29,9 ist das Risiko 16% höher (Olsen et al., 2007). Protektive Faktoren sind unter anderem eine mindestens 3-monatige Stillphase, Multiparität und die Einnahme oraler Kontrazeptiva, die den Eisprung verhindern (Gaona-Luviano et al., 2020).

1.3 Klassifikation von Ovarialtumoren

Die Einteilung der Ovarialtumore erfolgt nach ihrem Ursprungsgewebe. Ovarialtumore können aus Epithelzellen, Keimzellen und Keimstrangstroma entstehen. Im Ovar können sich auch Metastasen aus anderen Tumorentitäten wie zum Beispiel dem Magenkarzinom oder einer Neoplasie der Appendix (LAMN) zu finden. Einen Überblick über die Häufigkeit und die Typen der Ovarialtumore unterteilt nach ihrem histologischen Ursprung bietet Abbildung 1.

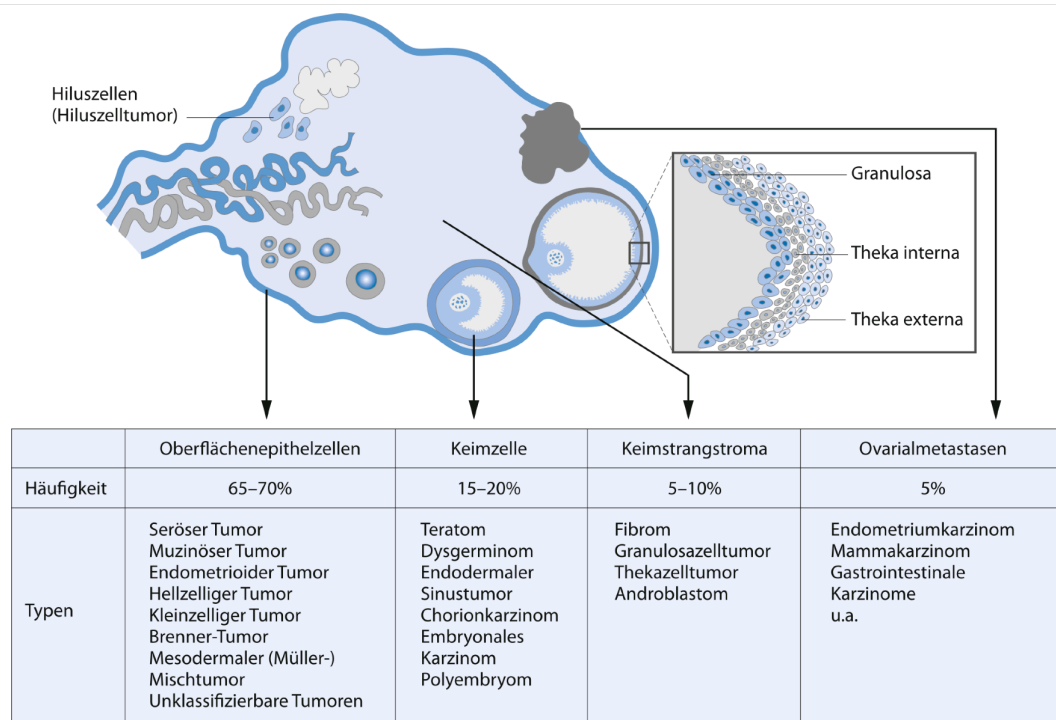


Abbildung 1: Histologischer Ursprung der Ovarialtumore aus „Die Gynäkologie“, Kapitel „Adnexe“ (Dose and Jänicke, 2003)

Es werden sechs verschiedene histologische Subtypen der Ovarialkarzinome unterschieden: high-grade seröse (HGSC), low-grade seröse (LGSC), klarzellige (CCC), muzinöse (MC), endometrioiden Karzinome (EC) und die

seltenen malignen Brenner Tumoren (transitionalzellige Differenzierung). Mit mehr als 50% bilden HGSC, die in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, den häufigsten Subtyp (Schubert et al., 2022). Die Subtypen unterscheiden sich in ihren Vorläuferläsionen und in ihrem immunhistochemischen Phänotyp und weisen unterschiedliche Prognosen auf. Die Immunhistochemische Diagnostik umfasst die Antigene p53, WT1, Napsin A und den Progesteronrezeptor (Köbel et al., 2016). Eine korrekte histologische Diagnostik ist entscheidend, um das therapeutische Vorgehen für die betroffene Patientin optimal planen zu können. Einen Überblick der Graduierung, Vorstufen und immunhistochemischen Phänotypen der histologischen Subtypen gibt Tabelle 1.

Tabelle 1: Überblick über die histologischen Subtypen der Ovarialkarzinome, modifiziert nach Schubert et al. (2022)

Histologie	Graduierung	Vorstufe	Klinik	Molekulargenetik	Immunhistochemischer Phänotyp
serös	Low-grade (G1)	Seröse Borderlinetumore	Deutlich langsamerer klinischer Verlauf als HGSC	BRAF-/KRAS Mutation	WT1 98,4% PR-Rezeptor 58,7%
	High-grade (G3)	Seröses tubares intraepitheliales Karzinom (STIC)	Hohe Proliferationsrate	P53-Mutation, hoher Anteil BRCA 1/2-Mutationen, hohe chromosomale Instabilität, hoher Anteil HRD	WT1 96,7% TP53 aberrant 93,9% PR-Rezeptor 36,6%
muzinös		Benignes Zystadenom →Borderlinetumore →Invasive Karzinome	Expansiv, invasives & destruktiv, stromainvasives Wachstum	BRAF-/KRAS-Mutation	TP53 aberrant 61,3%
endometrioid	G1, G2, G3	Endometrioides Adenofibrome, Borderlinetumore	Verbindung mit atypischer Endometriose	ARID1A-Mutation, PIK3CA-Mutation	PR-Rezeptor 84,7%
klarzellig	Immer G3	Endometrioides Adenofibrome, Borderlinetumore	Verbindung mit atypischer Endometriose	ARID1A-Mutation	Napsin A 91,8%

1.4 High-grade seröse Karzinome

Da sich das in unserer Studie untersuchte Kollektiv aus high-grade serösen Ovarialkarzinomen (HGSC) zusammensetzt, wird auf diese Tumorentität im Folgenden näher eingegangen. Morphologisch imponieren HGSC meist papillär, können jedoch auch solide Areale aufweisen sowie intrazystische Proliferationen zeigen. Verkalkungen in Form von Psammomkörperchen können vorkommen, sind jedoch im Vergleich zu low-grade serösen

Karzinomen seltener zu finden. HGSC weisen oft eine hohe mitotische Aktivität auf (Diebold, 2014). HGSC werden meist erst in fortgeschrittenen Stadien entdeckt, zeigen hohe Proliferationsraten und häufig eine chromosomale Instabilität sowie Mutationen im Tumorsuppressorgen p53. Ein aberrantes p53-Protein liegt bei zirka 97% der HGSC vor (Schubert et al., 2022). Häufig finden sich somatische oder gonosomale Mutationen in den Genen BRCA1 und BRCA2, bei bis zu 25% der Patientinnen mit HGSC lassen sich BRCA1 oder BRCA2-Mutationen feststellen (Turashvili et al., 2020, McAlpine et al., 2012). In ca 50% der Fälle liegt eine homologe Rekombinationsdefizienz (HRD) vor, was aufgrund der klinischen Relevanz (siehe auch Abbildung 2) mittels einer Keimbahntestung sowie Gewebediagnostik untersucht werden sollte (Schubert et al., 2022). Als Vorläuferläsion gilt das seröse tubare intraepitheliale Karzinom (STIC). Man geht von einem dualistischen Entstehungsmodell high-grade seröser Karzinome aus; zum Einen direkt im Ovarialepithel, zum Anderen in der Mehrzahl der Fälle über STIC in den Tuben (Kurman and Shih le, 2016). Dieses Wissen hat zu einer Veränderung der klinischen Praxis geführt: es können prophylaktische Salpingektomien bei Hochrisikopatientinnen durchgeführt werden, um so das Risiko der Entstehung eines HGSC zu senken.

1.5 Screening und Staging des Ovarialkarzinoms

Eine große Schwierigkeit in der Behandlung von Ovarialkarzinomen ist ihre mangelhafte Früherkennung durch derzeit noch fehlende zielgerichtete Screeningprogramme und unspezifische Frühsymptomatik (Gaona-Luviano et al., 2020). Symptome wie Bauchschmerzen, vermehrter Harndrang, Flatulenzen und allgemeine Verdauungsbeschwerden treten häufig im Frühstadium des Ovarialkarzinoms auf, werden jedoch meist nicht auf eine Tumorerkrankung des Ovars zurückgeführt. In einem von Goff et al. (2000) befragten 1500 Fälle großen Kollektiv gaben 95% der Patientinnen rückblickend unspezifische Frühsymptome an. Drei prospektive randomisierte Studien konnten keine Reduktion der Mortalität durch Screening-Maßnahmen wie transvaginalen Ultraschall und CA-125-Serumbestimmungen zeigen (Buys et al., 2011, Jacobs et al., 2016, Menon et al., 2009, Kobayashi et al., 2008, AWMF, 2021, Deutsche Krebsgesellschaft, 2022). CA-125 wird zwar in erster Linie von serösen

Ovarialneoplasien gebildet, ist jedoch wenig spezifisch und kann auch zum Beispiel bei Endometriose, Infektionen, Leber- und Autoimmunerkrankungen erhöht sein. Die serielle Bestimmung von CA-125 kann jedoch zur Verlaufsbeurteilung bei bereits diagnostizierter Erkrankung nützlich sein (Schubert et al., 2022). Das Screening ist durch die geringe Inzidenz von Ovarialkarzinomen und damit verbundenen hohen falsch-positiv Raten erschwert. Das erhöhte Mortalitätsrisiko durch operative Eingriffe bei falsch-positiven Patientinnen steht einer möglichen Risikoreduktion durch Screening-Maßnahmen entgegen. In der deutschen S3 Leitlinie von 2022 wird daher ein Screening weder in der Allgemeinbevölkerung noch in Risikogruppen empfohlen (Deutsche Krebsgesellschaft, 2022). Das Staging von Ovarialkarzinomen erfolgt nach TNM und FIGO-Kriterien und ist die Ausgangsbasis für weitere Therapieentscheidungen. Die FIGO-Stadien sind im Anhang in der Tabelle 15 dargestellt.

1.6 Therapiemöglichkeiten des high-grade serösen Ovarialkarzinoms

Nur in ca. 25-30% der Patientinnen gelingt die Diagnosestellung in einem frühen FIGO-Stadium von I bis IIA vor. Die Mehrzahl der Patientinnen zeigt ein fortgeschrittenes Stadium III oder IV. In allen Fällen soll ein gründliches operatives Staging erfolgen. Das Ziel der Operation ist die komplette Tumorresektion zu erreichen oder gegebenenfalls weitere Tumormanifestationen zu finden, die eine Anpassung der anschließenden systemischen Therapie zu Folge hätten. Das operative Staging erfolgt mittels einer Längsschnittlaparotomie und beinhaltet sowohl die Inspektion als auch die Palpation der gesamten Abdominalhöhle. Gewebeproben des Peritoneums sollten im Rahmen der Stagings entnommen werden.

Auch bei Patientinnen mit einem fortgeschrittenen Ovarialkarzinom ist das vorrangige Ziel die komplette Tumorresektion, denn mit der Entfernung des gesamten sichtbaren Tumorgewebes ergibt sich eine bessere Prognose für die Patientin. Gegebenenfalls müssen im Rahmen einer solchen Operation Darmabschnitte, Teile des Peritoneums oder des Omentums entfernt werden. Falls die operative Tumorfreiheit mit einer zu großen Morbidität einhergeht, ist das Operationsziel eine bestmögliche Reduktion der Tumormasse. In der Regel

erfolgt keine neoadjuvante Chemotherapie, wenn jedoch schon in der Operationsplanung sicher ist, dass keine makroskopische Tumorfreiheit erreicht werden kann, sollen präoperative Chemozyklen erwogen werden. Die Patientinnen profitieren in der Regel von einer postoperativen platinhaltigen Chemotherapie, auf die ausschließlich im FIGO Stadium IA Grad 1 verzichtet werden kann. Beim frühen Ovarialkarzinom sollte eine Carboplatin-Monotherapie erfolgen. Beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom FIGO IIB-IV besteht die Chemotherapie aus 6 Zyklen Kombinationschemotherapie mit Carboplatin und Paclitaxel. Zusätzlich kann ab FIGO IIB der monoklonale Antikörper Bevacizumab (Anti-VEGF Antikörper) gegeben werden. Die Erhaltungstherapie soll im FIGO Stadium III-IV mit Bevacizumab oder einem PARP („poly ADP ribose polymerase“) -Inhibitor (zum Beispiel Olaparib, Niraparid) oder einer Kombinationstherapie aus diesen beiden genannten Substanzen erfolgen. PARP-Inhibitoren zeigen bei HGSC mit homologer Rekombinationsdefizienz (HRD) und / oder BRCA1/2-Mutation ein gutes Ansprechen. Die PARP-Inhibitoren führen in diesen Tumoren zum Akkumulieren von DNA-Brüchen und so zum Zelltod der Tumorzellen.

Trotz optimaler Operation und Leitlinien-gerechter Chemotherapie liegt das Rezidivrisiko bei 70-80% (Schubert et al., 2022). Die strikte Einteilung in platin-sensibel (Rezidiv nach mehr als 6 Monaten nach Abschluss der platinhaltigen Chemotherapie) und platin-resistent (Auftreten des Rezidivs in weniger als 6 Monaten nach platinhaltiger Chemotherapie) verliert zunehmend an Bedeutung und die Entscheidung der jeweiligen Rezidivbehandlung hängt zusätzlich von Faktoren wie zum Beispiel dem BRCA- und HRD-Status ab. Einen Überblick über die Rezidivbehandlung beim Ovarialkarzinom bietet Abbildung 2.

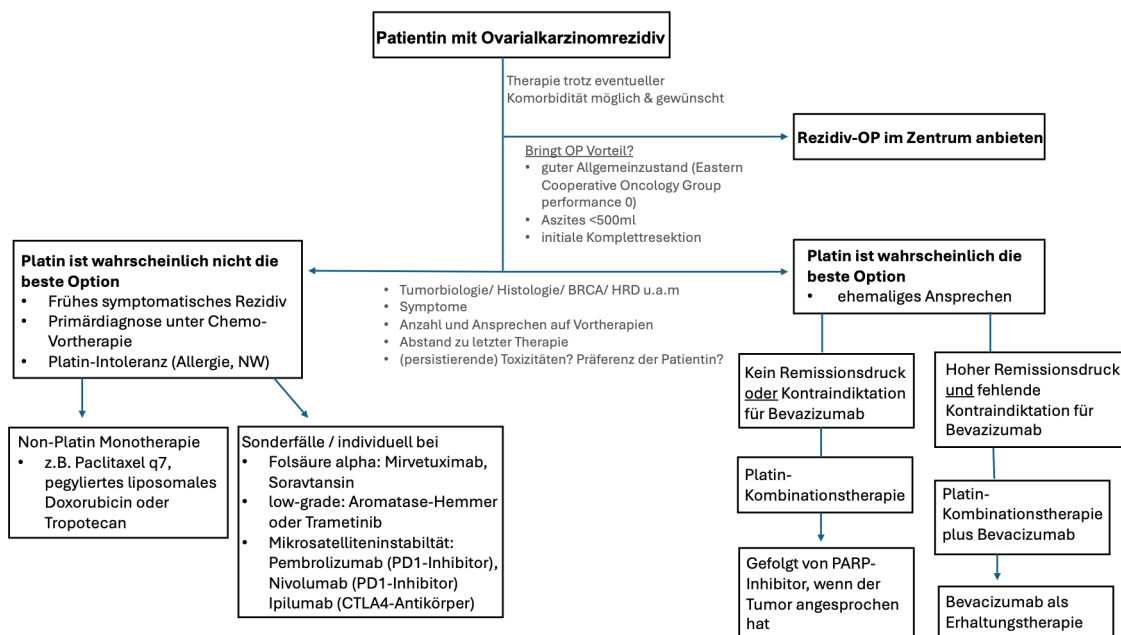


Abbildung 2: Therapiealgorithmus Ovarialkarzinom Rezidiv, modifiziert nach dem KEM
Therapiealgorithmus Ovarialkarzinomrezidiv (Harter and Kümmel, 02/25)

Im November 2024 wurde das Antikörper-Wirkstoff Konjugat Mirvetuximab Soravtansin zur Therapie von Platin-resistenten Ovarialkarzinomrezidiven mit bis zu drei Vortherapien neu von der EMA zugelassen. Der Antikörper bindet zielgenau an den Folatrezeptor- α (FR- α) und Patientinnen mit Platin-resistenten FR- α positiven Ovarialkarzinomen profitieren hinsichtlich des PFS und OS verglichen mit der Chemotherapie (Moore et al., 2023).

1.7 Immunsystem

Das Immunsystem nimmt mit der Abwehr von Bakterien, Viren, Pilzen und auch der Bekämpfung von entarteten Zellen eine Schlüsselrolle im Organismus ein. Studien zum Tumormikroenvironment zeigen, dass dem Immunsystem auch in Bezug auf maligne Neoplasien eine besondere Rolle als Abwehrmechanismus zukommt.

1.7.1 Unspezifisches Immunsystem

Das Immunsystem beinhaltet einen unspezifischen Teil, der eine schnelle und wenig zielgerichtete Immunantwort ermöglicht. Über sogenannte „Pattern Recognition Receptors“ (PRRs) können Makrophagen, Granulozyten, natürliche Killerzellen und dendritische Zellen Pathogene und entartete Zellen erkennen

und schnell bekämpfen. MHC-Rezeptoren werden von HLA-Genen codiert und sind Glykoproteine, auf denen Zellen Antigene präsentieren. Das angeborene Immunsystem kann so beispielsweise körpereigene von fremden Zellen unterscheiden. Über MHC-I-Rezeptoren werden Antigene präsentiert, die aus dem Inneren der Zelle stammen und sie finden sich auf fast allen kernhaltigen Zellen und auf Thrombozyten. Bei entarteten oder infizierten Zellen kann es zur Produktion von anderen Proteinen als gewöhnlich oder größeren Mengen gewöhnlicher Antigene kommen, die über MHC-I-Rezeptoren nach außen präsentiert werden. So können sie durch das Immunsystem als fremd erkannt und eliminiert werden. Über die MHC-I-Präsentation werden vorrangig $CD8^+$ T-Lymphozyten aktiviert, die bei der als fremd erkannten Zelle die Apoptose durch zytotoxische Substanzen oder über den Fas-Rezeptor auslösen. Neben den MHC-I-Rezeptoren tragen antigenpräsentierende Zellen wie Makrophagen, dendritischen Zellen und B-Zellen MHC-II-Rezeptoren auf ihrer Zellaußenseite. Über die MHC-II-Rezeptoren werden Antigene präsentiert, die aus dem Extrazellulärraum aufgenommen wurden. Die Antigen-präsentierenden Zellen sind über MHC-II-Rezeptoren in der Lage die weitere Reifung von $CD4^+$ Lymphozyten zu beeinflussen.

1.8 Spezifisches Immunsystem

Parallel zur unspezifischen Immunantwort wird auch die spezifische Immunantwort eingeleitet. Die spezifische Immunabwehr ist langsamer jedoch sehr zielgerichtet und eine so erworbene Immunität bleibt teilweise ein Leben lang bestehen. Das spezifische Immunsystem besteht vorrangig aus T- und B-Lymphozyten, die durch die Antigen-präsentierenden Zellen aktiviert werden, unter Einfluss verschiedener Zytokine reifen und sich klonal vermehren. Dabei werden Rezeptoren oder Antikörper gebildet, die exakt auf das präsentierte Antigen passen und so eine zielgerichtete Bekämpfung ermöglichen. T-Lymphozyten können zum einen als $CD8^+$ Lymphozyten wie oben beschrieben zytotoxisch wirken oder als $CD4^+$ T-Helferzellen die Immunantwort anderer Zellen verstärken oder als regulatorische T-Zellen (Treg) beispielsweise bei überschießenden Immunantworten hemmen. Ihre Reifung wird durch die Antigen-Präsentation und den Einfluss verschiedener inflammatorischer oder

auch inhibierender Zytokine bestimmt. B-Lymphozyten nehmen vor allem durch die Bildung von löslichen Antikörpern an der Bekämpfung der als fremd erkannten Zellen teil. B-Zellen zirkulieren im Blut und binden ihr passendes Antigen entweder direkt oder durch Antigen-präsentierende Zellen. Anschließend nehmen sie das Antigen auf und prozessieren es, um es dann über MHC-II auf ihrer Oberfläche passenden T-Zellen zu präsentieren, die die B-Zelle aktivieren können. Aktive B-Lymphozyten reifen und werden selektiert bis sich Plasmazellen bilden, die humorale Antikörper bilden können. Ein Teil der B-Zellen differenziert sich zu B-Gedächtniszellen, die eine langfristige Immunität bewirken und eine schnelle Immunreaktion bei erneutem Kontakt mit dem Antigen ermöglichen. Selten können B-Zellen auch ohne die T-Zell-abhängige Aktivierung Antikörper produzieren.

1.9 Hallmarks of Cancer – Immunescape und Tumormicroenvironment

Tumorerkrankungen sind multifaktoriell beeinflusst und komplex. Um sie besser zu verstehen, bieten Hanahan und Weinberg (2022) mit den Hallmarks of Cancer eine Übersichtsarbeit über die relevanten Mechanismen, die in Abbildung 3 zusammengefasst sind.

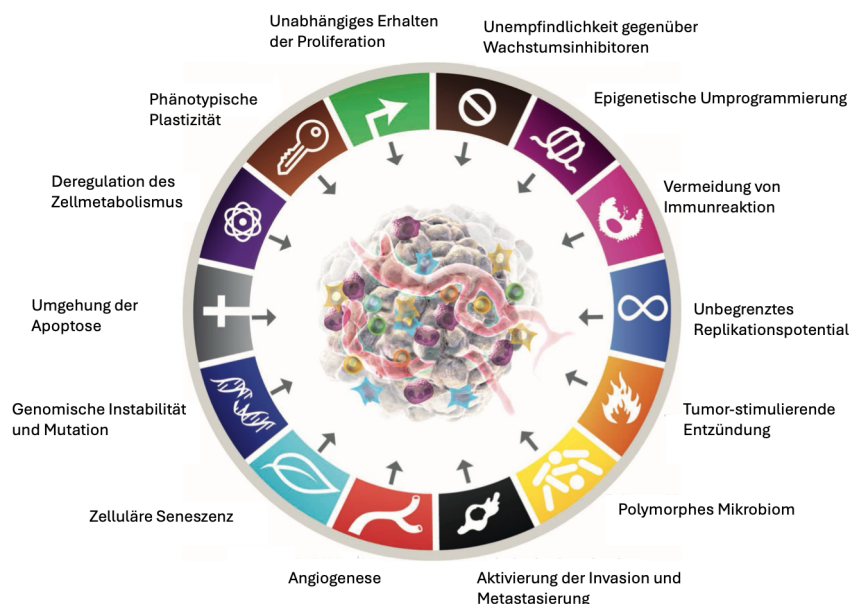


Abbildung 3: Hallmarks of Cancer, modifiziert nach Hanahan (2022)

Das Tumormicroenvironment (TME) spielt eine wichtige Rolle in der Tumorentstehung und -progression. Als TME beschreibt man die Umgebung von Tumorzellen, die aus verschiedenen Lymphozyten und inflammatorischen Zellen, Blutgefäßen, Fibroblasten, extrazellulärer Matrix und Signalmolekülen besteht. Die Interaktion der Tumorzellen mit den Komponenten des Tumor-Microenvironments spielt eine entscheidende Rolle in der Kontrolle des Tumors, des Tumorwachstums und der Invasion und Metastasierung der Tumorzellen. Das TME stellt also ein sehr komplexes System dar und bietet zahlreiche, vielversprechende therapeutische Ziele (Arneth, 2019).

Das Immunsystem ist relevant, um maligne Zellentartung zu verhindern oder die malignen Zellen zu bekämpfen. (Prä-)kanzerogenen Zellen präsentieren auf ihrer Oberfläche verschiedene Antigene, auf die das angeborene und erworbene Immunsystem reagieren kann, um so ihr Wachstum zu kontrollieren. Wenn die Elimination der malignen Zelle nicht gelingt, kann sie auch in einen kontrollierten, ruhenden Zustand versetzt werden. Der Selektionsdruck, dem die Tumorzellen so ausgesetzt sind, führt zu einer Auslese der immunogenen Tumorzellklone (Ackermann et al., 2014). Um dem Immunsystem zu entgehen, reduzieren oder verlieren Tumorzellen die präsentierten Oberflächenantigene und MHC-I-Komplexe, und können in der Folge schlechter vom Immunsystem erkannt werden. Außerdem können Tumorzellen über die Expression von PD-Ls (Ligand for programmed cell death) an ihrer Oberfläche die Apoptose von einwandernden Lymphozyten induzieren (Hamanishi et al., 2007).

Ein weiterer Mechanismus der Tumorzellen, sich vor Effekten der Immunantwort zu schützen, ist eine erworbene Resistenz gegenüber Fas-induzierter Apoptose (Rivoltini et al., 1998, Hamanishi et al., 2007). Der Tumor bildet außerdem immunsuppressive Faktoren wie Indoleamindioxygenase (IDO) und den transformierenden Wachstumsfaktor- β (TGF- β), was wiederum zu einer vermehrten Migration von regulatorischen T-Zellen führt (Coosemans et al., 2016, Tanizaki et al., 2014, Ackermann et al., 2014). Auch für das in dieser Arbeit untersuchte Protein Galektin-1 gibt es Studien, die zeigen, dass es über verschiedenen Mechanismen eine immunsupprimierte, den Tumorzellen

zuträgliche Umgebung schafft (Matarrese et al., 2005, Chen et al., 2017, Thijssen et al., 2015). Durch ein rasches Tumorwachstum mit gleichzeitigem Zellzerfall kommt es weiterhin zu einer chronischen Entzündungsreaktion im Tumorgewebe. Im TME werden auch aufgrund dieser Entzündungsreaktion vermehrt immunsuppressive Chemokine (wie z.B. CCL-2) gebildet, die wiederum eine verstärkte Einwanderung von regulatorischen T-Zellen, myeloiden Suppressorzellen und Monozyten bedingen (Kudo-Saito et al., 2013). Monozyten, die in den Tumor einwandern, differenzieren sich dort zunächst zu Makrophagen, die einen antitumoralen Phänotyp (M1) aufweisen. Bei rasch fortschreitendem Tumorwachstum kommt es zu einem hypoxischen Milieu, wodurch gemeinsam mit immunsuppressiven Faktoren ein Wechsel der Makrophagen zum M2-Phänotyp induziert wird, welcher immunsuppressiv wirkt und somit dem Tumor zuträglich ist (Noy and Pollard, 2014, Coosemans et al., 2016).

1.10 Tumor-infiltrierende B-Lymphozyten

Einen Teil des adaptiven Immunsystems bilden B-Lymphozyten. Ihre Hauptaufgabe besteht darin, Antikörper zu bilden. Sie können jedoch auch als antigenpräsentierende Zellen fungieren und so die T-Zellantwort beeinflussen. B-Zellen reifen im Knochenmark und ihre Differenzierung ist nicht zwingend antigenabhängig. Es gibt unter den B-Zellen Zentrozyten, Plasmazellen und B-Gedächtniszellen (Höfler G, 2019).

1.10.1 CD20⁺ B-Lymphozyten

In der B-Zell-Entwicklung wird das Protein CD20 ab dem späten Prä-B-Lymphozyten exprimiert, das CD20 Protein ist bei differenzierten Plasmazellen nicht mehr vorhanden (Pavlasova and Mraz, 2020). Die Wirkweise von CD20⁺ B-Zellen wurde unter anderem in Autoimmunreaktionen nach Organtransplantationen untersucht. Das Vorhandensein von CD20⁺ B-Zellen bei akuten Abstoßungsreaktionen nach Nierentransplantaten ist mit einem schlechteren klinischen Ausgang assoziiert (Hippen et al., 2005). Diese CD20⁺ B-Zellen zeigten keine Korrelation mit serologischen Antikörpern, was die Vermutung nahelegt, dass sie als Antigen-präsentierende Zellen und über die

Ausschüttung von Zytokinen auf die T-Zellen wirken (Zarkhin et al., 2008). Bei Allograft-Reaktionen wird nach Nierentransplantation Rituximab (CD20-Antikörper) eingesetzt und es wurden nach der Medikamentengabe sowohl weniger B-Zellen als auch weniger T-Zell-assoziierte Gene beobachtet (Lehnhardt et al., 2006). Diese Beobachtungen in Autoimmunreaktionen können gegebenenfalls ein Hinweis sein, wie CD20⁺ B-Zellen auch im Rahmen von Tumorerkrankungen im Immunsystem zusammen mit T-Lymphozyten wirken.

1.11 Langzeitüberlebende in HGSC und die Rolle von CD20⁺ B-Lymphozyten

Obwohl das 5-Jahresüberleben von Ovarialkarzinomen tendenziell schlecht ist, beobachtet man mit 15% eine Gruppe von Patientinnen, die mehr als 10 Jahre nach der Diagnose noch leben (Hoppenot et al., 2018). Die genaue Erkenntnisgewinnung über günstige Faktoren in der Gruppe der Langzeitüberlebenden ist durch einen relativen Mangel an verfügbaren Fällen erschwert. Es wurde vielfach gezeigt, dass TILs mit einem deutlich besseren Gesamtüberleben (overall survival, OS) assoziiert sind. Es ist prognoserelevant, welche Lymphozyten vorhanden sind. CD8⁺-Lymphozyten sind signifikant mit einem längeren OS in HGSC korreliert (Goode et al., 2017, Hwang et al., 2012). Auch das Vorkommen von CD20⁺ B-Zellen hat einen positiven prognostischen Faktor in HGSC (Milne et al., 2009). Dieser positive Einfluss von intraepithelialen CD8⁺-T-Zellen ist unabhängig von der optimalen, radikalen chirurgischen Zytoreduktion, dem BRCA-Mutationsstatus und dem Einsatz von Chemotherapeutika (Kandalaft et al., 2022). Weniger als 50% der Patientinnen mit einem epithelialen Ovarialtumor weisen jedoch intraepitheliale T-Lymphozyten auf und scheinen eine spezielle Gruppe bezogen auf den Einsatz potentieller Immuntherapien darzustellen (Kandalaft et al., 2022).

Nielsen et al. (2012) untersuchten außerdem CD20⁺ B-Zellen in HGSC und zeigten, dass der positive Einfluss von zytotoxischen, CD8⁺-T-Zellen auf die Überlebenszeit in Anwesenheit von CD20⁺ B-Lymphozyten signifikant größer ist. Verschiedene Studien zeigten überraschenderweise, dass eine hohe PD-L1-Expression mit tumor-infiltrierenden CD8⁺ Lymphozyten und einer günstigen Prognose korreliert (Webb et al., 2016, Mills et al., 2019, Høgdall et

al., 2020). Nelson et Al. (2024) untersuchten die Gruppe der Langzeitüberlebenden und beobachteten, dass diese Gruppe vorrangig ein kombiniertes Vorkommen von CD8⁺ T-Zellen, PD-1⁺ Immunzellen und CD20⁺ B-Zellen in Tumoren und einen hohen epithelialen Anteil aufweist.

1.12 Molekulare Subtypen und immunologische Einteilung von Ovarialkazinomen

Neben der histologischen Einteilung von Ovarialkarzinomen gibt es die Einteilung nach molekularen Subtypen und eine immunologische Einteilung, die HGSC feiner bezüglich ihrer Prognose untergliedert. Die Gruppe der HGSC lässt sich mittels Genexpressions- und Proteinexpressionsanalysen in vier, sich zum Teil überlappende molekulare Subtypen einteilen: immunoreaktiv (C2), differenziert (C4), proliferativ (C5) und mesenchymal (C1), die sich in ihren Eigenschaften unterscheiden. Der immunoreaktive Subtyp macht bis zu 20% der HGSC aus (Tothill et al., 2008, Verhaak et al., 2013). Die grundlegenden Eigenschaften dieser Subtypen sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Grundlegende Eigenschaften der vier molekularen Subtypen in HGSC: immunoreaktiv, differenziert, proliferativ und mesenchymal. Tabelle modifiziert nach Chen et al. (2018) und Leong et al. (2015)

	Immunoreaktiv	Differenziert	Proliferativ	Mesenchymal
Patientinnenalter	-61 Jahre	-55 Jahre	-64 Jahre	-59 Jahre
5 Jahres Überleben (%)	50%	34%	34%	20%
Prognose	Eher gut	Intermediär	Schlecht	Schlecht
Lymphozyten Infiltration	24%	41%	<5%	<5%
Neutrophilen Infiltration	-8%	-10%	<5%	<5%

Außerdem gibt es in HGSC, wie in vielen anderen soliden Tumoren, eine immunologische Klassifikation. Unterschieden werden die drei Gruppen immun-inflammatorische Tumoren (auch als „heiße“ Tumore bezeichnet), immunologisch ausgeschlossene Tumore und immunologisch kalte Tumore. Die Eigenschaften dieser drei Gruppen sind der Abbildung 4 zu entnehmen und stellen einen wichtigen Baustein in der Entwicklung und dem Verständnis von Immuntherapien in HGSC dar.

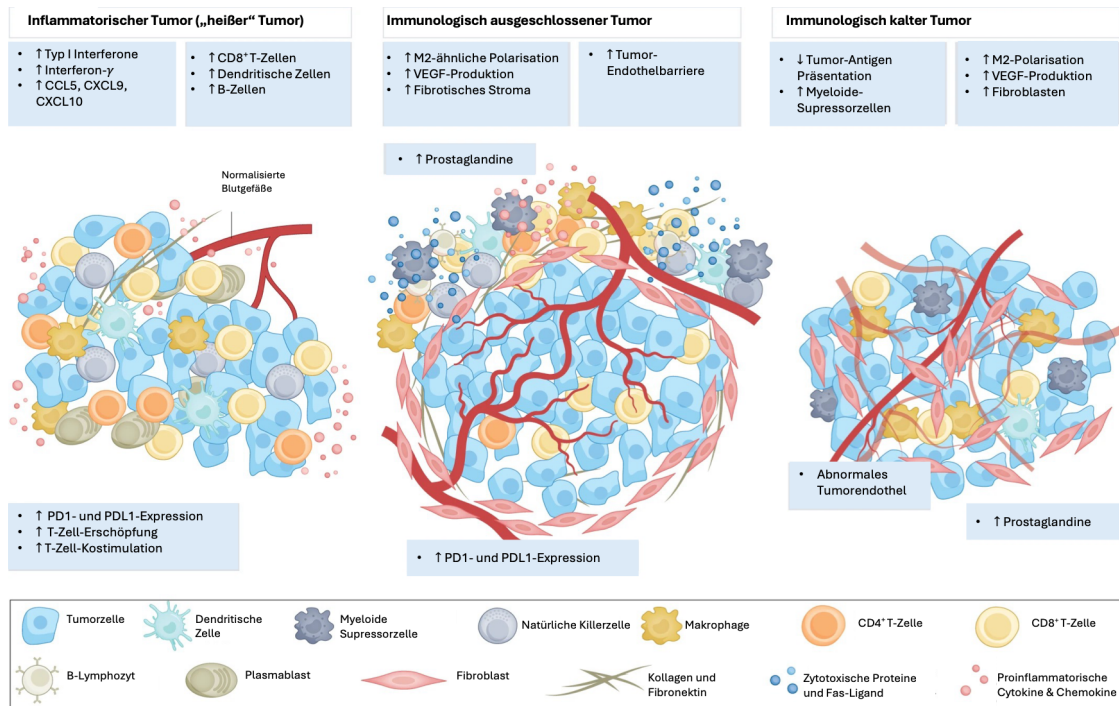


Abbildung 4: Klassifikation der Immunphänotypen von high-grade serösen Ovarialkarzinomen. Darstellung der Tumor-Mikroumgebung (engl.: Tumormicroenvironment) in inflammatorischen („heißen“) Tumoren, immunologisch ausgeschlossenen Tumoren und immunologisch kalten Tumoren. Modifiziert nach Kandalaft et al. (2022)

Bezüglich der molekularen Subtypen zeigte die CLOVAR (Classification of Ovarian Cancer) Studie von Chen et al. (2018), dass der immunoreaktive Subtyp mit der besten Prognose assoziiert ist und der mesenchymale Subtyp die schlechteste Prognose besitzt.

1.13 Antigen-Kandidaten für die Immunantwort im Ovarialkarzinom

Über HLA-Moleküle präsentierten Antigene auf der Zelloberfläche können zur gezielten Abtötung entarteter Zellen durch das Immunsystem führen. Tumorzellen präsentieren zum Teil Proteine (Tumorantigene), die mutiert oder überexprimiert sind oder normalerweise nicht von Zellen im adulten Organismus gebildet werden. Rammensee et al. (2013) benennen drei verschiedene Arten von Tumorantigenen: erstens gewebespezifische Antigene, zweitens überexprimierte Antigene und drittens mutierte Antigene. Besonders mutierte Antigene eines Tumors zu detektieren, die ausschließlich auf den entarteten Zellen exprimiert werden, bieten einen vielversprechenden Ansatz für Immuntherapien. Aber auch die Detektion und Erforschung von

gewebsspezifischen und überexprimierten Antigenen bieten relevante Erkenntnisse bezüglich der möglichen Entwicklung von Immuntherapien. Um potentielle Antigene in HGSC zu detektieren, wurde als Vorarbeit zu unserer Studie das Immunpeptidom auf Ovarialkarzinomen genau analysiert.

1.13.1 Immunpeptidom von Ovarialkarzinomen

Der Begriff Immunpeptidom bezeichnet die Gesamtheit der Antigene, die vom Immunsystem erkannt werden, und somit im Interesse der Forschung zu Immuntherapien in der Onkologie stehen. Die Arbeit von Schuster et al. untersuchte die spezifische Antigenpräsentation epithelialer Ovarialtumore und stellt einen wichtigen Ausgangspunkt unserer Analyse von Galektin-1 auf Proteinebene dar. Für eine T-Zell vermittelte Bekämpfung von Tumorzellen ist eine MHC-Expression auf der Tumeroberfläche notwendig. In der Arbeit wurde gezeigt, dass die Genexpression von allen Allelen der MHC I und MHC II Rezeptoren in EOC höher ist als in gesundem Gewebe. Es konnten 56 Top-HLA-Quellproteine detektiert werden, unter anderem MUC16, CRABP1/2, KLK10, IDO1 und LGALS1, wobei die beiden letzten schon in Zusammenhang mit immunevasiven Funktionen beschrieben wurden (Schuster et al., 2017).



Abbildung 5: Darstellung der über MHC-I präsentierten Antigene auf Ovarialkarzinomen als word cloud. Die Schriftgröße repräsentiert die Frequenz des Auftretens des Antigens auf Ovarialkarzinomen. Modifiziert nach Schuster et al. (2017)

Korrelationen zwischen dem Überleben und der Expression von Galektin-1 auf mRNA-Ebene zeigen eine signifikant schlechtere Prognose der Patientinnen, die eine hohe Expression von LGALS1 aufweisen (Abbildung 6).

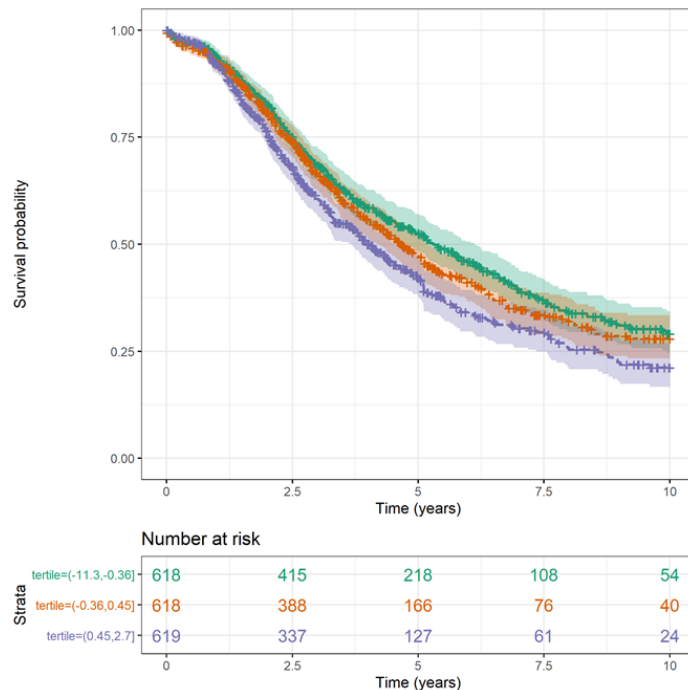


Abbildung 6: Korrelation von LGALS-1 Genexpression mit dem Überleben. Die Tertilenanalyse zeigt ein signifikant schlechteres 10-Jahresüberleben der oberen Tertile (hohe Galektin-1 mRNA-Menge, lilane Kurve) (bisher unveröffentlichte Daten des OTTA-Konsortiums)

Diese Analysen legen einen entscheidenden Einfluss von Galektin-1 in HGSC auf das Überleben nah. Es kann jedoch keine Aussage über das Vorkommen von Galektin-1 auf Proteinebene getroffen werden und es wird nicht zwischen hinsichtlich der Lokalisation unterschieden, intratumoral/epithelial gegenüber stromal, was in der vorliegenden Arbeit adressiert wird.

1.13.2 Galektin-1

LGALS-1 ist ein Gen, das für das Protein Galektin-1 kodiert. Galektine sind Proteine der Lektin-Superfamilie, sie nehmen vorrangig über Carbohydrat-Bindungsstellen Einfluss auf biologische Prozesse (Thijssen et al., 2015). Galektine unterscheiden sich beispielsweise von Transkriptionsfaktoren und Zytokinen dadurch, dass sie nicht an einen spezifischen Rezeptor, sondern an eine außen anhängende Kohlenhydratgruppierung von Proteinen, Lipiden und Peptiden binden und so Einfluss auf eine Vielzahl von Prozessen nehmen

(Schnaar, 2015). Galektin-1 ist ein sogenannter Prototyp der Galektine. Es besitzt eine Carbohydrat-Bindungsstelle, die eine Bindungsaffinität für β -Galaktoside aufweist. Galektin-1 liegt in der Regel als Homodimer vor und ermöglicht so die Verknüpfung von zwei Strukturen, die jeweils an eine Carbohydrat-Bindungsstelle binden können (Abbildung 7).

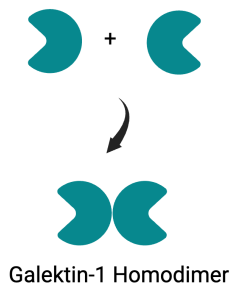


Abbildung 7: Galektin-1 ist ein Prototyp Galektin mit einer Carbohydrat-Bindungsstelle. Die Abbildung zeigt Galektin-1 vorliegend als Homodimer aus zwei Galektin-1 Proteinen. Erstellt mit Biorender.com

Galektin-1 wird im Zytosol an den Ribosomen gebildet und auch wenn ein spezieller Sekretionsmechanismus für das Protein fehlt, kommt es sowohl intra- als auch extrazellulär vor (Goud and Bhattacharya, 2021). Biologische Prozesse, auf die Galektin-1 Einfluss nimmt, sind zum Beispiel Zell-Zell- sowie Zell-Matrix-Bindungen und -Interaktionen (Elola et al., 2007). Elola et al. (2007) postulieren, dass Galektin-1 konzentrationsabhängig sowohl adhäsionsfördernd als auch adhäsionshemmend wirken kann. In geringen Konzentrationen kann ein lösliches Homodimer aus Galektin-1 Zellen an die extrazelluläre Matrix binden. Wenn zusätzlich gebundenes Galektin-1 an einer Zellmembran vorliegt, führt die hohe Konzentration von löslichem Galektin-1 zu einer verminderten Adhäsion zwischen Zelle und extrazellulärer Matrix (Elola et al., 2007). Eine vereinfachte Darstellung dieser beschriebenen Prozesse finden sich in den Abbildungen 8 und 9.

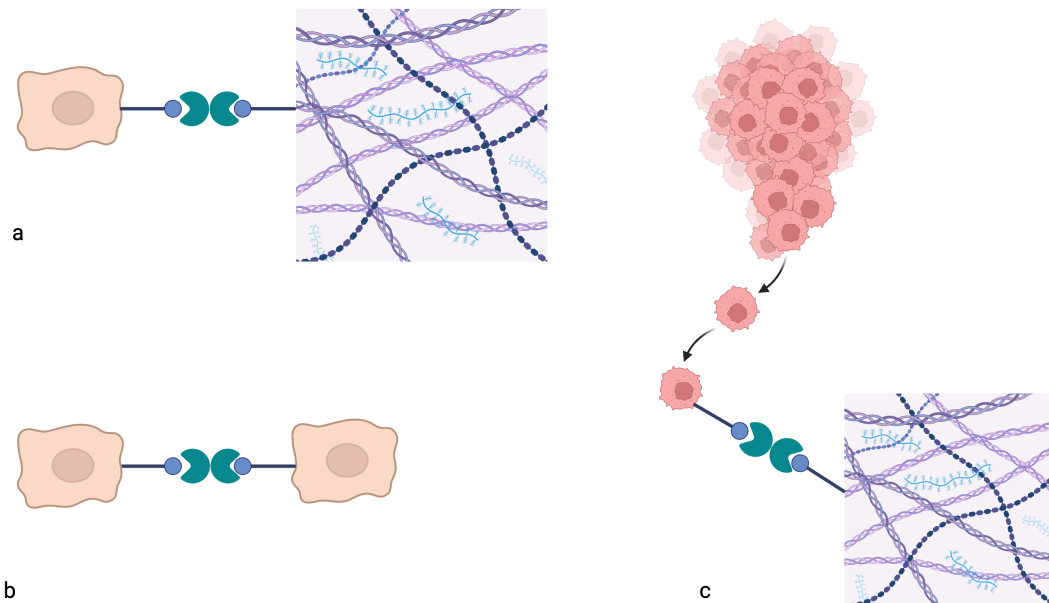


Abbildung 8: a) Galectin-1 ist an Zell-Matrix-Interaktion beteiligt; b) auch auf Zell-Zell-Kontakten hat Galectin-1 Einfluss; c) potentiell kommt Galectin-1 somit eine entscheidende Rolle in der Tumormetastasierung zu. Abbildung modifiziert nach Thijssen et al. (2015) ; Erstellt mit BioRender.com

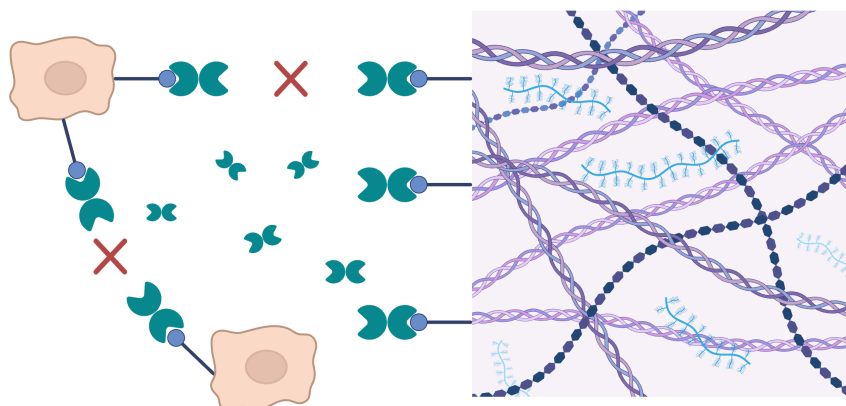


Abbildung 9: In hohen Konzentrationen kann Galectin-1 Adhäsionen zwischen Zellen bzw. Zelle und Matrix verhindern. Abbildung modifiziert nach Elola et al. (2007) und Cousin and Cloninger (2016); Erstellt mit BioRender.com

Galektin-1 kommt in vielen Tumorentitäten vermehrt vor und scheint vielfältigen Einfluss auf die Tumorentwicklung, -invasion und das Immunsystem zu nehmen. Es ist an der Bindung der Tumorzellen an die extrazelluläre Matrix und der Invasion von Tumorzellen beteiligt (Elola et al., 2007). Außerdem finden sich in der Literatur einige Studien zu dem immunsuppressiven Einfluss von Galektin-1 im Rahmen von malignen Tumorerkrankungen (Chen et al., 2019, Van Woensel et al., 2017). Der aktuelle Kenntnisstand der immunsuppressiven Eigenschaften von Galektin-1 wird in der Diskussion ausführlich erläutert und eingeordnet. In Rektumkarzinomen nimmt Galektin-1 außerdem positiven Einfluss auf vaskuläre Neubildungen und ist so wiederum an der Bildung eines dem Tumorwachstum zuträglichen Milieus beteiligt (Zhou et al., 2021).

Die genaue Rolle von Galektin-1 und sein Einfluss auf das Immunsystem im Rahmen einer Tumorerkrankung bedarf weiterer Forschung. Einen Beitrag zum Verständnis der Rolle von Galektin-1 in HGSC soll die vorliegende Arbeit leisten, die die Korrelation von Galektin-1 und Komponenten des Immunsystems in einem Kollektiv von 342 Fällen high-grade seröser Karzinome untersucht.

1.14 Ziele dieser Arbeit

Wie einleitend beleuchtet, stellt das Ovarialkarzinom einen potenziell hoch-immunogenen Tumor dar, der als Kandidat für potenzielle Immuntherapien in Frage kommt. Es mangelt jedoch weiterhin an grundlegenden Informationen über das Tumormicroenvironment von HGSC. Es wurde beobachtet, dass TILs (Tumor infiltrierende Lymphozyten) einen positiven prognostischen Einfluss haben; genaue Mechanismen in HGSC, die das Immunsystem beeinflussen und potenzielle Antigene, auf die die Lymphozyten reagieren könnten, sind jedoch weitestgehend unbekannt. Es existieren Vorarbeiten, die mittels HLA-Ligandomanalysen potenzielle Tumorantigene von Ovarialkarzinomen detektiert haben, wobei die Überexpression von LGALS-1 auf mRNA-Ebene einen negativ prognostischen Einfluss zeigte. Die vorliegende Arbeit soll in diesem Kontext wichtige Erkenntnisse zum Tumormicroenvironment, speziell Tumor-infiltrierenden CD20⁺ B-Zellen und dem potentiellen Tumorantigen Galektin-1 auf Proteinebene liefern. Ein Teil dieser Arbeit besteht in der

immunhistochemischen Untersuchung von CD20⁺ B-Lymphozyten, die sich an den folgenden zwei Fragestellungen orientierte:

- Sind CD20⁺ B-Zellen im Stroma oder im Tumorepithel in HGSC prognostisch günstig oder anders formuliert, spielt die Lokalisation der B-Lymphozyten eine entscheidende Rolle?
- Wird der positive Einfluss von CD8⁺ und CD4⁺ T-Zellen auf die Prognose bei gemeinsamem Auftreten mit CD20⁺ B-Zellen verstärkt?

Der zweite Teil der Arbeit beinhaltet die Analyse von Galektin-1, das sich in Genexpressionsdaten als vielversprechender prognostischer Faktor gezeigt hat. Die Anwendbarkeit als prognostischer Biomarker auf Proteinebene soll in der vorliegenden Arbeit untersucht werden. Die Leitfragen der Analyse der Galektin-1 Daten lauten:

- Ist die Expression von Galektin-1 auf Proteinebene im Tumor oder im Stroma ein negativer prognostischer Faktor bezüglich des Überlebens von Patientinnen mit HGSC?
- Besteht eine negative Korrelation von hohen Galektin-1 Werten und TILs?
- Besteht eine Korrelation der Galektin-1 Expression und weiteren klinischen Parametern neben dem Überleben?

Die Arbeit soll durch die Erhebung dieser Daten einen Beitrag leisten, um die Patientinnen zu charakterisieren, die von einer potenziellen zielgerichteten Immuntherapie profitieren könnten. Es sollen Informationen gewonnen werden, die auf der Suche nach Targets für die Entwicklung einer Immuntherapie für Patientinnen mit high-grade serösen Karzinomen wichtig sind.

Unsere Hypothesen sind zusammenfassend wie folgt:

- CD20⁺ B-Lymphozyten in HGSC korrelieren mit einem besseren Überleben
- Der an unserem Kollektiv bereits untersuchte positive prognostische Einfluss der CD4⁺ und CD8⁺ Lymphozyten wird bei gemeinsamen Vorkommen mit CD20⁺ verstärkt

- Das erhöhte Vorkommen des Proteins Galektin-1 ist in HGSC mit einem schlechteren Überleben und einer verminderten Anzahl von TILs korreliert

Um diese Fragestellungen zu adressieren, nutzten wir immunhistochemische Färbungen von CD20 und Galektin-1 an Gewebemikroarrays von einem gut charakterisierten retrospektiv zusammengestellten Kollektiv von HCGS und führten Kaplan-Meier-Überlebensanalysen durch.

2 Material und Methoden

2.1 Kollektiv

Für die Untersuchungen wurde ein bereits bestehendes und gut klassifiziertes Kollektiv verwendet. Dieses Kollektiv enthält insgesamt Daten von 412 high-grade serösen Karzinomen, die mittels des Algorithmus von Köbel et al. (2016) als high-grade seröse Histotypen (re)-klassifiziert wurden. Das Tumorgewebe stammt von Patientinnen, bei denen in den Jahren 2000-2016 an der Universitätsfrauenklinik Tübingen die Diagnose eines high-grade serösen Ovarialkarzinoms gestellt wurde und die nach der Leitlinie der AGO (Arbeitsgemeinschaft für gynäkologische Onkologie) mittels primärer Operation bzw. adjuvanter Chemotherapie behandelt wurden. Die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit schließen nur Patientinnen mit einem high-grade serösen Ovarialkarzinom ein, die keine neoadjuvante Chemotherapie erhalten haben. Über das Tübinger Krebszentrum wurden die Verlaufsdaten erfasst und zur Verfügung gestellt. Insgesamt standen für die durchgeführten CD20-Färbungen 345 Fälle und für die Galektin-1 Färbungen 342 Fälle aus dem genannten Kollektiv auf TMAs zur Verfügung. Für 342 Fälle der CD20-Färbung und 339 Fälle der Galektin-1-Färbung waren Überlebensdaten verfügbar.

2.2 Tissue Microarrays

Wie auch bei der Datenbank, konnte für diese Arbeit auf bereits bestehende tissue microarrays (TMAs) zurückgegriffen werden. Diese TMAs bestehen aus 6 bis 12 0,6mm durchmessenden Gewebe-Stanzen pro Patientin. Diese Stanzen wurden aus den in Paraffin eingebetteten Tumorproben gewonnen, nachdem die genaue Region von Interesse an einem HE-Ganzschnitt markiert wurde.

Falls eine Patientin beidseits ein Ovarialkarzinom aufwies, wurden 3-6 Stanzen je Seite auf den TMA aufgebracht. Um eine Orientierung auf dem TMA zu gewährleisten, befinden sich auf jedem TMA in der oberen linken Ecke 3 Stanzen aus Lebergewebe (siehe Abbildung 10). Außerdem wurden für interne Kontrollen zusätzliche Stanzen auf den TMA, bestehend aus Tuben- oder gesundem Ovarialgewebe aufgebracht. Durch die Verwendung dieser bestehenden TMAs war es möglich, an 14 Objektträgern high-grade seröses Tumorgewebe von zirka 345 Patientinnen mittels immunhistochemischer Färbung zu untersuchen.

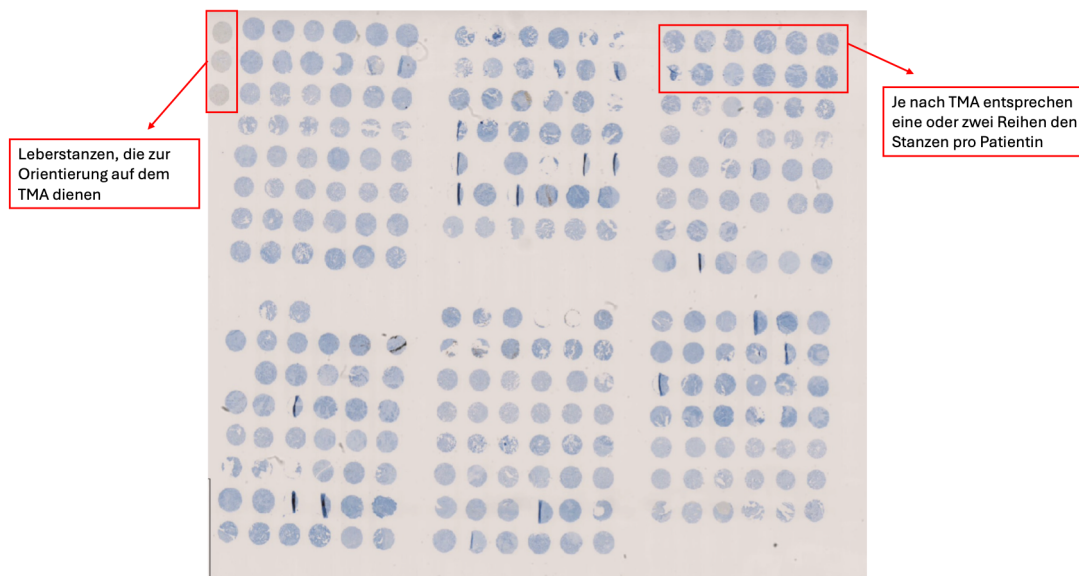


Abbildung 10: Beispielfhafte Abbildung eines der verwendeten TMAs (CD20-Färbung an TMA 52.2)

2.3 Immunhistochemie

2.3.1 Allgemeines Prinzip immunhistochemischer Färbungen

Das Prinzip der immunhistochemischen Färbung beruht auf der spezifischen Bindung eines Antikörpers an ein zu untersuchendes Protein. In dieser Arbeit wurde die LAB-Technik (labeled avidin-biotin-Technik) angewandt. Der erste Schritt der immunhistochemischen Färbemethode ist die Bindung eines hochaffinen Primärantikörpers an das Protein, das analysiert werden soll. Anschließend erfolgt die Bindung eines biotinylierten Sekundärantikörpers an den bereits gebundenen Primärantikörper. Danach wird dem Ansatz ein mittels Peroxidase markiertes Avidin zugefügt. Avidin bindet an das Biotin auf dem Sekundärantikörper und die Beimischung eines H_2O_2 -Chromogen-Komplexes führt zu einer Peroxidase-Reaktion, durch die Sauerstoff und H_2O freigesetzt werden. Das Chromogen, das verwendet wurde ist Diaminobenzin (DAB). Das DAB wird durch diese Oxidation aktiviert und lagert sich als brauner Farbstoff ab, wodurch das gesuchte Protein sichtbar wird (Mulisch, 2014).

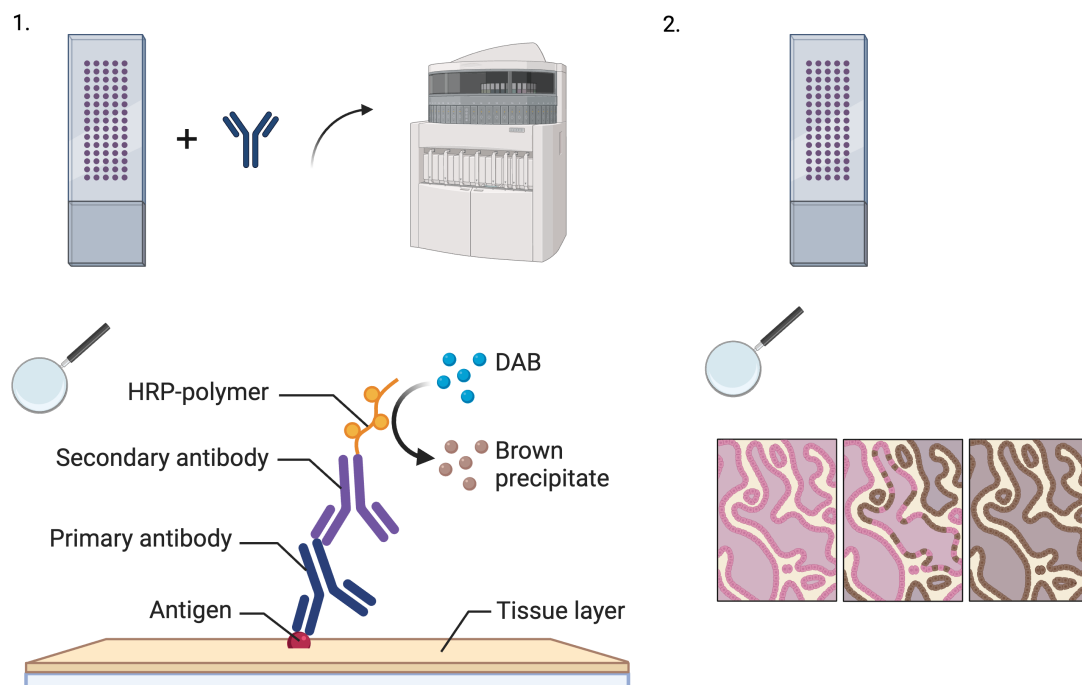


Abbildung 11: Darstellung der ABC Immunhistochemie angelehnt an Mulisch (2014); Erstellt mit Biorender.com

2.3.2 Immunhistochemie CD20

2.3.2.1 Immunhistochemische Färbung CD20

Die Immunhistochemische Färbung wurde im Diagnostiklabor des pathologischen Instituts der Universität Tübingen durchgeführt. Es erfolgte eine Vorbehandlung mit CC1 für 64 Minuten bei 100°C. Anschließend wurde die Inkubation mit dem Antikörper in der Verdünnung 1:1000 für 32 Minuten bei 37°C durchgeführt. Es wurde der CD20cy (Dako Omnis) monoklonale Maus anti-human Antikörper verwendet (Clone L26, diluent 1:1000, Dako/Agilent, on Ventana Benchmark XT). Als Kontrollgewebe fungierte Material aus der Tonsille.

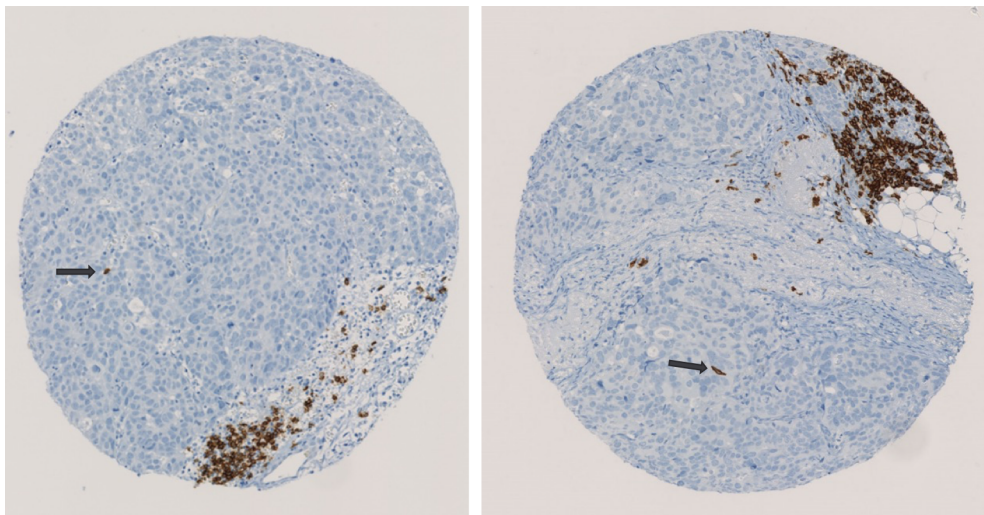


Abbildung 12: : Immunhistochemische Färbung CD20; lymphoide Aggregate in dem peritumoralen Bindegewebe; der schwarze Pfeil markiert intratumoral gelegene CD20⁺ B-Lymphozyten

2.3.2.2 Auswertung der immunhistochemischen CD20⁺ Färbungen

Die Auswertung erfolgte getrennt nach dem Vorkommen von CD20⁺ Lymphozyten im Stroma und im Tumor (intraepithelial). Es wurde ein Maximalwert sowie ein Minimalwert pro Core für jeden Fall dokumentiert und zusätzlich ein Mittelwert über alle auswertbaren Cores pro Fall errechnet.

Pro Patientin standen zwischen 6-12 Cores auf dem Gewebemikroarray zur Auswertung zur Verfügung. Teilweise fehlten einzelne Cores, zum Beispiel durch mangelhafte Fixierung oder das Fehlen von Tumor im ausgestanzten Bereich. Cores, die weniger als 20 Tumorzellen im Verbund aufwiesen, wurden nicht ausgewertet. CD20 ist ein Protein der B-Zelllinie, welches membranär und

zytoplasmatisch exprimiert wird. Eine kräftige immunhistochemische Färbereaktion ist hier wünschenswert und wird als positiv interpretiert. Um einen möglichst validen Wert der CD20⁺ B-Lymphozyten zu erzielen, wurden alle Auswertungen von Prof. Dr. Staebler, einer Expertin in Gynäkopathologie, reevaluiert. Zusätzlich wurde das Kollektiv auf das Vorkommen lymphoider Aggregate untersucht.

2.3.3 Immunhistochemie Galektin-1

2.3.3.1 Etablierung des LGALS-1 Färbeprotokolls

Um die Galektin-1 Färbung im Pathologischen Institut zu etablieren, optimierten wir zunächst das Färbeprotokoll an Schnitten mit einer hohen, mittleren und geringen Genexpression von LGALS-1. Die Fälle wurden anhand vorhandener mRNA-Genexpressionsdaten ausgesucht und mithilfe der Datenbank PASnet wurden die Blöcke identifiziert, auf denen sich ausreichend Tumorgewebe befand. Es erfolgte eine Re-Evaluation der Fälle durch Prof. Annette Staebler nach den folgenden Kriterien:

- Handelt es sich um ein high-grade seröses Ovarialkarzinom?
- Ist ausreichend Tumorgewebe vorhanden?
- Wie gut ist die Fixierung des Gewebes?

An vier Blöcken (zweimal hohe Galektin-1 Expression, einmal mittlere Expression, einmal niedrige Expression) erfolgte die Färbung mit dem Galektin-1 Antikörper in den Verdünnungen 1:3000, 1:4000, 1:5000, 1:6000 und 1:7000.

2.3.3.2 Immunhistochemische Färbung Galektin-1

Auch die Galektin-1 Färbungen erfolgten im Diagnostiklabor des pathologischen Instituts der Universität Tübingen. Die Verdünnung 1:6000 stellte sich als die geeignetste heraus. Es erfolgte eine Vorbehandlung mit CC1 für 64 Minuten bei 100°C. Anschließend wurde die Inkubation mit dem Antikörper in der Verdünnung 1:6000 für 32 Minuten bei 37°C durchgeführt. Es wurde der polyklonale Hasen Anti-human Galektin 1-AK ab25138 (abcam) verwendet. Als Kontrollgewebe fungierte Material aus dem Ovar, der Tube und der Bauchdecke.

2.3.3.3 Auswertung der immunhistochemischen Galektin-1 Färbungen

Die Auswertung erfolgte nach zwei verschiedenen semiquantitativen Scores.

Die Ausprägung der Färbung sowohl im Stroma als auch im Tumor (intraepithelial/intrastromal) wurde zunächst nach ihrer Intensität (0 = keine Färbung, 1 = leichte Färbung, 2 = moderate/mittelstarke Färbung, 3 = starke Färbung) ausgewertet (Abbildung 13). Dieser Score wird nachfolgend als Intensitäts-Score bezeichnet.

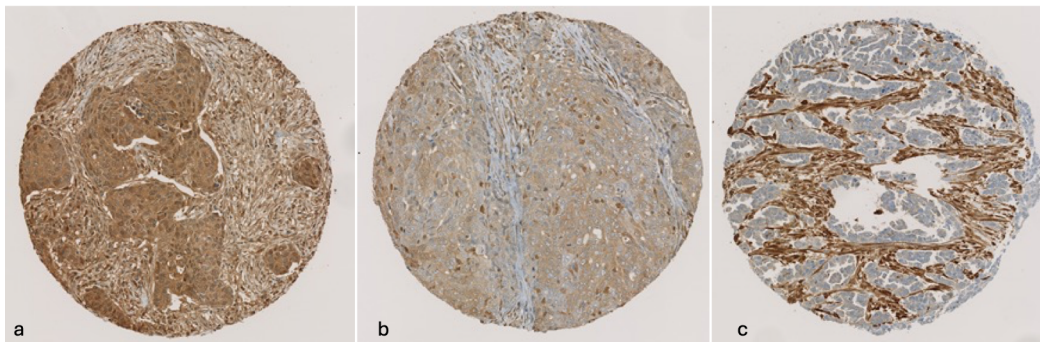


Abbildung 13: Beispielhafte Darstellung des Intensitäts-Scores der Galektin-1 immunhistochemischen Färbung; a) Stroma=3, Epithel= 3; b) Stroma=1, Epithel=2; c) Stroma=3, Epithel=1

Zusätzlich zum Intensitäts-Score wurde ein Prozent-Score zur Auswertung herangezogen. Dieser beschreibt, wieviel Prozent des jeweiligen Gewebes (Bindegewebe oder Tumorgewebe) in der Intensität, die im Intensitäts-Score angegeben wird, gefärbt ist und besitzt die Ausprägungen 0 bis 4 (Abbildung 14).

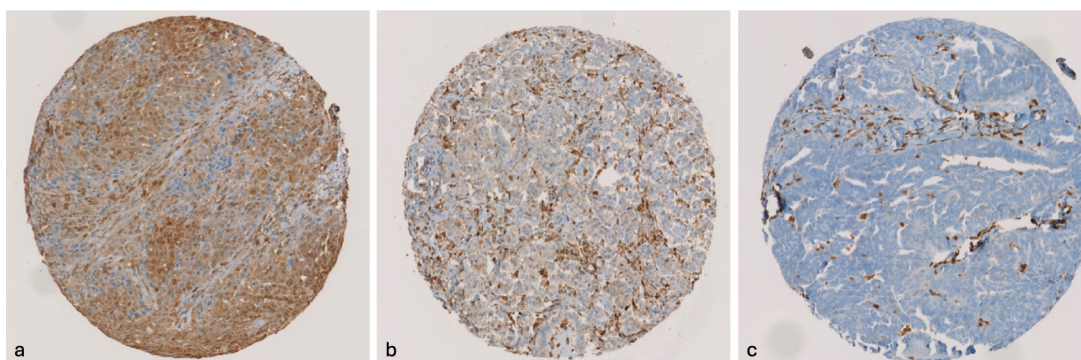


Abbildung 14: Beispielhafte Darstellung des Prozent-Scores der Galektin-1 immunhistochemischen Färbung; a) Stroma= 3 (Intensität 3), Epithel= 2 (Intensität 3); b) Stroma= 3 (Intensität 3), Tumor= 3 (Intensität 1); c) Stroma= 4 (Intensität 3), Tumor=0 (Intensität=0)

Die detaillierten Definitionen der Scores sind nachfolgend in Tabelle 3 zu finden. Um einen Score zu nutzen, der sowohl die Färbeintensität als auch die Menge der gefärbten Zellen abbildet, haben wir den Remmele-Score (IRS) als Produkt aus dem Intensitätsscore und dem Prozentscore gebildet (Remmele and Stegner, 1987).

Tabelle 3: Tabellarische Darstellung der möglichen Werte und ihrer Aussage der genutzten Scores, geordnet vom höchsten Wert oben zum niedrigsten Wert unten

Intensitätsscore <i>Wie intensiv ist die Färbung?</i>	Prozentscore <i>Wieviele Prozent der Zellen sind gefärbt?</i>	Remmele-Score <i>Intensitätsscore x Prozentscore</i>
3 = starke Färbung	4 = 81-100%	12
2 = moderate Färbung	3 = 51-80%	9
1 = schwache Färbung	2 = 11-50%	8
0 = keine Färbung	1 = 1-10%	6
	0 = 0%	4
		3
		2
		1
		0

Pro Fall wurde jeweils getrennt nach Stroma und Tumor für den Prozent- und Intensitätsscore ein Wert dokumentiert und zusätzlich ein Mittelwert über alle auswertbaren Cores pro Fall errechnet. So ergeben sich genaue Werte, die für einzelne Analysen gerundet wurden, um mit den entsprechenden Remmele-Scores rechnen zu können (Tabelle 4).

Tabelle 4: Gerundete Mittelwerte im Remmele-Score

Remmele-Score	Beinhaltete Mittelwerte
12	≥ 10,5
9	≥ 8,5 bis < 10,5
8	≥ 7 bis < 8,5
6	≥ 5 bis < 7
4	≥ 3,5 bis < 5
3	≥ 2,5 bis < 3,5
2	≥ 1,5 bis < 2,5
1	≥ 0,5 bis < 1,5
0	0 bis < 1,5

Um ein möglichst valides Scoring der Galektin-1 Färbung zu erreichen, wurden alle Auswertungen von Dr. Fischer, Fachärztin für Pathologie mit dem klinischen Schwerpunkt Gynäkopathologie, reevaluiert.

2.4 Statistik

2.4.1 Statistische Analyse CD20⁺ B-Lymphozyten

Die statistische Auswertung erfolgte mittels dem Programm SPSS (IBM SPSS Statistics, Chicago). Es wurde für jeden Fall mit den Mittelwerten für das Stroma und das Epithel aller ausgewerteten Cores gerechnet. Die erhobenen Daten sind in Tabelle 16 im Anhang veranschaulicht. Aus diesen eingetragenen Daten wurden Untergruppen gebildet, die anschließend in den Bezug zum Überleben und weiteren klinischen Parametern gesetzt wurden. Als signifikant wurden p-Werte von <0,05 definiert.

2.4.2 Statistische Analysen der Galektin-1 Daten

Die Galektin-Daten wurden statistisch ebenfalls mithilfe des Programms SPSS (IBM SPSS Statistics, Chicago) analysiert. Im Anhang findet sich Tabelle 17, die zusammenfasst, wie die erhobenen Rohdaten in SPSS übertragen wurden. Wie bei den statistischen Analysen der CD20⁺ B-Lymphozyten, wurden aus den Galektin-1-Daten Untergruppen gebildet, die anschließend in den Bezug zum Überleben, dem Vorkommen von Lymphozyten und weiteren klinischen Parametern gesetzt wurden. Als signifikant wurden p-Werte von <0,05 definiert.

3 Ergebnisse

3.1 CD20⁺ B-Lymphozyten

3.1.1 CD20⁺ B-Zellen infiltrieren vorrangig das Stroma, aber auch das Epithel in HGSC

CD20⁺ B-Lymphozyten konnten in dem vorliegenden Kollektiv (n=345) sowohl im Stroma als auch im Tumor detektiert werden. 273 Fälle (78,82%) wiesen mindestens einen CD20⁺ B-Lymphozyten im Stroma auf. Die Verteilung der CD20⁺ B-Lymphozyten im Stroma ist in der Abbildung 15 dargestellt.

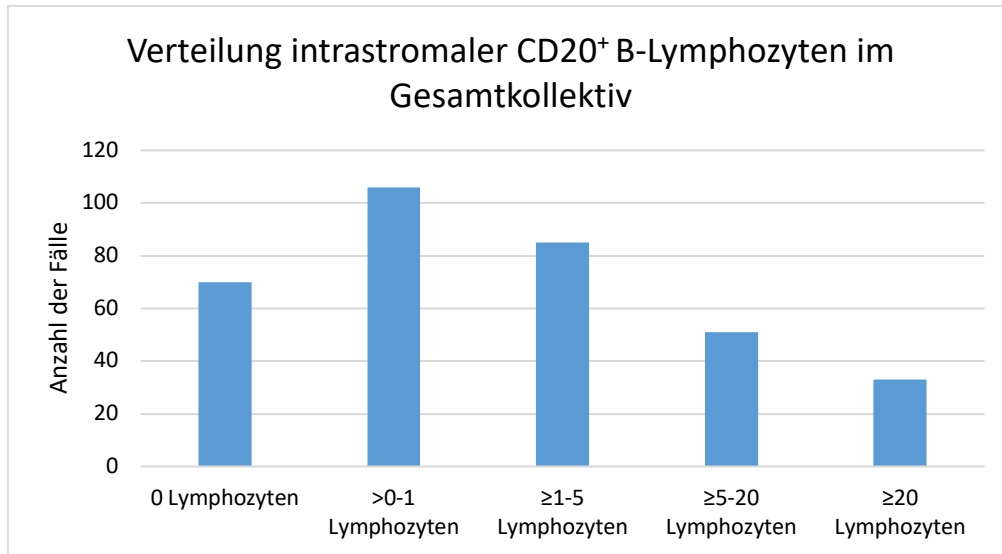


Abbildung 15: Gruppierte Darstellung der Verteilung intrastromaler CD20⁺ B-Zellen im Stroma in HGSC (n=345); Gruppe 1: 0 Lymphozyten (n=70, 20,3%), Gruppe 2: >0-1 Lymphozyten (n=106, 30,70%), Gruppe 3: ≥1-5 Lymphozyten (n=85, 24,6%), Gruppe 4: ≥5- 20 Lymphozyten (n=51, 14,8%) Gruppe 5: ≥20 Lymphozyten (n=33, 9,6%)

Im Tumorgewebe wiesen 139 Fällen (40,3%) mindestens einen CD20⁺ B-Lymphozyten auf, ihre Verteilung ist in Abbildung 16 dargestellt.

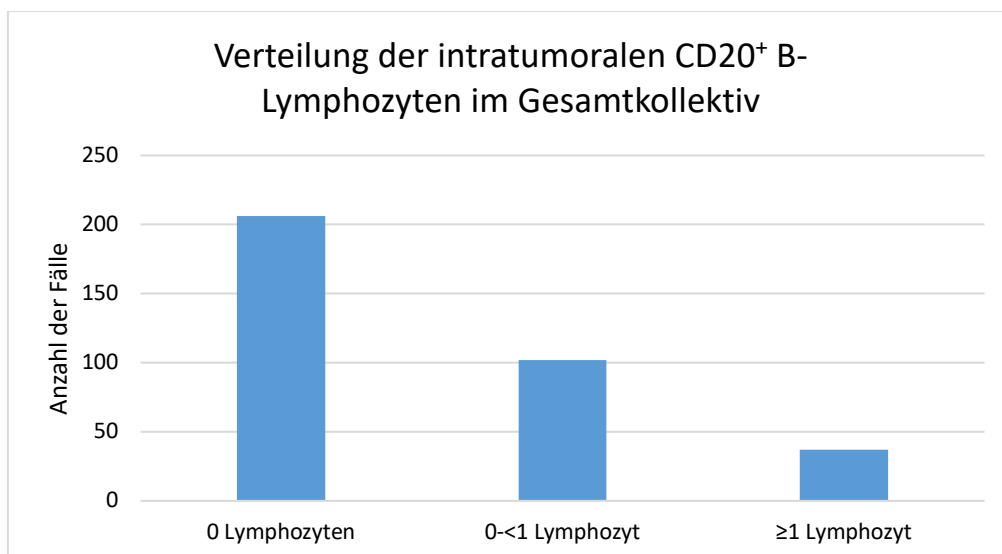


Abbildung 16: Gruppierte Darstellung der Verteilung intratumoraler CD20⁺ B-Zellen in HGSC (n=345); Gruppe 1 (n=206, 59,7%) 0 Lymphozyten, Gruppe 2 (n=102, 29,6%) >0- <1, Gruppe 3 (n=37, 10,7%) ≥1 Lymphozyten

Im Zuge der Auswertung CD20⁺ B-Lymphozyten erfolgte die Identifizierung von lymphoiden Aggregaten. In 28 von 345 Fällen (8,1%) konnten wir lymphoide Aggregate (LA) detektieren. Diese waren ausschließlich im Stroma also peritumoral lokalisiert. Intraepithelial konnten keine LA in dem untersuchten Kollektiv nachgewiesen werden.

3.1.2 CD20⁺ B-Lymphozyten haben einen positiven Einfluss auf das Gesamtüberleben

3.1.2.1 Das Vorkommen von CD20⁺ B-Lymphozyten ist sowohl im Stroma als auch im Tumor prognostisch günstig

Für 342 der insgesamt 345 immunhistochemisch untersuchten Fälle lagen Überlebensdaten vor, anhand derer Kaplan-Meier Analysen durchgeführt wurden. Alle Überlebensanalysen der CD20-Färbung sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Unsere Analysen zeigen, dass bereits das Vorkommen eines CD20⁺ Lymphozyten auf einem Core, ganz gleich ob intratumoral oder stromal, einen prognostisch signifikanten, positiven Einfluss auf das Überleben der Patientinnen mit HGSC hat. Fälle mit mindestens einem CD20⁺ B-Lymphozyten im Tumor oder peritumoralen Bindegewebe zeigten ein signifikant besseres Gesamtüberleben (im Stroma $p=0,012$; im Tumor $p<0,001$). Die Überlebenskurven können Abbildungen 17 und 18 entnommen werden.

3.1.2.1.1 Medianes Überleben bei stromalen vs. intraepithelialen CD20⁺ B-Zellen

Fälle, die mehr als null intraepitheliale CD20⁺ B-Lymphozyten aufwiesen, (Gruppe 2) zeigten ein medianes Überleben von 1442 Tagen, wohingegen Patientinnen ohne intraepitheliale CD20⁺ B-Lymphozyten (Gruppe 1) mit im Median 927 Tagen eine deutlich schlechtere Prognose hatten ($p<0,001$, Abbildung 17). Auch bezogen auf die Untersuchung von CD20⁺ B-Lymphozyten im Stroma zeigte sich ein 190 Tage längeres medianes Überleben der Gruppe, in der stromale CD20⁺ B-Lymphozyten vorkamen (Gruppe 2), verglichen mit der Gruppe 1 in der das mediane Überleben 937 Tage betrug ($p=0,012$, Abbildung 18).

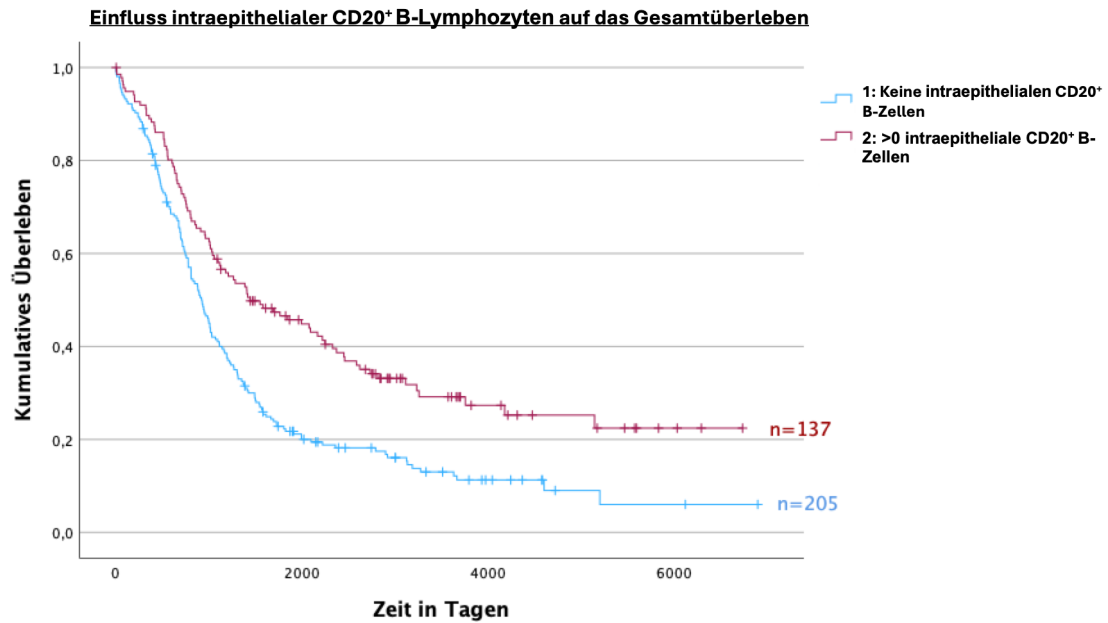


Abbildung 17: Überlebenskurven bei Vorkommen intratumoraler CD20⁺ B-Lymphozyten verglichen mit Fällen ohne intratumorale CD20⁺ B-Lymphozyten, $p < 0,001$

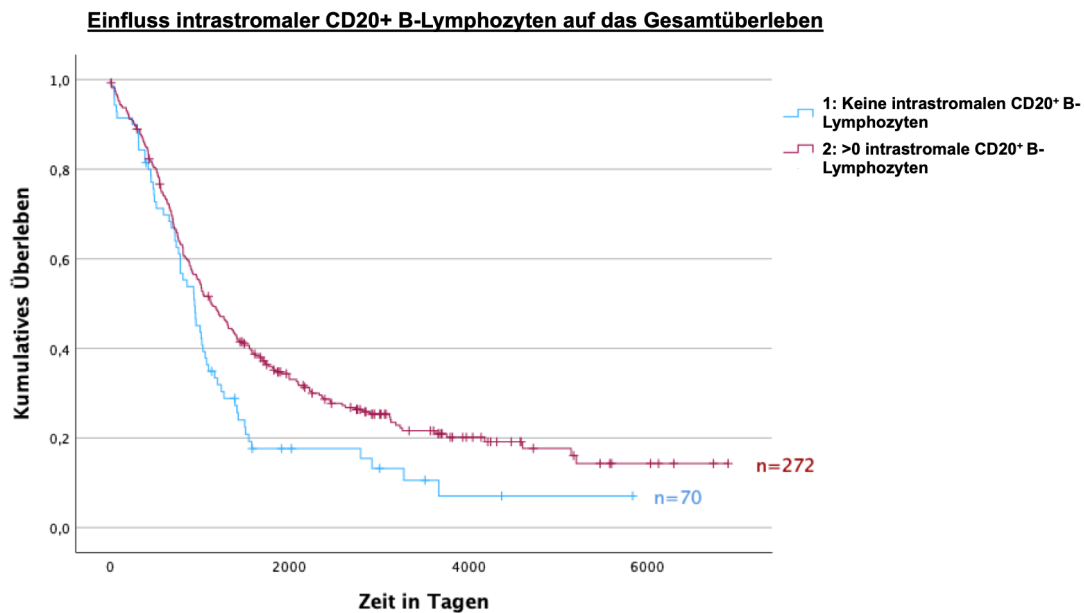


Abbildung 18: Überlebenskurven bei Vorkommen intrastromaler CD20⁺ B-Lymphozyten verglichen mit Fällen ohne CD20⁺ B-Lymphozyten im Stroma, $p = 0,012$

3.1.2.2 Die Anzahl von CD20⁺ B-Lymphozyten im Stroma korreliert mit der Prognose

Im peritumoralen Stroma zeigte sich, dass es einen signifikanten ($p=0,003$) Unterschied machte, wie viele CD20⁺ B-Lymphozyten vorhanden sind. Anhand der Mittelwerte pro Fall wurden praktisch anwendbare Cut-Offs gewählt (0 und 5) und so drei Gruppen gebildet um die Überlebenszeit miteinander zu vergleichen. Fälle, die mehr als 5 intrastromale CD20⁺ B-Lymphozyten aufwiesen ($n=70$), überlebten am längsten. Diese Gruppe (Gruppe 3) wies das beste mediane Gesamtüberleben mit 1409 Tagen auf, 398 Tage mehr als Gruppe 2 und 472 Tage mehr als Gruppe 1, in der keine CD20⁺ Lymphozyten im Stroma aufzufinden waren ($p=0,003$, Abbildung 19).

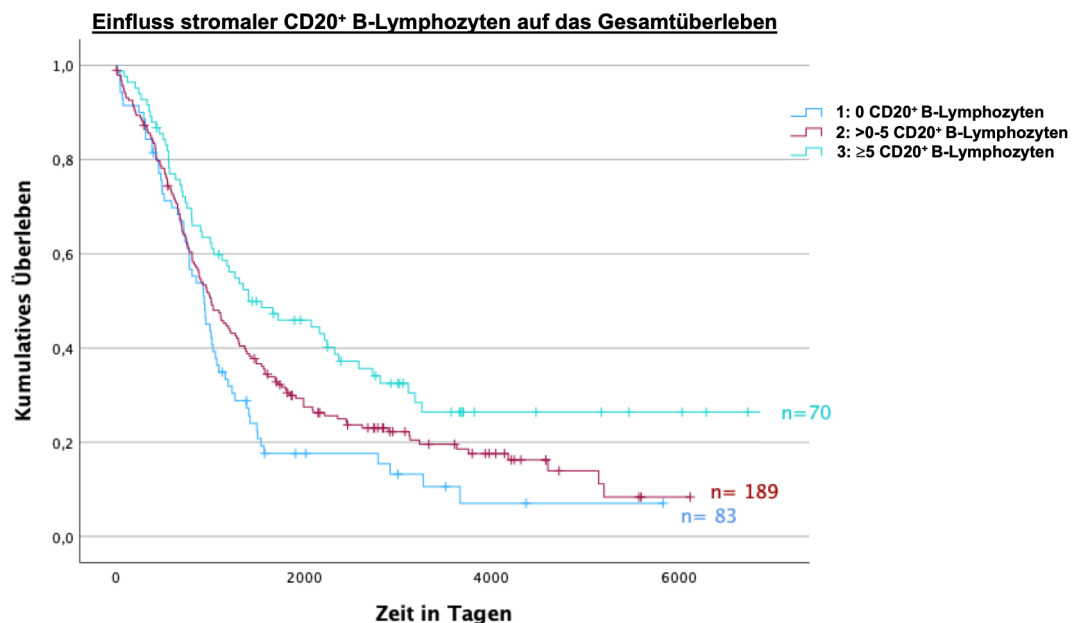


Abbildung 19: Überlebenskurven der 3 Gruppen mit unterschiedlicher Anzahl von intrastromalen CD20⁺ B-Lymphozyten (1: 0 CD20⁺ B-Lymphozyten; 2: >0-5 CD20⁺ B-Lymphozyten; 3: ≥5 CD20⁺ B-Lymphozyten; $p=0,003$)

3.1.2.3 Hohe Maximalwerte von stromalen CD20⁺ B-Lymphozyten sind prognostisch günstig

Neben den Mittelwerten wurden auch Maximalwerte der Fälle zur Überlebensanalyse herangezogen. Es wurden die Maximalwerte für stromale CD20⁺ in zwei Gruppen zusammengefasst und verglichen (Wertespanne von 0 bis 140 CD20⁺ stromale Lymphozyten). Fälle, die einen Core mit mehr als 20 CD20⁺ B-Lymphozyten im Stroma aufwiesen, überlebten signifikant länger als Fälle mit geringeren Maximalwerten ($p=0,003$, medianes Gesamtüberleben 1407 Tage gegenüber 989 Tage, Abbildung 20).

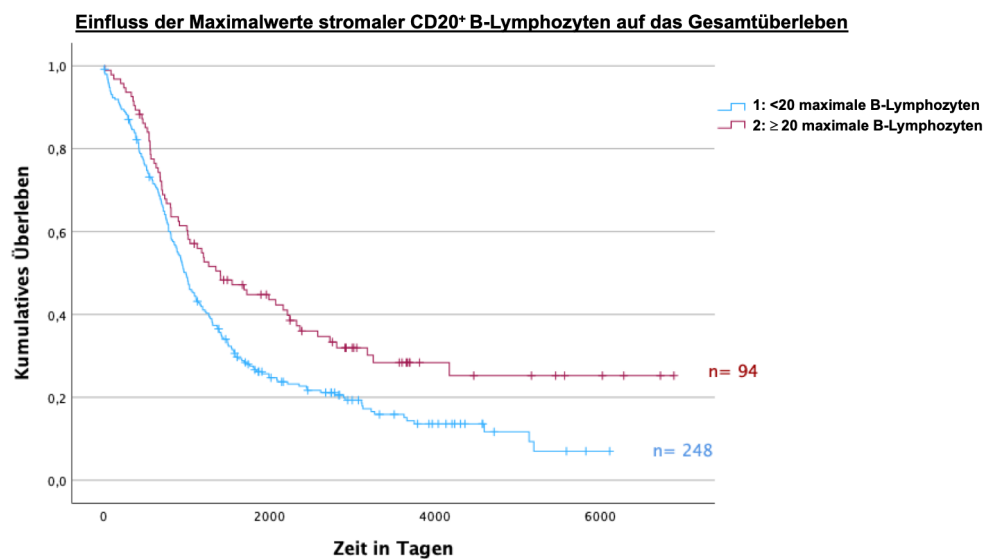


Abbildung 20: Überlebenskurven von 2 Gruppen mit unterschiedlichen Maximalwerte intrastromaler CD20⁺ B-Lymphozyten (1: <20 max. CD20⁺ B-Lymphozyten; 2: ≥ CD20⁺ B-Lymphozyten; $p=0,003$)

3.1.2.4 Das Vorkommen lymphoider Aggregate ist prognostisch günstig

In unserem Kollektiv ($n=342$) identifizierten wir außerdem 28 Fälle (8,1%), die lymphoide Aggregate (LA) aufwiesen. Die lymphoiden Aggregate waren ausschließlich im Stroma lokalisiert. Das mediane Gesamtüberleben betrug bei Fällen mit lymphoiden Aggregaten 1728 Tage, wohingegen bei Fällen ohne lymphoide Aggregate (Gruppe 2) das mediane OS (Overall Survival) mit 1011 Tagen signifikant kürzer war ($p=0,033$, Abbildung 21).

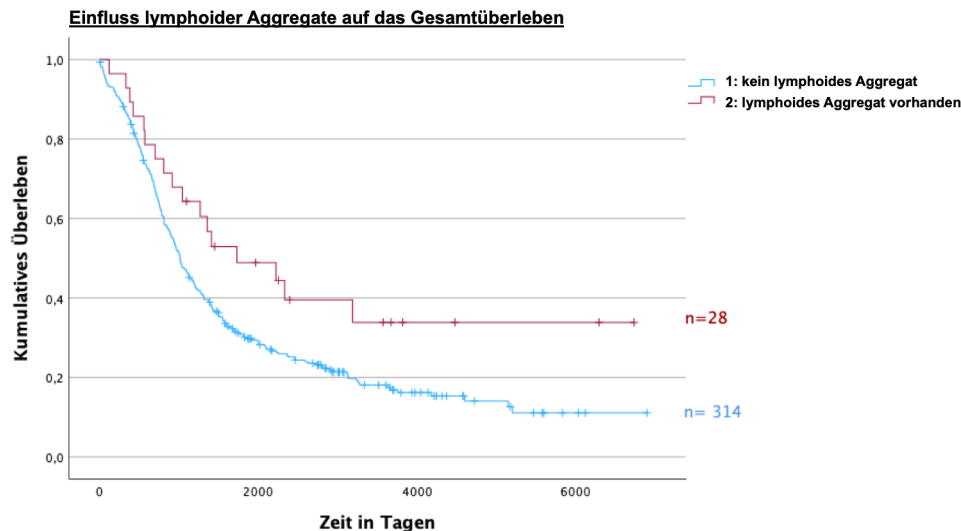


Abbildung 21: Darstellung der Überlebenskurven von Fällen, die lymphoide Aggregate aufweisen (Gruppe 1) und Fällen, die keine lymphoiden Aggregate aufweisen (Gruppe 2), $p=0,033$

3.1.3 Ko-Existenz von CD8⁺ T-Lymphozyten neben CD20⁺ B-Zellen

3.1.3.1 Der prognostische Einfluss von CD8⁺ T-Lymphozyten ist größer, wenn gleichzeitig CD20⁺ B-Lymphozyten vorkommen

Unsere vergleichenden Analysen von CD20⁺ B-Lymphozyten und CD8⁺ T-Zellen aus der vorangegangenen Arbeit von N. Neudeck zeigten, dass der prognostisch günstige Einfluss von intraepithelialen CD8⁺ T-Lymphozyten signifikant größer ist, wenn sie gemeinsam mit CD20⁺ B-Lymphozyten auftreten.

Zunächst erfolgte die Einordnung der Mittelwerte von CD8⁺ und CD20⁺ in 3 Gruppen: hoch (1), mittel (2), und niedrig (3). Dies geschah mithilfe von Tertilenanalysen für CD8 und einer Zweiergruppierung für CD20⁺ B-Zellen (CD20⁻ vs. CD20⁺). Die Cut-Offs der Lymphozyten in den 3 Gruppen sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Cut-Offs der CD8⁺ und CD20⁺ Lymphozyten in Gruppen 1-3

Anzahl der intratumoralen Lymphozyten	Gruppe 1: CD8 ⁺ /CD20 ⁺	Gruppe 2: CD8 ⁺ /CD20 ⁻	Gruppe 3: CD8 ⁻ /CD20 ⁺ oder CD20 ⁻
CD8 ⁺	>10	>10	≤ 10
CD20 ⁺	≥ 0,4	≤ 0,4	alle Werte

Die Gruppe 1 mit gleichzeitigem Vorkommen von CD8⁺- und CD20⁺-Lymphozyten wies ein medianes OS von 2167 Tagen auf. Das bedeutet ein 1049 Tage längeres OS als bei alleinigem Vorkommen von CD8⁺-Lymphozyten, bei denen das OS median 1118 Tagen betrug. Die Gruppe 3, in der keine CD8⁺-Lymphozyten vorkamen, zeigte mit einem medianen OS von 927 Tagen das signifikant schlechteste Überleben ($p < 0,001$, Abbildung 22).

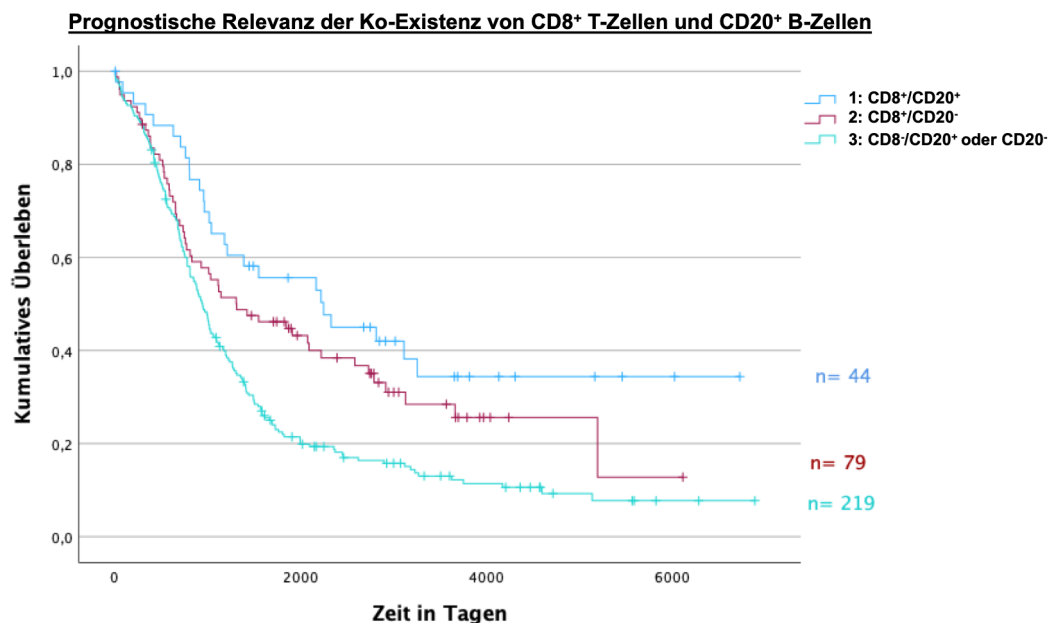


Abbildung 22: Einfluss der intraepithelialen CD20⁺ B-Lymphozyten auf die prognostische Aussagekraft der intraepithelial vorkommenden CD8⁺ T-Lymphozyten; Gruppe 1: Top Tertile CD8⁺ und höchste Gruppe CD20⁺; Gruppe 2: Top Tertile CD8⁺ und niedrigste zwei Gruppen CD20⁺; Gruppe 3: niedrigsten zwei Gruppen CD8⁺ und alle CD20⁺ Gruppen; $p < 0,001$

3.1.3.2 CD4⁺ T-Lymphozyten zeigen einen entscheidenden Einfluss auf die Prognose, insbesondere bei gemeinsamen Vorkommen mit CD8⁺ und CD20⁺ Lymphozyten

Dieser positive prognostische Effekt des gemeinsamen Vorkommens von CD8⁺ mit CD20⁺-Lymphozyten wird durch das zusätzliche Vorhandensein von CD4⁺ Lymphozyten nochmal verstärkt. Es wurden vier Gruppen gebildet, deren Cut-Offs der Tabelle 6 zu entnehmen sind.

Tabelle 6: Cut-Offs der CD4⁺, CD8⁺ und CD20⁺-Lymphozyten in den Gruppen 1-4

Anzahl der intratumoralen Lymphozyten	Gruppe 1: CD8 ⁺ /CD20 ⁺ /CD4 ⁺	Gruppe 2: CD8 ⁺ /CD20 ⁺ /CD4 ⁺	Gruppe 3: CD8 ⁺ /CD20 ⁻ /CD4 ⁺ oder -	Gruppe 4: CD8 ⁻ /CD20 ⁺ oder - / CD4 ⁺ oder -
CD8 ⁺	> 10	> 10	> 10	≤ 10
CD20 ⁺	> 0,4	> 0,4	≤ 0,4	alle Werte
CD4 ⁺	≥ 10	< 10	alle Werte	alle Werte

Die Gruppe 1, die alle Lymphozyten intratumoral aufwies, zeigte das längste OS. Sie profitiert von einem 1871 Tage längeren medianen Gesamtüberleben im Vergleich zur Gruppe 4, die keine CD8⁺ TILs aufwies ($p < 0,001$; Abbildung 23; Tabelle 7).

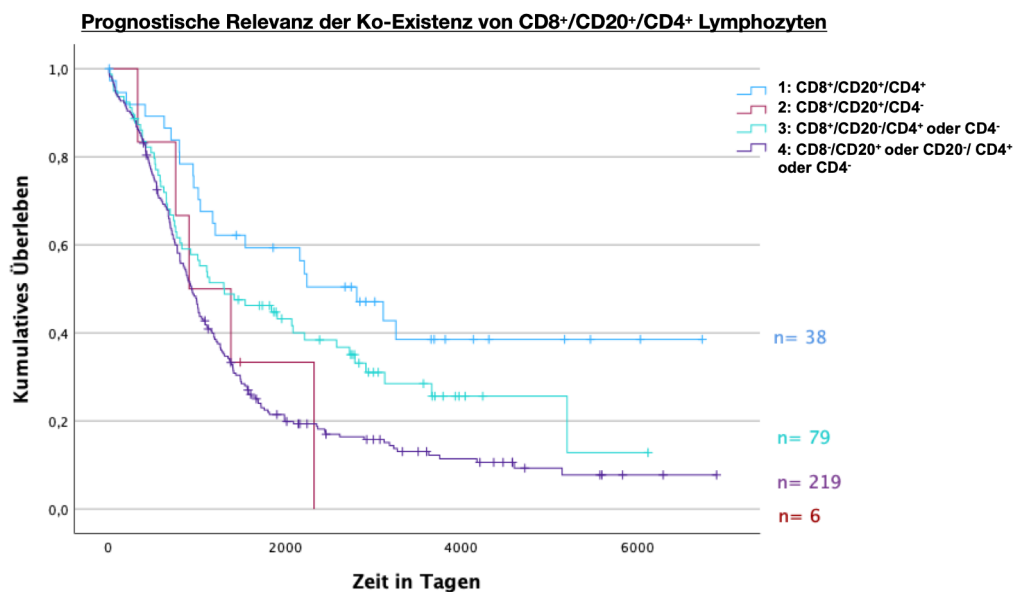


Abbildung 23: Einfluss der intraepithelialen CD4⁺ T-Lymphozyten auf die prognostische Aussagekraft der intraepithelial vorkommenden CD8⁺ und CD20⁺ Lymphozyten; Gruppe 1: Top Tertile CD8⁺ und höchste Gruppe CD20⁺ und CD4⁺; Gruppe 2: Top Tertile CD8⁺ und niedrigste zwei Gruppen CD20⁺ und CD4⁺; Gruppe 3: niedrigsten zwei Gruppen CD8⁺ und alle CD20⁺ Gruppen; $p < 0,001$

Tabelle 7: Zusammenfassung Überlebensanalysen CD20- Färbung

Gruppe	Lymphozyten	5-JÜL	10-JÜL	Medianes OS	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall	p	Überlebenskurve Abbildung
1 CD20+ Tumor	0 CD20+ tumoral	20%	7%	927	67,45	794,81-1059,19		Abbildung 17, Gr. 1
2 CD20+ Tumor	≥ 0 CD20+ tumoral	40%	14%	1442	329,92	795,36-2088,65	<0,001	Abbildung 17, Gr.2
1 CD20+ Stroma	0 CD20+ stromal	13%	3%	937	98,8	743,36-1130,64		Abbildung 18, Gr.1
2 CD20+ Stroma	≥ 0 CD20+ stromal	32%	11%	1127	99,85	931,296-1322,70	0,012	Abbildung 18, Gr. 2
1 CD20+ Stroma	0 CD20+ stromal	13%	3%	937	98,8	743,36-1130,64		Abbildung 19, Gr. 1
2 CD20+ Stroma	> 0-5 CD20+ stromal	28%	10%	1011	98,57	817,8-1204,21		Abbildung 19, Gr. 2
3 CD20+ Stroma	≥ 5 CD20+ stromal	41%	13%	1409	415,72	594,189-2223,81	0,003	Abbildung 19, Gr. 3
1 CD20+ Max Stroma	< 20 CD20+ maximal stromal	24%	8%	989	65,38	860,85-1117,15		Abbildung 20, Gr. 1
2 CD20+ Max Stroma	≥ 20 CD20+ maximal stromal	39%	14%	1407	278,69	860,77-1953,23	0,003	Abbildung 20, Gr. 2
1	lymphoide Aggregate	39%	14%	1728	64,59	884,4-1137,61		Abbildung 21, Gr 1
2	keine lymphoiden Aggregate	27%	9%	1101	678,42	397,3-3056,71	0,033	Abbildung 21, Gr. 2
1	CD8+/CD20+	48%	18%	2167	493,19	1200,34-3133,66		Abbildung 22, Gr. 1
2	CD8+/CD20-	41%	11%	1118	336,38	458,7-1777,3		Abbildung 22, Gr. 2
3	CD8-/CD20+ oder CD20-	19%	7%	927	67,45	794,81-1059,2	<0,001	Abbildung 22, Gr. 3
1	CD8+/CD20+/CD4+	53%	21%	2814	589,26	1659,05-3968,95		Abbildung 23, Gr.1
2	CD8+/CD20+/CD4-	17%	0%	912	383,96	159,44-1664,56		Abbildung 23, Gr. 2
3	CD8-/CD20-/CD4+ oder -	41%	11%	1311	440,61	447,41-2174,59		Abbildung 23, Gr. 3
4	CD8-/CD20+ oder - / CD4+ oder -	19%	6%	943	54,4	836,38-1049,62	<0,001	Abbildung 23, Gr. 4

3.2 LGALS-1

3.2.1 *LGALS-1 Genexpression und Galektin-1 auf Proteinebene*

Wie bereits einleitend (Seite 26-28) beschrieben, stellte sich Galektin-1 bei HLA-Ligandomanalysen als eines der häufigsten Tumor-assoziierten Antigene (TAA) in high-grade serösen Ovarialkarzinomen heraus (Schuster et al., 2017). Genexpressionsanalysen des OTTA-Konsortiums mit einem studienspezifischen Nanostringpanel zeigten eine signifikante Korrelation hoher LGALS1-mRNA-Level mit einem reduzierten Überleben der Patientinnen. Diese Analysen lassen jedoch keine Aussagen zur Rolle des Proteins Galektin-1 oder seiner genauen Lokalisation in HGSC zu. Die Untersuchung des Proteins selbst birgt jedoch eine große klinische und diagnostische Bedeutung. Diese Wissenslücke wird in der vorliegenden Arbeit adressiert. Hierzu haben wir das Protein Galektin-1 mittels IHC in HGSC angefärbt und getrennt nach dem Vorkommen im Stroma und im Tumor ausgewertet haben.

3.2.2 *Das Protein Galektin-1 kommt in HGSC vor allem stromal vor*

Die Analysen von Galektin-1 mittels IHC erfolgten jeweils in Hinblick auf die Intensität der Färbung und den Prozentsatz Galektin-1-positiv gefärbter Zellen. Diese zwei Werte wurden für das peritumorale Stroma und das Tumorgewebe (intraepithelial) separat erhoben. Anschließend wurde ein kombinierter Wert aus Prozent- und Intensitätsscore, der Remmele-Score berechnet.

In Bezug auf den Remmele-Score wurde im Stroma nur bei einem Fall von 342 (0,3%) kein Galektin-1 im Stroma detektiert. Generell wiesen die high-grade serösen Ovarialkarzinome unseres Kollektivs eher hohe Galektin-1 Intensitäten im Stroma auf (Abbildung 24).

Der Remmele-Score im Tumor war im vorliegenden Kollektiv gegensätzlich zu den Werten im Stroma verteilt. Intratumoral fanden sich vor allem niedrige Galektin-1 Werte, wohingegen Galektin-1 im Stroma deutlich intensiver und/oder quantitativer exprimiert war (Abbildung 24).

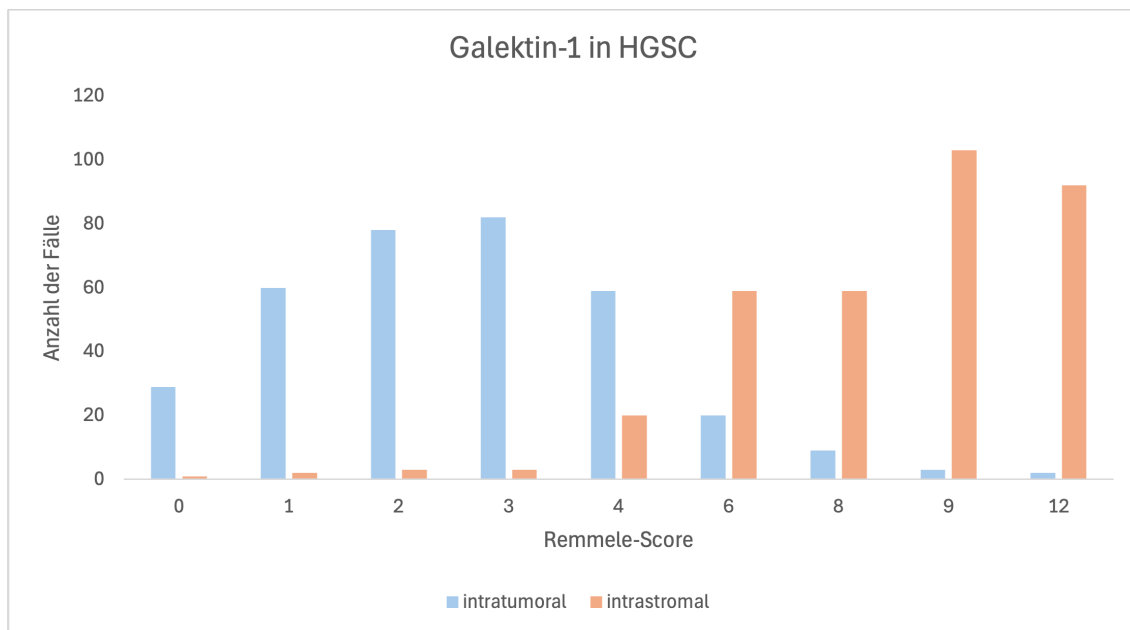


Abbildung 24: Darstellung der gerundeten Werte des Remmele-Scores von Galektin-1 im Stroma (Score 0: n=1, 0,3%; Score 1: n=2, 0,6%; Score 2: n=3, 0,9%; Score 3: n=3, 0,9%; Score 4: n=20, 5,8%; Score 6: n=59, 17,3%; Score 8: n=59, 17,3%; Score 9: n=103, 30,1%; Score 12: n=92, 26,9%) verglichen mit den gerundeten Werte des Remmele-Scores von Galektin-1 im Tumor (Score 0: n=29, 8,5%; Score 1: n=60, 17,5%; Score 2: n=78, 22,8%; Score 3: n=82, 24%; Score 4: n=59, 17,3%; Score 6: n=20, 5,8%; Score 8: n=9, 2,6%; Score 9: n=3, 0,9%; Score 12: n=2, 0,6%)

3.2.3 Hohe Galektin-1 Werte im tumorassoziierten Stroma sind ein negativer prognostischer Faktor

Für 339 der insgesamt 342 Fälle der Galektin-1 Analyse lagen Überlebensdaten vor. Alle Überlebensanalysen der Galektin-1-Färbung sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

3.2.3.1 Hohe Galektin-1-Intensitäten im Stroma sind prognostisch ungünstig

Wir untersuchten zunächst den Einfluss des Intensitäts-Scores auf das Überleben. Hierzu wurden Fälle mit der höchsten Intensität 3 (n=174) mit Fällen der niedrigeren Intensitäten, sprich 0-2 (negativ-schwach-moderat, n=165) verglichen. Bei hohen Galektin-1 Intensitäten im Stroma zeigte sich ein signifikant schlechteres Überleben (p=0,017, Abbildung 25). In der Gruppe hoher Galektin-1 Expression (Gruppe 2) betrug das mediane Gesamtüberleben 957 Tage, gegenüber einem medianen Überleben von 1180 Tagen in Gruppe 1 (Abbildung 25). Bemerkenswert hierbei war, dass mit 51,3% etwa die Hälfte der

high-grade serösen tubo-ovariellen Karzinome eine Galektin-1 Expression von starker Intensität im Stroma aufwiesen (n=174/339).

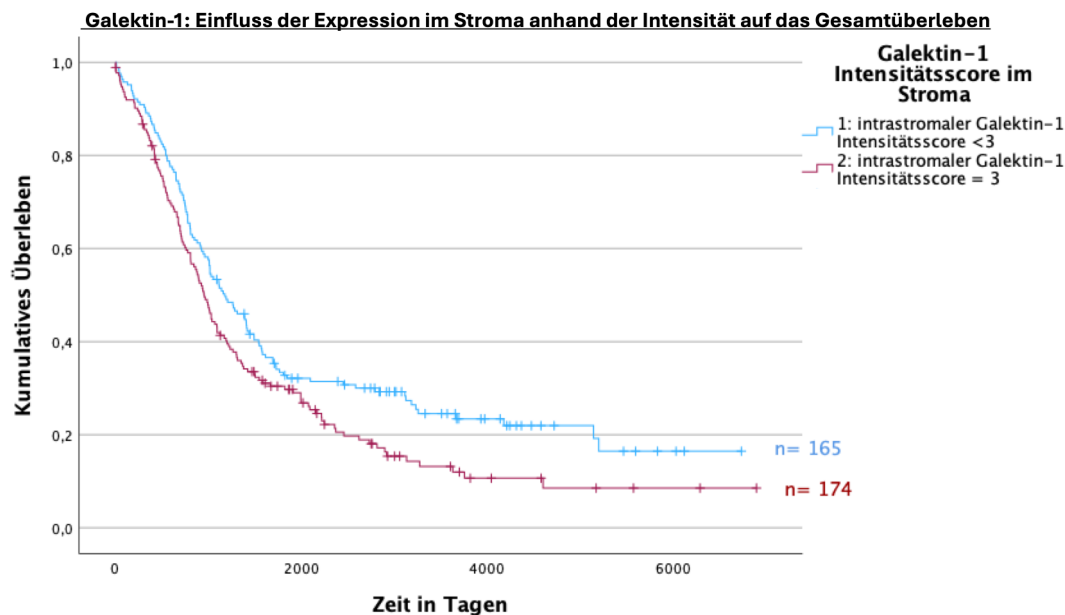


Abbildung 25: Darstellung der Überlebenskurven von Fällen mit einer Galektin-1 Färbeintensität von 3 (Gruppe 2) und den Fällen, die einen geringeren Intensitätsscore als 3 im Mittel aufweisen (Gruppe 1), $p=0,017$

3.2.3.2 Der prozentuale Anteil Galektin-1 enthaltender stromaler Zellelemente allein ist prognostisch nicht relevant

Der Prozentscore mit der Information bezüglich des Anteils der Galektin-1 positiven Zellen im Stroma zeigte in unseren Analysen keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben. Eine Aufteilung der Fälle nach Prozentwerten >50% positiv für Galektin-1 (Score ≥ 3 , n=207) im Vergleich zu prozentual weniger Galektin-1 Expression (Prozentscore <3 entspricht <50% gefärbten Zellen; n=132) zeigte keine signifikante Kurventrennung in Bezug auf das Gesamtüberleben ($p=0,624$, Abbildung 29 im Anhang).

3.2.3.3 Ein hoher Galektin-1 Remmele-Score im Stroma ist prognostisch ungünstig

Um das Zusammenwirken von Intensität und Prozentwerten der Galektin-1 Expression im Stroma zu untersuchen, wurde ein modifizierter Remmele-Score gebildet. Nach Einteilung in Quintilen, zeigte sich ein signifikant schlechteres medianes Gesamtüberleben von Patientinnen, die Galektin-1 in der obersten

Quintile aufwiesen ($p=0,007$, $n=69$, 20,35%, Abbildung 26). Die obere Quintile entspricht Fällen mit den Mittelwerten des Remmele-Scores aus allen ausgewerteten Cores von $>10,75$.

In Bezug auf das mediane Gesamtüberleben, profitieren Patientinnen mit einem Remmele-Score $\leq 10,75$ (Gruppe 1, medianes OS 1114 Tage) mit etwa 284 Tagen gegenüber Patientinnen deren Galektin-1-Expression im Remmele-Score bei $>10,75$ (Gruppe 2) mit einem medianen OS von 830 Tagen ($p=0,007$, Tabelle 8).

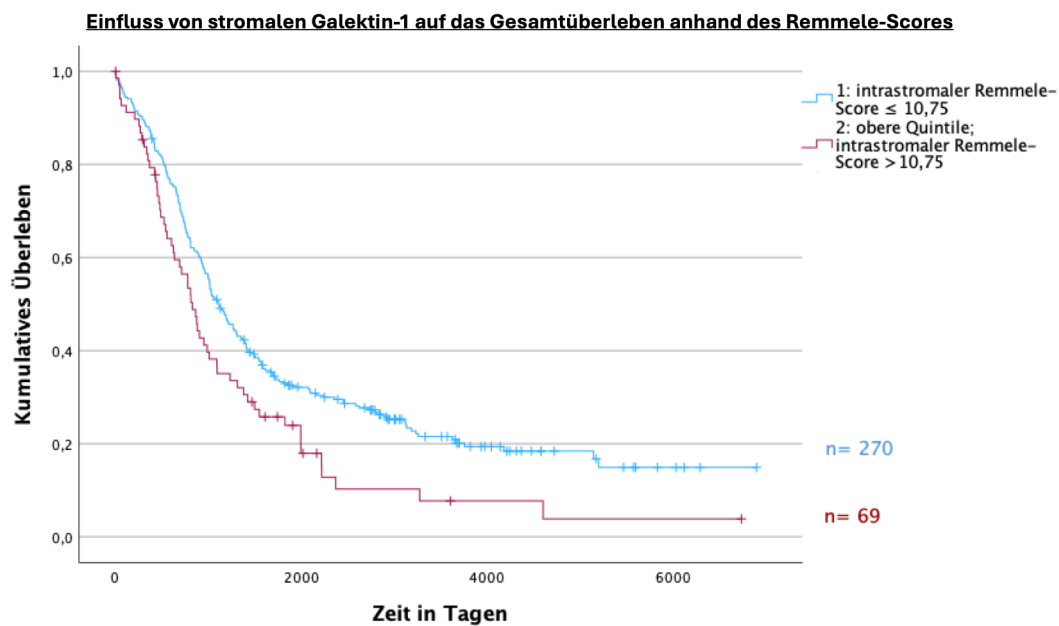


Abbildung 26: Darstellung der Überlebenskurven der oberen Quintile (Gruppe 2) des Remmele-Scores Galektin-1 im Stroma und der Gruppe 1, die die restlichen Fälle beinhaltet, $p=0,007$

3.2.4 Hohes intraepitheliales Galektin-1 ist ambivalent mit der Prognose korreliert

Interessanterweise zeigte sich im Gegensatz zu den Galektin-1-Expressions-Ergebnissen im Stroma bei den intratumoralen Galektin-1-Werten eine gegensätzliche prognostische Aussage. Bis auf eine sehr kleine Gruppe (n=3), mit dem höchsten intraepithelialen Intensitätsscore 3, die ein signifikant schlechteres Überleben zeigte, stellten sich höhere Intensitätswerte von Galektin-1 im Tumor als prognostisch günstiger Faktor bezogen auf das Überleben heraus.

3.2.4.1 Hohe intratumorale Galektin-1 Intensitäten sind tendenziell prognostisch günstig

Die Fälle, die einen Intensitätsscore von 3 aufwiesen (n=3), zeigten verglichen mit den restlichen Fällen (n=336) mit niedrigen Galektin-1 Intensitäten im Tumor, ein signifikant schlechteres Überleben ($p=0,03$, Abbildung 27).

Allerdings ist hier die mit n=3 sehr kleine Größe der prognostisch schlechter laufenden Gruppe herauszustellen. Die Fälle dieser Gruppe zeigten heterogene Prozentwerte bezogen auf ihre Galektin-1-Expression (Wertespanne von 1-80% gefärbte Zellelemente).

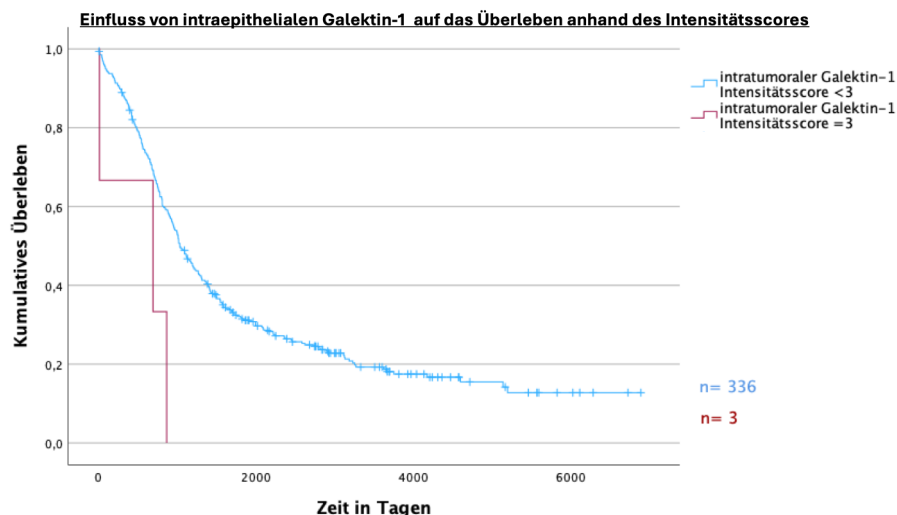


Abbildung 27: Darstellung der Überlebenskurve von Fällen, die eine Galektin-1 Färbeintensität von 3 im Tumor aufweisen (Gruppe 2) und den restlichen Fällen mit geringeren Galektin-1 Färbeintensitäten, $p=0,03$

Eine weitere Analyse hinsichtlich des Gesamtüberlebens mit der Unterscheidung zwischen Fällen mit negativen bis schwach gefärbten gegenüber moderat und stark gefärbten Zellen (Cut-Off bezogen auf den Mittelwert pro Fall: 1,4) hingegen zeigte, dass Tumoren mit intraepithelial moderater bis starker Galektin-1-Expression eine bessere Prognose aufwiesen und länger überlebten als Patientinnen, deren Tumore Galektin-1-negativ oder nur sehr schwach positiv ausfielen ($p=0,026$).

Das mediane OS in der Gruppe hoher tumoraler Galektin-1 Intensitäten (Gruppe 2) beträgt 1193 Tage verglichen mit 999 Tagen in der Gruppe 1 ($p=0,026$, Abbildung 28, Tabelle 8).

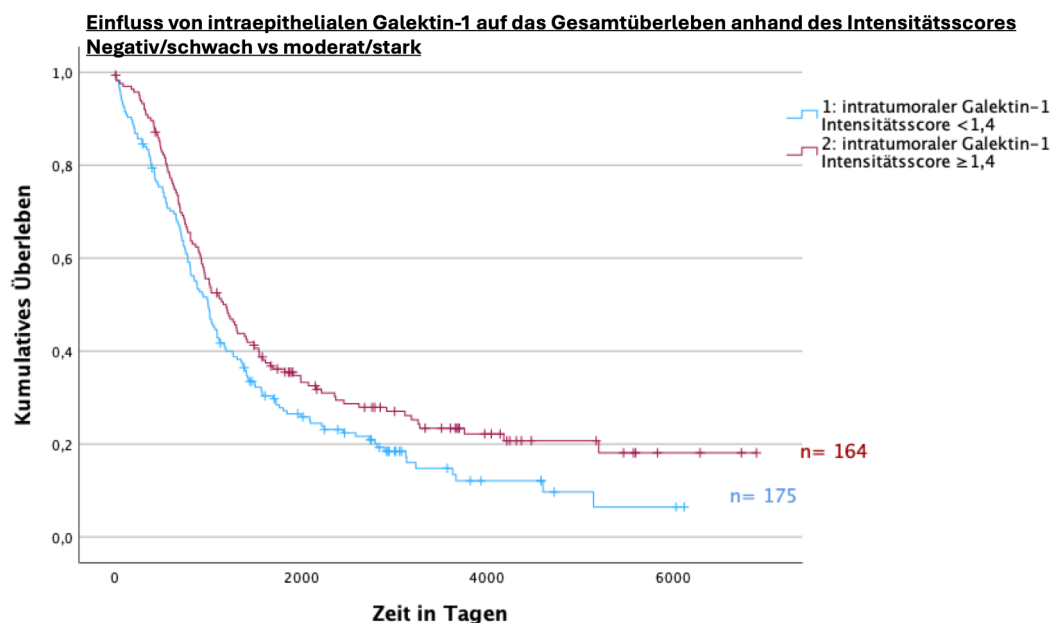


Abbildung 28: Darstellung der Überlebenskurven der Fälle, die eine Galektin-1 Färbeintensität von $\geq 1,4$ im Tumor aufweisen (Gruppe 2) und den restlichen Fällen, die eine geringere Galektin-1 Färbeintensitäten aufweisen, $p=0,026$

3.2.4.2 Der intraepitheliale Galektin-1 Prozentwert allein ist prognostisch nicht relevant

Wie auch im Stroma zeigte sich der intraepitheliale Prozentscore weniger aussagekräftig bezüglich des Überlebens als der Intensitätsscore. Fälle, die einen hohen Prozentscore von ≥ 3 (entspricht mehr als 50% gefärbte Tumorzellen) aufwiesen ($n=22$, 6,49%), zeigten kein längeres Überleben ($p=0,853$) als Fälle, deren Prozentscores < 50% betrugen ($n=317$, 93,51%; Abbildung 30 im Anhang).

3.2.4.3 Ein hoher intratumoraler Galektin-1 Intensitätsscore ist relevanter verglichen mit dem Remmele-Score

Um die Fälle bezogen auf den intratumoralen Remmele-Score in zwei Gruppen zu vergleichen, wurde ein Cut-Off gewählt, der die Fälle hälftig teilt. Der Cut-Off lag hier bei 2,5 und wurde auf 2 gelegt, was einem real möglichen Remmele Score entspricht.

Der Remmele-Score der intratumoralen Galektin-1-Expression zeigte bei einem Cut-Off von 2 eine nicht signifikante ($p=0,46$) Kurventrennung, die einen Trend andeutet, dass die Gruppe mit hohen intraepithelialen Galektin-1-Werten ($n=214$) hinsichtlich des 10-Jahresüberlebens besser abschneidet als die Patientinnen mit geringerer und/oder schwächerer intratumoraler Galektin-1-Expression ($n=125$). Die entsprechenden Überlebenskurven sind der Abbildung 31 im Anhang zu entnehmen.

Tabelle 8: Zusammenfassung Überlebensanalysen Galektin-1-Färbung

Gruppe	Galektin-1	5-JÜL	10-JÜL	Medianes Überleben in Tagen	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall	p	Überlebenskurve Abbildung
1 niedriges								
Galektin-1	Intensität 0-2	30%	0%	1180	131,81	921,65-1438,36		Abbildung 25, Gr. 1
2 hohes								
Galektin-1	Intensität 3	26%	5,7%	957	60,23	838,95-1075,05	0,017	Abbildung 25, Gr.2
1 niedriges								
Galektin-1	Remmele $\leq 10,75$	30%	11%	1124	77,134	962,82-1265,18		Abbildung 26, Gr. 1
2 hohes								
Galektin-1	Remmele $> 10,75$	19%	<2%	830	85,65	662,13-997,87	0,007	Abbildung 26, Gr. 2
1 niedriges								
Galektin-1	Intensität $< 1,4$	24%	6%	999	79,79	842,62-1155,38		Abbildung 28, Gr. 1
2 hohes								
Galektin-1	Intensität $\geq 1,4$	32%	13%	1193	118,79	960,18-1425,83	0,026	Abbildung 28, Gr. 2

3.2.5 Korrelation Galektin-1 mit Tumor-infiltrierenden Lymphozyten

3.2.5.1 Ein hoher Galektin-1 Remmele-Score im Stroma ist mit geringeren Lymphozytenzahlen im Tumor assoziiert

Es zeigte sich eine negative Korrelation zwischen hohen Galektin-1 Werten im Stroma und der Anzahl CD3⁺, CD8⁺ und CD4⁺ Lymphozyten im Tumor.

Die obere Quintile des Remmele-Scores von Galektin-1 im Stroma (Remmele-Score von größer 10,75; n=70; 20,47%) wies signifikant weniger intratumorale CD4⁺ Lymphozyten (p=0,002), signifikant weniger intratumorale CD3⁺ Lymphozyten (p=0,009) und signifikant weniger intratumorale CD8⁺ Lymphozyten (p=0,026) auf als Fälle mit geringeren stromalen Galektin-1-Werten. Es zeigten sich keine signifikanten Korrelationen mit stromalen CD3⁺, CD4⁺ und CD8⁺ Lymphozyten. Diese Zusammenhänge sind zusammenfassend in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Vorkommen von Lymphozyten in der oberen Quintile des intrastromalen Galektin-1 Remmele-Scores verglichen mit dem Vorkommen bei geringeren intrastromalen Galektin-1 Werten

Intrastromaler Galektin-1 Remmele- Score		Intratumorale CD4 ⁺ Lymphozyten	Intratumorale CD3 ⁺ Lymphozyten	Intratumorale CD8 ⁺ Lymphozyten	Stromale CD4 ⁺ Lymphozyten	Stromale CD3 ⁺ Lymphozyten	Stromale CD8 ⁺ Lymphozyten
≤10,75	Mittelwert	10,68	13,83	11,36	10,68	7,40	5,94
	n	271	271	272	271	271	272
	Std.- Abweichung	12,334	14,822	12,845	8,743	8,633	8,743
>10,75	Mittelwert	5,91	9,01	7,79	5,91	9,22	6,43
	n	70	70	70	70	70	70
	Std.- Abweichung	6,75	7,195	7,379	6,75	11,65	7,549
insgesamt	Mittelwert	9,70	12,84	10,63	9,7	7,78	6,04
	n	341	341	342	341	341	342
	Std.- Abweichung	11,566	13,739	12,009	11,566	9,34	8,504
Signifikanz	p	0,002	0,009	0,026	0,472	0,148	0,668

3.2.5.2 Hohe Galektin-1 Intensitäten im Stroma sind mit geringeren intratumoralen Lymphozytenzahlen assoziiert

Bezogen auf den Intensitätsscore zeigte sich, dass eine starke Intensität (3) von Galektin-1 im Stroma mit signifikant ($p=0,032$) weniger $CD4^+$ Lymphozyten im Tumor korrelierte (Tabelle 10). Mit $CD3^+$ und $CD8^+$ -Lymphozyten zeigten sich keine signifikanten Korrelationen.

Tabelle 10: Vorkommen von Lymphozyten in der Gruppe mit einem intrastromalen Galektin-1 Intensitäts-Score von <3 und der Gruppe mit einem intrastromalen Galektin-1 Intensitätsscore ≥ 3

Intrastromaler Galektin-1 Intensitätsscore		Intratumorale $CD4^+$ Lymphozyten	Intratumorale $CD3^+$ Lymphozyten	Intratumorale $CD8^+$ Lymphozyten	Stromale $CD4^+$ Lymphozyten	Stromale $CD3^+$ Lymphozyten	Stromale $CD8^+$ Lymphozyten
< 3	Mittelwert	11,10	13,64	11,29	8,74	7,95	5,50
	<i>n</i>	164	164	165	164	164	165
	Std.- Abweichung	11,168	12,667	11,891	8,241	9,978	8,517
≥ 3	Mittelwert	8,41	12,07	10,01	10,17	7,61	6,535
	<i>n</i>	177	177	177	177	177	177
	Std.- Abweichung	11,808	14,657	12,12	13,255	8,733	8,486
insgesamt	Mittelwert	9,70	12,84	10,63	9,48	7,775	6,037
	<i>n</i>	341	341	342	341	341	342
	Std.- Abweichung	11,566	13,739	12,009	11,136	9,341	8,504
Signifikanz	<i>p</i>	0,032	0,283	0,327	0,238	0,738	0,263

3.2.5.3 Hohe intratumorale Galektin-1 Intensitätsscores sind mit höheren Lymphozytenzahlen im Tumor und im peritumoralen Stroma assoziiert

Im Gegensatz zu den Korrelationen von hohen Galektin-1 Werten im Stroma mit Lymphozyten, zeigte sich bei hohen intratumoralen Galektin-1 Werten ein gegensätzlicher Zusammenhang mit den Lymphozyten.

Bei der Gruppe höherer intratumoraler Galektin-1 Intensität (Intensitätsscore $\geq 1,4$, $n=166$, 48,5%) beobachteten wir signifikant mehr intrastromale $CD3^+$ Lymphozyten ($p=0,033$), signifikant mehr $CD4^+$ Zellen im Tumor ($p=0,009$) und signifikant mehr $CD4^+$ Lymphozyten im Stroma ($p=0,003$). Zusammenfassend ist dies in Tabelle 11 dargestellt. Es zeigten sich keine signifikanten Korrelationen mit $CD8^+$ Lymphozyten.

Tabelle 11: Vorkommen von Lymphozyten in der Gruppe mit einem intratumoralen Galektin-1 Intensitätsscore von <1,4 und der Gruppe mit einem intratumoralen Intensitätsscore $\geq 1,4$

Intratumoraler Galektin-1 Intensitätsscore		Intratumorale CD 4 ⁺ Lymphozyten	Intratumorale CD3 ⁺ Lymphozyten	Intratumorale CD8 ⁺ Lymphozyten	Intrastromale CD4 ⁺ Lymphozyten	Intrastromale CD3 ⁺ Lymphozyten	Intrastromale CD8 ⁺ Lymphozyten
$\geq 1,4$	<i>Mittelwert</i>	11,38	14,1	11,56	11,35	8,88	6,16
	<i>n</i>	165	166	166	165	166	166
	<i>Std.- Abweichung</i>	12,613	13,784	12,278	12,939	8,69337	8,6945
< 1,4	<i>Mittelwert</i>	8,13	11,64	9,75	7,74	6,7269	5,9205
	<i>n</i>	176	175	176	176	175	176
	<i>Std.- Abweichung</i>	10,280	13,628	11,717	8,816	9,82593	8,344
insgesamt	<i>Mittelwert</i>	12,613	12,84	10,63	12,939	7,7751	6,037
	<i>n</i>	341	341	342	341	341	342
	<i>Std.- Abweichung</i>	11,566	13,739	12,009	11,136	9,34067	8,50423
Signifikanz	<i>p</i>	0,009	0,098	0,162	0,003	0,033	0,794

3.2.5.4 Ein hoher Galektin-1 Remmele-Score im Tumor ist mit mehr

Lymphozyten im Tumor assoziiert

Die Gruppe mit höheren Galektin-1 Remmele-Score-Werten (Remmele-Score $\geq 2,5$, n=173, 51,2%) wies im Tumor signifikant mehr CD4⁺ Lymphozyten (p=0,040) auf als Fälle, die geringere Galektin-1-Werte im Tumor zeigten (siehe Tabelle 12). Es zeigten sich keine signifikanten Korrelationen mit CD3⁺ und CD8⁺ Lymphozyten.

Tabelle 12: Vorkommen von Lymphozyten in der Gruppe mit einem intratumoralen Galektin-1 Remmele-Score <2,5 und in der Gruppe mit einem intratumoralen Remmele-Score von ≥2,5

Intratumoraler Galektin-1 Remmele-Score		Intratumorale CD4 ⁺ Lymphozyten	Intratumorale CD3 ⁺ Lymphozyten	Intratumorale CD8 ⁺ Lymphozyten	Intrastromale CD4 ⁺ Lymphozyten	Intrastromale CD3 ⁺ Lymphozyten	Intrastromale CD8 ⁺ Lymphozyten
≥ 2,5	<i>Mittelwert</i>	10,97	13,69	11,34	10,47	8,6	5,8554
	<i>n</i>	174	175	175	174	175	175
	<i>Std.- Abweichung</i>	12,692	14,308	12,765	12,588	10,357	8,52
< 2,5	<i>Mittelwert</i>	8,39	11,94	9,89	8,46	6,9054	6,2281
	<i>n</i>	167	166	167	167	166	167
	<i>Std.- Abweichung</i>	10,134	13,096	11,152	9,136	8,0738	8,509
insgesamt	<i>Mittelwert</i>	9,70	12,84	10,63	9,48	7,775	6,0374
	<i>n</i>	341	341	342	341	341	342
	<i>Std.- Abweichung</i>	11,566	13,739	12,009	11,136	9,3407	8,50423
Signifikanz		0,040	0,239	0,264	0,097	0,094	0,686

3.2.6 Korrelation Galektin-1 mit dem Erkrankungsalter

3.2.6.1 Eine erhöhte stromale Galektin-1 Expression korreliert nicht mit dem Erkrankungsalter

Es ließen sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Menge von stromalem Galektin-1 und dem Erkrankungsalter finden.

3.2.6.2 Erhöhte intratumorale Intensitäten von Galektin-1 korrelieren mit einem jüngeren Erkrankungsalter

Fälle mit einem intratumoralen Intensitätsscore von Galektin-1 > 1,4 (n=166, 48,5%) wiesen signifikant häufiger ($\chi^2= 7,068$, $p=0,008$) ein Erkrankungsalter von unter 60 Jahren auf (siehe Tabelle 13).

Tabelle 13: Korrelation des intratumoralen Galektin-1 Intensitätsscores mit dem Alter

Alter	Intratumoraler Galektin-1 Intensitätsscore ≥ 1,4	Intratumoraler Galektin-1 Intensitätsscore <1,4	Gesamt
<60	n = 72 (58,1%)	n = 52 (41,9%)	n = 124 (100%)
>60	n = 94 (43,1%)	n = 124 (56,9%)	n = 218 (100%)
Gesamt	n = 166 (48,5%)	n = 176 (51,5%)	n = 342 (100%)

$\chi^2= 7,068$, $p=0,008$

3.2.7 Keine Korrelation von erhöhter Galektin-1-Expression und dem FIGO-Stadium

Es konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Galektin-1 Expression und den FIGO-Stadien beobachtet werden.

3.2.8 Korrelation Galektin-1 mit dem R-Status

3.2.8.1 Hohe stromale Expression von Galektin-1 korreliert mit schlechterem Resektionsstatus

Unsere Analysen zeigten, dass Fälle mit einer stromalen Galektin-1 Expression anhand des Remmele-Scores im Bereich der oberen Quintile (Remmele-Score >10,75, n=70, 20,5%) mit höheren inkompletten Resektions-Status korrelierten ($\chi^2=5.986$, $p=0.05$, Tabelle 14)

Tabelle 14: Ein hoher stromaler Galektin-1 Remmele Score korreliert mit einem höheren R-Status

R-Status	Stromaler Galektin-1 Remmele-Score ≤10,75	Stromaler Galektin-1 Remmele-Score >10,75	Gesamt
R0	n = 106 (84,8%)	n = 19 (15,2%)	n = 125 (100%)
R1	n = 103 (79,2%)	n = 27 (20,8%)	n = 130 (100%)
R2	n = 52 (70,3%)	n = 22 (29,7%)	n = 74 (100%)
Gesamt	n = 261 (79,3)	n = 68 (20,7%)	n = 342 (100%)

$\chi^2= 5.986$, $p = 0.05$

4 Diskussion

Diese Arbeit widmete sich vorrangig dem Ziel, die prognostische Relevanz von CD20⁺ B-Lymphozyten und dem Protein Galektin-1 in HGSC zu untersuchen. Als wesentliche Ergebnisse mit potenziell klinischer Relevanz konnten wir zeigen, dass CD20⁺ B-Lymphozyten im Tumor und im Stroma prognostisch günstig sind und die prognostische Signifikanz von tumor-infiltrierenden T-Zellen verstärken. Es ergibt sich die Frage nach der genauen Wirkung von B-Zellen und ihrer potenziellen Nutzbarkeit bezüglich Immuntherapien, die in zukünftigen Studien adressiert werden sollten. Galektin-1 zeigte sich als ambivalenter prognostischer Marker in HGSC. Das Protein wies einen signifikanten Einfluss auf das Überleben auf, der sich negativ verhielt, wenn das Protein im Stroma vermehrt exprimiert war und umgekehrt prognostisch günstig, wenn die Proteinexpression intratumoral erhöht war. Diese scheinbar

gegensätzlichen Ergebnisse implizieren deutlich, dass weitere Forschung bezüglich der Rolle von Galektin-1 in HGSC notwendig ist.

Unsere Arbeit konnte zeigen, dass stromales Galektin-1 neben der Korrelation mit einem schlechteren OS einen relevanten negativen Einfluss auf die Anzahl von TILs hatte, was die Frage bezüglich klinischer Relevanz hinsichtlich der Rolle als medikamentöses Target aufwirft. Allerdings zeigte unsere Untersuchung auch, dass die bisher angenommene strikt immunsuppressive Wirkung von Galektin-1 in HGSC zu hinterfragen ist, da sich bei erhöhtem intratumoralem Vorkommen ein positiver Einfluss auf die Anzahl von Lymphozyten und auf das Überleben zeigte. Dies wirft wiederum Fragen bezüglich der klinischen Anwendbarkeit von Galektin-1-Inhibitoren auf. Es wird deutlich, dass es weiteren Studien zur Rolle von Galektin-1 in HGSC bedarf, um Evidenz zu schaffen, die für eine potenzielle klinische Anwendung zwingen notwendig ist.

4.1 CD20⁺ B-Lymphozyten

In den letzten Jahren konnte mehrere translationale Studien zeigen, dass B-Lymphozyten eine Rolle in der Immunantwort high-grade seröser tubo-ovarieller Karzinome spielen und einen positiven prognostischen Einfluss haben (Nielsen et al., 2012, Kroeger et al., 2016, Montfort et al., 2017). Unsere aktuelle Studie zeigt nun in einer differenzierten Analyse, dass CD20⁺ B-Zellen sowohl im Stroma als auch im Tumorepithel von HGSC prognostisch günstig sind (Abbildung 17 und 18). In der Mehrheit der Fälle sind CD20⁺ B-Lymphozyten im Stroma zu finden (78,82%). Bei deutlich weniger Fällen (40,3%) sind sie auch im Tumor vertreten und diese Gruppe stellt eine prognostisch besonders günstige innerhalb der HGSC dar. Auch Nielsen et al. (2012) fanden in 41% der von ihnen untersuchten Fälle (n=194) HGSC CD20⁺ TILs. Unsere Studie an wiederum 345 Fällen bestätigt, dass 40% der Fälle eine repräsentative Größenordnung ist, in denen CD20⁺ TILs in HGSC zu erwarten sind.

Außerdem konnten wir zeigen, dass tumorinfiltrierende CD20⁺ B-Lymphozyten schon ab sehr geringen Cut-Off-Werten von >0 einen signifikant positiven Einfluss auf das Gesamtüberleben haben. Die Gruppe mit mindestens einem intratumoralen CD20⁺ B-Lymphozyten profitiert median von einem 515

Tage längeren OS, verglichen mit der Gruppe ohne tumorale CD20⁺ B-Zellen ($p < 0,001$, Abbildung 17, Tabelle 7).

Im tumorumgebenden Stroma macht es einen signifikanten Einfluss, wie viele CD20⁺ B-Lymphozyten vorkommen und ihr positiver prognostischer Effekt ist stärker, je mehr CD20⁺ B-Lymphozyten im Stroma vorhanden sind. Die am besten performante Gruppe unserer Kohorte weist mehr als 5 intrastromale B-Lymphozyten auf und profitiert von einem median 472 Tage längeren Überleben verglichen mit Fällen ohne stromale CD20⁺ B-Zellen (Abbildung 19, Tabelle 7). Studien anderer Arbeitsgruppen zu CD8⁺ Lymphozyten in HGSC zeigten bereits, dass die Anzahl und nicht nur die Anwesenheit der Lymphozyten einen signifikanten Einfluss auf das Überleben hat, weshalb der Suche nach Faktoren, die die Lymphozyteninfiltration beeinflussen eine besondere Relevanz zukommt (Goode et al., 2017).

Wir konnten außerdem zeigen, dass CD20⁺ B-Lymphozyten den prognostischen Effekt von CD4⁺ und CD8⁺ zusätzlich beeinflussen, da vor allem das gemeinsame Vorkommen der T-Lymphozyten mit CD20⁺ B-Zellen prognostisch relevant zu sein scheint. Bei uns zeigte die Gruppe, in der sowohl CD8⁺ als auch CD20⁺ Lymphozyten vorkamen ein medianes OS von 2167 Tagen, welches 1049 Tage länger ist, als in der Gruppe in der ausschließlich CD8⁺ Lymphozyten vorkommen. Die 5-Jahresüberlebensraten betrugen 48% und 41% ($p < 0,001$, Abbildung 22, Tabelle 7). Unsere Ergebnisse schaffen damit weitere Evidenz für die Relevanz der B-Zellen in HGSC.

Schon Nielsen et al. (2012) beobachteten, dass CD20⁺ B-Lymphozyten in HGSC in räumlicher Nähe zu CD8⁺ T-Lymphozyten lokalisiert waren und Marker der Antigenpräsentation wie MHC I, MHC II, CD40, CD80 und CD86 zeigten, was eine Wirkung über die Verstärkung der zytotoxischen T-Zellantwort nahelegt. Nielsen et al. (2012) fanden genau wie wir einen Überlebensvorteil bei gemeinsamen Vorkommen von CD20⁺ und CD8⁺ Lymphozyten ($p < 0,0001$).

In weitere Analysen haben wir außerdem verfügbare Daten von CD4⁺ Lymphozyten einbezogen. Die Gruppe, in der sowohl CD8⁺, CD4⁺ als auch CD20⁺ TILs vorkommen zeigt die beste Prognose. Sie profitiert von einem 1871 Tage längeren medianen Gesamtüberleben verglichen mit der Gruppe, die nur

CD8⁺ TILs aufweist ($p < 0,001$, Abbildung 23, Tabelle 7). Mit einem 5-Jahresüberleben von 53% liegt diese Gruppe deutlich über dem durchschnittlichen 5-Jahresüberleben von HGSC, was etwa 40% beträgt.

Auch Kroeger et al. (2016) konnten zeigen, dass der positive Einfluss von zytotoxischen CD8⁺ T-Zellen auf die Überlebenszeit von Patientinnen mit HGSC in Anwesenheit von CD20⁺ B-Lymphozyten und CD4⁺ Lymphozyten am größten ist ($p = 0,03$; $n = 155$). Den verstärkten prognostischen Effekt von T-Lymphozyten bei gemeinsamem Vorkommen mit CD20⁺ B-Zellen, den Kroeger et al. (2016) und Nielsen et al. (2012) bereits beschrieben haben, konnten wir also an einem deutlich größeren Kollektiv von 342 Fällen bestätigen.

Die Studien von Kroeger et al. (2016) und Nielsen et al. (2012), zeigen, dass CD20⁺ B-Lymphozyten Antigen-erfahren sind und einen relevanten, positiven Prognosefaktor in HGSC ausmachen. Die Suche nach möglichen Antigenen und ihrer Interaktion mit T- und B-Lymphozyten sind ein wichtiger Schritt hinsichtlich möglicher neuer Therapieansätze.

Zusätzlich zu diesen Ergebnissen zeigte sich bei uns eine weitere prognostisch besonders gut verlaufende Gruppe, die durch hohe stromale Maximalwerte von CD20⁺ B-Lymphozyten charakterisiert ist. Wenn ein Core mehr als 20 solcher Lymphozyten im Stroma aufwies, zeigte sich eine Korrelation mit einem besonders langen Überleben, das im Median 418 Tage länger war als bei den restlichen Fällen ($p = 0,003$, Abbildung 20, Tabelle 7).

Bei 28 Fällen (8,1%) unseres Kollektivs konnten außerdem lymphoide Aggregate detektiert werden. Diese Fälle wiesen ein signifikant längeres Überleben auf (median 1726 Tage vs 1101 Tage, $p = 0,033$, Abbildung 21, Tabelle 7) als die Gruppe ohne lymphoide Aggregate. Auch hier liegen vergleichbare Daten von Kroeger et al. (2016) vor. Dies deckt sich außerdem mit weiteren Untersuchungen, unter anderen von Zhang et al. (2023), deren Arbeit an einer Kohorte von 74 HGSC einen positiven Einfluss ($p < 0,001$) der lymphoiden Aggregate zeigen konnte. Auch Lu et al. (2023) untersuchten tertiäre lymphoide Strukturen (TLS) in HGSC und fanden in 63 von 242 (26%) der untersuchten Fällen TLS, die ein signifikant ($p = 0,0194$) besseres, progressionsfreies Überleben aufwiesen.

Es liegt nahe, dass die Fälle mit hohen intrastromalen CD20⁺-Maximalwerten auch in die Gruppe mit lymphoiden Aggregaten im Stroma gehören. In unserer Kohorte wiesen jedoch 94 Fälle diese hohen Maximalwerte auf und nur bei 28 Fällen konnten wir lymphoide Aggregate detektieren. Dies zeigt, dass viele intrastromale CD20⁺-Zellen auch unabhängig von lymphoiden Aggregaten eine große prognostische Aussagekraft besitzen.

Zusammenfassend ist für die Analyse der CD20⁺ B-Zellen festzuhalten, dass wir den bereits gezeigten prognostischen Benefit von CD20⁺ B-Zellen allein, aber vor allem gemeinsam mit CD8⁺ und CD4⁺ T-Zellen an einem 342 Fälle großen Kollektiv HGSC bestätigen konnten. Auch ein signifikant positiver Einfluss lymphoider Aggregate konnte an unserem Kollektiv gezeigt werden. Wir fanden zusätzlich heraus, dass nicht nur intratumorale CD20⁺ B-Lymphozyten relevant, sondern auch stromale CD20⁺ Lymphozyten prognostisch günstig sind. Hohe stromale CD20⁺ Maximalwerte von ≥ 20 Lymphozyten pro Core stellen unabhängig vom Vorkommen in lymphoiden Aggregaten einen positiven prognostischen Faktor dar. Um zu analysieren, ob dies auch unabhängig von TILs zu beobachten ist, wurde eine weitere Rechnung gemacht, in der Fälle mit mehr als 20 stromalen CD20⁺ Lymphozyten aber ohne CD20⁺ TILs mit Fällen verglichen wurden, die Maximalwerte von unter 20 stromalen B-Lymphozyten aber intraepitheliale CD20⁺ Lymphozyten aufweisen. Es zeigte sich eine nicht-signifikante Kurventrennung, die dem Anhang zu entnehmen ist (Abbildung 33). Der große Einfluss der CD20⁺ stromalen Maximalwerte scheint also mit dem Auftreten von TILs zusammenzuhängen.

4.2 Galektin-1

In unserem Kollektiv high-grade seröser Karzinome, das 339 Fälle umfasst, wurde in nahezu jedem (99,7%) untersuchten Tumorgewebe stromales Galektin-1 detektiert. Intraepithelial zeigten 91,5% der untersuchten Fälle eine positive Färbung für Galektin-1. Die Intensität und Ausprägung der Galektin-1 Färbung variierte jedoch zum Teil erheblich zwischen stromalen und epithelialen Gewebe. Allgemein lässt sich festhalten, dass sich eine hohe

Galektin-1 Expression vor allem im Stroma finden ließ, im Tumor hingegen waren tendenziell geringere Galektin-1-Werte zu beobachten (Abbildung 24).

Unsere Werte für stromales Galektin-1 (median Remmele-Score 9; 98% positiv) decken sich mit denen von Schulz et al. (2017; median Remmele-Score 8; 98% positiv). Im Tumor fanden wir in 91,5% eine positive Färbung mit einem medianen Remmele-Score von 3. Auch dies deckt sich weitestgehend mit den Ergebnissen von Schulz et al. (2017). Sie fanden zwar mit zirka 68% der Fälle in deutlich weniger Tumoren eine positive tumorale Färbung, der mediane Remmele-Score entsprach jedoch dem unserer Untersuchung (3). Der Unterschied in der Anzahl der Fälle mit intratumoraler Galektin-1 Expression kann darin begründet sein, dass bei Schulz et al. (2017) alle histologischen Typen von Ovarialkarzinomen (n=156) untersucht wurden, von denen 110 Fälle seröser Histologie waren und unser untersuchtes Kollektiv ausschließlich HGSC umfasst.

Eine vermehrte Galektin-1 Expression wird in verschiedenen Tumorentitäten beobachtet. In Tumoren des Kolons (Sanjuán et al., 1997), der Leber (Spano et al., 2010), des Pankreas (Chen et al., 2012, Berberat et al., 2001, Chen et al., 2017, Tang et al., 2012, Shen et al., 2004) und in lymphoiden Neoplasien (Abroun et al., 2008, D'Haene et al., 2005) sind hohe intrastromale Galektin-1 Werte beschrieben, die zum Teil eine Korrelation mit einer negativen Prognose zeigen.

Erhöhte Werte von Galektin-1 in Tumorzellen, dem peritumoralen Stroma oder in beidem sind bei Tumoren der Blase (Cindolo et al., 1999), der Lunge (Kuo et al., 2011, Szoke et al., 2005), des Nasopharynx (Tang et al., 2010), der Nieren (von Klot et al., 2014), der Haut (Mathieu et al., 2012), des myeloproliferativen Systems (Koopmans et al., 2012) und der Schilddrüse (Chiariotti et al., 1995, Xu et al., 1995, Torres-Cabala et al., 2006) verglichen mit dem jeweiligen gesunden Gewebe beschrieben. Nur in wenigen Studien wurden erniedrigte Galektin-1 Werte in Kopf- und Halstumoren (Choufani et al., 1999) und Blasentumoren (Chung et al., 2013) im Vergleich zum gesunden Gewebe gefunden, zu diesen Tumorentitäten existieren jedoch auch gegensätzliche Studien (Thijssen et al., 2015).

4.2.1 Hohe stromale Galektin-1 Werte korrelieren mit signifikant weniger TILs und einer schlechteren Prognose

In unserer Untersuchung wies eine starke stromale Galektin-1-Expression (Intensitätsscore 3, 51,3% der Fälle) ein signifikant schlechteres Überleben auf als Fälle mit moderater oder schwacher stromaler Galektin-1 Intensität (957 Tage vs. 1180 Tage; $p=0,017$; Abbildung 25, Tabelle 8).

Auch andere Arbeitsgruppen konnten bereits einen negativen prognostischen Einfluss von Galektin-1 in Ovarialkarzinomen zeigen (Schulz et al., 2017, Li et al., 2023, Chen et al., 2017). Die Studie von Schulz et al. (2017) nutzte genau wie wir den Remmele-Score zur Quantifizierung von Galektin-1 und verglich Werte mit hohem IRS (6-12) mit niedrigen IRS-Werten (0-4). In unserer Analyse lag der Cut-Off mit 10,75, welcher diejenige Überlebensgruppe trennt, die signifikant schlechter überlebt, deutlich über dem von Schulz et al. (2017), die einen Cut-Off von 6 nutzten (Abbildung 26). Eine Rechnung mit denselben Cut-Offs wie Schulz et al. (2017) wurde ebenfalls durchgeführt und ergab in unserem Kollektiv eine nicht signifikante Kurventrennung ($p=0,083$). Der Graph ist im Anhang als Zusatzmaterial dargestellt (Abbildung 32). Wahrscheinlich ergibt sich dieser große Unterschied der Cut-Offs durch die nicht direkt vergleichbaren Studienkohorten, die sich beispielsweise in den untersuchten histologischen Subtypen unterscheidet. Außerdem ist bekannt, dass das Überleben von vielen zusätzlichen klinischen Faktoren abhängt, die hier nicht korrelierend untersucht wurden. Beide Studien belegen jedoch einen eindeutig signifikant negativen Einfluss von erhöhter stromaler Galektin-1 Expression auf das Überleben. Kommende Untersuchungen werden weitere, potenziell auch klinisch nutzbare Cut-Offs definieren und prüfen müssen.

4.2.1.1 Aktueller Kenntnisstand zur Wirkweise von Galektin-1 in Tumoren
Galektin-1 ist an verschiedenen Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktionen beteiligt, was eine potenzielle Rolle in der Tumordinvasion und -metastasierung nahelegt und den negativen prognostischen Einfluss von Galektin-1 im Stroma erklären kann. Li et Al. (2023) zeigten, dass hohe LGALS1 (Galektin-1) Expressionslevel mit einer erhöhten Zell-Matrix-Interaktion korrelierten. Auch bei in-vitro Experimenten an verschiedenen humanen Ovarialkarzinom-Zelllinien, führten

höhere Galektin-1 Spiegel zu einer erhöhten Adhäsion an Laminin oder Fibronectin (van den Brule et al., 2003). Dies konnte auch in Kolonkarzinomen beobachtet werden (Horiguchi et al., 2003).

Van den Brûle et al. (2003) fanden in immunhistochemischen Untersuchungen an Ovarialkarzinomen (n=24, 20 serös, 3 muzinös, 7 andere) erhöhte Galektin-1-Werte im peritumoralen Stroma, verglichen mit dem Stroma von Normalgewebe (p=0,003). Um zu verstehen, warum sich Galektin-1 im peritumoralen Stroma ansammelt, wurden in der Studie in situ Hybridisierungen durchgeführt. Diese zeigten, dass Fibroblasten, die das Tumorgewebe direkt umgeben Galektin-1-mRNA exprimieren. In der Studie konnte außerdem gezeigt werden, dass die Ovarialkarzinomzellen selbst Galektin-1-mRNA exprimieren und das Protein sezernieren. Eine Hypothese von Van den Brûle et al. (2003) ist, dass die Tumorzellen die umliegenden Fibroblasten dazu veranlassen, vermehrt Galektin-1 zu produzieren, um sich so vor dem Immunsystem zu schützen.

Eine Studie von Kim et al. (2012) an 66 Ovarialtumoren zeigte, dass eine starke immunhistochemische Färbung von Galektin-1 im peritumoralen Stroma mit einem fortgeschrittenen Stadium, seröser Histologie, einem Residualtumor nach der primären Debulking-Operation und einem schlechten progressionsfreien Überleben korreliert war. In einem Proliferations-Assay konnten sie zeigen, dass rekombinantes Galektin-1 nach drei Tagen die Zellproliferation einer Ovarialkarzinom Zelllinie (A2780-CP20) signifikant induzierte. Außerdem führten Kim et al. (2012) in-vitro Experimente mit dem Galektin-1-Inhibitor Anginex und Galektin-1-siRNA durch. Sie zeigten, dass die Tumorzellen weniger gut überlebten, proliferierten und invadierten, wenn Galektin-1 entweder durch Anginex oder die siRNA inhibiert wurde. In der Zelllinie A2780-CP20 konnte die Forschungsgruppe erkennen, dass die Proben, die mit Galektin-1 siRNA behandelt wurden, eine geringere MMP-2-Expression zeigte. MMP-2 gehört zur Familie der Matrixmetalloproteasen, die wiederum eine wichtige Rolle in der Tumorprogression und -invasion spielen.

Chen et al. (2017) zeigten, dass Galektin-1 in EOC an der Aktivierung des NF- κ B Signalwegs beteiligt ist und so die Tumorprogression verstärkt. NF-

kB ist in vielen malignen Tumoren hochexprimiert und übernimmt verschiedene Funktionen, unter anderem ist es an der Expression von MMPs beteiligt (Taniguchi and Karin, 2018). In den Untersuchungen von Chen et al. (2017) zeigte sich ein signifikant schlechteres OS ($p=0,034$) und PFS ($p=0,049$) bei erhöhter Expression von Galektin-1. Die Inhibition der Galektin-1 Expression mittels sh-Gal-1 (synthetisches Oligonukleotid, das zum Silencing von Gal-1 führt), führte zu einer signifikanten Reduktion der Migration und Invasionskapazitäten der EOC, was eine mögliche Rolle von Galektin-1 in der Tumormetastasierung nahelegt (Chen et al., 2017).

In einer Studie von Zhang et al. (2014) ist neben dem schlechteren Überleben bei erhöhter Galektin-1 Expression außerdem ein Zusammenhang mit vermehrter Cisplatin-Resistenz beschrieben, die in der Behandlung von Patientinnen mit Ovarialkarzinomen eine große Herausforderung darstellt.

Die Expression von Galektin-1 scheint außerdem im Zusammenhang mit vaskulärer Mimikry zu stehen. Vaskuläre Mimikry beschreibt die Bildung von Gefäßen ohne echte Endothelzellen im Tumorgewebe, die in vielen aggressiven Tumorentitäten beobachtet wird und mit einer schlechten Prognose einhergeht. Zhou et al. (2021) untersuchten die Galektin-1 Expression in rektalen Karzinomen und fanden eine signifikante positive Korrelation von der Galektin-1 Expression und vaskulärer Mimikry. Auch in dieser Studie war die Gruppe mit erhöhten immunhistochemischen Galektin-1-Werten mit einer geringeren Überlebenszeit korreliert ($p=0,003$).

Pranjol et al. (2019) widmeten sich der Rolle von Galektin-1 in einer Gruppe HGSC, die ins Omentum metastasiert waren. Sie konnten zeigen, dass Galektin-1 signifikant die Migration und Proliferation von humanen omentalen microvaskulären Endothelzellen (HOMECS) induzierte. Dieser Effekt beruht vermutlich auf einer autokrinen Stimulation der HOMECS über Galektin-1, das vermehrt als Antwort auf höhere Cathepsin-L Spiegel sezerniert wurde. Mittels MEK/ERK1/2-Inhibitoren (UO126 und PD98059) konnte eine Verminderung dieses beschriebenen Pathways erreicht werden. Die GAL-1 Expression und Anzahl an Mikroblutgefäßen sowie die Anzahl von Arealen mit Mikroblutgefäßen korrelierten signifikant, was die pro-angiogene Wirkung von

Galektin-1 nahelegt und das Protein somit als potenzielles neues therapeutisches Target herausstellt (Pranjol et al., 2019).

Chen et al. (2019) konnten in Glioblastomen zeigen, dass die Fähigkeit der Immunsuppression charakteristisch für Tumore mit einer hohen LGALS-1 Expression ist. Der Knock-Out von LGALS-1 führte zu weniger immunsuppressiven M2-Makrophagen und weniger myeloiden Suppressorzellen. Die LGALS-1 Expression zeigte auch in Glioblastomen einen signifikant negativen Einfluss auf das Überleben ($p=0,0002$) (Chen et al., 2019).

In unserer aktuellen Studie konnten wir außerdem eine signifikant verminderte Anzahl von TILs in der oberen Quintile des Galektin-1 Remmele-Scores ($>10,75$; $n=70$) und bei Fällen mit einem Intensitätsscore von 3 ($n=174$) feststellen. Es zeigte sich bei der oberen Quintile des Remmele-Scores eine geringere Anzahl intratumoraler $CD3^+$ ($p=0,009$), $CD4^+$ ($p=0,002$) und $CD8^+$ -Lymphozyten ($p=0,026$; Tabelle 9). Bezogen auf den Intensitätsscore zeigte sich bei der Gruppe hoher Intensitäten von stromalem Galektin-1 eine signifikante ($p=0,032$) Minderung der Anzahl an $CD4^+$ TILs (Tabelle 10).

Erklärungsansätze zu dieser beobachteten Korrelation finden sich in mehreren präklinischen Studien. Perillo et al. (1995) beispielsweise zeigten schon vor 30 Jahren, dass Galektin-1 über die Bindung an N-Acetyllactosamine (LacNAc), die in vielen Zell-Rezeptoren wie beispielsweise CD45 vorkommen, die Apoptose von Effektor-Leukozyten induziert.

Van Woensel et al. (2017) untersuchten die Zusammenhänge von Galektin-1 und Lymphozyten in Glioblastomen. Auch hier führte weniger Galektin-1 zu mehr $CD3^+$, $CD8^+$, und $CD4^+$ -T-Zellen und außerdem weniger $CD4^+$ /Foxp3⁺ T-regulatorischen Helferzellen. In einer Studie von Matarrese et al. (2005) zeigt sich, dass extrazelluläres Galektin-1 die Überlebenszeit von Tumor-infiltrierenden T-Zellen über eine Fas-Liganden induzierte Apoptose moduliert. An Mausmodellen mit Kopf-Hals-Tumoren zeigte Nambiar et al. (2019), dass Galektin-1 über eine Hochregulation von PDL-1 und Galektin-9 im Tumorendothel die T-Zell Migration in den Tumor vermindert. Eine Galektin-1 Blockade wiederum führte zu mehr $CD4^+$ TILs und auch zu einem besseren Anti-PD1-Therapieansprechen (Nambiar et al., 2019).

Wir nehmen an, dass stromal hoch exprimiertes Galektin-1 über vielfältige Mechanismen Einfluss im TME ausübt. Die verringerte Anzahl intratumoraler Lymphozyten bei hohen stromalen Galektin-1 Werten lässt uns vermuten, dass Galektin-1 unter anderem die Apoptose Leukozyten induziert, die das Stroma durchwandern und so ihre Infiltration in den Tumor verhindert. Somit würde Galektin-1 eine potenziell medikamentös adressierbare Rolle in immunologisch ausgeschlossenen Tumoren zukommen (siehe auch Abbildung 4). Nambiar et al. (2019) haben eine ähnliche Hypothese für die Rolle von Galektin-1 in Kopf-Hals-Tumoren formuliert.

Die resultierende schlechtere Immunabwehr erklärt die schlechtere Prognose von Tumoren mit hoher stromaler Galektin-1 Expression. In diesem Kontext ist eine klinisch relevante Frage, ob Galektin-1 geeignet ist, um Fälle definieren zu können, die besonders von Immuntherapien profitieren könnten. Bisher erzielen Immuntherapien in HGSC unterdurchschnittliche Ergebnisse, obwohl es sich um immunogene Tumore handelt (Kandalaf et al., 2022, Hamanishi et al., 2015, Matulonis et al., 2019, Deutsche Krebsgesellschaft, 2022, González-Martín et al., 2019, Ray-Coquard et al., 2023). Die Beobachtung in HGSC, dass bei hohen stromalen Galektin-1 Werten, Immunzellen vor allem im Tumor vermindert sind, im Stroma jedoch weiterhin vorkommen, rückt Galektin-1 als einen potenziellen Einflussfaktor auf die Wirksamkeit von Immuntherapien in den Fokus. In nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen zeigte sich interstitielles Galektin-1 als guter prädiktiver Marker bezüglich des Ansprechens auf Immuntherapien (Capalbo et al., 2019). Studien, die zeigen, dass eine Galektin-1 Blockade mit vermehrtem Vorkommen von TILs assoziiert ist und zu einem besseren Ansprechen auf PDL-1-Inhibitoren führt, machen die große klinische Bedeutung von Galektin-1 in HGSC deutlich (Nambiar et al., 2019).

Um diese Fragen klären zu können, bedarf es weiterer Forschung zu genauen Mechanismen von Galektin-1 im Stroma von HGSC und seiner Rolle im TME.

4.2.2 Hohe tumorale Galektin-1 Werte als positiver prognostischer Faktor

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen stromaler Galektin-1-Expression, zeigte sich hoch-exprimiertes tumorales Galektin-1 überraschenderweise als positiver prognostischer Faktor. Drei Fälle mit dem höchsten tumoralen Intensitätscore von 3 zeigten jedoch eine signifikant negative Prognose ($p=0,03$, Abbildung 27). Diese sehr geringe Fallzahl lässt uns zu dem Schluss kommen, dass der prognostische Einfluss von tumoralem Galektin-1 trotz dieser „Ausreißer“ als prognostisch günstig zu bewerten ist. Bei einem Cut-Off von 1,4 zeigte der intratumorale Galektin-1 Score eine signifikante Korrelation mit einem kürzeren OS. Die Gruppe mit hohen Intensitäten ($\geq 1,4$) zeigte ein im Median 194 Tage längeres Überleben als Fälle mit geringeren intratumoralen Galektin-1 Intensitäten ($p=0,026$, Abbildung 28). Unsere Studie ist unseres Wissens die erste, die diesen Zusammenhang feststellt.

Es finden sich wenige Studien, in denen eine dezidierte Auswertung von Galektin-1 getrennt nach Stroma und Tumor vorgenommen wurde. Schulz et al. (2017) untersuchten Galektin-1 mittels IHC im Stroma, im Zytoplasma der Tumorzellen und im Nukleus der Tumorzellen an einem Kollektiv von Ovarialkarzinomen, das auch 110 Fälle seröser Histologie beinhaltete. Die Ergebnisse decken sich nicht mit unseren, da in der Untersuchung sowohl stromal als auch tumoral (zytoplasmatisch) vorkommendes Galektin-1 mit einer negativen Prognose ($p=0,029$) korreliert ist (Schulz et al., 2017).

Es gibt, wie bereits einleitend skizziert, Hypothesen, dass Galektin-1 durch das Vorliegen als Homodimer mit zweiseitiger Bindungsstelle dosisabhängig gegensätzliche Funktionen übernehmen kann (Abbildungen 7 und 8). Dies ist ein Erklärungsansatz für unsere konträren Ergebnisse von Galektin-1 im Stroma bzw. im Tumor. In der Muskelentwicklung beispielsweise hemmt Galektin-1 die Adhäsion von Myoblasten an Laminine (Cooper et al., 1991). In Ratten-Leydig-Zellen konnte gezeigt werden, dass Galektin-1 ihre Apoptose induziert, was eine der wenigen Studien ist, in denen Galektin-1 die Apoptose anderer Zellen als Immunzellen auslöst (Martinez et al., 2004).

Ein aktuelles Review von Yu et al. (2023) zeigt, dass neben den gut belegten immunsuppressiven Funktionen von Galektin-1 auch kontextabhängig

pro-inflammatorische Effekte beobachtet wurden, die potenziell im Rahmen der Tumorabwehr durch das Immunsystem zu einem prognostisch günstigen Outcome führen könnten. Diese pro-inflammatorischen Funktionen sind bisher jedoch nicht im Rahmen von Tumor-Erkrankungen beschrieben. Andere Arbeiten zeigten pro-inflammatorischen Effekte von Galektin-1 bei Sepsis (Russo et al., 2021), verschiedenen Infektionen (Poncini et al., 2015, Petropolis et al., 2014) und autoimmunen Prozessen (Pérez et al., 2015, Lei et al., 2018, Toegel et al., 2016).

Wir konnten zeigen, dass hohe Galektin-1-Werte im Tumor (Intensitätsscore $\geq 1,4$, $n=166$, 48,5%) mit signifikant mehr intrastromalen CD3⁺ Lymphozyten ($p=0,033$), signifikant mehr CD4⁺ Zellen im Tumor ($p=0,009$) und signifikant mehr CD4⁺ Lymphozyten im Stroma ($p=0,003$) korrelierte (Tabelle 11). Eine potenzielle Erklärung ist, dass Galektin-1 auf der Tumorzelle exprimiert wird und so als Antigen und HLA-Ligand wirkt, der von Lymphozyten erkannt wird, die daraufhin vermehrt in das Tumorgewebe einwandern. Bei höheren intratumoralen Galektin-1 Werten zeigte sich eine positive Korrelation mit Immunzellen und somit einer besseren Tumorabwehr und damit einhergehend einer günstigeren Prognose, was durch die dargestellte Hypothese erklärt werden kann.

Wie oben bereits beschrieben, zeigten Nielsen et al. (2012), dass CD20⁺ B-Lymphozyten in HGSC Antigen-erfahren sind und wahrscheinlich als Antigen-präsentierende Zellen die T-Zellantwort beeinflussen. Wir fanden in unserer Studie kein vermehrtes Vorkommen CD20⁺ B-Lymphozyten bei erhöhter tumoraler Galektin-1 Expression und nehmen daher an, dass es keinen direkten Zusammenhang zwischen CD20⁺ B-Lymphozyten und dem potentiellen Tumorantigen Galektin-1 gibt. Das vermehrte Vorkommen der T-Lymphozyten spricht dennoch für einen potenziell antigenen Effekt von Galektin-1, gegebenenfalls ohne direkt messbare Erhöhung der CD20⁺ B-Lymphozyten.

Es bedarf weiterer Forschung, um genaue Mechanismen von tumoral exprimierten Galektin-1 in HGSC zu identifizieren, um zu erörtern wie Galektin-1 im Tumor wirkt. Unsere Studie macht deutlich, dass es relevant ist, potenzielle Antigene getrennt nach ihrem Vorkommen in Tumor und Stroma

auszuwerten. Für zukünftige Studien ist es wünschenswert, dass einheitliche Scoring-Systeme etabliert werden, um höhere Vergleichbarkeiten der Studien untereinander zu schaffen.

4.2.3 Ist Galektin-1 ein brauchbarer prognostischer Biomarker in HGSC?

Vor dem Hintergrund der unterschiedlichen prognostischen Aussage von Galektin-1 in HGSC abhängig von Vorkommen in Stroma oder im Tumor, ist die Frage zu klären, ob Galektin-1 als prognostischer Biomarker herangezogen werden kann.

Es mangelt an Evidenz bezüglich des tumoralen Vorkommens von Galektin-1 als positiver prognostischer Marker und unsere Studie an einem großen (n=342) und sehr gut definierten Kollektiv von HGSC macht deutlich, dass diese Zusammenhänge in zukünftigen Studien weiter adressiert werden sollten.

Wir konnten zeigen, dass es eine signifikante Korrelation zwischen erhöhter stromaler Galektin-1 Expression und einem kürzeren OS gibt. Viele Studien zu verschiedenen Tumorentitäten zeigten bereits eine negative Korrelation von Galektin-1 mit dem Überleben und auch in HGSC gibt es neben unserer Studie Evidenz dafür, dass Galektin-1 als negativer prognostischer Faktor relevant ist.

Da die Färbung und Evaluation von stromalen Galektin-1 mittels Immunhistochemie eine kostengünstige Möglichkeit darstellt und mit einem geringeren Aufwand als beispielsweise der Auszählung von TILs einhergeht, ist ihre klinische Anwendung vielversprechend.

Um Galektin-1 jedoch als prognostischen Biomarker zu etablieren, ist neben weiterer Evidenz für seine prognostische Bedeutung in HGSC außerdem ein einheitliches Scoring System notwendig. Unsere Studie legt nahe, dass die Intensität der Färbung (Intensitätsscore) prognostisch aussagekräftiger ist als der prozentuale Anteil gefärbter Zellelemente (Prozentscore). Der Remmele-Score erscheint auf den ersten Blick besonders valide, da er sowohl Intensitäts- als auch Prozentscore beinhaltet. Für die Praxis bedeutet die Anwendung des Remmele-Scores jedoch den doppelten Aufwand in der Auswertung und unsere Untersuchungen zeigen, dass der intrastromale Intensitätsscore ausreichend

ist, um prognostische Aussagen treffen zu können. Für die diagnostische Anwendung ist es zunächst notwendig zu klären, wie valide das Scoring sowohl des Intensitäts- als auch des Remmele-Scores zwischen verschiedenen Pathologen und Pathologinnen ist (Interobserver variability). Außerdem bedarf es weiterer Studien, die anwendbare und einheitliche Cut-Offs definieren, um Galektin-1 klinisch nutzen zu können. Bei unseren Untersuchungen zeigte sich, dass die obere Quintile besonders schlecht überlebt und der Cut-Off von stromalen Galektin bei einem mittleren Remmele-Score von $>10,75$ liegt (Abbildung 26). Bei Nutzung des Intensitätsscores allein liegt der Cut-Off bei 3 (hohe Intensität), was ein potenziell unkompliziert nutzbarer Cut-Off für die klinische Anwendung darstellen würde (Abbildung 25).

Bezüglich der klinischen Relevanz ist zu beachten, dass viele Patientinnen mit HGSC erhöhte Galektin-1 Werte vor allem im Stroma aufweisen, nur ein Fall von 342 (0,3%) wies kein Galektin-1 im Stroma auf. In dem von uns untersuchten Kollektiv ($n=339$) zeigten 51,3% einen intrastromalen Galektin-1-Intensitätswert von 3 und damit eine schlechtere Prognose. Die prognostische Aussagekraft der intrastromalen Galektin-1-Intensität ist also relativ limitiert und lässt keine feinen Unterscheidungen, beispielsweise einer prognostisch besonders schlecht oder gut verlaufenden Gruppe zu. Bei der derzeitigen heterogenen Prognose innerhalb der Gruppe HGSC ist die Möglichkeit mittels der IHC-Färbung von Galektin-1 einen weiteren Prognosefaktor neben beispielsweise dem FIGO-Stadium zu bestimmen jedoch ein großer Fortschritt und die Zusammenschau unserer Ergebnisse und der Literatur heben stromales Galektin-1 als prognostischen Marker in HGSC hervor.

Andere Forschungsgruppen beleuchteten die potenzielle prognostische Aussagekraft von Galektin-1-Serumleveln bei Ovarialkarzinomen, die hier für einen umfassenden Blick auf Galektin-1 als potenziellen Biomarker erwähnt werden soll.

Der geläufige Tumormarker CA-125 hat eine mangelnde Sensitivität sowie Spezifität und kann auch bei beispielsweise benignen Ovarialzysten und bei Schwangerschaften erhöht sein. Ein verlässlicherer Biomarker könnte große

Vorteile in der klinischen Versorgung von Patientinnen mit Ovarialkarzinomen bedeuten. Masoodi et al. (2021) untersuchten vor diesem Hintergrund bei 84 neu diagnostizierte Ovarialtumoren die Serumlevel von Galektin-1 vor und nach der Behandlung. Die Serumlevel von Galektin-1 waren in der Patientinnengruppe (n=84) signifikant höher ($p<0,0001$) als in gesunden Kontrollen (n=209). Außerdem fanden die Forschenden eine signifikante Verminderung der Galektin-1 Serumlevel nach der Debulking-Operation ($p<0,0002$) und signifikant höhere Galektin-1 Serumlevel bei malignen als bei benignen Ovarialtumoren ($p<0,0001$) (Masoodi et al., 2021). Chen et al. (2015) untersuchten 110 Ovarialkarzinome und normale Ovarialgewebe mittels IHC auf Galektin-1. Patientinnen mit invasiven Karzinomen wiesen höhere intrastromale Galektin-1 Level in der immunhistochemischen Untersuchung auf als Patientinnen mit nicht-invasiven Karzinomen. Die intratumorale immunhistochemische Galektin-1 Färbung zeigte keine Signifikanz bezüglich der Invasion des Tumors, dem Tumorstadium und Lymphknotenmetastasen, was die Rolle von Galektin-1 bei Vorkommen im Stroma hervorhebt. Zusätzlich untersuchten Chen et al. (2015) 140 Blutproben von Ovarialkarzinom-Patientinnen, 70 gesunden weiblichen Probandinnen und 40 Probandinnen mit benignen gynäkologischen Erkrankungen. Sie fanden keine signifikanten Unterschiede zwischen diesen drei Gruppen und auch nicht zwischen den unterschiedlichen eingeschlossenen histologischen Tumorentitäten (serös, muzinös, endometrioid, klarzellig). Es konnte jedoch signifikanter höhere ($p=0,034$) Galektin-1 Serumlevel bei metastasierten Patientinnen verglichen mit nicht-metastasierten Patientinnen festgestellt werden. Auch Patientinnen mit höheren FIGO-Stadien wiesen signifikant höhere Galektin-1 Serumlevel auf ($p=0,041$). Wie auch Masoodi et al. (2021) konnte in der Studie eine signifikante Verminderung der Galektin-1 Serumlevel nach der Debulking-Operation bei 9 von 10 Fällen detektiert werden ($p<0,05$) (Chen et al., 2015).

Auch wenn die Untersuchungen von Galektin-1 im Serum der Patientinnen hier nur am Rande Erwähnung finden soll, unterstreicht es die prognostische Bedeutung von Galektin-1 in Ovarialkarzinomen.

Zusammenfassend ist es wichtig zu erwähnen, dass Galektin-1 durch seine konträre prognostische Aussagekraft bei Expression im Stroma bzw. im Tumor als prognostischer Biomarker Herausforderungen mit sich bringt. Es fehlt bisher an Evidenz, um tumorales Galektin-1 als positiven prognostischen Biomarker zu bewerten und es sind weitere Studien nötig um die prognostische Rolle von Galektin-1 in HGSC abschließend zu klären.

Wir kommen zu dem Schluss, dass der stromale Galektin-1-Intensitäts- oder Remmele-Score zur prognostischen Einschätzung durchaus geeignet ist. Dies bedeutet, dass die Untersuchung des Biomarkers auf Proteinebene mittels IHC erfolgen muss und die getrennte Auswertung nach Tumor und Stroma notwendig ist. Es bedarf weiterer Studien, die sich dem Ziel widmen, klinisch brauchbare Cut-Offs zu definieren, um Galektin-1 diagnostisch und anwenderfreundlich, reproduzierbar nutzen zu können.

4.2.4 Ist Galektin-1 ein potenzielles therapeutisches Target in HGSC?

Um Galektin-1 als Protein therapeutisch zu adressieren muss evaluiert werden, in welchen gesunden Geweben das Protein vorkommt und welche Rolle es dort spielt. Die Analyse von Schuster et al. zeigt, dass LGALS-1 auf epithelialen Ovarialtumoren überexprimiert ist und nicht auf dem dort verwendeten gesunden Kontrollgewebe vorkommt (Schuster et al., 2017).

Zusammen mit Studien, die positive Effekte von Galektin-1 Inhibitoren gezeigt wurden besteht eine begründete Hoffnung Galektin-1 als Target in HGSC nutzen zu können. Es gibt bereits einige Stoffe, die zur Galektin-1 Inhibition genutzt werden können und die zum Teil bereits in klinischen Studien getestet werden (Huang et al., 2021). Ein Review von Goud et al. (2021) stellt Galektin-1 als vielversprechendes Target in EOC heraus.

Zhang et al. (2014) zeigten an Ovarialkarzinomzellen, dass Galektin-1 mit Cisplatin-Resistenz in Verbindung steht und der Knockdown von Gal-1 zu einem verminderten Zellwachstum und verminderter Migration der Zellen führte. Eine Untersuchung von Thijssen et al. (2006) stellt Galektin-1 als mögliches Target von Anti-Angionese wirksamen Anginex heraus und Rubinstein et al. (2004) zeigten in vivo, dass die Blockade von Galektin-1 zu einer erhöhten T-Zellantwort in Tumorzellen führte. Nambiar et al. (2019) blockierten Galektin-1

in Kopf-Hals-Tumoren und beobachteten nicht nur mehr TILs, sondern auch dass ein erhöhtes Ansprechen auf Anti-PD1 resultiert. Derzeit bringen Anti PDL-1 Therapien in EOC nicht den erhofften Erfolg und potenziell höhere Ansprechraten durch Kombinationstherapien erzielen zu können einen großen Fortschritt in der Behandlung von Patientinnen bedeuten.

Unsere Studie wirft jedoch Fragen der klinischen Brauchbarkeit von Galektin-1 Inhibitoren auf, da sich eine unerwartet positive Prognose bei hohen tumoralen Galektin-1 Werten zeigte. Nichtsdestotrotz zeigt auch PDL-1, das bereits medikamentös adressiert wird (Pembrolizumab, Ipililumab) gegensätzliche Ergebnisse und so stellen beispielsweise PD-L1-exprimierende TILs überraschenderweise einen günstigen Prognosefaktor in Ovarialkarzinomen dar (Kim et al., 2019, Baş et al., 2021).

Aus unseren Analysen können wir zwei relevante Schlussfolgerungen bezüglich der therapeutischen Möglichkeiten, die Galektin-1 in HGSC birgt ziehen:

Zum einen zeigt sich, dass stromal vorkommendes Galektin-1 ein relevanter und potenziell inhibierbarer Faktor ist, der mit einer verminderten Anzahl von TILs und einem kürzeren OS einhergeht. Die Möglichkeit, dass Galektin-1, zu der Bildung immunologisch ausgeschlossener Tumoren beitragen könnte und inhibierbar ist birgt potenziell große Chancen für die bisher immer noch mangelhafte Therapie von Patientinnen mit HGSC.

Dem gegenüber steht jedoch, dass tumoral hochexprimierten Galektin-1 einen signifikant positiven Einfluss auf TILs und das Überleben in unserer Untersuchung zeigt.

Wir werten unsere Studie als relevanten Beitrag auf der Suche nach potenziellen Targets für die Behandlung von HGSC, der deutlich macht, dass eine Auswertung auf Proteinebene getrennt nach Lokalisation (stromal vs tumoral) erfolgen sollte. In der weiteren Evaluation von Galektin-1 als therapeutisch zu adressierendes Protein scheint dies neben seinem Vorkommen auf Normalgewebe relevant und dringend zu beachten zu sein.

4.3 Limitationen der Studie und Implikationen für zukünftige Untersuchungen

Eine Schwäche sowohl unserer B-Zell-Analysen als auch der Galektin-1 Auswertung ist die Fehleranfälligkeit durch subjektiven Bias. Diesen Bias haben wir versucht durch die Auswertung zu zwei Zeitpunkten und eine Reevaluation nach dem vier Augen Prinzip möglichst gering zu halten, gänzlich auszuschließen ist er jedoch nicht. Ein valides und möglichst objektives Scoring von Galektin-1 sollte mit dem Remmele-Score erzielt werden, der Intensität und Anteil gefärbter Areale gleichermaßen einbezieht und der sich auch als prognostisch brauchbarer Score darstellt. Bezüglich der Auswertung hinsichtlich des Vorkommens lymphoider Aggregate ist ein Nachteil unserer Studie, dass diese Auswertung nur an CD20-gefärbten und HE-Schnitten durchgeführt wurden. Eine Studie von Buisseret et al. (2017) zeigte, dass die Validität des Scorings von lymphoiden Strukturen an Schnitten mit IHC-Färbung eine hohe Übereinstimmung zwischen unterschiedlichen Pathologen und Pathologinnen hat. Allerdings wurden für die Auswertungen entweder CD45 als Marker aller Immunzellen oder eine Doppelfärbung von CD3 und CD20 verwendet, um sowohl T- als auch B-Zellen zu färben.

Diese zusätzlichen Färbungen sollten bei zukünftigen Studien ergänzt werden, um die Auswertung lymphoider Strukturen noch valider zu gestalten.

Außerdem ist es von Interesse zu evaluieren, wie die genaue Komposition der lymphoiden Aggregate ist. Die kann mittels multiplex IHC adressiert werden und so das Zusammenspiel der verschiedenen Lymphozyten in HGSC weiter beleuchtet werden, was zukünftig wünschenswert wäre. Dazu kann sich beispielsweise an der Studie von Kroeger et al. (2016) orientiert werden, die so vier verschiedene Arten lymphoider Aggregate in HGSC unterscheidet, die durch das Vorkommen unterschiedlicher Lymphozytenpopulationen gekennzeichnet sind.

Unsere korrelativen Untersuchungen von Galektin-1 mit Komponenten des Immunsystems und dem Überleben bieten wichtige Erkenntnisse und untermauern die angenommene Relevanz von Galektin-1 in HGSC. Durch die korrelative Statistik weist die Untersuchung jedoch einige Limitationen auf und

es ist wünschenswert, dass die beobachteten Einflüsse von Galektin-1 genauer analysiert werden. Einen ersten Schritt könnte eine Untersuchung mit Multiplex IHC darstellen, die Galektin-1 und Komponenten des Immunsystems gleichzeitig färbt und so ihre räumliche Komposition zeigen kann. Unsere Hypothese, dass Galektin-1 ein Faktor ist, der zur Entstehung immunologisch ausgeschlossener Tumore führt, könnte über diese Methodik weiter adressiert werden.

Insbesondere die vergleichende Multiplex IHC Untersuchung von Fällen mit hohem stromalem vs hohem tumoralem Galektin-1 könnte die scheinbar konträre Wirkung von Galektin-1 im HGSC weiter beleuchten.

Zukünftig bietet die Untersuchung von Galektin-1 und den Immunzellen in Zusammenhang mit unterschiedlichen molekularen und immunologischen Subtypen von HGSC die Möglichkeit relevante Erkenntnisse über HGSC mit klinischen Implikationen zu generieren (Verhaak et al., 2013). Die von uns durchgeführte korrelative Analyse zeigt, dass es große Relevanz hat die genauen Wirkweisen von Galektin-1 auf das Immunsystem in HGSC zukünftig in-vivo und in-vitro weiter zu analysieren, um gegebenenfalls neue therapeutischen Möglichkeiten von HGSC zu schaffen.

5 Zusammenfassung

Zielsetzung: Ovarialkarzinome stellen die zweithäufigste gynäkologische Tumorentität mit hoher Letalität dar und können in verschiedene histologische Subtypen eingeteilt werden, von denen high-grade serös der häufigste ist. Trotz des Wissens, dass es sich bei HGSC zum Teil um immunologisch aktive Tumore handelt gibt es bisher kaum Ansätze für spezielle Immuntherapien. Die tendenziell schlechte Prognose von HGSC ist innerhalb der Entität sehr variabel und hängt von verschiedenen Faktoren wie dem molekularen Subtyp und TIL ab, die in der Routinediagnostik nicht bestimmt werden. Routinemäßig zu bestimmende prognostische Biomarker fehlen bisher. TILs, besonders CD8⁺ Lymphozyten sind in HGSC prognostisch günstig und es gibt Hinweise, dass ihr positiver Einfluss auf das Überleben in Anwesenheit von CD20⁺ B-Lymphozyten größer ist. Des weiteren haben Genexpressionsanalysen Hinweise geliefert, dass LGALS-1 auf dem HLA-Ligandom von HGSC überexprimiert ist und auf mRNA-Ebene einen negativen prognostischen Einfluss hat. Auf Proteinebene existieren Studien, die einen immunsuppressiven Effekt von Galektin-1 mit prognostischer Signifikanz in verschiedenen Tumorentitäten und auch in Ovarialkarzinomen zeigen. Diese Arbeit widmet sich dem Ziel die Rolle von TILs, speziell CD20⁺ B-Lymphozyten und dem Tumorantigen Galektin-1 in HGSC näher zu beleuchten um so prognostische Faktoren sowie potenzielle Targets für Immuntherapien zu identifizieren.

Material und Methode: 345 Fälle high-grade seröser Karzinome mit bis zu 20 Jahren Überlebensdaten wurden mittels Immunhistochemie an Tissue Microarrays untersucht. Eine semiquantitative Auswertung der Färbungen von CD20 und Galektin-1 erfolgte mithilfe eines Intensitätsscores und Prozentscores, die zum Remmele-Score zusammengefasst wurden, um ein möglichst valides Scoring zu ermöglichen.

Ergebnisse: Intratumorale CD20⁺ B-Zellen sind schon ab dem Vorkommen einer CD20⁺ B-Zelle prognostisch günstig. Auch stromal vorkommende CD20⁺ B-Lymphozyten sind prognostisch günstig, Maximalwerte von ≥ 20 Lymphozyten charakterisieren hier eine besonders günstig verlaufende Gruppe. Wenn CD20⁺ B-Zellen gemeinsam mit CD4⁺ und CD8⁺-T-Lymphozyten vorkommen ist ihre

prognostische Signifikanz höher als bei alleinigem Vorkommen, besonders gut verlaufende Fälle (sprich mit besserem OS) weisen CD4⁺, CD8⁺ und CD20⁺ TILs gemeinsam auf. Das Kollektiv wies außerdem in 8,1% der ausgewerteten Fälle lymphoide Aggregate auf, die sich abermals als prognostisch günstig erwiesen. Galektin-1 war stromal in 99,7% der Fälle exprimiert, der Großteil der Fälle (57%) wies hohe Werte von größer 9 im Remmel-Score auf. Intraepithelial zeigte sich lediglich bei 8,5% kein Galektin. Geringe intratumorale Werte bis zu einem Remmele-Score von 3 zeigten sich jedoch in 72,8% der Fälle. Die Galektin-1 Auswertungen brachten ambivalente Ergebnisse: Hoch exprimiertes stromales Galektin-1 (Remmele-Score >10,75) zeigt eine ungünstige Prognose und korreliert mit weniger intraepithelialen CD3⁺-, CD4⁺- und CD8⁺-Lymphozyten. Hohes tumorales Galektin-1 (Intensitätsscore ≥1,4) ist hingegen prognostisch günstig und korreliert mit mehr stromalen CD3⁺- und CD4⁺-Lymphozyten und mehr tumoralen CD4⁺-Lymphozyten.

Schlussfolgerung: CD20⁺ B-Lymphozyten spielen neben den T-Lymphozyten eine relevante Rolle in der Prognose von HGSC. Besonders das gemeinsame Vorkommen von verschiedenen T- und B-Lymphozyten ist ein wichtiger Prognosefaktor in HGSC und auch außerhalb der Organisation als lymphoides Aggregat prognostisch günstiger als das Vorkommen einer Lymphozytenpopulation alleine. Bezüglich der Rolle von Galektin-1 in HGSC ist es relevant nach dem Vorkommen intratumoral bzw. intrastromal zu unterscheiden. Stromales Galektin-1 scheint immunsuppressive Effekte zu haben, tumorales Galektin-1 eher antigen zu wirken. Es ist weiter zu evaluieren, welche Rolle vor allem stromales Galektin-1 in der Entstehung immunologisch ausgeschlossener Tumore spielt. Die positive Korrelation von intratumoralen Galektin-1 in HGSC mit dem Überleben muss in der Bewertung von Galektin-1 als prognostischer Biomarker und als potenzielles Target unbedingt bedacht und zukünftig re-evaluiert werden muss. Stromales Galektin-1 kann als prognostischer Marker dienen, ein klinisch einfach anwendbarer Cut-Off kann bei einem Intensitätsscore von 3 gesetzt werden, der eine relativ große Gruppe innerhalb der Entität definiert, die ein signifikant schlechteres OS hat.

6 Literaturverzeichnis

2013. *Die Gynäkologie*, Springer.

ABROUN, S., OTSUYAMA, K., SHAMSASENJAN, K., ISLAM, A., AMIN, J., IQBAL, M. S., GONDO, T., ASAOKU, H. & KAWANO, M. M. 2008.

Galectin-1 supports the survival of CD45RA(-) primary myeloma cells in vitro. *Br J Haematol*, 142, 754-65.

ACKERMANN, H., ADEN, K., AURICH, M., BECKER, G., BLEY, C.-H., CENTGRAF, M., DETTENKOFER, M., DÖRGES, S., EBNER, W., EICHBAUM, C., VON FIGURA, A., FRANK, U., FÖRSTER, M., GENZWÜRKER, H., GMINSKI, R., GRAZE, H., HALLBACH, J., HAUSER, K., HEPPRICH, M., HERMANN, G., HERREN, C., HERRMANN, E., HINKELBEIN, J., HOHNER, M., HORN, H., HUCKLENBROICH, P., JACOBI, E., JAROSLAWSKI, K., JOHANN, P.-D., KEIL, J., KLINGELHÖFER, E., KRAATZ, J., KRISCHAK, G., KRÖNER, H.-P., LATZ, P., LAUTENBACHER, H., LEDIG, T., MARX, M., MERKER, M., MIKSCH, A., OBERMANN, K., PANE, R., PFLEGER, C., SINGER, K., RÖHRIG-HERZOG, M. P. H. G., VON SANDEN, S., SCHLINGLOFF, F., SCHNEIDER, J., SCHNURBUS-DUHS, A., SCHÖNE-SEIFERT, B., SCHULZE, J., SEITER, H., STAHL, H.-C., STANGLER-ALPERS, E., WACKER, C., XANDER, C., ZIESENITZ, V. & ZIMMER, G. 2014. Tumormikroimmunologie (Immunescape). In: ACKERMANN, H., ADEN, K., AURICH, M., BECKER, G., BLEY, C.-H., CENTGRAF, M., DETTENKOFER, M., DÖRGES, S., EBNER, W., EICHBAUM, C., FRANK, U., FÖRSTER, M., GENZWÜRKER, H., GMINSKI, R., GRAZE, H., HALLBACH, J., HAUSER, K., HEPPRICH, M., HERMANN, G., HERREN, C., HERRMANN, E., HINKELBEIN, J., HOHNER, M., HORN, H., HUCKLENBROICH, P., JACOBI, E., JAROSLAWSKI, K., JOHANN, P.-D., KEIL, J., KLINGELHÖFER, E., KRAATZ, J., KRISCHAK, G., KRÖNER, H.-P., LATZ, P., LAUTENBACHER, H., LEDIG, T., MARX, M., MERKER, M., MIKSCH, A., OBERMANN, K., PANE, R., PFLEGER, C., SINGER, K., RÖHRIG-HERZOG, M. P. H. G., SCHLINGLOFF, F., SCHNEIDER, J., SCHNURBUS-DUHS, A., SCHULZE, J., SCHÖNE-SEIFERT, B., SEITER, H., STAHL, H.-C., STANGLER-ALPERS, E., WACKER, C., XANDER, C., ZIESENITZ, V., ZIMMER, G., VON FIGURA, A. & VON SANDEN, S. (eds.) *AllEx - Alles fürs Examen*. 2. überarbeitete und erweiterte Auflage ed.: Georg Thieme Verlag KG.

ARNETH, B. 2019. Tumor Microenvironment. *Medicina (Kaunas)*, 56.

AWMF, D. K., DEUTSCHE KREBSHILFE 2021. S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge maligner Ovarialtumoren, Langversion 5.0.

BAŞ, Y., KOÇ, N., HELVACI, K., KOÇAK, C., AKDENİZ, R. & ŞAHİN, H. H. K. 2021. Clinical and pathological significance of programmed cell death 1 (PD-1)/programmed cell death ligand 1 (PD-L1) expression in high grade serous ovarian cancer. *Transl Oncol*, 14, 100994.

BERAL, V., GAITSKELL, K., HERMON, C., MOSER, K., REEVES, G. & PETO, R. 2015. Menopausal hormone use and ovarian cancer risk: individual

- participant meta-analysis of 52 epidemiological studies. *Lancet*, 385, 1835-42.
- BERBERAT, P. O., FRIESS, H., WANG, L., ZHU, Z., BLEY, T., FRIGERI, L., ZIMMERMANN, A. & BÜCHLER, M. W. 2001. Comparative analysis of galectins in primary tumors and tumor metastasis in human pancreatic cancer. *J Histochem Cytochem*, 49, 539-49.
- BUISSERET, L., DESMEDT, C., GARAUD, S., FORNILI, M., WANG, X., VAN DEN EYDEN, G., DE WIND, A., DUQUENNE, S., BOISSON, A., NAVEAUX, C., ROTHÉ, F., RORIVE, S., DECAESTECKER, C., LARSIMONT, D., PICCART-GEHBART, M., BIGANZOLI, E., SOTIRIOU, C. & WILLARD-GALLO, K. 2017. Reliability of tumor-infiltrating lymphocyte and tertiary lymphoid structure assessment in human breast cancer. *Mod Pathol*, 30, 1204-1212.
- BUYS, S. S., PARTRIDGE, E., BLACK, A., JOHNSON, C. C., LAMERATO, L., ISAACS, C., REDING, D. J., GREENLEE, R. T., YOKOCHI, L. A., KESSEL, B., CRAWFORD, E. D., CHURCH, T. R., ANDRIOLE, G. L., WEISSFELD, J. L., FOUAD, M. N., CHIA, D., O'BRIEN, B., RAGARD, L. R., CLAPP, J. D., RATHMELL, J. M., RILEY, T. L., HARTGE, P., PINSKY, P. F., ZHU, C. S., IZMIRLIAN, G., KRAMER, B. S., MILLER, A. B., XU, J. L., PROROK, P. C., GOHAGAN, J. K. & BERG, C. D. 2011. Effect of screening on ovarian cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Randomized Controlled Trial. *Jama*, 305, 2295-303.
- CAPALBO, C., FILETTI, M., SCAFETTA, G., MARCHETTI, P. & BARTOLAZZI, A. 2019. Galectins role as predictive markers for anti-PD-1-based immunotherapy in non-small cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 37, 111-111.
- CHEN, G. M., KANNAN, L., GEISTLINGER, L., KOFIA, V., SAFIKHANI, Z., GENDOO, D. M. A., PARMIGIANI, G., BIRRER, M., HAIBE-KAINS, B. & WALDRON, L. 2018. Consensus on Molecular Subtypes of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Clin Cancer Res*, 24, 5037-5047.
- CHEN, L., YAO, Y., SUN, L. & TANG, J. 2017. Galectin-1 promotes tumor progression via NF- κ B signaling pathway in epithelial ovarian cancer. *J Cancer*, 8, 3733-3741.
- CHEN, L., YAO, Y., SUN, L., ZHOU, J., LIU, J., WANG, J., LI, J. & TANG, J. 2015. Clinical implication of the serum galectin-1 expression in epithelial ovarian cancer patients. *J Ovarian Res*, 8, 78.
- CHEN, Q., HAN, B., MENG, X., DUAN, C., YANG, C., WU, Z., MAGAFUROV, D., ZHAO, S., SAFIN, S., JIANG, C. & CAI, J. 2019. Immunogenomic analysis reveals LGALS1 contributes to the immune heterogeneity and immunosuppression in glioma. *International Journal of Cancer*, 145, 517-530.
- CHEN, R., PAN, S., OTTENHOF, N. A., DE WILDE, R. F., WOLFGANG, C. L., LANE, Z., POST, J., BRONNER, M. P., WILLMANN, J. K., MAITRA, A. & BRENTNALL, T. A. 2012. Stromal galectin-1 expression is associated with long-term survival in resectable pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Biol Ther*, 13, 899-907.

- CHIARIOTTI, L., BERLINGIERI, M. T., BATTAGLIA, C., BENVENUTO, G., MARTELLI, M. L., SALVATORE, P., CHIAPPETTA, G., BRUNI, C. B. & FUSCO, A. 1995. Expression of galectin-1 in normal human thyroid gland and in differentiated and poorly differentiated thyroid tumors. *Int J Cancer*, 64, 171-5.
- CHOUFANI, G., NAGY, N., SAUSSEZ, S., MARCHANT, H., BISSCHOP, P., BURCHERT, M., DANGUY, A., LOURYAN, S., SALMON, I., GABIUS, H. J., KISS, R. & HASSID, S. 1999. The levels of expression of galectin-1, galectin-3, and the Thomsen-Friedenreich antigen and their binding sites decrease as clinical aggressiveness increases in head and neck cancers. *Cancer*, 86, 2353-63.
- CHUNG, H., KIM, B., JUNG, S. H., WON, K. J., JIANG, X., LEE, C. K., LIM, S. D., YANG, S. K., SONG, K. H. & KIM, H. S. 2013. Does phosphorylation of cofilin affect the progression of human bladder cancer? *BMC Cancer*, 13, 45.
- CINDOLO, L., BENVENUTO, G., SALVATORE, P., PERO, R., SALVATORE, G., MIRONE, V., PREZIOSO, D., ALTIERI, V., BRUNI, C. B. & CHIARIOTTI, L. 1999. galectin-1 and galectin-3 expression in human bladder transitional-cell carcinomas. *Int J Cancer*, 84, 39-43.
- COOPER, D. N., MASSA, S. M. & BARONDES, S. H. 1991. Endogenous muscle lectin inhibits myoblast adhesion to laminin. *J Cell Biol*, 115, 1437-48.
- COOSEMANS, A., DECOENE, J., BAERT, T., LAENEN, A., KASRAN, A., VERSCHUERE, T., SEYS, S. & VERGOTE, I. 2016. Immunosuppressive parameters in serum of ovarian cancer patients change during the disease course. *Oncoimmunology*, 5, e1111505.
- COUSIN, J. M. & CLONINGER, M. J. 2016. The Role of Galectin-1 in Cancer Progression, and Synthetic Multivalent Systems for the Study of Galectin-1. *Int J Mol Sci*, 17.
- D'HAENE, N., MARIS, C., SANDRAS, F., DEHOU, M. F., REMMELINK, M., DECAESTECKER, C. & SALMON, I. 2005. The differential expression of Galectin-1 and Galectin-3 in normal lymphoid tissue and non-Hodgkin's and Hodgkin's lymphomas. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 18, 431-43.
- DEUTSCHE KREBSGESELLSCHAFT, D. K., AWMF. 2022. Leitlinienprogramm Onkologie: S3 Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge maligner Ovarialtumoren, Langversion 5.1.
- DIEBOLD, J. 2014. Seröse Tumoren des Ovars. *Der Pathologe*, 35, 314-321.
- DOSE, J. & JÄNICKE, F. 2003. Adnexe. In: KAUFMANN, M., COSTA, S. D. & SCHARL, A. (eds.) *Die Gynäkologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- ELOLA, M. T., WOLFENSTEIN-TODEL, C., TRONCOSO, M. F., VASTA, G. R. & RABINOVICH, G. A. 2007. Galectins: matricellular glycan-binding proteins linking cell adhesion, migration, and survival. *Cell Mol Life Sci*, 64, 1679-700.
- FERLAY J, E. M., LAM F, LAVERSANNE M, COLOMBET M, MERY L, PIÑEROS M, ZNAOR A, SOERJOMATARAM I, BRAY F 2024. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.

- GAONA-LUVIANO, P., MEDINA-GAONA, L. A. & MAGANA-PEREZ, K. 2020. Epidemiology of ovarian cancer. *Chin Clin Oncol*, 9, 47.
- GOFF, B. A., MANDEL, L., MUNTZ, H. G. & MELANCON, C. H. 2000. Ovarian carcinoma diagnosis. *Cancer*, 89, 2068-75.
- GONZÁLEZ-MARTÍN, A., POTHURI, B., VERGOTE, I., DEPONT CHRISTENSEN, R., GRAYBILL, W., MIRZA, M. R., MCCORMICK, C., LORUSSO, D., HOSKINS, P., FREYER, G., BAUMANN, K., JARDON, K., REDONDO, A., MOORE, R. G., VULSTEKE, C., O'CEARBHAILL, R. E., LUND, B., BACKES, F., BARRETINA-GINESTA, P., HAGGERTY, A. F., RUBIO-PÉREZ, M. J., SHAHIN, M. S., MANGILI, G., BRADLEY, W. H., BRUCHIM, I., SUN, K., MALINOWSKA, I. A., LI, Y., GUPTA, D. & MONK, B. J. 2019. Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med*, 381, 2391-2402.
- GOODE, E. L., BLOCK, M. S., KALLI, K. R., VIERKANT, R. A., CHEN, W., FOGARTY, Z. C., GENTRY-MAHARAJ, A., TOŁOCZKO, A., HEIN, A., BOULIGNY, A. L., JENSEN, A., OSORIO, A., HARTKOPF, A., RYAN, A., CHUDECKA-GŁAZ, A., MAGLIOCCO, A. M., HARTMANN, A., JUNG, A. Y., GAO, B., HERNANDEZ, B. Y., FRIDLEY, B. L., MCCAULEY, B. M., KENNEDY, C. J., WANG, C., KARPINSKYJ, C., DE SOUSA, C. B., TIEZZI, D. G., WACHTER, D. L., HERPEL, E., TARAN, F. A., MODUGNO, F., NELSON, G., LUBIŃSKI, J., MENKISZAK, J., ALSOP, J., LESTER, J., GARCÍA-DONAS, J., NATION, J., HUNG, J., PALACIOS, J., ROTHSTEIN, J. H., KELLEY, J. L., DE ANDRADE, J. M., ROBLES-DÍAZ, L., INTERMAGGIO, M. P., WIDSCHWENDTER, M., BECKMANN, M. W., RUEBNER, M., JIMENEZ-LINAN, M., SINGH, N., OSZUREK, O., HARNETT, P. R., RAMBAU, P. F., SINN, P., WAGNER, P., GHATAGE, P., SHARMA, R., EDWARDS, R. P., NESS, R. B., ORSULIC, S., BRUCKER, S. Y., JOHNATTY, S. E., LONGACRE, T. A., URSULA, E., MCGUIRE, V., SIEH, W., NATANZON, Y., LI, Z., WHITTEMORE, A. S., ANNA, A., STAEBLER, A., KARLAN, B. Y., GILKS, B., BOWTELL, D. D., HØGDALL, E., CANDIDO DOS REIS, F. J., STEED, H., CAMPBELL, I. G., GRONWALD, J., BENÍTEZ, J., KOZIAK, J. M., CHANG-CLAUDE, J., MOYSICH, K. B., KELEMEN, L. E., COOK, L. S., GOODMAN, M. T., GARCÍA, M. J., FASCHING, P. A., KOMMOSS, S., DEEN, S., KJAER, S. K., MENON, U., BRENTON, J. D., PHAROAH, P. D. P., CHENEVIX-TRENCH, G., HUNTSMAN, D. G., WINHAM, S. J., KÖBEL, M. & RAMUS, S. J. 2017. Dose-Response Association of CD8+ Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Survival Time in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *JAMA Oncol*, 3, e173290.
- GOUD, N. S. & BHATTACHARYA, A. 2021. Human Galectin-1 in Multiple Cancers: A Privileged Molecular Target in Oncology. *Mini Rev Med Chem*, 21, 2169-2186.
- HAMANISHI, J., MANDAI, M., IKEDA, T., MINAMI, M., KAWAGUCHI, A., MURAYAMA, T., KANAI, M., MORI, Y., MATSUMOTO, S., CHIKUMA, S., MATSUMURA, N., ABIKO, K., BABA, T., YAMAGUCHI, K., UEDA, A., HOSOE, Y., MORITA, S., YOKODE, M., SHIMIZU, A., HONJO, T. & KONISHI, I. 2015. Safety and Antitumor Activity of Anti-PD-1 Antibody,

- Nivolumab, in Patients With Platinum-Resistant Ovarian Cancer. *J Clin Oncol*, 33, 4015-22.
- HAMANISHI, J., MANDAI, M., IWASAKI, M., OKAZAKI, T., TANAKA, Y., YAMAGUCHI, K., HIGUCHI, T., YAGI, H., TAKAKURA, K., MINATO, N., HONJO, T. & FUJII, S. 2007. Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 3360-5.
- HANAHAHAN, D. 2022. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov*, 12, 31-46.
- HARTER, P. & KÜMMEL, S. 02/25. Therapiestandards der Kliniken für Gynäkologie & Gynäkologische Onkologie an den Kliniken Essen-Mitte (KEM), Essen.
- HIPPEN, B. E., DEMATTOS, A., COOK, W. J., KEW, C. E., 2ND & GASTON, R. S. 2005. Association of CD20+ infiltrates with poorer clinical outcomes in acute cellular rejection of renal allografts. *Am J Transplant*, 5, 2248-52.
- HÖFLER G, K. H., MOCH H 2019. *Pathologie Das Lehrbuch*, Urban & Fischer Verlag/ Elsevier GmbH.
- HØGDALL, E., HØGDALL, C., VO, T., ZHOU, W., HUANG, L., MARTON, M., KEEFE, S. M., BUSCH-SØRENSEN, M., SØRENSEN, S. M., GEORGSSEN, J., MEJLGAARD, E., NEDERGAARD, L. & STEINICHE, T. 2020. Impact of PD-L1 and T-cell inflamed gene expression profile on survival in advanced ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*, 30, 1034-1042.
- HOPPENOT, C., ECKERT, M. A., TIENDA, S. M. & LENGYEL, E. 2018. Who are the long-term survivors of high grade serous ovarian cancer? *Gynecol Oncol*, 148, 204-212.
- HUANG, Y., WANG, H. C., ZHAO, J., WU, M. H. & SHIH, T. C. 2021. Immunosuppressive Roles of Galectin-1 in the Tumor Microenvironment. *Biomolecules*, 11.
- HWANG, W. T., ADAMS, S. F., TAHIROVIC, E., HAGEMANN, I. S. & COUKOS, G. 2012. Prognostic significance of tumor-infiltrating T cells in ovarian cancer: a meta-analysis. *Gynecol Oncol*, 124, 192-8.
- JACOBS, I. J., MENON, U., RYAN, A., GENTRY-MAHARAJ, A., BURNELL, M., KALSI, J. K., AMSO, N. N., APOSTOLIDOU, S., BENJAMIN, E., CRUICKSHANK, D., CRUMP, D. N., DAVIES, S. K., DAWNAY, A., DOBBS, S., FLETCHER, G., FORD, J., GODFREY, K., GUNU, R., HABIB, M., HALLETT, R., HEROD, J., JENKINS, H., KARPINSKYJ, C., LEESON, S., LEWIS, S. J., LISTON, W. R., LOPES, A., MOULD, T., MURDOCH, J., ORAM, D., RABIDEAU, D. J., REYNOLDS, K., SCOTT, I., SEIF, M. W., SHARMA, A., SINGH, N., TAYLOR, J., Warburton, F., WIDSCHWENDTER, M., WILLIAMSON, K., WOOLAS, R., FALLOWFIELD, L., MCGUIRE, A. J., CAMPBELL, S., PARMAR, M. & SKATES, S. J. 2016. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. *Lancet*, 387, 945-956.
- KANDALAFT, L. E., DANGAJ LANITI, D. & COUKOS, G. 2022. Immunobiology of high-grade serous ovarian cancer: lessons for clinical translation. *Nat Rev Cancer*, 22, 640-656.

- KIM, H. J., JEON, H. K., CHO, Y. J., PARK, Y. A., CHOI, J. J., DO, I. G., SONG, S. Y., LEE, Y. Y., CHOI, C. H., KIM, T. J., BAE, D. S., LEE, J. W. & KIM, B. G. 2012. High galectin-1 expression correlates with poor prognosis and is involved in epithelial ovarian cancer proliferation and invasion. *Eur J Cancer*, 48, 1914-21.
- KIM, K. H., CHOI, K. U., KIM, A., LEE, S. J., LEE, J. H., SUH, D. S., KWON, B. S. & HWANG, C. 2019. PD-L1 expression on stromal tumor-infiltrating lymphocytes is a favorable prognostic factor in ovarian serous carcinoma. *J Ovarian Res*, 12, 56.
- KOBAYASHI, H., YAMADA, Y., SADO, T., SAKATA, M., YOSHIDA, S., KAWAGUCHI, R., KANAYAMA, S., SHIGETOMI, H., HARUTA, S., TSUJI, Y., UEDA, S. & KITANAKA, T. 2008. A randomized study of screening for ovarian cancer: a multicenter study in Japan. *Int J Gynecol Cancer*, 18, 414-20.
- KÖBEL, M., RAHIMI, K., RAMBAU, P. F., NAUGLER, C., LE PAGE, C., MEUNIER, L., DE LADURANTAYE, M., LEE, S., LEUNG, S., GOODE, E. L., RAMUS, S. J., CARLSON, J. W., LI, X., EWANOWICH, C. A., KELEMEN, L. E., VANDERHYDEN, B., PROVENCHER, D., HUNTSMAN, D., LEE, C. H., GILKS, C. B. & MES MASSON, A. M. 2016. An Immunohistochemical Algorithm for Ovarian Carcinoma Typing. *Int J Gynecol Pathol*, 35, 430-41.
- KOCH-INSTITUT, R. & E.V., G. D. E. K. I. D. 2019. Krebs in Deutschland 2015/2016.
- KOOPMANS, S. M., BOT, F. J., SCHOUTEN, H. C., JANSSEN, J. & VAN MARION, A. M. 2012. The involvement of Galectins in the modulation of the JAK/STAT pathway in myeloproliferative neoplasia. *Am J Blood Res*, 2, 119-27.
- KROEGER, D. R., MILNE, K. & NELSON, B. H. 2016. Tumor-Infiltrating Plasma Cells Are Associated with Tertiary Lymphoid Structures, Cytolytic T-Cell Responses, and Superior Prognosis in Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res*, 22, 3005-15.
- KUDO-SAITO, C., SHIRAKO, H., OHIKE, M., TSUKAMOTO, N. & KAWAKAMI, Y. 2013. CCL2 is critical for immunosuppression to promote cancer metastasis. *Clin Exp Metastasis*, 30, 393-405.
- KUO, P. L., HUNG, J. Y., HUANG, S. K., CHOU, S. H., CHENG, D. E., JONG, Y. J., HUNG, C. H., YANG, C. J., TSAI, Y. M., HSU, Y. L. & HUANG, M. S. 2011. Lung cancer-derived galectin-1 mediates dendritic cell anergy through inhibitor of DNA binding 3/IL-10 signaling pathway. *J Immunol*, 186, 1521-30.
- KURMAN, R. J. & SHIH IE, M. 2016. The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis: Revisited, Revised, and Expanded. *Am J Pathol*, 186, 733-47.
- LEHNHARDT, A., MENGEL, M., PAPE, L., EHRICH, J. H., OFFNER, G. & STREHLAU, J. 2006. Nodular B-cell aggregates associated with treatment refractory renal transplant rejection resolved by rituximab. *Am J Transplant*, 6, 847-51.
- LEI, T., MOOS, S., KLUG, J., ASLANI, F., BHUSHAN, S., WAHLE, E., FRÖHLICH, S., MEINHARDT, A. & FIJAK, M. 2018. Galectin-1

- enhances TNF α -induced inflammatory responses in Sertoli cells through activation of MAPK signalling. *Sci Rep*, 8, 3741.
- LEONG, H. S., GALLETTA, L., ETEMADMOGHADAM, D., GEORGE, J., KÖBEL, M., RAMUS, S. J. & BOWTELL, D. 2015. Efficient molecular subtype classification of high-grade serous ovarian cancer. *J Pathol*, 236, 272-7.
- LI, X., WANG, H., JIA, A., CAO, Y., YANG, L. & JIA, Z. 2023. LGALS1 regulates cell adhesion to promote the progression of ovarian cancer. *Oncol Lett*, 26, 326.
- LU, H., LOU, H., WENGERT, G., PAUDEL, R., PATEL, N., DESAI, S., CRUM, B., LINTON-REID, K., CHEN, M., LI, D., IP, J., MAURI, F., PINATO, D. J., ROCKALL, A., COPLEY, S. J., GHAEEM-MAGHAMI, S. & ABOAGYE, E. O. 2023. Tumor and local lymphoid tissue interaction determines prognosis in high-grade serous ovarian cancer. *Cell Rep Med*, 4, 101092.
- MARTINEZ, V. G., PELLIZZARI, E. H., DIAZ, E. S., CIGORRAGA, S. B., LUSTIG, L., DENDUCHIS, B., WOLFENSTEIN-TODEL, C. & IGLESIAS, M. M. 2004. Galectin-1, a cell adhesion modulator, induces apoptosis of rat Leydig cells in vitro. *Glycobiology*, 14, 127-37.
- MASOODI, M., SHAH, Z. A., BEIGH, A. H., AHMAD, S. Z., MIR, A. W., YASIN, B., RASOOL, R., MASOODI, K. Z. & BHAT, G. M. 2021. Galectin-1 as a predictive biomarker in ovarian cancer. *J Ovarian Res*, 14, 123.
- MATARRESE, P., TINARI, A., MORMONE, E., BIANCO, G. A., TOSCANO, M. A., ASCIONE, B., RABINOVICH, G. A. & MALORNI, W. 2005. Galectin-1 sensitizes resting human T lymphocytes to Fas (CD95)-mediated cell death via mitochondrial hyperpolarization, budding, and fission. *J Biol Chem*, 280, 6969-85.
- MATHIEU, V., DE LASSALLE, E. M., TOELEN, J., MOHR, T., BELLAHCÈNE, A., VAN GOIETSENOVEN, G., VERSCHUERE, T., BOUZIN, C., DEBYSER, Z., DE VLEESCHOUWER, S., VAN GOOL, S., POIRIER, F., CASTRONOVO, V., KISS, R. & FERON, O. 2012. Galectin-1 in melanoma biology and related neo-angiogenesis processes. *J Invest Dermatol*, 132, 2245-54.
- MATULONIS, U. A., SHAPIRA-FROMMER, R., SANTIN, A. D., LISYANSKAYA, A. S., PIGNATA, S., VERGOTE, I., RASPAGLIESI, F., SONKE, G. S., BIRRER, M., PROVENCHER, D. M., SEHOULI, J., COLOMBO, N., GONZÁLEZ-MARTÍN, A., OAKNIN, A., OTTEVANGER, P. B., RUDAITIS, V., KATCHAR, K., WU, H., KEEFE, S., RUMAN, J. & LEDERMANN, J. A. 2019. Antitumor activity and safety of pembrolizumab in patients with advanced recurrent ovarian cancer: results from the phase II KEYNOTE-100 study. *Ann Oncol*, 30, 1080-1087.
- MCALPINE, J. N., PORTER, H., KÖBEL, M., NELSON, B. H., PRENTICE, L. M., KALLOGER, S. E., SENZ, J., MILNE, K., DING, J., SHAH, S. P., HUNTSMAN, D. G. & GILKS, C. B. 2012. BRCA1 and BRCA2 mutations correlate with TP53 abnormalities and presence of immune cell infiltrates in ovarian high-grade serous carcinoma. *Mod Pathol*, 25, 740-50.

- MENON, U., GENTRY-MAHARAJ, A., HALLETT, R., RYAN, A., BURNELL, M., SHARMA, A., LEWIS, S., DAVIES, S., PHILPOTT, S., LOPES, A., GODFREY, K., ORAM, D., HEROD, J., WILLIAMSON, K., SEIF, M. W., SCOTT, I., MOULD, T., WOOLAS, R., MURDOCH, J., DOBBS, S., AMSO, N. N., LEESON, S., CRUICKSHANK, D., MCGUIRE, A., CAMPBELL, S., FALLOWFIELD, L., SINGH, N., DAWNAY, A., SKATES, S. J., PARMAR, M. & JACOBS, I. 2009. Sensitivity and specificity of multimodal and ultrasound screening for ovarian cancer, and stage distribution of detected cancers: results of the prevalence screen of the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS). *Lancet Oncol*, 10, 327-40.
- MILLS, A. M., PERES, L. C., MEISS, A., RING, K. L., MODESITT, S. C., ABBOTT, S. E., ALBERG, A. J., BANDERA, E. V., BARNHOLTZ-SLOAN, J., BONDY, M. L., COTE, M. L., FUNKHOUSER, E., MOORMAN, P. G., PETERS, E. S., SCHWARTZ, A. G., TERRY, P. D., WALLACE, K. & SCHILDKRAUT, J. M. 2019. Targetable Immune Regulatory Molecule Expression in High-Grade Serous Ovarian Carcinomas in African American Women: A Study of PD-L1 and IDO in 112 Cases From the African American Cancer Epidemiology Study (AACES). *Int J Gynecol Pathol*, 38, 157-170.
- MILNE, K., KÖBEL, M., KALLOGER, S. E., BARNES, R. O., GAO, D., GILKS, C. B., WATSON, P. H. & NELSON, B. H. 2009. Systematic analysis of immune infiltrates in high-grade serous ovarian cancer reveals CD20, FoxP3 and TIA-1 as positive prognostic factors. *PLoS One*, 4, e6412.
- MONTFORT, A., PEARCE, O., MANIATI, E., VINCENT, B. G., BIXBY, L., BÖHM, S., DOWE, T., WILKES, E. H., CHAKRAVARTY, P., THOMPSON, R., TOPPING, J., CUTILLAS, P. R., LOCKLEY, M., SERODY, J. S., CAPASSO, M. & BALKWILL, F. R. 2017. A Strong B-cell Response Is Part of the Immune Landscape in Human High-Grade Serous Ovarian Metastases. *Clin Cancer Res*, 23, 250-262.
- MOORE, K. N., ANGELERGUES, A., KONECNY, G. E., GARCÍA, Y., BANERJEE, S., LORUSSO, D., LEE, J.-Y., MORONEY, J. W., COLOMBO, N., ROSZAK, A., TROMP, J., MYERS, T., LEE, J.-W., BEINER, M., COSGROVE, C. M., CIBULA, D., MARTIN, L. P., SABATIER, R., BUSCEMA, J., ESTÉVEZ-GARCÍA, P., COFFMAN, L., NICUM, S., DUSKA, L. R., PIGNATA, S., GÁLVEZ, F., WANG, Y., METHOD, M., BERKENBLIT, A., ROUFAI, D. B. & GORP, T. V. 2023. Mirvetuximab Soravtansine in FR α -Positive, Platinum-Resistant Ovarian Cancer. *New England Journal of Medicine*, 389, 2162-2174.
- MORCH, L. S., LOKKEGAARD, E., ANDREASEN, A. H., KRUGER-KJAER, S. & LIDEGAARD, O. 2009. Hormone therapy and ovarian cancer. *JAMA*, 302, 298-305.
- MULISCH, M. 2014. Nachweisverfahren und Detektion. *Verfahren der Immunlokalisation: Ein Überblick*. Wiesbaden: Springer Fachmedien Wiesbaden.
- NAMBIAR, D. K., AGUILERA, T., CAO, H., KWOK, S., KONG, C., BLOOMSTEIN, J., WANG, Z., RANGAN, V. S., JIANG, D., VON EYBEN, R., LIANG, R., AGARWAL, S., COLEVAS, A. D., KORMAN, A., ALLEN,

- C. T., UPPALURI, R., KOONG, A. C., GIACCIA, A. & LE, Q. T. 2019. Galectin-1-driven T cell exclusion in the tumor endothelium promotes immunotherapy resistance. *J Clin Invest*, 129, 5553-5567.
- NELSON, B. H., HAMILTON, P. T., PHUNG, M. T., MILNE, K., HARRIS, B., THORNTON, S., STEVENS, D. L., KALARIA, S., SINGH, K., LAUMONT, C. M., MOSS, E., ALIMUJIANG, A., MEAGHER, N. S., BOLITHON, A., FEREDAY, S., KENNEDY, C. J., HENDLEY, J., ARIYARATNE, D., ALSOP, K., TRAFICANTE, N., GOODE, E. L., KARNEZIS, A. N., SHEN, H., RICHARDSON, J., MCKINNON DEURLOO, C., CHASE, A., GROUT, B., DOHERTY, J. A., HARRIS, H. R., CUSHING-HAUGEN, K. L., ANGLESIO, M. S., HEINZE, K., HUNTSMAN, D., TALHOUEK, A., HANLEY, G. E., ALSOP, J., JIMENEZ-LINAN, M., PHAROAH, P. D., BOROS, J., BRAND, A. H., HARNETT, P. R., SHARMA, R., HECHT, J. L., SASAMOTO, N., TERRY, K. L., KARLAN, B. Y., LESTER, J., CARNEY, M. E., GOODMAN, M. T., HERNANDEZ, B. Y., WILKENS, L. R., BEHRENS, S., TURZANSKI FORTNER, R., FASCHING, P. A., BISINOTTO, C., CANDIDO DOS REIS, F. J., GHATAGE, P., KÖBEL, M., ELISHAEV, E., MODUGNO, F., COOK, L. S., LE, N. D., GENTRY-MAHARAJ, A., MENON, U., GARCÍA, M. J., RODRIGUEZ-ANTONA, C., FARRINGTON, K. M., KELEMEN, L. E., KOMMOSS, S., STAEBLER, A., GARSED, D. W., BRENTON, J. D., PISKORZ, A. M., BOWTELL, D. D., DEFAZIO, A., RAMUS, S. J., PIKE, M. C. & PEARCE, C. L. 2024. Immunological and molecular features of the tumor microenvironment of long-term survivors of ovarian cancer. *J Clin Invest*.
- NIELSEN, J. S., SAHOTA, R. A., MILNE, K., KOST, S. E., NESSLINGER, N. J., WATSON, P. H. & NELSON, B. H. 2012. CD20+ tumor-infiltrating lymphocytes have an atypical CD27- memory phenotype and together with CD8+ T cells promote favorable prognosis in ovarian cancer. *Clin Cancer Res*, 18, 3281-92.
- NOY, R. & POLLARD, J. W. 2014. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. *Immunity*, 41, 49-61.
- OLSEN, C. M., GREEN, A. C., WHITEMAN, D. C., SADEGHI, S., KOLAHDOOZ, F. & WEBB, P. M. 2007. Obesity and the risk of epithelial ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer*, 43, 690-709.
- PAVLASOVA, G. & MRAZ, M. 2020. The regulation and function of CD20: an "enigma" of B-cell biology and targeted therapy. *Haematologica*, 105, 1494-1506.
- PÉREZ, C. V., GÓMEZ, L. G., GUALDONI, G. S., LUSTIG, L., RABINOVICH, G. A. & GUAZZONE, V. A. 2015. Dual roles of endogenous and exogenous galectin-1 in the control of testicular immunopathology. *Sci Rep*, 5, 12259.
- PERILLO, N. L., PACE, K. E., SEILHAMER, J. J. & BAUM, L. G. 1995. Apoptosis of T cells mediated by galectin-1. *Nature*, 378, 736-739.
- PETROPOLIS, D. B., FAUST, D. M., DEEP JHINGAN, G. & GUILLEN, N. 2014. A new human 3D-liver model unravels the role of galectins in liver infection by the parasite *Entamoeba histolytica*. *PLoS Pathog*, 10, e1004381.

- PONCINI, C. V., ILARREGUI, J. M., BATALLA, E. I., ENGELS, S., CERLIANI, J. P., CUCHER, M. A., VAN KOOYK, Y., GONZÁLEZ-CAPPA, S. M. & RABINOVICH, G. A. 2015. Trypanosoma cruzi Infection Imparts a Regulatory Program in Dendritic Cells and T Cells via Galectin-1-Dependent Mechanisms. *J Immunol*, 195, 3311-24.
- PRANJOL, M. Z. I., ZINOVKIN, D. A., MASKELL, A. R. T., STEPHENS, L. J., ACHINOVICH, S. L., LOS, D. M., NADYROV, E. A., HANNEMANN, M., GUTOWSKI, N. J. & WHATMORE, J. L. 2019. Cathepsin L-induced galectin-1 may act as a proangiogenic factor in the metastasis of high-grade serous carcinoma. *J Transl Med*, 17, 216.
- RAMMENSEE, H. G. & SINGH-JASUJA, H. 2013. HLA ligandome tumor antigen discovery for personalized vaccine approach. *Expert Rev Vaccines*, 12, 1211-7.
- RAY-COQUARD, I., LEARY, A., PIGNATA, S., CROPET, C., GONZÁLEZ-MARTÍN, A., MARTH, C., NAGAO, S., VERGOTE, I., COLOMBO, N., MÄENPÄÄ, J., SELLE, F., SEHOULI, J., LORUSSO, D., GUERRA ALIA, E. M., BOGNER, G., YOSHIDA, H., LEFEUVRE-PLESSE, C., BUDERATH, P., MOSCONI, A. M., LORTHOLARY, A., BURGESS, A., MEDIONI, J., EL-BALAT, A., RODRIGUES, M., PARK-SIMON, T. W., DUBOT, C., DENSCHLAG, D., YOU, B., PUJADE-LAURINE, E. & HARTE, P. 2023. Olaparib plus bevacizumab first-line maintenance in ovarian cancer: final overall survival results from the PAOLA-1/ENGOT-ov25 trial. *Ann Oncol*, 34, 681-692.
- REMMELE, W. & STEGNER, H. E. 1987. [Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]. *Pathologe*, 8, 138-40.
- RIVOLTINI, L., RADRIZZANI, M., ACCORNERO, P., SQUARCINA, P., CHIODONI, C., MAZZOCCHI, A., CASTELLI, C., TARSINI, P., VIGGIANO, V., BELLI, F., COLOMBO, M. P. & PARMIANI, G. 1998. Human melanoma-reactive CD4+ and CD8+ CTL clones resist Fas ligand-induced apoptosis and use Fas/Fas ligand-independent mechanisms for tumor killing. *J Immunol*, 161, 1220-30.
- RONCKERS, C., SPIX, C., TRÜBENBACH, C., KATALINIC, A., CHRIST, M., CICERO, A., FOLKERTS, J., HANSMANN, J., KRANZHÖFER, K., KUNZ, B., MANEGOLD, K., MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, U., PENZKOFER, A., VOLLMER, G., WEG-REMERS, S., BARNES, B., BUTTMANN-SCHWEIGER, N., DAHM, S., FRANKE, M., SCHÖNFELD, I., KRAYWINKEL, K. & WIENECKE, A. 2023. Krebs in Deutschland für 2019/2020. Robert Koch-Institut.
- RUBINSTEIN, N., ALVAREZ, M., ZWIRNER, N. W., TOSCANO, M. A., ILARREGUI, J. M., BRAVO, A., MORDOH, J., FAINBOIM, L., PODHAJCER, O. L. & RABINOVICH, G. A. 2004. Targeted inhibition of galectin-1 gene expression in tumor cells results in heightened T cell-mediated rejection; A potential mechanism of tumor-immune privilege. *Cancer Cell*, 5, 241-51.
- RUSSO, A. J., VASUDEVAN, S. O., MÉNDEZ-HUERGO, S. P., KUMARI, P., MENORET, A., DUDUSKAR, S., WANG, C., PÉREZ SÁEZ, J. M.,

- FETTIS, M. M., LI, C., LIU, R., WANCHOO, A., CHANDIRAN, K., RUAN, J., VANAJA, S. K., BAUER, M., SPONHOLZ, C., HUDALLA, G. A., VELLA, A. T., ZHOU, B., DESHMUKH, S. D., RABINOVICH, G. A. & RATHINAM, V. A. 2021. Intracellular immune sensing promotes inflammation via gasdermin D-driven release of a lectin alarmin. *Nat Immunol*, 22, 154-165.
- SANJUÁN, X., FERNÁNDEZ, P. L., CASTELLS, A., CASTRONOVO, V., VAN DEN BRULE, F., LIU, F. T., CARDESA, A. & CAMPO, E. 1997. Differential expression of galectin 3 and galectin 1 in colorectal cancer progression. *Gastroenterology*, 113, 1906-15.
- SCHNAAR, R. L. 2015. Glycans and glycan-binding proteins in immune regulation: A concise introduction to glycobiology for the allergist. *J Allergy Clin Immunol*, 135, 609-15.
- SCHUBERT, M., ROGMANS, C. & BAUERSCHLAG, D. 2022. Diagnostik und Therapie des Ovarialkarzinoms. *Die Gynäkologie*, 55, 851-866.
- SCHULZ, H., SCHMOECKEL, E., KUHN, C., HOFMANN, S., MAYR, D., MAHNER, S. & JESCHKE, U. 2017. Galectins-1, -3, and -7 Are Prognostic Markers for Survival of Ovarian Cancer Patients. *Int J Mol Sci*, 18.
- SCHUSTER, H., PEPPER, J. K., BOSMULLER, H. C., ROHLE, K., BACKERT, L., BILICH, T., NEY, B., LOFFLER, M. W., KOWALEWSKI, D. J., TRAUTWEIN, N., RABSTEYN, A., ENGLER, T., BRAUN, S., HAEN, S. P., WALZ, J. S., SCHMID-HORCH, B., BRUCKER, S. Y., WALLWIENER, D., KOHLBACHER, O., FEND, F., RAMMENSEE, H. G., STEVANOVIC, S., STAEBLER, A. & WAGNER, P. 2017. The immunopeptidomic landscape of ovarian carcinomas. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 114, E9942-E9951.
- SHEN, J., PERSON, M. D., ZHU, J., ABBRUZZESE, J. L. & LI, D. 2004. Protein expression profiles in pancreatic adenocarcinoma compared with normal pancreatic tissue and tissue affected by pancreatitis as detected by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Cancer Res*, 64, 9018-26.
- SHI, L. F., WU, Y. & LI, C. Y. 2016. Hormone therapy and risk of ovarian cancer in postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Menopause*, 23, 417-24.
- SPANO, D., RUSSO, R., DI MASO, V., ROSSO, N., TERRACCIANO, L. M., RONCALLI, M., TORNILLO, L., CAPASSO, M., TIRIBELLI, C. & IOLASCON, A. 2010. Galectin-1 and its involvement in hepatocellular carcinoma aggressiveness. *Mol Med*, 16, 102-15.
- SZOKE, T., KAYSER, K., BAUMHAKEL, J. D., TROJAN, I., FURAK, J., TISZLAVICZ, L., HORVATH, A., SZLUHA, K., GABIUS, H. J. & ANDRE, S. 2005. Prognostic significance of endogenous adhesion/growth-regulatory lectins in lung cancer. *Oncology*, 69, 167-74.
- TANG, C. E., TAN, T., LI, C., CHEN, Z. C., RUAN, L., WANG, H. H., SU, T., ZHANG, P. F. & XIAO, Z. Q. 2010. Identification of Galectin-1 as a novel biomarker in nasopharyngeal carcinoma by proteomic analysis. *Oncol Rep*, 24, 495-500.

- TANG, D., YUAN, Z., XUE, X., LU, Z., ZHANG, Y., WANG, H., CHEN, M., AN, Y., WEI, J., ZHU, Y., MIAO, Y. & JIANG, K. 2012. High expression of Galectin-1 in pancreatic stellate cells plays a role in the development and maintenance of an immunosuppressive microenvironment in pancreatic cancer. *Int J Cancer*, 130, 2337-48.
- TANIGUCHI, K. & KARIN, M. 2018. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol*, 18, 309-324.
- TANIZAKI, Y., KOBAYASHI, A., TOUJIMA, S., SHIRO, M., MIZOGUCHI, M., MABUCHI, Y., YAGI, S., MINAMI, S., TAKIKAWA, O. & INO, K. 2014. Indoleamine 2,3-dioxygenase promotes peritoneal metastasis of ovarian cancer by inducing an immunosuppressive environment. *Cancer Sci*, 105, 966-73.
- THIJSSSEN, V. L., HEUSSCHEN, R., CAERS, J. & GRIFFIOEN, A. W. 2015. Galectin expression in cancer diagnosis and prognosis: A systematic review. *Biochim Biophys Acta*, 1855, 235-47.
- THIJSSSEN, V. L., POSTEL, R., BRANDWIJK, R. J., DINGS, R. P., NESMELOVA, I., SATIJN, S., VERHOFSTAD, N., NAKABEPPU, Y., BAUM, L. G., BAKKERS, J., MAYO, K. H., POIRIER, F. & GRIFFIOEN, A. W. 2006. Galectin-1 is essential in tumor angiogenesis and is a target for antiangiogenesis therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 15975-80.
- TOEGEL, S., WEINMANN, D., ANDRÉ, S., WALZER, S. M., BILBAN, M., SCHMIDT, S., CHIARI, C., WINDHAGER, R., KRALL, C., BENNANI-BAITI, I. M. & GABIUS, H. J. 2016. Galectin-1 Couples Glycobiology to Inflammation in Osteoarthritis through the Activation of an NF- κ B-Regulated Gene Network. *J Immunol*, 196, 1910-21.
- TORRES-CABALA, C., BIBBO, M., PANIZO-SANTOS, A., BARAZI, H., KRUTZSCH, H., ROBERTS, D. D. & MERINO, M. J. 2006. Proteomic identification of new biomarkers and application in thyroid cytology. *Acta Cytol*, 50, 518-28.
- TOTHILL, R. W., TINKER, A. V., GEORGE, J., BROWN, R., FOX, S. B., LADE, S., JOHNSON, D. S., TRIVETT, M. K., ETEMADMOGHADAM, D., LOCANDRO, B., TRAFICANTE, N., FEREDAY, S., HUNG, J. A., CHIEW, Y. E., HAVIV, I., AUSTRALIAN OVARIAN CANCER STUDY, G., GERTIG, D., DEFAZIO, A. & BOWTELL, D. D. 2008. Novel molecular subtypes of serous and endometrioid ovarian cancer linked to clinical outcome. *Clin Cancer Res*, 14, 5198-208.
- TURASHVILI, G., LAZARO, C., YING, S., CHARAMES, G., WONG, A., HAMILTON, K., YEE, D., AGRO, E., CHANG, M., POLLETT, A. & LERNER-ELLIS, J. 2020. Tumor BRCA Testing in High Grade Serous Carcinoma: Mutation Rates and Optimal Tissue Requirements. *Cancers (Basel)*, 12.
- VAN DEN BRÛLE, F., CALIFICE, S., GARNIER, F., FERNANDEZ, P. L., BERCHUCK, A. & CASTRONOVO, V. 2003. Galectin-1 accumulation in the ovary carcinoma peritumoral stroma is induced by ovary carcinoma cells and affects both cancer cell proliferation and adhesion to laminin-1 and fibronectin. *Lab Invest*, 83, 377-86.
- VAN WOENSEL, M., MATHIVET, T., WAUTHOZ, N., ROSIERE, R., GARG, A. D., AGOSTINIS, P., MATHIEU, V., KISS, R., LEFRANC, F., BOON, L.,

- BELMANS, J., VAN GOOL, S. W., GERHARDT, H., AMIGHI, K. & DE VLEESCHOUWER, S. 2017. Sensitization of glioblastoma tumor micro-environment to chemo- and immunotherapy by Galectin-1 intranasal knock-down strategy. *Sci Rep*, 7, 1217.
- VERHAAK, R. G., TAMAYO, P., YANG, J. Y., HUBBARD, D., ZHANG, H., CREIGHTON, C. J., FEREDAY, S., LAWRENCE, M., CARTER, S. L., MERMEL, C. H., KOSTIC, A. D., ETEMADMOGHADAM, D., SAKSENA, G., CIBULSKIS, K., DURAISAMY, S., LEVANON, K., SOUGNEZ, C., TSHERNIAK, A., GOMEZ, S., ONOFRIO, R., GABRIEL, S., CHIN, L., ZHANG, N., SPELLMAN, P. T., ZHANG, Y., AKBANI, R., HOADLEY, K. A., KAHN, A., KÖBEL, M., HUNTSMAN, D., SOSLOW, R. A., DEFAZIO, A., BIRRER, M. J., GRAY, J. W., WEINSTEIN, J. N., BOWTELL, D. D., DRAPKIN, R., MESIROV, J. P., GETZ, G., LEVINE, D. A. & MEYERSON, M. 2013. Prognostically relevant gene signatures of high-grade serous ovarian carcinoma. *J Clin Invest*, 123, 517-25.
- VON KLOT, C. A., KRAMER, M. W., PETERS, I., HENNENLOTTER, J., ABBAS, M., SCHERER, R., HERRMANN, T. R., STENZL, A., KUCZYK, M. A., SERTH, J. & MERSEBURGER, A. S. 2014. Galectin-1 and Galectin-3 mRNA expression in renal cell carcinoma. *BMC Clin Pathol*, 14, 15.
- WEBB, J. R., MILNE, K., KROEGER, D. R. & NELSON, B. H. 2016. PD-L1 expression is associated with tumor-infiltrating T cells and favorable prognosis in high-grade serous ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, 141, 293-302.
- XU, X. C., EL-NAGGAR, A. K. & LOTAN, R. 1995. Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors. Potential diagnostic implications. *Am J Pathol*, 147, 815-22.
- YU, X., QIAN, J., DING, L., YIN, S., ZHOU, L. & ZHENG, S. 2023. Galectin-1: A Traditionally Immunosuppressive Protein Displays Context-Dependent Capacities. *Int J Mol Sci*, 24.
- ZARKHIN, V., KAMBHAM, N., LI, L., KWOK, S., HSIEH, S. C., SALVATIERRA, O. & SARWAL, M. M. 2008. Characterization of intra-graft B cells during renal allograft rejection. *Kidney Int*, 74, 664-73.
- ZHANG, K., XIE, X., ZOU, L. H. & GUO, S. Q. 2023. Tertiary Lymphoid Structures Are Associated with a Favorable Prognosis in High-Grade Serous Ovarian Cancer Patients. *Reprod Sci*, 30, 2468-2480.
- ZHANG, P., ZHANG, P., SHI, B., ZHOU, M., JIANG, H., ZHANG, H., PAN, X., GAO, H., SUN, H. & LI, Z. 2014. Galectin-1 overexpression promotes progression and chemoresistance to cisplatin in epithelial ovarian cancer. *Cell Death Dis*, 5, e991.
- ZHOU, H., ZHANG, D., YANG, M., YOU, X., ZHANG, Q., FU, X. & WANG, D. 2021. The predictive value of galectin-1 and vascular mimicry in the prognostic evaluation of patients with rectal cancer. *Transl Cancer Res*, 10, 1500-1508.

7 Anhang

7.1 Zusatztabelle

Tabelle 15: FIGO-Stadieneinteilung des Ovarialkarzinoms modifiziert nach Kaufmann (2013)

FIGO-Stadium	Befundssituation
I	Tumor begrenzt auf Ovarien
IA	Ein Ovar betroffen, kein Tumor auf Ovaroberfläche, Kapsel intakt
IB	Beide Ovarien betroffen, kein Tumor auf Ovaroberfläche, Kapsel intakt
IC	Ein oder beide Ovarien betroffen, Kapselruptur, Tumor auf Ovaroberfläche oder maligne Zellen im Aszites oder bei Peritonealspülung
II	Ein oder beide Ovarien betroffen, Ausbreitung im Becken
IIA	Ausbreitung auf und/oder Implantate an Uterus und/oder Tube(n)
IIB	Ausbreitung auf anderes Beckengewebe
IIC	IIA oder IIB und maligne Zellen in Aszites oder bei Peritonealspülung
III	Ein oder beide Ovarien betroffen und mikroskopisch oder makroskopisch nachgewiesene Peritonealmetastasen außerhalb des Beckens und/oder Lymphknotenmetastasen
IIIA	Mikroskopische Peritonealmetastasen jenseits des Beckens
IIIB	Makroskopische Peritonealmetastasen jenseits des Beckens <2cm
IIIC	Peritonealmetastasen jenseits des Beckens >2cm und/oder regionäre Lymphknotenmetastasen
IV	Fernmetastasen (ausgenommen Peritonealmetastasen)

Tabelle 16: Darstellung der erhobenen und eingetragenen CD20-Daten in das Statistik Programm SPSS

Erhobener Wert	SPSS-Variable	Wie setzt sich die eingetragene Variable zusammen?
Anzahl CD20 ⁺ B-Lymphozyten im Stroma	CD20_Str_Av	Ein Mittelwert pro Fall, gebildet aus allen auswertbaren Cores (mind. 1, max. 12)
Anzahl CD20 ⁺ B-Lymphozyten im Tumor	CD20_Epi_Av	Ein Mittelwert pro Fall, gebildet aus allen auswertbaren Cores (mind. 1, max. 12) Fall
Maximaler Wert CD20 ⁺ B-Lymphozyten im Stroma	CD20_Str_Max	Der maximale Wert pro Fall
Minimaler Wert CD20 ⁺ B-Lymphozyten im Stroma	CD20_Str_Min	Der minimale Wert pro Fall
Maximaler Wert CD20 ⁺ B-Lymphozyten im Tumor	CD20_Epi_Max	Der maximale Wert pro Fall
Minimaler Wert CD20 ⁺ B-Lymphozyten im Tumor	CD20_Epi_Min	Der minimale Wert pro Fall
Vorkommen lymphoider Aggregate	Lymph_aggregate	Das Vorkommen (ja/nein) von lymphoiden Aggregaten in mindestens einem Core des untersuchten Falls

Tabelle 17: Darstellung der erhobenen und eingetragenen Galektin-1 Daten in das Statistik-Programm SPSS

Erhobene Daten	SPSS-Variable	Wie setzt sich die eingetragene Variable zusammen?
Galektin-1 Intensitätsscore Stroma	GAL1_Int_Str	Ein Mittelwert pro Fall, gebildet aus allen auswertbaren Cores (mind. 1, max. 12)
Galektin-1 Intensitätsscore Epithel	GAL1_Int_Epi	Ein Mittelwert pro Fall, gebildet aus allen auswertbaren Cores (mind. 1, max. 12)
Galektin-1 Prozentscore Stroma	GAL1_Perc_Str	Ein Mittelwert pro Fall, gebildet aus allen auswertbaren Cores (mind. 1, max. 12)
Galektin-1 Prozentscore Epithel	GAL1_Perc_Epi	Ein Mittelwert pro Fall, gebildet aus allen auswertbaren Cores (mind. 1, max. 12)
Galektin-1 Remmele-Score Stroma	GAL1_Comb_Str	Pro Core wurde ein Remmele-Score gebildet, anschließend wurde der Mittelwert aus allen auswertbaren Cores in SPSS eingefügt
Galektin-1 Remmele-Score Epithel	GAL1_Comb_Epi	Pro Core wurde ein Remmele-Score gebildet, anschließend wurde der Mittelwert aus allen auswertbaren Cores in SPSS eingefügt

7.1.1 Zusatzabbildungen

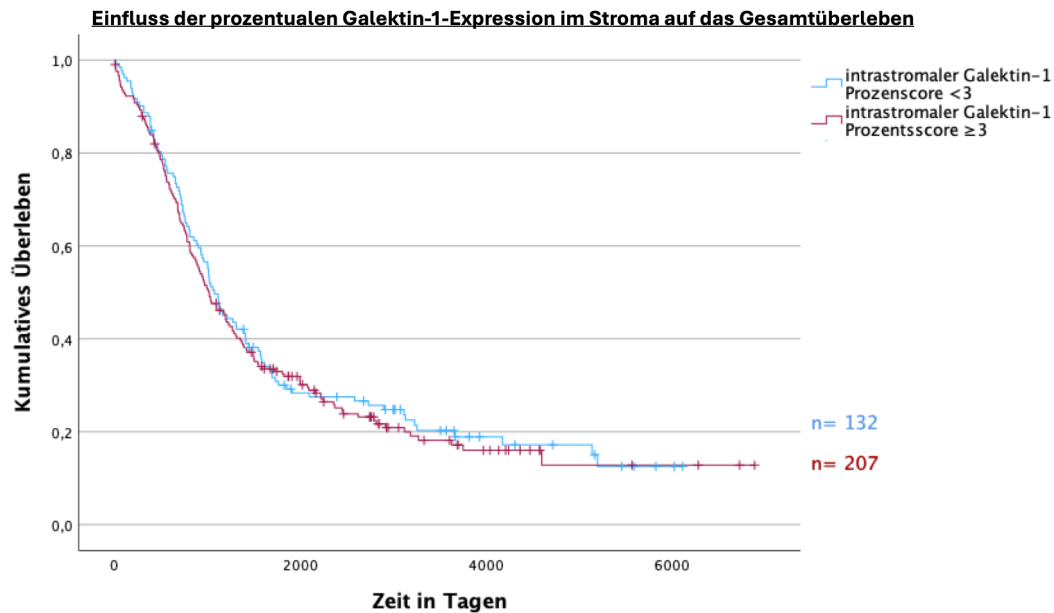


Abbildung 29: Darstellung der Überlebenskurven von Fällen, die einen Galektin-1 Prozenzscore ≥ 3 im Stroma (Gruppe 2) aufweisen und Fällen, die weniger großflächig stromales Galektin-1 exprimieren (Gruppe 1); $p=0,624$

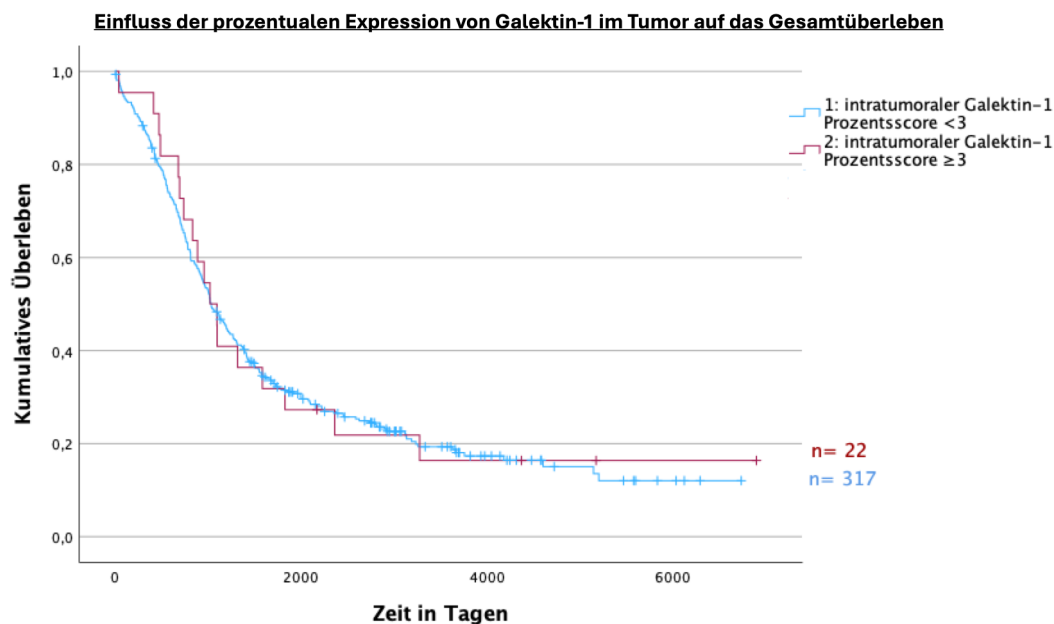


Abbildung 30: Darstellung der Überlebenskurven der Fälle, die einen Galektin-1 Prozenzscore ≥ 3 (Gruppe 2) aufweisen und Fällen die weniger großflächig gefärbtes Galektin-1 im Tumor exprimieren (Gruppe 1); $p=0,853$

Einfluss der intraepithelialen Galektin-1 Expression auf das Gesamtüberleben anhand des Remmele-Scores

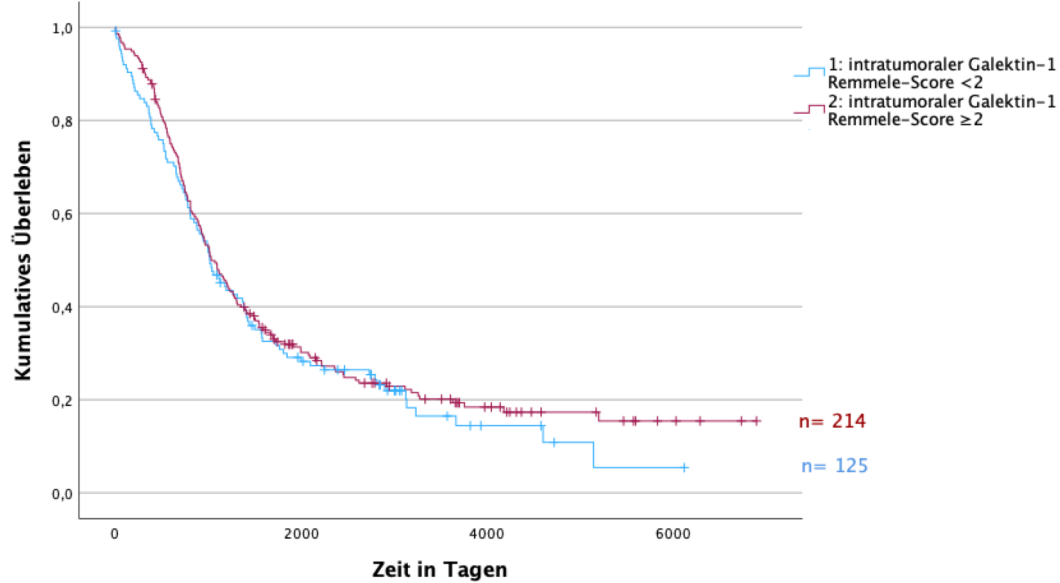


Abbildung 31: Darstellung der Überlebenskurven der Fälle, die einen Remmele-Scores im Tumor von ≥ 2 (Gruppe 2) aufweisen und Gruppe 1 mit einem tumoralen Remmele-Score < 2

Galektin-1 Remmele-Score im Stroma

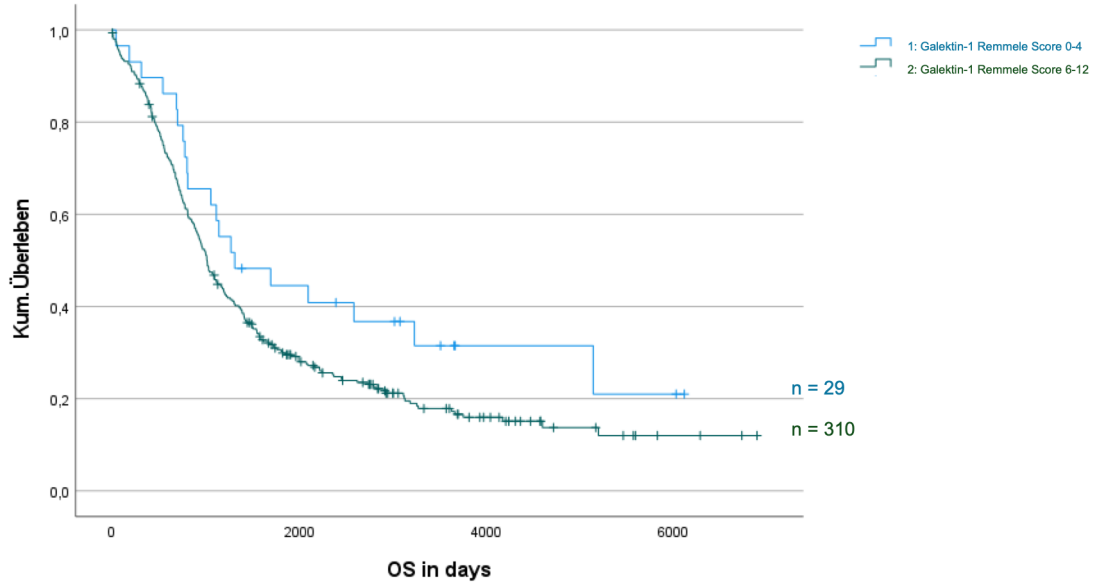


Abbildung 32: Darstellung der Überlebenskurven unseres Kollektivs mit dem IRS-Cut-Off von Schulz et al. (2017), $p=0,083$

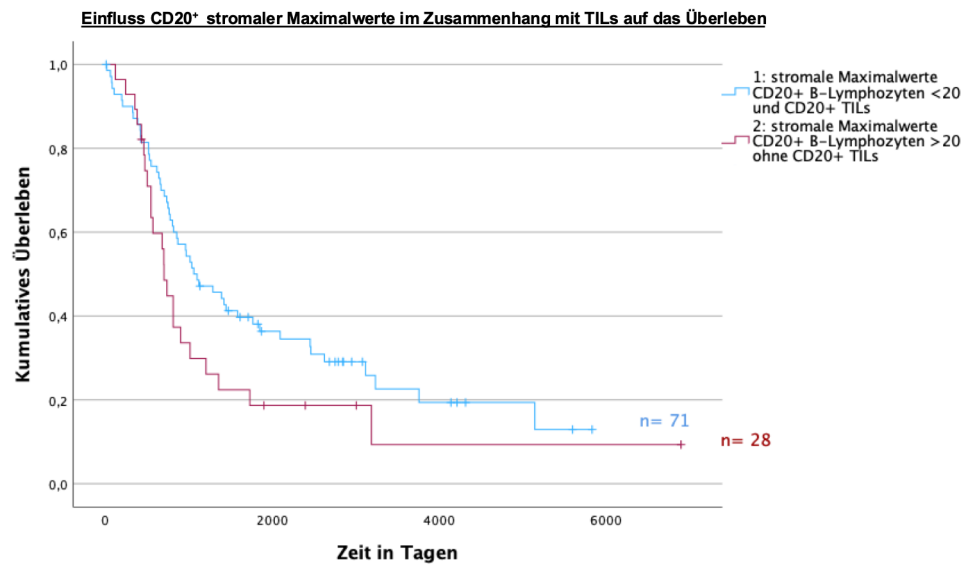


Abbildung 33: Einfluss der stromalen Maximalwerte von CD20⁺ B-Lymphozyten in Abhängigkeit von gemeinsamen Vorkommen mit TILs. Gruppe 1: stromale CD20⁺ B-Lymphozyten mit Maximalwerten <20 und tumor-infiltrierende CD20⁺ Lymphozyten, Gruppe 2: stromale CD20⁺ B-Lymphozyten mit Maximalwerten ≥ 20 ohne tumor-infiltrierende CD20⁺ Lymphozyten; $p = 0,092$

8 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde im Institut für Pathologie und Neuropathologie Tübingen unter der Betreuung von Prof. Dr. Annette Staebler und Dr. Anna Fischer durchgeführt. Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Annette Staebler und Dr. Anna Fischer.

Das Patientinnenkollektiv, auf das ich im Rahmen meiner Arbeit zugreifen konnte, wurde von Frau Dr. Deborah Pham, Frau Dr. Anna Fischer und Frau Dr. Britta Ney erstellt. Die Re-Klassifizierung der high-grade serösen Karzinome erfolgte durch Dr. Nina Neudeck. Die Anfertigung, Bereitstellung und Verwaltung der TMAs erfolgte durch Frau Christine Beschorner. Die verwendeten klinischen Daten stammen aus der AG Wagner der Universitäts-Frauenklinik Tübingen. Die Auswahl der Blöcke, an denen die Galektin-1 Immunhistochemische Färbung etabliert wurde, erfolgte in Absprache mit Prof. Dr. Annette Staebler durch mich.

Die Schnitte und Immunhistochemischen Färbungen wurden durch die MitarbeiterInnen des Diagnostiklabors des Pathologischen Instituts und zum Teil von Frau Karen Greif angefertigt. Die Auswertungen der Färbungen der CD20⁺- und Galektin-1 Färbung und das Scoring erfolgten durch mich und wurden anschließend gemeinsam mit Prof. Dr. Annette Staebler (CD20) und Dr. Anna Fischer (Galektin-1) reevaluiert. Die in der CD20-Analyse verwendeten Daten zu CD8⁺ und CD3⁺ Lymphozyten stammen aus der Arbeit von Nina Neudeck. Die der Galektin-1-Analyse zugrunde liegende Vorarbeit zum HLA-Ligandom bei HGSC stammt aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Hans-Georg Rammensee und PD Dr. Stefan Stefanovic des Instituts für Immunologie, Tübingen.

Die statistische Auswertung erfolgte, in Beratung mit dem Biometrieinstitut, Prof. Dr. Annette Staebler und Dr. Anna Fischer, durch mich. Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Köln, den 22.08.25

Freya Blome

9 Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei meiner Doktormutter Prof. Dr. Annette Staebler für die gute Zusammenarbeit, das Überlassen des Themas, die zuverlässige Unterstützung und das Vermitteln von Freude und Enthusiasmus für das spannende Projekt bedanken. Ich schätze den vertrauensvollen und unterstützenden Umgang in den Jahren der Zusammenarbeit sehr.

Ein besonderer Dank gilt außerdem Dr. Anna Fischer, die mir als Betreuerin zuverlässig zur Seite stand, immer ein offenes Ohr hatte und Auswertungen und Rechnungen kritisch prüfte. Diese wichtigen Impulse und Unterstützung trugen maßgeblich zum Gelingen meiner Arbeit bei.

Außerdem bedanke ich mich bei dem Institut für Pathologie der Uniklinik Tübingen unter der Leitung von Prof. Dr. Falko Fend für die Rahmenbedingungen, die meine Arbeit ermöglichten. Besonders bedanken möchte ich mich bei Karen Greif und Christine Beschorner, die mir sowohl bei der Archiv- als auch bei der Laborarbeit zur Seite standen. Auch den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Routinelabors gilt mein Dank für die Unterstützung und Durchführung meiner Färbungen.

Ganz besonders möchte ich die bedingungslose Unterstützung meiner Eltern hervorheben, die mir mein Studium und meine Dissertation überhaupt erst ermöglicht haben. Ich möchte mich an dieser Stelle für die Rückendeckung und das stille und ausgesprochene Vertrauen in mich bedanken. Meinen Großeltern, Geschwistern und dem Rest meiner Familie danke ich dafür, dass sie mich immer wieder ermutigt haben. Ein besonderer Dank gilt meiner Schwester Greta, die sich auch fachlich für das Thema meiner Dissertation begeistern konnte und mich durch kritisches Prüfen und Kommentieren unterstützt hat. Besonderes bedanken möchte ich mich außerdem bei Jan Grashoff für den stetigen Zuspruch und die wertvollen Anmerkungen im gesamten Entstehungsprozess bis zur Endfassung der Arbeit.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Freunden und Freundinnen in Tübingen bedanken, die sowohl die Herausforderungen des Studiums als auch der Dissertation mitfühlen konnten und auf deren Unterstützung ich immer zählen konnte.