

Aus der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe
(Direktor: Prof. Dr. med. N. Maass)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**EVALUATION DER PROGNOTISCHEN RELEVANZ STROMALER FAKTOREN
BEIM EPITHELIALEN OVARIALKARZINOM**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Würde einer Doktorin der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
KATHLEEN JASSIM
aus Gehrden

Kiel 2017

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Maret Bauer, Frauenpraxis Ostufer, Kiel
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Alexander Arlt, Klinik für Innere Medizin I mit den
Schwerpunkten Gastroenterologie Hepatologie, Ernährungs- und
Altersmedizin, UKSH, Campus Kiel
Tag der mündlichen Prüfung: 03.07.2018
Zum Druck genehmigt: 03.07.2018

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VI
Abbildungsverzeichnis	VII
1 Einleitung	1
1.1 Epidemiologie.....	1
1.2 Ätiologie und Risikofaktoren.....	2
1.3 Klinik, Diagnostik.....	4
1.4 Klassifikation.....	5
1.4.1 Histologische Subtypen.....	5
1.4.2 Histologischer Differenzierungsgrad.....	6
1.4.3 Stadieneinteilung nach FIGO/ TNM.....	7
1.5 Therapie.....	9
1.5.1 Operative Primärtherapie.....	9
1.5.2 Systemische Therapie.....	10
1.5.3 Therapie des Rezidivs.....	10
1.6 Prognostische Faktoren.....	11
1.6.1 Etablierte Prognosefaktoren.....	11
1.6.2 Experimentelle Prognosefaktoren.....	13
1.7 Hintergrund zu den untersuchten Proteinen.....	15
1.7.1 AKR1C1, AKR1C2.....	15
1.7.2 GALNT3.....	16
1.7.3 GATA3.....	17
1.7.4 TGF- β 2.....	17
1.7.5 KLF-4.....	18
1.7.6 ST6GALNAC5.....	19
2 Ziel der Arbeit	20
3 Material und Methoden	22
3.1 Material.....	22
3.2 Patientenkollektiv und Studie.....	24
3.3 Gewebe.....	25

3.4	Immunhistochemie	25
3.4.1	Avidin-Biotin-Enzymkomplex-Methode	26
3.4.2	Polymerkonjugat-Methode, Histofine	26
3.5	Durchführung der Färbungen	27
3.6	Kontrollen	28
3.7	Auswertung	29
3.8	Statistik.....	30
4	Ergebnisse	32
4.1	Beschreibung des Patientenkollektivs.....	32
4.2	Deskription der Stromamorphologie.....	32
4.3	Deskription der Markerexpression.....	33
4.4	Korrelationsanalysen.....	36
4.4.1	Korrelation der Markerexpression im Stroma mit der Markerexpression im Tumor.....	37
4.4.2	Korrelation der Stromamorphologie mit klinisch-pathologischen Parametern.....	37
4.4.3	Korrelation der Markerexpression mit klinisch-pathologischen Parametern.....	38
4.4.3.1	Korrelation der Markerexpression im Stroma mit klinisch- pathologischen Parametern	38
4.4.3.2	Korrelation der Markerexpression im Tumor mit klinisch- pathologischen Parametern	39
4.5	Überlebenszeitanalysen.....	39
4.5.1	Univariate Analysen zum Gesamtüberleben (OS) und progressionsfreien Überleben (PFS)	39
4.5.2	Multivariate Analyse zum Gesamtüberleben (OS) und progressionsfreien Überleben (PFS)	42
5	Diskussion	45
6	Zusammenfassung.....	59
	Literaturverzeichnis.....	62
	Anhang	77
	Danksagung.....	110
	Lebenslauf.....	111

Abkürzungsverzeichnis

EOC	Epitheliales Ovarialkarzinom
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
WHO	World Health Organization
UICC	Union for International Cancer Control
AGO	Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie
NF	Normal Fibroblasts (Fibroblast in Normalgewebe)
CAF	Cancer Associated Fibroblasts (tumorassoziierte Fibroblasten)
DNA	Desoxyribonucleic Acid
EZM	Extrazellulärmatrix
TMA	Tissue Micro Arrays
CTX	Standardchemotherapie (6 Zyklen Carboplatin/ Paclitaxel)
CTX*	Standardchemotherapie+ Bevacizumab
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften
OS	Overall Survival (Gesamtüberleben)
PFS	Progression Free Survival (progressionsfreies Überleben)
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
CCC	Clear Cell Carcinoma
LGSC	Lowgrade Sereous Carcinoma
HGSC	Highgrade Sereous Carcinoma
Endo	Endometrioid Tumor
SBOT	Seröser Borderline Tumor
HR	Hazard Ratio

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Empfehlung zur typspezifischen Malignitätsgraduierung des Ovarialkarzinoms	6
Tabelle 2:	Stadieneinteilung nach dem TNM-System der UICC (International Union against Cancer) und FIGO (Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique)	8
Tabelle 3:	5- Jahres-Überlebensrate in Abhängigkeit des Tumorstadiums bei Erstdiagnose	12
Tabelle 4:	Materialien der immunhistochemischen Färbung und Auswertung	22
Tabelle 5:	Verwendete Antikörper und Detektionssysteme.....	23
Tabelle 6:	Allred-Score	30
Tabelle 7:	Multivariate Analysen zu OS und PFS.	43
Tabelle 8:	Beschreibung des Patientenkollektivs.....	77
Tabelle 9:	Beschreibung der Stromamorphologie.....	79
Tabelle 10:	Beschreibung der Markerexpression.....	80
Tabelle 11:	Assoziation der Markerexpression in Stromafibroblasten und Tumorzellen	82
Tabelle 12:	Korrelation der Stromamorphologie mit klinisch-pathologischen Parametern.....	83
Tabelle 13:	Korrelation der Markerexpression mit klinisch-pathologischen Parametern.....	86

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 A- D: Immunhistochemische Färbung AKR1C1-positiver CAF und Tumorzellen.	35
Abbildung 2 A- D: Immunhistochemische Färbung GALNT3-positiver CAF, Tumorzellen und weiteren stromalen Kompartimenten (Lymphozyten, Makrophagen, Endothelzellen).....	36
Abbildung 3: Univariate Analysen zum OS dargestellt anhand von Kaplan-Meyer-Kurven.	105
Abbildung 4: Univariate Analyse zum PFS dargestellt anhand von Kaplan-Meyer-Kurven	108

1 Einleitung

Das Ovarialkarzinom ist eine relativ häufige und bösartige Erkrankung der weiblichen Geschlechtsorgane in der westlichen Welt. Es ist mit einer hohen Sterblichkeit assoziiert, da eine Symptomatik des Tumors erst im fortgeschrittenen Stadium auftritt und es an prognostisch relevanten Screening-Methoden fehlt.

Diese Arbeit wird sich im Folgenden mit dem epithelialen Ovarialkarzinom (EOC) beschäftigen. Der Ursprung des epithelialen Ovarialkarzinoms liegt im Oberflächenepithel des Ovars und wird von solchen unterschieden, die von den Keimzellen oder dem Stroma des ovariellen Gewebes ausgehen. Das EOC stellt hierbei die häufigste Form maligner Ovarialtumore dar. In den meisten Fällen handelt es sich um Adenokarzinome.

1.1 Epidemiologie

Das Ovarialkarzinom stellt die dritthäufigste bösartige Erkrankung der weiblichen Geschlechtsorgane dar und geht unter den gynäkologischen Malignomen mit der zweithöchsten Mortalität einher (Runnebaum and Stickeler 2001). Das Lebenszeitrisiko für eine in Deutschland lebende Frau beträgt derzeit 1,5%, an einem Ovarialkarzinom zu erkranken (Krebs in Deutschland, RKI 2012).

Die Inzidenz des Ovarialkarzinoms ist in Nordamerika und Nordeuropa am höchsten, während die Zahl der Neuerkrankungen in Asien und Afrika im Vergleich niedriger sind (Runnebaum and Stickeler 2001). Deutschland befindet sich mit 15/100.000 Neuerkrankten pro Jahr bezüglich der Inzidenz in Europa im Mittelfeld. Im Jahr 2008 wurde bei etwa 7.790 deutschen Frauen erstmals Eierstockkrebs festgestellt (Krebs in Deutschland, RKI 2012). Seit 1990 konnte zwar eine Abnahme der Erkrankungsfälle in Deutschland beobachtet werden, die Sterblichkeit der Erkrankung bleibt jedoch auf nahezu unverändertem Niveau. Das mittlere Erkrankungsalter für das Ovarialkarzinom liegt bei 69 Jahren. Die Erkrankungsraten steigen bis zum 85. Lebensjahr kontinuierlich an und bleiben ab dann in etwa konstant (Krebs in Deutschland, RKI 2012).

Bei 75% der Patientinnen handelt es sich zum Zeitpunkt der Diagnose bereits um ein fortgeschrittenes Tumorstadium (FIGO III/ IV). Dies ist einer der Hauptgründe für die schlechten Überlebensraten. Die relativen, über alle Stadien gemittelten 5-Jahres Überlebensraten liegen

bei 40%. Das Überleben ist jedoch stark von dem Tumorstadium abhängig: im Frühstadium (FIGO Ia-II) beträgt die 5-Jahresüberlebenszeit mit adäquater Therapie 80-90%. Im fortgeschrittenen Tumorstadium (FIGO IIb-IV) liegt das 5-Jahres-Überleben bei 25% (Hilpert et al. 2007; Colombo et al. 2006).

1.2 Ätiologie und Risikofaktoren

Über die Entstehung des Ovarialkarzinoms ist nur wenig bekannt. So befasst sich die Forschung zunehmend mit möglichen Risikofaktoren, die die Entstehung des aggressiven Tumors begünstigen. Letztendlich scheint es sich um eine multifaktoriell bedingte Erkrankung zu handeln.

Bei 5-10% der Erkrankten kann eine genetische Disposition als Ursache des malignen Geschehens ausfindig gemacht werden. Sie geht am häufigsten mit Mutationen im BRCA-1-Gen (oder auch seltener im BRCA-2-Gen) einher und lassen sich so dem „hereditären Brust-Ovarialkarzinom-Syndrom (HBOs)“ zuordnen (Holschneider and Berek 2000). Das Risiko für Trägerinnen der BRCA-1-Genmutation, im Laufe ihres Lebens an einem Ovarialkarzinom zu erkranken beträgt 39%, die Wahrscheinlichkeit bei einer Mutation im BRCA-2-Gen hingegen bei 11-22% (Antoniou et al. 2003).

Eine seltenere Form des hereditären Ovarialkarzinoms kann im Rahmen des Lynch-Syndroms (auch „HNPCC-Syndrom“ genannt) auftreten. Hierbei liegen Genmutationen in einem der verschiedenen Mismatch-repair Gene (MLH1, MLH3, MSH2, MSH6, PMS2) vor. Trägerinnen einer MSH2- oder MLH1-Mutation haben ebenfalls ein erhöhtes Lebenszeitrisiko an einem Ovarialkarzinom zu erkranken (Bonadona et al. 2011).

In der Mehrheit (90-95%) der Fälle tritt das Ovarialkarzinom jedoch sporadisch auf und geht in diesem Fall zu 90% vom Oberflächenepithel aus (Smith and Xu 2008). Für die Ätiologie des sporadisch auftretenden, epithelialen Ovarialkarzinoms wurden verschiedene Faktoren identifiziert, die für die Karzinogenese verantwortlich scheinen. Es wird unter anderem die Anzahl der Ovulationen mit einem erhöhten Risiko für die Karzinomentstehung assoziiert (Holschneider and Berek 2000). Dies wird durch die Hypothese von Fathalla (1971) begründet, in der davon ausgegangen wird, dass es durch wiederholte Mikrotraumen des ovariellen Oberflächenepithels zu fehlerhaften Reparaturprozessen kommt. Diese wiederum begünstigen die maligne Entartung des Gewebes.

Eine frühe Menarche und eine späte Menopause, die folglich eine hohe Anzahl an Ovulationen mit sich bringen, konnten bisher jedoch nicht eindeutig mit der Karzinogenese von Ovarialtumoren in Zusammenhang gebracht werden (Whittemore, Harris, and Itnyre 1992).

Des Weiteren wurde in Metaanalysen eine geringgradige Steigerung des Erkrankungsrisikos für ein epitheliales Ovarialkarzinom bei Anwendung einer Östrogen- oder Östrogen-Gestagen-Therapie in der Peri- und Postmenopause ermittelt (Beral et al. 2007).

Für die Anwendung von ovulationsinduzierenden Medikamenten kann der Einfluss auf die Karzinogenese des Ovarialkarzinoms nicht sicher ausgeschlossen werden. Es wurde lange Zeit vermutet, dass die Medikamente zur Infertilitätsbehandlung die Entstehung eines Ovarialkarzinoms begünstigen, jedoch konnte letzten Endes nur die Kinderlosigkeit als sicherer Risikofaktor identifiziert werden. Für den sicheren Ausschluss des Zusammenhangs mit fertilitätsinduzierenden Medikamenten werden jedoch Langzeitbeobachtungen nötig sein (Vlahos, Economopoulos, and Creatsas 2010).

Einen weiteren Risikofaktor für das sporadisch auftretende Ovarialkarzinom scheint die Ernährung bzw. die Adipositas im Erwachsenenalter darzustellen. In Metaanalysen zahlreicher Studien wurde beobachtet, dass mehr übergewichtige Frauen von der Erkrankung betroffen sind als Frauen mit Normalgewicht (Olsen et al. 2007; Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian Cancer 2012).

Neben den Risikofaktoren konnten auch einige protektive Faktoren für das Ovarialkarzinom identifiziert werden. So konnte unter anderem gezeigt werden, dass die Einnahme oraler Ovulationshemmer, durch die Reduktion der Anzahl der Ovulationen, das Erkrankungsrisiko reduziert (Cibula et al. 2010; Veljković and Veljković 2010; Hannaford et al. 2007). Dies gilt auch für Trägerinnen der BRCA-1 oder BRCA-2-Genmutation (Cibula et al. 2010; Narod et al. 1998). Bei Ihnen konnte eine signifikante Risikoreduktion durch die Einnahme oraler Kontrazeptiva erzielt werden (Iodice et al. 2010). Die signifikanteste Risikoreduktion gelang bei den BRCA-1/-2-Mutationsträgerinnen jedoch durch die bilaterale Salpingo-Oophorektomie (Rebbeck, Kauff, and Domchek 2009).

Des Weiteren wird auch eine höhere Geburtenzahl und eine lange Stillzeit als „Schutzfaktor“ für die Entstehung dieser malignen Erkrankung angenommen (Hartge et al. 1994; Whittemore, Harris and Itnyre 1992). In weiteren umfangreichen Studien konnte die Tubenligatur sowie die Hysterektomie als protektive Faktoren identifiziert werden (Cibula et al. 2011; Rice et al.

2013). Der genaue Mechanismus, welcher für den protektiven Effekt verantwortlich ist, ist bislang nichtvollständig geklärt. Es wird zum einen eine mechanische Barriere für den Transport von kanzerogenen Substanzen sowie Epithelzellen des Endometriums durch eine Tubenligatur angenommen. Allerdings wäre auch eine Minderperfusion der Ovarien als Erklärung denkbar, da bei den genannten Eingriffen ebenfalls ovarversorgende Gefäße unterbunden werden.

1.3 Klinik, Diagnostik

Das Ovarialkarzinom wird meist (70% der Fälle) erst in einem fortgeschrittenen Tumorstadium entdeckt. Die Hauptursache für die späte Diagnose ist, dass sich die Symptome erst im Spätstadium (FIGO IIb-IV) manifestieren und auch dann recht unspezifisch sind. Zu den häufigen Symptomen vor Diagnosestellung zählen:

- Völlegefühl
- Meteorismus
- unklare abdominelle Beschwerden oder Schmerzen
- Zunahme der Miktionsfrequenz
- Bauchumfangszunahme

Bei der Persistenz dieser Symptome oder auch deren rezidivierenden Auftreten wird, insbesondere bei über 50-jährigen Frauen, die Indikation zur weiterführenden Diagnostik empfohlen. Im Rahmen der Diagnostik sollte gemäß der aktuellen Leitlinien der AWMF zuerst die gynäkologische Spiegel- und bimanuelle Tastuntersuchung sowie eine Transvaginalsonographie erfolgen. Bei nicht eindeutigen Befunden oder speziellen Fragestellung zur Differentialdiagnose können sowohl CT, MRT als auch PET/ CT zum Einsatz kommen (Buy et al. 1991; Nam et al. 2010)

Wenn der hochgradige Verdacht auf eine maligne ovarielle Raumforderung gestellt wird, sollte ein umfassendes präoperatives Staging erfolgen, bei dem vorzugsweise das CT zum Einsatz kommt (Forstner u. a., 2010). Gemäß den Leitlinien ist jedoch nur das intraoperative Staging eine zuverlässige Möglichkeit, die Operabilität einzuschätzen, die Diagnose des malignen Ovarialtumors zu sichern und den Tumor zu klassifizieren.

Möglichkeiten des Screenings zur Früherkennung eines Ovarialkarzinoms gibt es derzeit nicht. Es wurden zum einen die transvaginale Ultraschalluntersuchung und zum anderen die

Bestimmung des Tumormarkers CA-125, neben zahlreichen anderen potentiellen Markern, untersucht. CA-125 wird vorwiegend vom serösen epithelialen Ovarialkarzinom gebildet, besitzt jedoch nur eine geringe Spezifität, sodass dieser daher vorzugsweise als Parameter bei der Verlaufskontrolle zum Einsatz kommt. Beide Verfahren eignen sich laut den Empfehlungen der aktuellen Leitlinien jedoch nicht als Screeningmethode. Es wird auf Grund der hohen falsch positiven Befunde und der fehlenden Senkung der Mortalität von einem generellen Screening bezüglich des Ovarialkarzinoms abgeraten (Buys et al. 2011; AWMF: Aktuelle Leitlinien).

1.4 Klassifikation

Die Klassifikation des Ovarialkarzinoms ist von entscheidender Bedeutung für die Therapie und Prognose der einzelnen Patientinnen. Aus diesem Grund scheint es sinnvoll hier die Klassifikationssysteme näher zu erläutern, bevor dann im Abschnitt „prognostische Faktoren“ auf die genaue Bedeutung für die Prognose eingegangen wird.

1.4.1 Histologische Subtypen

Das Ovarialkarzinom lässt sich in verschiedene histogenetische Typen einteilen. Diese Einteilung erfolgt anhand des Ursprungsgewebes in epitheliale Tumoren, Keimstrangtumoren und Keimzelltumoren. Die epithelialen Tumoren stellen hiervon mit ca. 90% die überwiegende Mehrzahl aller Ovarialtumoren und können, entsprechend der WHO- Klassifikation, histopathologisch weiterführend unterteilt werden:

- Seröse Karzinome (40-75% der epithelialen Tumoren)
- Muzinöse Karzinome (10%)
- Endometrioide Karzinome (10%)
- Klarzellige Karzinome (5%)
- Transitionalzellige Karzinome, Brenner Tumore (2%)
- Plattenepithelkarzinome
- Epitheliale Mischtumore
- Undifferenzierte Karzinome (5-10%)

Diese histologische Einteilung ist von Relevanz für das zu erwartende therapeutische Ansprechen und in Abhängigkeit von dem vorliegenden Krankheitsstadium nach FIGO und dem

histopathologischen Grading auch für die Prognose (Kaku et al. 2003; Jalid Sehouli: „Multimodales Management Maligner Ovarialtumore“; AWMF: Aktuelle Leitlinien).

1.4.2 Histologischer Differenzierungsgrad

Der Graduierung des Ovarialkarzinoms wird eine große Bedeutung für die Therapie und die Prognose der Erkrankung zugesprochen. Es existieren verschiedene Gradingssysteme, welche sich unterschiedlich gut auf die einzelnen histologischen Subtypen des EOCs anwenden lassen. Aus diesem Grund wird aktuell eine typspezifische Graduierung des EOC empfohlen (Hauptmann et al. 2014), welche in der folgenden Tabelle zusammengefasst ist:

Tabelle 1: Empfehlung zur typspezifischen Malignitätsgraduierung des Ovarialkarzinoms

Histologischer Subtyp	Gradingsschema	Gradingkriterien
serös	„low“- und „high-grade“	Mitoserate und Kerngrößenvarianz
endometrioid	FIGO (G1-G3)	Prozent solider Tumoranteil
klarzellig	per definitionem „high-grade“	
Maligner Brenner Tumor	---	
muzinös	---	
undifferenziert	per definitionem „high-grade“	

(Hauptmann et al. 2014)

Für die Einteilung der serösen EOC in „low-“ und „high-grade“ wird die mitotische Aktivität, der nukleäre Atypiegrad und die genetische Stabilität der Tumorzellen beurteilt. Hierbei sind *low-grade-seröse Karzinome* genetisch eher stabil, zeigen weniger Kernatypien und maximal 12 Mitosen pro „high power field“ (Malpica et al. 2004).

Die Einteilung der endometrioiden EOC nach dem FIGO-System berücksichtigt den prozentualen soliden Tumoranteil, wobei Grad 1 einen soliden Tumoranteil von bis zu 5%, Grad 2 bis 50% und Grad 3 über 50% entspricht (Singh et al. 2008).

Für klarzellige und undifferenzierte EOC wird aufgrund fehlender prognostischer Relevanz des histologischen Differenzierungsgrades und oft aggressiven Krankheitsverlauf kein Grading empfohlen. Diese Tumorentitäten sind generell als G3 bzw. „high-grade“ einzustufen (Malpica 2008; Singh et al. 2008).

Ebenso konnte für das Grading des muzinösen EOC keine unabhängige prognostische Relevanz nachgewiesen werden (Hoerl and Hart 1998; Lee and Scully 2000). Die größte prognostische Relevanz kommt bei diesem histologischen Typ dem Ausschluss von Metastasen sowie die Unterscheidung von expansiven und infiltrativen Wachstum zu (Khunamornpong et al. 2014).

1.4.3 Stadieneinteilung nach FIGO/ TNM

Die gängigste Einteilung des Ovarialkarzinoms erfolgt nach der UICC-Klassifikation anhand des TNM-Systems und mit der Stadieneinteilung nach FIGO (Tabelle 2.). Für beide Klassifikationssysteme ist der intraoperative Befund und die histologische Bestätigung obligat. Das jeweilige Tumorstadium stimmt in beiden Klassifikationssystemen überein.

Der sogenannte Borderlinetumor lässt sich mit dieser Klassifikation nicht erfassen. Er zeichnet sich dadurch aus, dass er nicht invasiv wächst, aber die malignen Zellen alle Charakteristika eines Ovarialkarzinoms aufweisen. Er wird auch als „Low malignant Potential Tumor (LMP-Tumor)“ bezeichnet.

Tabelle 2: Stadieneinteilung nach dem TNM-System der UICC (International Union against Cancer) und FIGO (Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique)

TNM	FIGO	Definition
Tx		Nicht beurteilbar
T0		Kein Tumorgewebe
T1	I	Tumor auf Ovarien begrenzt
T1a	IA	Tumor auf ein Ovar begrenzt, Kapsel intakt, keine malignen Zellen im Aszites oder Peritoneallavage
T1b	IB	Tumor auf beide Ovarien begrenzt, Kapsel intakt, keine malignen Zellen im Aszites oder Peritoneallavage
T1c	IC	Tumor auf ein/ beide Ovarien begrenzt mit folgender Unterteilung:
T1c1	IC1	chirurgisch/ operativ bedingte Kapselruptur
T1c2	IC2	präoperative (spontane) Kapselruptur oder Tumor auf der Oberfläche der Ovarien
T1c3	IC3	Nachweis von Tumorzellen im Aszites/ Peritoneallavage
T2	II	Tumor ein/ beider Ovarien mit Ausbreitung im kleinen Becken
T2a	IIA	Ausbreitung auf und/oder Implantate an Tuben und/oder Uterus
T2b	IIB	Ausbreitung auf andere intraperitoneale Beckenorgane
T2c	IIC	Ausbreitung im Becken (IIA oder IIB)+ Tumorzellen im Aszites oder Peritoneallavage
T3	III	Tumor ein/ beider Ovarien mit zytologischen und histologischen Nachweis einer Ausbreitung außerhalb des kleinen Beckens und/ oder retroperitoneale Lymphknoten- Metastasen
T3	IIIA	Metastasen der retroperitonealen Lymphknoten mit oder ohne mikroskopische Peritonealmetastasen außerhalb des kleinen Beckens
T3/ -N1	IIIA1	Ausschließlich retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
T3N1a	IIIA1(i)	retroperitoneale Lymphknotenmetastasen \leq 10mm
T3N1b	IIIA1(ii)	retroperitoneale Lymphknotenmetastasen $>$ 10mm
T3a/ -N1	IIIA2	Mikroskopische Ausbreitung auf dem Peritoneum außerhalb des kleinen Beckens mit oder ohne retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
T3b/- N1	IIIB	makroskopische Peritonealmetastasen außerhalb des kleinen Beckens \leq 2cm mit oder ohne retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
T3c/- N1	IIIC	makroskopische Peritonealmetastasen außerhalb des kleinen Beckens $>$ 2cm mit oder ohne retroperitoneale Lymphknotenmetastasen, einschließlich Kapselbefall von Leber und Milz
M1	IV	Fernmetastasen außer Peritoneale Ausbreitung
M1a	IVA	zytologisch und histologisch gesicherter Pleurabefall
M1b	IVB	Parenchymmetastasen und/oder Metastasen in extraabdominellen Organen (inguinale Lymphknoten, Nabel)
N1		Regionale Lymphknotenmetastasen

Quelle: I. Meinhold – Heerlein, AGO State of the Art 2013, 22.06.2013, Berlin; Höhn AK, Einenkel J, Wittekind C, Horn LC. Pathologie. 2014 Jun 6.

1.5 Therapie

1.5.1 Operative Primärtherapie

Im Rahmen der leitliniengerechten Therapie des Ovarialkarzinoms wird als erster Schritt die radikale operative Therapie empfohlen, in dessen Rahmen auch das Staging erfolgt und die Stadieneinteilung nach FIGO/ TNM erst ermöglicht. Das Ziel dieser Operation ist primär, den Tumor vollständig zu entfernen, da der verbliebene Tumorrest einen signifikanten Einfluss auf die Prognose hat. Erst anschließend an die Operation soll die stadienabhängige, adjuvante Chemotherapie durchgeführt werden.

Der Umfang der Operation richtet sich nach der intraoperativ vorgefundenen Tumorausbreitung und unterscheidet sich in der Radikalität für die Therapie des Frühkarzinoms und die des fortgeschrittenen Ovarialkarzinoms. Da sich das Ovarialkarzinom durch eine intraperitoneale Metastasierung und eine lymphatische Ausbreitung (paraaortal, parametrial, pelvin, inguinal) auszeichnet, wird der Umfang der chirurgischen Therapie durch das Ausmaß der beteiligten Organe bestimmt.

Das Vorgehen für das Frühkarzinom wird durch die aktuellen Leitlinien der AWMF wie folgend empfohlen: Längsschnittlaparotomie, Inspektion und Palpation der gesamten Abdominalhöhle, Peritonealzytologie, Biopsien aus allen auffälligen Stellen, Peritonealbiopsien aus unauffälligen Regionen, Adnexexstirpation beidseitig, Hysterektomie, ggf. extraperitoneales Vorgehen, Omentektomie mindestens infrakolisch, Appendektomie (bei muzinösem/unklarem Tumortyp) und beidseitige pelvine und paraaortale Lymphonodektomie.

Bei einem fortgeschrittenen Ovarialkarzinom, bei dem sich die Tumorausdehnung per definitionem nicht auf das kleine Becken beschränkt, ist das primäre Ziel der Operation ebenfalls, den Tumor möglichst komplett zu entfernen oder zumindest einen Tumorrest <1cm zu erreichen. Dem entsprechend fällt das Ausmaß der Operation umfangreicher aus. Es erfolgt im Rahmen der operativen Therapie die infragastrische Resektion des Omentums, die Exploration der Bursa omentalis, Salpingo-Oophorektomie, Hysterektomie, Abbindung der ovariellen Gefäßbündel, Resektion des tumorinfiltrierten (parietalen) Peritoneums einschließlich des diaphragmatischen Peritoneums, Resektion von infiltrierten Darm, ggf. Appendektomie, Entfernung pelviner und paraaortaler Lymphknoten sowie die komplette intraabdominale Tumorsektion.

Die Vollständigkeit der zytoreduktiven Operation besitzt eine hohe prognostische Relevanz und ist stark von der Erfahrung und dem Können des Operateurs abhängig. Die Durchführung wird daher an spezialisierten Zentren empfohlen (Tingulstad, Skjeldestad, und Hagen 2003; Holschneider und Berek 2000).

1.5.2 Systemische Therapie

Im Anschluss an die operative Therapie erfolgt ab dem Stadium Ib, G1 bis Stadium IIa die adjuvante platinhaltige Mono-Chemotherapie für 6 Zyklen mit Carboplatin. Im Stadium Ia, G1 konnte für die systemische Therapie kein signifikanter Überlebensvorteil nachgewiesen werden (Winter-Roach, Kitchener, and Lawrie 2012; Trimbos et al. 2003; Young et al. 1990). Sie wird daher in dieser Situation nicht empfohlen (AWMF: Aktuelle Leitlinien).

Für die adjuvante systemische Therapie des fortgeschrittenen Ovarialkarzinoms wird eine Kombinationstherapie aus Carboplatin und Paclitaxel für ebenfalls 6 Zyklen empfohlen. Zusätzlich kann ab dem Stadium IIIb eine Behandlung mit dem Angiogenesehemmer Bevacizumab parallel und als Erhaltungstherapie für 12-15 Monate in Betracht gezogen werden (AWMF: Aktuelle Leitlinien; Perren et al. 2011a; Trimbos et al. 2003).

In mehreren Studien wurde eine intraperitoneale Applikation (i.p.) der systemischen Therapie untersucht (Robella et al. 2014; Safra et al. 2014). Generell wird die Anwendung jedoch aufgrund der hohen Komplikationsraten derzeit nur im Rahmen von kontrollierten Studien empfohlen (Harter et al. 2013).

1.5.3 Therapie des Rezidivs

Die Therapie eines Ovarialkarzinomrezidivs unterscheidet sich hinsichtlich der Platinsensibilität (> 6 Monate Rezidivfreiheit nach platinhaltiger Chemotherapie) des Tumors. Eine erneute Operation kommt hierbei nur bei platinsensiblen Tumoren in Frage und wenn zusätzlich der AGO- Score positiv ist (vollständige Primär-OP, guter Allgemeinzustand, <500ml Aszites)(Harter et al. 2014; Harter et al. 2011; Sehouli et al. 2010). Des Weiteren ist eine erneute Chemotherapie indiziert, die sich bei platinsensiblen Tumoren aus einer Kombination von Carboplatin und Gemcitabin/ PEG-Doxorubicin zusammensetzt. Handelt es sich um ein Rezidiv eines nicht-platinsensiblen Tumors, wird eine Monotherapie mit pegyliertem liposomalen Doxorubicin, Topotecan, Gemcitabin oder Paclitaxel empfohlen (AWMF: Aktuelle Leitlinien).

1.6 Prognostische Faktoren

Unter prognostischen Faktoren werden Merkmale einer Erkrankung verstanden, die eine Aussage über den behandlungsunabhängigen Krankheitsverlauf ermöglichen.

1.6.1 Etablierte Prognosefaktoren

Für wenige der bereits untersuchten möglichen prognostischen Faktoren konnte durch zahlreiche Studien eine große Bedeutung bzgl. der Prognose nachgewiesen werden. Sie haben sich als klinische Parameter etabliert und gehen in die Entscheidung über den Operationsumfang und die anschließende Chemotherapie mit ein.

- Tumorrest \leq 1cm nach der Primäroperation
- Stadium nach FIGO
- Aszites
- Allgemeinzustand
- Alter
- histologischer Subtyp
- Differenzierungsgrad

(Ovarian Epithelial Cancer Treatment (PDQ®) - National Cancer Institute n.d.; AWMF: Aktuelle Leitlinien)

Der postoperativ verbliebene Tumorrest ist einer der wichtigsten prognostischen Faktoren und hat signifikanten Einfluss auf das Überleben der Patientinnen. Es konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass eine vollständige Tumorentfernung bei der Primäroperation mit einer Verlängerung der Überlebenszeit sowie einer Verbesserung der Lebensqualität korreliert (Aletti et al. 2006; Hoskins et al. 1992; Wakabayashi, Lin, and Hakim 2008).

Ähnlich große Bedeutung für die Prognose weist die Tumorausdehnung bei Erstdiagnose auf. Sie wird letztendlich erst durch das intraoperative Staging und die histologische Aufarbeitung des Gewebes ersichtlich und spiegelt sich im FIGO-Stadium wieder. Mit fortgeschrittenem Tumorstadium bei Erstdiagnose sinkt die 5-Jahres-Überlebensrate (Dembo et al. 1990; Vergote 2001).

Tabelle 3: 5-Jahres-Überlebensrate in Abhängigkeit des Tumorstadiums bei Erstdiagnose

FIGO- Stadium	Stadium (%) zum Zeitpunkt der Erstdiagnose	5-Jahres- Überlebensrate (%)
I	24	95
II	6	65
III	55	14-30
IV	15	0-20

(American Cancer Society 2000) Annual Report 2000 Registry Database

Einen weiteren prognostischen Faktor stellt das Vorhandensein von Aszites dar. Multivariate Analysen zeigten, dass zum einen das Aszitesvolumen mit dem Ausmaß der peritonealen Metastasierung korreliert (H. Huang u. a. 2013), aber auch das Vorhandensein von Aszites mit einer schlechteren Prognose einhergeht.

In einem fortgeschrittenen Tumorstadium und bei zusätzlich vorliegendem Aszites konnte eine deutlich geringere 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit festgestellt werden als bei Patientinnen im gleichen Tumorstadium ohne Aszites (Chi et al. 2001; Puls et al. 1996; Huang et al. 2013). Das Alter und der Allgemeinzustand werden ebenfalls zu den prognostisch relevanten Faktoren gezählt. So konnte in Metaanalysen gezeigt werden, dass ab dem 65. Lebensjahr die 5-Jahres-Überlebensrate deutlich geringer ist als bei Patientinnen, die vor dem 65. Lebensjahr erkranken (30% vs. 65%) (Thigpen et al. 1993). Da der körperliche Allgemeinzustand sicherlich nicht unabhängig vom Alter zu sehen ist, besitzt auch dieser Faktor Einfluss auf die Prognose der Erkrankung. Ein Karnofskyindex von <70% wurde als prognostisch ungünstig ermittelt (Omura et al. 1991). Nicht zuletzt scheint der Zusammenhang zwischen dem Allgemeinzustand der Patientin und der Überlebensrate auch mit der Operabilität erklärbar zu sein. Ein schlechter Allgemeinzustand erlaubt meist nicht die nötige Radikalität der Primäroperation, durch die eine positive Beeinflussung der Prognose möglich gewesen wäre.

Neben den klinischen Prognosefaktoren wurden bisher nur der histologische Subtyp und das Grading des Karzinoms als etablierte tumorbiologische Marker mit prognostischer Relevanz beschrieben. Bezüglich des histologischen Subtyps konnte eine ungünstigere Prognose für Tumoren vom muzinösen und klarzelligen Subtyp, besonders im FIGO-Stadium III/ IV,

nachgewiesen werden. Für diese Subtypen wurde ein schlechteres Ansprechen auf die platinhaltige Kombinationschemotherapie festgestellt als für die serös-papillären oder endometrioiden Ovarialkarzinome (Horn, Fricke, and Krugmann 1995; Mackay et al. 2010).

Für das histologische Grading des Tumors wurde, mit Ausnahme des muzinösen und klarzelligigen histologischen Subtyps, ebenfalls eine signifikante Relevanz für die Prognose festgestellt. Mit zunehmender Entdifferenzierung (Horn, Fricke, and Krugmann 1995), steigender mitotischer Aktivität und genetischer Instabilität (Malpica et al. 2004) der Tumorzellen sowie mit der Zunahme des soliden Tumoranteils nimmt die Wahrscheinlichkeit für ein progressionsfreies Überleben ab.

Für beide tumorbiologischen Prognosefaktoren fehlt es jedoch aktuell an Relevanz für die Therapie.

Im gleichen Sinne wurden gängige tumorbiologische Marker wie HER-2 (Serrano-Olvera et al. 2006), p53 (Kupryjanczyk et al. 1996; Schmider et al. 2000), VEGF (Manenti et al. 2003; Wong, Wellman, and Lounsbury 2003) u.a.m. hinsichtlich ihrer Bedeutung für das Ovarialkarzinom untersucht. Jedoch kam es zu teils widersprüchlichen Ergebnissen im Sinne ihrer prognostischen und prädiktiven Relevanz.

Da es bei den bisherigen Untersuchungen der tumorbiologischen Faktoren an therapielevanten Ergebnissen mangelt, erscheint die weitere Forschung an der Tumorbiologie, aber auch am tumorassoziierten Stromagewebe sinnvoll, um eine spezifischere Therapie des Ovarialkarzinoms zu ermöglichen.

1.6.2 Experimentelle Prognosefaktoren

In einer Vielzahl von Studien wurden weitere mögliche Prognosefaktoren für das Ovarialkarzinom an Tumorgewebe untersucht. So konnte ein Zusammenhang zwischen erhöhten Serumspiegeln von VEGF-C und einer schlechten Prognose des Ovarialkarzinoms hergestellt werden (Cheng, Liang, and Li 2013), des Weiteren konnten c-ABL (Zhou et al. 2013) die Überexpression von sCD163 (No et al. 2013) und auch eine verringerte Expression der Xantin-Oxidoreduktase (Linder et al. 2012) als Marker identifiziert und mit einer ungünstigen Prognose assoziiert werden. Jedoch fehlt es den genannten Studien oft an ausreichenden Daten, so dass Aussagen über die Signifikanz der Untersuchungsergebnisse noch nicht möglich sind (AWMF: Aktuelle Leitlinien).

Trotz der bereits bekannten Bedeutung des Stromas für das Wachstum und die Invasion eines Tumors beschäftigt sich der überwiegende Teil der bisherigen Studien bzgl. der Prognosefaktoren beim Ovarialkarziom mit der Forschung an den Tumorzellen selbst.

Die große Bedeutung des Stromas für die Tumorentwicklung wird durch die tumorinvasionsbedingten Veränderungen im Stromaaufbau (z.B. Umwandlung von Fibroblasten im Normalgewebe (NF) in tumorassoziierte Fibroblasten (CAF), vermehrte Extrazellulärmatrix (EZM)) erklärt. Durch diese Veränderungen werden wiederum verschiedene Interaktionen zwischen Tumor und umgebenden Stroma ermöglicht, welche bedeutenden Einfluss auf die Tumorentwicklung haben (Goubran et al. 2014; Hanahan and Weinberg 2011).

Die CAF besitzen eine bedeutende Rolle in der Progression und dem Wachstum von epithelialen Tumoren. Ihr Phenotyp und die Funktionen unterscheiden sich von denen der NF, wobei bisher für diese Veränderungen parakrine Faktoren (PDGF, TGF- β 1) aus Karzinomzellen verantwortlich gemacht werden (Buhrmann et al. 2014; Bierie and Moses 2006; Fu et al. 2013a). In Studien zum Mammakarzinom konnte bereits eine Vielzahl an Veränderungen der Genexpression im tumorassoziierten Stroma gegenüber dem Stroma von Normalgewebe festgestellt werden (Casey et al. 2009; Singer et al. 2008). Insbesondere resultieren hieraus eine vermehrte Expression von EZM (Bauer et al. 2010b), Cytokinen (Erez et al. 2013) und Proteasen (Singer et al. 2002). Diese modifizierte Genexpression gegenüber NF ermöglicht die progressionsinduzierende Interaktion mit dem Tumorgewebe.

Zudem konnte bereits die Bedeutung des tumorassoziierten Stromas für die Krankheitsprognose und das Ansprechen einer Therapie beim Mammakarzinom nachgewiesen werden (Farmer et al. 2009; Finak et al. 2008a).

Die signifikanten und therapierelvanten Erkenntnisse über CAF und ihrer prognostischen Relevanz bei Ovarialkarzinomen sind noch weitgehend ausstehend. Die bereits beschriebene Interaktion zwischen Stroma und Tumorgewebe konnte in vitro ebenfalls für eine Begünstigung der Tumorprogression des EOC ausfindig gemacht werden (Zhang et al. 2011a; Fu et al. 2013a). Es wurden vermehrt Studien zum Verständniss der Stroma-Tumorinteraktion beim EOC durchgeführt, jedoch ohne bisher relevante Aussagen bezüglich der Prognose und neuer Therapieoptionen machen zu können. Es gelang nachzuweisen, dass Zellen eines Ovarialkarzinoms die CAF im Omentum zur Produktion von mitogenen Faktoren(IL-6, CXCL-12) stimulieren, welche wiederum die Zellproliferation des Tumors unterstützen (Ko et al. 2012; Ko

and Naora 2014). Zudem korrelierte ein hoher Stromaanteil im fortgeschrittenen Tumorstadium mit einer ungünstigen Prognose (Labiche et al. 2010a).

Diese prognostische Relevanz des Stromaanteils legt die Vermutung nahe, dass stromale Faktoren die Prognose des Ovarialkarzinoms beeinflussen könnten. Die stromalen Faktoren benötigen weitere Untersuchungen, um sie als prognostische Marker oder neue Therapieangriffspunkte zu identifizieren, mit deren Hilfe eine positive Einflussnahme auf die Sterblichkeit möglich sein könnte.

1.7 Hintergrund zu den untersuchten Proteinen

Bei den untersuchten Proteinen handelt es sich um Proteine, zu denen es teilweise erfolgversprechende Beobachtung bezüglich ihrer Expression in CAF des Mammakarzinoms gibt. Sie wurden hierbei als Einflussgrößen für das Tumorstadium identifiziert (Bauer et al. 2010a).

In dieser Arbeit wurde die Expression der im Folgenden aufgeführten Proteine mitunter in CAF des tumorassoziierten Stromas beim EOC untersucht, um sie hinsichtlich ihrer prognostischen Relevanz zu beurteilen.

1.7.1 AKR1C1, AKR1C2

Bei der Aldo-Keto-Reduktase family1 member C1 (AKR1C1) und der Aldo-Keto-Reduktase family1 member C2 (AKR1C2) handelt es sich um zytoplasmatisch lokalisierte Enzyme, die zu der Superfamilie der Aldo-Keto-Reduktasen zählen. Ihre Funktion besteht in der NADH-abhängigen Umwandlung von Aldehyden und Ketonen in deren entsprechenden Alkohol.

AKR1C1 kommt eine Bedeutung im Progesteronstoffwechsel zu. Es ist verantwortlich für die Katalysierung der NADH-abhängigen Reaktion von Progesteron in dessen inaktive Form, das 20-alpha-Hydroxyprogesteron (AKR1C1 Aldo-Keto Reductase Family 1, Member C1 [Homo Sapiens (Human)] –Gene- NCBI). Es kommt physiologisch, hauptsächlich zytoplasmatisch und nur selten nukleär, in respiratorischem Epithel, im Gastrointestinaltrakt, Eileiter, Leber, Blasenurothel, hämatopoetischen Zellen sowie in den meisten mesenchymalen Zellen vor. Bei Leberkarzinomen sowie Pankreas-, Magen-, Urothel- und Ovarialkarzinomen ist eine moderate bis starke zytoplasmatische Expression von AKR1C1 im Tumorgewebe bekannt (The Human Protein Atlas).

AKR1C2 hingegen bindet Gallensäuren und scheint durch eine geringe 3-alpha-Hydroxysteroid-Dehydrogenase-Aktivität ebenfalls Einfluss auf die Steroidhormonmetabolisierung zu haben.

Das vermehrte Vorkommen von AKR1C2 wurde bisher hauptsächlich in malignen Tumoren der Leber, des Plattenepithels, des Urothels der Blase und in der Lunge beschrieben. Physiologisch wird dieses Enzym in Lebergewebe, Blase und Darm sowohl zytoplasmatisch als auch nukleär exprimiert (The Human Protein Atlas). Die genetische Sequenz beider Proteine findet sich in Clustern auf Chromosom 10.

Für beide Enzyme wurde bereits durch deren Überexpression ein Zusammenhang mit der Entstehung von neoplastischen Transformationen in Keratinozyten von Mäusen (Chien, Ho, and Lee 2009) sowie für die Entstehung des NSCLC (Palackal et al. 2002) nachgewiesen. Die alleinige Überexpression von AKR1C2 hingegen wird in Verbindung mit der Progression des Prostatakarzinoms gebracht (Huang et al. 2010). Des Weiteren konnte in Studien eine verminderte stromale Expression von AKR1C1/-C2 in der Mehrheit von Mammakarzinom-Gewebe gegenüber normalen Brustgewebe nachgewiesen werden (Lewis, Wiebe, and Heathcote 2004; Bauer et al. 2010a). Untersuchungen der Expression des Proteins in den CAF des Mammakarzinoms ergaben, dass die Expression sowohl in Tumorzellen als auch in CAF mit einem längeren Gesamtüberleben (OS) und Progressionsfreien-Überleben (PFS) korreliert. Zusätzlich konnte eine Assoziation zwischen dem Vorliegen von günstigen Tumorcharakteristika und der Expression in den Tumorzellen und den CAF nachgewiesen werden (Wenners et al. 2015).

1.7.2 GALNT3

GALNT3 wird auch als UDP-GalNAc-Transferase 3 bezeichnet. Es wird auf Chromosom 2 codiert und gehört zu der Familie der GalNAc-Transferasen. Bei dieser Enzymfamilie handelt sich um Enzyme, die an der Biosynthese von Oligosacchariden beteiligt sind, indem sie N-Acetylgalaktosamine auf Hydroxylgruppen übertragen. Sie kommen hauptsächlich im Golgi-Apparat, aber auch im Zytoplasma und Nukleus der Zellen vor (The Human Protein Atlas).

Es wurde bereits beschrieben, dass GALNT3 in malignen Zellen des Endometriums, des Brustdrüsengewebes, der Prostata und des Gastrointestinaltrakts vermehrt exprimiert wird. Zudem wurde in mehreren Arbeiten bereits ein Zusammenhang zwischen der Mutation im GALNT3-Gen und der Tumorgenese in unterschiedlichen Geweben hergestellt.

So konnte zum Beispiel bereits für das Mammakarzinom GALNT3 als tumorassoziiertes Antigen nachgewiesen werden. Es zeigte sich eine vermehrte Expression des Proteins im Tumorgewebe, welche mit der Höhe der Tumormasse korreliert (Cavallo et al. 2005). Ebenso besteht ein Zusammenhang zwischen der GALNT3-abhängigen Glykosylierung und der Entstehung des Pankreaskarzinoms (Maupin et al. 2010; Taniuchi et al. 2011) sowie einer ungünstigen Prognose für das Nierenzellkarzinom (Kitada et al. 2013).

Des Weiteren konnte im Rahmen von Untersuchungen an tumorassoziierten Stromagewebe des Mammakarzinoms auch die Überexpression von GALNT3 in CAF im Vergleich zu Fibroblasten des normalen Stromagewebes nachgewiesen werden (Bauer et al. 2010a).

1.7.3 GATA3

Das GATA-bindende-Protein 3 zählt zu der GATA-Familie der Transkriptionsfaktoren. Es handelt sich um ein 48kDa großes Protein, dessen Gen auf Chromosom 10 lokalisiert ist. GATA3 wird eine wichtige Rolle in der Regulation der T-Zellentwicklung und an den biologischen Vorgängen in Endothelzellen zugeschrieben. Es kommt physiologisch nahezu ubiquitär in allen Zellen vor, wobei es überwiegend nukleär lokalisiert ist.

Von besonderer klinischer Bedeutung ist GATA3 zum einen als Marker von Urothelkarzinomen (Bezerra et al. 2014; Li et al. 2014; Ordóñez 2013), aber auch für Mammakarzinome. So konnte für Her2/neu-positive Mammakarzinome ein Zusammenhang hergestellt werden zwischen der Überexpression von GATA3 in den Tumorzellen und einer günstigen Prognose für die Patientinnen (Gonzalez et al. 2013). Im Umkehrschluss wurde nachgewiesen, dass ein Verlust der GATA3-Expression durch vermehrtes Auftreten von Metastasen und Beeinflussung des Microenvironments mit einer schlechten Prognose für die Mammakarzinompatientinnen verbunden ist (Chou et al. 2013). In den CAF von Mammakarzinomen konnte eine Überexpression des Proteins beobachtet werden (Bauer et al. 2010a).

1.7.4 TGF- β 2

Transforming growth factor-beta 2 (TGF- β 2) ist ein potentiell sekretorisches, transmembranös lokalisiertes Protein. Es wird zu der Familie der Zytokine gezählt und ist somit an mehreren zellulären Regulationsvorgängen (u. a. Proliferation, Differenzierung, Adhäsion, Migration) beteiligt. Die genetische Information für dieses Protein ist auf Chromosom 1 lokalisiert (The Human Protein Atlas).

Die TGF- β 2 vermittelte Signaltransduktion erfolgt über die transmembranösen TGF β -Rezeptoren vom Typ I und II. Diese sind wiederum an intrazelluläre SMAD-Proteine gekoppelt. Störungen im TGF β -Rezeptor/SMAD-Signalweg führen zum Verlust der Tumorsuppressorfunktion des Proteins und können im fortgeschrittenen Tumorstadium dazuführen, dass das Tumorwachstum gefördert wird (Jakowlew 2006). Neben anderen TGF β -Isoformen gilt auch TGF- β 2 als ein unterstützender Faktor bei der Produktion von Extrazellulärmatrix in Tumorgewebe (Chang u. a. 2007) und stimuliert die Migration von Ovarialkarzinomzellen (Gao et al. 2014). Weitere Forschungsergebnisse zeigen eine erhöhte Expression von TGF- β 2 in CAF bei Lebermetastasen des Kolonkarzinoms (Nakagawa et al. 2004) und in CAF des Mammakarzinoms (Bauer et al. 2010a). Auch in Tumorzellen des Mammakarzinoms konnte eine Überexpression festgestellt werden (de Jong et al. 1998), es wird angenommen, dass dies mit einer aberranten EZM-Produktion beim Mammakarzinom in Verbindung steht (Chang et al. 2007).

1.7.5 KLF-4

Der Kruppel-like factor 4 (KLF4) gehört zur KLF-Familie der Transkriptionsfaktoren. Seine genetische Information liegt auf Chromosom 9. Es handelt sich um ein nukleär lokalisiertes Zink-Finger-Protein mit Bedeutung für die Regulation von Proliferation, Differenzierung und die Apoptose von Zellen. In Abhängigkeit von dem jeweiligen Zielgen kann KLF4 die Transkription sowohl steigern als auch unterdrücken.

Er findet sich physiologisch in epithelialen Gewebe der Haut und inneren Organen, aber auch in Trophoblasten, zu einem geringeren Teil im Hodengewebe sowie im Knochenmark.

In zahlreichen veröffentlichten Arbeiten wurde die Annahme bestärkt, dass der Verlust der Expression von KLF4 mit der Tumorprogression assoziiert ist. Es konnte unter anderen ein tumorsuppressiver Effekt für die Entstehung von Lungenkarzinomen (Zhang et al. 2012), Magen- (Ji et al. 2014), Plattenepithelkarzinomen der Haut und des Kopf- /Halsbereiches (Yang and Zheng 2012; Liu et al. 2013) sowie auch bei Mammakarzinomen (Nagata et al. 2014) nachgewiesen werden.

Eine seiner physiologischen Funktionen beinhaltet die Aufrechterhaltung der DNA-Stabilität durch Modulation verschiedener Reparaturprozesse (El-Karim u. a. 2013).

Eine große Bedeutung von KLF4 ist auch für CAF des Tumorgewebes anzunehmen. So zeigte sich in Studien, dass KLF4 an der Transformation von Fibroblasten in pluripotente Stammzellen beteiligt ist (Takahashi et al. 2007).

Bei Untersuchungen am Mammakarzinomen konnte in den CAF eine verminderte Expression von KLF4 nachgewiesen werden (Bauer u. a. 2010) und somit die Annahme bestärkt werden, dass diesem Protein eine tumorprotektive Bedeutung zukommt.

1.7.6 ST6GALNAC5

ST6 (alpha-N-acetyl-neuraminyl-2,3-beta-galactosyl-1,3)-N-acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase 5 (ST6GALNAC5) gehört zur Familie der Sialyltransferasen. Es handelt sich um ein Transmembranprotein, welches auch sezerniert werden kann.

Es beeinflusst durch die Modifizierung von Zelloberflächenproteinen die Zell-Zell-Interaktion sowie Interaktionen zwischen Zellen und EZM (The Human Protein Atlas; Tsuchida et al. 2003). Die genetische Codierung für dieses Protein liegt auf Chromosom 1.

In bisherigen Studien wurde unter anderem vermutet, dass ST6GALNAC5 für Veränderungen der Oberflächenstruktur der Mammakarzinomzellen verantwortlich ist, die die Passage der Karzinomzellen durch die Bluthirnschranke und somit die Entstehung von Hirnmetastasen ermöglichen (Bos et al. 2009).

Eine hohe Expression des Proteins und die damit verbundene Veränderung der Zelloberflächenproteine wird ebenfalls mit der Tumorprogression und Aggressivität des Mammakarzinoms in Verbindung gebracht (Cazet u. a. 2010).

In Untersuchungen an CAF des Mammakarzinoms wurde beobachtet, dass auch hier die Expression von ST6GALNAC5 gegenüber NF erhöht ist, so dass auch ein stromaler Einfluss auf Metastasenbildung und Tumorprogression anzunehmen ist (Bauer et al. 2010a).

2 Ziel der Arbeit

Das tumorassoziierte Stroma besitzt eine entscheidende Bedeutung für die Entstehung und Progression von Tumoren. In verschiedene Studien gelang es nachzuweisen, dass Veränderungen im tumorassoziierten Stroma von epithelialen Tumoren eng mit der Tumorentwicklung verknüpft sind (s. 1.6.2). CAF sind maßgeblich in die Interaktion zwischen Stroma und Tumorzellen involviert. Sie sind durch vielseitige Mechanismen, wie der Sekretion von Proteinen und Chemokinen und der Regulation der ECM, an der Entstehung und dem Wachstum von epithelialen Tumoren beteiligt (Fu et al. 2013a). Der Einfluss der CAF auf die Tumorprogression und das Ansprechen einer Therapie beim Mammakarzinom ist bereits nachgewiesen worden (Farmer et al. 2009; Finak et al. 2008a).

Für das EOC finden sich in der Literatur ebenfalls Hinweise, dass CAF die Tumorprogression, das Krankheitsstadium und die Entstehung von Metastasen beeinflussen können (Zhang et al. 2011b). Die detaillierte Charakterisierung des Stromas des EOC ist aktuell allerdings weitestgehend ausstehend. Ebenso konnten bisher die stromalen Einflussgrößen für das Tumorstadium und die Prognose beim EOC nicht ausreichend geklärt werden.

Die Bedeutung von stromalen Faktoren beim epithelialen Ovarialkarzinom wird in der vorliegenden Arbeit untersucht. Es wird eine systematische Charakterisierung der Stromamorphologie durchgeführt und der Einfluß des tumorassoziierten Stromas auf die Prognose des EOC analysiert. Hierzu werden klinische Faktoren, histopathologische Merkmale sowie Kandidatenproteine in Tumor- und Stromazellen bezüglich ihrer prognostischen Relevanz und Auswirkungen auf das Überleben untersucht. Die Auswahl der Kandidatenproteine (AKR1C1, AKR1C2, GALNT3, GATA3, KLF-4, ST6GALNAC5, TGF- β 2) erfolgte aufgrund vielversprechender Beobachtung bezüglich ihrer Expression in CAF des Mammakarzinoms und der damit verbundenen prognostischen Relevanz für das Überleben (Bauer et al. 2010a). Die verwendeten Gewebeproben liegen in Form von TMA vor und stammen von Teilnehmerinnen der ICON-7-Studie, bei denen durch eine zweite histologische Beurteilung das Vorliegen eines EOC bestätigt wurde (AGO-Ovar-11t-Histo-Studie). So wird gewährleistet, dass ein homogenes Kollektiv vorliegt, das unter konstanten Versuchsbedingungen untersucht werden kann. Die Evaluation der Proteinexpression in den Tumorzellen und in CAF sowie der Stromamorphologie wird lichtmikroskopisch nach erfolgter immunhistochemischer Färbung der Gewebeproben vorgenommen. Zusätzlich soll durch die Analyse der erhobenen Daten ermittelt werden, welche klinischen und histopathologischen Merkmale mit der Prognose des EOC

assoziiert sind und ob die Stromamoprhologie und ermittelte Markerexpression in den CAF und Tumorzellen mit klinischen oder histopathologischen Parametern korrelieren. Schließlich sollen die Proteine identifiziert werden, deren Expression prognostisch relevant für das OS und PFS sind.

3 Material und Methoden

3.1 Material

Im Folgenden sind die zur Färbung und Auswertung verwendeten Materialien aufgeführt.

Tabelle 4: Materialien der immunhistochemischen Färbung und Auswertung

Immunhistochemie	Bezugsquelle
Xylol	Th. Geyer GmbH
Ethanol	Merck, Darmstadt
TBS- Waschpuffer: 12,0g 1M Tris-aminomethan + 83,6g NaCl + 11ml 25% Hcl ad 1000ml Aqua dest.	Merck, Darmstadt Walter GmbH, Kiel Merck, Darmstadt Destille UFK Kiel
EDTA- Puffer pH 8: 0.37g EDTA + 1000ml Aqua dest. + 1M NaOH + 0.5 ml Tween 20	Sigma Aldrich Merck, Darmstadt Th. Geyer GmbH
Citratpuffer pH 6: 2,1 mg Citronensäure + 24ml 1M NaOH ad 1000ml Aqua dest.	Merck, Darmstadt
3% H ₂ O ₂ – Lsg.: 20ml 30% H ₂ O ₂ + 180ml Aqua dest.	Merck, Darmstadt
Ziegen- Normalserum	Dako X0907, Glostrup, Dänemark
4% ige Milchpufferlsg.: 0,24g Non fat dry milk + 6ml DPBS (Phosphat gepufferte Salzlsg.)	BIORAD GIBCO
1 ml Bright- DAB (3',3'- Diaminobenzidin) Kit	Immunologic, BS04-sample
Hämalaun nach Meyer	Roth T864.2, Karlsruhe

Gebrauchs- und Verbrauchsmaterial	
Mikrowelle (R- 332)	Sharp Electronics, Hamburg
Dampfdruckkochtopf	Fisslar GmbH, Idar- Oberstein
CV Mount Eindeckmedium	Leica U.N. 1307, Nussloch
Eindeckgläser	Menzel, Braunschweig
Pipettenspitzen (10- 1000µl) , steril	Eppendorf, Hamburg
Pipettierhilfe	Eppendorf
Mikroskop, Objektive	Diastar Nr. 26595, Reichert

Tabelle 5: *Verwendete Antikörper und Detektionssysteme*

Antikörper	Firma	Verdünnung	
Anti- GATA3	Atlas	1:100	Polyklonal, Ziege
Anti- AKR1C1	GeneTex	1:200	Polyklonal, Kaninchen
Anti- AKR1C2	Abnova	1:50	Polyklonal, Kaninchen
Anti- ST6GALNAC5	Protein Tech. Group	1:150	Polyklonal, Kaninchen
Anti- GALNT3	Abgent/ Biocat GmbH	1:100	Polyklonal, Kaninchen
Anti- KLF4	R&D Systems	1:20	Polyklonal, Ziege
Anti- TGFβ-2	Abcam: ab36495	1:100	Monoklonal, Maus
Detektionssysteme			
Histofine simple stain MAX	Medac		
Vectrastain Elite ABC Kit	Vector Laboratories		
Avidin- Biotin- Blocking Kit	Vector		

3.2 Patientenkollektiv und Studie

Das Patientenkollektiv setzt sich aus 441 Patientinnen zusammen, bei denen ein histologisch gesichertes EOC diagnostiziert wurde. Es handelt sich bei dem Kollektiv um Teilnehmerinnen der prospektiven, multizentrischen ICON-7-Studie, welche wiederum eine Substudie der randomisierten, multizentrischen, Phase 3 AGO-OVAR-11-Studie ist. Die Hauptstudie (AGO-OVAR 11/ ICON 7-Studie) vergleicht die aktuelle Standardtherapie (Carboplatin und Paclitaxel) des EOC mit der Standardtherapie in Kombination mit Bevacizumab (VEGF-Antikörper) in der Primärtherapie des EOC. Pro Studienarm der ICON-7-Studie, wurden laut Studienprotokoll 764 Patientinnen mit einem diagnostisch gesicherten EOC im FIGO-Stadium I-IIA (vom klarzelligen Typ oder G3) und FIGO-Stadium IIB-IV zugeteilt. Die Randomisierung erfolgte zwischen Dezember 2006 und Februar 2009. Die bisherigen Ergebnisse sprechen für eine Verminderung der Lebensqualität zu Gunsten des progressionsfreien Überleben durch die zusätzliche Therapie mit Bevacizumab für 5-6 Zyklen und einer anschließenden Monotherapie für weitere 12 Zyklen (Stark et al. 2013). Zudem konnte der grösste Effekt von Bevacizumab auf des progressionsfreie Überleben und das Gesamtüberleben am deutlichsten für EOCs mit hohem Progressionsrisiko (high risk) gezeigt werden (Perren u. a. 2011b).

Die Teilnahmevoraussetzung für die Substudie (AGO-Ovar-11t-Histo) war die Teilnahme an der AGO-OVAR-11-Studie sowie das schriftliche Einverständnis der Patientinnen. Ziel der Substudie war die Überprüfung der Sinnhaftigkeit einer histologischen Zweitbegutachtung als Einschlusskriterium für die Teilnahme an einer klinischen Ovarstudie (Kommoss et al. 2008). Sie basiert auf der Annahme, dass ein gewisser Anteil der Primärdiagnosen des EOC in bisherigen Studien fälschlicher Weise gestellt wurde. Diese Annahme wurde anhand der Substudie untersucht und bestätigt. Es konnte nachgewiesen werden, dass es sich bei 6,8% der Primärdiagnosen um eine therapierelevante Fehldiagnose handelte (Kommoss et al. 2013). Durch die Zweitbegutachtung konnte die Etablierung einer Tumordatenbank für weitere Analysen vorgenommen werden, welche auch dieser Arbeit zu Grunde liegt.

Das untersuchte Material und die klinischen Informationen zu den Teilnehmerinnen der Studie wurden von der AGO-11t-Histo-Studie bereitgestellt. Insgesamt standen 441 Fälle von Ovarialkarzinomen und ihre zugehörigen klinischen und histologischen Informationen, wie z.B. die histologische Einteilung, das Grading, der postoperative Tumorrest, das FIGO-Stadium und eine Einschätzung des Risikos für Tumorprogression, zur Verfügung (Tabelle

8.). Die mediane Beobachtungszeit betrug 23,3 Monate und lag zwischen 0 und 44,6 Monaten.

3.3 Gewebe

Die Gewebeproben lagen in Form von Tissue Microarrays (TMA) vor, die sich aus formalinfixierten Stanzbiopsien von epithelialen Ovarialkarzinomen zusammensetzen. Auf dem Objektträger waren die einzelnen Gewebebiopsate so angeordnet, dass zwei nebeneinanderliegende Spots aus unterschiedlichen Schichten der Stanzbiopsie einer Patientin stammten.

3.4 Immunhistochemie

Die immunhistochemische Färbung dient zum Nachweis und zur Quantifizierung von Gewebeproteinen durch die Zugabe von enzymmarkierten Antikörpern. Der Nachweis beruht auf der Antigen-Antikörper-Reaktion, die durch die Zugabe eines Substrats (Chromogen) zu dem enzymmarkierten Antikörper gelingt.

Es stehen mehrere immunhistochemische Methoden zur Verfügung, die sich u.a. hinsichtlich der Nachweisempfindlichkeit unterscheiden.

Hierbei unterscheidet man die direkte Methode, bei der der Primärantikörper enzymmarkiert ist, von der indirekten Methode. Bei der indirekten Methode bindet ein unmarkierter Primärantikörper an das Antigen, so dass das Aufbringen eines weiteren enzymmarkierten Sekundärantikörpers notwendig wird, der gegen den primären Antikörper gerichtet ist. Reagiert ein dritter aufgebrachtener enzymmarkierter Antikörper mit einem enzymmarkierten Sekundärantikörper, so spricht man von der tertiären Methode. Die Nachweisempfindlichkeit für das Antigen nimmt von der primären zur tertiären Methode hin zu.

Des Weiteren können sowohl monoklonale, als auch polyklonale Primärantikörper verwendet werden. Am häufigsten handelt es sich um Antikörper der Klasse IgM oder IgG. Sie unterscheiden sich darin, dass die monoklonalen Antikörper immunhistochemisch identisch sind und nur mit einem bestimmten Epitop des zu untersuchenden Antigens reagieren, wohingegen die polyklonalen Antikörper, da sie in verschiedenen Plasmazellen gebildet wurden, mit verschiedenen Epitopen des Antigens reagieren.

3.4.1 Avidin-Biotin-Enzymkomplex-Methode

Die ABC-Methode zählt zu den Drei-Schritt-Methoden in der immunhistochemische Färbung. Dieses Verfahren basiert auf der Affinität von (Strept-)Avidin zu Biotin.

Zunächst ist es notwendig, die physiologisch vorkommende endogene Peroxidase mittels 3%-iger H₂O₂-Lösung sowie die endogene Avidin-Bindungsaktivität mittels Avidin-Biotin-Block in dem zu färbenden Gewebe zu blockieren. Somit können falsch positive Färbeergebnisse verhindert werden.

Nun erfolgt die Inkubation mit dem entsprechenden Primärantikörper als erster Schritt. Im zweiten Schritt wird ein biotinmarkierter Sekundärantikörper auf die Gewebepräparate aufgebracht. Dieser ist gegen die Spezies des Primärantikörpers gerichtet und bildet mit diesem einen Antigen-Antikörperkomplex. Daraufhin kann im dritten Schritt die zuvor angesetzte Avidin-Biotin-Enzymkomplex-Lösung angewandt werden.

Avidin besitzt vier Bindungsstellen für Biotin, so dass sowohl für das Biotin aus der ABC-Lösung, als auch für das Biotin des Sekundärantikörpers Bindungsstellen zur Verfügung stehen. Es reagiert der Avidin-Biotin-Enzymkomplex mit dem biotinylierten Sekundärantikörper.

Bei dem biotinmarkierten Enzym der hier verwendeten Avidin-Biotin-Methode handelt es sich um Meerrettichperoxidase, die letztendlich nach der Zugabe der Substrat-Chromogenlösung die Farbreaktion vermittelt.

3.4.2 Polymerkonjugat-Methode, Histofine

Dieses Verfahren zur immunhistochemischen Färbung gehört zu den Zwei-Schritt-Detektionssystemen von Antigenen. Es handelt sich um eine indirekte Methode, bei der nach der Inkubation mit einem unmarkierten Primärantikörper ein Polymerkonjugat verwendet wird. Dieses Polymerkonjugat basiert auf einem Dextranmolekül an dem sowohl Enzym (Peroxidase) als auch Sekundärantikörper (Anti-Maus und Anti-Kaninchen) gebunden ist. Ein Dextranmolekül ist hierbei in der Lage 70 Enzymmoleküle zu binden und 10 Sekundärantikörpermoleküle.

Zur Visualisierung wird eine Substrat-Chromogenlösung (DAB) verwendet, welche dann durch die dextransgebundene Peroxidase zur braunen Anfärbung des zu detektierenden Proteins führt.

Die Envision-Polymer-Methode weist eine hohe Sensitivität auf und besitzt gleichzeitig keine Neigung zur unspezifischen Hintergrundfärbung durch die Reaktion von Avidin mit endogenem Biotin. Jedoch sollte auch bei dieser Methode die endogene Peroxidaseaktivität blockiert werden und ggf. ein Backgroundreduce mit Normalserum aus der Spezies des sekundären Antikörpers erfolgen, bevor die Inkubation mit dem primären Antikörper durchgeführt wird.

3.5 Durchführung der Färbungen

Die Färbungen des Gewebes im Rahmen dieser Arbeit begannen stets mit der Deparaffinierung der Gewebeproben. Hierzu wurden die mit dem Gewebe bestückten Objektträger zunächst für 20 Minuten in einem Xylobad entparaffiniert. Daraufhin durchliefen sie dann eine absteigende Ethanolreihe von 100-70%, die die Gewebeschnitte rehydrierte.

Anschließend wurden die Proben im TBS- Pufferbad gewaschen.

Als nächstes wurden die entparaffinierten und dehydrierten Schnitte nun zur Antigendemas-
kierung in einer entsprechenden Pufferlösung erhitzt. Hierbei konnten zu den einzelnen Anti-
körpern unterschiedliche Empfehlungen ausfindig gemacht werden, sodass die Antigende-
maskierung von TGF β -2 im EDTA-Puffer erfolgte, die der übrigen Proteine im Citratpuffer.
Das Erhitzen wurde in der Mikrowelle für 20 Minuten bei 900W, bzw. bei KLF4 im Dampf-
drucktopf, durchgeführt, woraufhin sich eine 25-minütige Abkühlungsphase anschloss. Die
letzten 5 Minuten der Abkühlungsphase fanden unter fließendem Leitungswasser statt.

Daraufhin wurden die Schnitte dreimalig in TBS- Puffer gewaschen, bevor sie für 20- 30 Mi-
nuten in eine 3%-ige H₂O₂-Lösung gebracht wurden. Diese Lösung dient zum Blockieren der
endogenen Peroxidaseaktivität im Gewebe und verhindert eine spätere ungewünschte Hinter-
grundfärbung.

Nach anschließender Spülung mit TBS-Pufferlösung wurde nun bei KLF4 ein Avidin-Biotin-
Block für insgesamt 30 Minuten durchgeführt, sowie eine weitere Hintergrundreduktion mit
4%-ige Milchpulverlösung für 20 Minuten. Bei AKR1C1 (1:5), AKR1C2 (1:10), GALNT3
(1:5), TGF β -2 (1:100) und ST6GALNAC5 (1:10) erfolgte die Hintergrundreduktion mit Zie-
gen-Normalserum für 20-30 Minuten.

Die Inkubation mit den primären Antikörpern wurde in den oben genannten Verdünnungen
vorgenommen. Als Verdünnungsmittel diente bei KLF4 2%-ige Milchpulverlösung, bei den
übrigen Antikörpern PBS-Pufferlösung. Die entsprechende Konzentration der jeweiligen An-

tikörper wurde zuvor an Ovargewebe bestimmt, welches nicht aus der Ovar 11t-Histo-Studie stammte. Die Inkubation erfolgte bei allen primären Antikörpern (außer bei Anti-TGF β -2, dort für 30 Minuten) über Nacht bei 4°C im Kühlschrank. Hierzu wurden die Objektträger in einer feuchten Kammer platziert.

Nach der Inkubationszeit folgte die Waschung mit TBS- Pufferlösung, bevor der sekundäre Antikörper aufgebracht wurde.

Bei GATA3, AKR1C1, AKR1C2, GALNT3 und ST6GALNAC5 und TGF- β 2 handelte es sich hierbei um das Polymerkonjugat Histofine, ein Substrat (Anti-Kaninchen und Anti-Maus)- Enzym (Meerrettichperoxidase)-Gemisch, welches für 30 Minuten aufgebracht wurde.

Bei der Färbung von KLF4 wurde zunächst der sekundäre Antikörper E0466 in einer Verdünnung von 1:1000 in 2%-iger Milchpulverlösung für 30 Minuten angewandt. Danach folgte die 30-minütige Inkubation mit dem Biotin-Enzym-Komplex, dem Tertiärreagenz nach der ABC-Methode.

Die Visualisierung der Färbung erfolgte bei allen Proteinen einheitlich mit DAB-Reagenz, welches in einer Verdünnung von 1:50 verwendet wurde. Sobald eine braune Farbreaktion zu erkennen war, wurde die Reaktion mit Leitungswasser gestoppt.

Die Gegenfärbung der Zellkerne wurde mit Hämalaun für 4 Minuten mit darauf folgenden Nachbläuen für 20 Minuten unter fließendem Leitungswasser durchgeführt.

Als letzter Schritt wurde die Dehydrierung in einer aufsteigenden Ethanolreihe vorgenommen. Vor der Eindeckung mittels Eindeckmedium und Deckgläsern erfolgte die Überführung der Schnittpräparate von Ethanol in ein Xylolbad für 3 Minuten. Die Aushärtung fand über 12 Stunden unter dem Laborabzug statt.

3.6 Kontrollen

Um zu überprüfen, ob die Färbeergebnisse verlässlich sind und um falsch positive oder falsch negative Ergebnisse auszuschließen, wurden bei den jeweiligen Versuchen bzw. Färbevorgängen stets Positiv- und Negativkontrollen eingesetzt. Bei diesen handelte es sich ebenfalls um Ovarialkarzinomgewebe, welches jedoch nicht aus der Ovar 11t-Histo-Studie stammte, sondern aus dem Bestand der Universität Kiel. Damit die entsprechende Antikörperkonzentration eine adäquate Färbung von Ovargewebe gewährleistet, wurde in zahlreichen immunhis-

tochemischen Vorarbeiten an dem selben Gewebe, welches später als Positiv- und Negativkontrolle diente, ausgetestet und durch eine Pathologin bestätigt.

Die Negativkontrollen wurden nur mit dem Verdünnungsmedium versehen und inkubiert, wohingegen die Positivkontrollen mit der jeweiligen, in den Vorarbeiten ermittelten, geeigneten Konzentration der Primärantikörper inkubiert wurden.

3.7 Auswertung

Die mikroskopische Auswertung der immunhistochemisch gefärbten TMA erfolgte mit Hilfe eines Lichtmikroskops unter 400-facher Vergrößerung. Sie wurde ohne Kenntnis der klinischen Daten zu den Gewebepreparaten durchgeführt und stichprobenartig von einer Pathologin kontrolliert.

Die Färbungen wurden als positiv gewertet, wenn eine Braunfärbung des Zellkerns oder des Zytoplasmas zu beobachten war.

Hierbei wurde nicht nur die Anfärbbarkeit der Fibroblasten bewertet, sondern auch die des Tumorgewebes, der Lymphozyten, Makrophagen und des Endothels. Zusätzlich zu der Beurteilung der Stärke der Positivität in den einzelnen Gewebekompartimenten erfolgte auch die Beurteilung des prozentualen Stromaanteils, der Zelldichte, des lymphozytären Infiltrates sowie die Beurteilung der positiven Anteile des Stroma- und des Tumorgewebes in Prozent.

Somit ergaben sich bei der Auswertung 6 zu beurteilende Kategorien:

1. Stromaanteil in Prozent (in 10er%- Schritten)
2. Zellreichtum des Stromas (zellreich= 3, mittel= 2, zellarm=1)
3. Lymphozytäres Infiltrat (0= keines, 1= leicht, 2= deutlich)
4. Expression im Stromaanteil (Allred-Score)
5. Expression im Tumorgewebe (Allred-Score)
6. Expression in Lymphozyten, Endothel, Makrophagen (Anteil: 0= 0%, 1= partiell, 2= alle; Intensität: 0= negativ, 1= positiv)

Der, zur Beurteilung der Expression, verwendete Allred-Score ist ein 8-stufiger, immunhistochemischer Score, der sich aus dem Prozentsatz positiver Zellen und ihrer Färbeintensität durch Addition wie folgt zusammensetzt:

Tabelle 6: Allred-Score

Prozentsatz positiver Zellen		Färbeintensität		Score
Keine positiven Zellen:	0 Pkt.	Keine Farbreaktion :	0 Pkt.	0- 8 Pkt.
< 1% positive Zellen:	1 Pkt.	Schwache Farbreaktion :	1 Pkt.	
1-10% positive Zellen:	2 Pkt.	Mäßige Farbreaktion :	2 Pkt.	
11-33% positive Zellen:	3 Pkt.	Starke Farbreaktion :	3 Pkt.	
34-66 % positive Zellen:	4 Pkt.			
>66% positive Zellen:	5 Pkt.			

3.8 Statistik

Die primären klinischen Endpunkte waren die Gesamtüberlebenszeit (OS) und das progressionsfreie Überleben (PFS). Beides wurde in Abhängigkeit von ausgewählten klinischen Variablen und der Expression der genannten Marker untersucht. Die Überlebenszeit sowie das progressionsfreie Überleben wurden in Monaten vom Zeitpunkt der Randomisierung bis zum Eintritt des Todes oder ersten Hinweisen einer Progression der Erkrankung gezählt. Die Daten der Patientinnen, die den Endpunkt der Studie überlebten und keine Krankheitsprogression erlitten, wurden auf den Zeitpunkt der letzten Untersuchung zensiert. Die klinisch-pathologischen Variablen wurden von der AGO zur Verfügung gestellt. Es standen Informationen zu Alter und physischen Zustand der Patientinnen, Ursprungsgewebe des Tumors, Histologie, Grading und FIGO-Stadium sowie zur Größe des postoperativen Tumorrestes, die Beobachtungsdauer der einzelnen Patientinnen und Informationen zur Art der Therapie (Standardmedikation/ Studienmedikation) zur Verfügung (Tabelle 8.).

Die Zusammenhänge zwischen der Stromamorphologie und der Markerexpressionen in Stroma- und Tumorzellen mit den klinisch-pathologischen Variablen wurden mittels Chi-Quadrat-Test untersucht. Der Zusammenhang der Markerexpression im Stroma und in den Tumorzellen wurde mit dem Kendall-Korrelationskoeffizienten bewertet.

Der Log-Rank-Test diente zur univariaten Analyse des Einflusses der klinischen Variablen und der Markerexpression auf das PFS und OS. Für die multivariate Überlebenszeitanalyse wurde das Cox-Proportional-Hazards Modell genutzt. Nachdem mittels Cox-Regression und

anschliessender Rückwärtsselektion die signifikanten Variablen bestimmt wurden, konnte durch die Bestimmung der Hazard Ratio auch die Stärke des Zusammenhanges zwischen den Variablen und den klinischen Endpunkten ermittelt werden.

Die Ergebnisse wurden als signifikant gewertet, wenn der p-Wert kleiner oder gleich 0,05 war.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mittels SPSS (Version 20) sowie dem Paket 'survival' aus dem Programmsystem R (CRAN).

4 Ergebnisse

4.1 Beschreibung des Patientenkollektivs

Die klinischen Informationen zu den Teilnehmerinnen der Studie wurden von der ICON-7-Studie bereitgestellt. Insgesamt standen 441 Fälle von Ovarialkarzinomen und ihre zugehörigen klinischen und histologischen Informationen zur Verfügung. Das mediane Alter der Patientinnen betrug 58 Jahre (18-80 Jahre). 92,7% der Patientinnen befanden sich in einem Allgemeinzustand gemäß ECOG 0 oder 1. Bei 90,4% lag der Ursprung des Tumorgewebes im Ovar, wobei es sich in 85,9% der Fälle histologisch um seröse Karzinome handelte.

Die Mehrzahl der Patientinnen (76,3%) wies ein fortgeschrittenes Tumorstadium (FIGO IIIC und FIGO IV) auf. Postoperativ kam es bei 12,2% der Patientinnen im FIGO-Stadium I-IIIB zu einem Tumorrest von über 1cm, während im FIGO-Stadium IIIC 24,1% und im FIGO-Stadium III/IV 41,7% einen postoperativen Tumorrest von über 1cm zeigten. In insgesamt 77,8% der Fälle konnte durch die chirurgische Behandlung ein postoperativer Tumorrest von weniger als 1cm erreicht werden. Bei den meisten Tumoren (69,2%) handelte es sich um histologisch gering differenzierte Tumoren, während nur bei 4,6% der Tumoren eine gute und bei 26,3% eine mäßige Differenzierung vorlag. Insgesamt lag bei dem Patientenkollektiv in 15,9% ein Ovarialkarzinom mit einem hohen Progressionsrisiko (FIGO III/IV mit zusätzlichem postoperativen Tumorrest \geq 1cm) vor. 215 (49%) Patientinnen wurden im Rahmen der ICON-7-Studie in den Studienarm der Standardtherapie, welche aus 6 Zyklen Carboplatin und Paclitaxel besteht, randomisiert. 224 Patientinnen (51%) hingegen erhielten die Standardchemotherapie kombiniert mit Bevacizumab (5-6 Zyklen und anschließende Monotherapie für weitere 12 Zyklen) (Tabelle 8.).

4.2 Deskription der Stromamorphologie

In der Analyse der Daten, die mittels der mikroskopischen Auswertung erhoben wurden, zeigte sich, dass die meisten Gewebeproben (80,2%) eine Stromaproportion von bis zu 33% aufwiesen. Deutlich seltener (10,7%) war ein Stromaanteil von bis zu 66% und ein Stromaanteil von über 66% zu beobachten (9,1%). Zusätzlich wurde das Stroma hinsichtlich des Zellreichtums bewertet. Hierbei lag bei einem Großteil der Tumoren (75,5%) ein zellreiches Stroma vor und nur bei 1,2% ein zellarmes Stroma. Zusätzlich war überwiegend ein mäßiges lym-

phozytäres Infiltrat in den Tumoren (49,9%) zu beobachten, während 31,1% gar kein Infiltrat zeigten und 19,1% ein stark ausgeprägtes (Tabelle 9).

4.3 Deskription der Markerexpression

In der Auswertung der TMA wurde die Expression der 7 Proteine in Stromafibroblasten, Tumorzellen und anderen stromalen Kompartimenten, wie Leukozyten und Endothelzellen, beurteilt. Von den vorliegenden Gewebeproben der insgesamt 441 Patientinnen waren 439 für die Analysen auswertbar. Der aus der immunhistochemischen Färbung resultierende Allred-Score diente zur Auswertung der Markerexpression, wobei ein Score von 0 einem negativen Ergebnis entspricht. Bei einem Score von 2 bis 8 wurde die Expression als positiv gewertet. Die Intensität der Expression wurde weiter unterschieden in schwach (Allred-Score 2-4), mäßig (Allred-Score 5-6) und stark (Allred-Score 7-8) (Tabelle 10).

Die ausgewerteten TMA und die daraus erhobenen Daten ergaben, dass der Marker AKR1C1 bei 95,7% (n= 420) der Patientinnen in den CAF und ähnlich häufig in den Tumorzellen (98,1%, n= 431) exprimiert wurde. Eine starke Expression von AKR1C1 war häufiger in den Tumorzellen (90,1%; n= 395) als in den CAF (60,3%; n= 264) zu beobachten. Für die Expression in anderen stromalen Kompartimenten entsprachen die Ergebnisse denen der Expression von AKR1C1 in den Tumorzellen (Abbildung 1.). Die Expression in den Tumorzellen sowie den Fibroblasten lag cytoplasmatisch etwas häufiger vor als nukleär, kam aber jeweils in beiden Kompartimenten vor.

Für AKR1C2 hingegen zeigte sich eine häufigere Expression in den CAF (93,6%; n= 411) als in den Tumorzellen (77%; n= 338). Zusätzlich war eine starke Expression von AKR1C2 überwiegend in den CAF (73,7%; n= 324) und seltener in den Tumorzellen (49,2%; n= 216) zu beobachten. Die Expression in anderen stromalen Kompartimenten entsprach annähernd der Expression in den CAF. AKR1C2 wurde in den Tumorzellen nahezu ausschließlich cytoplasmatisch exprimiert, in den CAF hingegen lag sowohl nukleär als auch cytoplasmatisch eine Expression vor.

Die Expression von GALNT3 in den CAF (89,2%; n= 391) und in den Tumorzellen (88,7%; n= 389) zeigte sich annähernd gleich oft, wobei sich auch die Häufigkeit einer starken Expression in den beiden Kompartimenten nur geringfügig unterschied (CAF: 56,8%; n= 249, Tumorzellen: 63,4%; n= 278). In den Epithelzellen des Ovars war die Expression des Proteins gleich häufig im Cytoplasma und Nukleus zu beobachten. In den CAF hingegen war sie häu-

figer nukleär lokalisiert. Insgesamt zeigte sich die meiste Expression des Proteins (95,8%; n= 421) in den weiteren Kompartimenten des Stromas (Abbildung 2.).

Ebenfalls gleich oft, aber deutlich seltener, war die Expression von ST6GALNAC5 in den Stromafibroblasten (56,9%; n= 250) und in den Tumorzellen (59,9%; n= 263) zu beobachten. Auch bei diesem Protein war die Expression in den Tumorzellen sowohl cytoplasmatisch als auch nukleär zu beobachten, wohingegen es in den CAF überwiegend nukleär exprimiert wurde. Eine starke immunhistochemische Reaktion zeigte sich öfter in den Tumorzellen (33,3%; n=146) als in den CAF (13,6%; n= 60). Am häufigsten wurde ST6GALNAC5 in den anderen stromalen Kompartimenten (90,1%; n= 396) exprimiert.

Die Proteine GATA3 und KLF4 wurden häufig sowohl in den CAF als auch in den Tumorzellen exprimiert, während die Expression beider Proteine in den Tumorzellen insgesamt stärker war.

Es zeigte sich in weniger als 50% eine starke Expression der Proteine in den CAF, wohingegen in den Tumorzellen eine starke Expression deutlich öfter vorlag (GATA3: 65,1%; KLF4: 82,2%). Die Expression in Leukozyten und Endothelien war für KLF4 (99,5%; n= 437) und GATA3 (91,7%; n= 403) ebenfalls häufig zu beobachten. Sowohl für GATA3 als auch KLF4 war die Expression in den CAF meistens nukleär, in den Tumorzellen hingegen nukleär und cytoplasmatischen gleich häufig zu beobachten.

Ähnlich der Expression von GALNT3 und ST6GALNAC5 stellte sich die Expression von TGF- β 2 in den CAF und in den Tumorzellen gleich häufig dar (CAF: 70,8%; n= 310, Tumorzellen: 69,9%; n= 307). Ein Unterschied in der Stärke der Expression zeigte sich nicht, in beiden Kompartimenten lag eine starke Expression des Proteins bei annähernd 18% vor. Ebenfalls vergleichbar mit der Expression von GALNT3 und ST6GALNAC5 war die Expression von TGF- β 2 in den weiteren Stromakomponenten (78,1%; n= 343) am häufigsten (Tabelle 10.). Die TGF- β 2-Expression in den Tumorzellen und den CAF konnte vergleichbar häufig nukleär und cytoplasmatisch festgestellt werden.

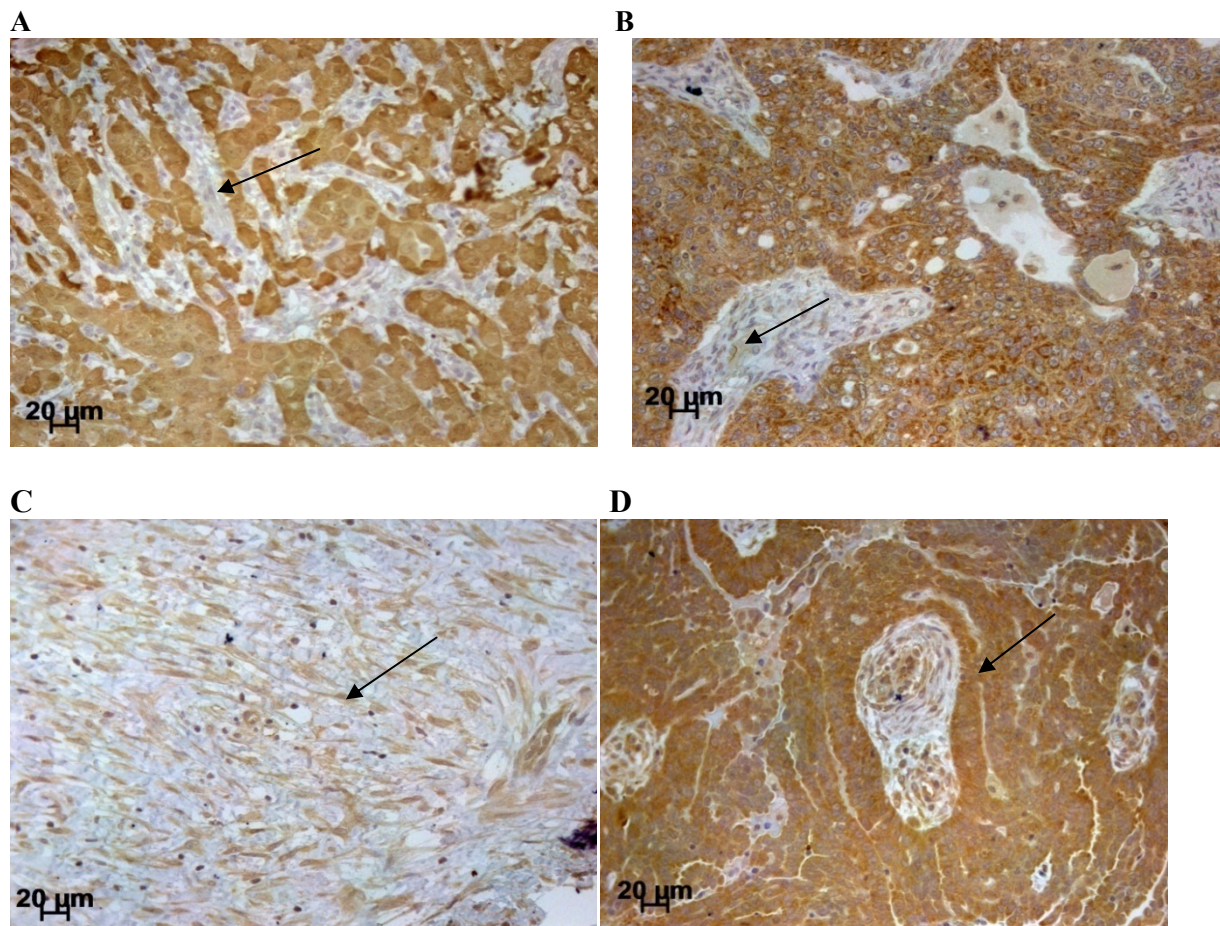


Abbildung 1 A- D: Immunhistochemische Färbung AKR1C1-positiver CAF und Tumorzellen. Negative (A), schwache (B), mäßige (C) und starke (D) Markerexpression in den CAF. Die Epithelzellen zeigten überwiegend eine starke Expression von AKR1C1 (Abbildung 1.A, B, D)

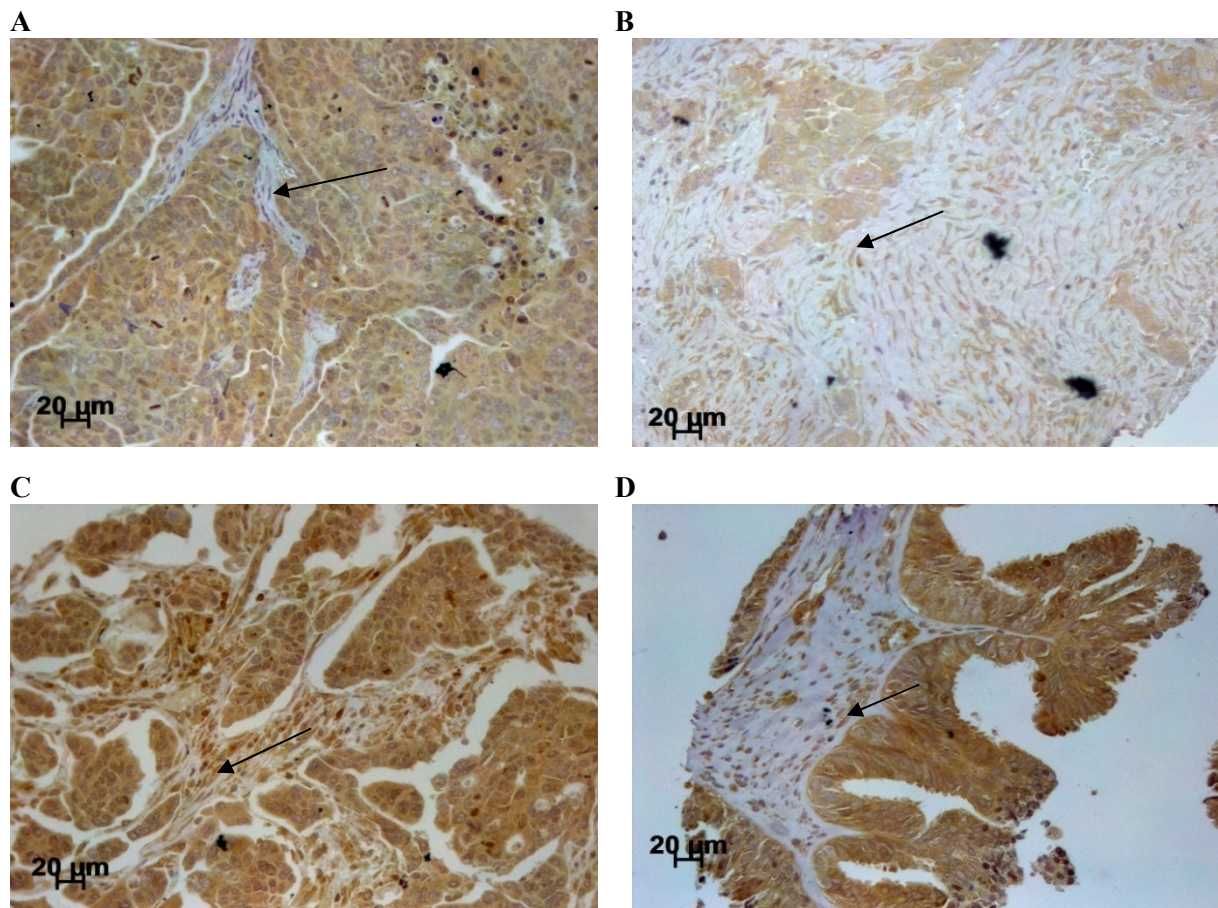


Abbildung 2 A- D: Immunhistochemische Färbung GALNT3-positiver CAF, Tumorzellen und weiteren stromalen Kompartimenten (Lymphozyten, Makrophagen, Endothelzellen).

A. GALNT3-negative CAF bei starker Expression in den Tumorzellen **B.** Mäßige Expression von GALNT3 sowohl in den CAF als auch in den Tumorzellen **C.** Starke Expression sowohl in den CAF als auch in den Tumorzellen **D.** Starke Expression in den Tumorzellen, Endothelzellen und überwiegend in den CAF

4.4 Korrelationsanalysen

In den Korrelationsanalysen wurden die ermittelten Daten hinsichtlich eines möglichen Zusammenhangs untersucht. Zum einen wurde eine mögliche Assoziation zwischen der Expression der Proteine in Stromafibroblasten mit der Expression in den Tumorzellen bestimmt. Weiterhin wurden Analysen mit dem Ziel durchgeführt, mögliche Zusammenhänge zwischen der Stromamorphologie und der Markerexpression sowohl im Stroma- als auch im Tumorgeewebe mit den klinisch-pathologischen Parametern ausfindig zu machen.

4.4.1 Korrelation der Markerexpression im Stroma mit der Markerexpression im Tumor

Mittels Kendall-Korrelationsanalysen wurde untersucht, ob eine Assoziation zwischen der Expression der Proteine in den Stromafibroblasten und in Tumorzellen besteht. Werte zwischen 0,25- 0,5 wurden als eine schwache und Werte zwischen 0,5- 0,75 als eine moderate Assoziation interpretiert. Eine starke (Werte zwischen 0,75 und <1) oder perfekte Korrelation (ermittelter Wert= 1,0) der Expressionen lag bei keiner der untersuchten Gewebeproben vor. Die Ergebnisse dieser Analysen zeigten für AKR1C1, AKR1C2, KLF4, und TGF- β 2 eine schwache und für GALNT3, GATA3 und ST6GALNAC5 eine moderate Korrelation zwischen der Proteinexpression in den Stromafibroblasten und der Expression in den Tumorzellen (Tabelle 11.).

4.4.2 Korrelation der Stromamorphologie mit klinisch-pathologischen Parametern

Durch die Korrelationsanalysen mittels Chi-Quadrat-Test konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen einem geringen Anteil an Stromagewebe und dem Ursprung des Tumorgewebes vom Eileiter nachgewiesen werden ($p= 0,008$).

Die Fallzahl der Patientinnen, bei denen der Ursprung des EOC im Eileiter nachgewiesen wurde, war insgesamt sehr gering ($n= 16$). Eine Stromaproportion von <33% (4,9%; $n= 15$) lag nur selten vor, war jedoch bei dieser Entität der EOCs die am häufigsten vorliegende Stromaproportion. Bei einem primären EOC hingegen zeigten sich häufiger auch Stromaproportionen zwischen 33% und 66% (82,9%; $n= 34$) und auch über 66% (89,4%; $n= 32$). Für Tumorgewebe mit primär peritonealem Ursprung konnte keine eindeutige Assoziation mit der Stromaproportion ermittelt werden, wobei auch in diesem Fall die Fallzahl sich lediglich auf 18 Patientinnen belief. (Tabelle 12.)

Desweiteren ließ sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Zellreichtum des Stromas und dem histologischen Subtyp feststellen ($p= 0,001$).

Ein HGSC lag in 84,6% ($n= 77$) der Gewebeproben mit mittleren Zellreichtum des Stromas und in 85,8% ($n= 283$) mit zellreichen Stroma vor. Ein zellarmes Stroma wies keines der HGSC auf.

Zudem zeigte sich eine positive Korrelation zwischen dem FIGO-Stadium und dem Zellreichtum des Stromas ($p=0,007$). Bei Vorliegen eines höheren FIGO-Stadiums lag signifikant häufiger ein zellreiches Stroma vor als bei Tumoren mit einem niedrigen FIGO-Stadium. Im FIGO-Stadium IIIC zeigte sich in 59,1% ($n=195$) ein zellreiches Stroma und in 67% ($n=61$) ein mittleres Zellreichtum des Stromas, wohingegen der größte Anteil an zellarmen Stroma in Gewebeproben des FIGO-Stadium I-IIA (60%; $n=3$) beobachtet wurde.

Zusätzlich wiesen die Analysen einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Ausmaß des lymphozytären Infiltrates und der Größe des postoperativen Tumorrestes nach ($p=0,03$). Bei einem ausgeprägten lymphozytären Infiltrat wurde durch die chirurgische Behandlung signifikant häufiger ein postoperativer Tumorrest kleiner oder gleich 1cm erreicht.

4.4.3 Korrelation der Markerexpression mit klinisch-pathologischen Parametern

4.4.3.1 Korrelation der Markerexpression im Stroma mit klinisch-pathologischen Parametern

Es wurden alle genannten Marker hinsichtlich eines Zusammenhanges ihrer Expression im Stroma mit den klinischen Variablen korreliert. Für die Expression von AKR1C2, GATA3 und TGF- β 2 zeigten sich signifikante Zusammenhänge mit einzelnen klinischen Parametern (Tabelle 13.).

Eine fehlende Expression von AKR1C2 in den CAF lag signifikant häufiger in Tumoren mit einem postoperativen Tumorrest unter 1cm (6%) vor als in den Gewebeproben mit einem postoperativen Tumorrest über oder gleich 1cm (0,2%) ($p=0,014$).

GATA3 wurde signifikant häufiger in den Stromazellen von Tumoren exprimiert, wenn ein ECOG von 0 und 1 vorlag, als bei einem ECOG von 2 (41,6%; $n=148$ / 51,7%; $n=184$ vs. 6%; $n=24$; $p=0,014$).

TGF- β 2 wurde ebenfalls bei einem ECOG von 0 und 1 deutlich öfter exprimiert als bei einem ECOG von 2 (43,3%; $n=130$ / 47%; $n=141$ vs. 9,7%; $n=29$; $p=0,028$). Zusätzlich zeigte sich für die Expression von TGF- β 2 ein Zusammenhang mit der Tumordifferenzierung sowie der Platinsensibilität. In gering differenzierten Tumoren war die Expression von TGF- β 2 im Stroma häufiger negativ als im Stroma von mäßig und gut differenzierten Tumoren (33% vs. 19%/ 27%; $p=0,03$). Bei TGF- β 2-positiven Stroma lag eine signifikant höhere Anzahl an

platinsensiblen Tumoren vor als bei den Gewebeproben mit TGF- β 2-negativen Stroma (77%; n= 138 vs. 33%; n= 41; p= 0,012).

4.4.3.2 Korrelation der Markerexpression im Tumor mit klinisch-pathologischen Parametern

Die Korrelationsanalysen der Markerexpression im Tumor mit den klinische Variablen zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Expression von GALNT3 und dem Alter, der Expression von ST6GALNAC5 und dem Differenzierungsgrad und der Platinsensibilität sowie der Expression von TGF- β 2 und der Platinsensibilität.

Das Alter von über 50-60 Jahren war mit einer höheren Expression von GALNT3 in den Tumorzellen (p= 0,038) assoziiert, wohingegen ein Alter von über 60-70 Jahren eine negative Korrelation mit der GALNT3 Expression aufwies (p= 0,038).

Die fehlende Expression von ST6GALNAC5 im Tumor war mit einem geringen Differenzierungsgrad des Tumors (p= 0,021) assoziiert. Zudem zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der Expression von ST6GALNAC5 und dem Vorliegen einer Platinresistenz. Es lag signifikant häufiger eine Platinresistenz des Tumors vor, wenn ST6GALNAC5 in den Tumorzellen exprimiert wurde (49,1%; n= 84 vs. 37,3%; n= 95; p= 0,019).

Ebenso konnte für die Expression von TGF- β 2 im Tumorgewebe ein signifikanter Zusammenhang mit der Platinsensibilität festgestellt werden. TGF- β 2 wurde signifikant häufiger bei platinsensiblen Tumoren exprimiert (45,5%; n= 135 vs. 34,4%; n= 44; p= 0,04) (Tabelle 13.).

4.5 Überlebenszeitanalysen

4.5.1 Univariate Analysen zum Gesamtüberleben (OS) und progressionsfreien Überleben (PFS)

In den univariaten Analysen zum OS und PFS wurde jeweils mittels Log-Rank-Test der Einfluss der klinisch-pathologischen Parameter, der Stromamorphologie und der Markerexpression in Stroma- und Tumorzellen sowie in anderen stromalen Kompartimenten auf das Überleben untersucht.

Die klinisch-pathologischen Variablen beeinflussten das Überleben der Patientinnen signifikant.

Ein zunehmendes Alter war mit einem abnehmenden OS ($p < 0.001$) und einem kürzeren PFS assoziiert ($p = 0,01$). In der Altersgruppe der unter 40-jährigen entsprach das PFS nach 30 Monaten dem der über 60- bis über 70-jährigen Patientinnen und lag bei 30%. Das progressionsfreie Überleben in der Altersgruppe der 40- bis 60-jährigen Patientinnen lag hingegen nach 30 Monaten bei 43% (Abbildung 3A und 4A).

Ein guter Allgemeinzustand (ECOG von 0) korrelierte mit einem höheren OS und PFS im Vergleich zu einem eingeschränkten Allgemeinzustand (ECOG von 1 oder 2) (OS: 70% vs. 50% nach 36 Monaten, $p = 0,02$; PFS: 38% vs. 28% nach 36 Monaten, $p = 0,02$) (Abbildung 3B und 4B).

Genauso zeigte sich für das FIGO-Stadium ein signifikanter Einfluss auf das Überleben. Ein fortgeschrittenes Tumorstadium (Stadium IIIC-IV) wies, gegenüber den Stadien I-IIIB, ein kürzeres OS (nach 36 Monaten 43% vs. $>90\%$, $p = 0$) und ein kürzeres PFS (nach 36 Monaten 72% vs. 21%, $p = 0$) auf (Abbildung 3C und 4C).

Ein mäßiger und geringer Differenzierungsgrad des Tumorgewebes war mit einer deutlich schlechteren Prognose für das Gesamtüberleben gegenüber einem gut differenzierten Tumorgewebe assoziiert (nach 36 Monaten 48% bzw. 58% vs. 84%, $p = 0,03$) (Abbildung 3D). Eine gute Differenzierung des Tumorgewebes zeigte ebenso ein deutlich längeres PFS gegenüber einem mäßigen und niedrigen Differenzierungsgrad (nach 36 Monaten 79% vs. 35% bzw. 21%, $p < 0,001$) (Abbildung 4D).

Die univariaten Analysen bestätigten den signifikanten Einfluss des postoperativen Tumorrestes auf das OS und PFS. Bei einem Tumorrest von über 1cm zeigte sich nach 36 Monaten eine Überlebenschance von nur 20%, wohingegen bei einem Tumorrest unter 1cm die Überlebenschance nach der gleichen Zeit 65% betrug ($p < 0,001$) (Abbildung 3E). Auch das PFS lag bei einem postoperativen Tumorrest von unter 1cm deutlich über dem für Patientinnen mit einem postoperativen Tumorrest über 1cm (nach 24 Monaten 50% vs. 20%, $p < 0,001$) (Abbildung 4E).

Hinsichtlich des Ursprungs des Tumorgewebes konnte nachgewiesen werden, dass ein primär peritonealer Tumor mit dem kürzesten OS und PFS assoziiert war gefolgt von den Tumoren, deren Ursprung im Ovar lag. Das längste OS und PFS war bei Tumoren mit Ursprung im Eileiter zu beobachten (OS: nach 36 Monaten: 41% vs. 58% vs. 70%, $p = 0,043$; PFS: nach 24 Monaten 15% vs. 40% vs. 54%, $p = 0,01$) (Abbildung 3F und 4F).

Ebenfalls zeigte sich eine signifikante Bedeutung des histologischen Subtyps für das OS und PFS. Das Vorliegen eines HGSC war, neben nicht klassifizierbaren Tumorentitäten, mit dem schlechtesten OS und PFS assoziiert, das LGSC und SBOT hingegen mit dem besten Gesamtüberleben (OS: $p < 0,001$; PFS: $p < 0,001$) (Abbildung 3G und 4G).

Die als Hochrisiko eingestuften Tumoren waren mit einem deutlich niedrigeren OS und PFS assoziiert als Tumoren, welche diese Kriterien nicht erfüllten (OS: 32% vs. 60% nach 36 Monaten, $p < 0,001$; PFS: 17% vs. 37% nach 36 Monaten, $p = 0,01$) (Abbildung 3H und 4H).

Ebenso war eine fehlende Platinsensibilität mit einem deutlich niedrigeren OS assoziiert (nach 24 Monaten 13% vs. 93%; $p < 0,001$). Die gleiche Korrelation ließ sich für den Einfluss auf das PFS nachweisen (nach 24 Monaten 0% vs. 50%; $p < 0,001$) (Abbildung 3I und 4I).

Der positive Effekt auf die Gesamtüberlebenschance durch die Studienmedikation im Rahmen der ICON 7-Studie konnte in den durchgeführten Analysen bestätigt werden (60% vs. 50% nach 36 Monaten, $p = 0,014$) (Abbildung 3J). Eine Überlegenheit der Studienmedikation gegenüber der Standardchemotherapie bezüglich des PFS zeigte sich am deutlichsten im Zeitraum zwischen 8 und 24 Monaten ($p = 0,01$) (Abbildung 4J).

Die Analysen zum Einfluss des Stromaanteils, des Zellreichtums und der Stromainfiltration auf das OS und PFS ergaben einen positiven Trend für einen Stromaanteil unter 33% und einem Vorliegen von zellarmen Stroma für das PFS (Abbildung 3K und 4L). Das Fehlen eines lymphozytären Infiltrates im Stroma hingegen zeigte einen negativen Trend hinsichtlich des PFS (Abbildung 4M). Ein zellarmes Stroma war mit einem positiven Trend für das Gesamtüberleben verbunden (Abbildung 3K). Diese Ergebnisse waren nicht signifikant (OS: $p = 0,97$; PFS: $p = 0,21$).

Die Expression von AKR1C1 im Stroma war mit einem statistisch nicht signifikanten, positiven Trend für das Überleben assoziiert (OS: $p = 0,74$; PFS: $p = 0,18$) (Abbildung 3N und 4N). Die Expression der übrigen Marker in den Stromafibroblasten, Tumorzellen und in den weiteren stromalen Kompartimenten zeigten keinen Einfluss auf das OS. Für das PFS zeigte zudem die fehlende Expression von TGF- β 2 in Tumorzellen einen Trend zu einem längeren PFS nach 24 Monaten, wobei auch dieses Ergebnis nicht signifikant war ($p = 0,21$) (Abbildung 4O).

4.5.2 Multivariate Analyse zum Gesamtüberleben (OS) und progressionsfreien Überleben (PFS)

In den multivariaten Analysen wurden mittels der Cox-Analyse und dem Proportionalen Hazard Modell ermittelt, welche histologischen und klinisch-pathologischen Marker einen unabhängigen Einfluss auf das OS und PFS haben.

Für die Analysen zum OS zeigte sich, dass die Expression der Marker, sowohl im Tumor als auch im Stroma, keine prädiktiven Variablen darstellen. Im Rahmen der Rückwärtsselektion, bei welcher ein p-Wert von $<0,05$ die Obergrenze darstellte, wurden folgende Faktoren für die weiteren Analysen zum OS berücksichtigt: physischer Zustand, FIGO-Stadium, histologischer Subtyp, postoperativer Tumorrest und die Art der Therapie.

Hiervon wurden folgende klinische Variablen letztlich als unabhängige prognostische Faktoren für das OS identifiziert: der physische Zustand (ECOG 0 vs.1 bzw. 2) mit einer HR von 1,98 ($p= 0,001$), das FIGO-Stadium I-IIA vs. IIIC-IV mit einer HR von 0,19 ($p= 0,02$) und FIGO-Stadium IIB-IIIB vs. IIIC-IV mit einer HR von 0,21 ($p= < 0,001$), der histologische Subtyp (nicht klassifizierbare Tumoren vs. HGSC) mit einer HR von 5,12 ($p= < 0,001$) der postoperative Tumorrest (≥ 1 cm vs. < 1 cm) mit einer HR von 2,1 ($p < 0,001$) und die Art der Therapie (CTX+ Bevacizumab vs. CTX) mit einer HR von 0,6 ($p= 0,008$) (Tabelle 7).

Bei den multivariaten Analysen zum PFS hingegen konnten, zusätzlich zu den klinischen Variablen, die Expression von AKR1C1 und GALNT3 im Stroma als unabhängige prognostische Faktoren identifiziert werden. Für die Expression von AKR1C1 (negativ vs. starke Expression) konnte ein HR von 2 ($p= 0,036$) ermittelt werden, so dass die fehlende Expression von AKR1C1 im Stroma mit einem kürzeren PFS assoziiert ist. Die HR für die Expression von GALNT3 (negativ vs. starke Expression) betrug 0,61 ($p= 0,043$) und legt somit nahe, dass die fehlende Expression von GALNT3 einen günstigen Effekt für das PFS hat.

Die klinisch-pathologischen Variablen, welche einen relevanten Einfluss auf das OS hatten, konnten ebenfalls als unabhängige prognostische Faktoren für das PFS ermittelt werden. Das Vorliegen eines physischen Zustand nach ECOG von 1 oder 2 zeigte einen negativen Einfluss auf das PFS gegenüber einem ECOG von 0 (HR: 1,59, $p= 0,001$). Auch das FIGO-Stadium konnte erneut als unabhängiger prognostischer Faktor identifiziert werden. Das Stadium I-IIA wies ein längeres PFS gegenüber einem Stadium IIIC-IV auf (HR: 0,31; $p= 0,001$). Desweiteren wurde das PFS durch das Vorliegen des FIGO-Stadiums IIB-IIIB positiv beeinflusst gegenüber dem FIGO-Stadium IIIC-IV (HR: 0,25; $p < 0,001$). Zusätzlich zeigte das Vorliegen

des histologischen Subtypes eines nicht klassifizierbaren Tumors ein höheres Risiko für einen Krankheitsprogress gegenüber dem Vorliegen eines HGSC (HR: 3,17; $p=0,001$). Der histologische Subtyp des SBOT war im Vergleich zu dem HGSC mit einem längeren PFS assoziiert (HR: 0,14; $p=0,005$).

Ferner besaßen sowohl der postoperative Tumorrest von unter 1cm (HR: 1,88; $p<0,001$) als auch die Kombination der Standard-Chemotherapie mit Bevacizumab (HR: 0,56; $p<0,001$) einen positiven Einfluss auf das PFS.

Tabelle 7: Multivariate Analysen zu OS und PFS.

Variable	Hazard Ratio	95%-Konfidenzintervall	p- Wert
OS			
ECOG			
1/2vs. 0	1,98	1,32-2,97	0,001
FIGO			
I-IIA vs. IIIC-IV	0,19	0,04-0,79	0,022
IIB-IIIB vs. IIIC-IV	0,21	0,09-0,48	< 0,001
Histologie			
unklassifizierbar vs. HGSC	5,12	2,19-11,98	< 0,001
Postop. Tumorrest			
>/= 1cm vs. < 1cm	2,11	1,4-3,18	< 0,001
Therapie			
CTX+ Bev.* vs. CTX	0,6	0,41-0,88	0,008
PFS			
AKR1C1 Expression Stroma			
negativ vs. stark	2	1,05- 3,81	0,036
GALNT3 Expression Stroma			

Variable	Hazard Ratio	95%-Konfidenzintervall	p- Wert
Negativ vs. stark	0,61	0,38- 0,98	0,043
ECOG			
1/ 2 vs. 0	1,51	1,17- 1,95	< 0,001
FIGO			
I-IIA vs. IIIC-IV	0,29	0,14- 0,60	< 0,001
IIB-IIIB vs. IIIC-IV	0,25	0,15- 0,41	< 0,001
Histologie			
SBOT vs. HGSC	0,14	0,03- 0,56	0,005
unklassifizierbar vs. HGSC	3,18	1,72- 5,88	< 0,001
Postop. Tumorrest			
>/= 1cm vs. < 1cm	1,91	1,45- 2,52	< 0,001
Therapie			
CTX+ Bev.* vs. CTX	0,59	0,46- 0,76	< 0,001

*CTX+ Bev.: Studientherapie (Standard-Chemotherapie+ Bevacizumab)

5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Expression einzelner Proteine im Stroma- sowie im Tumorgewebe des EOC hinsichtlich ihrer Relevanz für das Gesamtüberleben und progressionsfreie Überleben untersucht. Zusätzlich wurde überprüft, welche Bedeutung die Morphologie des tumorassoziierten Stromas für das Überleben hat. Hierbei deuten die Ergebnisse auf einen Zusammenhang zwischen der Größe des Stromaanteils sowie dem Zellreichtum des Stromas und dem Überleben hin. Desweiteren wurde die stromale Expression von AKR1C1 und GALNT3 als unabhängiger prognostischer Faktor für das PFS ermittelt.

Zusätzlich konnte die Relevanz der bereits bekannten Prognosefaktoren (Alter, physischer Zustand, FIGO-Stadium, Tumorgrading, Ursprung des Tumorgewebes, histologischer Subtyp, Erfolg der zytoreduktiven Operation, sowie die Art der Chemotherapie und die Platinsensibilität) für das Überleben bestätigt werden.

Ergänzend zu den Analysen zum PFS und OS wurden Analysen zur Dauer des progressionsfreien Intervalls (PFI) und Überlebensdauer nach Progression (PPS) sowie die Stratifizierung der Daten nach Erhalt der Studienmedikation im Rahmen der ICON-7-Studie durchgeführt. Hierbei ergab sich keine prognostische Relevanz durch die Expression der untersuchten Proteine, so dass auf die Darstellung der Ergebnisse im Rahmen dieser Arbeit verzichtet wurde.

Im Vordergrund dieser Arbeit stand es die Stromamorphologie beim EOC systematisch zu charakterisieren und den Einfluss des tumorassoziierten Stromas auf die Prognose des EOC näher zu untersuchen. Hierzu wurden Kandidatenproteine (AKR1C1, AKR1C2, GALNT3, GATA3, KLF-4, ST6GALNAC5, TGF- β 2) in Tumor- und Stromazellen bezüglich ihres Einflusses auf das Überleben analysiert.

Die Tumorforschung konzentrierte sich bis vor einigen Jahren hauptsächlich auf die genetischen und regulativen Veränderungen, die in den Tumorzellen selbst vorliegen. Neuere Forschungsergebnisse ergaben, dass wechselseitige Interaktionen zwischen Tumor- und umliegenden Stromagewebe stattfinden, welche wiederum die Karzinomentstehung, die Tumordprogression und die Entstehung von Metastasen begünstigen können (Polanska and Orimo 2013, Marsh, Pietras, and McAllister 2013, Kalluri and Zeisberg 2006). Zudem gewinnt die zielgerichtete Pharmatherapie des tumorassoziierten Stromas zunehmend an Bedeutung in der Behandlung von Karzinomen (Zhang et al. 2015, Hanahan and Weinberg 2011, Togo et al. 2013).

Beim Ovarialkarzinom ist der Zusammenhang zwischen stromalen Faktoren und dem Tumorwachstum sowie der Prognose der Erkrankung bisher wenig erforscht. Es gelang jedoch *in vitro* bereits der Nachweis, dass die Interaktion der CAF mit den Tumorzellen auch beim EOC von Bedeutung für die Tumorprogression ist. Es zeigte sich, dass CAF des tumorassoziierten Stromas in der Lage sind, *in vitro* die Tumorprogression des EOC zu unterstützen (Fu et al. 2013b). Eine Bestätigung dieser Ergebnisse *in vivo* wurde bisher nicht durchgeführt. Desweiteren konnte die Expression einzelner Gene (EGR1, FOSB) in den CAF des EOC mit einem kürzeren PFS in Zusammenhang gebracht werden (Kataoka et al. 2012) und ein hoher Stromaanteil wurde bereits als ein unabhängiger prognostischer Faktor für das Ovarialkarzinom im Stadium FIGO III- IV identifiziert (Labiche u. a. 2010).

Im Gegensatz zum EOC wurde die Relevanz des Stromas für Tumorprogression, Überleben und Therapie des Mammakarzinoms bereits ausführlicher untersucht. Hierbei zeigte sich, dass die NF (normalen Fibroblasten) eine Tumorprogression supprimieren (Kamiya et al. 1995), wohingegen eine veränderte Genexpression in den CAF (Bauer et al. 2010A, Finak et al. 2008b) und damit verbundene, alterierte Interaktionen mit den Tumorzellen die Tumorprogression unterstützen und fördern (Erickson and Barcellos- Hoff, 2003). Das tumorassoziierte Stroma beim Mammakarzinom stimuliert Tumorinitiation, Tumorprogression und Metastasenbildung (Hasebe et al. 2001) und induziert eine Therapieresistenz (Loeffler et al. 2006, Martinez-Outschoorn et al. 2011).

Vergleichbare Ergebnisse ergaben Untersuchungen zur Bedeutung des Stromas für die Entstehung und den Progress des Pankreas- (Feig et al. 2012) und Prostatakarzinoms (Giannoni et al. 2010).

Die Bedeutung von Veränderungen der Proteinexpression in den CAF des EOC und deren Relevanz für die Prognose ist, im Vergleich zu den Erkenntnissen beim Mamma- und Pankreaskarzinom, derzeit noch mangelhaft geklärt. Die Studien befassten sich überwiegend mit kleinen Fallzahlen, inhomogenen Kollektiven und waren nur unzureichend systematisch. Es zeigte sich jedoch, dass die CAF beim EOC ebenfalls eine Bedeutung für die Tumorgenese haben (Zhang et al. 2011b) und die Invasion und Adhäsion von Tumorzellen des EOC unterstützen (Cai et al. 2012). Bei den in dieser Arbeit untersuchten Proteinen wurde bereits eine veränderte Expression in den CAF im Vergleich zu den NF beim Mammakarzinom beobachtet. Sie wurden als Einflussgrößen für das Tumorwachstum identifiziert (Bauer et al. 2010a). Diese Erkenntnisse gaben den Anlass, die Bedeutung der CAF und die Kandidatenproteine

beim EOC im Rahmen dieser Arbeit näher zu untersuchen, insbesondere da die Relevanz des Stromas für die Progression und Therapie des Mamma- und Pankreaskarzinoms bereits erwiesen ist.

Die durchgeführten Analysen basierten auf Daten von Teilnehmerinnen der ICON-7-Studie, welche an der Substudie zur histopathologischen standardisierten Zweitbegutachtung teilnahmen (AGO-Ovar-11t-Histo). Bei den Teilnehmerinnen der ICON-7-Studie handelt es sich um ein homogenes Kollektiv an Patientinnen mit fortgeschrittenen EOC. Alle Teilnehmerinnen erhielten im Anschluss an die operative Behandlung eine standardisierte Chemotherapie, sodass eine gute Vergleichbarkeit der klinischen Endpunkte gegeben ist. Dadurch, dass die Patientinnen zusätzlich Teilnehmerinnen der Substudie waren, wurden eventuell primär entstandene Fehldiagnosen bezüglich der histologischen Tumorcharakteristika korrigiert. Die Größe des untersuchten Kollektivs stellt einen weiteren Vorteil hinsichtlich der Signifikanz der Ergebnisse dar. Die bisherigen Studien, welche die Bedeutung des tumorassoziierten Stromas beim EOC untersuchten, besaßen deutlich geringere Fallzahlen.

Die untersuchten Gewebeproben lagen in Form von Tissue Micro Arrays (TMA) vor. Dies ermöglichte eine hohe Anzahl an Proben unter konstanten Bedingungen zu färben und somit mögliche Fehlerquellen bei der Auswertung zu vermeiden. TMA bergen die Gefahr, das Gewebe nicht ausreichend zu repräsentieren, da sie nur einen kleinen Ausschnitt des Ursprungsgewebes darstellen. Es zeigte sich jedoch, dass TMA suffizient das Gewebe von Karzinomen im Kopf-Hals-Bereich (Peters et al. 2004) sowie vom Mammakarzinom (Ruiz et al. 2006) repräsentieren. Zusätzlich gelang es durchaus auch Vorteile der Auswertung von TMA gegenüber der von größeren Schnitten festzustellen. Torhorst et al. zeigten anhand von Untersuchungen zur Relevanz von p53 für die Prognose des Mammakarzinoms, dass die Ergebnisse bei der Auswertung von größeren Schnitten im Vergleich zu der Auswertung von TMA anfälliger für Störfaktoren wie Artefakte und irrelevante Subpopulationen waren. Desweiteren lagen bei den hier untersuchten TMA immer zwei Spots von einer Gewebeprobe pro Objektträger vor, so dass von einer größeren Repräsentanz des Gewebes ausgegangen werden kann.

Die Beurteilung des Stromaanteils und der Stromamorphologie anhand der TMA ist jedoch, aufgrund des nur kleinen Ausschnittes aus dem zu beurteilenden Tumorgewebe, als nicht sicher repräsentativ für den vollständigen Tumor anzusehen. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass aus einem grösseren Ausschnitt des jeweiligen Gewebes ein abweichendes Er-

gebnis resultiert hätte. Die in der vorliegenden Studie festgestellten Ergebnisse sollten somit mit Vorsicht interpretiert werden.

Die Beurteilung der Stromamorphologie ergab, dass in der Mehrzahl der untersuchten Gewebeproben eine geringe Stromaproportion vorlag. Hierbei präsentierte sich das Stroma am häufigsten zellreich und wies überwiegend ein mäßiges lymphozytäres Infiltrat auf. In vorangegangenen Publikationen über die Bedeutung des Stromas beim EOC wurde festgestellt, dass eine hohe Stromaproportion mit einem negativen Einfluss auf das PFS und OS assoziiert ist (Chen et al. 2015; Labiche et al. 2010c) und ein zellreiches Stroma vorwiegend bei fortgeschrittenen Tumorstadien vorliegt (Chen et al. 2015). Die Ergebnisse bezüglich der Bedeutung der Stromaproportion und des Zellreichtums des Stromas im Rahmen der vorliegenden Studie ergaben ebenfalls den Trend zu einem kürzeren PFS beim Vorliegen eines hohen Stromaanteils und auch das Zellreichtum des Stromas zeigte einen negativen Trend für das OS und PFS (Abb. 2K-M; 1K). Trotz der fehlenden statistischen Signifikanz der Ergebnisse sind diese mit der aktuellen Studienlage gut zu vereinbaren. Ebenfalls die bereits von Chen et al. beschriebene Assoziation zwischen einem fortgeschrittenen Tumorstadium und dem Zellreichtum des Stromas bestätigte sich in der vorliegenden Studie (Tabelle 12.).

Desweiteren konnte nachgewiesen werden, dass bei dem untersuchten Patientenkollektiv ein zellreiches Stroma am häufigsten bei dem histologischen Subtyp eines HGSC vorliegt, wobei die multivariaten Analysen das HGSC als unabhängigen prognostischen Faktor für das OS und PFS identifizierte (Tabelle 7.). Diese Ergebnisse korrelieren mit der Erkenntnis von Hannibal et al. 2012. Auch in ihrer Arbeit gelang der Nachweis eines Zusammenhanges zwischen dem histologischen Subtyp des HGSC und einem kürzeren OS und PFS. Unter der Berücksichtigung der Erkenntnisse von Chen et al. und dem in der vorliegenden Arbeit festgestellten positiven Trend für ein längeres PFS und OS bei zellarmen Stroma, lässt vermuten, dass das Zellreichtum des Stromas die prognostische Relevanz des HGSC beeinflusst. Eine mögliche Erklärung wäre, dass bei einem zellreichen Stroma, welches häufig bei einem HGSC vorliegt, verhältnismäßig viele aktivierte CAF vorliegen. Diese begünstigen durch die Freisetzung von Chemokinen (z.B. SDF-1 α , Interleukin-1), Proteasen und anderen löslichen Faktoren wie Urokinase-Typ Plasminogenaktivator die Invasion, Migration und Angiogenese des Tumors (Schauer et al. 2011) und könnten somit die Prognose des Tumors erheblich beeinflussen.

Das lymphozytäre Infiltrat im Tumorgewebe wurde in verschiedenen wissenschaftlichen Arbeiten untersucht und wird als eine körpereigene Immunreaktion gegen Tumorantigene ge-

deutet (Pagès et al. 2010). Bei verschiedenen Tumorentitäten wie unter anderem dem Endometriumkarzinom (Kondratiev et al. 2004), dem Kolorektalkarzinom (Deschoolmeester et al. 2010; Pagès et al. 2010) und dem Mammakarzinom (Shuzhen Liu et al. 2012, Ohtani et al. 2015) zeigte sich, dass das Vorliegen von intratumoralen Lymphozyten mit einem längeren Gesamtüberleben assoziiert ist. Auch für ein lymphozytäres Infiltrat im Tumorgewebe des Ovarialkarzinoms konnte bereits in einigen Studien ein prognostischer Benefit nachgewiesen werden (Zhang et al. 2015; Bachmayr-Heyda et al. 2013; Wouters et al. 2016).

Die Studien zur Bedeutung des lymphozytären Infiltrates für die Prognose beim EOC sind, im Vergleich zu der Bedeutung für die die Prognose von anderen Tumoren, deutlich weniger untersucht worden. Dies wurde zum Anlass genommen, diesen Zusammenhang für das EOC in dieser Studie näher zu untersuchen. Es zeigte sich, dass ein postoperativer Tumorrest von über 1cm mit einem geringen lymphozytären Infiltrat ($p=0,03$) assoziiert ist. Zusätzlich zeigte sich in den univariaten Analysen der Trend, dass ein lymphozytäres Infiltrat im Stomageewebe des EOC einen positiven Effekt auf das PFS hat. Dieses Ergebnis war statistisch nicht signifikant und bestätigte sich nicht in den multivariaten Analysen. Es ergibt sich hieraus aber durchaus die Annahme, dass ein möglicher Benefit durch ein lymphozytäres Infiltrat beim EOC für das OS und PFS besteht. Diese Ergebnisse sind gut mit der Erkenntnis vereinbar, dass ein lymphozytäres Infiltrat die körpereigene Abwehr gegen Tumorantigene darstellt und somit in fortgeschritteneren Tumorstadien ein geringeres lymphozytäres Infiltrat vorliegt.

In den bisher veröffentlichten Studien zur Relevanz des lymphozytären Infiltrates in tumorassoziierten Gewebe wurde gezeigt, dass der positive Effekt des Infiltrates auch abhängig von dem Zelltyp ist (Karapetsas et al. 2015; Bachmayr-Heyda et al. 2013; Abiko et al. 2015; Fridman et al. 2011). Da eine genauere Differenzierung der Lymphozyten in der vorliegenden Arbeit nicht vorgenommen wurde, ist dies für genauere Aussagen über den Einfluss der Lymphozyteninfiltration im Stroma des EOC auf die Prognose noch ausstehend.

Hinsichtlich der Expression der untersuchten Proteine im Stroma sowie den Tumorzellen war diese in den meisten Fällen gleich häufig zu beobachten. Lediglich für AKR1C2 war die Expression in den Stromazellen deutlich häufiger zu beobachten als in den Tumorzellen (93,6% vs. 77%). Für KLF4 hingegen zeigte sich eine etwas höhere Expression in den Tumorzellen als in den CAF (98,6% vs. 91,3%). Im Vergleich mit der Häufigkeit der Expression von den übrigen Markern wurde ST6GALNAC5 am seltensten in den Tumorzellen sowie in den CAF

exprimiert. Auch für dieses Protein ließ sich kein Unterschied zwischen der Häufigkeit der Expression in den CAF und Tumorzellen feststellen (56,9% vs. 59,9%).

Bei AKR1C1 handelt es sich um ein Enzym, welches am Progesteronstoffwechsel beteiligt ist. Es inaktiviert Progesteron zu Hydroxyprogesteron (Penning et al. 2000). In der aktuellen Studie wurde AKR1C1 sowohl in den CAF (95,7%) als auch in den Tumorzellen (98,1%) häufig exprimiert. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen der Expression des Proteins mit den einzelnen klinischen Parametern. In den univariaten Analysen zeigte sich ein positiver Trend für das OS und PFS bei stärkerer Expression von AKR1C1 in den Stromazellen. Darüber hinaus konnte in den multivariaten Analysen die Expression im Stroma als prognostisch unabhängiger Faktor für das PFS ermittelt werden. Eine fehlende Expression von AKR1C1 war mit einem signifikant kürzeren PFS assoziiert (HR: 2; $p=0,036$). Eine mögliche Erklärung für den Einfluss der fehlenden Expression von AKR1C1 in den CAF auf das PFS des EOC ist, dass hieraus ein verminderter Abbau von Progesteron zu 20-alpha Hydroxyprogesteron im Tumorgewebe resultiert. Somit kommt es zu einem erhöhten intratumoralen Progesteronspiegel, welcher wiederum zu einer erhöhten Expression von „A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin motifs“ (ADAMTS1) führt (Lima, Silva, and Freitas 2016). Eine weitere Studie zeigte, dass ADAMTS1 beim Ovarialkarzinom höher exprimiert wird, als in normalen Ovargewebe und über verschiedene Mechanismen die Tumorzellproliferation, die Inhibierung der Apoptose und die Angiogenese und somit den Tumorprogress begünstigt (de Arao Tan, Ricciardelli and Russell 2013). Für die Expression von AKR1C1 in den Tumorzellen konnte hingegen keine statistisch signifikante Assoziation mit dem Überleben nachgewiesen werden.

Im Gegensatz zu den Erkenntnissen dieser Studie gelang es Wenners et al. 2015 nachzuweisen, dass die Expression von AKR1C1 in den Tumorzellen des Mammakarzinoms mit einem längeren OS und PFS assoziiert ist. Der im Rahmen dieser Arbeit festgestellte Zusammenhang zwischen der Expression von AKR1C1 in den CAF des EOC und dem PFS wurde jedoch für das Mammakarzinom noch nicht bestätigt. Es gelang aber bereits eine geringere Expression von AKR1C1 in den CAF im Vergleich zu der Expression in NF auch beim Mammakarzinom festzustellen (Bauer et al. 2010a) und dies mit einer möglichen Beeinflussung des hormonellen Milieus in Zusammenhang zu bringen. Der Nachweis einer relevanten Beeinflussung der Prognose des Mammakarzinoms durch die Expression von AKR1C1 in den CAF blieb jedoch bisher aus.

Deng et al. 2002 beschäftigten sich unter anderem mit der Expression von AKR1C1 in den Tumorzellen des EOC. Sie wiesen in vitro eine erhöhte Expression und Aktivität von AKR1C1 in Tumorzellen des platinresistenten EOC nach. Die in dieser Arbeit erhobenen Daten geben hingegen keinen Hinweis dafür, dass die Expression von AKR1C1 in Zusammenhang mit der Platinresistenz steht (Tabelle 13). Im Gegensatz zu der Arbeit von Deng et al. zeigte sich auch keine Korrelation der Expression in den Tumorzellen und dem Überleben, wovon bei einem Zusammenhang mit der Platinresistenz auszugehen gewesen wäre. Der in vitro festgestellte Zusammenhang der Expression von AKR1C1 und der Platinresistenz ließ sich in der vorliegenden Arbeit somit nicht bestätigen.

Unter Berücksichtigung der aktuellen Studienlage und den Ergebnissen dieser Arbeit scheint die Bedeutung der AKR1C1-Expression somit bei unterschiedlichen Tumorentitäten von der Expression in den verschiedenen Kompartimenten abhängig zu sein. Hierbei kommt der Expression in den CAF des EOC anscheinend eine größere Bedeutung für das PFS zu als beim Mammakarzinom.

Im Gegensatz zu AKR1C1 wurde AKR1C2 häufiger in den CAF (93%) als in den Tumorzellen (77%) des EOC exprimiert. AKR1C2 gehört ebenfalls zur Superfamilie der Alpha-Ketoreduktasen und ist somit an der Modulation des Progesteronstoffwechsels beteiligt. Es wird hauptsächlich im Gewebe der Prostata und der Mamma exprimiert. Die Expression in den CAF war häufiger bei einem postoperativen Tumorrestes von $>1\text{cm}$ ($p=0,014$) zu beobachten. In den uni- und multivariaten Analysen zeigte sich jedoch keine Bedeutung der Expression von AKR1C2 für das OS und PFS.

Die Expression von AKR1C2 in Epithelzellen des Mammakarzinoms wurde bereits untersucht und ergab, dass die Expression in den Tumorzellen gegenüber den gesunden Epithelzellen verringert ist (Lewis, Wiebe, and Heathcote 2004). Entsprechendes konnte in der Arbeit von Bauer et al 2010 für die CAF nachgewiesen werden. Wenners et al. 2015 untersuchten die Expression des Proteins in den CAF des Mammakarzinoms hinsichtlich ihrer Bedeutung für das OS und PFS und kamen zu dem Ergebnis, dass die Expression sowohl in Tumorzellen als auch in CAF mit einem längeren OS und PFS korreliert. Zusätzlich konnte eine Assoziation zwischen dem Vorliegen von günstigen Tumorcharakteristika und der Expression in den Tumorzellen und den CAF nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der Expression von AKR1C2 beim EOC hingegen zeigten eine signifikant häufigere Expression bei Tumoren, bei denen keine ausreichende zytoreduktive Operation möglich war ($p=0,014$). Zusätzlich zeigte

sich tendenziell deutlich häufiger eine Expression des Proteins beim Vorhandensein von ungünstigen Tumorcharakteristika (HGSC, FIGO-Stadium >II, geringer Differenzierungsgrad) (Tabelle 13.).

Die Bedeutung der Expression von AKR1C2 scheint somit für die Prognose des EOC deutlich weniger Relevanz zu besitzen als für das Mammakarzinom. Zudem zeigten sich Hinweise, dass die Expression in den CAF des EOC, im Gegensatz zu der Expression in den CAF beim Mammakarzinom, mit ungünstigen Tumorcharakteristika assoziiert ist, wobei dies ohne signifikanten Einfluss für die Prognose zu bleiben scheint.

Desweiteren wurde in der vorliegenden Arbeit die Expression von GALNT3 sowohl in den CAF (89,2%) als auch in Tumorzellen (88,7%) des EOC häufig nachgewiesen. GALNT3 ist durch O-Glykosylierung an der Biosynthese von Oligosacchariden beteiligt und besitzt durch die Glykosylierung unterschiedlichster Proteine wie z.B. Mucin Einfluss auf die Tumorgenese. Eine veränderte DNA-Methylierung bei der GALNT3-Expression und damit verbundene aberrante Glykosylierung von Mucin-1 konnte bereits in Zusammenhang mit Wachstum, Invasion und Metastasierung von Karzinomzellen gebracht werden (Madsen et al. 2012). In den multivariaten Analysen zum PFS konnte die Expression von GALNT3 in den CAF als unabhängiger prognostischer Faktor identifiziert werden. Eine fehlende GALNT3-Expression im Stroma zeigte einen positiven Einfluss auf das PFS (HR: 0,61; p= 0,043).

In den bisherigen Untersuchungen der GALNT3-Expression beim EOC wurde die Expression des Proteins in den Tumorzellen analysiert. Hierbei wurde ebenfalls ein Zusammenhang zwischen einer hohen Expression des Proteins und einer schlechteren Prognose festgestellt. Es konnte in vitro eine Assoziation mit Tumorzellproliferation, Invasion und Metastasierung nachgewiesen werden (Wang et al. 2014). Dies wird durch die vermehrte Expression von Zelladhäsionsproteinen erklärt, welche durch die veränderte Glykosylierung des MUC-1-Proteins durch GALNT3 zustande kommt (GALNT3-MUC1-Achse) (Sellers et al. 2008). In den hier durchgeführten Analysen zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der Expression des Proteins in den Tumorzellen und der Prognose. Möglicherweise beruht dies auf der fehlenden Differenzierung zwischen einer erhöhten Expression und normalen Expression des Proteins im gesunden Ovargewebe, welche im Rahmen dieser Arbeit nicht vorgenommen wurde.

Die nachgewiesene Relevanz der Expression von GALNT3 in den CAF für die Prognose des EOC lässt vermuten, dass Veränderungen der Glykosylierung von Proteinen auch im tumoras-

soziierten Stroma von Bedeutung für den Tumorprogress sind. Aktuell sind die genauen Mechanismen, welche durch die stromale Expression von GALNT3 beeinflusst werden, noch ungeklärt. Die in dieser Studie festgestellte Relevanz der Expression von GALNT3 für das PFS gibt den Anlass für weitere Untersuchungen, in denen die Expression von GALNT3 und deren Einfluss auf das tumorassoziierte Stroma genauer analysiert werden.

Der Transkriptionsfaktor GATA3 konnte für Urothel- und Brustgewebe bereits als Immunmarker identifiziert werden (Haiyan Liu et al. 2012). Unter Hinzuziehung weiterer biochemischer Marker ist anhand der Expression von GATA3 eine Abgrenzung von Metastasen des Mammakarzinoms gegenüber Metastasen anderen Ursprunges möglich (Clark et al. 2014; Lew et al. 2015). Zudem wird die Entwicklung von T- und NK-Zellen im Thymus durch GATA3 reguliert (Hosoya et al. 2009; Information et al. 1996).

Die mikroskopische Auswertung der untersuchten TMA ergab, dass die Expression von GATA3 bei 84,8% der Gewebeproben in den CAF und bei 88,8% in den Tumorzellen vorlag. In den uni- und multivariaten Überlebensanalysen konnte kein unabhängiger Einfluss der GATA3-Expression weder im Tumor noch im Stroma des EOC auf das PFS und OS nachgewiesen werden.

Die Expression von GATA3 beim Ovarialkarzinom wurde bislang nur in wenigen Studien untersucht. Es gelang Eshiba et al. 2009, die Expression in einem überwiegenden Teil von benignen Brenntumoren sowie transitionalzelligen Karzinomen des Ovars nachzuweisen. Eine Expression von GATA3 in malignen Brenntumoren hingegen lag nicht vor. Es zeigte sich, dass die Expression von GATA3 zur Differentialdiagnose von Metastasen eines östrogenrezeptor-positiven Mammakarzinoms und sogar zur Abgrenzung gegenüber Metastasen des Ovarialkarzinoms herangezogen werden kann, da die Expression von GATA3 in Zellen von Ovarialkarzinomen nicht nachzuweisen war (Braxton, Cohen, and Siddiqui 2015; Defteros et al. 2015; Espinosa et al. 2015).

In der Studie von Defteros et al. wurden metastasierte östrogenrezeptor-positive Ovarialkarzinome hinsichtlich ihrer Expression von GATA3 untersucht, wobei in keinem der Fälle das Protein nachgewiesen werden konnte. Die Studie untersuchte jedoch keine östrogenrezeptornegativen EOCs und die Fallzahl der untersuchten Ovarialkarzinome war sehr klein. Auch in der Studie von Espinosa et al. 2015 wurde keine GATA3-Expression in Zellen von Ovarialkarzinomen nachgewiesen, wobei ebenfalls nur eine kleine Fallzahl untersucht wurde. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen im Vergleich zu den Ergebnissen der bisherigen Studien eine

deutliche Expression von GATA3 sowohl in den CAF als auch in den Tumorzellen des EOC. Eine mögliche Ursache für diese Diskrepanz stellen hierbei die bisherigen niedrigen Fallzahlen und die teils spezifische Selektion von östrogenrezeptor-positiven EOC dar.

Der Zusammenhang zwischen der Expression von GATA3 in Tumorzellen des Mammakarzinoms und einer günstigen Prognose (Chou et al. 2013; Gonzalez et al. 2013) ließ sich durch die durchgeführten Analysen für das Ovarialkarzinom nicht bestätigen, sodass davon auszugehen ist, dass die prognostische Bedeutung der Expression von GATA3 für das EOC zu vernachlässigen ist.

Bei TGF- β 2 handelt es sich um ein transmembranös lokalisiertes Protein, welches im Ovar an der Regulation der Proliferation des Oberflächenepithels beteiligt ist. Im gesunden Gewebe und in frühen Tumorstadien des epithelialen Ovarialkarzinoms kommt TGF- β 2 eine tumorsupprimierende Funktion zu (Choi et al. 2001; Nilsson et al. 2001). In fortgeschrittenen Tumorstadien geht diese Funktion des Proteins verloren und das Tumorwachstum und die Invasion werden unterstützt (Gao et al. 2014; Chang et al. 2007; Tang et al. 2003). TGF- β 2 wird sowohl im gesunden sowie malignen Gewebe des Ovars exprimiert, wobei in Zellen des EOC gegenüber gesunden Ovargewebe eine Überexpression des Proteins festgestellt wurde (Bartlett et al. 1997; Gordinier et al. 1999).

Die Expression von TGF- β 2 konnte in der vorliegenden Arbeit bei ca. 70% der CAF und Tumorzellen des EOC nachgewiesen werden. Hierbei stimmte die Häufigkeit der festgestellten Expression von TGF- β 2 in den Tumorzellen mit den Ergebnissen der Studie von Bartlett et al. 1997 überein. Sie beobachteten in 66% eine TGF- β 2-Expression in den Tumorzellen des Ovarialkarzinoms. Ebenfalls zeigte sich in beiden Studien kein Hinweis für eine Korrelation zwischen dem Tumorstadium und der Expression von TGF- β 2 in den Tumorzellen des EOC. Die bereits beobachtete schwächere Expression von TGF- β 2 im Stroma im Vergleich zu den Tumorzellen des EOC (Nilsson et al. 2001) bestätigte sich auch in dieser Studie.

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich eine Korrelation der TGF- β 2-Expression im Stroma und dem Vorliegen von einer mäßig und guten Tumordifferenzierung ($p=0,03$). Dies lässt sich mit der tumorsupprimierenden Funktion von TGF- β 2 vereinbaren, welche in fortgeschrittenen Tumorstadien und zunehmender Entdifferenzierung des Gewebes verloren geht (Blobe et al 2000, Tang et al. 2003). Ein entsprechender Zusammenhang für die Expression in den Tumorzellen konnte in dieser Arbeit jedoch nicht nachgewiesen werden und stimmt in dieser Hinsicht ebenfalls mit den Ergebnissen von Bartlett et al. 1997 überein. Auch bei ihnen zeigte

sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Expression von TGF- β 2 in den Tumorzellen des EOC und dem histologischen Differenzierungsgrad. Ihnen gelang hingegen der Nachweis, dass bei fortgeschrittenen Tumoren häufiger TGF- β 3 exprimiert wurde. Zusätzlich identifizierten sie den Zusammenhang der TGF- β 3-Expression im Tumor und einem kürzeren Überleben.

Da in der aktuellen Studie nur eine sehr geringe Anzahl der Patientinnen einen guten Differenzierungsgrad des EOC aufwies, ist eine Korrelation der Expression mit dem Differenzierungsgrad als nicht sicher anzusehen. Es werden weitere Studien nötig sein, um die hier festgestellte Korrelation zu bestätigen und ggf. ihre Relevanz weiter zu untersuchen.

Die Analysen zum PFS und OS ergaben einen positiven Trend für ein längeres PFS bei fehlender Expression von TGF- β 2 in den Tumorzellen. In der Studie von Bartlett et al. 1997 korrelierte die Expression von TGF- β 2, im Gegensatz zur Expression von TGF- β 3, nicht mit dem Überleben. Es konnte jedoch eine Koexpression der Proteine festgestellt werden, so dass eine Beeinflussung des PFS durch die fehlende Expression von TGF- β 2 zum jetzigen Zeitpunkt nicht auszuschließen ist.

Zusätzlich konnte in der vorliegenden Arbeit in den Korrelationsanalysen ein signifikanter Zusammenhang der Expression von TGF- β 2 im Stroma ($p=0,012$) sowie in den Tumorzellen ($p=0,04$) und der Platinsensibilität nachgewiesen werden. Es lag häufiger eine Platinsensibilität des Tumors vor, wenn TGF- β 2 sowohl in den CAF als auch in den Tumorzellen exprimiert wurde.

Diese Korrelation steht im Widerspruch zu den bisherigen Studienergebnissen bezüglich des Einflusses von Mitgliedern der TGF- β -Superfamilie auf das Ansprechen einer platinhaltigen Chemotherapie beim EOC. So zeigte sich in der Studie von Li et al. 2009 ein Zusammenhang zwischen dem Signaltransduktionsweg von TGF- β und der Entwicklung einer Platinresistenz. Des Weiteren wird vermutet, dass die TGF- β -induzierte Transformation von Epithelgewebe in Mesenchymgewebe zu einer aberranten Struktur in der EZM führt (Chang u. a. 2007) und diese wiederum möglicherweise einen Einfluss auf die Entstehung einer Chemoresistenz hat (Hazlehurst et al. 2001).

Es wurde in den bisherigen Studien zwar nicht explizit der Einfluss von TGF- β 2 auf die Entstehung der Platinresistenz analysiert, aber da sich zusätzlich in den multivariaten Analysen der aktuellen Studie keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben durch die Expression

von TGF- β 2 zeigte und sich sogar ein positiver Trend für das OS und PFS bei fehlender Expression von TGF- β 2 abzeichnete, ist der Zusammenhang zwischen der Expression des Proteins und der Platinsensibilität als nicht gesichert anzusehen. Es sollten weitere Analysen durchgeführt werden, um die Ergebnisse als verlässlich ansehen zu können.

Der Transkriptionsfaktor KLF4 ist an der Aufrechterhaltung der DNA-Stabilität durch Modulation verschiedener Reparaturprozesse beteiligt (El-Karim u. a. 2013). Er besitzt somit Bedeutung für die Regulation von Proliferation, Differenzierung und Apoptose von Zellen.

In der vorliegenden Arbeit wurde KLF4 in den Tumorzellen (98,6%) etwas häufiger exprimiert als in den CAF (91,8%). Ein Zusammenhang mit einzelnen klinisch-pathologischen Variablen oder dem Überleben konnte für die Expression des Proteins beim EOC im Rahmen dieser Arbeit nicht ermittelt werden.

Hinsichtlich der Expression von KLF4 beim fortgeschrittenen EOC konnte bereits eine verminderte Expression des Proteins im Epithelgewebe im Vergleich zu gesundem Gewebe festgestellt werden (Yoon and Roh 2012).

Des Weiteren wurde in einigen Publikationen ein tumorsuppressiver Effekt von KLF4 bei dem EOC (Zohre et al. 2014) sowie weiteren verschiedenen malignen Erkrankungen (Zhang et al. 2012; Ji et al. 2014; Yang and Zheng 2012; Liu et al. 2013; Nagata et al. 2014) beschrieben.

Als ein möglicher Mechanismus der tumorsuppressiven Funktion von KLF wurde die Inhibition der TGF- β -vermittelten Transformation von Epithelgewebe in Mesenchymgewebe identifiziert (Chen et al. 2014).

Demnach widersprechen die Ergebnisse der vorliegenden Studie den bisherigen Erkenntnissen bezüglich der Bedeutung der Expression von KLF4 für das EOC. Die Expression zeigte sich im Rahmen dieser Studie deutlich häufiger sowohl in den Tumor- als auch in den Stromazellen als es zu erwarten gewesen wäre. Zumindest in den Tumorzellen hätte gemäß den Ergebnissen Yoon und Roh 2012 eine geringere Expression von KLF4 erkennbar sein sollen. Zudem wäre, gemäß den bisherigen Studienergebnissen, eine Assoziation zwischen einer niedrigen Expression des Proteins und einem fortgeschrittenen Tumorstadium sowie ggf. eine Assoziation zwischen der Expression von KLF4 und einem längeren Überleben zu erwarten gewesen. Letztendlich muss eine falsch positive Reaktion als mögliche Ursache der unerwarteten Ergebnisse hier in Betracht gezogen werden.

Bezüglich der Expression von ST6GALNAC5 ergaben die Analysen, dass das Protein etwa gleich häufig in den CAF und Tumorzellen (56,9% und 59,9%) exprimiert wurde. Eine immunhistochemische Reaktion war jedoch am deutlichsten in den Lymphozyten Endothelzellen und Makrophagen zu beobachten (90,1%). Die Expression des Proteins in den Tumorzellen korrelierte mit einem guten Differenzierungsgrad ($p=0,021$) und dem Vorliegen einer Platinresistenz ($p=0,019$). Sowohl in den multi- als auch in den univariaten Analysen zum Überleben zeigte sich kein signifikanter Einfluss durch die Expression von ST6GALNAC5.

Die bisherigen Erkenntnisse zu ST6GALNAC5 beschränken sich auf die Bedeutung für die Entstehung von Hirnmetastasen beim Mammakarzinoms (Bos et al. 2009) und des Kolonkarzinoms (Stremitzer et al. 2015).

Die Bedeutung der Expression im Gewebe des EOC wurde bisher nicht untersucht. Die Ergebnisse dieser Studie stehen mit dem Stellenwert der Expression des Proteins beim Mammakarzinom nur teilweise im Einklang. Gemäß Cazet et al. 2010 ist die vermehrte Expression des Proteins an der Zelloberfläche von Mammakarzinomzellen mit einer hohen Tumoraggressivität und Tendenz zur Progression verbunden, wohingegen die aktuellen Ergebnisse nur durch die Bedeutung für die Platinresistenz ggf. auf eine höhere Tumoraggressivität schließen lassen. Im Widerspruch hierzu muss die Korrelation der Expression von ST6GALNAC5 mit einem guten histologischen Differenzierungsgrad des EOC gesehen werden.

Die Expression der untersuchten Marker im Stroma des EOC scheinen, mit Ausnahme von AKR1C1 und GALNT3, keinen relevanten Stellenwert für die Prognose des EOC zu besitzen. Dadurch, dass jedoch in dem vorliegenden Patientenkollektiv überwiegend fortgeschrittenen Tumorstadien vorlagen, ist eine Aussage bezüglich der Relevanz der Expression der Proteine im Stroma für die Prognose nur eingeschränkt möglich. Es ist nicht auszuschließen, dass ihre Bedeutung in Frühstadien des EOC einen höheren Stellenwert besitzt als die vorliegenden Ergebnisse zeigen.

Auf der anderen Seite liegt ein homogenes, relativ großes Patientenkollektiv vor, welches nach den aktuellen Standards behandelt wurde. Die Ergebnisse sind somit zumindest für das fortgeschrittene EOC als repräsentativ anzusehen. Die bisher publizierten Studien zeigen, dass das Stroma eine wichtige Rolle in der Progression verschiedener Tumoren spielt. Die prognostische Bedeutung des Stromas beim EOC ist jedoch zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht abschließend geklärt. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen einen teils vielversprechenden

Ansatz für die stromale Expression von AKR1C1, GALNT3 und TGF- β 2, diese sollten jedoch bezüglich ihrer klinischen Relevanz weiter untersucht werden.

Die Ergebnisse deuten im Kontext der bisherigen Erkenntnisse daraufhin, dass dem Stroma des EOC ebenfalls eine relevante prognostische Bedeutung zukommt. Es bleiben jedoch aktuell die relevanten Veränderungen der Proteinexpression in den CAF insgesamt noch unzureichend geklärt. Die Funktion der Stromafibroblasten beim EOC sollte in weiteren Untersuchungen noch umfassender analysiert werden.

6 Zusammenfassung

Im malignen Tumorgewebe finden Interaktionen zwischen den Tumorzellen und den umgebenden Stroma statt, die die Invasion und Progression des Tumors begünstigen können. Das tumorassoziierte Stroma besitzt somit Bedeutung für die Krankheitsprognose, das Ansprechen einer Therapie und stellt einen Angriffspunkt für die Behandlung von malignen Tumoren dar.

Die Bedeutung von Veränderungen der Proteinexpression in den karzinomassoziierten Fibroblasten (CAF) des epithelialen Ovarialkarzinoms (EOC) und deren Bedeutung für die Prognose wurde, im Vergleich zu der Bedeutung des Stromas bei anderen Tumorentitäten, bisher nur wenig analysiert. Es gibt jedoch in der Literatur zahlreiche Hinweise, dass neben der Stromaproportion und dem Zellreichtum des Stromas auch die CAF des EOC von Bedeutung für die Tumorgenese und somit auch für die Prognose sind.

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gewebeproben von epithelialen Ovarialkarzinomen lagen in Form von TMA vor und stammten von Teilnehmerinnen der AGO-11t-Histostudie. Insgesamt standen Gewebeproben von 441 Patientinnen und ihre zugehörigen klinisch-pathologischen Informationen (Alter, ECOG, Ursprung des Tumors, Histologie, Tumordifferenzierung, FIGO-Stadium, postoperativer Tumorrest, Platinsensibilität und Therapiechema) zur Verfügung. Anhand der Gewebeproben wurde die Stromamorphologie beim EOC systematisch charakterisiert und die Expression von den Kandidatenproteinen (AKR1C1, AKR1C2, GALNT3, GATA3, KLF-4, ST6GALNAC5, TGF- β 2) quantifiziert. Anschließend wurden die klinisch-pathologischen Variablen, die Stromacharakteristika und die Expression der Kandidatenproteine bezüglich ihres Einflusses auf das Gesamtüberleben (OS) und progressionsfreie Überleben (PFS) des EOC analysiert.

Zum Nachweis und zur Quantifizierung der Kandidatenproteine wurde die immunhistochemische Färbung verwendet. Hierbei kamen die Avidin-Biotin-Enzymkomplex-Methode und Polymerkonjugat-Methode zum Einsatz. In der anschließenden mikroskopischen Auswertung der Gewebeproben wurde die Expression der Kandidatenproteine in den CAF, Epithelzellen und weiteren stromalen Komponenten wie Lymphozyten, Makrophagen und Endothelzellen beurteilt. Zusätzlich erfolgte die Beurteilung des prozentualen Stromaanteils, des Zellreichtums des Stromas sowie des lymphozytären Infiltrates. Die auf diese Weise erhobenen Daten wurden mit den klinisch-pathologischen Variablen korreliert und ein möglicher Einfluss der Expression der Proteine auf das PFS und OS analysiert.

Bezüglich der Stromacharakteristika zeigte sich in der Auswertung, dass in der Mehrzahl der untersuchten Gewebeproben eine geringe Stromaproportion vorlag. Außerdem lag am häufigsten ein zellreiches Stroma sowie einmäßiges lymphozytäres Infiltrat vor.

Die Analysen ergaben, dass bei einer hohen Stromaproportion und einem zellreichen Stroma ein negativer Trend für das PFS besteht. Das Vorliegen eines starken lymphozytären Infiltrats hingegen zeigte einen positiven Trend für das PFS und war statistisch signifikant mit einem postoperativen Tumorrest von kleiner 1cm assoziiert ($p= 0,03$). Wie bereits in der Literatur beschrieben konnte auch in dieser Arbeit die Korrelation eines zellreichen Stromas mit einem höheren FIGO-Stadium sowie dem Vorliegen eines HGSC festgestellt werden. Zusätzlich konnte die Relevanz einiger bisher bekannter Prognosefaktoren des EOC (der physische Zustand, der histologische Subtyp des HGSC, das FIGO-Stadium, die Platinsensibilität und Größe des postoperativen Tumorrestes) für das OS und PFS bestätigt werden.

Durch die Analyse der Expression der Markerproteine wurde die stromale Expression von AKR1C1 und GALNT3 als prognostisch unabhängiger Faktor für das PFS identifiziert. Eine fehlende Expression von AKR1C1 war mit einem signifikant kürzeren PFS assoziiert (HR: 2; $p= 0,036$), wohingegen die fehlende GALNT3-Expression im Stroma einen positiven Einfluss auf das PFS zeigte (HR: 0,61; $p= 0,043$). In den Analysen zum OS wurden ebenfalls die klinisch-pathologischen Variablen als unabhängige prognostische Faktoren identifiziert, die Expression der untersuchten Proteine zeigte jedoch keine prognostische Relevanz für das OS.

Der positive Einfluss der Studienmedikation (Carboplatin+ Paclitaxel+ Bevacizumab) auf die Gesamtüberlebenschance (60% vs. 50% nach 36 Monaten, $p= 0,014$), welcher bereits im Rahmen der ICON 7-Studie ermittelt wurde, konnte in den durchgeführten Analysen bestätigt werden.

In der hier vorliegenden Arbeit wurde erstmals an einem großen Kollektiv die prognostische Bedeutung des Stromas beim EOC untersucht. Die Ergebnisse bestätigten zum Teil die in der Literatur bereits beschriebenen Zusammenhänge. Es konnte sowohl die Relevanz der etablierten Prognosefaktoren des EOC als auch der Vorteil der ergänzenden Therapie mit Bevacizumab für das OS und PFS bestätigt werden. Außerdem bestätigte sich die Assoziation zwischen dem FIGO-Stadium und des Zellreichtums des Stromas mit dem histologischen Subtyp des HGSC. Zusätzlich gelang der Nachweis, dass die stromale Expression von AKR1C1 und von GALNT3 prognostisch unabhängige Faktoren für das PFS darstellen. Die Ergebnisse veranschaulichen, dass dem Stroma des EOC eine relevante prognostische Bedeutung zu-

kommt, jedoch bleiben aktuell die relevanten Veränderungen der Proteinexpression in den CAF noch unzureichend geklärt. Es werden künftig weitere Studien notwendig sein, um die Veränderungen der Proteinexpression in den CAF zu identifizieren und hinsichtlich ihres Einflusses auf den Tumorprogress und somit auf die Prognose zu untersuchen.

Literaturverzeichnis

- Abiko, K., Matsumura, N., Hamanishi, J., Horikawa, N., Murakami, R., Yamaguchi, K., Yoshioka, Y., Baba, T., Konishi, I., and Mandai, M. (2015). IFN- γ from lymphocytes induces PD-L1 expression and promotes progression of ovarian cancer. *British Journal of Cancer* *112*, 1501.
- Aletti, G.D., Dowdy, S.C., Podratz, K.C., and Cliby, W.A. (2006). Surgical treatment of diaphragm disease correlates with improved survival in optimally debulked advanced stage ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* *100*, 283–287.
- Antoniou, A., Pharoah, P.D.P., Narod, S., Risch, H.A., Eyfjord, J.E., Hopper, J.L., Loman, N., Olsson, H., Johannsson, O., Borg, A., et al. (2003). Average Risks of Breast and Ovarian Cancer Associated with BRCA1 or BRCA2 Mutations Detected in Case Series Unselected for Family History: A Combined Analysis of 22 Studies. *Am J Hum Genet* *72*, 1117–1130.
- AWMF: Aktuelle Leitlinien. S3-Leitlinie Maligne Ovarialtumore - 032-0351_S3_Maligne_Ovarialtumoren_Diagnostik_Therapie_Nachsorge_2013-06.pdf.
- Bachmayr-Heyda, A., Aust, S., Heinze, G., Polterauer, S., Grimm, C., Braicu, E., Sehouli, J., Lambrechts, S., Vergote, I., Mahner, S., et al. (2013). Prognostic impact of tumor infiltrating CD8+ T cells in association with cell proliferation in ovarian cancer patients - a study of the OVCAD consortium. *BMC Cancer* *13*, 422.
- Bartlett, J.M., Langdon, S.P., Scott, W.N., Love, S.B., Miller, E.P., Katsaros, D., Smyth, J.F., and Miller, W.R. (1997). Transforming growth factor-beta isoform expression in human ovarian tumours. *Eur. J. Cancer* *33*, 2397–2403.
- Bauer, M., Su, G., Casper, C., He, R., Rehrauer, W., and Friedl, A. (2010). Heterogeneity of Gene Expression in Stromal Fibroblasts of Human Breast Carcinomas and Normal Breast. *Oncogene* *29*, 1732–1740.
- Beral, V., Million Women Study Collaborators, Bull, D., Green, J., and Reeves, G. (2007). Ovarian cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* *369*, 1703–1710.
- Bezerra, S.M., Lotan, T.L., Faraj, S.F., Karram, S., Sharma, R., Schoenberg, M., Bivalacqua, T.J., and Netto, G.J. (2014). GATA3 expression in small cell carcinoma of bladder and prostate and its potential role in determining primary tumor origin. *Hum. Pathol.* *45*, 1682–1687.
- Bierie, B., and Moses, H.L. (2006). Tumour microenvironment: TGFbeta: the molecular Jekyll and Hyde of cancer. *Nat. Rev. Cancer* *6*, 506–520.
- Blobe, GC., Schiemann, WP., Lodish, HF., (2000) Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med* *342*, 1350-1358

- Bonadona, V., Bonaïti, B., Olschwang, S., Grandjouan, S., Huiart, L., Longy, M., Guimbaud, R., Buecher, B., Bignon, Y.-J., Caron, O., et al. (2011). Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. *JAMA* *305*, 2304–2310.
- Bos, P.D., Zhang, X.H.-F., Nadal, C., Shu, W., Gomis, R.R., Nguyen, D.X., Minn, A.J., van de Vijver, M.J., Gerald, W.L., Foekens, J.A., et al. (2009). Genes that mediate breast cancer metastasis to the brain. *Nature* *459*, 1005–1009.
- Bozas, G., Terpos, E., Gika, D., Karadimou, A., Dimopoulos, M.A.; Bamias, A., (2010) Prechemotherapy serum levels of CD105, transforming growth factor beta2, and vascular endothelial growth factor are associated with prognosis in pa... *Int. J. of Gynecol Cancer* *20*(2), 248-254.
- Braxton, D.R., Cohen, C., and Siddiqui, M.T. (2015). Utility of GATA3 immunohistochemistry for diagnosis of metastatic breast carcinoma in cytology specimens. *Diagn. Cytopathol.* *43*, 271–277.
- Buhrmann, C., Kraehe, P., Lueders, C., Shayan, P., Goel, A., and Shakibaei, M. (2014). Curcumin Suppresses Crosstalk between Colon Cancer Stem Cells and Stromal Fibroblasts in the Tumor Microenvironment: Potential Role of EMT. *PLoS ONE* *9*, e107514.
- Buy, J.N., Ghossain, M.A., Sciot, C., Bazot, M., Guinet, C., Prévot, S., Hugol, D., Laromiguiere, M., Truc, J.B., and Poitout, P. (1991). Epithelial tumors of the ovary: CT findings and correlation with US. *Radiology* *178*, 811–818.
- Buy, S.S., Partridge, E., Black, A., Johnson, C.C., Lamerato, L., Isaacs, C., Reding, D.J., Greenlee, R.T., Yokochi, L.A., Kessel, B., et al. (2011). Effect of screening on ovarian cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Randomized Controlled Trial. *JAMA* *305*, 2295–2303.
- Cai, J., Tang, H., Xu, L., Wang, X., Yang, C., Ruan, S., Guo, J., Hu, S., and Wang, Z. (2012). Fibroblasts in omentum activated by tumor cells promote ovarian cancer growth, adhesion and invasiveness. *Carcinogenesis* *33*, 20–29.
- Casey, T., Bond, J., Tighe, S., Hunter, T., Lintault, L., Patel, O., Eneman, J., Crocker, A., White, J., Tessitore, J., et al. (2009). Molecular signatures suggest a major role for stromal cells in development of invasive breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* *114*, 47–62.
- Cavallo, F., Astolfi, A., Iezzi, M., Cordero, F., Lollini, P.-L., Forni, G., and Calogero, R. (2005). An integrated approach of immunogenomics and bioinformatics to identify new Tumor Associated Antigens (TAA) for mammary cancer immunological prevention. *BMC Bioinformatics* *6 Suppl 4*, S7.
- Cazet, A., Julien, S., Bobowski, M., Krzewinski-Recchi, M.-A., Harduin-Lepers, A., Groux-Degroote, S., and Delannoy, P. (2010). Consequences of the expression of sialylated antigens in breast cancer. *Carbohydrate Research* *345*, 1377–1383.

- Chang, C.-F., Westbrook, R., Ma, J., and Cao, D. (2007). Transforming growth factor-beta signaling in breast cancer. *Front. Biosci.* *12*, 4393–4401.
- Chen, Y., Zhang, L., Liu, W., and Liu, X. (2015). Prognostic Significance of the Tumor-Stroma Ratio in Epithelial Ovarian Cancer. *BioMed Research International* *2015*, 1–8.
- Cheng, D., Liang, B., and Li, Y. (2013). Serum vascular endothelial growth factor (VEGF-C) as a diagnostic and prognostic marker in patients with ovarian cancer. *PLoS ONE* *8*, e55309.
- Chi, D.S., Liao, J.B., Leon, L.F., Venkatraman, E.S., Hensley, M.L., Bhaskaran, D., and Hoskins, W.J. (2001). Identification of prognostic factors in advanced epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol. Oncol.* *82*, 532–537.
- Choi KC, Kang SK, Tai CJ, Auersperg N, Leung PC (2001) The regulation of apoptosis by activin and transforming growth factor-beta in early neoplastic and tumorigenic ovarian surface epithelium. *J Clin Endocrinol Metab.* *86*(5), 2125-35.
- Chou, J., Lin, J.H., Brenot, A., Kim, J., Provot, S., and Werb, Z. (2013). GATA3 suppresses metastasis and modulates the tumour microenvironment by regulating microRNA-29b expression. *Nat. Cell Biol.* *15*, 201–213.
- Cibula, D., Widschwendter, M., Májek, O., and Dusek, L. (2011). Tubal ligation and the risk of ovarian cancer: review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update* *17*, 55–67.
- Cibula, D., Widschwendter, M., Májek, O., and Dusek, L. (2011). Tubal ligation and the risk of ovarian cancer: review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update* *17*, 55–67.
- Clark, B.Z., Beriwal, S., Dabbs, D.J., and Bhargava, R. (2014). Semiquantitative GATA-3 Immunoreactivity in Breast, Bladder, Gynecologic Tract, and Other Cytokeratin 7–Positive Carcinomas. *American Journal of Clinical Pathology* *142*, 64–71.
- Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian Cancer (2012). Ovarian cancer and body size: individual participant meta-analysis including 25,157 women with ovarian cancer from 47 epidemiological studies. *PLoS Med.* *9*, e1001200.
- Colombo, N., Van Gorp, T., Parma, G., Amant, F., Gatta, G., Sessa, C., and Vergote, I. (2006). Ovarian cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* *60*, 159–179.
- Davidson, B., Trope, C.G., and Reich, R. (2014). The Role of the Tumor Stroma in Ovarian Cancer. *Front Oncol* *4*.
- de Arao Tan, I., Ricciardelli, C., and Russell, D.L. (2013). The metalloproteinase ADAMTS1: A comprehensive review of its role in tumorigenic and metastatic pathways. *International Journal of Cancer* *133*, 2263–2276.
- de Jong, J.S., van Diest, P.J., van der Valk, P., and Baak, J.P. (1998). Expression of growth factors, growth-inhibiting factors, and their receptors in invasive breast cancer. II: Correlations with proliferation and angiogenesis. *J. Pathol.* *184*, 53–57.

- Deftereos, G. MD; Sanguino R., Angela M. MD; Silverman, JF. MD; Krishnamurti, U. MD, PhD(2015) GATA3 immunohistochemistry expression in histologic subtypes of primary breast carcinoma and metastatic breast carcinoma cytology. *The American Journal of Surgical Pathology* 39(9), 1282–1289
- Dembo, A.J., Davy, M., Stenwig, A.E., Berle, E.J., Bush, R.S., and Kjorstad, K. (1990). Prognostic factors in patients with stage I epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 75, 263–273.
- Deng, H.B., Parekh, H.K., Chow, K.-C., and Simpkins, H. (2002). Increased Expression of Dihydrodiol Dehydrogenase Induces Resistance to Cisplatin in Human Ovarian Carcinoma Cells. *J. Biol. Chem.* 277, 15035–15043.
- Deschoolmeester, V., Baay, M., Marck, E.V., Weyler, J., Vermeulen, P., Lardon, F., and Vermorken, J.B. (2010). Tumor infiltrating lymphocytes: an intriguing player in the survival of colorectal cancer patients. *BMC Immunology* 11, 19.
- El-Karim, E.A., Hagos, E.G., Ghaleb, A.M., Yu, B., and Yang, V.W. (2013). Kruppel-like factor 4 regulates genetic stability in mouse embryonic fibroblasts. *Mol. Cancer* 12, 89.
- Erez, N., Glanz, S., Raz, Y., Avivi, C., and Barshack, I. (2013). Cancer associated fibroblasts express pro-inflammatory factors in human breast and ovarian tumors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 437, 397–402.
- Erickson AC, Barcellos-Hoff MH. (2003) The not-so innocent bystander: the microenvironment as a therapeutic target in cancer. *Expert Opin Ther Targets.* 7(1):71-88.
- Esheba, G.E., Longacre, T.A., Atkins, K.A., and Higgins, J.P. (2009). Expression of the urothelial differentiation markers GATA3 and placental S100 (S100P) in female genital tract transitional cell proliferations. *Am. J. Surg. Pathol.* 33, 347–353.
- Espinosa I, Gallardo A, D'Angelo E, Mozos A, Lerma E, Prat J. Simultaneous carcinomas of the breast and ovary: utility of Pax-8, WT-1, and GATA3 for distinguishing independent primary tumors from metastases. *Int J Gynecol Pathol.*34(3), 257-65.
- Farmer, P., Bonnefoi, H., Anderle, P., Cameron, D., Wirapati, P., Wirapati, P., Becette, V., André, S., Piccart, M., Campone, M., et al. (2009). A stroma-related gene signature predicts resistance to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Nat. Med.* 15, 68–74.
- Feig, C., Gopinathan, A., Neesse, A., Chan, D.S., Cook, N., and Tuveson, D.A. (2012). The pancreas cancer microenvironment. *Clin Cancer Res* 18, 4266–4276.
- Finak, G., Bertos, N., Pepin, F., Sadkova, S., Souleimanova, M., Zhao, H., Chen, H., Omeroglu, G., Meterissian, S., Omeroglu, A., et al. (2008). Stromal gene expression predicts clinical outcome in breast cancer. *Nat. Med.* 14, 518–527.

- Finak, G., Bertos, N., Pepin, F., Sadekova, S., Souleimanova, M., Zhao, H., Chen, H., Omeroglu, G., Meterissian, S., Omeroglu, A., et al. (2008). Stromal gene expression predicts clinical outcome in breast cancer. *Nat. Med.* *14*, 518–527.
- Forstner, R., Sala, E., Kinkel, K., Spencer, J.A., and European Society of Urogenital Radiology (2010). ESUR guidelines: ovarian cancer staging and follow-up. *Eur Radiol* *20*, 2773–2780.
- Fridman, W.H., Galon, J., Pagès, F., Tartour, E., Sautès-Fridman, C., and Kroemer, G. (2011). Prognostic and Predictive Impact of Intra- and Peritumoral Immune Infiltrates. *Cancer Res* *71*, 5601–5605.
- Fu, S., Dong, L., Sun, W., Xu, Y., Gao, L., and Miao, Y. (2013). Stromal-epithelial crosstalk provides a suitable microenvironment for the progression of ovarian cancer cells in vitro. *Cancer Invest.* *31*, 616–624.
- Fu, S., Dong, L., Sun, W., Xu, Y., Gao, L., and Miao, Y. (2013). Stromal-epithelial crosstalk provides a suitable microenvironment for the progression of ovarian cancer cells in vitro. *Cancer Invest.* *31*, 616–624.
- Gao, J., Zhu, Y., Nilsson, M., and Sundfeldt, K. (2014). TGF- β isoforms induce EMT independent migration of ovarian cancer cells. *Cancer Cell Int.* *14*, 72.
- Giannoni, E., Bianchini, F., Masieri, L., Serni, S., Torre, E., Calorini, L., and Chiarugi, P. (2010). Reciprocal Activation of Prostate Cancer Cells and Cancer-Associated Fibroblasts Stimulates Epithelial-Mesenchymal Transition and Cancer Stemness. *Cancer Res* *70*, 6945–6956.
- Gonzalez, R.S., Wang, J., Kraus, T., Sullivan, H., Adams, A.L., and Cohen, C. (2013). GATA-3 expression in male and female breast cancers: comparison of clinicopathologic parameters and prognostic relevance. *Hum. Pathol.* *44*, 1065–1070.
- Gordinier, M.E., Zhang, H.-Z., Patenia, R., Levy, L.B., Atkinson, E.N., Nash, M.A., Katz, R.L., Platsoucas, C.D., and Freedman, R.S. (1999). Quantitative Analysis of Transforming Growth Factor β 1 and 2 in Ovarian Carcinoma. *Clin Cancer Res* *5*, 2498–2505.
- Goubran, H.A., Kotb, R.R., Stakiw, J., Emara, M.E., and Burnouf, T. (2014). Regulation of Tumor Growth and Metastasis: The Role of Tumor Microenvironment. *Cancer Growth Metastasis* *7*, 9–18.
- Hanahan, D., and Weinberg, R.A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* *144*, 646–674.
- Hannaford, P.C., Selvaraj, S., Elliott, A.M., Angus, V., Iversen, L., and Lee, A.J. (2007). Cancer risk among users of oral contraceptives: cohort data from the Royal College of General Practitioner's oral contraception study. *BMJ* *335*, 651.

- Hannibal, C.G., Vang, R., Junge, J., Kjaerbye-Thygesen, A., Kurman, R.J., and Kjaer, S.K. (2012). A binary histologic grading system for ovarian serous carcinoma is an independent prognostic factor: A population-based study of 4317 women diagnosed in Denmark 1978–2006. *Gynecologic Oncology* 125, 655–660.
- Harter, P., Beutel, B., Alesina, P.F., Lorenz, D., Boergers, A., Heitz, F., Hils, R., Kurzeder, C., Traut, A., and du Bois, A. (2014). Prognostic and predictive value of the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie (AGO) score in surgery for recurrent ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 132, 537–541.
- Harter, P., Mahner, S., Hilpert, F., Runnebaum, I., Ortmann, O., Mustea, A., Sehouli, J., du Bois, A., Wagner, U., and for the Kommission Ovar of the Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (2013). Statement by the Kommission OVAR of the AGO Study Group on the Use of HIPEC (Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy) to Treat Primary and Recurrent Ovarian Cancer. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 73, 221–223.
- Harter, P., Sehouli, J., Reuss, A., Hasenburg, A., Scambia, G., Cibula, D., Mahner, S., Vergote, I., Reinthaller, A., Burges, A., et al. (2011). Prospective validation study of a predictive score for operability of recurrent ovarian cancer: the Multicenter Intergroup Study DESKTOP II. A project of the AGO Kommission OVAR, AGO Study Group, NOGGO, AGO-Austria, and MITO. *Int. J. Gynecol. Cancer* 21, 289–295.
- Hartge, P., Whittemore, A.S., Itnyre, J., McGowan, L., and Cramer, D. (1994). Rates and risks of ovarian cancer in subgroups of white women in the United States. The Collaborative Ovarian Cancer Group. *Obstet Gynecol* 84, 760–764.
- Hasebe, T., Sasaki, S., Imoto, S., and Ochiai, A. (2001). Highly proliferative fibroblasts forming fibrotic focus govern metastasis of invasive ductal carcinoma of the breast. *Mod. Pathol.* 14, 325–337.
- Hauptmann, S., du Bois, A., Meinhold-Herlein, I., Pfisterer, J., and Avril, S. (2014). [Histological grading of epithelial ovarian cancer. Review and recommendation]. *Pathologe* 35, 497–503.
- Hilpert, F., Krause, G., Venhoff, L., Kühnle, E., Schem, C., and Maass, N. (2007). [Epithelial ovarian cancer]. *Ther Umsch* 64, 375–380.
- Hoerl, H.D., and Hart, W.R. (1998). Primary ovarian mucinous cystadenocarcinomas: a clinicopathologic study of 49 cases with long-term follow-up. *Am. J. Surg. Pathol.* 22, 1449–1462.
- Holschneider, C.H., and Berek, J.S. (2000). Ovarian cancer: epidemiology, biology, and prognostic factors. *Semin Surg Oncol* 19, 3–10.
- Horn, L.C., Fricke, K., and Krugmann, J. (1995). [Histologic classification and morphologic prognostic factors in malignant ovarian tumors]. *Zentralbl Gynakol* 117, 335–345.
- Hoskins, W.J., Bundy, B.N., Thigpen, J.T., and Omura, G.A. (1992). The influence of cytoreductive surgery on recurrence-free interval and survival in small-volume stage III epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol. Oncol.* 47, 159–166.

- Hosoya, T., Kuroha, T., Moriguchi, T., Cummings, D., Maillard, I., Lim, K.-C., and Engel, J.D. (2009). GATA-3 is required for early T lineage progenitor development. *J. Exp. Med.* 206, 2987–3000.
- Huang, H., Li, Y.J., Lan, C.Y., Huang, Q.D., Feng, Y.L., Huang, Y.W., and Liu, J.H. (2013). Clinical significance of ascites in epithelial ovarian cancer. *Neoplasma* 60, 546–552.
- Huang, K.-H., Chiou, S.-H., Chow, K.-C., Lin, T.-Y., Chang, H.-W., Chiang, I.-P., and Lee, M.-C. (2010). Overexpression of aldo-keto reductase 1C2 is associated with disease progression in patients with prostatic cancer. *Histopathology* 57, 384–394.
- Iodice, S., Barile, M., Rotmensz, N., Feroce, I., Bonanni, B., Radice, P., Bernard, L., Maisonneuve, P., and Gandini, S. (2010). Oral contraceptive use and breast or ovarian cancer risk in BRCA1/2 carriers: a meta-analysis. *Eur. J. Cancer* 46, 2275–2284.
- Jakowlew, S.B. (2006). Transforming growth factor-beta in cancer and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 25, 435–457.
- Jalid Sehouli: „Multimodales Management maligner Ovarialtumore“. 2013.
- Ji, J., Wang, H.-S., Gao, Y.-Y., Sang, L.-M., and Zhang, L. (2014). Synergistic Anti-tumor Effect of KLF4 and Curcumin in Human Gastric Carcinoma Cell Line. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 15, 7747–7752.
- Kaku, T., Ogawa, S., Kawano, Y., Ohishi, Y., Kobayashi, H., Hirakawa, T., and Nakano, H. (2003). Histological classification of ovarian cancer. *Med Electron Microsc* 36, 9–17.
- Kalluri, R., and Zeisberg, M. (2006). Fibroblasts in cancer. *Nature Reviews Cancer* 6, 392.
- Kamiya, K., Yasukawa-Barnes, J., Mitchen, J.M., Gould, M.N., and Clifton, K.H. (1995). Evidence that carcinogenesis involves an imbalance between epigenetic high-frequency initiation and suppression of promotion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92, 1332–1336.
- Karapetsas, A., Giannakakis, A., Dangaj, D., Lanitis, E., Kynigopoulos, S., Lambropoulou, M., Tanyi, J.L., Galanis, A., Kakolyris, S., Trypsianis, G., et al. (2015). Overexpression of *GPC6* and *TMEM132D* in Early Stage Ovarian Cancer Correlates with CD8+ T-Lymphocyte Infiltration and Increased Patient Survival. *BioMed Research International* 2015, 1–9.
- Kataoka, F., Tsuda, H., Arao, T., Nishimura, S., Tanaka, H., Nomura, H., Chiyoda, T., Hirasawa, A., Akahane, T., Nishio, H., et al. (2012). EGRI and FOSB gene expressions in cancer stroma are independent prognostic indicators for epithelial ovarian cancer receiving standard therapy. *Genes Chromosomes Cancer* 51, 300–312.
- Khunamornpong, S., Settakorn, J., Sukpan, K., Suprasert, P., and Siriaunkgul, S. (2014). Primary ovarian mucinous adenocarcinoma of intestinal type: a clinicopathologic study of 46 cases. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 33, 176–185.

- Kitada, S., Yamada, S., Kuma, A., Ouchi, S., Tasaki, T., Nabeshima, A., Noguchi, H., Wang, K.-Y., Shimajiri, S., Nakano, R., et al. (2013). Polypeptide N-acetylgalactosaminyl transferase 3 independently predicts high-grade tumours and poor prognosis in patients with renal cell carcinomas. *Br. J. Cancer* *109*, 472–481.
- Ko, S.Y., and Naora, H. (2014). Therapeutic strategies for targeting the ovarian tumor stroma. *World J Clin Cases* *2*, 194–200.
- Ko, S.Y., Barengo, N., Ladanyi, A., Lee, J.-S., Marini, F., Lengyel, E., and Naora, H. (2012). HOXA9 promotes ovarian cancer growth by stimulating cancer-associated fibroblasts. *J. Clin. Invest.* *122*, 3603–3617.
- Kommoss, F., Kommoss, S., Schmidt, D., du Bois, A., and Pfisterer, J. (2008). [Central pathology review. Inclusion criterion for clinical studies of ovarian carcinomas?]. *Pathologe* *29 Suppl 2*, 157–159.
- Kommoss, S., Pfisterer, J., Reuss, A., Diebold, J., Hauptmann, S., Schmidt, C., du Bois, A., Schmidt, D., and Kommoss, F. (2013). Specialized pathology review in patients with ovarian cancer: results from a prospective study. *Int. J. Gynecol. Cancer* *23*, 1376–1382.
- Kondratiev, S., Sabo, E., Yakirevich, E., Lavie, O., and Resnick, M.B. (2004). Intratumoral CD8+ T Lymphocytes as a Prognostic Factor of Survival in Endometrial Carcinoma. *Clin Cancer Res* *10*, 4450–4456.
- Krebs in Deutschland, RKI 2012.
- Kupryjanczyk, J., Thor, A.D., Beauchamp, R., Poremba, C., Scully, R.E., and Yandell, D.W. (1996). Ovarian, peritoneal, and endometrial serous carcinoma: clonal origin of multifocal disease. *Mod. Pathol.* *9*, 166–173.
- L.A. Hazlehurst, W.S. Dalton (2001). Mechanisms associated with cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR) in hematopoietic malignancies. *Cancer Metastasis. Rev.*, *20 (1-2)*, 43–50
- Labiche, A., Heutte, N., Herlin, P., Chasle, J., Gauduchon, P., and Elie, N. (2010). Stromal compartment as a survival prognostic factor in advanced ovarian carcinoma. *Int. J. Gynecol. Cancer* *20*, 28–33.
- Lee, K.R., and Scully, R.E. (2000). Mucinous tumors of the ovary: a clinicopathologic study of 196 borderline tumors (of intestinal type) and carcinomas, including an evaluation of 11 cases with “pseudomyxoma peritonei.” *Am. J. Surg. Pathol.* *24*, 1447–1464.
- Lew, M., Pang, J.C., Jing, X., Fields, K.L., and Roh, M.H. (2015). Young investigator challenge: The utility of GATA3 immunohistochemistry in the evaluation of metastatic breast carcinomas in malignant effusions. *Cancer Cytopathology* *123*, 576–581.
- Lewis, M.J., Wiebe, J.P., and Heathcote, J.G. (2004). Expression of progesterone metabolizing enzyme genes (AKR1C1, AKR1C2, AKR1C3, SRD5A1, SRD5A2) is altered in human breast carcinoma. *BMC Cancer* *4*, 27.

- Li, M., Balch, C., Montgomery, J.S., Jeong, M., Chung, J.H., Yan, P., Huang, T.H., Kim, S., and Nephew, K.P. (2009). Integrated analysis of DNA methylation and gene expression reveals specific signaling pathways associated with platinum resistance in ovarian cancer. *BMC Medical Genomics* 2, 34.
- Li, Y., Ishiguro, H., Kawahara, T., Kashiwagi, E., Izumi, K., and Miyamoto, H. (2014). Loss of GATA3 in bladder cancer promotes cell migration and invasion. *Cancer Biology & Therapy* 15, 428–435.
- Lima, M.A., Silva, S.V. da, and Freitas, V.M. (2016). Progesterone acts via the progesterone receptor to induce adams proteases in ovarian cancer cells. *Journal of Ovarian Research* 9.
- Linder, N., Bützow, R., Lassus, H., Lundin, M., and Lundin, J. (2012). Decreased xanthine oxidoreductase (XOR) is associated with a worse prognosis in patients with serous ovarian carcinoma. *Gynecol. Oncol.* 124, 311–318.
- Liu, H., Shi, J., Wilkerson, M.L., and Lin, F. (2012). Immunohistochemical Evaluation of GATA3 Expression in Tumors and Normal Tissues. *American Journal of Clinical Pathology* 138, 57–64.
- Liu, S., Lachapelle, J., Leung, S., Gao, D., Foulkes, W.D., and Nielsen, T.O. (2012). CD8+ lymphocyte infiltration is an independent favorable prognostic indicator in basal-like breast cancer. *Breast Cancer Research*: BCR 14, R48.
- Liu, Z., Yang, H., Luo, W., Jiang, Q., Mai, C., Chen, Y., Zhen, Y., Yu, X., Long, X., and Fang, W. (2013). Loss of cytoplasmic KLF4 expression is correlated with the progression and poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *Histopathology* 63, 362–370.
- Loeffler, M., Krüger, J.A., Niethammer, A.G., and Reisfeld, R.A. (2006). Targeting tumor-associated fibroblasts improves cancer chemotherapy by increasing intratumoral drug uptake. *J. Clin. Invest.* 116, 1955–1962.
- Mackay, H.J., Brady, M.F., Oza, A.M., Reuss, A., Pujade-Lauraine, E., Swart, A.M., Siddiqui, N., Colombo, N., Bookman, M.A., Pfisterer, J., et al. (2010). Prognostic relevance of uncommon ovarian histology in women with stage III/IV epithelial ovarian cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer* 20, 945–952.
- Malpica, A., Deavers, M.T., Lu, K., Bodurka, D.C., Atkinson, E.N., Gershenson, D.M., and Silva, E.G. (2004). Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system. *Am. J. Surg. Pathol.* 28, 496–504.
- Malpica, A., Deavers, M.T., Tornos, C., Kurman, R.J., Soslow, R., Seidman, J.D., Munsell, M.F., Gaertner, E., Frishberg, D., and Silva, E.G. (2007). Interobserver and intraobserver variability of a two-tier system for grading ovarian serous carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 31, 1168–1174.

- Manenti, L., Paganoni, P., Floriani, I., Landoni, F., Torri, V., Buda, A., Taraboletti, G., Labianca, R., Belotti, D., and Giavazzi, R. (2003). Expression levels of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 in the plasma of patients with ovarian carcinoma. *Eur. J. Cancer* 39, 1948–1956.
- Marsh, T., Pietras, K., and McAllister, S.S. (2013). Fibroblasts as architects of cancer pathogenesis. *Biochim. Biophys. Acta* 1832, 1070–1078.
- Martinez-Outschoorn, U.E., Goldberg, A., Lin, Z., Ko, Y.-H., Flomenberg, N., Wang, C., Pavlides, S., Pestell, R.G., Howell, A., Sotgia, F., et al. (2011). Anti-estrogen resistance in breast cancer is induced by the tumor microenvironment and can be overcome by inhibiting mitochondrial function in epithelial cancer cells. *Cancer Biol Ther* 12, 924–938.
- Maupin, K.A., Sinha, A., Eugster, E., Miller, J., Ross, J., Paulino, V., Keshamouni, V.G., Tran, N., Berens, M., Webb, C., et al. (2010). Glycogene expression alterations associated with pancreatic cancer epithelial-mesenchymal transition in complementary model systems. *PLoS ONE* 5, e13002.
- Nagata, T., Shimada, Y., Sekine, S., Hori, R., Matsui, K., Okumura, T., Sawada, S., Fukuoka, J., and Tsukada, K. (2014). Prognostic significance of NANOG and KLF4 for breast cancer. *Breast Cancer* 21, 96–101.
- Nakagawa, H., Liyanarachchi, S., Davuluri, R.V., Auer, H., Martin, E.W., Jr, de la Chapelle, A., and Frankel, W.L. (2004). Role of cancer-associated stromal fibroblasts in metastatic colon cancer to the liver and their expression profiles. *Oncogene* 23, 7366–7377.
- Nam, E.J., Yun, M.J., Oh, Y.T., Kim, J.W., Kim, J.H., Kim, S., Jung, Y.W., Kim, S.W., and Kim, Y.T. (2010). Diagnosis and staging of primary ovarian cancer: correlation between PET/CT, Doppler US, and CT or MRI. *Gynecol. Oncol.* 116, 389–394.
- Narod, S.A., Risch, H., Moslehi, R., Dørum, A., Neuhausen, S., Olsson, H., Provencher, D., Radice, P., Evans, G., Bishop, S., et al. (1998). Oral contraceptives and the risk of hereditary ovarian cancer. Hereditary Ovarian Cancer Clinical Study Group. *N. Engl. J. Med.* 339, 424–428.
- Nilsson E. and Skinner MK. (2002) Role of transforming growth factor beta in ovarian surface epithelium biology and ovarian cancer. *Reprod Biomed Online.* 5(3), 254-8
- Nilsson, E., Doraiswamy, V., Parrott, J.A., and Skinner, M.K. (2001). Expression and action of transforming growth factor beta (TGFbeta1, TGFbeta2, TGFbeta3) in normal bovine ovarian surface epithelium and implications for human ovarian cancer. *Mol. Cell. Endocrinol.* 182, 145–155.
- No, J.H., Moon, J.M., Kim, K., and Kim, Y.-B. (2013). Prognostic significance of serum soluble CD163 level in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol. Obstet. Invest.* 75, 263–267.

- Ohtani, H., Mori □ Shiraishi, K., Nakajima, M., and Ueki, H. (2015). Defining lymphocyte □ predominant breast cancer by the proportion of lymphocyte □ rich stroma and its significance in routine histopathological diagnosis. *Pathology International* 65, 644.
- Olsen, C.M., Green, A.C., Whiteman, D.C., Sadeghi, S., Kolaheidoz, F., and Webb, P.M. (2007). Obesity and the risk of epithelial ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Cancer* 43, 690–709.
- Omura, G.A., Brady, M.F., Homesley, H.D., Yordan, E., Major, F.J., Buchsbaum, H.J., and Park, R.C. (1991). Long-term follow-up and prognostic factor analysis in advanced ovarian carcinoma: the Gynecologic Oncology Group experience. *J. Clin. Oncol.* 9, 1138–1150.
- Ordóñez, N.G. (2013). Value of GATA3 immunostaining in tumor diagnosis: a review. *Adv Anat Pathol* 20, 352–360.
- Ovarian Epithelial Cancer Treatment (PDQ®) - National Cancer Institute. 2013
- Pagès, F., Galon, J., Dieu-Nosjean, M.-C., Tartour, E., Sautès-Fridman, C., and Fridman, W.-H. (2010). Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored. *Oncogene* 29, 1093.
- Palackal, N.T., Lee, S.H., Harvey, R.G., Blair, I.A., and Penning, T.M. (2002). Activation of polycyclic aromatic hydrocarbon trans-dihydrodiol proximate carcinogens by human aldo-keto reductase (AKR1C) enzymes and their functional overexpression in human lung carcinoma (A549) cells. *J. Biol. Chem.* 277, 24799–24808.
- Penning, T.M., Burczynski, M.E., Jez, J.M., Hung, C.F., Lin, H.K., Ma, H., Moore, M., Palackal, N., and Ratnam, K. (2000). Human 3α-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms (AKR1C1-AKR1C4) of the aldo-keto reductase superfamily: functional plasticity and tissue distribution reveals roles in the inactivation and formation of male and female sex hormones. *Biochemical Journal* 351, 67.
- Perren, T.J., Swart, A.M., Pfisterer, J., Ledermann, J.A., Pujade-Lauraine, E., Kristensen, G., Carey, M.S., Beale, P., Cervantes, A., Kurzeder, C., et al. (2011). A phase 3 trial of bevacizumab in ovarian cancer. *N. Engl. J. Med.* 365, 2484–2496.
- Peters, D. med S., Hambek, M., Gstöttner, W., and Knecht, R. (2004). Tissue-Microarrays. *HNO* 52, 409–412.
- Polanska, U.M., and Orimo, A. (2013). Carcinoma □ associated fibroblasts: Non □ neoplastic tumour □ promoting mesenchymal cells. *Journal of Cellular Physiology* 228, 1651–1657.
- Puls, L.E., Duniho, T., Hunter, J.E., Kryscio, R., Blackhurst, D., and Gallion, H. (1996). The prognostic implication of ascites in advanced-stage ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 61, 109–112.

- Rebbeck, T.R., Kauff, N.D., and Domchek, S.M. (2009). Meta-analysis of Risk Reduction Estimates Associated With Risk-Reducing Salpingo-oophorectomy in BRCA1 or BRCA2 Mutation Carriers. *J Natl Cancer Inst* *101*, 80–87.
- Rice, M.S., Murphy, M.A., Vitonis, A.F., Cramer, D.W., Titus, L.J., Tworoger, S.S., and Terry, K.L. (2013). Tubal ligation, hysterectomy and epithelial ovarian cancer in the New England Case-Control Study. *Int. J. Cancer* *133*, 2415–2421.
- Robella, M., Vaira, M., Marsanic, P., Mellano, A., Borsano, A., Cinquegrana, A., Sottile, A., and De Simone, M. (2014). Treatment of peritoneal carcinomatosis from ovarian cancer by surgical cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC). *Minerva Chir* *69*, 27–35.
- Ruiz, C., Seibt, S., Kuraya, K.A., Siraj, A.K., Mirlacher, M., Schraml, P., Maurer, R., Spichtin, H., Torhorst, J., Popovska, S., et al. (2006). Tissue microarrays for comparing molecular features with proliferation activity in breast cancer. *Int. J. Cancer* *118*, 2190–2194.
- Runnebaum, I.B., and Stickeler, E. (2001). Epidemiological and molecular aspects of ovarian cancer risk. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* *127*, 73–79.
- S. Stremitzer, A.S. Berghoff, N.B. Volz, W. Zhang, D. Yang, S. Stintzing, Y. Ning, Y. Sunakawa, S. Yamauchi, A. Sebio, S. Matsusaka, S. Okazaki, D. Hanna, A. Parekh, A. Mendez, M. D. Berger, R. El-Khoueiry, P. Birner, M. Preusser and H-J. Lenz (2015). Genetic variants associated with colorectal brain metastases susceptibility and survival. *The Pharmacogenomics J.*
- Safra, T., Grisaru, D., Inbar, M., Abu-Abeid, S., Dayan, D., Matceyevsky, D., Weizman, A., and Klausner, J.M. (2014). Cytoreduction surgery with hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in recurrent ovarian cancer improves progression-free survival, especially in BRCA-positive patients-A case-control study. *J Surg Oncol.*
- Schauer, I.G., Sood, A.K., Mok, S., and Liu, J. (2011). Cancer-Associated Fibroblasts and Their Putative Role in Potentiating the Initiation and Development of Epithelial Ovarian Cancer. *Neoplasia* *13*, 393–405.
- Schmider, A., Gee, C., Friedmann, W., Lukas, J.J., Press, M.F., Lichtenegger, W., and Reles, A. (2000). p21 (WAF1/CIP1) protein expression is associated with prolonged survival but not with p53 expression in epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol. Oncol.* *77*, 237–242.
- Sehouli, J., Richter, R., Braicu, E.I., Bühling, K.J., Bahra, M., Neuhaus, P., Lichtenegger, W., and Fotopoulou, C. (2010). Role of secondary cytoreductive surgery in ovarian cancer relapse: who will benefit? A systematic analysis of 240 consecutive patients. *J Surg Oncol* *102*, 656–662.

- Sellers, T.A., Huang, Y., Cunningham, J., Goode, E.L., Sutphen, R., Vierkant, R.A., Kelemen, L.E., Fredericksen, Z.S., Liebow, M., Pankratz, V.S., et al. (2008). Association of Single Nucleotide Polymorphisms in Glycosylation Genes with Risk of Epithelial Ovarian Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology *17*, 397.
- Serrano-Olvera, A., Dueñas-González, A., Gallardo-Rincón, D., Candelaria, M., and De la Garza-Salazar, J. (2006). Prognostic, predictive and therapeutic implications of HER2 in invasive epithelial ovarian cancer. *Cancer Treat. Rev.* *32*, 180–190.
- Singer, C.F., Gschwantler-Kaulich, D., Fink-Retter, A., Haas, C., Hudelist, G., Czerwenka, K., and Kubista, E. (2008). Differential gene expression profile in breast cancer-derived stromal fibroblasts. *Breast Cancer Res. Treat.* *110*, 273–281.
- Singer, C.F., Kronsteiner, N., Marton, E., Kubista, M., Cullen, K.J., Hirtenlehner, K., Seifert, M., and Kubista, E. (2002). MMP-2 and MMP-9 expression in breast cancer-derived human fibroblasts is differentially regulated by stromal-epithelial interactions. *Breast Cancer Res. Treat.* *72*, 69–77.
- Singh, N., Ayhan, A., Menon, U., Chin Aleong, J.A., Faruqi, A.Z., Gayther, S.A., and Jacobs, I.J. (2008). Grading of serous ovarian carcinoma: further evidence of a lack of agreement between conventional grading systems. *Histopathology* *52*, 393–395.
- Smith, E.R., and Xu, X.-X. (2008). Ovarian ageing, follicle depletion, and cancer: a hypothesis for the aetiology of epithelial ovarian cancer involving follicle depletion. *Lancet Oncol* *9*, 1108–1111.
- Stark, D., Nankivell, M., Pujade-Lauraine, E., Kristensen, G., Elit, L., Stockler, M., Hilpert, F., Cervantes, A., Brown, J., Lanceley, A., et al. (2013). Standard chemotherapy with or without bevacizumab in advanced ovarian cancer: quality-of-life outcomes from the International Collaboration on Ovarian Neoplasms (ICON7) phase 3 randomised trial. *Lancet Oncol.* *14*, 236–243.
- Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., and Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* *131*, 861–872.
- Tang, B., Vu, M., Booker, T., Santner, S.J., Miller, F.R., Anver, M.R., and Wakefield, L.M. (2003). TGF- β switches from tumor suppressor to prometastatic factor in a model of breast cancer progression. *J Clin Invest* *112*, 1116–1124.
- Tang, Y., Nakada, M.T., Kesavan, P., McCabe, F., Millar, H., Rafferty, P., Bugelski, P., and Yan, L. (2005). Extracellular matrix metalloproteinase inducer stimulates tumor angiogenesis by elevating vascular endothelial cell growth factor and matrix metalloproteinases. *Cancer Res.* *65*, 3193–3199.
- Taniuchi, K., Cerny, R.L., Tanouchi, A., Kohno, K., Kotani, N., Honke, K., Saibara, T., and Hollingsworth, M.A. (2011). Overexpression of GalNAc-transferase GalNAc-T3 promotes pancreatic cancer cell growth. *Oncogene* *30*, 4843–4854.

- The Human Protein Atlas. 2013 - Gene – NCBI.
- Thigpen, T., Brady, M.F., Omura, G.A., Creasman, W.T., McGuire, W.P., Hoskins, W.J., and Williams, S. (1993). Age as a prognostic factor in ovarian carcinoma. The Gynecologic Oncology Group experience. *Cancer* 71, 606–614.
- Tingulstad, S., Skjeldestad, F.E., and Hagen, B. (2003). The effect of centralization of primary surgery on survival in ovarian cancer patients. *Obstet Gynecol* 102, 499–505.
- Togo, S., Polanska, U.M., Horimoto, Y., and Orimo, A. (2013). Carcinoma-Associated Fibroblasts Are a Promising Therapeutic Target. *Cancers (Basel)* 5, 149–169.
- Torhorst, J., Bucher, C., Kononen, J., Haas, P., Zuber, M., Köchli, O.R., Mross, F., Dieterich, H., Moch, H., Mihatsch, M., et al. (2001). Tissue Microarrays for Rapid Linking of Molecular Changes to Clinical Endpoints. *Am J Pathol* 159, 2249–2256.
- Trimbos, J.B., Vergote, I., Bolis, G., Vermorken, J.B., Mangioni, C., Madronal, C., Franchi, M., Tateo, S., Zanetta, G., Scarfone, G., et al. (2003). Impact of adjuvant chemotherapy and surgical staging in early-stage ovarian carcinoma: European Organisation for Research and Treatment of Cancer-Adjuvant ChemoTherapy in Ovarian Neoplasm trial. *J. Natl. Cancer Inst.* 95, 113–125.
- Tsuchida, A., Okajima, T., Furukawa, K., Ando, T., Ishida, H., Yoshida, A., Nakamura, Y., Kannagi, R., Kiso, M., and Furukawa, K. (2003). Synthesis of disialyl Lewis a (Le(a)) structure in colon cancer cell lines by a sialyltransferase, ST6GalNAc VI, responsible for the synthesis of alpha-series gangliosides. *J. Biol. Chem.* 278, 22787–22794.
- Veljković, M., and Veljković, S. (2010). [The risk of breast cervical, endometrial and ovarian cancer in oral contraceptive users]. *Med. Pregl.* 63, 657–661.
- Vergote, I. (2001). Prognostic factors in stage I ovarian carcinoma. *Verh. K. Acad. Geneesk. Belg.* 63, 257–271; discussion 272–276.
- Vlahos, N.F., Economopoulos, K.P., and Creatsas, G. (2010). Fertility drugs and ovarian cancer risk: a critical review of the literature. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1205, 214–219.
- Wakabayashi, M.T., Lin, P.S., and Hakim, A.A. (2008). The role of cytoreductive/debulking surgery in ovarian cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 6, 803–810; quiz 811.
- Wang, Z.-Q., Bachvarova, M., Morin, C., Plante, M., Gregoire, J., Renaud, M.-C., Sebastianelli, A., and Bachvarov, D. (2014). Role of the polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 3 in ovarian cancer progression: possible implications in abnormal mucin O-glycosylation. *Oncotarget* 5, 544.
- Wenners, A., Hartmann, F., Jochens, A., Roemer, A.M., Alkatout, I., Klapper, W., van Mackelenbergh, M., Mundhenke, C., Jonat, W., and Bauer, M. (2015). Stromal markers AKR1C1 and AKR1C2 are prognostic factors in primary human breast cancer. *International Journal of Clinical Oncology*.

- Whittemore, A.S., Harris, R., and Itnyre, J. (1992). Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. IV. The pathogenesis of epithelial ovarian cancer. Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am. J. Epidemiol.* *136*, 1212–1220.
- Winter-Roach, B.A., Kitchener, H.C., and Lawrie, T.A. (2012). Adjuvant (post-surgery) chemotherapy for early stage epithelial ovarian cancer. *Cochrane Database Syst Rev* *3*, CD004706.
- Wong, C., Wellman, T.L., and Lounsbury, K.M. (2003). VEGF and HIF-1alpha expression are increased in advanced stages of epithelial ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* *91*, 513–517.
- Wouters, M.C.A., Komdeur, F.L., Workel, H.H., Klip, H.G., Plat, A., Kooi, N.M., Wisman, G.B.A., Mourits, M.J.E., Arts, H.J.G., Oonk, M.H.M., et al. (2016). Treatment Regimen, Surgical Outcome, and T-cell Differentiation Influence Prognostic Benefit of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Clinical Cancer Research* *22*, 714–724
- Yang, W.-T., and Zheng, P.-S. (2012). Krüppel-like factor 4 functions as a tumor suppressor in cervical carcinoma. *Cancer* *118*, 3691–3702.
- Yoon, O., and Roh, J. (2012). Downregulation of KLF4 and the Bcl-2/Bax ratio in advanced epithelial ovarian cancer. *Oncol Lett* *4*, 1033–1036.
- Young, R.C., Walton, L.A., Ellenberg, S.S., Homesley, H.D., Wilbanks, G.D., Decker, D.G., Miller, A., Park, R., and Major, F. (1990). Adjuvant Therapy in Stage I and Stage II Epithelial Ovarian Cancer. *New England Journal of Medicine* *322*, 1021–1027.
- Zhang, Y., Tang, H., Cai, J., Zhang, T., Guo, J., Feng, D., and Wang, Z. (2011). Ovarian cancer-associated fibroblasts contribute to epithelial ovarian carcinoma metastasis by promoting angiogenesis, lymphangiogenesis and tumor cell invasion. *Cancer Lett.* *303*, 47–55.
- Zhang, Z., Huang, J., Zhang, C., Yang, H., Qiu, H., Li, J., Liu, Y., Qin, L., Wang, L., Hao, S., et al. (2015). Infiltration of dendritic cells and T lymphocytes predicts favorable outcome in epithelial ovarian cancer. *Cancer Gene Therapy* *22*, 198–206.
- Zhang, Z., Wang, Z., Liu, X., Shi, M., Chen, G., Zhang, B., Li, Z., and Song, L. (2012). [Correlation of KLF4 and SPARC expression with the clinical characteristics of non-small cell lung cancer]. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi* *15*, 720–724.
- Zhou, S., Tang, L., Wang, H., Dai, J., Zhang, J., Shen, L., Ng, S.-W., and Berkowitz, R.S. (2013). Overexpression of c-Abl predicts unfavorable outcome in epithelial ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.*
- Zohre, S., Kazem, N.-K., Abolfazl, A., Mohammad, R.-Y., Aliakbar, M., Effat, A., Zahra, D., Hassan, D., and Nosratollah, Z. (2014). Trichostatin A-induced apoptosis is mediated by Kruppel-like factor 4 in ovarian and lung cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* *15*, 6581–6586.

Anhang

Tabelle 8: Beschreibung des Patientenkollektivs

	n	%
Alter (Jahre)		
<40	31	7,1
>40- 50	97	22,1
>50- 60	121	27,6
>60- 70	153	34,9
>70	37	8,4
Median= 58		
ECOG		
0	194	44,2
1	213	48,5
2	32	7,3
Ursprung des Tumors		
Ovar	397	90,4
Eileiter	17	3,9
primär peritoneal	25	6,5
Histologie		
CCC	24	5,5
LGSC	10	2,3
HGSC	367	83,6
endometrioid	10	2,3
SBOT	15	3,4
andere	13	3

	n		%	
FIGO- Stadium				
I- IIA	34		7,7	
IIB/ IIC	32		7,3	
IIIA	16		3,6	
IIIB	22		5	
IIIC	263		59,9	
III/ IV	72		16,4	
Differenzierung				
gut	20		4,6	
mässig	115		26,3	
wenig	303		69,2	
Postoperativer Tumorrest				
< 1cm	340		77,8	
>/= 1cm	97		22,2	
Hohes Progressionsrisiko*				
ja	70		15,9	
nein	369		84,1	
FIGO- Stadium und postop.Tumorrest	< 1cm	>/= 1cm	< 1cm	>/= 1cm
I- IIA	32	2	94,1	5,9
IIB/ IIC	30	2	93,7	6,3
IIIA	16	0	100	0
IIIB	22	0	100	0
IIIC	198	63	75,9	24,1
III/ IV	42	30	58,3	41,7
Therapie**				
Standard CTX	215		49	
Studien CTX	224		51	

* FIGO Stadium IV oder III und zusätzlichen postoperativen Tumorrest >/= 1cm

** Standardchemotherapie (6 Zyklen Carboplatin/ Paclitaxel; Studientherapie (Standardchemotherapie+ 5-6 Zyklen Bevacizumab und anschliessende Monotherapie für 12 Monate)

Tabelle 9: Beschreibung der Stromamorphologie

	n	%
Stromaproportion		
-33%	352	80,2
-66%	47	10,7
>66%	40	9,1
Zellreichtum		
zellarm	5	1,2
mittel	94	21,4
zellreich	340	77,5
Stromainfiltration		
keines	136	31
mäßig	219	49,9
ausgeprägt	84	19,1

Tabelle 10: Beschreibung der Markerexpression*

Marker	Expression in Stromazellen		Expression in Tumorzellen		Expression in anderen Kompartimenten	
	n	%	n	%	n	%
AKR1C1						
negativ	19	4,3	8	1,9	8	1,9
positiv	420	95,7	431	98,1	431	98,1
schwach	50	11,3	7	1,7		
mäßig	106	24,1	28	6,4		
stark	264	60,3	395	90,1		
AKR1C2						
negativ	28	6,4	101	23	29	6,7
positiv	411	93,6	338	77	410	93,3
schwach	32	7,2	21	4,8		
mäßig	55	12,6	101	23		
stark	324	73,7	216	49,2		
GALNT3						
negativ	47	10,8	50	11,3	18	4,2
positiv	391	89,2	359	88,7	421	95,8
schwach	37	8,5	5	1,2		
mäßig	104	23,8	106	24,1		
stark	249	56,8	278	63,4		
GATA3						
negativ	67	15,2	49	11,2	36	8,3
positiv	372	84,8	390	88,8	403	91,7

Marker	Expression in Stromazellen		Expression in Tumorzellen		Expression in anderen Kompartimenten	
	n	%	n	%	n	%
schwach	58	13,3	8	1,9		
mäßig	136	31	96	21,9		
stark	178	40,5	286	65,1		
KLF4						
negativ	38	8,7	6	1,4	2	0,5
positiv	401	91,3	433	98,6	437	99,5
schwach	64	14,6	6	1,4		
mäßig	180	41	66	15		
stark	156	35,6	361	82,2		
ST6GALNAC5						
negativ	189	43,1	176	40,1	43	9,9
positiv	250	56,9	263	59,9	396	90,1
schwach	79	18,1	18	4		
mäßig	111	25,2	99	22,5		
stark	60	13,6	146	33,3		
TGF-β2						
negativ	129	29,4	132	30,1	96	21,9
positiv	310	70,6	307	69,9	343	78,1
	n	%	n	%		
schwach	112	25,4	23	5,2		
mäßig	120	27,3	207	47,1		
stark	78	17,9	77	17,6		

* Die Expression wurde anhand des Allred-Scores beurteilt: (negativ= 0 Pkt.; positiv= 2-8 Pkt., schwach= 2-4 Pkt., mäßig= 5-6 Pkt., stark= 7-8 Pkt.)

Tabelle 11: Assoziation der Markerexpression in Stromafibroblasten und Tumorzellen

Marker	Kendall-Korrelationskoeffizient	p-Wert
AKR1C1	0,3844	< 0,001
AKR1C2	0,4708	< 0,001
GALNT3	0,5313	< 0,001
GATA3	0,573	< 0,001
KLF4	0,3401	< 0,001
ST6GALNAC5	0,6955	< 0,001
TGF- β 2	0,4462	< 0,001

Korrelationskoeffizient: 0,25- 0,55= schwach; 0,5-0,75= moderat; 0,75- <1= stark; 1,0= perfekt

Tabelle 12: Korrelation der Stromamorphologie mit klinisch-pathologischen Parametern

Variable	Stromaproportion n (%)				Stromazellreichtum n (%)				Stromainfiltrat n (%)			
	-33%	-66%	>66%	p-Wert	zell-arm	mittel	zell-reich	p-Wert	Kein	gering	deutlich	p-Wert
Alter												
-40	21 (6,8)	3 (7,3)	3 (8,6)	0,592	0 (0)	3 (3,3)	27 (8,2)	0,072	10 (7,6)	17 (8)	3 (3,7)	0,166
>40- 50	72 (23,4)	8 (19,5)	5 (14,3)		1 (20)	18 (19,8)	74 (22,4)		23 (17,4)	44 (20,8)	26 (32,1)	
>50- 60	80 (26)	17 (41,5)	9 (25,7)		2 (40)	17 (18,7)	96 (29,1)		35 (26,5)	55 (25,9)	25 (30,9)	
>60- 70	107 (34,7)	11 (26,8)	14 (40)		2 (40)	39 (42,9)	110 (33,3)		50 (37,9)	80 (37,7)	20 (24,7)	
>70	28 (9,1)	2 (4,9)	4 (11,4)		0 (0)	14 (15,4)	23 (7)		14 (10,6)	16 (7,6)	7 (8,6)	
Gesamt	308 (100)	82 (100)	35 (100)		4 (100)	91 (100)	330 (100)		132	212	81	
ECOG												
0	136 (44,2)	20 (48,8)	14 (40)	0,222	1 (20)	41 (45,1)	145 (43,9)	0,527	52 (39,4)	92 (43,4)	42 (51,9)	0,23
1	146 (47,4)	21 (51,2)	16 (45,7)		4 (80)	41 (45,1)	162 (49,1)		66 (50)	108 (50,9)	33 (40,8)	
2	26 (8,4)	0 (0)	5 (14,3)		0 (0)	9 (9,9)	23 (7)		14 (10,6)	12 (5,7)	6 (7,4)	
Tumorursprung												
Ovar	284 (92,2)	34 (82,9)	32 (89,4)	0,008	5 (100)	84 (92,3)	295 (89,4)	0,7	120 (90,9)	191 (90,1)	73 (90,1)	0,58
Eileiter	15 (4,9)	1 (2,4)	0 (0)		0 (0)	4 (4,4)	13 (3,9)		3 (2,3)	9 (4,3)	5 (6,2)	
Prim. peritoneal	9 (2,9)	6 (14,6)	3 (8,6)		0 (0)	3 (3,3)	22 (6,7)		9 (6,8)	12 (5,7)	3 (3,7)	

Variable	Stromaproportion n (%)				Stromazellreichtum n (%)				Stromainfiltrat n (%)			
	-33%	-66%	>66%	p-Wert	zell-arm	mittel	zell-reich	p-Wert	Kein	gering	deutlich	p-Wert
Histologie												
CCC	12 (3,9)	3 (7,3)	3 (8,6)	0,35	3 (60)	9 (9,9)	10 (3)	0,001	9 (6,8)	10 (4,7)	3 (3,7)	0,7
LGSC	5 (1,6)	2 (4,9)	2 (5,7)		0 (0)	2 (2,2)	7 (2,1)		3 (2,3)	5 (2,4)	1 (1,2)	
HGSC	266 (86,4)	34 (82,9)	29 (82,9)		0 (0)	77 (84,6)	283 (85,8)		107 (81,1)	181 (85,4)	71 (87,6)	
endo	10 (3,3)	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	10 (3)		4 (3,1)	4 (1,9)	2 (2,5)	
SBOT	6 (2)	0 (0)	1 (2,7)		1 (20)	2 (2,2)	10 (3,3)		5 (3,8)	8 (3,8)	0 (0)	
andere	9 (2,9)	2 (4,9)	0 (0)		1 (20)	1 (1,1)	10 (3)		4 (3)	4 (1,9)	4 (4,9)	
FIGO- Stadium												
I-IIA	26 (8,4)	1 (2,4)	2 (5,7)	0,58	3 (60)	3 (3,3)	28 (8,5)	0,007	10 (7,6)	12 (5,7)	12 (14,8)	0,13
IIB- IIC	24 (7,8)	3 (7,3)	2 (5,7)		0 (0)	6 (6,6)	25 (7,6)		10 (7,58)	18 (8,5)	3 (3,7)	
IIIA	9 (2,9)	3 (4,4)	0 (0)		1 (20)	4 (4,4)	8 (2,4)		7 (5,3)	4 (1,9)	2 (2,5)	
IIIB	17 (5,5)	3 (7,3)	0 (0)		0 (0)	4 (4,4)	18 (5,5)		5 (3,8)	12 (5,7)	5 (6,2)	
IIIC	183(5 9,4)	24 (58,5)	24 (68,6)		1 (20)	61 (67)	195 (59,1)		73 (55,3)	136 (64,2)	47 (58)	
III/ IV	49 (15,9)	7 (17,1)	7 (20)		0 (0)	13 (14,3)	56 (17)		27 (20,5)	30 (14,2)	12 (14,8)	
Differenzierung												
gut	8 (2,6)	2 (4,9)	2 (5,79)	0,10	1 (20)	4 (4,4)	13 (4)	0,01	6 (4,6)	12 (5,7)	0 (0)	0,19
mäßig	74 (24,1)	10 (24,4)	15 (42,9)		0 (0)	17 (18,7)	93 (28,3)		36 (27,3)	56 (26,5)	18 (22,2)	

Variable	Stromaproportion n (%)				Stromazellreichtum n (%)				Stromainfiltrat n (%)			
	-33%	-66%	>66%	p-Wert	zell-arm	mittel	zell-reich	p-Wert	Kein	gering	deutlich	p-Wert
wenig	225 (73,3)	29 (70,7)	18 (51,4)		4 (80)	70 (76,9)	223 (67,8)		90 (68,2)	143 (67,8)	63 (77,8)	
postop. Tumorrest												
<1cm	247 (80,5)	30 (73,2)	26 (76,5)	0,49	4 (80)	66 (72,5)	260 (79,3)	0,39	98 (74,2)	159 (75,7)	72 (88,9)	0,03
>=1cm	60 (19,5)	11 (26,8)	8 (23,5)		1 (20)	25 (27,5)	68 (20,7)		34 (25,8)	51 (24,3)	9 (11,1)	
Platinsensibilität*												
nein	183 (59,4)	23 (56,1)	18 (51,4)	0,63	5 (100)	49 (53,9)	194 (58,8)	0,11	82 (62,1)	116 (54,7)	50 (61,7)	0,32
ja	125 (40,6)	18 (43,9)	17 (48,6)		0	42 (46,2)	136 (41,2)		50 (37,9)	96 (45,3)	31 (38,3)	

* Platinsensibilität: Tumorprogress nach frühestens 6 Monaten nach Abschluss der letzten Chemotherapie (Carboplatin/ Paclitaxel)

Tabelle 13: Korrelation der Markerexpression mit klinisch-pathologischen Parametern

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
AKR1C1									
Alter			0,514			0,182			0,199
<40	30 (7,4)	0		28 (6,7)	2 (25)		30 (7,2)	0 4	
>40-50	87 (21,5)	6 (33,3)		91 (21,9)	2 (25)		89 (21,3)	(50) 0	
>50-60	111 (27,4)	3 (16,7)		115 (27,6)	0		115 (27,6)	3 (37,5)	
>60-70	142 (35,1)	7 (38,9)		146 (35,1)	3 (37,5)		147 (35,3)	1 (12,5)	
>70	35 (8,6)	2 (11,1)		36 (8,7)	1 (12,5)		36 (8,6)		
ECOG			0,928			0,894			0,654
0	176 (43,5)	9 (50)		181 (43,5)	4 (50)		183 (43,9)	3 (37,5)	
1	199 (49,1)	8 (44,4)		204 (49)	3 (37,5)		202 (48,4)	5 (62,5)	
2	30 (7,4)	1 (5,6)		31(87,5)	1 (12,5)		32 (7,7)	0	
Tumorursprung			0,17			1			0,166
Ovar	367 (90,6)	16 (88,9)		376 (90,4)	8 (100)		378 (90,7)	6 (75)	
Eileiter	15 (3,7)	2 (11,1)		17 (4,1)	0		16 (3,8)	1 (12,5)	
Prim. peritoneal	23 (5,7)	0		23 (5,5)	0		23 (5,5)	1 (12,5)	
Histologie			0,278			0,27			0,178
CCC	21 (5,2)	1 (5,6)		21 (5,1)	1 (12,5)		22 (5,3)	0	

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
LGSC	9 (2,2)	0		8 (1,9)	1 (12,5)		9 (2,2)	0	
HGSC	343 (84,7)	14 (77,8)		352 (84,6)	6 (75)		353 (84,7)	6 (75)	
endo	1 (2,2)	9 (5,6)		10 (2,4)	0		9 (2,2)	1 (12,5)	
SBOT	13 (3,2)	0		13 (3,1)	0		13 (3,1)	0	
andere	10 (2,5)	2 (11,1)		12 (2,9)	0		11 (2,6)	1 (12,5)	
FIGO-Stadium			0,992			0,224			0,772
I-IIA	33 (8,2)	1 (5,6)		34 (8,2)	0		34 (8,2)	0	
IIB-IIC	30 (7,4)	1 (5,6)		31 (7,59)	0		31 (7,4)	0	
IIIA	13 (3,2)	0		12 (2,9)	1 (12,5)		13 (3,1)	0	
IIIB	20 (4,9)	1 (5,6)		22 (5,3)	0		22 (5,3)	0	
IIIC	243 (60)	12 (66,7)		248 (59,6)	7 (87,5)		250 (60)	6 (75)	
III/ IV	66 (16,3)	3 (16,7)		69 (16,6)	0		67 (16,1)	2 (25)	
Differenzierung			0,786			0,78			1
gut	18 (4,5)	0		18 (4,3)	0		18 (4,3)	0	
mäßig	105 (26)	5 (27,8)		107 (25,8)	3 (37,5)		108 (26)	2 (25)	
wenig	281 (69,6)	13 (72,2)		290 (69,9)	5 (62,5)		290 (69,7)	6 (75)	

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
postop. Tumorrest			0,138			1			0,678
< 1cm	311 (77,2)	17 (94,4)		323 (78)	6 (75)		323 (77,8)	7 (87,5)	
> 1cm	92 (22,8)	1 (5,6)		91 (22)	2 (25)		92 (22,2)	1 (12,5)	
Platinsensibilität			0,229			1			0,485
ja	166 (50)	10 (55,6)		242 (58,2)	5 (62,5)		176 (42,2)	1 (12,5)	
nein	239 (59)	8 (44,4)		174 (41,8)	3 (37,5)		241 (57,8)	6 (75)	
AKR1C2									
Alter			0,511			0,352			0,507
<40	28 (7,1)	2 (7,4)		25 (7,7)	5 (5,2)		29 (7,4)	1 (3,6)	
> 40-50	9 (33,3)	82 (20,9)		63 (19,4)	28 (28,9)		82 (20,9)	9 (32,1)	
> 50-60	109 (27,8)	5 (18,5)		88 (27,2)	26 (26,8)		108 (27,5)	6 (21,4)	
> 60-70	139 (35,5)	10(37,4)		119 (36,7)	31 (32)		139 (35,4)	11 (39,3)	
> 70	34 (8,7)	1 (3,7)		29 (9)	7 (7,2)		35 (8,9)	1 (3,6)	
ECOG			0,424			0,613			0,16
0	166 (42,3)	15 (55,7)		136 (42)	46 (47,4)		165 (42)	16 (57,1)	
1	195 (49,7)	11 (40,7)		162 (50)	45 (46,4)		196 (49,9)	12 (42,9)	
2	31 (7,9)	1 (3,7)		26 (8)	6 (6,2)		32 (8,1)	0	

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
Tumorursprung			0,308			0,874			0,702
Ovar	354 (90,3)	25 (92,6)		291 (89,8)	89 (91,8)		355 (90,3)	25 (89,3)	
Eileiter	15 (3,8)	2 (7,4)		14 (4,3)	3 (3,1)		15 (3,8)	2 (7,1)	
Prim. peritoneal	23 (5,9)	0		19 (5,9)	5 (5,2)		23 (5,9)	1 (3,6)	
Histologie			0,789			0,638			0,587
CCC	20 (5,1)	0		14 (4,3)	6 (6,2)		21 (5,3)	0	
LGSC	8 (2)	1 (3,7)		7 (2,2)	2 (2,1)		8 (2)	1 (3,6)	
HGSC	331 (84,4)	24 (88,9)		277 (85,5)	80 (82,5)		330 (84)	26 (92,9)	
endo	10 (2,6)	0		8 (2,5)	2 (2,1)		10 (2,5)	0	
SBOT	12 (3,1)	1 (3,7)		11 (3,4)	2 (2,1)		12 (3,1)	1 (3,6)	
andere	11 (2,8)	1 (3,7)		7 (2,2)	5 (5,2)		12 (3,1)	0	
FIGO-Stadium			0,451			0,790			0,875
I-IIA	28 (7,1)	3 (11,1)		24 (7,4)	7 (7,2)		30 (7,6)	2 (7,1)	
IIB-IIC	27 (6,9)	3 (11,1)		24 (7,4)	6 (6,2)		28 (7,1)	2 (7,1)	
IIIA	13 (3,3)	0		11 (3,2)	2 (2,1)		13 (3,3)	0	
IIIB	18 (4,6)	3 (11,1)		15 (4,6)	7 (7,22)		20 (5,1)	2 (7,1)	

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
IIIC	241 (61,5)	14 (51,9)		194 (59,9)	62 (63,9)		236 (60,1)	19 (67,9)	
III/ IV	65 (16,6)	4 (14,8)		56 (17,3)	13 (13,4)		66 (16,8)	3 (10,7)	
Differenzierung			0,7			0,754			0,32
gut	16 (4,1)	2 (7,4)		14 (4,3)	4 (4,1)		16 (4,1)	2 (7,1)	
mäßig	103 (26,3)	6 (22,2)		81 (25,1)	28 (28,9)		105 (26,8)	4 (14,3)	
wenig	272 (69,6)	19 (70,4)		228 (70,6)	65 (67)		271 (69,1)	22 (78,6)	
postop. Tumorrest			0,014			0,192			0,359
< 1cm	298 (76,4)	26 (96,3)		245 (76,1)	80 (82,5)		302 (77,2)	24 (85,7)	
> 1cm	92 (23,6)	1 (3,7)		77 (23,9)	17 (17,5)		89 (22,8)	4 (14,3)	
Platinsensibilität			0,846			0,404			0,434
ja	165 (42,1)	12 (44,4)		133 (41,1)	45 (46,4)		163 (41,5)	14 (50)	
nein	227 (58)	15 (55,6)		191 (59)	52 (53,6)		230 (58,5)	14 (50)	
GALNT3									
Alter			0,348			0,038			0,078
<40	29 (7,7)	1 (2,17)		29 (7,7)	1 (2,1)		30 (7,4)	0	
> 40-50	80 (21,2)	13 (28,3)		79 (21)	14 (29,2)		86 (21,2)	7 (38,9)	
> 50-60	107 (28,3)	9 (19,6)		110 (29,3)	6 (12,5)		115 (28,3)	1 (5,6)	

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
> 60-70	130 (34,4)	19 (41,3)		126 (33,5)	23 (47,9)		140 (43,5)	9 (50)	
> 70	32 (8,5)	4 (8,7)		32 (8,5)	4 (8,3)		35 (8,6)	1 (5,6)	
ECOG			0,073			0,883			1
0	161 (42,6)	24 (52,2)		163 (43,4)	22 (45,8)		177 (43,6)	8 (44,4)	
1	191 (34,8)	16 (34,8)		185 (49,2)	22 (45,8)		198 (48,8)	9 (50)	
2	26 (6,9)	6 (13)		28 (7,5)	4 (8,3)		31 (7,6)	1 (5,6)	
Tumorursprung			0,567			0,417			0,155
Ovar	340 (90)	43 (93,5)		339 (90,2)	44 (91,7)		367 (90,4)	16 (88,9)	
Eileiter	15 (4)	2 (4,4)		14 (3,7)	3 (6,3)		15 (3,7)	2 (11,1)	
Prim. peritoneal	23 (6,1)	1 (2,2)		13 (6,1)	1 (20,1)		24 (5,9)	0	
Histologie			0,807			0,331			0,829
CCC	20(5,3)	2 (4,4)		20 (5,3)	2 (4,17)		21 (5,2)	1 (5,6)	
LGSC	8 (2,1)	1 (2,2)		8 (2,1)	1 (2,1)		9 (2,2)	0	
HGSC	318 (84,1)	40 (87)		318 (84,6)	40 (83,3)		342 (84,2)	16 (88,9)	
endo	8 (2,1)	2 (4,4)		7 (1,9)	2 (6,3)		9 (2,1)	1 (5,6)	
SBOT	13 (3,5)	0 (0)		11 (2,9)	2 (4,2)		13 (3,2)	0	

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
andere	11 (2,9)	1 (2,2)		12 (3,2)	0		12 (3)	0	
FIGO-Stadium			0,766			0,937			0,162
I-IIA	30 (7,9)	4 (8,7)		29 (7,7)	5 (10,4)		30 (7,4)	4 (22,2)	
IIB-IIC	28 (7,4)	2 (4,4)		28 (7,5)	2 (4,2)		30 (7,4)	0	
IIIA	11 (2,9)	2 (4,4)		12 (3,2)	1 (2,1)		12 (3)	1 (5,6)	
IIIB	21 (5,6)	1 (2,2)		20 (5,3)	2 (4,2)		22 (5,4)	0	
IIIC	225 (59,5)	31 (59,5)		226 (60,1)	30 (62,5)		246 (60,6)	10 (55,6)	
III/ IV	63 (16,7)	6 (13)		61 (16,2)	8 (16,7)		66 (16,3)	3 (16,7)	
Differenzierung			0,364			0,459			0,19
gut	18 (4,8)	0 (0)		17 (4,5)	1 (2,1)		18 (4,4)	0	
mäßig	98 (26)	12 (26,1)		100 (26,7)	10 (20,8)		108 (26,7)	2 (11,1)	
wenig	261 (69,2)	34 (73,9)		258 (68,8)	37 (77,1)		279 (68,9)	16 (88,9)	
postop. Tumorrest			0,136			0,859			0,145
< 1cm	289 (76,9)	40 (87)		291 (77,8)	38 (79,1)		312 (77,2)	17 (94,4)	
> 1cm	87 (23,1)	6 (13)		83 (22,2)	37 (77,1)		92 (22,8)	1 (5,6)	
Platinsensibilität			0,649			1			0,822

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
ja	158 (54,4)	21 (45,7)		159 (42,3)	20 (41,7)		172 (42,4)	7 (83,9)	
nein	220 (58,2)	25 (54,4)		217 (57,7)	28 (58,3)		234 (57,6)	11 (61,1)	
GATA3									
Alter									
<40	26 (7,3)	4 (6,3)		28 (7,5)	2 (4,3)		28 (7,3)	2 (5,7)	
> 40-50	79 (22,2)	12 (18,8)		82 (22)	9 (19,2)		85 (22,1)	6 (17,1)	
> 50-60	96 (27)	18 (28,1)		99 (26,5)	16 (34)		101 (26,3)	13 (37,1)	
> 60-70	123 (34,6)	26 (40,6)		130 (34,8)	19 (40,4)		136 (35,3)	13 (73,1)	
> 70	32 (9)	4 (6,3)		35 (9,4)	1 (2,1)		35 (9,1)	1 (2,9)	
ECOG			0,014			0,105			0,115
0	148 (41,6)	35 (54,7)		158 (42,3)	26 (55,3)		162 (42,1)	21 (60)	
1	184 (51,7)	21 (32,8)		189 (50,5)	16 (34,4)		192 (49,9)	13 (37,1)	
2	24 (6,7)	8 (12,5)		27 (7,2)	5 (10,6)		31 (8,1)	1 (2,9)	
Tumorursprung			0,341			0,772			0,754
Ovar	318 (89,3)	61 (95,3)		336 (89,8)	44 (93,6)		346 (89,9)	33 (94,3)	
Eileiter	16 (4,5)	1 (1,6)		16 (4,3)	1 (2,1)		16 (4,2)	1 (2,9)	

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
prim. peritoneal	22 (6,2)	2 (3,1)		22 (5,9)	2 (4,3)		23 (6)	1 (2,9)	
Histologie			0,162			0,646			0,416
CCC	20 (5,6)	1 (1,6)		20 (5,4)	1 (2,1)		21 (5,5)	0	
LGSC	6 (1,7)	2 (3,1)		8 (2,1)	1 (2,1)		7 (1,8)	1 (2,9)	
HGSC	298 (83,7)	59 (92,1)		315 (84,2)	42 (89,4)		324 (84,2)	33 (94,3)	
endo	8 (2,3)	2 (3,1)		8 (2,1)	2 (4,3)		9 (2,3)	1 (2,9)	
SBOT	12 (2,3)	0 (0)		11 (2,9)	1 (2,1)		12 (3,1)	0	
andere	12 (3,4)	0 (0)		12 (3,2)	0		12 (3,1)	0	
FIGO-Stadium			0,889			0,776			0,645
I-IIA	28 (7,9)	4 (6,3)		29 (7,8)	3 (6,4)		30 (7,8)	2 (5,7)	
IIB-IIC	24 (6,7)	6 (9,4)		28 (7,5)	3 (6,4)		27 (7)	3 (8,6)	
IIIA	12 (3,4)	1 (1,6)		12 (3,2)	1 (2,1)		13 (3,4)	0	
IIIB	18 (5,1)	4 (6,25)		21 (5,6)	1 (2,1)		21 (5,5)	1 (2,9)	
IIIC	214 (60,1)	40 (62,5)		221 (59,1)	33 (70,2)		229 (59,5)	25 (71,4)	
III/ IV	60 (16,9)	9 (14,1)		63 (16,8)	6 (12,8)		65 (16,9)	4 (11,4)	

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
Differenzierung			0,787			0,385			0,772
gut	16 (4,51)	2 (3,1)		16 (4,3)	2 (4,3)		17 (4,4)	1 (2,9)	
mäßig	93 (26,2)	15 (23,4)		100 (26,8)	8 (17)		100 (26)	8 (22,9)	
wenig	246 (69,3)	47 (73,4)		257 (68,9)	37 (78,7)		267 (69,5)	26 (74,3)	
postop. Tumorrest			0,469			0,69			1
< 1cm	273 (76,9)	53 (84,1)		289 (77,7)	38 (80,9)		299 (78,1)	27 (77,1)	
> 1cm	82 (23,1)	10 (15,9)		83 (68,9)	9 (19,1)		84 (21,9)	8 (22,9)	
Platinsensibilität			0,211			0,092			0,372
ja	154 (43,3)	22 (34,4)		162 (43,3)	14 (29,8)		164 (42,6)	12 (34,3)	
nein	202 (56,7)	42 (65,6)		212 (56,7)	33 (70,2)		221 (57,4)	23 (65,7)	
KLF4									
Alter			0,841			0,279			0,175
<40	27 (7)	3 (8,1)		30 (7,1)	0		30 (7,1)	0	
> 40-50	83 (21,5)	10 (27)		90 (21,4)	3 (50)		91 (21,6)	1 (50)	
> 50-60	109 (28,2)	8 (21,6)		117 (27,9)	0		117 (27,8)	0	
> 60-70	137 (35,4)	12 (32,4)		148 (35,2)	2 (33,3)		150 (35,6)	0	
> 70	31 (8)	4 (10,8)		35 (8,3)	1 (16,7)		33 (7,8)	1 (50)	

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
ECOG			0,496			0,446			0,328
0	167 (43,2)	18 (48,7)		181 (43,1)	4 (66,7)		183 (43,5)	2 (100)	
1	189 (48,8)	18 (48,7)		207 (49,3)	2 (33,3)		206 (48,9)	0	
2	31 (8)	1 (2,7)		31 (7,6)	0		32 (7,6)	0	
Tumorursprung			0,757			0,098			1
Ovar	350 (90,4)	34 (91,9)		381 (90,7)	4 (66,7)		380 (90,3)	2 (100)	
Eileiter	15 (3,9)	2 (5,4)		16 (3,8)	1 (16,7)		17 (4)	0	
prim. peritoneal	22 (5,7)	1 (2,7)		23 (5,5)	1 (16,7)		24 (5,7)	0	
Histologie			0,56			1			1
CCC	19 (4,9)	3 (8,1)		22 (5,2)	0		22 (5,2)	0	
LGSC	8 (2,1)	1 (2,7)		9 (2,1)	0		9 (2,1)	0	
HGSC	328 (84,6)	30 (81,1)		354 (84,3)	6 (100)		355 (84,3)	2 (100)	
endo	8 (2,1)	2 (5,4)		10 (2,4)	0		10 (2,4)	0	
SBOT	13 (3,4)	0		13 (3,1)	0		13 (3,1)	0	
andere	11 (2,8)	1 (2,7)		12 (2,9)	0		12 (2,6)	0	

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
FIGO-Stadium			0,505			0,728			0,632
I-IIA	30 (7,8)	4 (10,8)		33 (7,9)	1 (16,7)		34 (8,1)	0	
IIB-IIC	25 (6,5)	5 (13,5)		30 (7,1)	0		30 (7,1)	0	
IIIA	12 (3,1)	1 (2,7)		13 (3,1)	0		13 (3,1)	0	
IIIB	18 (4,7)	3 (8,1)		22 (5,2)	0		22 (5,2)	0	
IIIC	239 (61,8)	19 (51,4)		255 (60,7)	3 (50)		254 (60,3)	1 (50)	
III/ IV	63 (16,3)	5 (13,5)		67 (16)	2 (33,3)		68 (16,2)	1 (50)	
Differenzierung			0,865			0,284			0,643
gut	17 (4,4)	1 (2,7)		18 (4,3)	0		18 (4,3)	0	
mäßig	100 (25,9)	9 (24,3)		110 (26,2)	0		109 (26)	0	
wenig	269 (69,7)	27 (73)		291 (69,5)	6 (100)		298 (69,7)	2 (100)	
postop. Tumorest			0,687			0,613			0,404
< 1cm	298(77,4)	30 (81,1)		326 (78)	4 (66,7)		328 (78,3)	1 (50)	
> 1cm	87 (22,6)	7 (18,9)		92 (22)	2 (33,3)		91 (21,7)	1 (50)	
Platinsensibilität			1			0,41			1
ja	163(42,1)	16 (43,2)		176 (41,9)	4 (66,7)		177 (42)	1 (50)	

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
nein	224(57,9)	21 (56,8)		244 (58,1)	2 (33,3)		244 (58)	1 (50)	
ST6GALNAC5									
Alter			0,479			0,599			0,11
<40	21 (8,7)	9 (4,9)		22 (8,6)	8 (4,7)		29 (7,6)	1 (2,4)	
> 40-50	48 (19,8)	45 (24,6)		53 (20,8)	40 (23,4)		84 (21,9)	9 (21,4)	
> 50-60	65 (26,9)	52 (28,4)		71 (27,8)	46 (26,9)		108 (28,2)	9 (21,4)	
> 60-70	87 (36)	61 (33,3)		87 (34,1)	62 (36,3)		133 (34,7)	15 (35,7)	
> 70	21 (8,7)	16 (8,7)		22 (8,6)	15 (8,8)		29 (7,6)	8 (19,1)	
ECOG			0,120			0,277			0,933
0	98 (40,5)	88 (48,1)		104 (40,8)	82 (48)		169 (44,1)	17 (40,5)	
1	121 (50)	86 (47)		129 (50,6)	79 (46,2)		185 (48,3)	22 (52,4)	
2	23 (9,5)	9 (4,9)		22 (8,6)	10 (5,9)		29 (7,6)	3 (7,1)	
Tumorursprung			1			0,149			0,565
Ovar	219 (90,5)	166 (90,7)		236 (92,6)	149 (87,1)		348 (90,9)	37 (88,1)	
Eileiter	10 (4,1)	7 (3,8)		7 (2,8)	10 (5,9)		14 (3,7)	3 (7,1)	
prim. peritoneal	13 (5,4)	10 (5,5)		12 (4,7)	12 (7)		21 (5,5)	2 (4,8)	

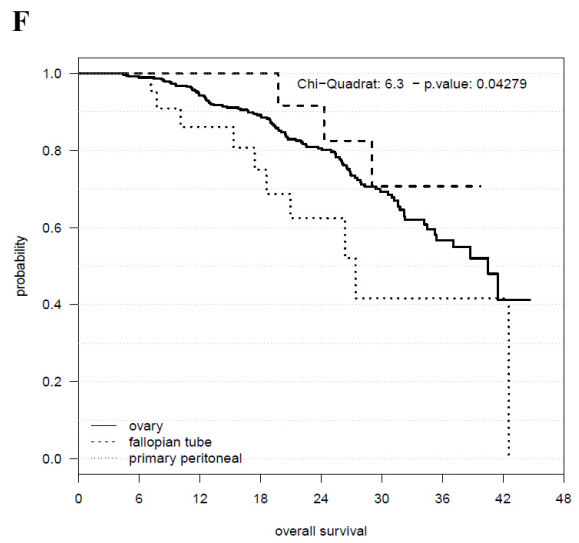
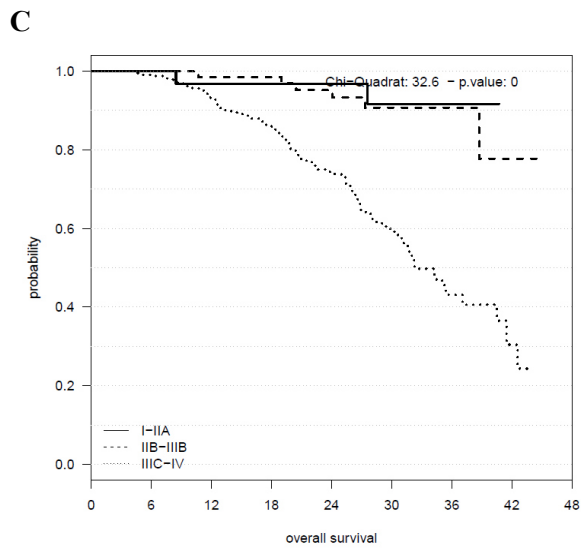
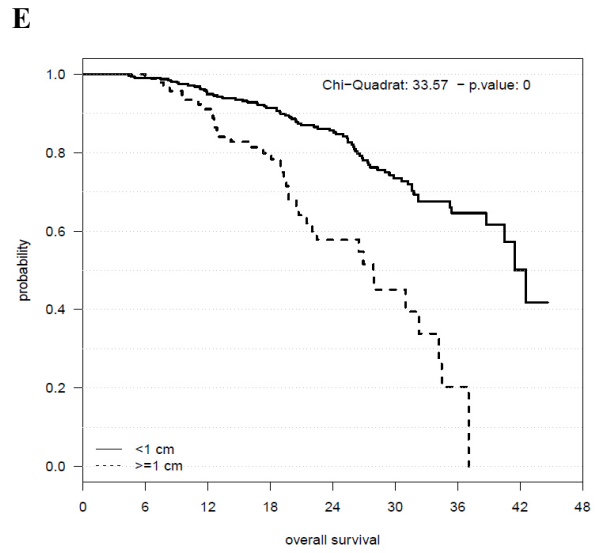
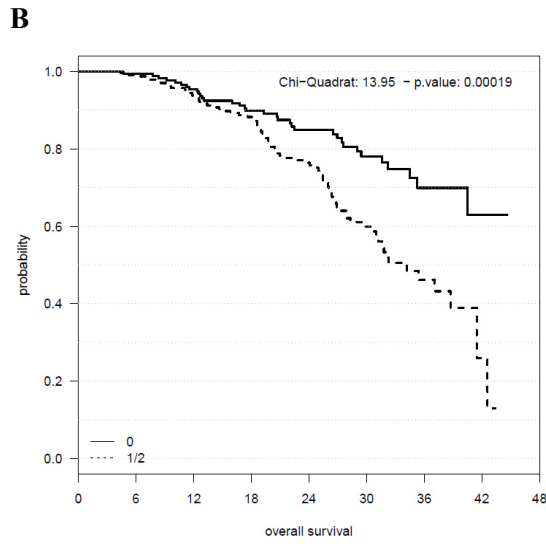
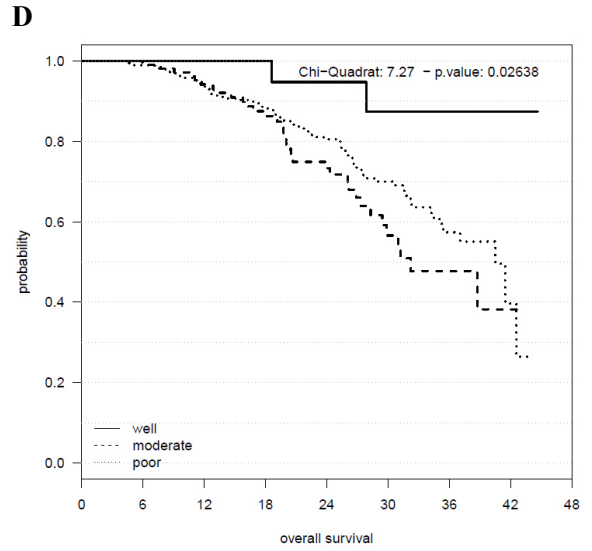
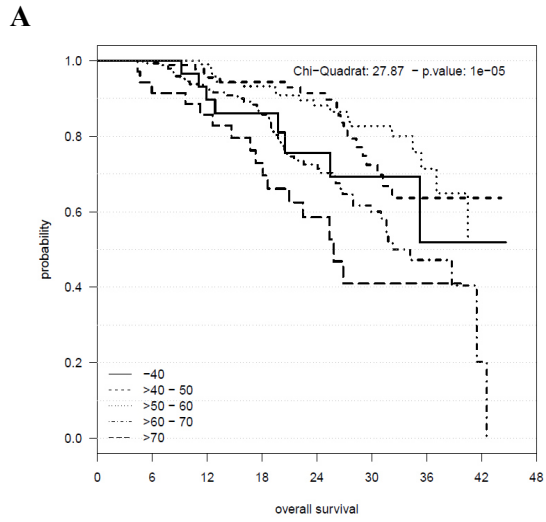
Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
Histologie			0,453			0,344			0,6
CCC	10 (4,1)	12 (6,6)		12 (4,7)	10 (5,6)		18 (4,7)	4 (9,5)	
LGSC	6 (2,5)	3 (1,6)		7 (2,8)	2 (1,8)		8 (2,1)	1 (2,4)	
HGSC	208 (86)	151(82,5)		214 (83,9)	146 (85,4)		325 (84,9)	34 (81)	
endo	4 (1,7)	6 (3,3)		5 (2)	5 (2,9)		9 (2,6)	1 (2,4)	
SBOT	9 (3,7)	4 (2,1)		11 (4,3)	2 (1,2)		13 (3,4)	0	
andere	5 (2,1)	7 (3,8)		6 (2,4)	6 (3,5)		10 (2,6)	2 (4,8)	
FIGO-Stadium			0,251			0,72			0,65
I-IIA	19 (7,6)	15 (8,2)		20 (7,8)	14 (8,2)		29 (7,6)	5 (11,9)	
IIB-IIC	16 (6,6)	14 (7,7)		19 (7,5)	11 (6,4)		28 (7,3)	2 (4,8)	
IIIA	5 (2,1)	8 (4,4)		6 (2,4)	7 (4,1)		11 (2,9)	2 (4,8)	
IIIB	11 (4,6)	11 (6,0)		12 (4,7)	10 (5,9)		19 (5)	2 (4,8)	
IIIC	144 (60)	114(62,3)		152 (59,6)	106 (62)		232 (60,6)	26 (61,9)	
III/ IV	47 (19,4)	21 (11,5)		46 (18)	23 (13,5)		64 (16,79)	4 (9,5)	
Differenzierung			0,097			0,021			0,33
gut	13 (5,4)	5 (2,8)		16 (6,3)	2 (1,2)		18 (4,7)	0	

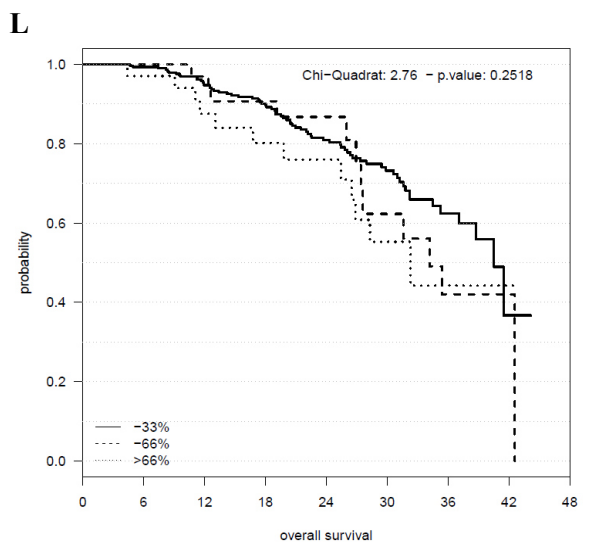
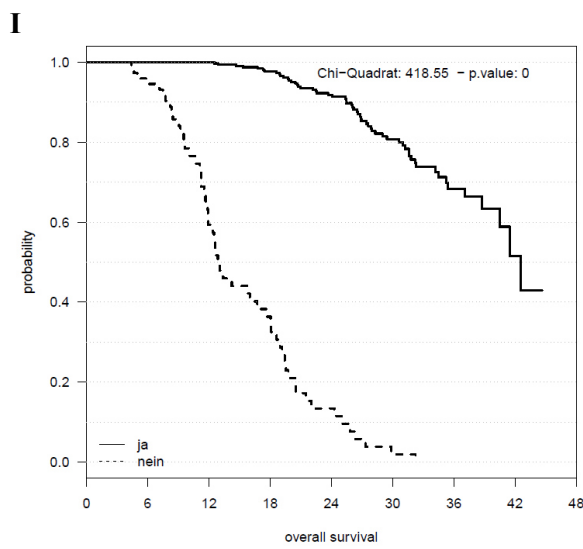
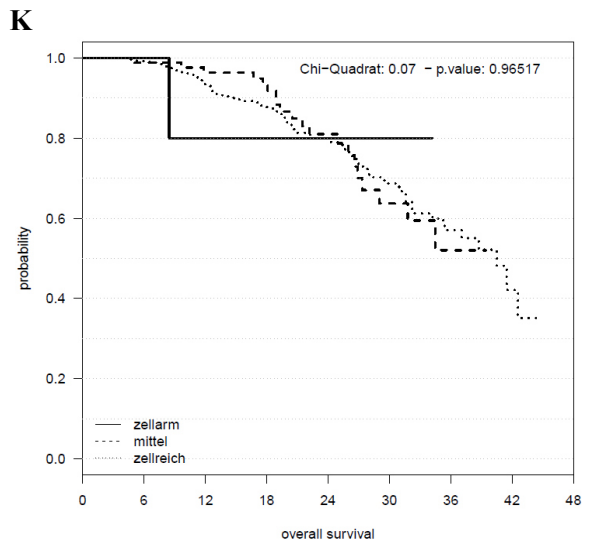
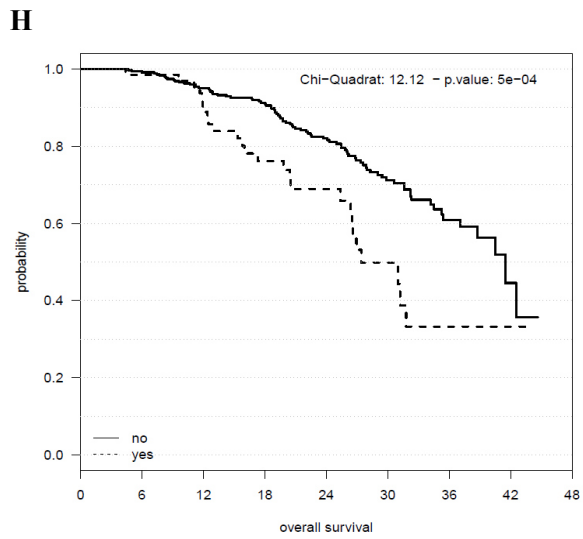
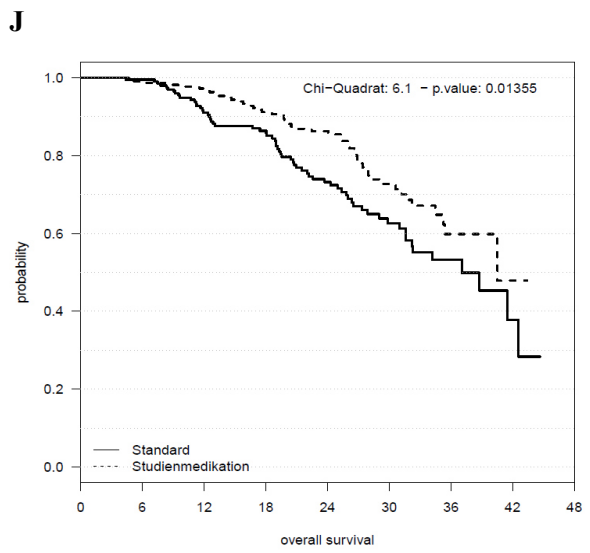
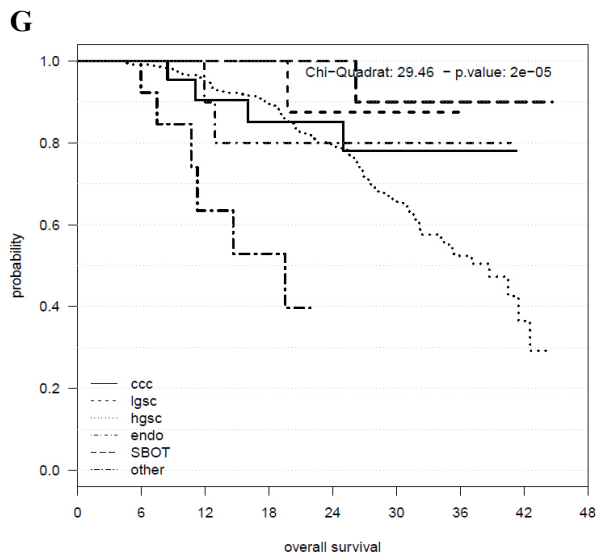
Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
mäßig	69 (28,5)	40 (22)		68 (26,7)	41 (24,1)		99 (25,9)	10 (23,8)	
wenig	160 (66,1)	137(75,3)		171 (67,1)	127 (74,7)		265 (69,4)	32 (76,2)	
postop. Tumorst			0,356			0,173			0,223
< 1cm	183 (75,9)	146(80,2)		192 (75,6)	138 (81,2)		293 (76,9)	36 (85,7)	
> 1cm	58 (24,1)	36 (19,8)		62 (24,4)	32 (18,8)		88 (23,1)	6 (14,3)	
Platinsensibilität			0,551			0,019			0,425
ja	144 (59,5)	103(56,3)		95 (37,3)	84 (49,1)		163 (42,6)	15 (35,7)	
nein	98 (40,5)	80 (43,7)		160 (62,6)	87 (50,9)		220 (57,4)	27 (64,3)	
TGF-β2									
Alter			0,686			0,328			0,485
<40	22 (7,3)	8 (6,4)		18 (6,1)	12 (9,4)		21 (6,3)	9 (9,7)	
> 40-50	63 (21)	29 (23,2)		65 (21,9)	28 (21,9)		74 (22,4)	18 (19,4)	
> 50-60	77 (25,7)	39 (31,2)		76 (25,6)	39 (30,5)		86 (26)	30 (32,3)	
> 60-70	111 (37)	39 (31,2)		108 (36,4)	42 (32,8)		119 (36)	30 (32,3)	
> 70	29 (9)	10 (8)		30 (10,1)	7 (5,5)		31 (9,4)	6 (6,5)	
ECOG			0,028			0,750			0,971
0	130 (43,3)	56 (44)		130 (43,8)	55 (43)		145 (43,8)	39 (41,9)	

Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
1	141 (47)	67 (53,6)		143 (48,2)	65 (50,8)		161 (48,6)	47 (50,5)	
2	29 (9,7)	3 (2,4)		24 (8,1)	8 (6,3)		25 (7,6)	7 (7,5)	
Tumorursprung			0,965			0,834			0,884
Ovar	272 (90,7)	112 (89,6)		267 (89,9)	117 (91,4)		299 (90,3)	84 (90,3)	
Eileiter	12 (4)	5 (4)		13 (4,4)	4 (3,1)		14 (4,2)	3 (3,2)	
prim. peritoneal	16 (5,3)	8 (6,4)		17 (5,7)	7 (5,5)		18 (5,4)	6 (6,5)	
Histologie			0,219			0,540			0,419
CCC	12 (4)	10 (8)		13 (4,4)	9 (7)		14 (4,2)	8 (8,6)	
LGSC	8 (2,7)	1 (0,8)		5 (1,7)	4 (3,1)		6 (1,8)	3 (3,2)	
HGSC	253 (84,3)	106(84,8)		256 (86,2)	103 (80,5)		281 (84,9)	77 (82,8)	
endo	6 (2)	4 (3,2)		7 (2,4)	3 (2,3)		8 (2,4)	2 (2,2)	
SBOT	11 (3,7)	2 (1,6)		7 (2,4)	6 (4,7)		12 (3,6)	1 (1,1)	
andere	10 (3,2)	2 (1,6)		9 (3)	3 (2,3)		10 (3)	2 (2,2)	
FIGO-Stadium			0,251			0,86			0,941
I-IIA	19 (6,3)	15 (12)		22 (7,4)	11 (8,6)		26 (7,9)	8 (8,6)	
IIB-IIC	23 (7,7)	7 (5,6)		20 (6,7)	11 (8,6)		22 (6,7)	8 (8,6)	

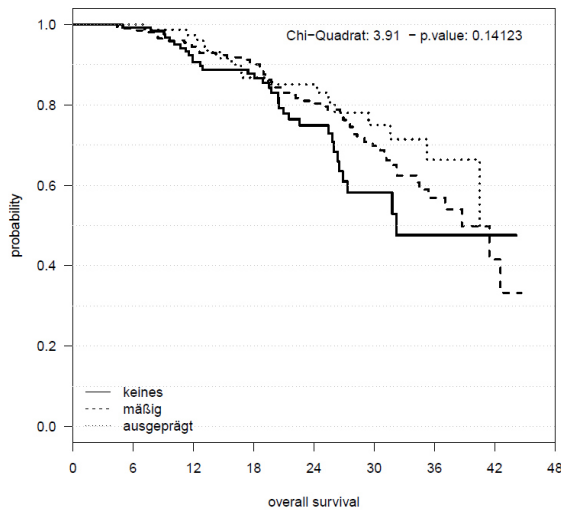
Variable	Markerexpression im Stroma pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression im Tumor pos. vs. neg		p-Wert	Markerexpression in anderen stromalen Kompartimenten		p-Wert
	Positiv	Negativ		Positiv	Negativ		Positiv	Negativ	
IIIA	8 (2,7)	5 (4)		10 (3,4)	3 (2,3)		10 (3)	3 (3,2)	
IIIB	18 (6)	4 (3,2)		15 (5,1)	7 (5,5)		17 (5,1)	5 (5,4)	
IIIC	179 (59,7)	78 (62,4)		178 (59,9)	79 (61,7)		200 (60,4)	57 (61,3)	
III/ IV	53 (17,7)	16 (12,8)		52 (17,5)	17 (13,3)		56 (16,9)	12 (12,9)	
Differenzierung			0,03			0,177			0,953
gut	13 (4,4)	5 (4)		9 (3)	9 (7)		14 (4,2)	4 (4,3)	
mäßig	88 (29,4)	21 (16,8)		78 (26,4)	32 (25)		84 (25,5)	25 (26,9)	
wenig	198 (66,2)	99 (79,2)		209 (70,6)	87 (68)		232 (70,3)	64 (68,8)	
postop. Tumorrest			0,291			0,241			0,149
< 1cm	229 (76,6)	101(81,5)		226 (76,4)	104 (81,9)		252 (76,4)	77 (83,7)	
> 1cm	70 (23,4)	23 (18,5)		70 (23,7)	23 (18,1)		78 (23,6)	15 (16,3)	
Platinsensibilität			0,012			0,04			0,057
ja	138 (46)	41 (32,8)		135 (45,5)	44 (34,4)		147 (44,4)	31 (33,3)	
nein	162 (54)	84 (67,2)		162 (54,6)	84 (65,6)		184 (55,6)	62 (66,7)	

Platinsensibilität: Tumorprogress nach frühestens 6 Monaten nach Abschluss der letzten Chemotherapie (Carboplatin/ Paclitaxel)

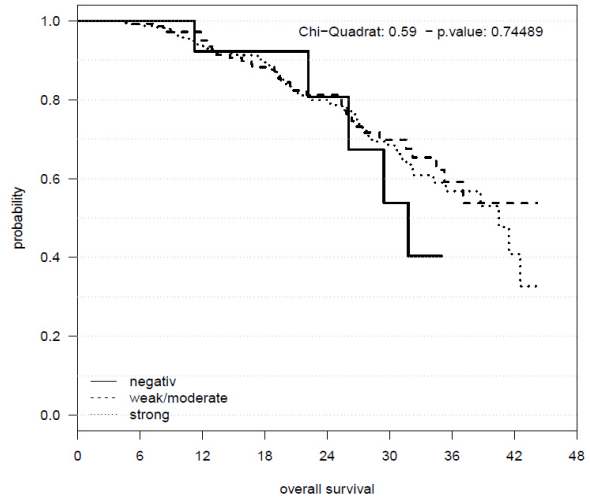




M

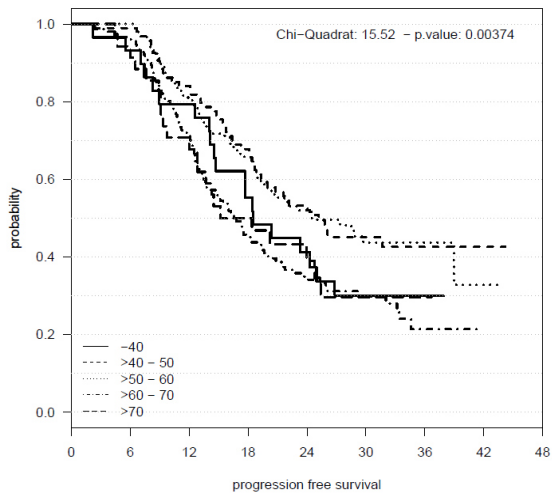


N

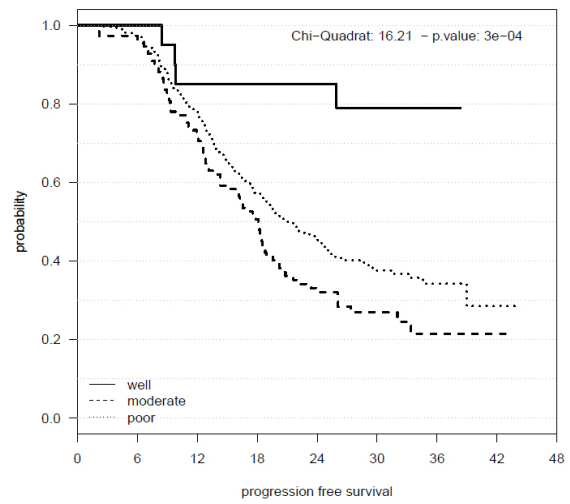


- Abbildung 3: *Univariate Analysen zum OS dargestellt anhand von Kaplan-Meier-Kurven.*
- A. Assoziation zwischen Alter und OS*
 - B. OS in Abhängigkeit vom physischen Zustand (ECOG 0 vs .1/ 2)*
 - C. OS in Abhängigkeit des FIGO-Stadiums (I-IIA vs. IIB-IIIB vs. IIIC-IV)*
 - D. OS in Abhängigkeit des Differenzierungsgrades (gut vs. mäßig vs. gering)*
 - E. OS in Abhängigkeit des postoperativen Tumorrestes (<1cm vs. >/= 1cm)*
 - F. OS in Abhängigkeit vom Ursprungsgewebe des Tumors (Ovar vs. Peritoneum vs. Eileiter)*
 - G. Einfluss des histologischen Subtyps auf OS*
 - H. OS in Abhängigkeit vom Vorliegen eines Hoch-Risiko-Tumors*
 - I. OS in Abhängigkeit der Platinsensibilität*
 - J. OS in Abhängigkeit der Therapieform (Standard vs. Studienmedikation)*
 - K. OS in Abhängigkeit des Zellreichtums des Stromas (zellarm vs. mittel vs. zellreich)*
 - L. OS in Abhängigkeit der Stromaproportion (<33% vs. -66% vs. >66%)*
 - M. OS in Abhängigkeit des lymphozytären Infiltrates (keines vs. mäßig vs. ausgeprägt)*
 - N. OS in Abhängigkeit der Expression von AKR1C1 (negativ vs. mäßig vs. stark)*

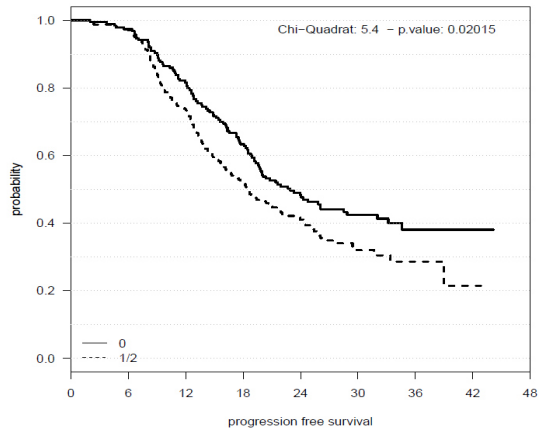
A



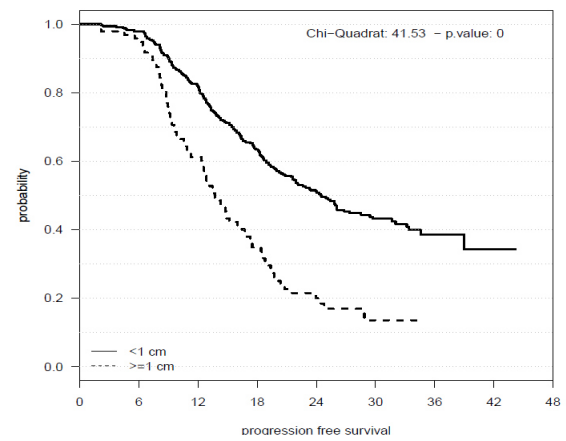
D



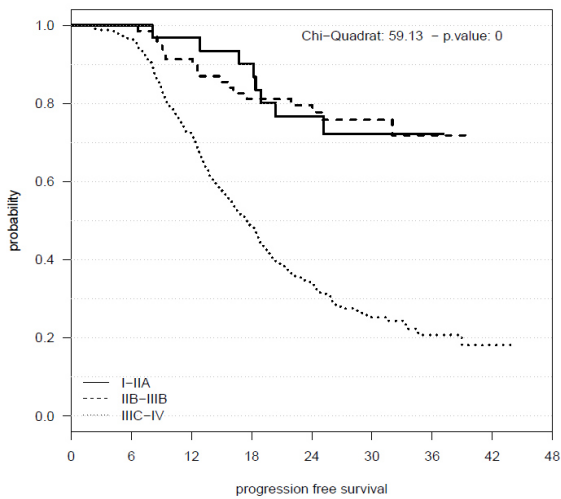
B



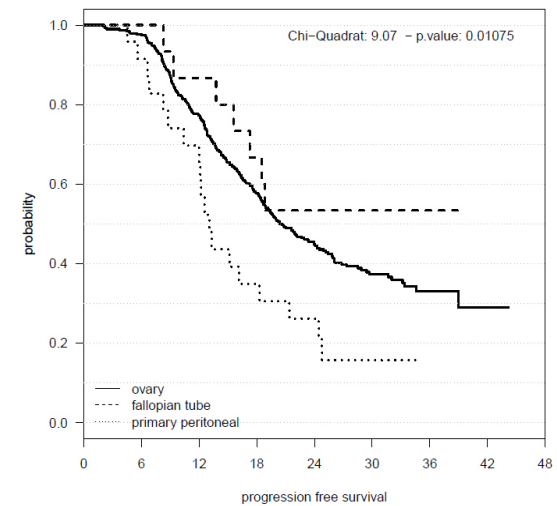
E



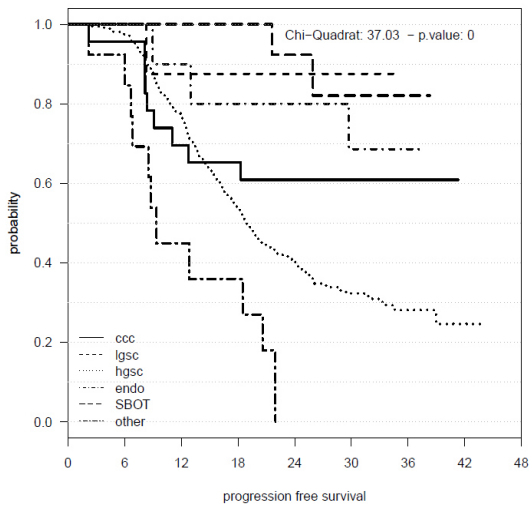
C



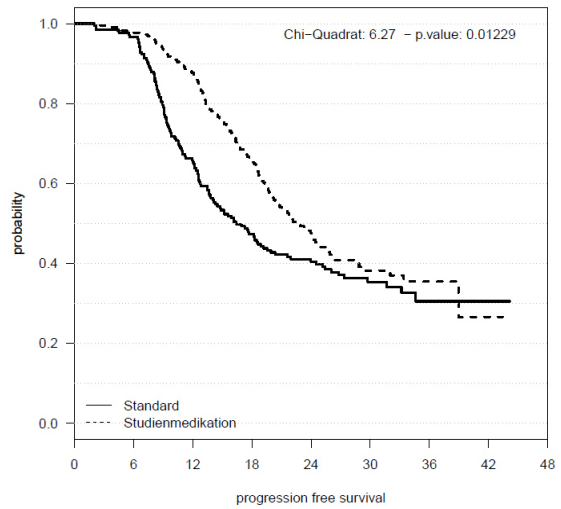
F



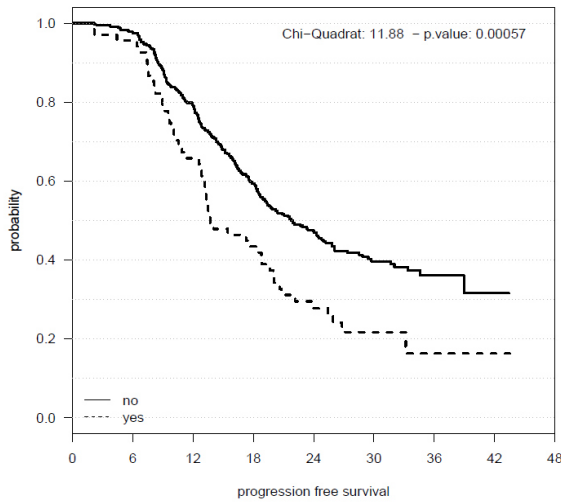
G



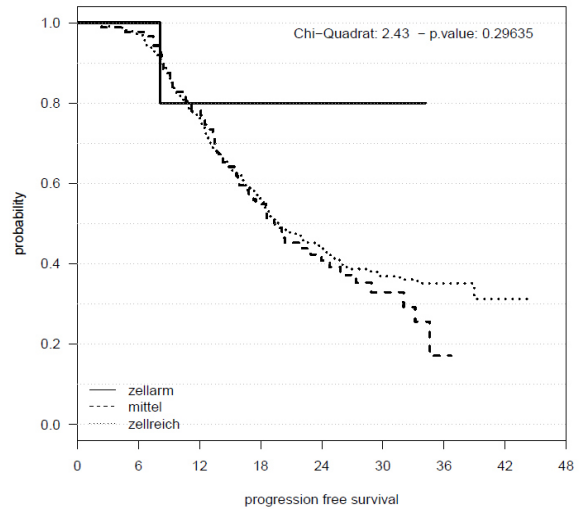
J



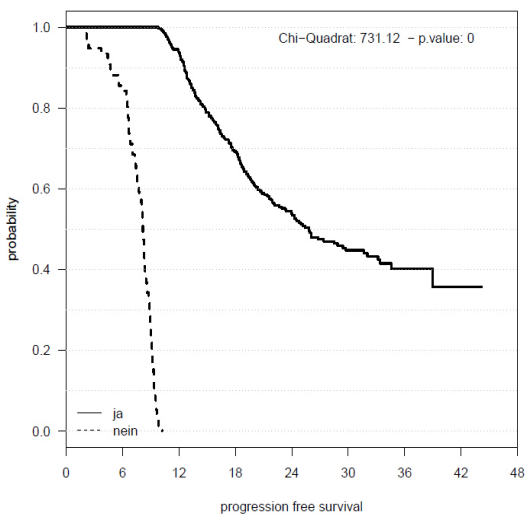
H



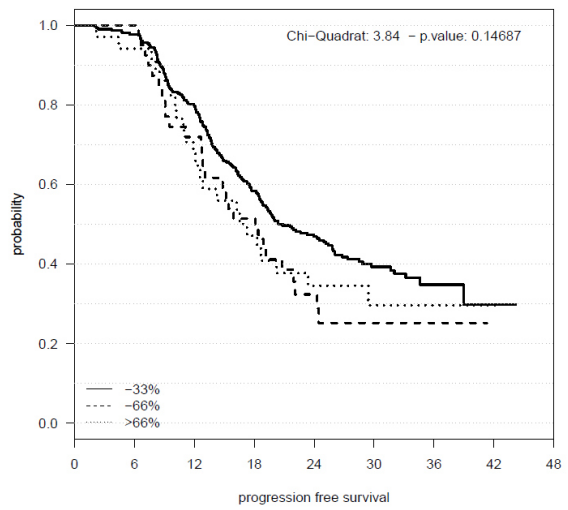
K

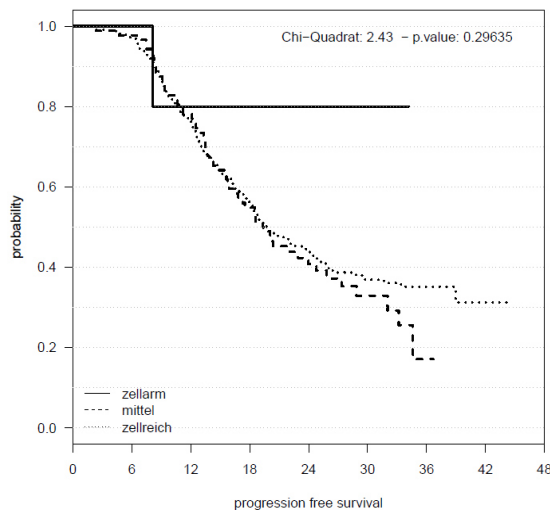
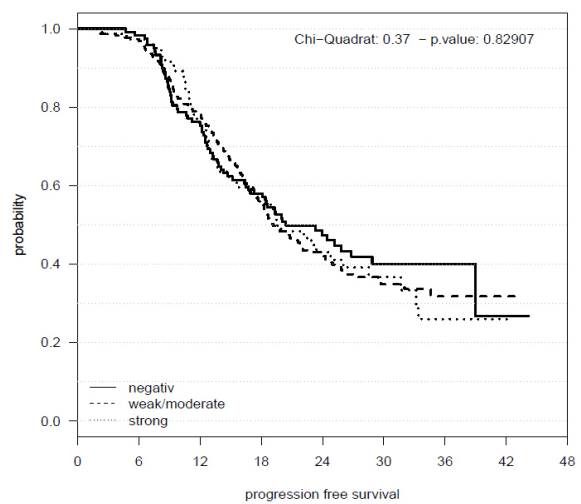
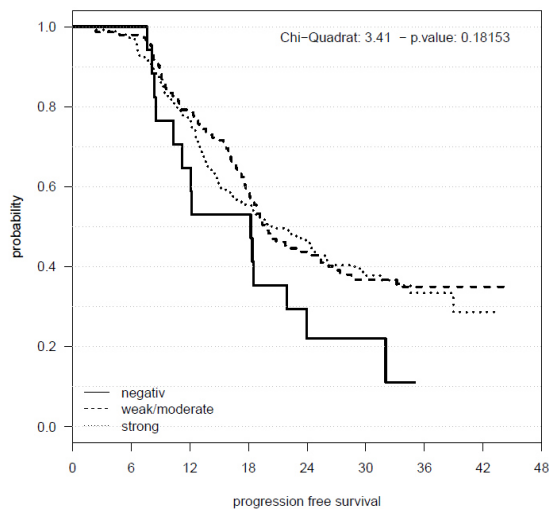


I



L



M**O****N****Abbildung 4:**

Univariate Analyse zum PFS dargestellt anhand von Kaplan-Meier-Kurven

A. *Assoziation zwischen Alter und PFS*

B. *PFS in Abhängigkeit vom physischen Zustand (ECOG 0 vs .1/ 2)*

C. *PFS in Abhängigkeit des FIGO-Stadiums (I- IIA vs. IIB- IIIB vs. IIIC- IV)*

D. *PFS in Abhängigkeit des Differenzierungsgrades (gut vs. mäßig vs. gering)*

E. *PFS in Abhängigkeit des postoperativen Tumorrestes (<1cm vs. >= 1cm)*

F. *PFS in Abhängigkeit vom Ursprungsgewebe des Tumors (Ovar vs. Peritoneum vs. Eileiter)*

G. *Einfluss des histologischen Subtyps auf PFS*

H. *OS in Abhängigkeit vom Vorliegen eines Hoch-Risiko-Tumors*

I. *PFS in Abhängigkeit der Platinsensibilität*

J. *PFS in Abhängigkeit der Therapieform (Standard vs. Studienmedikation)*

K. *PFS in Abhängigkeit des Zellreichtums des Stromas (zellarm vs. mittel vs. zellreich)*

L. *PFS in Abhängigkeit der Stromaproportion (<33% vs. -66% vs. >66%)*

- M. PFS in Abhängigkeit des lymphozytären Infiltrates (keines vs. mäßig vs. ausgeprägt)*
- N. PFS in Abhängigkeit der Expression von AKR1C1 im Stroma (negativ vs. mäßig vs. stark)*
- O. PFS in Abhängigkeit der Expression von TGF- β 2 im Stroma (negativ vs. mäßig vs. stark)*

Danksagung

Mein Dank gilt Frau Sigrid Hamann, onkologisches Labor der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe des UKSH in Kiel, für Ihre große Hilfe bei den immunhistochemischen Untersuchungen, dafür dass sie immer mit Rat und Tat zur Seite stand und für ihre unbergrenzte Geduld.

Für die Betreuung danke ich Frau Privatdozentin Dr.med. Maret Bauer. Sie hat mich auf dem Weg zur fertigen Arbeit immer wieder neue Aspekte entdecken lassen und mich über die lange Zeit bestmöglichst unterstützt. Für den Einsatz und zeitlichen Aufwand ihrerseits möchte ich mich herzlich bedanken.

Frau Dr.med. Katharina Balschun danke ich für die Hilfestellung und Ratschläge bei der mikroskopischen Auswertung der Gewebeproben.

Herrn Dipl. Inform. Jürgen Hedderich danke ich für die Bewältigung der großen Datenmengen sowie für die Beratung und die Durchführung der statistischen Analysen.

Ebenfalls an dieser Stelle möchte ich mich bei den beteiligten Freunden und Bekannten bedanken, die mich mit Korrekturen, Ratschlägen und motivierenden Zuspruch ausdauernd unterstützt haben. Vielen Dank auch an Hildegard und Peter für die Bereitstellung Ihres Ferienhauses, in dem ich viele effektive Stunden die Daten analysieren konnte und dabei trotzdem wunderbare Urlaube verbracht habe.

Großen Dank auch an meine Eltern, die immer bereit waren zuzuhören und mich scheinbar grenzenlos unterstützen. Euer Glauben an mich hat mir das Studium und diese Dissertation erst ermöglicht und dafür kann ich Euch nie genug danken.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Kathleen Jassim

Geburtsdatum: 1984 in Gehrden

Adresse: Saarlandstr. 21
22303 Hamburg

Staatsangehörigkeit: deutsch

Ausbildung

10/2004 - 10/2005 Studium der Mineralogie, Universität zu Köln

10/2005 - 09/2006 Studium der Zahnmedizin, Eberhard-Karls-Universität Tübingen

10/2006 - 09/2008 Studium der Zahnmedizin, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

09/2008 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

10/2008 - 02/2009 Studium der Humanmedizin, Friedrich-Schiller-Universität Jena

03/2009 - 05/2013 Studium der Humanmedizin, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

02 - 06/2012 Erstes Tertial des praktischen Jahres, Klinik für Innere Medizin, Flensburg

06 - 10/2012 Zweites Tertial des praktischen Jahres, Klinik für Chirurgie, Zuger Kantonsspital, Zug

10/2012- 01/2013 Drittes Tertial des praktischen Jahres, Klinik für MKG, UKSH, Campus Kiel

05/2013 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

11/2013 - 09/2015 Assistenzärztin Chirurgie, Kantonsspital Aarau, Aarau

11/2015 – 03/2017 Assistenzärztin Urologie, Martini-Klinik, Hamburg

Seit 01/2018 Assistenzärztin Gefäßchirurgie, Agaplesion, Hamburg

Publikationen

September 2017

Beitrag zur 132. Tagung der Norddeutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (NGGG) 2017 über die Dissertation mit dem Titel „Evaluation der prognostischen Relevanz stromaler Faktoren beim epithelialen Ovarialkarzinom“ in Form eines wissenschaftlichen Posters.