



**Expression von L1CAM im Tumorgewebe und in den  
Lymphknotenmetastasen des Endometriumkarzinoms**

Von der Fakultät für Medizin und Gesundheitswissenschaften der Carl von  
Ossietzky Universität Oldenburg zur Erlangung des Grades Doktorin der  
Medizin (Dr. med.)

angenommene Dissertation

von Frau Johanna Elisabeth Heuking  
geboren am 27. Mai 1989 in Geesthacht

Erstbetreuer: PD Dr. med. habil. Amr Soliman

Tag der mündlichen Prüfung: 09.11.2023

---

## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	I
Abbildungsverzeichnis .....	III
Tabellenverzeichnis .....	IV
Abkürzungsverzeichnis .....	V
1 Einleitung .....	7
1.1 Das Endometriumkarzinom .....	7
1.2 Detektion von metastasierten Lymphknoten .....	12
1.3 L1CAM .....	15
2 Zielsetzung .....	19
3 Material und Methoden .....	20
3.1 Patientenkollektiv .....	20
3.2 Ethikvotum .....	20
3.3 Immunhistochemie .....	21
4 Ergebnisse .....	24
4.1 Klinische Daten .....	24
4.2 L1CAM Immunhistochemie des Primärtumors und der Lymphknoten .....	33
4.3 L1CAM Expression in Bezug auf die Ausbreitung des Primärtumors .....	35
4.4 L1CAM Expression und Fernmetastasierung .....	36
4.5 L1CAM Expression entsprechend des Tumorgradings .....	37
4.6 L1CAM Expression gegenüber Rezidiven und Mortalität .....	38
4.7 L1CAM Expression und Alter bei Erstdiagnose .....	39
5 Diskussion .....	41

---

6	Schlussfolgerung .....	49
7	Zusammenfassung .....	50
7.1	Zusammenfassung .....	50
7.2	Summary .....	52
8	Literaturverzeichnis.....	54
9	Danksagung.....	60
10	Eidesstattliche Erklärung .....	61

---

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: L1CAM Immunhistochemie, Positivkontrolle: Ovarialkarzinom	28
Abbildung 2: L1CAM Immunhistochemie, Negativkontrolle: Lymphknoten ..	29
Abbildung 3: L1CAM Immunhistochemie, Endometriumkarzinom: negativ..	30
Abbildung 4: L1CAM Immunhistochemie, Lymphknotenmetastase: schwach positiv .....	31
Abbildung 5: L1CAM Immunhistochemie, Lymphknotenmetastase: mäßig positiv .....	32
Abbildung 6: L1CAM Immunhistochemie, Endometriumkarzinom: stark positiv .....	33
Abbildung 7: L1CAM Expression entsprechend der Tumortiefenausdehnung .....	36
Abbildung 8: L1CAM Expression im EC und Grading des Primärtumors .....	37
Abbildung 9: L1CAM Expression in LKM und Grading des Primärtumors....	38

---

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: FIGO-/TNM-Klassifikation des Endometriumkarzinoms [3] .....	8
Tabelle 2: Risikoeinteilung des Endometriumkarzinoms [12, 13] .....	10
Tabelle 3: Auswertung der immunhistochemischen Färbung.....	23
Tabelle 4: Alter bei ED (Erstdiagnose), Histologie, Grading und MI (Myometriuminfiltration) der Patientinnen .....	25
Tabelle 5: Ausbreitung außerhalb des Uterus, Fernmetastasen, Rezidiv, Zeit bis zum ersten Rezidiv (in Monaten), Tod und Gesamtüberleben (in Monaten) der Patientinnen .....	26
Tabelle 6: pTNM- und FIGO-Klassifikation der Patientinnen.....	27
Tabelle 7: L1CAM Expression im EC (Endometriumkarzinom) und LKM (Lymphknotenmetastase) .....	34
Tabelle 8: L1CAM Expression entsprechend der Tumortiefenausdehnung .	35
Tabelle 9: L1CAM Expression und Überlebenszeit in Monaten .....	39
Tabelle 10: L1CAM Expression in Bezug auf das Alter bei Erstdiagnose (aufsteigend).....	40

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µm	Mikrometer
ADAM-10	Ein Desintegrin- und Metalloproteinase-Domänen enthaltendes Protein 10
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.
bzw	beziehungsweise
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
CT	Computertomographie
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DOTATOC	DOTA(0)-Phe(1)-Tyr(3)octreotid
EC	Endometriumkarzinom
ED	Erstdiagnose
etc	et cetera
FDG	<sup>18</sup> F-Fluordesoxyglucose
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
ggf	gegebenenfalls
HER2	<i>human epidermal growth factor receptor 2</i>
HIER	<i>Heat-induced epitope retrieval</i>
HR	<i>Hazard Ratio</i>
HRP	<i>horseradish peroxidase</i>
kDa	Kilodalton
L1CAM	L1-Zelladhäsionsmolekül
LK	Lymphknoten
LKM	Lymphknotenmetastasen
MI	Myometriuminfiltration

---

MMR	Mismatch-Reparaturprotein
MRT	Magnetresonanztomographie
OR	<i>odds ratio</i>
PCO-Syndrom	<i>polycystic ovary syndrome</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoff-Ionenkonzentration
POLE	Polymerase- $\epsilon$ -Gen
PSMA	Prostata spezifisches Membran Antigen
REST	<i>RE1-silencing transcription factor</i>
RNA-seq	<i>ribonucleic acid-sequencing</i>
RR	Relatives Risiko
SLUG	<i>snail homolog 2</i>
TCGA	<i>The Cancer Genome Atlas</i>
TGF- $\beta$ 1	<i>Transforming growth factor beta 1</i>
z.B.	zum Beispiel



# 1 Einleitung

## 1.1 Das Endometriumkarzinom

In Deutschland ist das Endometriumkarzinom der fünfthäufigste Tumor der Frau und das häufigste weibliche Genitalkarzinom. Es gibt hierzulande etwa 10860 Neuerkrankungen und etwa 2650 Sterbefälle pro Jahr. Von 50 Frauen erkrankt eine im Laufe des Lebens, eine von 200 verstirbt am Endometriumkarzinom [1]. Die Inzidenz steigt mit dem Lebensalter, insbesondere nach der Menopause [2]. Die relative 5-Jahres-Überlebensrate beträgt 78 % und die relative 10-Jahres-Überlebensrate 74 %. Das mittlere Erkrankungsalter liegt in Deutschland bei 68 Jahren [1, 3]. Aus den USA und Osteuropa werden höhere Erkrankungsraten berichtet [1].

Circa 80 % aller Endometriumkarzinome sind hormonabhängig [1]. Daher ist eine lange Östrogenexposition, mit der eine verstärkte Proliferation von Endometriumzellen und somit eine höhere Mutationsrate verbunden ist, der größte Risikofaktor für die Entstehung eines Endometriumkarzinoms [4]. Somit führen eine frühe Menarche, Nulliparität, eine späte Menopause, Adipositas, Diabetes mellitus Typ 2, das polyzystische Ovarialsyndrom (PCO-Syndrom) sowie Östrogen- und Tamoxifentherapie zu einem höheren Erkrankungsrisiko. Protektiv wirkt sich die Einnahme von oralen Kontrazeptiva (Östrogen-Gestagen-Kombinationen), die Verwendung von Intrauterinpeessaren und körperliche Aktivität aus [3]. Bei den nicht-hormonabhängigen Karzinomen ist das höhere Lebensalter ein Risikofaktor [1].

Die Stadieneinteilung des Endometriumkarzinoms erfolgt nach der aktuellen FIGO-/TNM-Klassifikation, die in folgender Tabelle erläutert wird [3].

Tabelle 1: FIGO-/TNM-Klassifikation des Endometriumkarzinoms [3]

TNM	FIGO	Definition
TX		Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0		Kein Anhalt für Primärtumor
T1	I	Tumor begrenzt auf Corpus uteri
T1a	IA	Tumor begrenzt auf Endometrium oder infiltriert weniger als die Hälfte des Myometriums
T1b	IB	Tumor infiltriert die Hälfte oder mehr des Myometriums
T2	II	Tumor infiltriert das Stroma der Zervix, breitet sich jedoch nicht jenseits des Uterus aus
T3 und/oder N1 p	III	Lokale und/oder regionäre Ausbreitung wie nachfolgend beschrieben:
T3a	IIIA	Tumor befällt Serosa und/oder Adnexe (direkte Ausbreitung oder Metastasen)
T3b	IIIB	Vaginal- oder Parametriumbefall (direkte Ausbreitung oder Metastasen)
N1	IIIC1	Metastasen in Beckenlymphknoten
N2	IIIC2	Metastasen in paraaortalen Lymphknoten
T4	IVA	Tumor infiltriert Blasen- und/oder Rektumschleimhaut
M1	IVB	Fernmetastasen, einschließlich intraabdomineller Metastasen (ausgenommen Metastasen in Vagina, Beckenserosa oder Adnexen, einschließlich Metastasen in inguinalen und anderen intraabdominalen Lymphknoten als paraaortalen und/oder Beckenlymphknoten)

---

Histopathologisch wird das Endometriumkarzinom in 2 Typen eingeteilt. Typ I ist das endometrioides Endometriumkarzinom, welches östrogenabhängig wächst, eine gute Prognose hat und öfter prämenopausale oder jüngere postmenopausale Patientinnen betrifft. 80 % der Endometriumkarzinome sind endometrioid. Unter Typ II werden nicht-endometrioides Endometriumkarzinome (serös und klarzellig) zusammengefasst, die meist Hormonrezeptor-negativ sind, ältere Frauen betreffen und eine schlechtere Prognose aufweisen [2]. Endometrioides Karzinome (Typ I) entstehen meist auf der Basis einer atypischen Endometriumhyperplasie. Die Typ II-Karzinome entstehen eher auf dem Boden von atrophischen Endometrium oder Endometriumpolypen [3]. Die aktualisierte S3-Leitlinie von 2022 macht deutlich, dass dieses dualistische Pathogenese-Modell zunehmend durch eine neue molekulare Klassifikation auf Basis des „The Cancer Genome Atlas“ (TCGA) abgelöst wird [3, 5]. Da die molekulare Klassifikation prognostisch relevant ist sollen therapeutische Entscheidungen für das endometrioides Endometriumkarzinom daraus abgeleitet werden [6]. Es wurden 4 molekulare Subtypen des Endometriumkarzinoms gefunden („POLE (Polymerase-ε-Gen) mutant“, „MMR (Mismatch-Reparaturprotein) deficient“, „no special molecular profile“, „p53 abnormal“) [7, 8]. Die POLE-mutierten Karzinome werden auch als ultramutierte Karzinome bezeichnet, da sie eine hohe Mutationsrate aufweisen. Sie haben eine sehr gute Prognose, obwohl die POLE-Mutation in histologisch G3-Tumoren mit hoher Malignität gefunden wird [9]. Die Gruppen „MMR deficient“ und „no special molecular profile“ haben eine gute Prognose, „p53 abnormal“ hingegen eine schlechte [3]. Es gibt Hinweise, dass Patientinnen mit Vorliegen von POLE-Mutationen nicht von einer adjuvanten Therapie profitieren. „MMR deficient“-Karzinome sprechen gut auf eine Immuntherapie an [10]. Die molekularen Subtypen können also eine Unterstützung bei der Risikobewertung und Therapieentscheidung sein [11]. Der Einsatz der molekularen Klassifikation hat neben der ursprünglichen

Risikoeinschätzung, die in Tabelle 2 dargestellt wird, eine wichtige prognostische Aussagekraft, sodass die Bestimmung, insbesondere der POLE-Mutation, MMR-Proteine und p53, die Therapieentscheidung verfeinern kann [3, 10].

Tabelle 2: Risikoeinteilung des Endometriumkarzinoms [12, 13]

Risikogruppe	Pathologischer Befund
Low risk	-endometrioid, G1, G2, < 50 % myometrane Infiltration, L0
Low-intermediate risk	-endometrioid, G1, G2, ≥ 50 % myometrane Infiltration, L0
High-intermediate risk	-endometrioid, G3, < 50 % myometrane Infiltration, L0 oder L1 -endometrioid, G1, G2, </≥ 50 % myometrane Infiltration, L1
High risk	-endometrioid, G3, ≥ 50 % myometrane Infiltration, L0 oder L1, FIGO-Stadium II oder III -nicht-endometrioid

Betrachtet man alle Stadien des Endometriumkarzinoms besteht eine 15%-ige Wahrscheinlichkeit, dass bei Diagnosestellung bereits Lymphknotenmetastasen vorliegen. Das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen bedeutet für die Patientinnen eine schlechtere Prognose [3]. Die Prognose hängt ebenso von der Anzahl und Lokalisation der metastasierten Lymphknoten und dem Verhältnis der positiven Lymphknoten zu allen entnommenen Lymphknoten ab [14, 15]. Eine aktuelle Cochrane-Analyse zeigt, dass die Morbidität aufgrund von verlängerter Operationszeit, Lymphödemen und Lymphozelen nach Lymphadenektomie erhöht ist (Relatives Risiko (RR): 3,72). Das relative Risiko Lymphödem bzw. Lymphozelen zu entwickeln liegt bei 8,3. Es fehlt jedoch ein ausreichender Beweis, dass die Lymphadenektomie das Sterberisiko (Hazard Ratio (HR): 1,07) sowie das Rezidivrisiko (HR: 1,23) in Stadium FIGO I senkt. Außerdem fehlen derzeit randomisierte kontrollierte Studien, die den Nutzen der Lymphadenektomie in höheren Stadien untersuchen [16].

---

Studien zeigen, dass die Überlebensrate bei low-risk-Patientinnen (pT1a, G1 und G2) ohne Durchführung einer Lymphadenektomie sehr hoch ist (96-98,9 %) [17-19]. Es soll daher evidenzbasiert bei low-risk-Patientinnen keine systematische Lymphadenektomie durchgeführt werden, da die Wahrscheinlichkeit eines Lymphknotenbefalls sehr gering ist [16]. Die Lymphadenektomie ist in den frühen Stadien somit eine diagnostische Maßnahme und hat nur einen sehr geringen therapeutischen Nutzen. Liegt ein Endometriumkarzinom pT1a, G1/G2 mit p53-Mutation oder L1CAM Überexpression vor, kann konsensbasiert nach aktueller Leitlinie eine Sentinel-Node-Biopsie, ggf. gefolgt von einer systematischen Lymphadenektomie erfolgen. Die neu mit in die Leitlinie aufgenommene Sentinel-Node-Biopsie mit Ultrastaging (Anfertigung von Stufenschnitten und/oder immunhistochemische Zusatzuntersuchungen) hat ein geringeres Gewebetrauma als die systematische Lymphadenektomie [3]. Dennoch werden durch das Ultrastaging mehr Mikrometastasen und isolierte Tumorzellen gefunden, woraus eine adjuvante Therapie mit höherer Morbidität und fraglichem Nutzen resultiert [20, 21]. Grundsätzlich sollen in allen Stadien und Histologien palpatorisch auffällige oder vergrößerte Lymphknoten entfernt werden. Bei Endometriumkarzinomen mit intermediate- oder high-risk-Kriterien (ab cT1a, G3 oder cT1b, G1/G2 ohne p53-Mutation) vom Typ I kann laut konsensbasierter Empfehlung eine Sentinel-Node-Biopsie, ggf. gefolgt von einer systematischen Lymphadenektomie erfolgen. Bei vorliegender p53-Mutation sollte dies erfolgen [3]. Es gibt keine Studien, die einen Überlebensvorteil der Lymphadenektomie beim fortgeschrittenen Endometriumkarzinom beweisen, jedoch retrospektive Studien, die einen Vorteil im möglichst zytoreduktivem Vorgehen sehen [22, 23]. Bei Endometriumkarzinomen vom Typ II wird eine Lymphadenektomie empfohlen, wenn makroskopisch Tumorfreiheit erreicht werden kann [3].

Es müssen 22 % der Patientinnen mit Typ I- und Typ II-Karzinomen, bei denen präoperativ das FIGO I-Stadium vermutet wird, nach dem operativen Staging in ein höheres Stadium eingeordnet werden [24]. Des Weiteren gibt es eine Abweichung von 7-13 % zwischen der intraoperativen Bewertung der Lymphknoten und des endgültigen histopathologischen Befundes [25, 26]. Im FIGO-Stadium IA und G1 weisen nur circa 3,5 % aller Lymphadenektomien befallene Lymphknoten auf [27]. Bei einem Tumordurchmesser > 2 cm oder bei Tumoren mit dem Grading G3 konnte eine Studie nach systematischer Lymphadenektomie bis zu den Nierengefäßen bei 22 % der Patientinnen Lymphknotenmetastasen nachweisen. Von den 22 % hatten 51 % pelvine und paraaortale, 16 % isoliert paraaortale und 33 % nur pelvine Lymphknotenmetastasen. Bei 77 % der Patientinnen mit paraaortalen Metastasen wurden auch befallene Lymphknoten oberhalb der Arteria mesenteria inferior gefunden, sodass die Lymphadenektomie bis zu den Nierengefäßen durchgeführt werden musste [28].

## **1.2 Detektion von metastasierten Lymphknoten**

Für andere Tumoren wurden bereits Marker zur besseren Detektion von metastasierten Lymphknoten in den bildgebenden Verfahren gefunden. Zum Tumorstaging eignet sich unter anderem bei Bronchialkarzinomen, dem kolorektalem Karzinom, Cervixkarzinomen, Ovarialkarzinomen, Mamma-Karzinomen, dem malignen Melanom und den meisten Lymphomen die FDG-PET-CT (<sup>18</sup>F-Fluordesoxyglucose-Positronen-Emissions-Tomographie) [29]. Die Tatsache, dass Tumorzellen einen stark erhöhten Glukoseverbrauch haben, wird sich mit dem Glukose-Analogon FDG schon seit vielen Jahren zu Nutze gemacht. Bezüglich der Metastasensuche in mediastinalen Lymphknoten war die FDG-PET-CT beim nichtkleinzelligen Lungenkarzinom signifikant besser als die CT [30]. Beim Seminom (Keimzelltumor des Mannes)

können mittels FDG-PET-CT retroperitoneale Lymphknotenmetastasen ab einer Größe von 6mm detektiert werden [31]. Bei Kopf-Hals-Tumoren wird zur Metastasensuche in zervikalen Lymphknoten zusätzlich zur Kontrastmittel-CT und zur Feinnadelbiopsie eine FDG-PET-CT durchgeführt. Der Vorteil der PET-CT ist eine exakte anatomische Lokalisation der Metastasen und das Detektieren von Metastasen in normalgroßen Lymphknoten [32]. Beim Zervixkarzinom eignet sich die FDG-PET-CT zum Nachweis von Lymphknotenmetastasen im kleinen Becken, paraaortal und supraclavikulär und ist somit für die Therapieplanung hilfreich [33].

Bei neuroendokrinen Tumoren (z.B. kleinzelliges Bronchialkarzinom, Karzinoid, Pankreastumoren, Meningeom) nutzt man die vermehrte Somatostatin-Expression auf den Tumorzellen zur Detektion. Mit der  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC-(DOTA(0)-Phe(1)-Tyr(3))octreotid)-PET-CT wird mit DOTATOC ein Somatostatin-Analogon verwendet, welches radioaktiv markiert wird und an die Somatostatin-Rezeptoren bindet [34]. Eine Studie hat das Staging mittels  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC-PET-CT und der Ganzkörper-MRT bei 51 Patienten mit histologisch gesichertem neuroendokrinen Tumor verglichen und unter anderem eine Detektionsrate der Lymphknotenmetastasen von 100 % in der PET-CT versus 73 % in der MRT ermittelt [35].

Um präoperativ befallene Lymphknoten des Prostatakarzinoms zu detektieren, wird die  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11-PET-CT genutzt. PSMA steht für Prostata-spezifisches-Membran-Antigen, wird fast ausschließlich im Prostatagewebe exprimiert und zeigt sich stark überexprimiert auf der Oberfläche von Prostatakarzinomzellen. Das PSMA wird mit  $^{68}\text{Ga}$  (Gallium-68) radioaktiv markiert und kann so in der PET-CT nachgewiesen werden [36]. Verschiedene Studien weisen die hohe Genauigkeit dieser Methode für das nicht-invasive Lymphknotenstaging nach. Herlemann et al. beschrieben eine Sensitivität von 84 % [37]. Hofman et al. zeigten eine Sensitivität von 85 %

[38]. Diese Ergebnisse wurden durch verschiedene Metaanalysen bestätigt [39, 40].

In vitro wurde im Bereich der Forschung über das Mammakarzinom der Antikörper Trastuzumab mit einem Gammastrahler und einem Fluoreszenzfarbstoff zweifach markiert, zum möglichen Nachweis von humanen epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor-2 (her2/neu) positiven Metastasen in Lymphknoten. Somit wurde die PET mit der Fluoreszenzbildgebung kombiniert. Die Studie konnte neue mögliche Ansätze für die höhere Genauigkeit des Lymphknotenstaging darstellen. Weitere Studien bezüglich der Sensitivität und Spezifität müssen folgen [41].

Verschiedene Studien evaluieren die präoperative Beurteilung von pelvinen und paraaortalen Lymphknoten beim Endometriumkarzinom in der MRT, CT und PET-CT. Die Sensitivität lag bei guter Studienqualität in einer Metaanalyse von Selman et al. bei 72 % in der MRT und bei 45 % in der CT [42]. Eine andere Metaanalyse von Luomaranta et al. zeigte eine geringere Sensitivität von 43,5 % in der MRT bei unklarer Studienqualität. Daher reicht eine MRT allein nicht aus, um Lymphknoten sicher zu beurteilen und es muss beim negativem MRT-Befund dennoch ein chirurgisches Staging erfolgen. In derselben Metaanalyse zeigte sich eine Sensitivität für die CT von 45 % [43]. In der Multicenterstudie von Antonsen et al. hatte die PET-CT eine höhere Sensitivität in der Detektion von befallenen Lymphknoten als die MRT (74 % versus 59 %), sodass die PET-CT zur Detektion der metastasierten Lymphknoten besser geeignet scheint. Dennoch ist auch die PET-CT nicht in der Lage, das chirurgische Staging zu ersetzen. Durch den Nachweis von metastasierten Lymphknoten in den bildgebenden Verfahren kann bei low-risk-Patientinnen, bei denen allein aufgrund der Histologie und des Gradings keine Lymphadenektomie durchgeführt werden soll, lediglich die Notwendigkeit einer Lymphadenektomie ermittelt werden und so eine Einteilung in eine höhere Risikogruppe erfolgen [44]. Metaanalysen von



Kakhki et al. [45] und Chang et al. [46] untersuchten ebenfalls den Nachweis von metastasierten Lymphknoten in der FDG-PET-CT und zeigten eine Sensitivität von 72.3 % bzw. 63 %. Die transvaginale Sonographie eignet sich wegen der geringen Eindringtiefe nicht zur zuverlässigen Detektion von Lymphknotenmetastasen [3].

### 1.3 L1CAM

L1CAM (CD 171) ist ein Zelladhäsionsmolekül bzw. ein transmembranes Glykoprotein aus der Immunglobulin-Superfamilie. Es wiegt 200-220 kDA und setzt sich extrazellulär aus sechs Immunglobulin-ähnlichen Domänen und fünf Fibronectin-Typ III-Kopien zusammen, die über eine transmembranäre Region mit dem zytoplasmatischen/intrazellulärem Teil des Glykoproteins verbunden sind [47]. Es wurde zuerst in Nervenzellen entdeckt und ist hier an der Neurogenese beteiligt, indem es zu der neuronalen Zellmigration, der Myelinisierung, dem Axon-Wachstum, der Ausbildung der Synapsen und der Differenzierung von Nervenzellen beiträgt. Des Weiteren übernimmt es Funktionen bezüglich des Überlebens und der Regeneration der Nervenzellen [48]. L1CAM kann homophil an sich selbst binden (Zell-Zell-Adhäsionen) oder heterophil an andere neurale Zelladhäsionsmoleküle und Integrine. Der zytoplasmatische Teil kann mit dem Zytoskelett interagieren. Die lösliche Form von L1CAM entsteht durch die Metalloproteinase ADAM-10 [47, 49].

Mutationen im *L1CAM* verursachen beim Menschen eine Fehlentwicklung des Gehirns mit geistiger Retardierung. Unter anderem zeigen sich Defekte im zentralen Nervensystem wie dem Corpus callosum und dem Kortikospinaltrakt [50].

In Krebszellen spielt L1CAM bei der Zellproliferation, Migration, Invasion und Metastasierung eine wichtige Rolle. In verschiedenen Krebsarten (Kolonkarzinom, Ovarialkarzinom, Uteruskarzinom, Lungenkarzinom etc.)

bedeutet die Expression von L1CAM eine schlechtere Prognose, Tumorprogression, eine erhöhte Rezidivrate und Lymphknotenmetastasierung [51-54]. L1CAM kann eine Hemmung der Apoptose auslösen, sodass, nachgewiesen bei der Therapie des Ovarialkarzinoms, sogar der Erfolg einer Chemotherapie gemindert werden könnte [55, 56].

Die Kontrolle von L1CAM in Krebszellen ist sehr komplex und nicht vollständig geklärt. Die Expression wird von transkriptionellen, post-transkriptionellen und epigenetischen Mechanismen beeinflusst. L1CAM ist überwiegend an der invasiven Front des Tumors nachzuweisen [52].

Das Zytokin TGF- $\beta$ 1 (Transforming growth factor beta), wichtig für die Embryogenese und Onkogenese, induziert offenbar die vom Transkriptionsfaktor SLUG (snail homolog 2) vermittelte Aktivierung des L1CAM-Gens. Es wird diskutiert, dass L1CAM an der Epithelial-Mesenchymalen Transition beteiligt ist, da es vermehrt an der invasiven Tumorfront exprimiert wird [57]. Sowohl in der Onkogenese als auch in der Embryogenese wird das Tumorsuppressorgen E-Cadherin, welches eine entscheidende Rolle bei Zell-Zell-Adhäsionen spielt, durch den Transkriptionsfaktor SLUG unterdrückt. Huszar et al. entdeckten an der Tumorfront von Endometriumkarzinomen eine verminderte E-Cadherin Expression sowie eine erhöhte L1CAM Expression. Dies führt zur Migration und Invasion von Tumorzellen in das benachbarte Gewebe [57]. Auch DNS-Methylierung der Promotoren steuern die Expression, sowie post-transkriptionell die mikroRNAs miR-34a und miR-21-3p. Die Metalloprotease ADAM-10 spaltet die extrazelluläre Domäne von L1CAM ab und bildet somit die lösliche Form von L1CAM, die zu verstärkter Zellmigration führt [49]. Zudem wird L1CAM in der Tumorgenese verstärkt durch den Transkriptionsfaktor  $\beta$ -Catenin exprimiert. Dies wurde am Beispiel des Kolonkarzinom gezeigt. Ist der Wnt-Signalweg (Signaltransduktionsweg der Embryogenese sowie Karzinogenese) in adulten Zellen physiologisch inaktiv,

wird der Transkriptionsfaktor  $\beta$ -Catenin ständig abgebaut. Wird der Signalweg jedoch aktiviert, wird  $\beta$ -Catenin freigesetzt und beginnt mit der Transkription von Genen, welche die Zellproliferation und Zelladhäsion regulieren, unter anderem L1CAM und ADAM-10 [47, 58]. Ein weiterer Transkriptionsfaktor, der L1CAM beeinflusst, ist REST (RE1-silencing transcription factor). Der Faktor ist für die neuronale Entwicklung relevant. In der Tumorgenese ist der Verlust von REST mit der Expression von L1CAM verbunden, nachgewiesen beim kleinzelligen Lungenkarzinom, und somit auch mit schlechterer Prognose und erhöhter Rezidivrate [47]. In den Zelllinien des Endometriumkarzinoms wurde in einer Studie eine Korrelation zwischen SLUG,  $\beta$ -Catenin und der L1CAM Expression gefunden [59].

Pasanen et al. konnten L1CAM in 26,6 % der Endometriumkarzinome nachweisen [60]. Andere Studien fanden in 19,1 % bzw. 44 % L1CAM-positive Karzinome [61, 62]. Eine weitere aktuelle Studie belegt, dass L1CAM in 18 % der fortgeschrittenen Karzinome exprimiert ist, sowie in 75 % der nicht-endometrioiden Karzinome. 59 % der L1CAM positiven Karzinome waren G3, 41 % wiesen eine Lymphgefäßinvasion auf [63]. Eine hohe L1CAM Expression ist mit fortgeschrittenen Stadien (Odds ratio (OR): 3,2 für FIGO I, II vs. III, IV) assoziiert [64]. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass die Expression von L1CAM im Endometriumkarzinom eine schlechte Prognose bedeutet [51, 63, 65]. Eine Re-Evaluierung von pathologischen Schnitten zeigte bei 61 % der L1CAM-positiven Tumoren eine seröse oder andere Mischkomponente, die in der ersten histopathologischen Untersuchung nicht gesehen wurde [65]. Die aktualisierte S3-Leitlinie von 2022 empfiehlt konsensbasiert zusätzlich die großzügige, immunhistochemische Bestimmung von L1CAM als zusätzlichen Risikofaktor bei der Frage, ob bei Typ-I-Endometriumkarzinomen cT1a, G1, p53-Wildtyp fertilitätserhaltend operiert werden kann. Auch bei der Entscheidung, ob eine Sentinel-Node-Biopsie bei Typ-1-Endometriumkarzinomen pT1a, G1/G2

durchgeführt werden kann, spielt die L1CAM Expression mittlerweile eine Rolle. Ebenso wird die Empfehlung zur Bestrahlung bei positiver L1CAM Expression großzügiger gestellt [3]. Die Wahrscheinlichkeit für Lymphknotenmetastasen ist bei starkem Expressionsgrad von L1CAM höher als bei niedrigem Expressionsgrad (33 % vs. 10 %) [51]. Die OR für positive pelvine Lymphknoten bei L1CAM Expression liegt bei 21,8, für positive paraaortale Lymphknoten bei 10,3 [64].

---

## 2 Zielsetzung

Es wurde nachgewiesen, dass die L1CAM Expression in Endometriumkarzinomen mit einer schlechten Prognose und Lymphknotenmetastasen assoziiert ist. L1CAM spielt bei der Zellinvasion und Metastasierung eine wichtige Rolle. Studien zum Nachweis der L1CAM Expression in den Lymphknoten des metastasierten Endometriumkarzinoms liegen aktuell nicht vor. Es handelt sich bei dieser Forschungsarbeit um eine monozentrische, retrospektive Beobachtungsstudie, in der die L1CAM Expression in dem metastasierten Gewebe im Lymphknoten untersucht wurde. Ein erhöhter Expressionsgrad kann eine Voraussetzung für weitere Maßnahmen darstellen, die einen Lymphknotenbefall nachweisen können, ohne eine Lymphadenektomie durchführen zu müssen. Es fehlen bisher zuverlässige Methoden, präoperativ Lymphknotenmetastasen zu detektieren und die Notwendigkeit einer Lymphadenektomie sicher zu evaluieren. Unnötige Lymphadenektomien könnten durch den präoperativen, nicht-invasiven Ausschluss von Lymphknotenmetastasen verhindert werden, z.B. durch einen passenden Marker für die bildgebenden Verfahren. Dies wird sich bereits für andere Tumore zu Nutze gemacht. Die vorliegende Studie dient als hypothesengenerierende Pilotstudie, da der Expressionsgrad von L1CAM im metastasierten Gewebe vom Endometriumkarzinom, insbesondere in den Lymphknoten, vorher niemals untersucht wurde.

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Patientenkollektiv**

Es handelt sich um eine retrospektive Studie, in die alle Patientinnen eingeschlossen wurden, die zwischen 2008 und 2019 am Endometriumkarzinom mit Lymphknotenmetastasen an der Universitätsklinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Klinikum Oldenburg AöR, Carl von Ossietzky Universität Oldenburg operiert worden sind. Von 103 Patientinnen, die in diesem Zeitraum am Endometriumkarzinom operiert worden sind, konnten bei 14 Patientinnen histologisch Lymphknotenmetastasen vom Endometriumkarzinom nachgewiesen werden, sodass diese 14 Patientinnen in die Studie aufgenommen wurden. Das heißt, dass bei 13,6 % aller Patientinnen Lymphknotenmetastasen gefunden wurden. Die Entnahme der Gewebe erfolgte im Rahmen der operativen Therapie der Endometriumkarzinome. Nach histologischer Abklärung wurden die Gewebe im Institut für Pathologie, Oldenburg asserviert und standen als Gewebeblöcke zur Untersuchung zur Verfügung. Es wurden jeweils die Gewebeproben der metastasierten paraaortalen oder pelvinen Lymphknoten, der nicht befallenen paraaortalen oder pelvinen Lymphknoten und des Gewebes aus dem Primärtumor einer Patientin untersucht und der Expressionsgrad miteinander verglichen. Des Weiteren wurden klinische Daten der Patientinnen gesammelt und ebenfalls mit den experimentellen Ergebnissen verglichen.

### **3.2 Ethikvotum**

Zwischen 2015 und 2019 haben die Patientinnen, deren Gewebeblöcke asserviert wurden, vor Entnahme der Gewebe eine standardisierte Einverständniserklärung zur Nutzung ihrer Daten und Pathologieblöcke unabhängig von dieser Studie (im Rahmen der Datenbank der

---

Universitätsklinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Klinikum Oldenburg AöR, Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, Ethikvotum 2017-114) unterschrieben. Von 2008 bis 2014 lagen keine Einverständniserklärungen vor, sodass vor Beginn des Projekts die Einverständniserklärung dieser Patientinnen eingeholt wurde, wie im gesonderten Ethikvotum (2019-005) festgelegt wurde. Nach Erhalt des Ethikvotums erfolgte eine Pseudonymisierung, damit die Patientenidentität nicht mehr erkennbar ist. Die Pseudonymisierung erfolgte durch den Studienleiter (PD Dr. med. habil. Amr Soliman). Er verpflichtet sich damit, die patientenbezogenen Daten zu schützen. Die statistische Auswertungsphase lief anonymisiert ab, indem ab diesem Punkt alle identitätsbezogenen Daten gelöscht wurden. Das Ethikvotum 2019-005 durch die medizinische Ethikkommission der Carl-von-Ossietzky Universität Oldenburg für diese Studie liegt vor.

### **3.3 Immunhistochemie**

Die Gewebeproben aus dem Archiv des Instituts für Pathologie lagen formalin-fixiert und in Paraffin eingebettet vor. Für die Schnittpvorbereitung wurden die Gewebelöcke mit dem Rotationsmikrotom in 2 µm dicke Scheiben geschnitten, auf die SuperFrost® Objektträger aufgezogen und über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet.

Der Nachweis von L1CAM erfolgte immunhistochemisch. Gewebe vom Ovarialkarzinom diente als positive Kontrolle der L1CAM Expression. Als Negativkontrolle diente Gewebe aus nicht metastasierten Lymphknoten. Für die Deparaffinierung wurden die Gewebeschnitte zunächst für 60 Minuten im Trockenschrank bei 52 °C erhitzt. Anschließend wurden die Schnitte für 10 Minuten in Xylol gewaschen. Daraufhin erfolgte das Waschen in einer absteigenden Alkoholreihe mit 96 %-, 80 %-, 70 %-, 50 %- und 20%igem

Ethanol für jeweils 2 Minuten. Abschließend wurden die Schnitte in deionisiertem Wasser für ebenfalls 2 Minuten gewaschen.

Zur Demaskierung der Epitope wurde im Anschluss eine Hitzebehandlung (HIER: Heat-induced epitope retrieval) durchgeführt. Dafür wurden die Schnitte in Citrat-Puffer (pH 6,0; Zytomed®) für 20 Minuten in einem Wasserbad bei 98°C erhitzt. Für die Beendigung der Reaktion wurden die Schnitte danach kurz in Eiswasser getaucht.

Dann folgte die Antikörper-Färbung in einer Feuchtkammer. Die Schnitte wurden für die Blockierung der Aktivität von gewebeeigenen Peroxidasen zuerst für 5 Minuten mit 3%igem Wasserstoffperoxid inkubiert und daraufhin für 5 Minuten in Waschpuffer (Zytomed®) gewaschen. Es folgte eine 5-minütige Inkubation mit der Blocking Solution (HRP-Kit 1; Zytomed®). Nach einem weiteren 5-minütigen Waschschrift in Waschpuffer wurden die Schnitte mit dem Antikörper anti-CD 171 (clone 14.10; Biolegend®) über Nacht bei 4°C inkubiert. Der Antikörper wurde vorher in der Verdünnung 1:500 mit Antibody diluent verdünnt. Am Folgetag wurden die Schnitte erneut in Waschpuffer für zwei Mal 5 Minuten gewaschen und als nächstes für 20 Minuten mit dem Postblock (HRP-Kit 2) inkubiert. Anschließend erfolgte wieder das zwei Mal je 5-minütige Waschen im Waschpuffer und die Inkubation mit dem Enzym HRP (Horseradish peroxidase)-Polymer (HRP-Kit 3) für 30 Minuten. Dann wurden die Schnitte erneut für 5 Minuten im Waschpuffer gewaschen.

Zur Darstellung der Epitope wurde nun das Chromogen DAB (3,3'-Diaminobenzidin) frisch vorbereitet (Chromogen mit DAB Substrat 1:20 verdünnt). Die Reaktion zeigt sich in einer bräunlichen Färbung und lief bei allen Färbungen für 2 Minuten ab. Die Reaktion wurde anschließend mit einer 5-minütigen Waschung in deionisiertem Wasser beendet und mit Hämalaun (Merck®) für 2 Minuten gefärbt. Danach wurden die Schnitte zur Erhöhung des pH-Wertes in Leitungswasser gespült, sodass ein Farbumschlag erfolgte. Daraufhin erfolgte das Waschen der Schnitte in einer aufsteigenden



Alkoholreihe mit 20 %-, 50 %-, 70 %-, 80 %- und 96 %igem Ethanol für je eine Minute und abschließend das Waschen in Xylol für je zweimal 10 Minuten. Die Schnitte wurden mit Hilfe von Deckgläschen und dem Eindeckmedium versiegelt.

Der Expressionsgrad des Proteins wurde durch die Pathologin Samar El-Achy der Faculty of Medicine der University of Alexandria, Egypt nach Tabelle 3 ausgewertet.

Tabelle 3: Auswertung der immunhistochemischen Färbung

Resultat	% positiver Tumorzellen
Negativ	0
Schwach positiv	1-9 %
Mäßig positiv	10-50 %
Stark positiv	> 50 %

## **4 Ergebnisse**

### **4.1 Klinische Daten**

Es wurde das Gewebe der Patientinnen untersucht, bei denen sich Lymphknotenmetastasen vom Endometriumkarzinom zeigten. Dies war bei 13,6 % der Patientinnen der Fall. 11 der Tumoren waren endometrioides Adenokarzinome, jeweils ein Tumor war ein Karzinosarkom, ein endometrioides Adenokarzinom mit kleinzelliger neuroendokriner Differenzierung und ein gemischt endometrioides und klarzelliges Adenokarzinom. Die Patientinnen waren bei Erstdiagnose des Karzinoms im Mittel 66 Jahre alt. 9 Patientinnen wiesen einen G2 Tumor auf, 5 Patientinnen einen G3 Tumor. Bei allen Patientinnen hatte eine Invasion in das Myometrium stattgefunden, bei 13 von 14 Patientinnen lag die myometrane Infiltration bei > 50 % (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Alter bei ED (Erstdiagnose), Histologie, Grading und MI (Myometriuminfiltration) der Patientinnen

Patient	Alter bei ED	Histologie	Grade	MI	MI > 50 %
1	70	endometrioid	G2	Ja	Ja
2	75	endometrioid	G2	Ja	Ja
3	50	endometrioid	G2	Ja	Ja
4	68	Karzinom	G3	Ja	Ja
5	74	gemischt endometrioid/klarzellig	G3	Ja	Ja
6	69	endometrioid	G2	Ja	Ja
7	61	endometrioid	G3	Ja	Ja
8	74	endometrioid mit kleinzelliger neuroendokriner Differenzierung	G3	Ja	Ja
9	62	endometrioid	G3	Ja	Ja
10	77	endometrioid	G2	Ja	Ja
11	59	endometrioid	G2	Ja	Nein
12	52	endometrioid	G2	Ja	Ja
13	59	endometrioid	G2	Ja	Ja
14	72	endometrioid	G2	Ja	Ja

Bei 4 Patientinnen lag keine Ausbreitung außerhalb des Uterus vor, ansonsten zeigte sich eine Ausbreitung auf die Parametrien, Serosa oder Ovarien. Bei 2 Patientinnen wurden Metastasen gefunden (intrazerebral, intraabdominal). Eine histologisch gesicherte Veneninvasion (V-Kategorie) stellte sich bei 2 Patientinnen dar. 8 Patientinnen wurden zusätzlich mit Chemotherapie behandelt, 12 Patientinnen mit Radiatio. 5 Patientinnen erlitten ein Rezidiv, im Mittel nach 18 Monaten. 8 Patientinnen sind bereits verstorben (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Ausbreitung außerhalb des Uterus, Fernmetastasen, Rezidiv, Zeit bis zum ersten Rezidiv (in Monaten), Tod und Gesamtüberleben (in Monaten) der Patientinnen

Patient	Ausbreitung außerhalb des Uterus	Fernmetastase	Rezidiv	Zeit bis zum ersten Rezidiv	Tod	Gesamtüberleben
1	Serosa/vaginal		Ja	30	Ja	33
2	Nein		Nein		Nein	53
3	Ovarien		Nein		Nein	51
4	Ovarien		Nein		Nein	55
5	Nein		Nein		Ja	78
6	Ovarien	Intraabdominal	Nein		Nein	71
7	Ovarien		Nein		Nein	49
8	Ja	intrazerebral	Nein		Ja	8
9	Ja		Ja	17	Nein	31
10	Ja		Nein		Ja	7
11	Nein		Ja	9	Ja	13
12	Ovarien		Ja	13	Ja	19
13	Parametrien		Ja	20	Ja	30
14	Nein		Nein		Ja	23

Im Mittel wurden 31 Lymphknoten entfernt, von denen im Mittel 5 Lymphknoten metastasiert waren. Tabelle 6 zeigt die pTNM- und die FIGO-Klassifikation der 14 Patientinnen.

Tabelle 6: pTNM- und FIGO-Klassifikation der Patientinnen

<b>Patient</b>	<b>pT</b>	<b>pN</b>	<b>pM</b>	<b>FIGO stage</b>
1	3b	1	1	IIIC1
2	1b	2	0	IIIC2
3	3a	2	0	IIIC2
4	3a	2	0	IIIC2
5	2	2	0	IIIC2
6	4a	2	1	IVB
7	3a	1	0	IIIC1
8	3b	1	1	IVB
9	2	1	0	IIIC1
10	4a	1	0	Iva
11	2	1	0	IIIC1
12	2	1	0	IIIC1
13	2	2	0	IIIC2
14	2	1	0	IIIC1

Die Expression von L1CAM im Endometriumkarzinom und in den metastasierten Lymphknoten wurde im Gewebe von 14 Patientinnen immunhistochemisch untersucht und mit den klinischen Daten der Patientinnen verglichen. Das Gewebe vom Ovarialkarzinom war bei allen immunhistochemischen Durchgängen stark positiv (Positivkontrolle). In den Negativkontrollen (nicht metastasierte Lymphknoten) konnte kein L1CAM nachgewiesen werden. In den folgenden Abbildungen sind die L1CAM immunhistochemischen Färbungen mit den verschiedenen Färbegraden sowie die Positivkontrolle und die Negativkontrolle beispielhaft dargestellt.

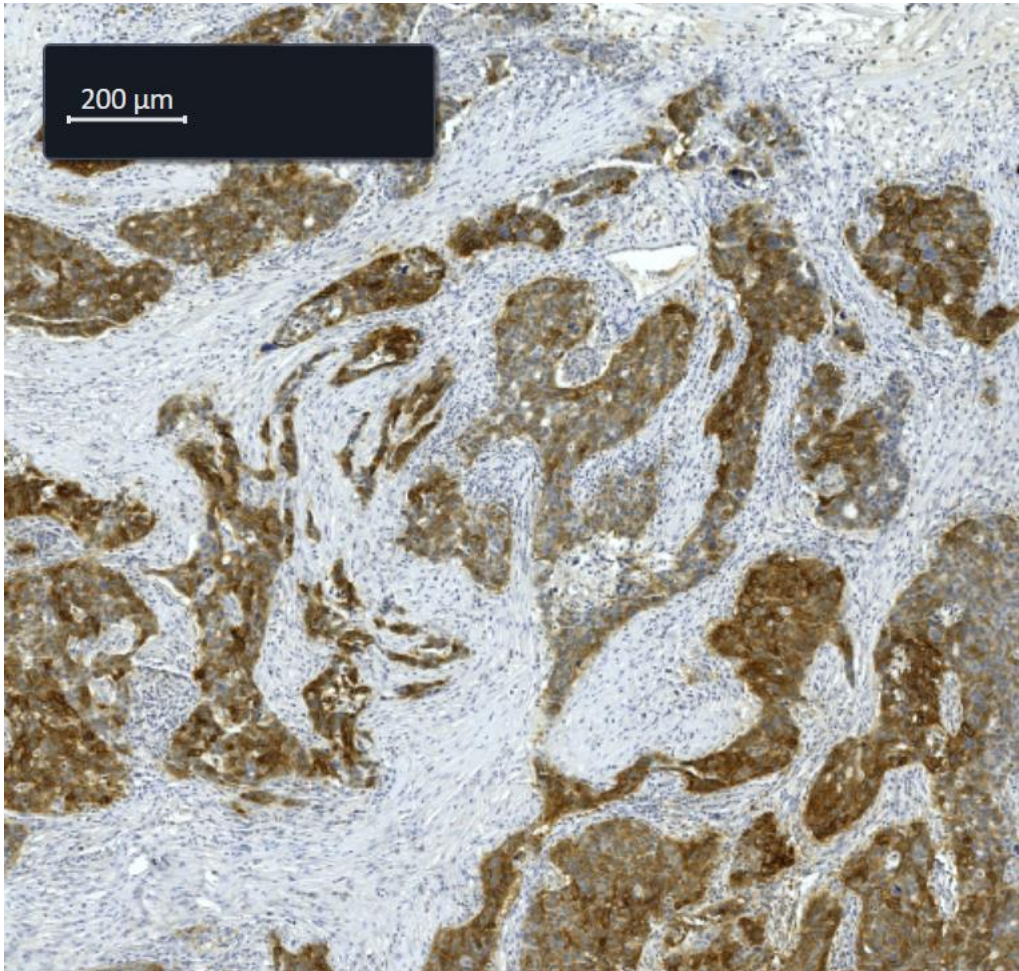


Abbildung 1: L1CAM Immunhistochemie, Positivkontrolle: Ovarialkarzinom

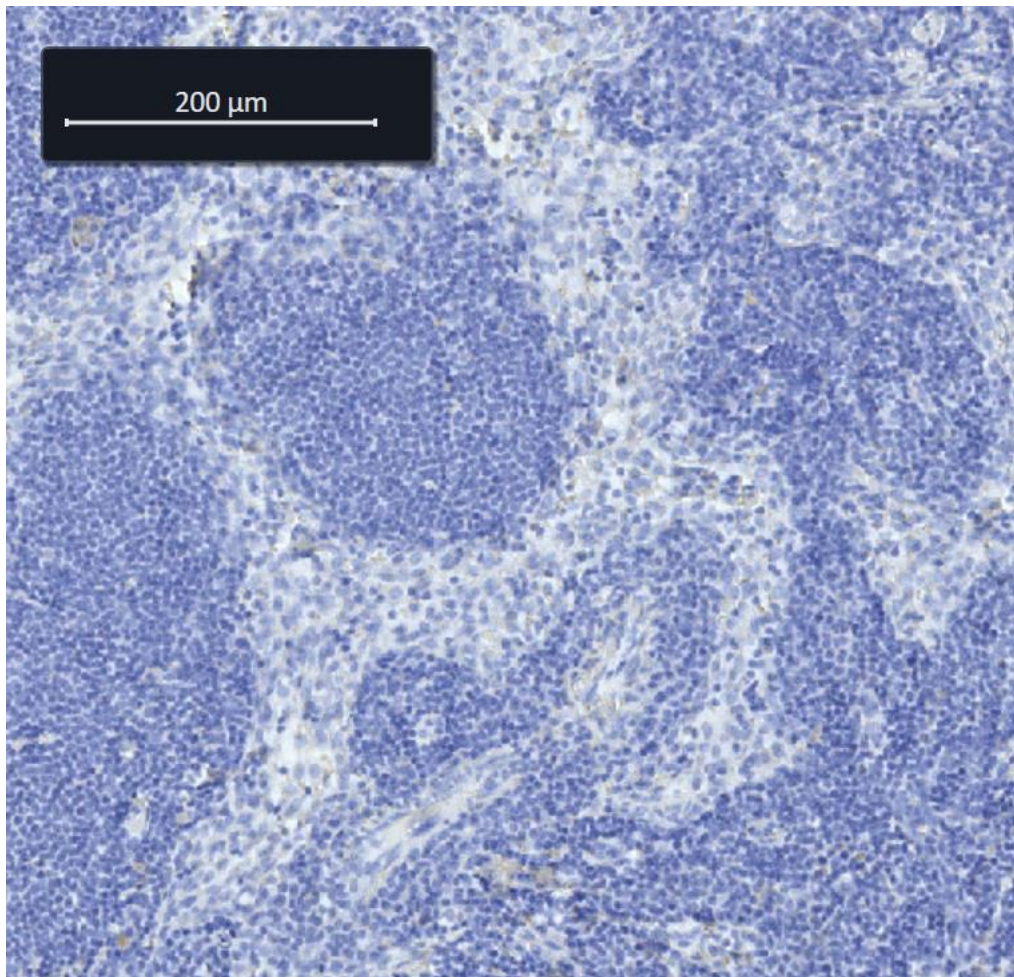


Abbildung 2: L1CAM Immunhistochemie, Negativkontrolle: Lymphknoten



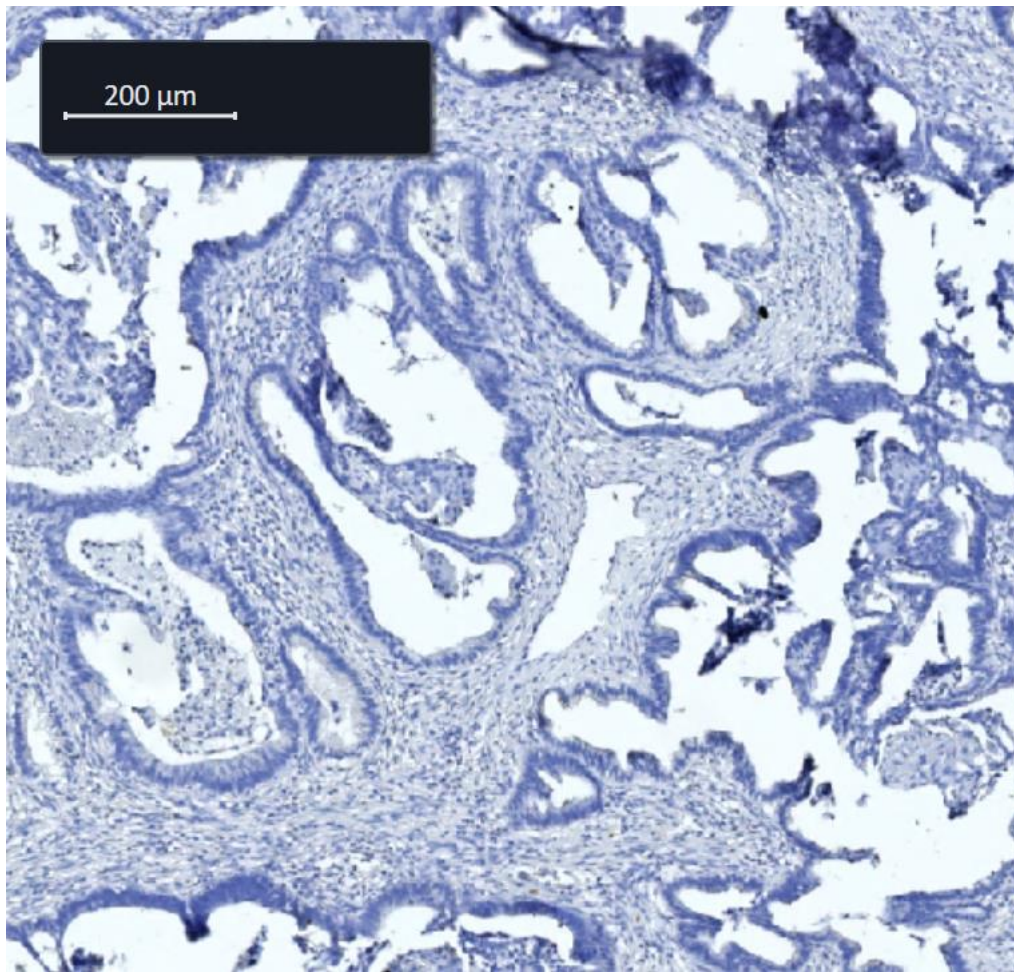


Abbildung 3: L1CAM Immunhistochemie, Endometriumkarzinom: negativ



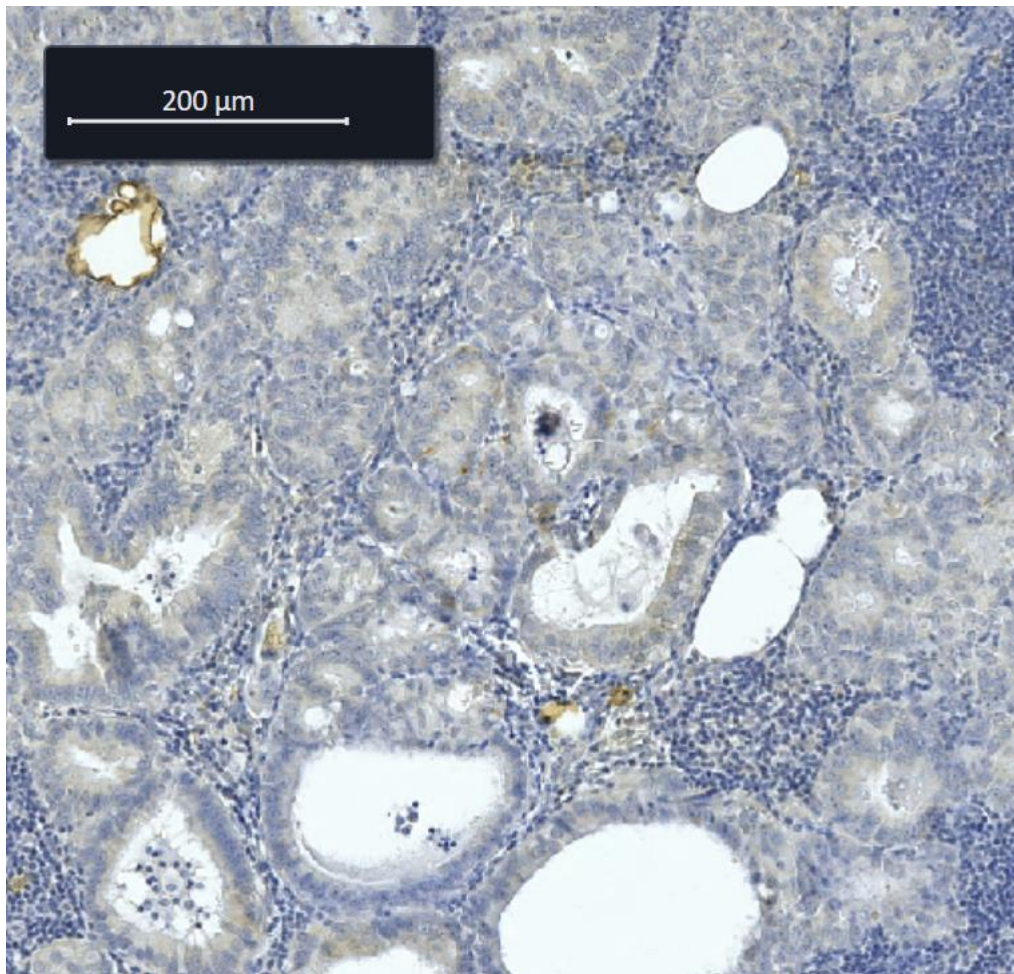


Abbildung 4: L1CAM Immunhistochemie, Lymphknotenmetastase: schwach positiv

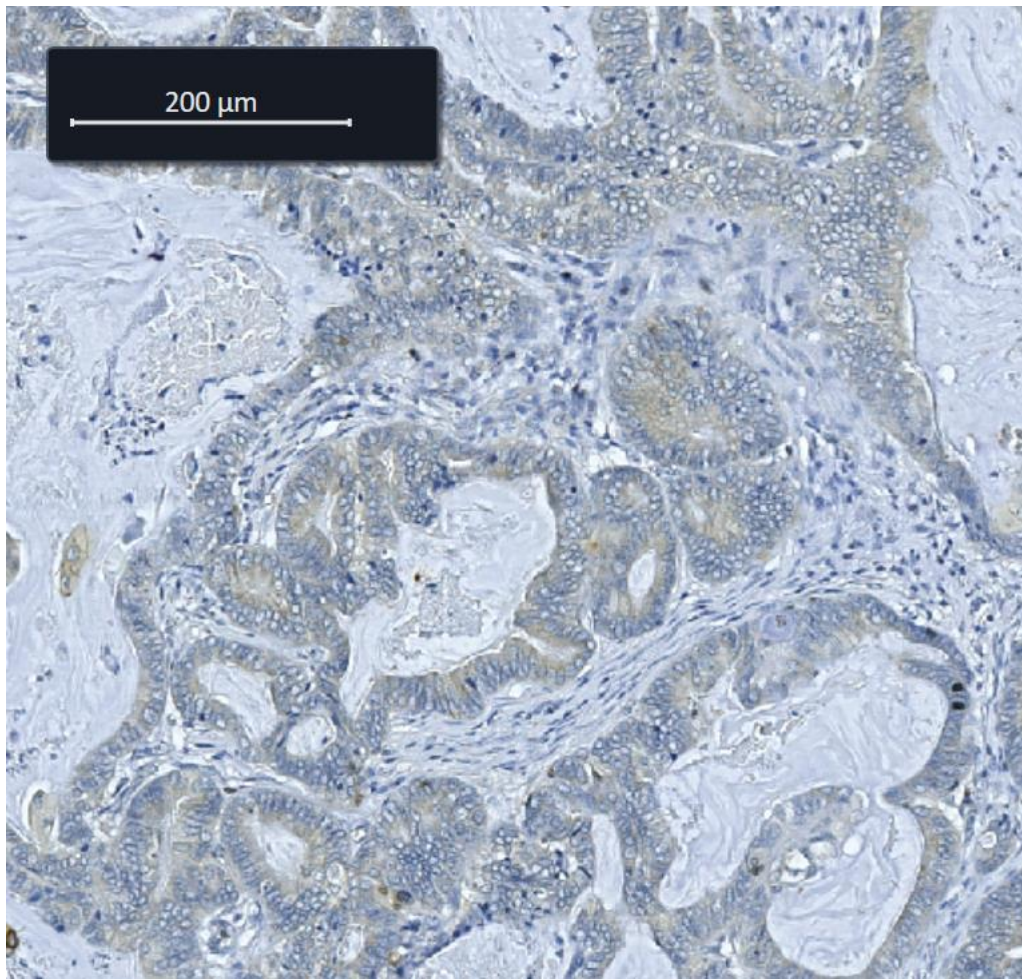


Abbildung 5: L1CAM Immunhistochemie, Lymphknotenmetastase: mäßig positiv



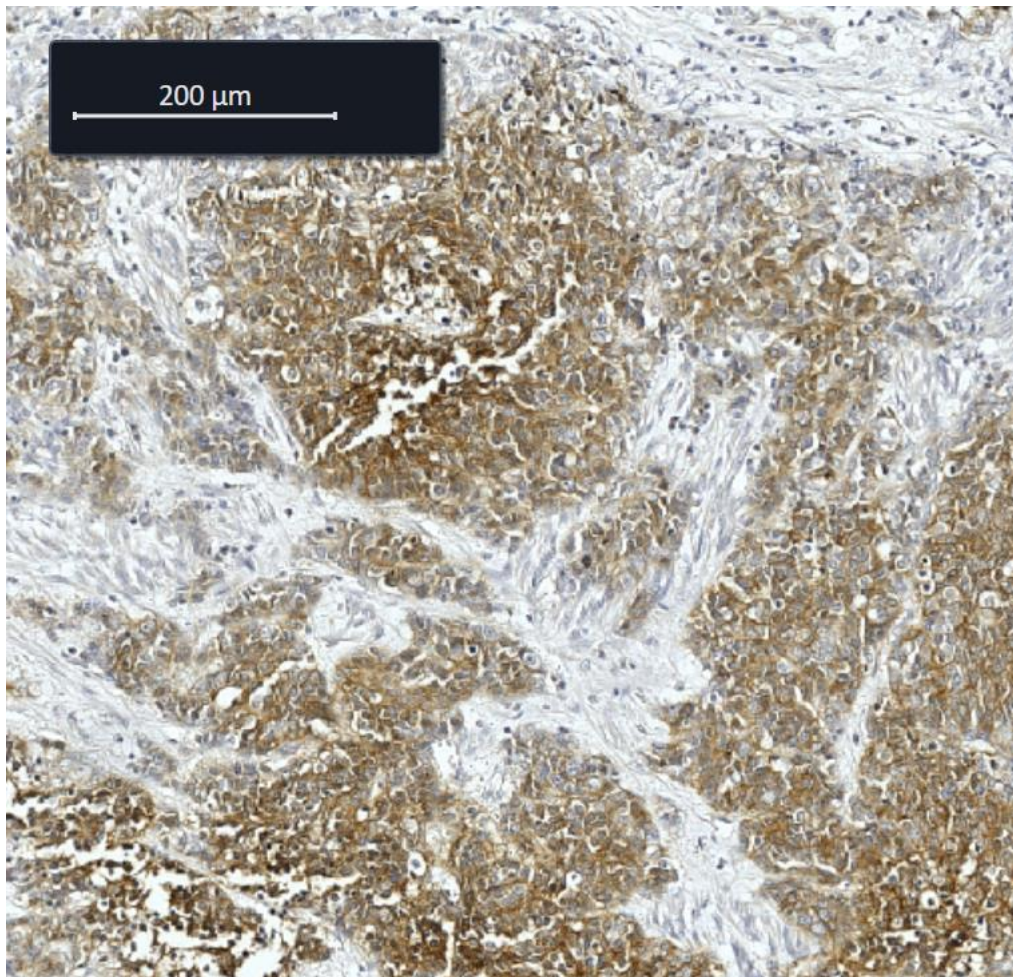


Abbildung 6: L1CAM Immunhistochemie, Endometriumkarzinom: stark positiv

#### **4.2 L1CAM Immunhistochemie des Primärtumors und der Lymphknoten**

Bei 7 der 14 Patientinnen konnte L1CAM in den Tumorzellen des Endometriumkarzinoms nachgewiesen werden. Bei 5 Patientinnen war die Färbung schwach positiv (1-9 % L1CAM Färbung), bei einer Patientin mäßig positiv (10-50 % L1CAM Färbung) sowie bei einer Patientin stark positiv (> 50 % L1CAM Färbung).

Nicht metastasierte Lymphknoten waren bei allen Patientinnen L1CAM negativ. Metastasierte Lymphknoten zeigten sich bei 4 Patientinnen positiv,

davon bei 2 Patientinnen schwach positiv, bei einer mäßig positiv und bei einer Patientin stark positiv. Es zeigte sich, dass die L1CAM Expression im Primärtumor der Expression in den jeweiligen Lymphknotenmetastasen ähnelt. Bei 2 der Patientinnen mit schwach positiver L1CAM Färbung im Primärtumor wiesen die jeweiligen Lymphknotenmetastasen ebenfalls eine schwach positive Färbung auf. Bei der Patientin mit stark positiver L1CAM Färbung im Primärtumor wies die Lymphknotenmetastase ebenfalls eine stark positive Färbung auf. In einem Fall zeigte die Lymphknotenmetastase eine mäßig positive Färbung, der Primärtumor zeigte keine Färbung. Tabelle 7 gibt einen Überblick über die L1CAM Expression im Endometriumkarzinom und in den Lymphknotenmetastasen.

Tabelle 7: L1CAM Expression im EC (Endometriumkarzinom) und LKM (Lymphknotenmetastase)

Patient	L1CAM EC	L1CAM LKM
1	1-9 %	0 %
2	1-9 %	0 %
3	0 %	0 %
4	1-9 %	0 %
5	0 %	0 %
6	0 %	10-50 %
7	0 %	0 %
8	> 50 %	> 50 %
9	1-9 %	1-9 %
10	10-50 %	0 %
11	0 %	0 %
12	1-9 %	1-9 %
13	0 %	0 %
14	0 %	0 %

### 4.3 L1CAM Expression in Bezug auf die Ausbreitung des Primärtumors

In folgender Tabelle und Abbildung ist die immunhistochemisch nachgewiesene L1CAM Expression in Bezug auf die Tumortiefenausdehnung gemäß TNM-Klassifikation dargestellt.

Tabelle 8: L1CAM Expression entsprechend der Tumortiefenausdehnung

<b>Expression</b> <b>Tiefen-</b> <b>ausdehnung</b>	<b>negativ</b>	<b>schwach</b> <b>positiv</b>	<b>mäßig</b> <b>positiv</b>	<b>stark</b> <b>positiv</b>	<b>gesamt</b>
pT1	0	1	0	0	1
pT2	4	1	0	0	5
pT3	2	3	0	1	6
pT4	1	0	1	0	2
gesamt	7	5	1	1	14

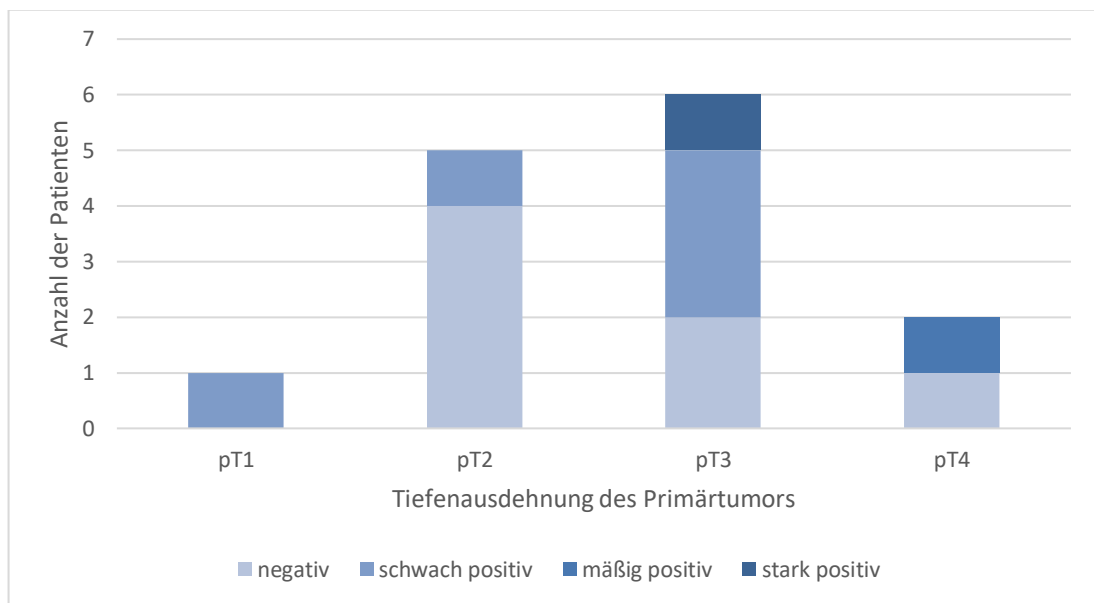


Abbildung 7: L1CAM Expression entsprechend der Tumortiefenausdehnung

Es zeigt sich keine positive Korrelation zwischen der L1CAM Expression und der Tumortiefenausdehnung. In jedem Tumorstadium lässt sich L1CAM nachweisen und es zeigt sich kein Zusammenhang zwischen Tumorstadium und dem Expressionsgrad von L1CAM.

Des Weiteren wurde die Lymphgefäßinfiltration (L-Kategorie) der Primärtumoren untersucht. Bei allen Tumoren war die Lymphgefäßinfiltration positiv.

#### 4.4 L1CAM Expression und Fernmetastasierung

2 der 14 Patientinnen hatten Fernmetastasen. Bei einer Patientin zeigte sich eine intrazerebrale Fernmetastase und bei einer Patientin eine intraabdominale Fernmetastase. Die Patientin mit der intrazerebralen Metastase wies im Primärtumor sowie im metastasierten Lymphknoten eine stark positive L1CAM Expression auf. Beim Primärtumor handelte es sich um das endometrioides Adenokarzinom mit kleinzelliger neuroendokriner Differenzierung. Bei der intraabdominalen Metastase stellte sich im

Primärtumor keine L1CAM Expression dar, in der Lymphknotenmetastase war L1CAM mäßig positiv. Die Ergebnisse demonstrieren, dass bei vorliegenden Metastasen der Primärtumor und/oder die Lymphknotenmetastasen L1CAM positiv sind.

#### 4.5 L1CAM Expression entsprechend des Tumorgradings

Die folgenden Abbildungen zeigen die L1CAM Expression im Primärtumor und in den Lymphknotenmetastasen entsprechend des Tumorgradings des Primärtumors. In den untersuchten Tumoren wiesen 9 Tumoren den Grad 2 (64,3 %) auf, 5 Tumoren den Grad 3 (35,7 %). Grad 1 lag in keinem der Primärtumoren vor. In 4 der 9 G2-Tumoren (44,4 %) konnte L1CAM nachgewiesen werden und in 3 der 5 G3-Tumoren (60 %). Eine signifikant erhöhte L1CAM Expression in einer der Differenzierungsgrade ist nicht zu belegen, dennoch zeigt der Vergleich der folgenden Grafiken eine ähnliche Verteilung der L1CAM Expression des Primärtumors und der Lymphknotenmetastasen auf die Tumorgrade.

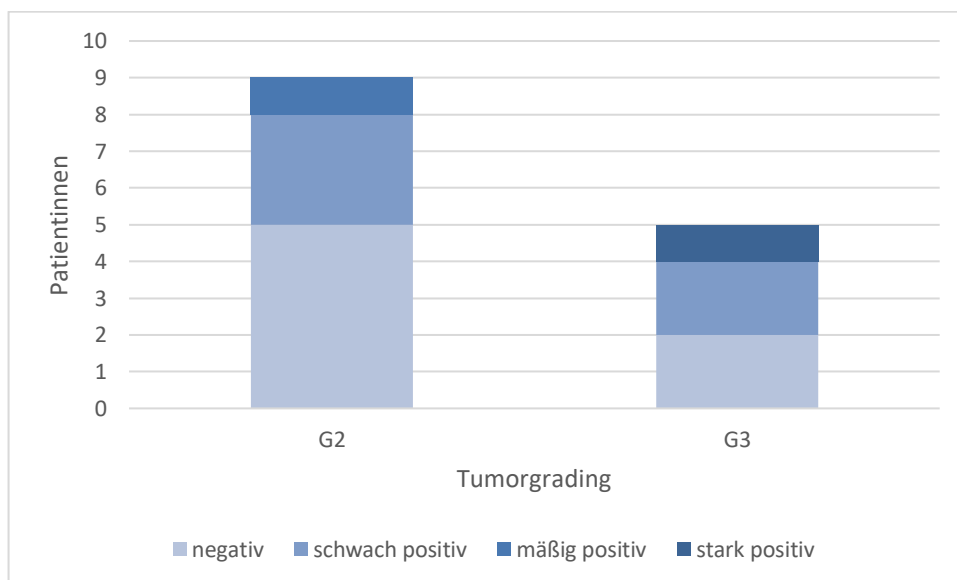


Abbildung 8: L1CAM Expression im EC und Grading des Primärtumors

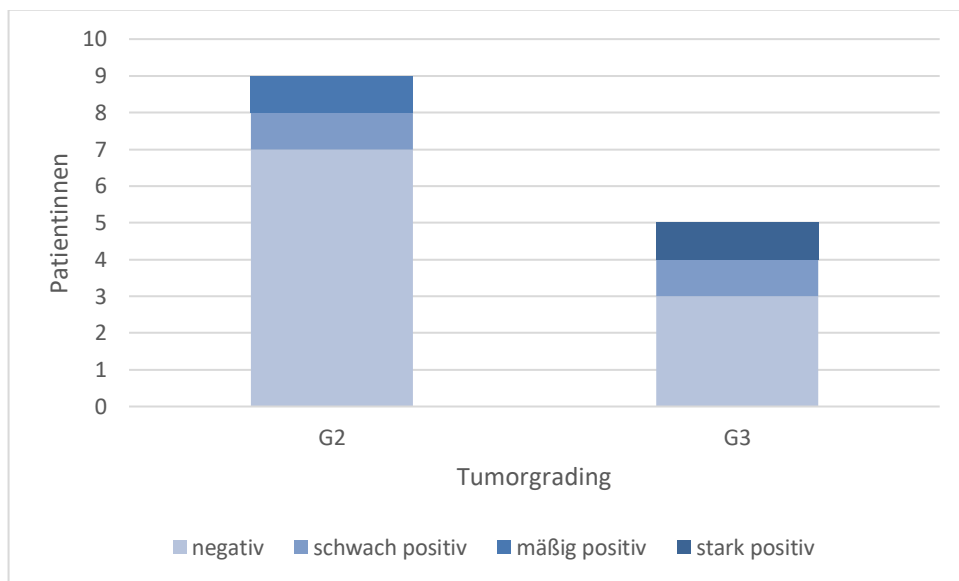


Abbildung 9: L1CAM Expression in LKM und Grading des Primärtumors

#### 4.6 L1CAM Expression gegenüber Rezidiven und Mortalität

Bis zum jetzigen Zeitpunkt trat bei 5 Patientinnen ein Rezidiv auf, im Mittel nach 18 Monaten. Bei 3 der Patientinnen zeigte sich im Primärtumor eine schwach positive L1CAM Expression, 2 Primärtumoren waren negativ. In den jeweiligen Lymphknotenmetastasen waren 2 Metastasen schwach positiv sowie 3 Metastasen negativ.

8 Patientinnen sind bereits verstorben. Von den 5 Patientinnen mit Rezidiven sind 4 verstorben. Das Gesamtüberleben liegt bei 37 Monaten nach Erstdiagnose. Die Überlebenszeit der verstorbenen Patientinnen betrug im Mittel 26 Monate. In folgender Tabelle wird die L1CAM Expression der Überlebenszeit (in Monaten) der verstorbenen Patientinnen gegenübergestellt. Es fällt auf, dass bei den Patientinnen mit der kürzesten Überlebenszeit (7 bzw. 8 Monate) die L1CAM Expression mäßig bzw. stark positiv ist.



Tabelle 9: L1CAM Expression und Überlebenszeit in Monaten

Expression Über- lebenszeit	negativ	schwach positiv	mäßig positiv	stark positiv
7			X	
8				X
13	X			
19		X		
23	X			
30	X			
33		X		
78	X			

#### 4.7 L1CAM Expression und Alter bei Erstdiagnose

Die in die Studie eingeschlossenen Patientinnen waren bei Erstdiagnose zwischen 50 und 77 Jahre alt. Die folgende Tabelle zeigt die L1CAM Expression in Bezug auf das jeweilige Alter der Patientin in aufsteigender Reihenfolge. Es lässt sich keine Korrelation zwischen dem Alter der Patientinnen und der L1CAM Expression im Primärtumor nachweisen.

Tabelle 10: L1CAM Expression in Bezug auf das Alter bei Erstdiagnose (aufsteigend)

Expression Alter	negativ	schwach positiv	mäßig positiv	stark positiv
50	X			
52		X		
59		X		
59	X			
61	X			
62	X			
68		X		
69	X			
70		X		
72	X			
74	X			
74				X
75		X		
77			X	

## 5 Diskussion

Auf der Suche nach einem neuen Marker zur Detektion von metastasierten Lymphknoten des Endometriumkarzinoms und um die Anzahl der unnötigen Lymphadenektomien zu verringern, untersuchten wir die L1CAM Expression immunhistochemisch im Gewebe vom Endometriumkarzinom und den metastasierten Lymphknoten. Das Gewebe vom Ovarialkarzinom war bei allen Durchgängen stark positiv (Positivkontrolle), was uns demonstrierte, dass das Färbeprotokoll und der Antikörper funktioniert. In den Negativkontrollen (nicht metastasierte Lymphknoten) konnte kein L1CAM nachgewiesen werden, sodass wir davon ausgehen können, dass es keine unspezifischen Bindungen und falsch positiven Ergebnisse gab. Durch die Verwendung eines monoklonalen Antikörpers konnte eine hohe Affinität zu dem untersuchten Protein gewährleistet werden.

Betrachtet man alle Stadien des Endometriumkarzinoms besteht eine 15%-ige Wahrscheinlichkeit, dass bei Diagnosestellung bereits Lymphknotenmetastasen vorliegen [3, 66]. So wurden auch in dieser Studie bei 14 der 103 Patientinnen (13,6 %) Lymphknotenmetastasen nachgewiesen, was in etwa der internationalen Datenlage entspricht.

Es wurde bereits belegt, dass die L1CAM Expression als molekularer Marker beim Endometriumkarzinom mit fortgeschrittenen Stadien assoziiert ist [35]. Außerdem haben verschiedene Studien gezeigt, dass die Expression von L1CAM im Endometriumkarzinom eine schlechte Prognose bedeutet [51, 63, 64] und dass L1CAM als Biomarker vielversprechend sein könnte [57, 63-65]. In der neuen S3-Leitlinie über das Endometriumkarzinom aus dem Jahr 2022 spielt die L1CAM Expression bei der Empfehlung über möglichen Fertilitätserhalt, adjuvanter Therapie und Notwendigkeit der Sentinel-Node-Biopsie eine Rolle [3].

---

Bei unseren Proben konnten in 7 der 14 Fälle (50 %) L1CAM in den Tumorzellen des Endometriumkarzinoms nachgewiesen werden. Bei 5 Patientinnen war die Färbung schwach positiv, bei einer Patientin mäßig positiv sowie bei einer Patientin stark positiv. Pasanen et al. konnten L1CAM in 26,6 % der Primärtumoren nachweisen [60]. Andere Studien fanden in 19,1 % (Suh et al.[61]) bzw. 44 % (Van Gool et al.[62]) L1CAM positive Karzinome. Zu beachten ist jedoch die jeweils unterschiedliche Auswertung der immunhistochemischen Färbung in den verschiedenen Studien. In unserer Studie wurden die Proben als schwach positiv bezeichnet, die eine Färbegrad von 1-9 % aufwiesen, wie zum Beispiel auch in der Studie von Suh et al. [61]. Bei Van Gool et al. wurden alle Proben, mit einem Färbegrad < 10 % als L1CAM negativ gewertet [62], sodass die Ergebnisse insgesamt nicht gut zu vergleichen sind. Hätten wir in dieser Studie die Proben mit dem Färbegrad von < 10 % als negativ gewertet, wären nur 14,3 % der Endometriumkarzinome L1CAM positiv. Da das Ziel dieser Studie in erster Linie der Nachweis der Expression von L1CAM in den metastasierten Lymphknoten war und es weniger um den generellen Nachweis von L1CAM im Primärtumorgewebe ging, wurden auch alle Proben mit dem Färbegrad von 1-9 % in die Vergleiche einbezogen.

Bei dem stark positiv gefärbtem Endometriumkarzinom handelt es sich um das Gewebe des endometrioiden Adenokarzinoms mit kleinzelliger neuroendokriner Differenzierung. Die neuroendokrine Differenzierung könnte den stark positiven L1CAM Nachweis erklären, da L1CAM im Nervengewebe stark exprimiert ist [48] und auch in neuroendokrinen Tumoren des Pankreas und der Lunge nachgewiesen werden konnte [47]. Es handelt sich bei der Gewebeprobe mit neuroendokriner Differenzierung in dieser Arbeit jedoch um einen Einzelfall, sodass das Ergebnis für unsere Fragestellung nicht weiter relevant ist. Im Gewebe des gemischt endometrioiden und klarzelligen Adenokarzinoms (in dieser Arbeit auch ein Einzelfall) konnte L1CAM nicht

nachgewiesen werden. Dies ist ein Widerspruch zu einer Studie von Huszar et al., die postulierte, dass L1CAM in klarzelligen Endometriumkarzinomen vermehrt nachgewiesen werden kann [57]. Der Einzelfall ist jedoch nicht ausreichend, um die Ergebnisse der Studie von Huszar et al. zu widerlegen.

Die metastasierten Lymphknoten zeigten sich bei 4 der 14 Proben (29 %) L1CAM positiv. Bei 3 dieser 4 Fälle stimmte der Färbegrad bzw. Expressionsgrad des metastasierten Lymphknotens mit dem Färbegrad des dazugehörigen Primärtumors überein. Das heißt bei 2 der Patientinnen mit schwach positiver L1CAM Färbung im Primärtumor wiesen die jeweiligen Lymphknotenmetastasen ebenfalls eine schwach positive Färbung auf. Bei der Patientin mit stark positiver L1CAM Färbung im Primärtumor wies die Lymphknotenmetastase ebenfalls eine stark positive Färbung auf. In nur einem Fall zeigte die Lymphknotenmetastase eine mäßig positive Färbung, der Primärtumor zeigte keine Färbung. Man könnte also annehmen, dass der L1CAM Expressionsgrad im Primärtumor dem Expressionsgrad in den Lymphknoten ähnelt. Studien über den L1CAM Nachweis in metastasierten Lymphknoten des Endometriumkarzinoms fehlen bisher, sodass diese Ergebnisse noch nicht verglichen, widerlegt oder untermauert werden können. Die kleine Anzahl an Patientinnen bzw. Gewebeproben in dieser monozentrischen, retrospektiven Studie liefert auch hier nur erste Hinweise, dass L1CAM für die Detektion von metastasierten Lymphknoten hilfreich sein könnte. Die Ergebnisse müssten in Studien mit höheren Fallzahlen weiter untersucht werden.

Wertet man die L1CAM Expression im Endometriumkarzinom in Bezug auf die Tumorausbreitung (TNM-Klassifikation) aus, zeigt sich in unserer Untersuchung, dass die Expression unabhängig vom T-Stadium ist. In jedem T-Stadium lässt sich L1CAM in den Proben aufspüren, sogar im Stadium pT1

konnte bei einer Probe L1CAM schwach positiv nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis zeigte sich auch in einer Studie, die nur FIGO I-Karzinome untersucht hat. Hier wurde L1CAM in 17,7 % der Tumore im Stadium T1 immunhistochemisch nachgewiesen [67]. In der Studie von van Gool et al. konnte, wie auch in unserer Arbeit, keine signifikante Korrelation zwischen der L1CAM Expression und dem FIGO-Stadium nachgewiesen werden [62].

Die L1CAM Expression im Primärtumor und in den Lymphknotenmetastasen wurde auch mit dem entsprechenden Tumorgrading (G1-G3) des Primärtumors verglichen. Grad 1 lag in keinem der Primärtumoren vor, da in diesem Fall nach leitliniengerechter Therapie kein Lymphknotensampling durchgeführt wird [3] und diese Primärtumoren daher aufgrund des Studiendesigns (keine entnommenen Lymphknoten) nicht in die Studie eingeschlossen worden sind. In 4 der 9 G2-Tumoren (44.4 %) konnte L1CAM nachgewiesen werden und in 3 der 5 G3-Tumoren (60 %). Eine signifikant erhöhte L1CAM Expression in einer der Differenzierungsgrade ist nicht zu belegen. In verschiedenen Studien konnte jedoch, anders als in unserer Arbeit, eine positive Korrelation zwischen der L1CAM Expression und dem Tumorgrading gefunden werden [62, 63, 65, 68].

Da L1CAM in unseren Proben in jedem T-Stadium und auch beim Tumorgrading G2 und G3 nachzuweisen ist, wäre es in Erwägung zu ziehen, den L1CAM Status im Tumor standardmäßig zu untersuchen und daraufhin die Therapie gegebenenfalls anzupassen, da das Molekül mit einem schlechteren Outcome und Lymphknotenmetastasen in Verbindung gebracht wird [51, 63]. Die aktuelle S3-Leitlinie empfiehlt die standardmäßige Bestimmung der L1CAM Expression mit dem Empfehlungsgrad 0 [3]. In einer anderen Untersuchung von Smogeli et al. konnte in der Gruppe der endometrioiden Karzinome FIGO I hingegen nicht bestätigt werden, dass L1CAM ein aussagekräftiger Marker hinsichtlich der Prognose ist [69]. Die unterschiedliche Studienlage hinsichtlich des Zusammenhanges der

---

Prognose und der L1CAM Expression wird vermutlich durch Diskrepanzen in der Auswertung des Färbegrades von L1CAM, in der Art der Therapie und im Anteil der durchgeführten Lymphadenektomien verursacht. Ebenso gibt es methodische Unterschiede in der Durchführung der Immunhistochemie. In unserer Studie wurden 2 µm dicke Gewebeschnitte verwendet, während zum Beispiel in der Arbeit von Tangen et al. die zeit- und kostenintensiveren Tissue-Microarrays verwendet wurden. Hier wurden je 3 Gewebekerne pro Probe untersucht [51]. Die Tissue-Mikroarrays ermöglichen eine effiziente Analyse, es können hunderte Gewebeproben auf einem Objektträger platziert werden und standardisiert ausgewertet werden [70]. Dieses Verfahren kann jedoch auch dazu führen, dass L1CAM positive Bereiche übersehen werden und so die Expression unterschätzt wird [51]. Das kann auch in dieser Studie eine mögliche Ungenauigkeit sein, da pro Gewebeprobe des Primärtumors und der Lymphknoten nur ein Gewebevollschnitt untersucht wurde und dieser Schnitt eventuell nicht repräsentativ für die gesamte Gewebeprobe ist.

Auch die Auswertung des Färbegrades unterscheidet sich wie oben bereits erwähnt in den bisherigen Studien. Die meisten Studien verwendeten einen Cutoff bei 10 %, d.h. alle Färbeintensitäten unter 10 % wurden als L1CAM negativ gewertet [63, 67, 69, 71], während in dieser Arbeit und zum Beispiel in der Studie von Suh et al. auch die Färbeintensitäten von 1-10 % mit einbezogen worden sind [61]. Die Ergebnisse der Studien sind daher insgesamt schlecht miteinander zu vergleichen. Die Tatsache, dass L1CAM trotz unterschiedlichem Versuchsaufbau und unterschiedlicher Auswertung der Färbegrade überzeugen kann, stützt die Relevanz dieses Proteins. Um L1CAM als möglichen Biomarker etablieren zu können, müsste jedoch ein einheitliches Färbeprotokoll, eine einheitliche Auswertung des Färbegrades und ein einheitlicher Cutoff ermittelt werden [51].

Aufgrund der fehlenden Standardisierung der Immunhistochemie gab es in bisherigen Studien oft widersprüchliche Ergebnisse. Daher sind Studien, die

die Gewebeexpression und Genexpression von L1CAM untersuchen, interessant. Altevogt et al. verglichen die immunhistochemischen Ergebnisse der L1CAM Gewebeexpression mit der Genexpression, die mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) nachgewiesen wurde. Alle Proben, die in der Immunhistochemie negativ waren, waren auch in der PCR negativ. Das heißt, es konnte eine Spezifität der PCR von 100 % nachgewiesen werden, wenn man die Immunhistochemie als Standard festlegt. Die Sensitivität lag bei 40 %. Die Übereinstimmung der L1CAM positiven Proben war also begrenzt [72]. Eine Analyse mit Daten aus dem The Cancer Genome Atlas (TCGA) nutzte die ribonucleic acid-sequencing (RNA-Seq) Expression von L1CAM (545 Primärtumore), um die Ergebnisse der Immunhistochemie zu bestätigen. In dieser Studie waren alle FIGO-Stadien und Tumorgrade vertreten. Hier konnte gezeigt werden, dass die L1CAM Genexpression ein unabhängiger Marker für ein schlechtes Überleben ist und mit fortgeschrittenen Stadien und hohem Tumorgrad in Verbindung gebracht werden kann [64].

In dieser Studie handelte es sich bei 13 der 14 Proben um endometrioiden bzw. gemischte Karzinome mit endometrioidem Anteil. Nur bei einer der Gewebeproben handelt es sich um ein Karzinosarkom. Dies hängt auch mit der kleinen Fallzahl zusammen, da endometrioiden Karzinome deutlich häufiger sind (70-80 %) [3]. Studien zeigen, dass der L1CAM Expressionsgrad bei nicht-endometrioiden Karzinomen häufiger nachzuweisen ist als bei endometrioiden Karzinomen [60, 61]. Bei nicht-endometrioiden Karzinomen und Karzinosarkomen soll laut Leitlinie ohnehin eine Lymphadenektomie durchgeführt werden [3], da sie einen sehr hohen Anteil an den karzinombedingten Todesfällen haben (40 %) [73] und das Sterberisiko durch Lymphadenektomie nachweislich gesenkt werden kann [74]. Die Entscheidung, ob eine Lymphadenektomie beim endometrioiden Karzinom durchgeführt werden sollte, ist komplizierter. Zwar gibt die Leitlinie vor, dass



die Sentinel-Node-Biopsie, ggf. gefolgt von einer systematischen Lymphadenektomie ab dem Stadium cT1a, G3 und cT1b, G1/2 durchgeführt werden kann und ab dem Stadium cT1b, G3 durchgeführt werden sollte, es gibt jedoch keine zuverlässigen Studien, die sich explizit mit der Lymphadenektomie in diesen fortgeschrittenen Stadien beschäftigen [3]. Es gibt lediglich Forschungsarbeiten, die den Vorteil eines möglichst zytoreduktiven Vorgehens beschreiben [22, 23]. Mit dieser Studie sollte ein Anhaltspunkt gefunden werden, um die Indikation zur Lymphadenektomie genauer zu stellen oder diese sogar ganz zu vermeiden. Wenn L1CAM in allen Lymphknotenmetastasen nachweisbar gewesen wäre, wäre dies der ideale Marker für solche Vorgehensweise. Dies geht aus den Ergebnissen unserer Studie jedoch nicht hervor.

Bei 3 der 14 Patientinnen zeigten sich Fernmetastasen. Bei 2 von den 3 Proben, der Patientinnen mit Fernmetastasen konnte L1CAM im Primärtumor und/oder in den Lymphknotenmetastasen nachgewiesen werden. Da Fernmetastasen des Endometriumkarzinoms mittels FDG-PET-CT bereits mit hoher Sensitivität (95,7 %) und Spezifität (95,4 %) detektiert werden können [45], ist die Bestimmung der L1CAM Expression für diesen Zweck eher nicht relevant. Zudem kommt die sehr kleine Fallzahl, sodass hier keine zuverlässigen Aussagen getroffen werden können.

Bei 3 Patientinnen waren 38-70 % aller entnommenen Lymphknoten metastasiert. Die S3-Leitlinie empfiehlt die Lymphadenektomie ab dem Stadium pT1a, G3 bzw. pT1b, G1/G2, weist aber auch daraufhin, dass es keine aktuellen Studien gibt, die dieses Vorgehen untermauern [3]. Die Cochrane Analyse von Frost et al. konnte keinen ausreichenden Beweis liefern, dass im Stadium FIGO I (T1a/T1b) durch Lymphadenektomie das Rezidivrisiko oder das Risiko an der Erkrankung zu versterben gemindert wird.

Die Analyse beschreibt hingegen die erhöhte Morbidität (Lymphödem/Lymphozelen) die eine Lymphadenektomie verursacht [16]. Die Frage der Lymphadenektomie in den Frühstadien mit Hoch-Risiko-Kriterien ab pT1a, G3 bzw. pT1b, G1 bleibt also weiterhin kontrovers zu diskutieren.

Bei 5 Patientinnen trat bisher ein Rezidiv auf, im Durchschnitt nach 18 Monaten. Bei 60 % der Patientinnen mit Rezidiv zeigte sich im Primärtumor eine schwach positive L1CAM Expression. In den jeweiligen Lymphknotenmetastasen waren von den 5 Proben 2 Metastasen schwach positiv sowie 3 Metastasen negativ.

8 Patientinnen sind bereits verstorben. Von den 5 Patientinnen mit Rezidiven sind 4 verstorben. Das Gesamtüberleben liegt im Durchschnitt bei 37 Monaten nach Erstdiagnose. Der Mittelwert der Überlebenszeit der verstorbenen Patientinnen betrug 26 Monate, der Median 21 Monate. Es fällt auf, dass bei den Patientinnen mit der kürzesten Überlebenszeit (7 bzw. 8 Monate) die L1CAM Expression mäßig bzw. stark positiv ist, was auch Anhaltspunkte dafür liefert, dass die Prognose bei L1CAM Expression schlechter ist.

Die in die Studie eingeschlossenen Patientinnen waren bei Erstdiagnose zwischen 50 und 77 Jahre alt. Es lässt sich keine Korrelation zwischen dem Alter der Patientinnen und der L1CAM Expression im Primärtumor nachweisen. In der Studie, in die nur FIGO I-Karzinome eingeschlossen wurden, konnte ebenfalls kein Zusammenhang zwischen dem Alter der Patientinnen und dem L1CAM Status gezeigt werden [67]. In anderen Studien konnte hingegen eine positive Korrelation zwischen Alter und L1CAM Expression nachgewiesen werden [62, 65, 68].

## 6 Schlussfolgerung

Es sollte in dieser Studie vor allem die L1CAM Expression in den metastasierten Lymphknoten des Endometriumkarzinoms untersucht werden, um eine Voraussetzung für mögliche weitere Maßnahmen zu schaffen, die einen Lymphknotenbefall nicht-invasiv nachweisen können. Der Expressionsgrad von L1CAM in metastasierten Lymphknoten vom Endometriumkarzinom wurde vorher niemals untersucht. Es handelt sich bei dieser Forschungsarbeit um eine monozentrische Pilotstudie, die mit einer kleinen Fallzahl arbeiten musste, da sinnvollerweise alle Patientinnen mit Endometriumkarzinom ohne Lymphknotenmetastasen ausgeschlossen wurden. Die metastasierten Lymphknoten zeigten sich bei 4 der Proben (29 %) L1CAM positiv. Bei 3 dieser 4 Fälle stimmte der Färbegrad bzw. Expressionsgrad des metastasierten Lymphknotens mit dem Färbegrad des dazugehörigen Primärtumors überein. Diese Ergebnisse könnten der Anfangspunkt für weitere Studien sein, um mithilfe von L1CAM möglicherweise Lymphknotenmetastasen nicht-invasiv zu detektieren und die Notwendigkeit einer Lymphadenektomie sicher zu evaluieren. Unnötige Lymphadenektomien mit höherer Morbidität könnten verhindert werden. Dennoch wird dieses Ziel noch viel Forschungsarbeit erfordern. Möglicherweise kann die Genexpression von L1CAM in den Lymphknotenmetastasen gleichzeitig zur immunhistochemischen Untersuchung in einer prospektiven Studie untersucht werden, um ein aussagekräftiges Ergebnis diesbezüglich zu bekommen. Auch die Suche nach anderen Markern, die in den Lymphknotenmetastasen vielleicht vermehrt exprimiert sind, könnte lohnenswert sein. Außerdem soll zusätzlich zu signifikanten Studienergebnissen auch eine Methode gefunden werden, die die L1CAM Expression präoperativ in vivo mit Hilfe von bildgebenden Verfahren nachweisen kann.

## 7 Zusammenfassung

### 7.1 Zusammenfassung

Das Endometriumkarzinom ist in Deutschland das häufigste weibliche Genitalkarzinom mit einem mittleren Erkrankungsalter von 68 Jahren, an dem landesweit immer noch 2650 Frauen pro Jahr versterben. Bei Diagnosestellung besteht eine 15%-ige Wahrscheinlichkeit, dass bereits Lymphknotenmetastasen vorliegen, was wiederum mit einer schlechteren Prognose einhergeht. Nach wie vor gibt es für die Behandler die Problematik, präoperativ richtig zu entscheiden, welche Patientin von einer Lymphadenektomie profitiert. Lymphadenektomien sind mit einer erhöhten Morbidität verbunden. MRT, CT und PET-CT sind aktuell nicht in der Lage, das chirurgische Staging zu ersetzen. Auf der Suche nach einem Biomarker für metastasierte Lymphknoten des Endometriumkarzinoms, der zur Früherkennung geeignet ist, untersuchten wir L1CAM, ein Zelladhäsionsmolekül, welches zuerst in Nervenzellen entdeckt wurde und hier an der Neurogenese beteiligt ist. In verschiedenen malignen Tumoren, wie auch dem Endometriumkarzinom, wurde L1CAM mit einer schlechten Prognose durch rasches Tumorwachstum und Metastasierung assoziiert. Die vorliegende monozentrische, retrospektive Studie dient als hypothesengenerierend, da der Expressionsgrad von L1CAM im metastasierten Lymphknoten vom Endometriumkarzinom vorher niemals untersucht wurde. Ein erhöhter Expressionsgrad kann eine Voraussetzung für weitere Maßnahmen darstellen, die präoperativ einen Lymphknotenbefall nachweisen können, ohne eine Lymphadenektomie durchführen zu müssen.

Von 103 Patientinnen, welche zwischen 2008 und 2019 am Endometriumkarzinom an der Universitätsklinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Klinikum Oldenburg AöR, Carl von Ossietzky Universität

Oldenburg operiert worden sind, wurden bei 14 Patientinnen (13,6 %) Lymphknotenmetastasen nachgewiesen. Mittels Immunhistochemie wurde die L1CAM Expression im Gewebe des Endometriumkarzinoms und der metastasierten Lymphknoten von den 14 Patientinnen untersucht und auch mit den klinischen Daten verglichen.

Bei 7 der 14 Patientinnen konnte L1CAM in den Tumorzellen des Endometriumkarzinoms nachgewiesen werden. Nicht metastasierte Lymphknoten waren bei allen Patientinnen L1CAM negativ. Metastasierte Lymphknoten zeigten sich bei 4 Patientinnen positiv. Es wurde dargelegt, dass die L1CAM Expression im Primärtumor der Expression in den jeweiligen Lymphknotenmetastasen ähnelt. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen der L1CAM Expression und der Tumortiefenausdehnung bzw. des Tumorgradings. In jedem Tumorstadium und in jedem Tumorgrad ließ sich L1CAM nachweisen. Bezüglich der Mortalität fiel auf, dass bei den Patientinnen mit der kürzesten Überlebenszeit (7 bzw. 8 Monate) die L1CAM Expression mäßig bzw. stark positiv ist. Es ließ sich keine Korrelation zwischen dem Alter der Patientinnen und der L1CAM Expression im Primärtumor erkennen.

Da L1CAM in unseren Proben in jedem T-Stadium und in jedem Tumorgrad nachzuweisen ist, wäre es in Erwägung zu ziehen, den L1CAM Status im Tumor standardmäßig zu untersuchen, da der positive Status unabhängig vom T-Stadium und Tumorgrad mit einem schlechteren Outcome und Lymphknotenmetastasen in Verbindung gebracht wird. Es müsste jedoch ein einheitliches Färbeprotokoll, eine einheitliche Auswertung des Färbegrades und ein einheitlicher Cutoff ermittelt werden. Weitere, möglichst multizentrische Studien mit größeren Fallzahlen müssen klären, ob sich unsere Ergebnisse bestätigen lassen. Zusätzlich zu signifikanten

Studienergebnissen muss dann auch eine Methode gefunden werden, die die L1CAM Expression in den Lymphknotenmetastasen nicht-invasiv mit Hilfe von bildgebenden Verfahren nachweisen kann. Unnötige Lymphadenektomien mit höherer Morbidität könnten dann eventuell verhindert werden.

## **7.2 Summary**

Endometrial cancer is the most common female genital cancer in Germany with a mean age of 68 years, of which 2650 women nationwide still die every year. At the time of diagnosis, there is 15 % probability to have already lymph node metastases, which is associated with a poorer prognosis. There is still the challenge to estimate preoperatively which patient will benefit from a lymphadenectomy. The lymphadenectomy is associated with increased morbidity. MRI, CT and PET-CT are currently not able to replace surgical staging. In search of a biomarker for metastatic lymph nodes of endometrial cancer that is helpful for early detection, we investigated L1CAM, a cell adhesion molecule that was first discovered in nerve cells and is involved in neurogenesis. In various carcinomas, including endometrial cancer, L1CAM has been associated with a poor clinical outcome due to rapid growth and metastasis. This monocentric, retrospective study wants to generate a hypothesis, since the expression of L1CAM in the metastatic lymph nodes from endometrial cancer has never been determined before. An increased level of expression can be a precondition for further studies that can detect lymph node metastasis preoperatively without implementing a lymphadenectomy.

Lymph node metastases were detected in 14 of 103 patients (13,6 %) who underwent endometrial carcinoma surgery between 2008 and 2019 at the University Hospital for Gynecology and Obstetrics, Klinikum Oldenburg AöR, Carl von Ossietzky University Oldenburg. Using immunohistochemistry, we

examined the L1CAM expression in the tissue of the endometrial cancer and the metastatic lymph nodes of the 14 patients and compared it to the clinical data.

In 7 of the 14 patients L1CAM could be detected in the tumor cells of the endometrial cancer. Non-metastatic lymph nodes were all L1CAM negative. Metastatic lymph nodes were positive in 4 patients. It was shown that the L1CAM expression in the primary tumor is similar to the expression in the corresponding lymph node metastases. There is no correlation between the L1CAM expression and the tumor depth or tumor grading. L1CAM can be detected in every tumor stage and in every tumor grade. With regard to mortality, it was noticeable that the patients with the shortest survival time (7 or 8 months) showed a moderately or strongly positive L1CAM expression. No correlation could be found between the age of the patients and the L1CAM expression in the primary tumor.

Due to the fact that L1CAM can be detected in our samples in every T-stage and in every tumor grade, it should be considered to examine the L1CAM status in the tumor by default. The positive status, independent of the stage and tumor grade, is associated with a poor outcome and lymph node metastases. However, a standard staining protocol, a standard evaluation of the staining and a standard cut-off would have to be determined.

Moreover, multicentric studies with larger case numbers must clarify whether our results can be confirmed. In addition to significant study results, an imaging method must be found that can detect the L1CAM expression in the lymph node metastases non-invasively. Unnecessary lymphadenectomies with higher morbidity could possibly be prevented.

## 8 Literaturverzeichnis

1. Robert-Koch-Institut, *Krebs in Deutschland 2017/2018. Robert Koch-Institut (Hrsg.) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. 13. Auflage, Berlin, 2021.*
2. Llaurodo, M., et al., *Molecular bases of endometrial cancer: new roles for new actors in the diagnosis and the therapy of the disease.* Mol Cell Endocrinol, 2012. **358**(2): p. 244-55.
3. AWMF, *S3-Leitlinie Endometriumkarzinom*, D.K. e.V., Editor. 2022: awmf.org.
4. Park, C., et al., *Cancer of the endometrium.* Abeloff's Clinical Oncology. 4th ed. Philadelphia, Pa: Elsevier Churchill Livingstone, 2008.
5. Concin, N., et al., *ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma.* Int J Gynecol Cancer, 2021. **31**(1): p. 12-39.
6. Stelloo, E., et al., *Improved Risk Assessment by Integrating Molecular and Clinicopathological Factors in Early-stage Endometrial Cancer-Combined Analysis of the PORTEC Cohorts.* Clin Cancer Res, 2016. **22**(16): p. 4215-24.
7. Casey, L. and N. Singh, *POLE, MMR, and MSI Testing in Endometrial Cancer: Proceedings of the ISGyP Companion Society Session at the USCAP 2020 Annual Meeting.* Int J Gynecol Pathol, 2021. **40**(1): p. 5-16.
8. Vermij, L., et al., *Incorporation of molecular characteristics into endometrial cancer management.* Histopathology, 2020. **76**(1): p. 52-63.
9. Meng, B., et al., *POLE exonuclease domain mutation predicts long progression-free survival in grade 3 endometrioid carcinoma of the endometrium.* Gynecol Oncol, 2014. **134**(1): p. 15-9.
10. Marnitz, S., *[Importance of pre-operative immunohistochemistry in patients with endometrial cancer-which parameters do we need?].* Strahlenther Onkol, 2021. **197**(12): p. 1148-1150.
11. León-Castillo, A., et al., *Molecular Classification of the PORTEC-3 Trial for High-Risk Endometrial Cancer: Impact on Prognosis and Benefit From Adjuvant Therapy.* J Clin Oncol, 2020. **38**(29): p. 3388-3397.
12. Bendifallah, S., et al., *A risk scoring system to determine recurrence in early-stage type 1 endometrial cancer: a French multicentre study.* Ann Surg Oncol, 2014. **21**(13): p. 4239-45.
13. Colombo, N., et al., *ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up.* Ann Oncol, 2016. **27**(1): p. 16-41.



14. Garg, G., et al., *Evaluating the significance of location of lymph node metastasis and extranodal disease in women with stage IIIC endometrial cancer*. *Gynecol Oncol*, 2011. **123**(2): p. 208-13.
15. Kapp, D.S., T.K. Kiet, and J.K. Chan, *Prognostic discrimination of subgrouping node-positive endometrioid uterine cancer: location vs nodal extent*. *Br J Cancer*, 2011. **105**(8): p. 1137-43.
16. Frost, J.A., et al., *Lymphadenectomy for the management of endometrial cancer*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017. **10**: p. Cd007585.
17. Dowdy, S.C., et al., *Prospective assessment of survival, morbidity, and cost associated with lymphadenectomy in low-risk endometrial cancer*. *Gynecologic Oncology*, 2012. **127**(1): p. 5-10.
18. Eltabbakh, G.H., et al., *Excellent long-term survival and absence of vaginal recurrences in 332 patients with low-risk stage I endometrial adenocarcinoma treated with hysterectomy and vaginal brachytherapy without formal staging lymph node sampling: Report of a prospective trial*. *International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics\*Physics*, 1997. **38**(2): p. 373-380.
19. Mariani, A., et al., *Low-risk corpus cancer: Is lymphadenectomy or radiotherapy necessary?* *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2000. **182**(6): p. 1506-1519.
20. Plante, M., et al., *Isolated tumor cells identified by sentinel lymph node mapping in endometrial cancer: Does adjuvant treatment matter?* *Gynecol Oncol*, 2017. **146**(2): p. 240-246.
21. Bogani, G., et al., *Sentinel node mapping vs. lymphadenectomy in endometrial cancer: A systematic review and meta-analysis*. *Gynecol Oncol*, 2019. **153**(3): p. 676-683.
22. Lambrou, N.C., et al., *Optimal surgical cytoreduction in patients with Stage III and Stage IV endometrial carcinoma: a study of morbidity and survival*. *Gynecol Oncol*, 2004. **93**(3): p. 653-8.
23. Shih, K.K., et al., *Surgical cytoreduction in stage IV endometrioid endometrial carcinoma*. *Gynecol Oncol*, 2011. **122**(3): p. 608-11.
24. T., C.W., et al., *Surgical pathologic spread patterns of endometrial cancer: A gynecologic oncology group study*. *Cancer*, 1987. **60**(S8): p. 2035-2041.
25. Kumar, S., et al., *The role of frozen section in surgical staging of low risk endometrial cancer*. *PLoS One*, 2011. **6**(9): p. e21912.
26. Vidal, F. and A. Ráfii, *Lymph node assessment in endometrial cancer: towards personalized medicine*. *Obstet Gynecol Int*, 2013. **2013**: p. 892465.
27. Creasman, W., et al., *Carcinoma of the corpus uteri*. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 2006. **95**(S1).

28. Mariani, A., et al., *Prospective assessment of lymphatic dissemination in endometrial cancer: a paradigm shift in surgical staging*. Gynecol Oncol, 2008. **109**(1): p. 11-8.
29. Zhu, A., et al., *Application of metabolic PET imaging in radiation oncology*. Radiation research, 2012. **177**(4): p. 436-448.
30. Antoch, G., et al., *Non-Small Cell Lung Cancer: Dual-Modality PET/CT in Preoperative Staging*. Radiology, 2003. **229**(2): p. 526-533.
31. Cremerius U, E.P., Adam G, et al. , *FDG PET for detection and therapy control of metastatic germ cell tumor*. JNucl Med., 1998. **39**: p. 815-22.
32. Schöder, H., et al., *Head and Neck Cancer: Clinical Usefulness and Accuracy of PET/CT Image Fusion*. Radiology, 2004. **231**(1): p. 65-72.
33. Lin, W.u.C., et al., *Usefulness of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography to detect para-aortic lymph nodal metastasis in advanced cervical cancer with negative computed tomography findings*. Gynecologic Oncology, 2003. **89**(1): p. 73-76.
34. Prasad, V., S. Fetscher, and R.P. Baum, *Changing role of somatostatin receptor targeted drugs in NET: Nuclear Medicine's view*. J Pharm Pharm Sci, 2007. **10**(2): p. 321s-337s.
35. Schraml, C., et al., *Staging von neuroendokrinen Tumoren: Vergleich von 68Ga-DOTATOC-PET-CT und Ganzkörper-MRT*. RöFo - Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren, 2011. **183**.
36. Evangelista, L., et al., *PET/MRI in prostate cancer: a systematic review and meta-analysis*. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2021. **48**(3): p. 859-873.
37. Herlemann, A., et al., *(68)Ga-PSMA Positron Emission Tomography/Computed Tomography Provides Accurate Staging of Lymph Node Regions Prior to Lymph Node Dissection in Patients with Prostate Cancer*. Eur Urol, 2016. **70**(4): p. 553-557.
38. Hofman, M.S., et al., *Prostate-specific membrane antigen PET-CT in patients with high-risk prostate cancer before curative-intent surgery or radiotherapy (proPSMA): a prospective, randomised, multicentre study*. Lancet, 2020. **395**(10231): p. 1208-1216.
39. Tu, X., et al., *The Role of (68)Ga-PSMA Positron Emission Tomography/Computerized Tomography for Preoperative Lymph Node Staging in Intermediate/High Risk Patients With Prostate Cancer: A Diagnostic Meta-Analysis*. Front Oncol, 2020. **10**: p. 1365.
40. Zhang, Q., et al., *Comparison of (68)Ga-PSMA-11 PET-CT with mpMRI for preoperative lymph node staging in patients with intermediate to high-risk prostate cancer*. J Transl Med, 2017. **15**(1): p. 230.
41. Sampath, L., W. Wang, and E.M. Sevick-Muraca, *Near infrared fluorescent optical imaging for nodal staging*. J Biomed Opt, 2008. **13**(4): p. 041312.

42. Selman, T.J., et al., *A systematic review of tests for lymph node status in primary endometrial cancer*. BMC Women's Health, 2008. **8**.
43. Luomaranta, A., A. Leminen, and M. Loukovaara, *Magnetic resonance imaging in the assessment of high-risk features of endometrial carcinoma: a meta-analysis*. Int J Gynecol Cancer, 2015. **25**(5): p. 837-42.
44. Antonsen, S.L., et al., *MRI, PET/CT and ultrasound in the preoperative staging of endometrial cancer — A multicenter prospective comparative study*. Gynecologic Oncology, 2013. **128**(2): p. 300-308.
45. Kakhki, V.R., et al., *Diagnostic performance of fluorine 18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging for detection of primary lesion and staging of endometrial cancer patients: systematic review and meta-analysis of the literature*. Int J Gynecol Cancer, 2013. **23**(9): p. 1536-43.
46. Chang, M.C., et al., *18F-FDG PET or PET/CT for detection of metastatic lymph nodes in patients with endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis*. Eur J Radiol, 2012. **81**(11): p. 3511-7.
47. Altevogt, P., K. Doberstein, and M. Fogel, *L1CAM in human cancer*. International Journal of Cancer, 2016. **138**(7): p. 1565-1576.
48. Kiefel, H., et al., *L1CAM: a major driver for tumor cell invasion and motility*. Cell adhesion & migration, 2012. **6**(4): p. 374-384.
49. Maretzky, T., et al., *L1 is sequentially processed by two differently activated metalloproteases and presenilin/gamma-secretase and regulates neural cell adhesion, cell migration, and neurite outgrowth*. Molecular and cellular biology, 2005. **25**(20): p. 9040-9053.
50. Kenwrick, S., A. Watkins, and E.D. Angelis, *Neural cell recognition molecule L1: relating biological complexity to human disease mutations*. Human Molecular Genetics, 2000. **9**(6): p. 879-886.
51. Tangen, I.L., et al., *Expression of L1CAM in curettage or high L1CAM level in preoperative blood samples predicts lymph node metastases and poor outcome in endometrial cancer patients*. Br J Cancer, 2017. **117**(6): p. 840-847.
52. Gavert, N., et al., *L1, a novel target of beta-catenin signaling, transforms cells and is expressed at the invasive front of colon cancers*. The Journal of cell biology, 2005. **168**(4): p. 633-642.
53. Bondong, S., et al., *Prognostic significance of L1CAM in ovarian cancer and its role in constitutive NF- $\kappa$ B activation*. Annals of Oncology, 2012. **23**(7): p. 1795-1802.
54. Dale, I. and P. Brandtzaeg, *Expression of the epithelial L1 antigen as an immunohistochemical marker of squamous cell carcinoma of the lung*. Histopathology, 1989. **14**(5): p. 493-502.
55. Schäfer, H., et al., *TGF- $\beta$ 1-dependent L1CAM expression has an essential role in macrophage-induced apoptosis resistance and cell*

- migration of human intestinal epithelial cells. *Oncogene*, 2013. **32**(2): p. 180-189.
56. Stoeck, A., et al., *L1-CAM in a membrane-bound or soluble form augments protection from apoptosis in ovarian carcinoma cells*. *Gynecol Oncol*, 2007. **104**(2): p. 461-9.
  57. Huszar, M., et al., *Up-regulation of L1CAM is linked to loss of hormone receptors and E-cadherin in aggressive subtypes of endometrial carcinomas*. *J Pathol*, 2010. **220**(5): p. 551-61.
  58. Polakis, P., *Wnt signaling and cancer*. *Genes Dev*, 2000. **14**(15): p. 1837-51.
  59. Pfeifer, M., et al., *L1CAM expression in endometrial carcinomas is regulated by usage of two different promoter regions*. *BMC Molecular Biology*, 2010. **11**(1): p. 64.
  60. Pasanen, A., et al., *Preoperative Risk Stratification of Endometrial Carcinoma: L1CAM as a Biomarker*. *International Journal of Gynecologic Cancer*, 2017. **27**(7): p. 1318-1324.
  61. Suh, D.H., et al., *L1 cell adhesion molecule expression is associated with pelvic lymph node metastasis and advanced stage in diabetic patients with endometrial cancer: a matched case control study*. *J Cancer Prev*, 2014. **19**(3): p. 231-9.
  62. Van Gool, I.C., et al., *Prognostic significance of L1CAM expression and its association with mutant p53 expression in high-risk endometrial cancer*. *Modern Pathology*, 2016. **29**(2): p. 174-181.
  63. van der Putten, L.J., et al., *L1CAM expression in endometrial carcinomas: an ENITEC collaboration study*. *Br J Cancer*, 2016. **115**(6): p. 716-24.
  64. Dellinger, T.H., et al., *L1CAM is an independent predictor of poor survival in endometrial cancer - An analysis of The Cancer Genome Atlas (TCGA)*. *Gynecol Oncol*, 2016. **141**(2): p. 336-340.
  65. Geels, Y.P., et al., *L1CAM Expression is Related to Non-Endometrioid Histology, and Prognostic for Poor Outcome in Endometrioid Endometrial Carcinoma*. *Pathol Oncol Res*, 2016. **22**(4): p. 863-8.
  66. Odagiri, T., et al., *Distribution of lymph node metastasis sites in endometrial cancer undergoing systematic pelvic and para-aortic lymphadenectomy: a proposal of optimal lymphadenectomy for future clinical trials*. *Ann Surg Oncol*, 2014. **21**(8): p. 2755-61.
  67. Zeimet, A.G., et al., *L1CAM in early-stage type I endometrial cancer: results of a large multicenter evaluation*. *J Natl Cancer Inst*, 2013. **105**(15): p. 1142-50.
  68. Pasanen, A., et al., *L1 Cell Adhesion Molecule as a Predictor of Disease-Specific Survival and Patterns of Relapse in Endometrial Cancer*. *Int J Gynecol Cancer*, 2016. **26**(8): p. 1465-71.

- 
69. Smogeli, E., et al., *L1CAM as a prognostic marker in stage I endometrial cancer: a validation study*. BMC Cancer, 2016. **16**(1): p. 596.
  70. Kuefer, R., et al., *Tissue-Microarrays*. Der Urologe, Ausgabe A, 2004. **43**(6): p. 659-668.
  71. Bosse, T., et al., *L1 cell adhesion molecule is a strong predictor for distant recurrence and overall survival in early stage endometrial cancer: pooled PORTEC trial results*. Eur J Cancer, 2014. **50**(15): p. 2602-10.
  72. Notaro, S., et al., *Evaluating L1CAM expression in human endometrial cancer using qRT-PCR*. Oncotarget, 2016. **7**(26): p. 40221-40232.
  73. Setiawan, V.W., et al., *Type I and II endometrial cancers: have they different risk factors?* J Clin Oncol, 2013. **31**(20): p. 2607-18.
  74. Todo, Y., et al., *Survival effect of para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer (SEPAL study): a retrospective cohort analysis*. The Lancet, 2010. **375**(9721): p. 1165-1172.

## 9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. habil. Amr Soliman für die Überlassung des interessanten Themas, die gute Zusammenarbeit und die geduldige, verständnisvolle Betreuung.

Dankeschön auch an Prof. Dr. Eduard Malik für die Bereitstellung der Proben und der Finanzmittel.

Für die Unterstützung im Labor und die vielen Hilfestellungen möchte ich mich bei Frau Angelina Luft bedanken.

Auch bei der Pathologin Frau Dr. Samar El-Achy bedanke ich mich herzlich für die Auswertung der Proben.

Vielen Dank auch an meinen Chef, Herrn Dr. Jacek Skubis, für die Motivation, eine Promotion zu beginnen und daran festzuhalten.

Zu guter Letzt möchte ich meinen Eltern, meinem Lebenspartner und meinen Geschwistern einen außerordentlichen Dank für die Ermutigungen und die stetige Unterstützung aussprechen.

## 10 Eidesstattliche Erklärung

Ich, Johanna Elisabeth Heuking, versichere hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Thema

Expression von L1CAM im Tumorgewebe und in den  
Lymphknotenmetastasen des Endometriumkarzinoms

ohne unzulässige Hilfe Dritter, selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe, wobei ich alle wörtlichen und sinngemäßen Zitate als solche gekennzeichnet habe. Ich versichere, dass ich für die inhaltliche Erstellung dieser Arbeit nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen habe. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Ich erkläre weiterhin, die Angaben wahrheitsgemäß gemacht und die wissenschaftliche Arbeit an keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht zu haben.

Ich erkläre abschließend, dass ich mich auch an keiner anderen Hochschule einem Promotionsverfahren unterzogen habe.

Leer, den 29.06.2023