

Zusammenfassung

Elisabeth Schygulla (ehem. Pfaffendorf)

Dr. med.

The immune biology of microsatellite unstable endometrial cancer

Fach/Einrichtung: Pathologie

Doktorvater: Apl. Prof. Dr. med. Matthias Kloor

Mikrosatelliteninstabilität ist ein wesentlicher Mechanismus der Tumorentstehung in Endometriumkarzinomen (EC). Mikrosatelliteninstabilität basiert auf einem Defekt in den Mismatch-Reparatur-Proteinen (hauptsächlich MLH1, MSH2, MSH6 und PMS2), was dazu führt, dass sogenannte „slippage events“ in Mikrosatelliten-Regionen der DNA während der Replikation der DNA nicht korrigiert werden und stattdessen zu Insertions- oder Deletationsmutationen in betroffenen Mikrosatelliten führen. Wenn solche Mutationen kodierende Regionen des Genoms betreffen, entstehen Frameshifts, also Verschiebungen des translationalen Leserasters. Diese Frameshifts können zur Bildung alterierter oder verkürzter Proteine führen, welche dem Wirtsimmunsystem unbekannt sind (sog. Neoantigene). Die hohe Anzahl an Neoantigenen in mikrosatelliteninstabilen (MSI) Tumoren führt zu einer erhöhten Visibilität und somit auch einem erhöhten selektiven Druck durch das Immunsystem. Ziel dieser Arbeit war es, zunächst die Frequenz von MSI-Tumoren in der untersuchten Kohorte an EC zu bestimmen und anschließend die Immunzellinfiltration als Marker für die Interaktion mit dem Immunsystem zu untersuchen. Zudem sollte der Zusammenhang des MSI-Status mit klinischen Überlebensdaten untersucht werden. Abschließend sollte die Landschaft von Mikrosatelliten-Mutationen in kodierenden DNA-Abschnitten (sog. kodierende Mikrosatelliten, cMS) in den MSI-EC mit Hilfe von Multiplex-PCR-Fragmentlängenanalysen untersucht und die gewonnenen Daten mit einer Kohorte von MSI kolorektalen Karzinomen (CRC) verglichen werden. Ziel war es hier, häufig auftretende gemeinsame Mutationen zu identifizieren, deren resultierende Neoantigene als Vakzinierungs-Targets für ein gegen beide Tumorentitäten wirksames Vakzin geeignet sein könnten.

Diese Arbeit konnte in der untersuchten EC-Kohorte eine MSI-Frequenz von 17,83 % feststellen. Es zeigte sich hier eine hohe Konkordanz immunhistochemischer Färbungen der MMR-Proteine mit PCR-basierten Analysen. Unter den bis zum Abschluss der Beobachtung dieser Kohorte von EC (Ende der Beobachtung 2014) angewandten Therapieregimen konnte kein signifikanter Unterschied im Überleben zwischen mikrosatellitenstabilen und -instabilen Karzinomen festgestellt werden. Das Gesamtüberleben (overall survival) nach einem Beobachtungszeitraum von 83,3 Monaten lag bei 85,4% in der MSI Kohorte und 74,5% in der MSS Kohorte, was keinen signifikanten Unterschied darstellt (p-Wert ermittelt mit dem Gehan-Breslow-Wilcoxon Test = 0.85).

In immunhistochemischen Analysen des Immuninfiltrats zeigte sich eine signifikant erhöhte Dichte an den Tumor-infiltrierenden Lymphozyten (TILs), welche positiv für CD3, CD8 und Granzyme B waren. In den MSI- verglichen mit den MSS-Karzinomen. Dies deutet auf eine höhere Aktivität des Immunsystems innerhalb der MSI-Karzinome hin, was wiederum eine erhöhte Last an Neoantigenen reflektiert.

Um die Landschaft dieser Neoantigene genauer zu bestimmen, wurden 40 cMS-Loci basierend auf den Ressourcen von seltarbase.org identifiziert und mit Hilfe von Multiplex-Fragmentlängenanalysen untersucht. Die Ergebnisse wurden mit dem neuen „Reframe“-Algorithmus analysiert, um Insertions- und Deletationsmutationen quantitativ zu bestimmen. Die vergleichende Analyse mit cMS-Mutationsprofilen von MSI-CRC führte zur Identifikation gemeinsamer häufiger Mutationen und Neoantigene, welche die folgenden Gene umfassen: *BANP* (Mutationsrate EC 71%, CRC 88%), *ASTE1* (Mutationsrate 79%, CRC 86%), *LINC01587* (Mutationsrate EC 60%, CRC 54%), *LTN1* (Mutationsrate EC 71%, CRC 83%), *PTHLH* (Mutationsrate EC 60%, CRC 74%), *SLC22A9* (Mutationsrate EC 50%, CRC 76%), *TGFBR2* (Mutationsrate EC 54%, CRC 88%), *NDUFC2* (Mutationsrate EC 59%, CRC 71%) und *CASP5* (Mutationsrate EC 71%, CRC 63%). Diese gemeinsamen Mutationen sind vielversprechende Kandidaten für funktionell relevante Treibergene des EC, deren Mutationen potenziell eine wichtige Rolle bei der Tumorentwicklung spielen. Außerdem stellen die aus den entsprechenden Mutationen abgeleiteten Frameshift- Neoantigene vielversprechende Targets für Vakzinierungen dar.

Dies verspricht großes Potential für neue Vakzinierungsansätze, welche das Immunsystem sensitivieren, MSI-Tumorzellen effizienter zu attackieren. Solche Frameshift-Neoantigen-Vakzine-Ansätze könnten über eine mögliche therapeutische Anwendung hinaus für Tumorprävention bei Lynch-Anlageträgern eingesetzt werden. Hier liefern die Daten der vorliegenden Arbeit wesentliche Hinweise für ein präklinisches Entwicklungsprogramm, welches derzeit in der Abteilung für Angewandte Tumorbiologie mit dem National Cancer Institute der USA unter anderem im Rahmen des Cancer Moonshot-Programms intensiv verfolgt wird.

Die Arbeit konnte zusammenfassend zeigen, dass MSI-Tumoren einen substanziellen Anteil von ECs ausmachen. Zudem konnte eine verstärkte Präsenz von TILs in den MSI-Tumoren nachgewiesen werden und dafür verantwortliche cMS-Mutationen identifiziert werden.

Diese Ergebnisse sind wesentlich für die Entwicklung Frameshift-Neoantigen-basierter Vakzine, welche therapeutisch in Kombination mit Immuncheckpointinhibitoren, aber auch als gezielte Prävention bei Lynch-Anlageträgern eingesetzt werden können.