

Aus dem Institut für Pathologie
der medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Prognostische Relevanz der BCL-3
Expression im Tamoxifen resistenten
Mammakarzinom

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
Dr. med.
(doctor medicinae)

vorgelegt von Maximilian Cornelius
aus Langenhagen
Magdeburg 2024

Dokumentationsblatt

Cornelius, Maximilian:

Prognostische Relevanz der BCL-3 Expression im Tamoxifen resistenten Mammakarzinom

2024 - 84 Seiten, 9 Abbildungen, 11 Tabellen

Die Resistenzentwicklung gegenüber Tamoxifen stellt in der Therapie des Mammakarzinoms ein großes Problem dar. In der Literatur gibt es Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen BCL-3 und einer Tamoxifen Resistenz im Mammakarzinom. Mithilfe immunhistochemischer Analysen konnten die Schnittpräparate von 180 Patientinnen mit einem Mammakarzinom auf eine BCL-3 Expression untersucht werden, um den Zusammenhang zwischen der BCL-3 Expression und einer Tamoxifen-Resistenz zu untersuchen. Zunächst wurde ein geeigneter Cut-off-Wert für eine erhöhte BCL-3 Expression festgelegt. Anschließend die Repräsentativität der Kohorte anhand der Ausprägungen von klinisch-pathologischen Parametern untersucht. Es folgten Analysen der BCL-3 Expression in den verschiedenen Tumor-Subtypen sowie Untersuchungen zum Nachweis einer Korrelationen zwischen der BCL-3 Expression und klinisch-pathologischen Parametern sowie Überlebensanalysen in Gruppen von schwacher und ausgeprägter BCL-3 Expression. Hierbei konnte unter anderem eine signifikante Korrelation zwischen einem verkürzten rezidivfreien Überleben in mit Tamoxifen therapierten Patientinnen und einer erhöhten BCL-3 Expression in der untersuchten Kohorte nachgewiesen werden. Im Hinblick auf die Pathohistologie wurden besonders signifikante Auswirkungen bei Patientinnen mit lobulärem Mammakarzinom festgestellt. Abschließend wurde ein möglicher Resistenzmechanismus des zytosolischen BCL-3 gegenüber Tamoxifen sowie eine klinischen Anwendung diskutiert.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	5
Tabellenverzeichnis	6
Abkürzungsverzeichnis	7
1 Einleitung	9
1.1 Epidemiologie	9
1.2 Ätiologie und Risikofaktoren	9
1.3 Histopathologie	11
1.3.1 Präneoplastische Läsionen der Brust	11
1.3.2 Atypische Duktale Hyperplasie, flache Epithelaty- pie und Lobuläre Neoplasie	12
1.3.3 Duktales Karzinom in situ	13
1.3.4 Das invasive Karzinom	13
1.4 Klassifikation	14
1.4.1 Histologisches Grading nach der WHO	14
1.4.2 TNM Klassifikation und spezielle Zusatzuntersuchungen . .	15
1.5 Tamoxifen	16
1.5.1 Therapeutische Alternativen zu Tamoxifen	17
1.5.2 Wirkungsweise	18
1.5.3 Metabolismus	19
1.5.4 Resistenz	19
1.6 B-Cell Lymphoma 3 (BCL-3)	25
2 Zielsetzung	29
3 Material und Methoden	30
3.1 Patientenkollektiv	30
3.2 Anfertigung der Schnittpräparate	30
3.3 Entparaffinierung	31
3.4 Antigendemaskierung	31
3.5 Immunhistochemische Färbung	31

3.5.1	Positivkontrolle	32
3.6	Auswertung der immunhistochemischen Färbung	33
3.7	Statistik	35
4	Ergebnisse	36
4.1	Festlegung eines geeigneten Cut-off Wertes für die BCL-3 Expression	36
4.2	Das Patientenkollektiv im Hinblick auf klinisch-pathologischen Daten sowie einer Korrelation mit BCL-3	37
4.3	BCL-3 im DCIS und invasiven Karzinom	41
4.4	Die BCL-3 Expression im Nukleus und Zytosol	42
4.5	Auswirkungen der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie und Gesamtüberleben	42
4.6	Auswirkungen der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben geschichtet nach Subgruppen mit Ausprägungen klinisch pathologischer Faktoren	45
4.7	Auswirkung der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben in Abhängigkeit der Pathohistologie	48
4.8	Prognostische Relevanz des BCL-3 und weiterer klinisch pathologischer Parameter in der untersuchten Kohorte	50
4.8.1	Univariable Analyse	50
4.8.2	Multivariable Analyse	52
5	Diskussion	55
5.1	Repräsentativität der Patientenkohorte	55
5.2	Korrelation der BCL-3 Expression im invasiven Karzinom und dem duktalem Karzinom in situ	56
5.3	BCL-3 Expression in Abhängigkeit der klinisch pathologischen Faktoren	57
5.4	Die BCL-3 Expression und das stark eingeschränkte rezidivfreie Überleben unter einer Therapie mit Tamoxifen	59
5.5	BCL-3 und der WNT Signalweg im invasiv lobulären Mammakarzinom - ein möglicher Resistenzmechanismus gegenüber Tamoxifen .	61
5.6	Ausblick - BCL-3 in der klinischen Anwendung	62

5.6.1	BCL-3 als Biomarker für die Resistenzentwicklung im Mammakarzinom	62
5.6.2	BCL-3 als therapeutisches Ziel	64
6	Zusammenfassung	66

Abbildungsverzeichnis

1	Postivkontrolle mit Tonsillengewebe	32
2	Immunhistochemische Färbung	34
3	Festlegung eines geeigneten Cut-off Wertes für die BCL-3 Expression	36
4	Einfluss der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben	43
5	Einfluss der BCL-3 Expression auf das Gesamtüberleben	43
6	Einfluss der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben in der Subgruppe der mit Tamoxifen behandelten Patientinnen	44
7	Einfluss der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben in der Subgruppe der mit Aromatase behandelten Patientinnen	45
8	Einfluss der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben im duktalen Karzinom	49
9	Einfluss der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben im lobulären Karzinom	49

Tabellenverzeichnis

1	Korrelation gängiger klinisch-pathologischer Marker und BCL-3 im Patientenkollektiv	38
2	Vergleich der Mittelwerte der BCL-3 Expression im invasiven Karzinom und duktalem Karzinom in situ	41
3	Wilcoxon Rangsummentest - die BCL-3 Expression im invasiven Karzinom und duktalem Karzinom in situ	41
4	Korrelationsanalyse nach Spearman - die BCL-3 Expression im invasiven Karzinom und duktalem Karzinom in situ	42
5	Das rezidivfreie Überleben für klinisch-pathologische Subgruppen im Hinblick auf die BCL-3 Expression	46
6	Mittleres rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit der Pathohistologie	50
7	Univariable Cox Regression - Rezidivfreies Überleben	51
8	Univariable Cox Regression - Gesamtüberleben	52
9	Multivariable Cox Regression unter Einschluss beider Lokalisationen des BCL-3 - Rezidivfreies Überleben	53
10	Multivariable Cox Regression unter Einschluss des zyt. BCL-3 - Rezidivfreies Überleben	53
11	Multivariable Cox Regression unter Einschluss des nuk. BCL-3 - Rezidivfreies Überleben	54

Abkürzungsverzeichnis

4-OHT	4-Hydroxytamoxifen
ADH	Atypische duktale Hyperplasie
AGE	Advanced Glycation End Product
AF	Activation Factor
ALH	Atypische lobuläre Hyperplasie
BCL-2	B-Zell Lymphom 2
BMI	Body Mass Index
CDK	Cyclin dependent Kinase
CYP	Cytochrome P450
DCIS	duktales Carcinoma in situ
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EGF	Epidermaler Wachstumsfaktor
ER	Östrogenrezeptor
ERK	Extracellular signal-regulated Kinases
FEA	Flache epitheliale Atypie
GPER	G-Protein gekoppelter Östrogenrezeptor
HMW	High Molecular Weight
HSP90	Hitzeschockprotein 90
IGF	Insulin-like growth factor
IGFBP	Insulin-like growth factor binding protein

ILC	Invasives lobuläres Karzinom
IRS	Immunreaktiver Score
KRK	Kolorektales Karzinom
LCIS	Lobuläres Karzinom in situ
LK	Lymphknoten
MAPK	Mitogen-activated protein Kinase
MCF-7	Michigan Cancer Foundation-7
mRNA	messenger ribonucleic acid
NST	nicht-spezifischer Typ
OVGU	Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg
PgR	Progesteronrezeptor
SD	Standardabweichung
SERM	Selektive Estrogenrezeptor-Modulatoren
siRNA	small interfering RNA
STAT3	Signal Transducer and Activator of Transcription 3
WHO	World Health Organization

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie

Mit etwa 69.000 Neudiagnosen jährlich und einer Inzidenz von 165,5/100.000 bleibt das Mammakarzinom weiterhin die häufigste maligne Erkrankung der Frau in Deutschland. Das mittlere Erkrankungsalter liegt mit 64 Jahren fünf Jahre unter dem Durchschnitt aller bösartigen Neuerkrankungen. Aktuell erkrankt eine von acht Frauen im Laufe ihres Lebens an Brustkrebs, wobei drei von zehn der diagnostizierten Frauen jünger als 55 Jahre alt sind [1].

Durch neu entwickelte Ansätze in der Diagnostik sowie Therapie ist ein deutlicher Anstieg der Heilungsrate in den letzten 10 Jahren zu beobachten. Ungeachtet dessen führte die Erkrankung in Deutschland 2017 zu 18.400 Sterbefällen bei einem Anstieg der Inzidenz [1].

Auch im Hinblick auf die weltweite Inzidenz ist der Brustkrebs vor allen bösartigen Tumoren der Frau führend [2]. Im Vergleich zu Entwicklungsländern bestehen höhere Inzidenzraten in Industrieländern. Ein Rückgang der Inzidenz sowie Mortalität ist in Europa und Nordamerika zu verzeichnen. Währenddessen sind eine steigende Mortalität und Inzidenz in Lateinamerika, Asien und Afrika zu beobachten [3].

1.2 Ätiologie und Risikofaktoren

Der Entstehungsmechanismus zur Bildung eines Mammakarzinoms bleibt weiterhin ungeklärt. Bestätigt haben sich jedoch multifaktorielle Risiken, die im folgenden Kapitel näher erläutert werden.

Genetik Bis zu 10% der Mammakarzinome in Industrieländern sind auf genetische Veranlagungen zurückzuführen [4]. Ein Großteil davon resultiert aus Mutationen in den BRCA-1 und BRCA-2 Genen, die auf Chromosom 17q und 13q lokalisiert sind. Als Tumorsuppressor-Gene kodieren sie unter physiologischen Bedingungen für Proteine, deren Funktionen die Reparatur der DNA im Zellkern beinhalten. Mutationen resultieren in einem Funktionsverlust der Proteine mit einer folgenden fehleranfälligen DNA Reparatur und chromosomalen Instabilität [5].

Das kumulative Risiko von Frauen im Alter von 70 Jahren mit einer Mutation im BRCA-1 Gen beträgt 65% und 45% mit Mutation des BRCA-2 Gen [6]. Weitere nennenswerte genetische Prädispositionen umfassen das Cowden Syndrom, Li-Fraumeni, Preutz-Jeghers sowie Ataxia Teleangiectasia [7, 8].

Alter Die Inzidenz des Mammakarzinoms steigt mit dem Alter. In Deutschland ist ein Anstieg der Inzidenz bis zur Altersgruppe von 65-70 Jahren (375 Erkrankungen/100.000 Einwohner) zu beobachten. Anschließend folgt ein Abfall auf 300 Erkrankungen/100.000 Einwohner in der Altersgruppe von 70-74 Jahren bei folgend stetiger Inzidenz in den Altersgruppen über 75 Jahren bei ca. 350 Erkrankungen/100.000 Einwohner [1].

Dichtes Brustgewebe Eine erhöhte Brustdichte wird durch vermehrtes Aufkommen von fibroglandulären Gewebe bei wenig Fettgewebe definiert [9]. Beeinflusst wird dies vor allem durch die Genetik [10]. Verdichtend wirken zudem eine postmenopausale Hormontherapie mit Östrogen und Progesteron sowie ein höheres Alter bei Erstgravida. Gegensätzlich dazu weisen Frauen in der Menopause, ansteigendem Alter, erhöhtem BMI sowie Tamoxifen Therapie eine geringe Brustdichte auf [9].

Verglichen mit weniger dichtem Gewebe, erschwert dichtes Drüsengewebe die mammographischen Identifikation von Pathologien in der Brust und gilt zudem als unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung von Brustkrebs [9, 11].

Alter bei Menarche, Menopause, Gravida Risiko fördernd sind eine frühe Menarche, späte Menopause, Nullipara sowie ein zunehmendes Alter bei Erstgravida. Risiko reduzierend wirkt sich eine längere Stillzeit sowie Multipara aus. [12, 4] Zusammenfassend beeinflussen diese Faktoren das Hormonsystem, was wiederum Auswirkungen auf die Differenzierung und Transformation des Brustdrüsenepithels hat [13].

Benigne Vorerkrankungen der Brust Das relative Risiko an Brustkrebs zu erkranken erhöht sich 4- bis 5-fach bei bioptischen Nachweis einer Atypischen Hyperplasie sowie 1,88-fach bei einer Proliferation ohne Atypie und 1,27-fach in Frau-

en mit nichtproliferativen Brustkrankungen [14]. Bei Frauen mit familienanamnestisch gehäuften Brustkrebs sowie einer ausgeprägten Atypischen Hyperplasie, erhöht sich das Risiko, an Brustkrebs zu erkranken, um das Neunfache [4].

Lebensstil Adipositas bei jungen prämenopausalen Frauen ist mit einem verminderten Risiko für Mammakarzinome assoziiert [15], wohingegen Adipositas in der Postmenopause mit einem erhöhten Risiko für Mammakarzinome assoziiert ist [16]. Adipositas sowie eine Gewichtszunahme nach Diagnostik eines Mammakarzinoms ist mit einer erhöhten brustkrebspezifischen Mortalität und Gesamtmortalität assoziiert [16, 17].

Alkoholkonsum steht in linearer Abhängigkeit zur Entwicklung von Brustkrebs. Bereits der gelegentliche Konsum von kleinen Mengen Alkohol wird einem erhöhten Risiko zugeschrieben [18, 19]. Besonders risikofördernd ist der gelegentliche Konsum von mehr als 50 Gramm Alkohol [20] sowie der erhöhte Konsum zwischen Menarche und erster Schwangerschaft [21].

1.3 Histopathologie

Das folgende Kapitel verschafft einen Überblick über die wichtigsten histopathologischen Veränderungen der Brust und behandelt im Anschluss bewährte Klassifikationen.

1.3.1 Präneoplastische Läsionen der Brust

Gewöhnliche duktale Hyperplasie Die epitheliale Hyperplasie des duktaalen Typus wird nach ihrem Ausmaß in leichte, mittelgradige und floride Formen unterteilt. Es treten mindestens zwei Zelltypen auf, das Zellbild imponiert bunt und fließend. Die Zellkerne sind oval und euchromatisch mit kleinen Nukleoli und variieren in Größe. Abgrenzend zur atypischen duktaalen Hyperplasie exprimieren die duktaalen Hyperplasien hochmolekulare Keratine. [22, 23, 24]

Gewöhnliche lobuläre Hyperplasie Die gewöhnliche lobuläre Hyperplasie zeichnet sich durch vermehrtes Aufkommen von Drüsenläppchen mit erhöhter Zellanzahl aus [22].

1.3.2 Atypische Duktale Hyperplasie, flache Epithelotypie und Lobuläre Neoplasie

Atypische duktale Hyperplasie Die Histologie der atypischen dukталen Hyperplasie (ADH) zeigt eine Proliferation von atypischen unimorphen Zellen mit kribriformen oder soliden Wachstumsmustern. Es gibt partielle oder vollständig fokale Befälle einzelner Gänge und/oder Läppchen. Die ADH ähnelt dem dukталen Karzinom in situ (DCIS) in zytologischen und architektonischen Eigenschaften. Die Abgrenzung zum DCIS erfolgt anhand einer Maximalgröße von 3 mm und dem Befall von maximal zwei getrennten Gangstrukturen [25, 26].

Flache Epithelotypien Die flache Epithelotypie (FEA) ist eine Kolumnarzell-Hyperplasie mit geringer bis mäßiger zytologischer Atypie. Es handelt sich um eine duktale neoplastische Veränderung bei der normale luminale Zellen durch eins bis fünf Reihen von Kolumnarzellen ersetzt werden. Nach bisherigen Studien führt das FEA nur in seltenen Fällen zu einem invasiven Mammakarzinom [24, 27].

Die lobuläre Neoplasie Die lobuläre Neoplasie schließt sowohl die atypische lobuläre Hyperplasie als auch das lobuläre Carcinoma in situ ein. Die atypische lobuläre Hyperplasie (ALH) ist durch die atypische Proliferation von kleinen monomorphen Zellen innerhalb einer terminalen dukto-lobulären Einheit gekennzeichnet. In der ALH sind weniger als die Hälfte der Lobuli innerhalb eines Lobus betroffen [25, 28].

Das lobuläre Karzinoma in situ (LCIS) entsteht ebenfalls in den terminal dukto-lobulären Einheiten und zeichnet sich durch die Proliferation von neoplastischen Zellen mit Expansion der Acini aus. Die Zellen stellen sich als monomorph, ungeordnet, mit rund-ovaler Form sowie mit unauffälligem Zytoplasma dar. Die Nuklei sind rund-oval, mit glatter nuklearer Membran und unauffälligen Nukleoli. Das LCIS unterscheidet sich vom ALH durch vollständige Füllung und Expansion der Lobuli. Im LCIS ist eine fehlende Expression von E-Cadherin bei vorhandenem Keratin mit hochmolekularer Masse zu beobachten. Im DCIS ist dies umgekehrt [22, 29, 30].

1.3.3 Duktales Karzinom in situ

Das DCIS zeigt eine neoplastische Proliferation von atypischen Epithelzellen in den terminalen duktulo-lobulären Einheiten, dringt nicht in die Basalmembran ein und wächst nicht in das umliegende Stroma [31, 32].

Es umfasst eine heterogene Gruppe von Präkanzerosen mit Komedotypen, non-Komedotypen und weiteren Subgruppen. Komedokarzinome sind hochdifferenziert mit zentraler Nekrose, hoher Proliferationsrate und Mikrokalzifikationen. Sie exprimieren keine Hormonrezeptoren und treten zu 10% bilateral auf. Die non-Komedo Karzinome werden in den kribriformen, mikropapillären, papillären und soliden Typen unterteilt. Gegensätzlich zu den Komedokarzinomen weisen diese niedriggradig differenzierte Zellen, häufige ER-Positivität sowie eine niedrige Proliferationsrate auf [22, 23]. Das Malignitätspotenzial variiert aufgrund der Heterogenität deutlich [24].

1.3.4 Das invasive Karzinom

Das invasive Mammakarzinom ist eine heterogene Erkrankung mit Variationen in Histologie, Rezeptorstatus und Mitoseraten.

Invasives Karzinom ohne speziellen Typ Etwa 50-80% der invasiven Mammakarzinome werden dem invasiven Mammakarzinom ohne speziellen Typen zugeordnet (ehemals invasives duktales Mammakarzinom)(NST). Hierbei handelt es sich um eine heterogene Gruppe von Erkrankungen, die nicht genügend Merkmale vorweisen, um einem anderen Typus zugeordnet zu werden.

Makroskopisch variieren Sie in Größe und Form, zerstören das umliegende Gewebe und können Nekrosen, Einblutungen sowie zystische Degeneration aufweisen. Mikroskopisch wachsen die Tumore in Abhängigkeit des Fasern- und Stromagehaltes in radiären Ausläufern oder glatt konturiert. Die Zellen zeigen variable Nuklei mit prominenten Nukleoli und bilden keine Basalmembran [22, 33].

80% der NST Karzinome werden von einem DCIS begleitet. Weiterhin sind 80% Östrogenrezeptor-positiv sowie zu 15% HER2-positiv. Verglichen mit anderen Mammakarzinom Subtypen weisen NST Karzinome eine vergleichsweise schlechte Prognose auf [33].

Invasives lobuläres Karzinom Die invasiven lobulären Karzinome (ILC) machen 10-15% der invasiven Mammakarzinome aus und nehmen in der Inzidenz zu [33]. Sie zeigen variable Tumorgrößen. Mikroskopisch zeigen sich kleine, uniforme einzelne oder in Gänsemarsch-Anordnung wachsende Zellen. Eine fehlende oder reduzierte Expression von E-Cadherin führt zu diskohäsiem Wachstum [34]. Oft wachsen die invasiven Zellen dabei konzentrisch um Drüsen und anderen Strukturen [30].

Begleitend zum ILC sind häufig umliegende lobuläre Neoplasien, DCIS oder andere Carcinoma in situ vorzufinden. In bis zu 90% der Fälle exprimieren ILC den Östrogenrezeptor und in 70% den Progesteronrezeptor [30]. Eine HER2 Überexpression im ILC ist sehr selten [33].

Weitere histologische Typen beinhalten das tubululäre, kribriforme, muzinöse, medulläre, apokrine, siegelringzellige, mikropapilläre und das metaplastische Mammakarzinom.

1.4 Klassifikation

1.4.1 Histologisches Grading nach der WHO

Im histologischen Grading erfolgt die Beurteilung des Differenzierungsgrades im Tumorgewebe. Das Material wird während der diagnostischen Sicherung durch Stanz-, Vakuum- und in Ausnahmefällen durch offene Exzisionsbiopsien gewonnen [26]. In der von Elson und Ellis optimierten [35], ursprünglich durch Bloom und Richardson [36] vorgeschlagenen Methodik fließen drei Kriterien ein. Für jedes Kriterium ergeben sich je nach Ausprägung Punkte, die zum Schluss addiert und nach einem Scoring Modell dem Grading 1-3 zugeteilt werden.

Das gewonnene Gewebe wird auf die Tubulusbildung im Gesamttumor untersucht. Je ausgeprägter das drüsige Gewebe vorliegt, desto höher gilt der Differenzierungsgrad und es ergeben sich folglich weniger Punkte im Scoring Model. Darüber hinaus erfolgt die Beurteilung der Zellkerne im Hinblick auf ihre Größe, ihre Größenvarianz, ihre Nukleolen sowie das Kernchromatin. Abschließend erfolgt die Bestimmung der Mitoserate im Areal der höchsten Ausprägung [26, 37].

1.4.2 TNM Klassifikation und spezielle Zusatzuntersuchungen

Um für die therapeutische Planung sowie die Prognosestellung das Ausmaß der Karzinomausbreitung einzuschätzen, wird das TNM System der American Joint Committee on Cancer verwendet [26]. Ursprünglich berücksichtigte die TNM Klassifikation lediglich anatomische Eigenschaften. Aktuell wird zusätzlich die Bestimmung klinisch relevanter Faktoren in allen Mammakarzinomen empfohlen: der Hormonrezeptor Status, der HER2 Status, das histologische Grading und die Multigen-Diagnostik [38].

Die klinische TNM Klassifikation ist mit c-TNM und die histopathologische Klassifikation mit p-TNM deklariert. Bei bilateralem Befall der Brüste erfolgt eine getrennte Klassifikation für jede Brust. Bei multiplem Befall einer Brust zählt die am höchsten festgestellte T-Klassifikation. [26]

Optional ist die Angabe des Nottingham-Prognose-Index, der sich aus der Tumorgroße, dem Grading und dem Lymphknotenstatus zusammensetzt und je nach Indexwert eine Überlebensprognose stellt [26, 39].

Anhand der entnommenen Biopsien wird in der Primärdiagnostik des invasiven Mammakarzinoms der Östrogenrezeptor (ER)-, Progesteronrezeptor (PgR)- sowie HER2-Status zur Therapieplanung bestimmt. Der ER/PgR gilt als positiv, sofern mindestens 1% der vorhandenen Tumorzellkerne die Hormonrezeptoren präsentieren. Zur vereinfachten Darstellung wird die Angabe als Immunreaktiver Score (IRS) nach Remmele [40] oder dem Allred Score [41] empfohlen [26]. Die HER2-Positivität ist bei einem immunhistochemischen Score von 3+ oder durch den Nachweis einer Genamplifikation gegeben [26]. Anhand dieser Untersuchungen sowie der Ki-67 Proliferationsrate werden Mammakarzinome in vier verschiedene Subtypen mit jeweils unterschiedlichen Therapieempfehlungen unterteilt [26, 42]:

Luminal A ER und/oder PgR-positiv, HER2-negativ, niedriger Ki-67-Wert

Luminal B:

- **(HER2-negativ):** HER2-negativ, ER- und/oder PgR-positiv, hoher Ki-67-Wert

- **(HER2-positiv)**: HER2-positiv, ER und/oder PgR positiv, hoher oder niedriger Ki-67-Wert

HER2-positiv ER und PgR negativ und HER2-positiv

Triple-negativ ER, PgR und HER2 negativ

1.5 Tamoxifen

Allgemeines Tamoxifen ist ein nichtsteroidaler selektiver Östrogen-Rezeptor-Modulator (SERM). Abhängig vom Gewebe weist es eine am Östrogenrezeptor spezifische agonistische oder antagonistische Funktion auf. Die Anti-Tumor-Wirkung im Mammakarzinom resultiert aus einer kompetitiven Hemmung des Östradiols durch Bindung an den Östrogenrezeptor-Alpha [43]. Durch Bindung des Tamoxifens an den Östrogenrezeptor wird dessen Struktur verändert und eine Bindung von Cofaktoren verhindert [44]. Die von Östradiol gesteuerte Gentranskription, Zellproliferation und das Tumorwachstum werden folglich gehemmt [45]. Seit Einführung der therapeutischen Anwendung im Mammakarzinom im Jahr 1973 ist bei prämenopausalen Frauen eine Senkung der Mortalität um 30% sowie der Rezidivrate um 50% zu beobachten [44].

Anwendung Etwa 70% der invasiven Mammakarzinome präsentieren den Östrogenrezeptor-Alpha [46]. In prämenopausalen Patientinnen mit einem solchen Karzinom wird eine fünfjährige adjuvante Therapie mit 20mg Tamoxifen täglich empfohlen [26]. Nach Abschluss der fünfjährigen Therapie kann eine Verlängerung um weitere fünf Jahre evaluiert werden [26]. Hierbei stehen eine weitere Reduktion der Rezidivrate sowie ein verlängertes Gesamtüberleben mit erhöhten Nebenwirkungen im Konflikt [47]. Die Indikation ist unter Berücksichtigung der individuellen Rezidivwahrscheinlichkeit und dem Patientinnenwunsch zu stellen [26]. Sofern die Patientinnen während einer fünfjährigen Behandlung bereits die Menopause erreicht haben und ein erhöhtes Rezidivrisiko vorliegt, wird die Umstellung auf die im Hinblick auf das rezidivfreie Überleben signifikant überlegene Aromatasehemmer empfohlen [26, 48].

Die Kombinationstherapie aus Ovarialsuppression und Tamoxifen kann bei Frau-

en mit einem hohen Rezidivrisiko nach adjuvanter Chemotherapie oder bei prämenopausalen Frauen erwogen werden. Die Ovarialsuppression kann durch eine Operation (Entfernung der Eierstöcke) oder medikamentös (z.B. mit einem GnRH-Analogen) erreicht werden [26].

In prä- und perimenopausalen Patientinnen mit metastasiertem Östrogenrezeptor-positiven HER2-negativem Mammakarzinom wird eine Erstlinientherapie mit endokriner Therapie (wie z.B. Tamoxifen) bis zur Progression empfohlen, sofern ein rascher Wirkungseintritt nicht nötig ist [26].

In den USA erfolgte 1998 die Zulassung von Tamoxifen in der Primärprävention von Mammakarzinomen bei Hochrisikopatientinnen. Im Vergleich zu Patientinnen, die keine prophylaktische Gabe von Tamoxifen erhielten, wiesen diejenigen, die mit Tamoxifen therapiert wurden, eine 30-50%ig geringere Inzidenz von Mammakarzinomen auf [49, 50, 51]. Eine Follow-Up Studie über 20 Jahre bestätigte einen langanhaltenden Schutz durch Tamoxifen [52]. Trotzdem erlangte Tamoxifen aufgrund gefürchteter Nebenwirkung in Deutschland keine Zulassung in der Präventionstherapie.

Eine Übersichtsstudie, welche die obig genannten Studien inkludiert, bestätigte unter Tamoxifen Therapie ein erhöhtes Vorkommen von Endometriumkarzinomen (relatives Risiko 2,4) und venösen thromboembolischen Ereignissen (relatives Risiko 1,9). Das erhöhte Aufkommen der Nebenwirkungen hat jedoch keinen Einfluss auf die Mortalität. [53]

1.5.1 Therapeutische Alternativen zu Tamoxifen

Aromatasehemmer blockieren die Umwandlung von Androgenen zu Östrogen. Aromatasehemmer sind die bevorzugte Erstbehandlungsoption für Frauen, die nach der Menopause mit einem ER/PgR+ Mammakarzinom diagnostiziert werden. Zu den bekannten Arzneistoffen gehören: Letrozol, Anastrozol und Exemestan. [26] Fulvestrant ist ein selektiver Östrogenrezeptor-Downregulator (SERD), der den ER blockiert und anschließend den Abbau des Rezeptors im Zytoplasma induziert. Es gilt als Erstlinientherapie für postmenopausale Frauen mit metastasiertem Brustkrebs, deren Tumorzellen ER/PgR+ HER2- sind, vor allem wenn zuvor bereits eine Therapie mit Aromatasehemmern erfolgt ist. Die Behandlung erfolgt in Kom-

bination mit CDK4/6-Inhibitoren. [26, 54]

CDK4/6-Inhibitoren sind eine vergleichsweise neue Gruppe von Medikamenten, die die Cyclin-abhängigen Kinase 4 und 6 (CDK4/6) blockieren. Diese Enzyme spielen eine wichtige Rolle bei der Regulierung des Zellwachstums. CDK4/6-Inhibitoren werden als Erstlinientherapie in Kombination mit einer endokrinen Therapie bei Patientinnen mit metastasiertem ER/PgR+ HER2- Mammakarzinom eingesetzt. Weiterhin werden sie als Zweitlinientherapie in Kombination mit einer endokrinen Therapie bei Patientinnen verwendet, die trotz einer bestehenden endokrinen Therapie einen Tumorprogress erfahren. Die zugelassenen CDK4/6-Inhibitoren umfassen Palbociclib, Ribociclib und Abemaciclib. [26, 55]

GnRH-Analoga führen zu einer verminderten Produktion von Östrogen in den Eierstöcken. Sie werden als alleinige Therapie zur Behandlung von prämenopausalen Frauen mit einem ER/PgR+ HER2- Mammakarzinom und einer Unverträglichkeit gegenüber Tamoxifen und Aromatasehemmern verwendet. Trotz des äquivalenten Therapienutzens im Vergleich zu Tamoxifen ist eine Therapie jedoch mit einer deutlich höheren Nebenwirkungsrate, reduzierter Therapieadhärenz sowie Spättoxizität assoziiert. In der Behandlung von metastasierten ER/PgR+ HER2- Mammakarzinomen können GnRH-Analoga in Kombination mit einer endokrinen Therapie (Aromatasehemmer, Fulvestrant oder Tamoxifen) eingesetzt werden. [26, 56]

1.5.2 Wirkungsweise

Tamoxifen und seine aktiven Metabolite wirken als selektive Östrogenrezeptor-Modulatoren (SERMs), indem sie an den Östrogenrezeptor binden und dessen Aktivität modulieren. Im Gegensatz zu Östradiol, einem natürlichen Östrogen, binden Tamoxifen und seine Metabolite mit geringerer Affinität an den Östrogenrezeptor. Wenn Tamoxifen bzw. seine aktive Metabolite an den Östrogenrezeptor binden, wird das Hitzeschockprotein 90 (HSP90) von diesem abgespalten, was zur Bildung eines Tamoxifen-Östrogenrezeptor-Komplexes führt. Dieser Komplex wandert dann in den Zellkern.

Im Zellkern bindet der Tamoxifen-Östrogenrezeptor-Komplex an die DNA Promoter Regionen der Östrogen-empfindlichen Bereiche bei aktivierter Activation

Factor (AF) 1 Domäne und inhibierter Activation Factor 2 Domäne.

Die Inhibition der AF2-Domäne sowie Blockierung von ER-Coaktivatoren führt zu einer abgeschwächten Transkription der betroffenen Gene. Eine Restaktivität bleibt durch die aktivierte AF1-Domäne bestehen. [57].

1.5.3 Metabolismus

Tamoxifen wird durch CYP-Enzyme der Leber in aktivere Metabolite mit jeweils unterschiedlich starker Affinität und Potenz für den Östrogenrezeptor umgewandelt. Angenommen wird zunächst eine N-Methylierung zu N-Desmethyl-Tamoxifen durch CYP3A, gefolgt von der Hydroxylierung durch CYP2D6 zum aktiven Metabolit 4-Hydroxy-N-Desmethyl-Tamoxifen auch Endoxifen genannt. Ein geringer Anteil des Tamoxifens wird zuerst hydroxyliert und anschließend methyliert [58]. Endoxifen weist wie das Hydroxytamoxifen (4-OH-Tamoxifen) eine 100-fach stärkere Affinität für den Östrogenrezeptor als das Tamoxifen auf [59]. An den Östrogenrezeptor können jedoch alle drei binden. Die Elimination von Tamoxifen und dessen Metabolite erfolgt nach Glucuronidierung durch Enzyme der Leber via Galle und Kot [60, 61].

1.5.4 Resistenz

Die therapeutische Effektivität von Tamoxifen wird maßgeblich durch Tumorresistenzen beeinträchtigt. Resistenzen existieren entweder vorab oder bilden sich im Verlauf einer Therapie. Bis zu 40% der Patientinnen mit einem Hormonrezeptor-positiven Mammakarzinom erleiden unter der Therapie mit Tamoxifen einen therapeutischen Rückfall mit Rezidiv. Der Identifikation von Resistenzmechanismen, Präventivmaßnahmen und prädiktiver Biomarker wird daher eine hohe klinische Relevanz zugeschrieben [62]. Es folgt eine Zusammenfassung über den aktuellen Stand der Forschung.

Genetische Polymorphismen der Biotransformationsenzyme Polymorphismen in Genen von Enzymen des Tamoxifen Metabolismus können Veränderungen der katalytischen Aktivität bewirken und treten gehäuft auf. Da die Enzyme entscheidend für die Umwandlung in die aktiven Metabolite und die

anschließende Eliminierung sind, sollte die Enzymaktivität theoretisch direkt mit der Anti-Tumor-Wirksamkeit korrelieren [63].

Wie im Kapitel 1.5.3 erwähnt, ist das Enzym CYP2D6 von besonderer Relevanz im Metabolismus und steht daher im Fokus der Forschung. Abgesehen vom kompletten Genverlust oder dem Auftreten zweier Allele, die mit einem kompletten Funktionsverlust assoziiert sind, existieren bis heute sehr widersprüchliche Aussagen bezüglich des Effektes des Enzym-Phänotyps auf die Endoxifen-Konzentration und Bedarf daher einer weiteren Abklärung [63].

Verlust und Modifikation vom ER Der Östrogenrezeptor-Alpha-Status eines Brustkrebses ist entscheidend für das Ansprechen der Therapie auf Tamoxifen. Punktmutationen im ER-alpha Gen, die zur folgenden Ligandenunabhängigkeit des Rezeptors führen, sind gehäuft bei einer Aromatasehemmer-Therapie bei metastasierendem ER-positivem Mammakarzinom zu beobachten [64]. Abgesehen davon treten Punktmutationen, Insertionen sowie Deletionen des ER- α Gens jedoch nur sehr rar auf und stellen keine vollständige Erklärung für die ca. 30% ER-negativen Tumore bei der Diagnosestellung dar [65]. Darüber hinaus zeigen einige Östrogenrezeptor-positive Tumore einen ER-Verlust während der Rezidiventwicklung unter einer Therapie mit Tamoxifen [66].

Als weitere Ursache werden epigenetische Veränderungen vermutet. Durch enzymatische Modifizierung von Histonen und Nukleinsäuren an Promotoren kommt es zu strukturellen Veränderungen des Chromatins. Dies nimmt Einfluss auf die Transkription von Genen durch veränderte Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren, Coaktivatoren und Corepressoren. Methylierung von CpG Inseln in den Promoter Regionen des Östrogen Rezeptors gelten hierbei als Hauptmechanismus. CpG Inseln sind Bereiche im Genom mit erhöhter CpG Dinukleotid Dichte. In ER-Rezeptor positiven Tumoren und normalen Brustgewebe sind diese CpG-Inseln unmethyliert, wohingegen die meisten ER-negativen Tumore vermehrt Methylgruppen aufzeigen [67]. Als ursächlich gelten ebenfalls posttranslationale Modifikationen von Histonen in Form von Acetylierung und Phosphorylierung [68].

Auch Veränderungen am Östrogenrezeptor und seinen Co-Regulatoren selbst haben Einfluss auf die Wirkung des Tamoxifens. Signal-Kinase-Wege phosphorylieren eine Reihe von Serin-Aminosäuren des Rezeptors mit erheblichen Auswirkungen.

Nennenswerte Einflüsse beinhalten eine Ligand-unabhängige Transkription vom ER- α , Reduktion der Affinität des Östrogenrezeptors zu Tamoxifen und eine reduzierte Affinität des Rezeptors zur DNA-Bindung bei gebundenen Tamoxifen [69, 70, 71, 72].

Die regulierenden Effekte des Östrogenrezeptors auf die Transkription ergeben sich durch ein Zusammenspiel von Rezeptor, Ligand, hormonempfindlichen Bereichen und Cofaktoren. Auch veränderte Expressionen der Cofaktoren können daher direkte Auswirkung auf die Effektivität des Tamoxifens haben [73].

Wachstumsfaktor-Rezeptoren Die Expression der Wachstumsfaktor-Rezeptoren EGFR, HER2 und IGF-1R in Brustkrebszellen ist mit einer Resistenz gegenüber Tamoxifen assoziiert [74]. In vivo Analysen in MCF-7 Xenograft Maus Modellen mit erhöhter Expression von EGFR und HER2 zeigten eine durch diese Rezeptor-Tyrosinkinasen vermittelte, über MAPK, ERK1+2 sowie AKT durchgeführte Phosphorylierung und damit resultierende ligandenunabhängige Stimulation der Östrogenrezeptoren. Verstärkt wird dies durch die Bindung von Tamoxifen an den ER, wodurch EGFR, HER2, AKT ERK1+2 sowie MAPK zusätzlich stimuliert werden und ein bidirektionaler Crosstalk resultiert [75]. Die Gabe von Gefitinib, einem Inhibitor der AKT und MAPK, ermöglichte die Wiederherstellung der Sensitivität gegenüber Tamoxifen [75, 76].

50-80% der Luminal A Mammakarzinome zeigen eine Überexpression vom IGF-1R [77, 78]. Stimuliert durch Insulin, IGF-I und II sowie inhibiert durch die IGF-BPs, steuert der IGF-1 Rezeptor durch die MAPK/ERK PI3K/AKT Signalwege den Metabolismus, fördert die Proliferation und blockiert die Apoptose einer Zelle.

In vitro Analysen in Östradiol armen und IGF-1 reichem Medium zeigten ein Östradiol unabhängiges, durch IGF-1R vermitteltes Zellwachstum von MCF-7 Zellen. Auch unter Gabe von Tamoxifen proliferierten diese Zellen, wohingegen die Gabe von IGF-1R Inhibitoren ein Wachstum unterband [79]. Es wird angenommen, dass der aktive phosphorylierte Status des IGF-1R, nicht die Menge der Expression für die Stimulation der nachgeschalteten Signalwege und dem daraus resultierende Resistenzmechanismus maßgebend ist [78]. In Untersuchungen mit MCF-7 Xenograften in Mäusen, wurde im Vergleich zu Tamoxifen sensitiven Zellen, eine geringere dafür jedoch stark phosphorylierte Menge an IGF-1R in

Zellen zum Zeitpunkt einer erworbenen Tamoxifen-Resistenz beobachtet [76].

Breast Cancer Antiöstrogene BCAR1 und III sind Gerüstproteine die strukturell und funktionell eng miteinander interagieren und eine entscheidende Rolle in der Regulation nachgeschalteter Signaltransduktionswege einnehmen [80]. Eine hohe Expressionen dieser beiden Proteine ist mit zellulärer Proliferation in Anwesenheit von Tamoxifen in Zellen des Mammakarzinoms assoziiert [81, 82, 83].

In vitro Analysen in Brustkrebs-Zelllinien zeigen eine durch BCAR1 vermittelte erhöhte Aktivität der c-SRC Kinase [84], resultierend in einer durch Phosphorylierung folgenden Aktivierung des EGFR und des Transkriptionsfaktors STAT5b [85]. Daraus folgt ein progressives Wachstum sowie zelluläres Überleben auch unter einer Therapie mit Tamoxifen [86, 85]. Die Wirkung von BCAR1 entfaltet sich unabhängig vom Östrogenrezeptor-Status und seinen Response Elementen [85].

Die Identifikation von BCAR3 erfolgte im Rahmen genetischer Untersuchungen in Tamoxifen resistenten Brustkrebszellen [82]. BCAR3 vermittelt durch Bindung an zytosolisches BCAR1 eine Translokation des BCAR1 in die Zellmembran, in der das Protein durch Phosphorylierung aktiviert wird [87].

Zellzyklus Regulatoren Das Protein Cyclin D1 reguliert den Zellzyklus und stimuliert den Übergang der G1-Phase in die S-Phase [69]. Eine Überexpression des Proteins ist mit einer schlechten Prognose unter einer Therapie mit Tamoxifen bei Brustkrebspatientinnen assoziiert. Weiterhin weisen mit Tamoxifen behandelte Patientinnen mit geringer Cyclin D1 Expression ein verlängertes rezidivfreies Überleben auf [88, 89]. Ein Grund könnte eine gesteigerte Affinität des Cyclin D1 gegenüber dem Östrogenrezeptor ausgelöst durch eine Therapie mit Tamoxifen sein. Es kommt zu einer vermehrten aktivierenden Bindung von Cyclin D1 an den Östrogenrezeptor sowie einer aufgehobenen Repression des Transkriptionsfaktors STAT3. In Tumoren mit einer Cyclin-D1 Überexpression resultiert dies in gesteigerter Zellproliferation, vermittelt durch den aktivierten Östrogenrezeptor und einer blockierten Apoptose, vermittelt durch STAT3 [90].

Antiöstrogene hemmen die Expression von MYC, einem Gen, welches für den Transkriptionsfaktor c-MYC codiert. Geringeres c-MYC geht mit einer Derepression des p21Cip1/Waf1 Gens einher, wodurch CDK-2 und -4 inhibiert werden und

ein Zellzyklusstillstand resultiert [91, 92]. Die Proteine Cyclin E1 und E2 binden an die Cyclin abhängige Kinase 2 (CDK-2) und fördern zusammen mit dem Cyclin D/CDK-4 Komplex durch Phosphorylierung und damit Inaktivierung der Tumorsuppressor Proteine Retinoblastom-1 und -2 die Progression in die S-Phase [92]. Die Expression von Cyclin E1 und E2 wird zusätzlich indirekt über den Transkriptionsfaktor E2F durch Cyclin D1 verstärkt [93].

Eine Überexpression von Cyclin E2 reduziert den von Antiöstrogenen vermittelten inhibitorischen Effekt auf CDK4 und E2F Zielgenen *in vitro* und das erhöhte Aufkommen von Cyclin E2 kodierender mRNA ist mit einem geringeren metastasenfrem Überleben nach endokriner Therapie in Brustkrebspatientinnen assoziiert [92]. Weiterhin ist ein erhöhtes Aufkommen von Cyclin E1 mRNA mit einer schlechteren Prognose in Östrogenrezeptor-negativen Brustkrebspatientinnen sowie einem Therapieversagen unter Tamoxifen assoziiert [94, 95].

BCL-2 Die B-Zell Lymphom 2 Familie ist bedeutend für die Regulation der Apoptose. Während einige Mitglieder dieser Familie die zelluläre Apoptose fördern (Bad, Bax, Bid u. Bik), stimulieren andere wiederum das zelluläre Überleben (BCL-2, BCL-w u. BCL-Xl). Je nach Ausprägung der Proteine reagieren Zellen unterschiedlich sensitiv auf apoptotische Impulse [96].

Stimuliert durch den PI3K Signalweg wird das Protein Bad phosphoryliert. Es kommt zur Abspaltung vom BCL-2/BCL-x Komplex, wodurch beide Proteine die Möglichkeit haben, ein BAX Protein eines Homodimers zu binden. Durch Heterodimerisierung der BAX Proteine wird den Proteinen die proapoptotische Eigenschaft genommen. Eine erhöhte Expression von BCL-2, förderlich für eine gehäufte Heterodimerisierung, wird mit einer Resistenz gegenüber Tamoxifen assoziiert. Umgekehrt ist eine hohe Expression von BAD mit einem besseren krankheitsfreien Überleben assoziiert [97]. 75% der primären Brustkrebserkrankungen exprimieren ein hohes Aufkommen von BCL-2 mit besonders hoher Expression im ER-positivem Brustkrebs (85%) [98].

In vitro Analysen in MCF-7 Zellen zeigen, dass die Unterdrückung des BIK Gens in Tamoxifen behandelten MCF-7 Zellen in antiapoptotische Effekte resultieren und daher einen weiteren möglichen Resistenzfaktor darstellt [99].

Autophagie Unter der Therapie mit Tamoxifen wird den Zellen des Mammakarzinoms eine überlebensnotwendige Stimulation durch den Östrogenrezeptor entzogen. Autophagie ist ein Prozess, bei dem unter zellulärem Stress das Überleben durch Abbau beschädigter intrazelluläre Proteine und anderer Organellen sichergestellt wird [100]. In vitro Analysen lassen vermuten, dass die Autophagie auch eine Rolle in der Resistenzentwicklung gegenüber Tamoxifen einnimmt [100, 101]. Beclin 1 ist ein Protein dessen zentrale Funktion die Steuerung der Autophagie einnimmt. Eine Überexpression des Proteins in MCF-7 Zellen ist mit einer Resistenz gegenüber Tamoxifen assoziiert [102]. In in vitro Untersuchungen resultierte ein Knockdown des für das Beclin 1 kodierende Gens (BECN1) sowie weiterer mit Autophagie assoziierter Gene mittels siRNA in eine Resensibilisierung von Tamoxifen-resistenten Brustkrebszellen [103].

NF κ B Signalweg Der NF- κ B-Signalweg spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation von Genen, die das Immunsystem, die Zellproliferation und die Apoptose beeinflussen.

Untersuchungen an Frauen mit ER+ Mammakarzinom haben ergeben, dass die NF- κ B-Aktivität durch eine Therapie mit Tamoxifen bereits nach einer kurzen Therapiedauer von 21 Tagen gesteigert wird. In vitro Experimente mit MCF-7-Zellen die gegen Tamoxifen resistent sind, haben gezeigt, dass der NF- κ B-Signalweg in diesen Zellen stärker aktiviert ist. Besonders hervorzuheben ist, dass diese Zellen einen deutlich positiven Östrogenrezeptor-Status aufweisen, jedoch gegenüber Tamoxifen nicht sensitiv sind. Durch die Inhibition von NF κ B-Transkriptionsfaktoren konnte in diesen Zellen das Wachstum jedoch unterbunden werden. Auch bei Mäusen, deren MCF-7 Xenografts mit Tamoxifen behandelt wurden, wurde eine erhöhte Expression von NF- κ B-Zielgenen beobachtet. [104]

Mehrere Resistenzmechanismen werden vermutet, darunter eine NF- κ B-Signalweg-abhängige Zellproliferation, die durch die NF- κ B-Transkriptionsfaktoren p65 und p50 stimuliert wird. Auch Crosstalks zwischen NF- κ B und dem ER, die indirekte Beeinflussung des ER durch Assoziationen von NF- κ B mit Coaktivatoren und Corepressoren des ER sowie die Repression der ER-Transkription könnten eine Rolle spielen. Weiterhin könnte die Beeinflussung der Apoptose und des Immunsystems eine Rolle spielen. [105]

Eine hohen NF- κ B-Aktivität in Zellen des Mammakarzinoms könnte daher in eine de-novo Resistenz gegenüber Tamoxifen resultieren. Weiterhin könnte eine verlängerte Überlebenszeit einer Zellpopulation mit NF- κ B vermittelter Zellproliferation unter Tamoxifen Therapie durch weitere Adaption auch in eine erworbene Resistenz resultieren. [104]

Das in dieser Arbeit untersuchte Protein BCL-3 beeinflusst die Aktivität von Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B.

1.6 B-Cell Lymphoma 3 (BCL-3)

Das durch das B-Zell Lymphoma 3 Gen encodierte Protein ist Mitglied der I κ B Proteinfamilie und reguliert als Kofaktor die Gen Transkription im Nukleus [106]. Erstmalig identifiziert wurde das BCL-3 Gen in der chronisch lymphatischen Leukämie in der Translokation von T(14/19) [107, 108].

Struktur Das Protein umfasst 446 Aminosäuren bei einer molekularen Masse von 47kDA und lässt sich in eine Ankyrin-Wiederholungsdomäne, umgeben von N- und C-Termini reich an Serin und Prolin gliedern [109]. Die Ankyrin-Wiederholungsdomäne formt die Bindungsstelle zur NF- κ B Bindung [110]. BCL-3 verfügt über ein Kernlokalisierungssignal am N-Terminus, welches eine Einschleusung in den Zellkern ermöglicht [111].

Lokalisation In Abhängigkeit vom Zelltyp und Stimuli ist das kodierte Protein BCL-3 im Nukleus oder Zytosol lokalisiert [112]. Notwendig für die Translokation in den Nukleus ist eine posttranslationale Proteinmodifikation des BCL-3 in Form einer Ubiquitinierung [112]. Die Phosphorylierung durch AKT führt zu einer veränderten Ubiquitinierung und ermöglicht dadurch die Translokation in den Nukleus [110]. In vitro Analysen in Keratinozyten zeigen eine durch externe Signale vermittelte De-Ubiquitinierung und Bindung von BCL-3 durch das Enzym CYLD im Zytosol und folglich verhinderte Translokation [113, 114]. Gefördert wird die Translokation nachweislich durch Stimulation von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren (GM-CSF, Erythropoetin), wie Analysen an Zellen der humanen Erythroleukämie-Zelllinie TF1 zeigen [115].

Weiterhin steht die Menge des zellulären BCL-3 unter Kontrolle durch eine auto-regulatorischen Rückkopplungsschleife mit NF- κ B1 sowie BCL-3 selbst [116]. Die Expression von BCL-3 wird zudem durch das Tumorsuppressorprotein p53 inhibiert [117].

Funktion Je nach Promoter, Zelltyp und Stimulus fördert oder hemmt BCL-3 die Transkription von NF- κ B gesteuerten Genen. Funktionell unterscheidet sich BCL-3 von den anderen Mitgliedern der I κ B Familie deutlich. [118]

BCL-3 fördert die Transkription durch multiple Mechanismen. Durch Bindung an die repressorischen p50 und p52 Homodimere, kann BCL-3 diese von der κ B-Bindungsstelle der DNA abspalten und eine anschließende Bindung vom Transkription-aktivierenden Heterodimer, bestehend aus p50/p52 sowie einem Rel-Protein, ermöglichen [119]. Mithilfe der Transaktivierungsdomänen an den N- und C-Termini kann BCL-3 einen ternären Komplex mit DNA gebundenen p50 und p52 Homodimeren formen und diese direkt aktivieren [120, 121].

Gegensätzlich dazu kann BCL-3 auch eine Repression der Transkription bewirken. In vitro Analysen zeigen eine durch BCL-3 vermittelte Inhibierung der Ubiquitylierung und dem darauf folgend fehlendem Abbaus repressorisch wirkender p50 Homodimere [122]. Zudem ist BCL-3 fähig, Corepressoren zu rekrutieren [123]. Durch NF- κ B unabhängige Mechanismen hat BCL-3 Einfluss auf die Metastasierung, Zellproliferation und Apoptose [124, 125, 126].

BCL-3 in malignen Tumoren Die durch die T14/19(q32;q13) Translokation resultierende Überexpression von BCL-3 findet sich sowohl in der chronisch lymphatischen Leukämie als auch in anderen Non-Hodgkin Lymphomen [127]. In Hodgkin-, einigen T-Zell- sowie in diffusen großzelligen B-Zell-Lymphomen finden sich zudem von der Translokation unabhängige BCL-3 Überexpressionen [128]. Abgesehen von den hämatologischen Neoplasien sind Veränderungen der BCL-3 Expression auch in soliden Tumoren wie dem Nasopharynxkarzinom [129], Endometriumkarzinom [130], kolorektales Karzinom [112] und Prostatakarzinom [131] zu finden.

Aktuelle Studien weisen auf eine mögliche Verwendung des BCL-3 als klinisch-prognostischen Marker im hepatozellulären, Zervix- und klarzelligen Nierenzellkar-

zinom hin. In diesen Karzinomen ist eine BCL-3 Überexpression mit klinisch-pathologischen Merkmalen und einer verminderten Überlebensprognose assoziiert [132, 133, 134].

BCL-3 im Mammakarzinom Die erstmalige Identifikation einer erhöhten BCL-3 Expression in soliden Tumoren erfolgte im Mammakarzinom [135, 136]. Brustkrebszellen mit einer BCL-3 Überexpression zeigen erhöhte Cyclin D1 Expressionen und daraus resultierende kürzere G1-Zellzyklus Phasen [137]. In vivo Analysen in HER2+ Mammakarzinom zeigen eine durch BCL-3 gesteigerte Transkription von mit Zellmotilität-assoziierten Genen und einer daraus resultierenden gesteigerten Metastasierung [125]. In vitro Analysen in HER2+ Zelllinien zeigen eine durch Knockdown des BCL-3 Gens verringerte Tumorzellmotilität von 61% [125]. Eine erhöhte Expression des BCL-3 ist mit einem geringeren metastasenfreien Überleben sowie vermehrten Aufkommen von Lungenmetastasen in Patientinnen mit Hormonrezeptor-positiven und -negativen Mammakarzinom assoziiert [138].

In vitro Analysen mit MCF-7 ER-positiven Zellen, die in einem Östradiol armen Medium kultiviert wurden, zeigten im Vergleich zur Kontrollgruppe eine Überexpression von BCL-3 [139].

Mesenchymale Stammzellen und Tumor-assoziierte Fibroblasten sind Bestandteile der Tumormikroumgebung. In MCF-7 Brustkrebszelllinien zeigte sich eine durch diese Zellen vermittelte geringere Expression von IGFBP-5 in den umgebenden Brustkrebszellen, was wiederum eine gesteigerte Stimulation der PI3K/Akt sowie JAK/STAT3 Signalwege zur Folge hat. Diese Signalwege steigern die Expression des BCL-3 und eine damit verbundene NF- κ B Aktivität und Genregulation. In vitro Analysen in mehreren Brustkrebszelllinien zeigten ein durch diesen Mechanismus vermittelt unabhängiges Tumorwachstum trotz Wachstum in einem Kulturmedium mit Fulvestrant [140].

Weiterhin zeigten in vitro Analysen mit MCF-7 Zelllinien in einem Kulturmedium mit Tamoxifen nach dem Knockdown von IGFBP-5 eine erhöhte Zellproliferation, welche sich durch exogen hinzugefügtes IGFBP-5 normalisierte [141].

In in vivo Analysen an Mäusen mit ausgeschalteten BCL-3-Gen wurde im Vergleich zu Wildtyp Mäusen eine erhöhte Neigung zur Bildung von Plattenepithelkar-

zinomen als Adenokarzinomen festgestellt. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass Plattenepithelkarzinome eine geringe Aktivität des NF- κ B Signalweges aufweisen, während Adenokarzinome hohe Mengen an nukleärem p52/RelB exprimieren. Aus diesen Beobachtungen wurde abgeleitet, dass BCL-3 sowie der NF- κ B Signalweg für das Zellüberleben und Tumorprogression im Adenokarzinom der Mamma von Bedeutung sind [142].

Zusammenfassend besteht gemäß der Literatur ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten BCL-3 Expression und einer verkürzten G1-Zellzyklusphase, einer gesteigerten Metastasierung und Zellwachstum von Brustkrebszellen.

2 Zielsetzung

Ungeachtet der vielen Vorteile, die der therapeutische Nutzen von Tamoxifen im Mammakarzinom bietet, zeigen eine Vielzahl von Patientinnen entweder vorab oder entwickeln im Verlauf der Therapie eine Resistenz gegenüber Tamoxifen. Die bereits identifizierten Faktoren, die zur Resistenzentwicklung beitragen, wurden im obigen Kapitel erläutert.

Die Identifikation von prädiktiven Markern für eine mögliche Resistenzentwicklungen gegenüber Tamoxifen sowie die fortschreitende Entwicklung von therapeutischen Alternativen sind daher von großer Bedeutung. Denn trotz des großen Nutzens ist eine Therapie mit Tamoxifen zudem mit schwerwiegenden Nebenwirkungen wie dem Endometriumkarzinom, einer signifikant erhöhten Thrombooserate und einer geringen Compliance assoziiert.

Ziel dieser Dissertation ist es die Verwendung von BCL-3 als Biomarker für eine Tamoxifen Resistenz im Mammakarzinom zu evaluieren. Hierbei wurden unter anderem folgende Fragestellungen thematisiert:

- Bestehen Zusammenhänge zwischen der Ausprägung von klinisch-pathologischen Faktoren in Brustkrebspatientinnen und der BCL-3 Expression?
- Wie wirkt sich die Expression von BCL-3 auf des Gesamt- und rezidivfreie Überleben in Brustkrebspatientinnen aus?
- Sind unterschiedliche Einflüsse der BCL-3 Expression in den verschiedenen Tumor Subtypen des Mammakarzinoms zu verzeichnen?
- Besteht eine Assoziation zwischen der BCL-3 Expression und einer Rezidiventwicklung in Brustkrebspatientinnen unter einer Therapie mit Tamoxifen?

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

Zwischen 1999 und 2009 erfolgte an der Klinik für Frauenheilkunde der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg (OVGU) die Rekrutierung des Patientenkollektivs [143]. Die histopathologischen Befunde der Patientinnen wurden dem Archiv des Instituts für Pathologie der OVGU entnommen. Die Follow-up und patientenbezogene Daten entnahmen wir den Akten der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe. Das letzte Follow-up erfolgte im März 2016.

Das Patientenkollektiv war bereits Teil vorheriger Studien, sodass nicht alle Paraffinblöcke genügend Material für die Erstellung von Schnittpräparaten vorwies. Insgesamt konnten 180 Proben in die Studie eingeschlossen werden. Die Proben resultierten aus Stanzbiopsien und Resektaten von Patientinnen mit einem primären Mammakarzinom unter der Voraussetzung einer nicht begonnenen neoadjuvanten Therapie. Zu jeder Probe erfolgte die Zuteilung eines histologischen Schlüssels sowie die Erfassung der Rezidivdaten und ggf. Sterbedaten im Verlauf. Bei Erstdiagnose erfolgte die Bestimmung des Datums, Hormonrezeptorstatus, Menopausenstatus, das Auftreten von Lokal- und Fernmetastasen, die TNM-Klassifikation und das Grading sowie weitere klinisch-pathologischen Faktoren.

Die Genehmigung dieser Studie erfolgte durch die Ethikkommission, Otto-von-Guericke Universität (Votum AKZ NR. 114/2013) [143].

3.2 Anfertigung der Schnittpräparate

Nachdem das formalinfixierte, Paraffin-eingebettete Gewebe auf Eis abgekühlt wurde, um eine optimale Schnittqualität zu gewährleisten, wurden 2 µm dicke Paraffinschnitte mit Hilfe eines Rotationsmikrotoms (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) angefertigt. Anschließend wurden die Schnitte in einem Streckbad (VEB Ilm Labor, Ilmenau, Deutschland) bei 39°C geglättet und auf einen Objektträger aus Glas (SuperFrost, Thermo Fisher Scientific Messtechnik GmbH, München, Deutschland) aufgezogen. Zur späteren Identifikation versahen wir die Objektträger mit individuellen Etiketten (Ventana Medical Systems, Tucson, Arizona, USA). Zur Sicherstellung der optimalen Haftung, vollständigen

Entwässerung und Verhinderung der Abhebung während des Einfärbeprozesses erfolgte die Lagerung in einem 60°C warmen Inkubator (BINDER GmbH, Tuttlingen, Deutschland) über Nacht.

3.3 Entparaffinierung

Die Entparaffinierung erfolgte durch dreimaliges Eintauchen der Objektträger in Xylol (Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe, Deutschland) für fünf Minuten. Danach wurden die Schnittpräparate nacheinander für jeweils 3 Minuten in einer absteigenden Alkoholreihe rehydriert, bestehend aus 100%igem, 96%igem und 75%igem Ethanol (MERCCK, Darmstadt, Deutschland). Anschließend wurden die Präparate dreimal mit destilliertem Wasser gespült.

3.4 Antigendemaskierung

Zur Wiederherstellung der Immunreaktivität des Gewebes erfolgte die Antigendemaskierung im Ventana BenchMark Ultra Automaten (Roche Diagnostics AG, Rotkreuz, Schweiz). Als Lösung und Programm wurde die Cell Conditioning 1 (CC1, Ventana Medical Systems, Tucson, Arizona, USA) genutzt. Dies ist ein Tris/Borat/EDTA-basierter Puffer mit einem basischem pH von 8,5. Bei Temperaturen von 95 °C bewirkt diese Lösung eine Renaturierung der Proteine und folglich eine verbesserte Bindung des Primärantikörpers an das Zielantigen im Gewebe.

3.5 Immunhistochemische Färbung

Für die folgende Antigendetektion wurde das ultraView Universal DAB Detektion (Roche Diagnostics AG, Rotkreuz, Schweiz) Reagenz und das dazugehörige Programm im Ventana Benchmark Ultra Automaten verwendet. Im ersten Schritt erfolgte eine vierminütige Inkubation im «UltraView Inhibitor», eine 3%ige Wasserstoffperoxid Lösung, um eine spätere Hintergrundfärbung zu verhindern. Anschließend erfolgte bei 36 °C für 30 Minuten die Applikation des Immunoglobulin Kaninchen BCL-3 Primärantikörpers (Abcam 125217, Cambridge, Großbritannien) in einer Verdünnung von 1:200 mit Antikörperverdünnungspuffer (Ventana-Antibody Dilution Buffer, Ventana Medical Systems, Tucson, Arizona, USA).

Als Nächstes erfolgte eine acht-minütige Inkubation im Sekundärantikörper ultra-View Multimer IG (Ventana Medical Systems, Tucson, Arizona, USA). Es handelt sich hierbei um einen Multimer bestehend aus Anti-Kaninchen IgG einer Ziege mit gebundener Meerrettichperoxidase. Im dritten Schritt werden die Präparate für 8 Minuten im ultraView DAB Chromogon (Ventana Medical Systems, Tucson, Arizona, USA) inkubiert und im vierten Schritt für 8 Minuten das Wasserstoffperoxid als Substrat appliziert. Im fünften und letzten Schritt inkubiert der Automat die Präparate vierminütig im UltraView Copper (Ventana Medical Systems, Tucson, Arizona, USA), eine Kupfersulfat-haltige Lösung, welches die Färbung zusätzlich verstärkt.

Im Anschluss erfolgte die Gegenfärbung mittels Hämatoxylin II nach Mayers/Gills Rezeptur und zur Bläuung das "Bluing-Reagent".

Zwischen den Schritten wurden die Schnittpräparate jeweils mit einem Reaktionspuffer gespült.

3.5.1 Positivkontrolle

Zur Positivkontrolle mit Prüfung der Funktion aller Reagenzien sowie der Festlegung des Färbeprozesses wurde die identische Präparation mit Tonsillengewebe durchgeführt. Die richtige Verwendung von Reagenzien, Verfahrensschritte, Fixierung und Gewebepräparation ist damit gewährleistet.

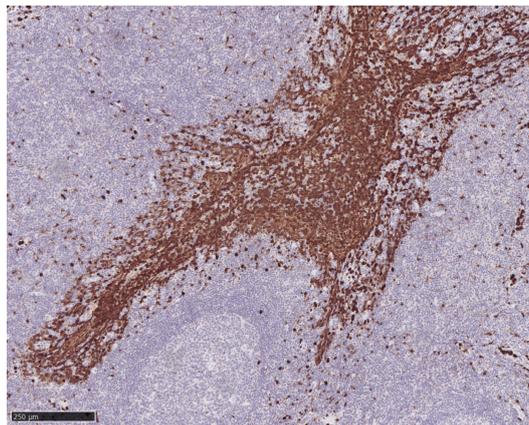


Abbildung 1: Positivkontrolle mit Tonsillengewebe
Maßstab 250µm

Für die Negativkontrolle wurden unter Weglassung des Primärantikörpers Negativ-

kontrollen auf Tonsillengewebe durchgeführt. Sie dient dem Nachweis der Spezifität unseres Detektionssystems sowie der Erkennung möglicher Hintergrundfärbungen.

3.6 Auswertung der immunhistochemischen Färbung

Zur Auswertung der Präparate diente ein Lichtmikroskop (Zeiss Axioplan, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Oberkochen, Deutschland). Ausgewertet wurden die Präparate durch PD. Dr.med. Piotr Czapiewski (ehm.: Oberarzt am Institut für Pathologie Magdeburg, akt.: Chefarzt am Institut für Pathologie, Klinikum Dessau) sowie PD Dr. rer. nat. habil. Norbert Naß (wiss. Mitarbeiter am Institut für Pathologie der OVGU; Forschungsleiter der Pathologie, Medizinische Hochschule Brandenburg). Nach Identifikation von mit Karzinom und DCIS befallenem Gewebe wurde jeweils eigens im Zytosol und im Nukleus die Intensität der Färbung sowie der Prozentsatz der positiven Tumorzellen in 10% Schritten bestimmt. Die Intensitätsskala betrug für keine Farbintensität 0, schwache 1, moderate 2 und schließlich 3 für eine starke Farbintensität. Anschließend erfolgte die Multiplikation der Farbintensität mit dem Prozentsatz der angefärbten Tumorzellen und abschließend die Division durch 10 zur Berechnung des Immunreaktiven Scores. Die separate Bestimmung des IRS für beide Lokalisationen erfolgte aufgrund von unterschiedlichen Ergebnissen für beide Lokalisationen in unserer Kohorte sowie der in der Literatur vorbeschriebenen unterschiedlichen Funktionen des BCL-3 in beiden Lokalisationen.

Die folgende Abbildung zeigt eine repräsentative Darstellung der immunhistochemischen Färbungen die angefertigt wurden. Die Abbildung wurde aus der zugrunde liegenden Publikation entnommen. [144]

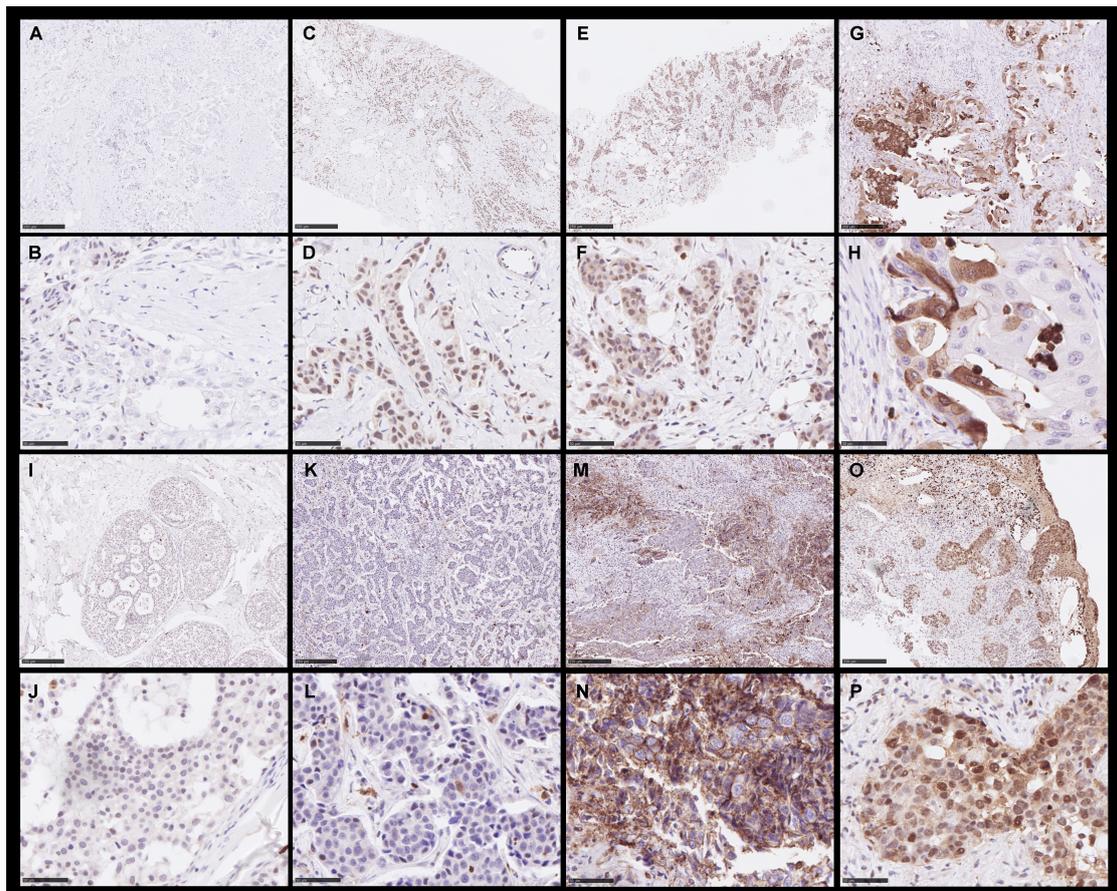


Abbildung 2: Immunhistochemische Färbung
[144]

Die Skalenbalken geben jeweils 50 oder 250 μm an. A, C, E, G, I, K, M und O zeigen eine niedrige Vergrößerung. Abbildungen B, D, F, H, J, L, N und P zeigen eine hohe Vergrößerung. Angegeben ist die Färbungsintensität (I) und der Prozentsatz der positiven Tumorzellen(%); Abbildung I und J zeigen kribriformes DCIS:

A, B: Zyt. 0, 0 Nukl. 1, 3 (I, %)

E, F: Zyt. 2, 90 Nukl. 3, 80 (I, %)

C, D: Zyt. 1, 90 Nukl. 3, 95 (I, %)

G, H: Zyt. 3, 40 Nukl. 0, 0 (I, %)

I, J: Zyt. 0, 0 Nukl. 1, 15 (I, %)

G, H: Zyt. 3, 40 Nukl. 0, 0 (I, %)

K, L: Zyt. 1, 40 Nukl. 1, 3 (I, %)

O, P: Zyt. 3, 100 Nukl. 3, 70 (I, %)

3.7 Statistik

Zur statistischen Auswertung diente das Programm IBM SPSS Statistics Version 26 (IBM SPSS Statistics, Armonk, USA). Als signifikant wurden gemäß den geltenden Standards Analysen mit einer maximalen Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ angenommen. $p < 0,1$ wurde als statistischer Trend gewertet.

Mithilfe der Kaplan-Meier Methodik und dem Log-Rank-Test wurde zunächst ein geeigneter Cut-off Wert, der zwischen einem hohem und niedrigem Immunreaktiven Score des BCL-3 im Zytosol und Nukleus unterscheidet, durch Optimierung des Log-Rank p-Wertes, im Hinblick auf das rezidivfreie Überleben und Gesamtüberleben bestimmt. Anschließend erfolgte die Bestimmung des mittleren rezidivfreien Überlebens sowie Gesamtüberlebens und die Fünfjahresüberlebensraten. Es folgten vergleichende Überlebensanalysen in Subgruppen unterteilt nach klinischen-pathologischen Ausprägungen unter Anwendung des BCL-3 Cut-off Wertes sowohl für das rezidivfreie als auch für das Gesamtüberleben.

Es folgten statistische Auswertungen der mittleren BCL-3 Expression für das DCIS sowie für das Invasive Karzinom. Zunächst wurde das arithmetische Mittel für beide Tumoren in beiden Lokalisationen untersucht. Anschließend wurde der IRS in den Fällen mit beiden Tumorentitäten mit Hilfe des Wilcoxon Rangsummentest auf signifikante Unterschiede untersucht. Im Anschluss erfolgte eine Analyse nach Spearman, um die Immunreaktiven Scores aller Fälle beider Tumorentitäten auf eine Korrelation zu untersuchen.

Eine Abhängigkeit der zytosolischen von der nuklearen BCL-3 Expression oder umgekehrt wurde mithilfe der Rangkorrelationsanalyse nach Spearman untersucht. Die Kohorte wurde auf Ausprägungen gängiger klinischer-pathologischer Faktoren sowie einem Rezidiv unter Tamoxifen untersucht. Anschließend wurde eine Korrelation zur zytosolischen und nuklearen BCL-3 Expression mithilfe des Exakten Test nach Fischer geprüft.

Mit der univariablen Cox Regression wurden klinische Faktoren sowie eine erhöhte Expression des BCL-3 im Hinblick auf das rezidivfreie und das Gesamtüberleben sowohl in der Gesamtkohorte als auch separat für die mit Tamoxifen therapierten Patientinnen untersucht. Signifikante Faktoren wurden daraufhin in der multivariablen Cox-Regression auf eine Unabhängigkeit geprüft.

4 Ergebnisse

4.1 Festlegung eines geeigneten Cut-off Wertes für die BCL-3 Expression

Unter Verwendung des BCL-3 IRS wurde mit Hilfe des Kaplan-Meier-Verfahrens ein geeigneter Cut-off, der zwischen einem hohen und niedrigen IRS des BCL-3 sowohl im Zytosol als auch im Nukleus unterscheidet, im Hinblick auf das rezidivfreie Überleben in der Gesamtkohorte ermittelt. Dabei erwies sich sowohl für den Nukleus mit Log-rank $p = 0,002$ und Zytosol mit Log-rank $p = 0,016$ ein Wert von acht als optimal. Die Ergebnisse sind in der Abbildung 3 dargestellt.

Dieselbe Methodik wurde auch für die Bestimmung eines möglichen Cut-off Wertes für das Gesamtüberleben angewandt. Dabei konnte kein signifikanter Cut-off Wert für beide Lokalisationen festgestellt werden. Es wurde ebenfalls ein Cut-off-Wert von 8 festgelegt.

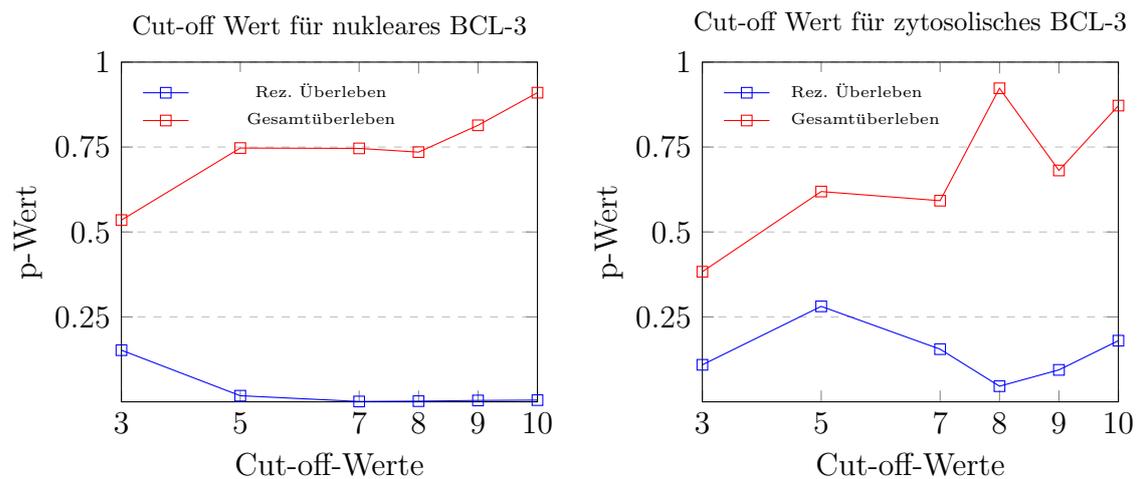


Abbildung 3: Festlegung eines geeigneten Cut-off Wertes für die BCL-3 Expression

4.2 Das Patientenkollektiv im Hinblick auf klinisch-pathologischen Daten sowie einer Korrelation mit BCL-3

Wie im Kapitel 3.1 erwähnt, war die Kohorte bereits Teil von früheren Studien. Im Rahmen dieser Studien konnten die Ausprägungen gängiger klinischer und pathologischer Marker erfasst werden [143].

Die Ausprägung dieser Marker sowie deren Korrelation mit der BCL-3 Expression wurde für die beiden Lokalisationen mittels Exakten Test nach Fisher in der vorliegenden Kohorte untersucht.

Für zytosolisches BCL-3 zeigte sich ein schwach signifikanter Negativtrend für eine Korrelation mit dem Östrogenrezeptor Status ($p = 0,063$). Ein schwach signifikanter positiver Trend zeigte sich für Tumoren des fortgeschrittenem Wachstums mit $T > 2$ ($p = 0,059$). Eine signifikant positive Korrelation mit zytosolischem BCL-3 zeigte sich bei Tumoren mit positivem Ki-67 Wert ($p < 0,001$) sowie bei positivem GPER1/GPR30 Status ($p < 0,001$). Eine signifikant negative Korrelation lag zwischen einer hohen zytosolischen BCL-3 Expression und dem Advanced Glycation Endproduct N(6)-Carboxymethyllysine vor.

Ebenfalls ließ sich eine starke Korrelation zwischen einer hohen zytosolischen BCL-3 Expression und einem Rezidiv unter Tamoxifen Therapie ($p < 0,001$; beschränkt auf Patientinnen mit positiven ER-Status) mithilfe des Exakten Test nach Fisher nachweisen. Von den insgesamt 25 Patientinnen mit einem Rezidiv unter Tamoxifen Therapie, zeigten 12 Patientinnen (48%) eine hohe zytosolische BCL-3 Expression. Gegenätzlich dazu zeigten lediglich 6 der insgesamt 55 Patientinnen (10,9%) ohne Rezidiv unter Tamoxifen Therapie eine hohe zytosolische BCL-3 Expression. Gleiches galt für die nukleare Expression. 12 der insgesamt 25 Patientinnen (48%) mit einem Rezidiv unter Tamoxifen im Therapieverlauf zeigten ein erhöhtes nukleares BCL-3, wohingegen nur 6 der 55 Patientinnen (10,9%) ohne Tamoxifen Rezidiv ein erhöhtes nukleares BCL-3 vorwiesen. Mit $p < 0,001$ war ebenfalls eine starke Signifikanz gegeben. Eine Korrelation zwischen einer erhöhten nuklearen BCL-3 Expression und weiteren Parametern ließ sich in der untersuchten Kohorte nicht feststellen. Einen Überblick bietet die folgende Tabelle.

Tabelle 1: Korrelation gängiger klinisch-pathologischer
Marker und BCL-3 im Patientenkollektiv

Tumor Typ	NR.	BCL-3 IRSzyt $\leq 8 / >8$ (%hoch)	Signif.	NR.	BCL.3 IRSnuk $\leq 8 / >8$ (%hoch)	Signif.
Alle	180	123/57(31,7%)		180	139/41(22,8%)	
Menopause			0,839			0,657
-Prämenopausal	35	24/11(31,4%)		35	28/7(20%)	
-Postmenopausal	127	89/38(29,9%)		127	95/32(25,2%)	
Östrogenrezeptor			0,063			0,826
-negativ	35	20/15(42,9%)		35	26/9(25,7%)	
-positiv	126	93/33(26,2%)		126	96/30(23,8%)	
Progesteronrezeptor			0,487			0,459
-negativ	69	46/23(24%)		69	50/19(27,5%)	
-positiv	92	67/25(27,2%)		92	72/20(21,7%)	
HER2/Neu Status			0,836			0,181
-negativ	123	88/35(28,5%)		123	97/26(21,1%)	
-positiv	36	25/11(30,6%)		36	24/12(33,3%)	
TNBC			1,0			0,599
-Nein	137	97/40(29,2%)		137	103/34(24,8%)	
-Ja	22	16/6(27,3%)		22	18/4(18,2%)	
Lymphknoten Status			0,285			0,191
-negativ	95	64/31(32,6%)		95	68/27(28,4%)	
-positiv	64	49/15(23,4%)		64	52/12(18,8%)	

Tabelle 1: Korrelation gängiger klinisch-pathologischer
Marker und BCL-3 im Patientenkollektiv

Tumor Typ	NR.	BCL-3 IRSzyt $\leq 8 / >8$ (%hoch)	Signif.	NR.	BCL.3 IRSnuk $\leq 8 / >8$ (%hoch)	Signif.
Grading			0,257			0,190
-1	19	13/6(31,6%)		19	16/3(15,8%)	
-2	92	69/23(25%)		92	71/21(22,8%)	
-3	50	31/19(38,0%)		50	35/15(30%)	
Histologie			0,244			0,847
-Duktal Invasiv	129	91/38(29,5%)		129	98/31(24,0%)	
-Lobulär Invasiv	23	19/4(17,4%)		23	18/5(21,7%)	
-Andere	6	3/3(50%)		6	4/2(33,3%)	
T>2			0,059			0,462
-Nein	76	59/17(22,4%)		76	60/16(21,1%)	
-Ja	85	54/31(36,5%)		85	62/23(27,1%)	
Chemotherapie			0,604			0,712
-Nein	79	54/25(31,7%)		79	59/20(20,6%)	
-Ja	81	59/22(27,2%)		81	63/18(22,2%)	
Radiotherapie			0,586			0,432
-Nein	52	35/17(32,7%)		52	37/15(28,8%)	
-Ja	109	78/31(28,4%)		109	85/24(22,0%)	

Tabelle 1: Korrelation gängiger klinisch-pathologischer Marker und BCL-3 im Patientenkollektiv

Tumor Typ	NR.	BCL-3 IRSzyt $\leq 8 / >8$ (%hoch)	Signif.	NR.	BCL.3 IRSnuk $\leq 8 / >8$ (%hoch)	Signif.
Endokrine Therapie			0,438			0,841
-keine	29	18/11(37,9%)		29	23/6(20,7%)	
-Tamoxifen	86	64/22(25,6%)		86	65/21(24,4%)	
-Aromatase Inhibitor	45	31/14(31,1%)		45	33/12(26,7%)	
Tamoxifen Rezidiv*			<0,001			<0,001
-Nein	55	49/6(10,9%)		55	49/6(10,9%)	
-Ja	25	13/12(48,0%)		25	13/12/(48,0%)	
Ki-67			<0,001			0,187
0-1	102	80/22(21,6%)		102	82/20(19,6%)	
2-3	64	34/30(46,9%)		64	45/19(29,7%)	
GPR30>2			<0,001			0,123
-Nein	69	59/10(14,5%)		70	59/11(15,7%)	
-Ja	90	56/32(37,8%)		90	66/24(26,4%)	
CML >6			<0,001			0,129
-Nein	41	15/26(63,4%)		42	29/13(31%)	
-Ja	116	92/24(20,7%)		117	95/22(28,8%)	

*beschränkt auf ER-positive Fälle; Signifikanz ermittelt durch 2-seitiger exakter Fisher-Test

4.3 BCL-3 im DCIS und invasiven Karzinom

In allen 180 Fällen erfolgte die Bestimmung des IRS des BCL-3 sowohl im Nukleus als auch im Zytosol im invasiven Mammakarzinom. In 14 (7,7%) Fällen konnte zudem ein duktales Karzinom in situ (DCIS) nachgewiesen und auf die Expression von BCL-3 untersucht werden. 9 Präparate (5%) wiesen sowohl ein invasives Karzinom als auch duktales Karzinom in situ auf.

Für die invasiven Karzinome ergab sich für den immunreaktiven Score der BCL-3 Expression im Nukleus ein Mittelwert von 5,28 (SD \pm 7,5). Im duktalem Karzinom in situ belief sich der Mittelwert im Nukleus auf 6,27 (SD \pm 8,23).

Kleine Unterschiede ergaben sich für die zytosolische Expression. Der IRS im invasiven Karzinom betrug im Mittel 6,72 (SD \pm 7,25) verglichen mit 4,2 (SD \pm 4,38) im duktalem Karzinom in situ.

Parameter	Invasives CA BCL-3 Nukl.	Dukt. CA in situ BCL-3 Nukl.	Invasives CA BCL-3 Zytosol	Dukt. CA in situ BCL-3 Zytosol
Mittelwert	5,46	6,27	6,72	4,2
Fallzahlen	180	14	180	14
SD	7,66	8,23	7,25	4,38

Tabelle 2: Vergleich der Mittelwerte der BCL-3 Expression im invasiven Karzinom und duktalem Karzinom in situ

Der Wilcoxon-Rangsummentest wurde durchgeführt, um festzustellen, ob signifikante Unterschiede im Immunreaktiven Score zwischen den neun Proben mit beiden Tumorentitäten bestehen. Hier konnte in beiden Lokalisationen kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3 dargestellt.

Parameter	Fälle	A. Sign.(2-seitig)	Z
Invasives CA BCL-3 im Zytosol vs. Duktales CA in Situ BCL-3 im Zytosol	9	0,72	-0,365
Invasives CA BCL-3 im Nukleus vs. Duktales CA in Situ BCL-3 im Nukleus	9	0,21	-1,26

Tabelle 3: Wilcoxon Rangsummentest - die BCL-3 Expression im invasiven Karzinom und duktalem Karzinom in situ

Um eine Korrelation des Immunreaktiven Scores zwischen allen Fällen beider Tu-

morentitäten zu untersuchen, erfolgte die Korrelationsanalyse nach Spearman. Hierbei bestätigte sich eine signifikant positive Korrelation der BCL-3 Expression zwischen dem duktalem Karzinom in situ und invasiven Karzinom sowohl für die nukleare Expression ($\rho = 0,85$; $p = 0,004$) als auch für die zytosolische Expression ($\rho = 0,76$; $p = 0,017$).

Parameter	BCL-3 im Nuk. Inv. CA vs. Dukt. CA in situ	BCL-3 im Zyt. Inv. CA vs. Dukt. CA in situ
Sig.(2-seitig)	0,004	0,017
Spearman's rho	0,85	0,76

Tabelle 4: Korrelationsanalyse nach Spearman - die BCL-3 Expression im invasiven Karzinom und duktalem Karzinom in situ

4.4 Die BCL-3 Expression im Nukleus und Zytosol

In 31,7% der untersuchten Proben konnte eine hohe zytosolische BCL-3 Expression ($\text{IRS} > 8$) und in 22,8% eine hohe nukleare Expression ($\text{IRS} > 8$) festgestellt werden. Eine schwache positive wenn auch signifikante Korrelation zwischen der Expression in beiden Lokalisationen wurde festgestellt, wie durch den Spearman-Korrelationskoeffizienten belegt wird (Spearman's $\rho = 0,24$; $p < 0,01$). Nur 13,8% der Fälle mit einer geringen zytosolischen Expression zeigten eine hohe nukleare BCL-3 Expression, wohingegen 42,1% mit hoher zytosolischer Expression auch eine hohe nukleare Expression vorwiesen (Exakter Test nach Fisher $p < 0,001$).

4.5 Auswirkungen der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie und Gesamtüberleben

Patientinnen mit einem Mammakarzinom und einer erhöhten nuklearen BCL-3 Expression ($\text{IRS} > 8$) zeigten im Mittel eine signifikant kürzere rezidivfreie Überlebenszeit von 59,0 Monaten ($\text{SD} \pm 7,2$) im Vergleich zu Patientinnen mit einer nuklearen BCL-3-Expression $\text{IRS} \leq 8$, bei denen die durchschnittliche rezidivfreie Überlebenszeit 118,65 Monate ($\text{SD} \pm 6,0$) betrug. Patientinnen mit erhöhtem zytosolischen BCL-3 ($\text{IRS} > 8$) zeigten ein mittleres rezidivfreies Überleben von 70,7 ($\text{SD} \pm 7,3$) Monaten und damit signifikant kürzer als

Patientinnen mit einem zytosolischen ($IRS \leq 8$) mit 118,65 (SD \pm 6,0) Monaten. Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung 4 dargestellt.

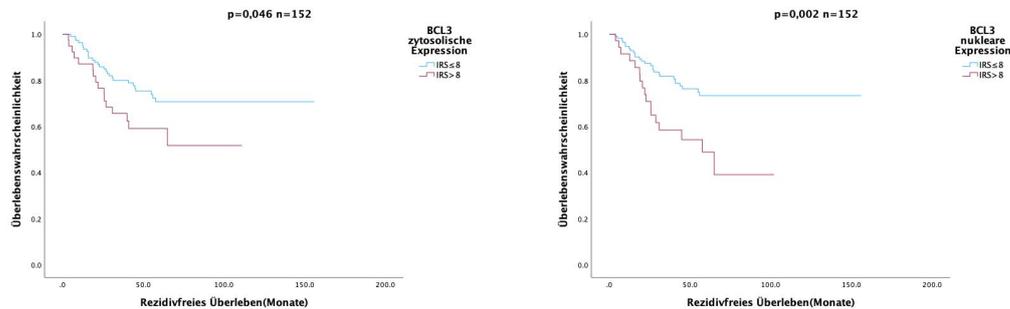


Abbildung 4: Einfluss der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben (Kaplan Meier Methodik - p = log rank p-Wert)

Noch signifikanter war der Einfluss auf das rezidivfreie Überleben bei Patientinnen mit einer erhöhten BCL-3 Expression ($IRS > 8$) in beiden Lokalisationen (Nukleus und Zytosol). Solche Patientinnen mit einem BCL-3 ($IRS > 8$) zeigten mit einem durchschnittlichen Überleben von 43,9 (SD \pm 5,82) Monaten ein signifikant kürzeres Überleben (log rank p = 0,009) als Patientinnen mit einem BCL-3 ($IRS \leq 8$) mit 123,5 (SD \pm 6,2) Monaten.

Nicht signifikant war der Einfluss der BCL-3 Expression auf das Gesamtüberleben, wie in Abbildung 5 dargestellt.

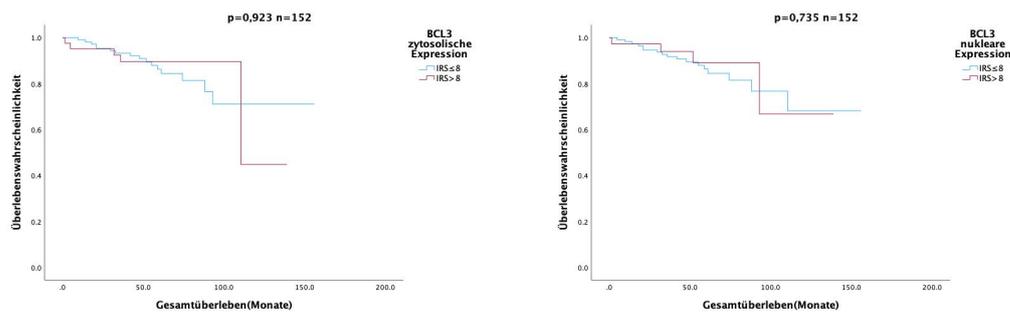


Abbildung 5: Einfluss der BCL-3 Expression auf das Gesamtüberleben (Kaplan Meier Methodik - p = log rank p-Wert)

Im Vergleich zu Patientinnen mit einer geringen zytosolischen BCL-3 Expression

(IRS ≤ 8) und mittleren Gesamtüberleben von 128,6 (SD $\pm 6,5$) Monaten, überlebten Patientinnen mit einer erhöhten BCL-3 Expression im Zytoplasma (IRS > 8) im Durchschnitt lediglich 113,8 (SD $\pm 10,4$) Monate. Im Hinblick auf die nukleare BCL-3 Expression ergab sich ebenfalls ein geringfügig nicht signifikanter Unterschied mit einem mittleren Überleben von 127,9 (SD $\pm 6,4$) Monaten bei geringer nuklearer Expression (IRS ≤ 8) und 117,2 (SD $\pm 10,5$) Monaten bei hoher Expression (IRS > 8).

Im Anschluss erfolgte die Überlebensanalyse in der Subgruppe der mit Tamoxifen behandelten Patientinnen. Insgesamt wurden 86 Patientinnen mit Tamoxifen behandelt und auf die Expression von BCL-3 untersucht. In der Überlebensanalyse konnten 84 Patientinnen untersucht werden. Es zeigte sich ein stark signifikant (log rank $p < 0,001$) verkürztes rezidivfreies Überleben für Patientinnen mit hoher zytoplasmischer BCL-3 Expression (IRS > 8) mit 38,1 (SD $\pm 7,4$) Monaten, verglichen mit Patientinnen mit geringer Expression (IRS ≤ 8) und einem mittleren rezidivfreien Überleben von 121,3 (SD $\pm 7,5$) Monaten. Ähnliches gilt für die nukleare Expression mit 35,5 (SD $\pm 6,1$) Monaten bei BCL-3 IRS > 8 und 119 (SD $\pm 7,5$) Monaten bei nuklearem BCL-3 IRS ≤ 8 (siehe Abbildung 6).

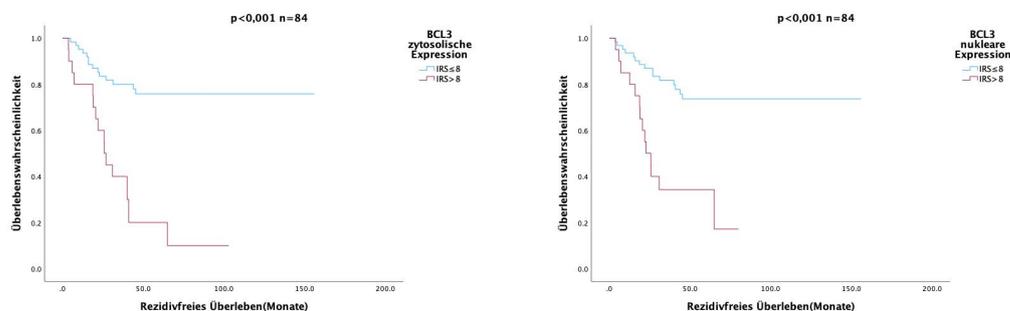


Abbildung 6: Einfluss der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben in der Subgruppe der mit Tamoxifen behandelten Patientinnen
(Kaplan Meier Methodik - $p = \text{log rank } p\text{-Wert}$)

Weiterhin erfolgte die Überlebensanalyse in der Subgruppe der mit Aromatase-Inhibitoren behandelten Patientinnen. Insgesamt wurden in der untersuchten Kohorte 43 Patientinnen mit Aromatase-Inhibitoren behandelt. Anders als bei

Tamoxifen, zeigte sich für beide Lokalisationen des BCL-3 kein signifikanter Einfluss auf das rezidivfreie Überleben, wie in Abbildung 7 dargestellt.

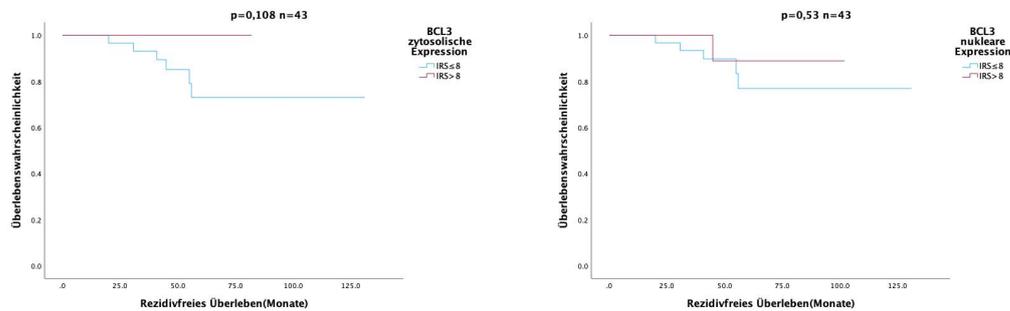


Abbildung 7: Einfluss der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben in der Subgruppe der mit Aromatase behandelten Patientinnen
(Kaplan Meier Methodik - $p = \log \text{rank } p\text{-Wert}$)

4.6 Auswirkungen der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben geschichtet nach Subgruppen mit Ausprägungen klinisch pathologischer Faktoren

Mithilfe der Kaplan-Meier-Methode konnte die Auswirkung einer hohen BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben in einzelnen Subgruppen untersucht werden.

Eine erhöhte Expression von zytosolischem BCL-3 wirkt sich unter anderem in den folgenden Gruppen im Hinblick auf das rezidivfreie Überleben signifikant einschränkend aus: Patientinnen mit einem Grading von 2, positivem Östrogenrezeptor und Progesteronrezeptorstatus, negativem HER2/neu Status sowie in Patientinnen unter einer Behandlung mit Tamoxifen. Eine hohe nukleare BCL-3 Expression bewirkt ein signifikant reduziertes rezidivfreies Überleben in Patientinnen mit einem Grading von 2, positivem Progesteronrezeptor Status, negativem HER2 Status, eine Therapie mit Tamoxifen, hohem GPER1 und eingetretener Menopause. Die Auswirkung der BCL-3 Expression im duktalem und lobulärem Mammakarzinom werden gesondert in Kapitel 4.7 dargestellt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 5 dargestellt. Die Fallzahlen sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 5: Durchschnittliches rezidivfreies Überleben für klinisch-pathologische Subgruppen im Hinblick auf die BCL-3 Expression (Kaplan Meier Methodik)

	BCL3 im Zytoplasma				BCL3 im Nukleus			
	>8	Überlebens -zeit	SD	p	>8	Überlebens -zeit	SD	p
Alle Fälle	low	118,6	6,0	0,046	low	121,6	5,8	0,002
	high	70,7	7,7		high	59,0	7,2	
Prämenopausal	low	112,6	12,7	0,533	low	115,5	11,8	0,196
	high	68,8	15,1		high	50,6	12,5	
Postmenopausal	low	118,8	6,8	0,057	low	122,0	6,5	0,006
	high	70,0	8,6		high	58,6	8,0	
Duktal	low	117,5	6,83	0,353	low	121,4	6,4	0,041
	high	77,3	8,13		high	64,1	8	
Lobulär	low	115,8	12,8	<0,001	low	119,6	12,9	0,003
	high	15,5	4,2		high	24,9	8,5	
Andere	low	n.a.		0,564	low	n.a.		0,317
	high	n.a.			low	n.a.		
T<2	low	128,6	7,4	0,677	low	132,8	7,1	0,087
	high	82,8	10,2		high	72,0	10,8	
T>2	low	91,8	7,6	0,112	low	94,2	7,1	0,025
	high	62,4	9,4		high	44,2	6,2	
N0	low	128,1	7,2	0,207	low	133,3	6,6	0,006
	high	77,9	9,6		high	54,4	6,1	
N1	low	92	7,8	0,146	low	93,7	7,6	0,046
	high	47,3	9,0		high	49,5	12,3	
G1	low	113,5	7,2	0,536	low	n.a.		0,552
	high	57,3	5,0		high	n.a.		
G2	low	121,7	7,4	0,009	low	126,5	7,3	<0,001
	high	55,6	10,6		high	51,1	9,1	
G3	low	82,9	10,3	0,975	low	86,02	9,4	0,665

Tabelle 5: Durchschnittliches rezidivfreies Überleben für klinisch-pathologische Subgruppen im Hinblick auf die BCL-3 Expression (Kaplan Meier Methodik)

	BCL3 im Zytoplasma				BCL3 im Nukleus			
	>8	Überlebens -zeit	SD	p	>8	Überlebens -zeit	SD	p
ER-neg.	high	73,4	11,6	0,454	high	47,8	7,2	0,376
	low	78,8	12,7		low	90,8	11,3	
ER-pos.	high	84,8	13,0	0,005	high	42,4	7,6	0,004
	low	123,8	6,3		low	123,8	6,3	
PgR-neg.	high	60,5	8,4	0,74	high	60,4	8,2	0,108
	low	93,5	8,2		low	98,4	7,6	
PgR-pos.	high	75,7	10,3	0,017	high	55,8	10,3	0,007
	low	124,6	7,4		low	125,2	7,3	
HER2-neg.	high	64,5	9,6	0,019	high	50,1	7,4	0,002
	low	125,3	6,4		low	126,8	6,1	
HER2-pos.	high	72,1	8,9	0,683	high	61,8	8,6	0,361
	low	74,9	10,3		low	82,6	10,2	
kein TNBC	high	57,0	9,0	0,024	high	45,0	7,8	0,003
	low	122,4	6,3		low	123,8	6,0	
TNBC	high	66,2	7,2	0,357	high	61,0	7,7	0,280
	low	n.a.			low	92,6	14,3	
k. Strahlentherapie	high	n.a.		0,107	high	43,3	14,5	0,133
	low	108,7	7,5		low	108,6	7,6	
Strahlentherapie	high	67,5	12,3	0,18	high	56,0	8,7	0,008
	low	114,2	7,7		low	118,6	7,2	
Ki-67 < 2	high	69,1	9,4	0,012	high	55,8	8,7	<0,001
	low	129,9	6,3		low	133,5	5,9	
Ki-67 ≥ 2	high	59,6	10,6	0,747	high	49,5	6,9	0,919
	low	70,2	10,6		low	75,5	9,8	
k. Chemotherapie	high	70,6	11		high	59,8	11,1	
	low	133,1	6,1	0,019	low	131,5	6,2	0,03

Tabelle 5: Durchschnittliches rezidivfreies Überleben für klinisch-pathologische Subgruppen im Hinblick auf die BCL-3 Expression (Kaplan Meier Methodik)

	BCL3 im Zytoplasma				BCL3 im Nukleus			
	>8	Überlebens -zeit	SD	p	>8	Überlebens -zeit	SD	p
Chemotherapie	high	72,9	9,3	0,379	high	58,0	7,6	0,028
	low	101,7	8,9		low	107,6	8,7	
k. endo. Therapie	high	64,4	10,7	0,171	high	48,9	8,6	0,861
	low	72,6	13,5		low	85,3	12,5	
Tamoxifen Therapie	high	96,56	13,37	<0,001	high	48,1	11,1	<0,001
	low	123,6	7,6		low	121,4	7,7	
Tamoxifen Therapie*	high	35,4	7,3	<0,001	high	36,7	6,3	<0,001
	low	124,9	7,6		low	124,7	7,6	
Aromatase Inhibitor	high	37,4	8,0	0,108	high	36,2	6,9	0,53
	low	n.a.			low	111,0	8,1	
Aromatase Inhibitor*	high	n.a.		0,122	high	95,7	6,0	0,463
	low	n.a.			low	108,8	9,0	
	high	n.a.			high	95,7	6,0	

*nur ER-positive Fälle; n.a. Zensur bedingt keine Angabe für das durchschnittliche Überleben; p = log rank p-Wert; SD = Standardabweichung Kaplan-Meier Methode.

4.7 Auswirkung der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben in Abhängigkeit der Pathohistologie

In der untersuchten Kohorte konnte in 129 Fällen ein invasives duktales Karzinom sowie in 23 Fällen ein invasives lobuläres Karzinom diagnostiziert werden. In den beiden histologischen Entitäten konnten unterschiedliche Einflüsse der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben beobachtet werden.

Patientinnen mit einem invasiven duktalem Mammakarzinom zeigten ein signifikant geringeres rezidivfreies Überleben lediglich bei einer erhöhten nuklearen BCL-3 Expression (IRS > 8), wohingegen Patientinnen mit einem invasiv lobulären Mamma-

karzinom sowohl bei erhöhter nuklearer als auch zytosolischer BCL-3 Expression ein signifikant verkürztes rezidivfreies Überleben vorwies. Die Bestimmung erfolgte mittels der Kaplan-Meier Methodik. Die Kaplan-Meier-Kurven sind in Abbildungen 8 und 9 zu sehen, die Ergebnisse sind in Tabelle 6 aufgeführt.

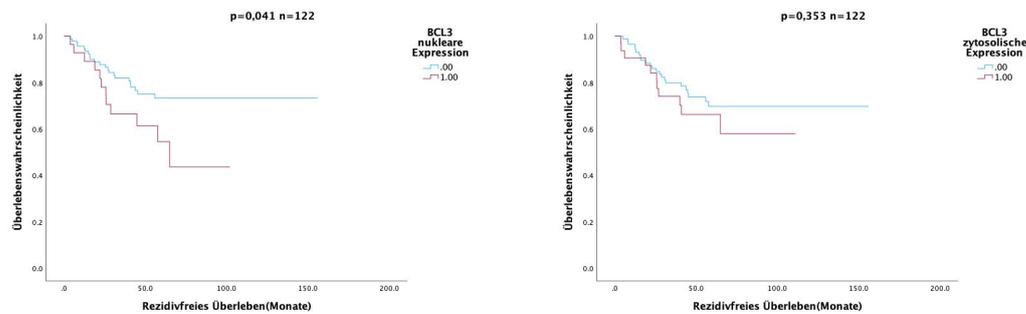


Abbildung 8: Einfluss der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben im duktalem Karzinom

(Kaplan Meier Methodik - p = log rank p-Wert)

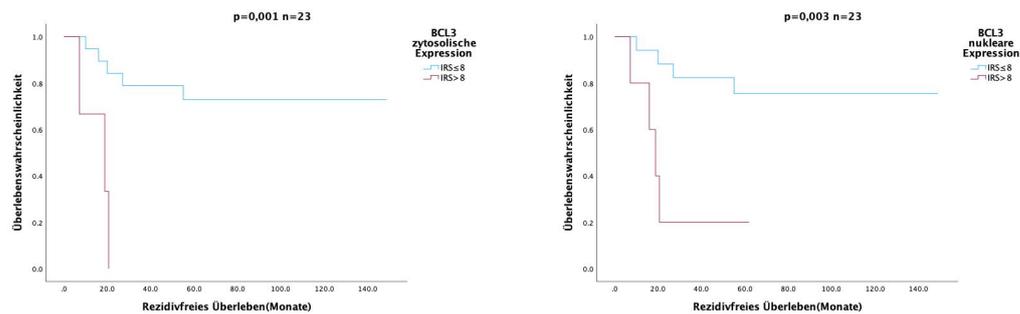


Abbildung 9: Einfluss der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben im lobulären Karzinom

(Kaplan Meier Methodik - p = log rank p-Wert)

Lokalisation-Pathohistologie	mittl.Überleben	mittl.Überleben	P
	BCL-3 > 8	BCL-3 < 8	
Zyt. - Inv. Lob. CA	15,5 Monate	115,8 Monate	<0,001
Nuk. - Inv. Lob. CA	24,9 Monate	119,6 Monate	0,003
Zyt. - Inv. Duk. CA	77,3 Monate	117,5 Monate	0,353
Nuk. - Inv. Duk. CA	64,1 Monate	121,4 Monate	0,04

mittl.Überleben=mittleres-Überleben,p = log-Rank p-Wert,Zyt.=Zytosol,Nuk.=Nukleus,Inv.=Invasiv Lob.=Lobulär,Duk.=Duktal

Tabelle 6: Mittleres rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit der Pathohistologie

4.8 Prognostische Relevanz des BCL-3 und weiterer klinisch pathologischer Parameter in der untersuchten Kohorte

Um eine mögliche prognostische Relevanz der BCL-3 Expression für das Gesamt- und rezidivfreie Überleben in der Kohorte zu untersuchen, erfolgte zunächst eine univariable Cox-Regression. Bereits etablierte klinische Parameter wurden ebenfalls in der Kohorte untersucht. Solche Faktoren die sich dabei als signifikant erwiesen, wurden in einer anschließenden multivariablen Cox Regression auf Ihre Unabhängigkeit bzw. Abhängigkeit zu weiteren Parametern geprüft.

4.8.1 Univariable Analyse

Die univariable Cox Regression bietet einen Nachweis für den Einfluss einzelner Parameter auf das Gesamt- und rezidivfreie Überleben. Das Hazard-Verhältnis (Hazard Ratio/HR) ist ein Quotient, der aus dem Vergleich zweier Ausfallraten gebildet wird und das Risiko einer Hazardrate zur anderen abbildet. Faktoren mit einem positiven B-Wert sind mit einem erhöhten Risiko und verkürztem Überleben assoziiert, wohingegen Faktoren mit negativem B-Wert ein geringeres Risiko und verlängertes Überleben vermitteln. [145]

Rezidivfreie Überleben In der untersuchten Kohorte zeigt sich ein statistischer Trend mit protektivem Einfluss und damit ein verlängertes rezidivfreies Überleben bei positivem ER-Status (B-Wert = -0,424; HR = 0,654; p = 0,098).

Weiterhin signifikant protektiv wirkt sich ein positiver PgR-Status aus (B-Wert = -0,456; HR = 0,634; p = 0,046). Wohingegen der Befall von Lymphknoten (B-Wert = 0,61; HR = 1,841; p = 0,008) sowie ein positiver HER2/neu Status (B-Wert = 0,531; HR = 1,7; p = 0,036) mit einem verkürzten rezidivfreien Überleben bei ausgeprägtem Hazard Ratio assoziiert sind.

Bei Betrachtung der BCL-3 Expression konnte für beide Lokalisationen ein signifikant verkürzender Einfluss auf das rezidivfreie Überleben bei hoher Expression festgestellt werden. Für die Expression im Nukleus zeigt sich ein B-Wert von 0,91, bei einem HR = 2,483 und p = 0,003. Im Zytosol ebenfalls ein positiver B-Wert von 0,617 bei einem HR = 1,853 und p = 0,049.

Beschränkt man die Untersuchung lediglich auf Fälle mit positiven ER-Status sowie einer Tamoxifen Therapie, so werden die Ergebnisse hoch signifikant. Für eine erhöhte Expression des BCL-3 im Nukleus ergibt sich ein Hazard Ratio von HR = 5,379 bei einem B-Wert von B = 1,68. Gleiches gilt für die zytosolische BCL-3 Expression mit einem Hazard ratio von HR = 5,095 sowie B-Wert = 1,628. Einen Überblick der Ergebnisse bietet die Tabelle 7.

Parameter	Hazard Ratio	B Value	P Wert
BCL3 \leq 8 vs BCL3 $>$ 8 im Nukleus	2,483	0,91	0,003
-nur ER+ und Tam. behandelte Pat.	5,379	1,683	<0,001
BCL3 \leq 8 vs BCL3 $>$ 8 im Zytosol	1,853	0,617	0,049
-nur ER+ und Tam. behandelte Pat.	5,095	1,628	<0,001
Lymphknoten positiv vs. negativ	1,841	0,61	0,008
ER-Rezeptorstatus positiv vs. negativ	0,654	-0,424	0,098
PgR-Rezeptorstatus positiv vs. negativ	0,634	-0,456	0,046
HER2/neu-Status positiv vs. negativ	1,70	0,531	0,036

Tabelle 7: Univariable Cox Regression - Rezidivfreies Überleben

Gesamtüberleben Im Hinblick auf das Gesamtüberleben stellten sich sowohl ein positiver ER-Status (B-Wert = -0,8; HR = 0,45; p = 0,014) als auch PgR-Status (B-Wert = -1,0; HR = 0,36; p = 0,002) als signifikante protektive Faktoren dar.

Lebensverkürzend, wenn auch nicht signifikant, wirkt sich eine Lymphknoteninfiltration aus (B-Wert = 0,48; HR = 1,61; $p = 0,13$). Signifikant lebensverkürzend sind synchrone Metastasen (B-Wert = 1,68; HR = 5,39; $p < 0,001$). Im Hinblick auf das BCL-3 konnte für beide Lokalisation, wie nach den Ergebnissen aus Kapitel 4.5 zu erwarten, kein signifikanter Einfluss auf das Gesamtüberleben im untersuchten Patientenkollektiv festgestellt werden.

Parameter	Hazard Ratio	B Value	P Wert
BCL3 \leq 8 vs. BCL3 $>$ 8 im Nukleus	0,828	-0,189	0,735
BCL3 \leq 8 vs. BCL3 $>$ 8 im Zytoplasma	0,952	-0,05	0,923
PgR-Rezeptorstatus positiv vs. negativ	0,36	-1,0	0,002
ER-Rezeptorstatus positiv vs. negativ	0,45	-0,8	0,014
Lymphknoten positiv vs. negativ	1,61	0,48	0,13
Metastasen synchron vs. keine	5,39	1,68	$<0,001$

Tabelle 8: Univariable Cox Regression - Gesamtüberleben

4.8.2 Multivariable Analyse

In der multivariablen Analyse wurden die zuvor in der univariablen Analyse als signifikant erkannten Parameter auf eine Unabhängigkeit geprüft.

Eine Abhängigkeit der zytoplasmatischen BCL-3 Expression von der nuklearen BCL-3 Expression wurde bereits im Kapitel 4.4 nachgewiesen. Unter Einschluss beider Lokalisationen sowie den weiteren signifikanten Parametern aus der univariablen Analyse, zeigte sich ein signifikanter Einfluss der nuklearen BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben unabhängig der zytoplasmatischen BCL-3 Expression sowie der anderen Parameter.

Parameter	Hazard Ratio	B-Value	P-Wert
BCL3 \leq 8 vs. BCL3 $>$ 8 im Nukleus	2,54	0,93	0,009
BCL3 \leq 8 vs. BCL3 $>$ 8 im Zytosol	1,25	0,23	0,53
HER2/neu Status positiv vs. negativ	1,7	0,53	0,125
Lymphknoten positiv vs. negativ	2,13	0,76	0,017
PgR-Rezeptorstatus positiv vs. negativ	1,065	0,063	0,845

Tabelle 9: Multivariable Cox Regression unter Einschluss beider Lokalisationen des BCL-3 - Rezidivfreies Überleben

Im Anschluss wurde die Expression von BCL-3 in beiden Lokalisationen, gemeinsam mit den signifikanten Faktoren aus der univariablen Analyse in der multivariablen Cox Regression, einzeln untersucht.

Unter Einschluss aller Fälle zeigte sich für die zytosolische BCL-3 Expression sowie für den HER2/neu Status ein statistischer Trend. Als signifikant und damit unabhängig zeigte sich mit $p = 0,035$ sowie $HR = 1,93$ ein positiver Lymphknotenstatus.

Unter Einschluss lediglich der Östrogenrezeptor positiven sowie Tamoxifen behandelten Fälle ist besonders für die erhöhte Expression des zytosolischen BCL-3 ein deutlich ausgeprägtes Hazard ratio von $HR = 6,25$ bei einem P-Wert von $p < 0,001$ zu verzeichnen. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 10 dargestellt.

Parameter	Hazard Ratio	B Value	P Wert
BCL3 \leq 8 vs BCL3 $>$ 8 im Zytosol	1,81	0,592	0,073
-nur ER+ und Tam. behandelte Pat.	6,25	1,83	<0,001
HER2/neu Status pos. vs. neg.	1,75	0,56	0,1
-nur ER+ und Tam. behandelte Pat.	3,27	1,85	0,009
Lymphknoten pos. vs. neg.	1,93	0,66	0,035
-nur ER+ und Tam. behandelte Pat.	1,96	0,675	0,1
PgR-Rezeptor pos. vs. neg.	1,06	0,058	0,86
-nur ER+ und Tam. behandelte Pat.	1,4	0,33	0,473

Tabelle 10: Multivariable Cox Regression unter Einschluss des zyt. BCL-3 - Rezidivfreies Überleben

Im Hinblick auf die nukleare BCL-3 Expression zeigt sich in der untersuchten Kohorte ein noch deutlicheres Ergebnis. Unter Einschluss aller Fälle ergibt sich für das nukleare BCL-3 ein $p = 0,002$ sowie $HR = 2,78$.

Im Einklang mit den Beobachtungen des zytosolischen BCL-3 wird die Signifikanz der Ergebnisse besonders deutlich, unter Einschluss lediglich der Östrogenrezeptor-positiven sowie Tamoxifen behandelten Fälle. Hier zeigt sich für das nukleare BCL-3 ein $HR = 6,84$ bei einem $p < 0,001$ und einem B-Wert von 1,92. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Parameter	Hazard Ratio	B Value	P Wert
BCL3 ≤ 8 vs BCL3 > 8 im Nukleus	2,78	1,02	0,002
-nur ER+ und Tam. behandelte Pat.	6,84	1,92	<0,001
HER2/neu Status pos. vs. neg.	1,72	0,54	0,12
-nur ER+ und Tam. behandelte Pat.	2,11	0,75	0,099
Lymphknoten pos. vs. neg.	2,13	0,76	0,017
-nur ER+ und Tam. behandelte Pat.	2,83	1,04	0,017
PgR-Rezeptor pos. vs. neg.	1,05	0,05	0,88
-nur ER+ und Tam. behandelte Pat.	1,13	0,12	0,79

Tabelle 11: Multivariable Cox Regression unter Einschluss des nuk. BCL-3 - Rezidivfreies Überleben

5 Diskussion

5.1 Repräsentativität der Patientenkohorte

Für diese Dissertation wurden die Proben von 180 Patientinnen mit einem primären Mammakarzinom untersucht. Im folgenden wird die Repräsentativität anhand von Vergleichen der klinisch pathologischen sowie epidemiologischen Daten zwischen der vorliegenden Kohorte und dem statistischen Durchschnitt diskutiert. Wie bereits im Kapitel 1.5 erwähnt, exprimieren durchschnittlich 70% aller Mammakarzinome den Östrogenrezeptor- α [46]. In der untersuchten Kohorte ist in 78,2% ein positiver ER-Status nachweislich. Weiterhin zeigten 22,4% der untersuchten Tumore einen positiven HER2-Status, 57,1% einen positiven Progesteronrezeptor-Status und ca. 13,7% einen dreifach-negativen Rezeptor-Status. Dies entspricht ebenfalls dem statistischen Durchschnitt [46, 146].

Auch im Hinblick auf die Histologie gleicht unsere Kohorte den statistischen Daten. 50-80% der invasiven Mammakarzinome sind dem invasiven duktalem Karzinom sowie 10-15% dem lobulären Karzinom zuzuordnen [33]. Dies trifft auch für die untersuchte Kohorte zu. Es konnten ca. 80% der Karzinome dem NST-Karzinom sowie ca. 15% dem invasiven lobulären Karzinom zugeordnet werden.

Das Durchschnittsalter der untersuchten Patientengruppe betrug bei Erstdiagnose 63,6 Jahre und entspricht damit nahezu dem bundesdeutschen Durchschnitt von 64 Jahren [1].

Gleiches gilt für die Fünfjahresüberlebensrate, die mit 86,9% nur knapp unter dem deutschen Durchschnitt von 87% liegt [1]. Unterschiede ergaben sich für das rezidivfreie Fünfjahresüberleben, welches mit 67,6% etwas unterhalb der in der Literatur gegebenen Werte liegt [147]. Dies kann durch intensivere Beobachtungen und Kontrollen durch Studieneinschluss der Patientinnen erklärt werden.

Über den Beobachtungszeitraum entwickelten von 80 Patientinnen unter Therapie mit Tamoxifen 25 Patientinnen (31,25%) ein Rezidiv. Dies entspricht den gängigen Statistiken einer Rezidiventwicklung unter Tamoxifen in bis zu 40% der Östrogenrezeptor-positiven Mammakarzinome [62, 148].

Zusammenfassend gleicht die untersuchte Kohorte unter Berücksichtigung der klinisch-pathologischen Parametern sowie epidemiologischen Ausprägungen dem

statistischen Durchschnitt der Patientinnen mit einem Mammakarzinom. Sie kann damit als repräsentativ gewertet werden.

Es sollte jedoch berücksichtigt werden, dass die Patientinnen zwischen 1999 und 2009 rekrutiert wurden, als einige der heutigen verfügbaren Therapien noch nicht vorhanden oder noch nicht als Standardbehandlung eingesetzt wurden. Folglich könnten die Ergebnisse möglicherweise nicht direkt auf die heutige Patientenpopulation übertragen werden, da sich die Behandlungsmöglichkeiten und -standards in den letzten Jahren weiterentwickelt haben. Dies gilt insbesondere für die Behandlung HER2-positiver Patientinnen.

5.2 Korrelation der BCL-3 Expression im invasiven Karzinom und dem duktalem Karzinom in situ

In der untersuchten Kohorte konnte in 14 Fällen ein duktales Karzinom in situ identifiziert und auf die Expression von BCL-3 untersucht werden. In neun dieser Proben gelang die zusätzliche Identifikation eines invasiven Mammakarzinoms.

In den Fällen mit beiden Tumorentitäten konnte trotz der geringen Fallzahl eine Korrelation sowohl für die nukleare als auch zytosolische BCL-3 Expression und damit kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (siehe Kapitel 4.3). Bei Betrachtung aller Fälle konnte mithilfe der Rangkorrelation nach Spearman eine signifikante Korrelation des Immunreaktiven Scores in beiden Lokalisationen zwischen den beiden Tumorentitäten nachgewiesen werden. Bei Betrachtung der Gesamtmittelwerte waren für beide Lokalisationen (Nukleus und Zytosol) im invasiven Karzinom und duktalem Karzinom in situ ähnliche Werte festzustellen (siehe Kapitel 4.3).

Im normalen Brustgewebe ist für das BCL-3 in der Literatur keine Überexpression vorbeschrieben, lediglich für Tumorgewebe sowie in Brustkrebszelllinien [135, 136]. Im Hinblick auf die in unserer Kohorte bereits erhöhte BCL-3 Expression im duktalem Karzinom in situ sowie die Korrelation mit der Expression im invasiven Karzinom in der untersuchten Kohorte kann daher geschlussfolgert werden, dass die Expression entweder bereits in der frühen Phase der Tumorgenese verstärkt wird oder gegebenenfalls BCL-3 in Teilen selbst zur Bildung eines DCIS und einer Karzinombildung beiträgt.

Untermuert wird diese Annahme durch Untersuchungen in Brustkrebs-Zelllinien mit positivem HER2/neu Rezeptorstatus. Hier zeigten sich geringere invasive Tumoreigenschaften bei geringer BCL-3 Expression im Vergleich zu Zellen mit erhöhter Expression [125]. Im Umkehrschluss kann daher dem BCL-3 invasive Eigenschaften zugeschrieben werden.

Im Hinblick auf die vorliegenden geringen Fallzahlen sollte diese Hypothese jedoch kritisch betrachtet werden. Weitere Untersuchungen zur Festigung sollten erfolgen.

5.3 BCL-3 Expression in Abhängigkeit der klinisch pathologischen Faktoren

Im Kapitel 4.2 wurden die Ergebnisse der Korrelation der BCL-3 Expression und klinisch-pathologischen Daten dargelegt. Zusammenfassend korrelierte eine hohe zytosolische Expression von BCL-3 ($IRS > 8$) in der untersuchten Kohorte signifikant mit einer fortgeschrittenen TumorgroÙe ($T > 2$) und einer erhöhten Wachstumsgeschwindigkeit, gemessen am Proliferationsindex Ki67. Eine Korrelation zwischen erhöhter nukleärer BCL-3 Expression und den untersuchten klinisch-pathologischen Parametern ergab sich in unserer Kohorte nicht. Die Korrelation zwischen der BCL-3 Expression und einem geringeren rezidivfreien Überleben wird gesondert in Kapitel 5.4 behandelt.

Unsere Beobachtungen stehen im Einklang mit der Literatur und unterstützen die Annahme, dass sich BCL-3 im Mammakarzinom fördernd auf die Metastasierung und Zellproliferation in Metastasen [125, 138] sowie Brustkrebszelllinien [126, 137] auswirkt.

Eine mögliche Erklärung für die Korrelation zwischen dem erhöhten Proliferationsindex sowie der BCL-3 Expression im Zytosol könnte eine BCL-3 vermittelte Induktion von Cyclin D1 in Brustkrebszellen sein. Wie bereits im Kapitel 1.5.4 thematisiert, reguliert Cyclin D1 die Zellteilung, indem es die G1-Phase verkürzt und den Übergang in die S-Phase stimuliert. Cyclin D1 verstärkt auch die Expression von Cyclin E2. Untersuchungen an Brustkrebs-Zelllinien mit erhöhter BCL-3 Expression zeigten eine verkürzte G1-Phase und eine vermehrte Cyclin D1 Expression. In diesen Zellen wurde eine gesteigerte Bindung von BCL-3/p52 an

der Promoterregion von Cyclin D1 beobachtet [137].

Problematisch ist, dass dies eine nukleare Lokalisierung von BCL-3 voraussetzt. Allerdings ist zu beachten, dass in dieser Kohorte nur Patientinnen ohne begonnene Therapie eingeschlossen wurden. Es ist nicht auszuschließen, dass eine therapeutische Intervention Einfluss auf eine nukleare Translokation des BCL-3 oder die BCL-3 Expression generell hat. Dies hätte besonders Auswirkungen auf solche Patientinnen, die bereits vor einer Therapie eine hohe zytosolische Expression aufwiesen. Weiterhin könnte dies eine Resistenzentwicklung gegenüber Tamoxifen im Verlauf einer Therapie erklären.

Unterstützt wird diese Annahme durch die Beobachtung, dass unter Zuständen des Östrogenentzug in Östrogenrezeptor-positiven Zellen der Brustkrebs-Zelllinie MCF-7 sowohl eine erhöhte BCL-3 Expression als auch erhöhte mit p50 assoziierte Aktivitäten vorzufinden sind [139]. Der Wirkungsmechanismus des Tamoxifen basiert auf einer kompetitiven Inhibierung des Östrogenrezeptors und stellt damit vergleichbare Bedingungen wie beim Östrogenentzug dar [59].

Untermauert wird diese Überlegung durch Beobachtungen in den Überlebensanalysen dieser Studie. Das nukleare BCL-3 zeigte einen stärkeren Einfluss auf das rezidivfreie Überleben als das zytosolische BCL-3 (Kapitel 4.5). Eine Möglichkeit, diese These zu untersuchen, wären bioptische Verlaufskontrollen zur Bestimmung des BCL-3 IRS während bzw. nach einer Therapie mit Tamoxifen sowie bei einem Rezidiv. Dies könnte Aufschluss über eine mögliche Translokation bzw. möglicher Veränderungen der BCL-3 Expression geben.

Eine möglicher weiterer Erklärungsansatz basiert auf NF- κ B unabhängige Funktionen für das zytosolische BCL-3 in Brustkrebszellen. Dies konnte bereits in Zellen des kolorektalen Karzinom nachgewiesen werden [149] und spielt möglicherweise auch im invasiven lobulären Mammakarzinom eine größere Rolle. Näher betrachtet wird dies in Kapitel 5.5.

Nebenbefundlich lag eine signifikante Korrelation zwischen einer hohen zytosolischen Expression von BCL-3 und positivem GPER1 Rezeptorstatus sowie eine inverse Korrelation zur Menge der AGEs(Advanced Glycation End Products) vor. Eine erhöhte GPER1 Expression ist mit einer Resistenz gegenüber Tamoxifen im Mammakarzinom assoziiert [143], weiterhin sind AGEs mit einer

Östrogenrezeptor vermittelten Tamoxifen Resistenz assoziiert [150]. Ein kausaler Zusammenhang zwischen diesen Faktoren und BCL-3 ist aktuell jedoch nicht ersichtlich und bedarf einer weiteren Abklärung.

5.4 Die BCL-3 Expression und das stark eingeschränkte rezidivfreie Überleben unter einer Therapie mit Tamoxifen

Das rezidivfreie Überleben ist prognostisch für Patientinnen eines Mammakarzinoms, besonders unter einer Therapie mit Tamoxifen von besonderer Relevanz. In dieser Dissertation erfolgte die statistische Auswertung der Korrelation zwischen der BCL-3 Expression und dem rezidivfreien Überleben in Patientinnen unter einer Therapie mit Tamoxifen.

In der untersuchten Kohorte zeigte sich eine stark signifikante Assoziation zwischen der erhöhten BCL-3 Expression in beiden Lokalisationen (Nukleus und Zytosol) und einem Rezidiv unter der Therapie mit Tamoxifen. Jeweils 48% der Patientinnen, die ein Rezidiv unter Tamoxifen entwickelten, zeigten ein hohes zytosolisches und nukleares Aufkommen des Proteins. Eine erhöhte BCL-3 Expression bei Patientinnen ohne Rezidiventwicklung war für beide Lokalisationen hingegen kaum zu beobachten (siehe Tabelle 1). Für beide Lokalisationen konnte mithilfe des Exakten Test nach Fisher ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Besonders deutlich wird die Auswirkung des BCL-3 bei Betrachtung der Mittelwerte des rezidivfreien Überlebens. Patientinnen mit einem hohen nuklearen und zytosolischen BCL-3 IRS entwickelten unter einer Therapie mit Tamoxifen im Durchschnitt bereits nach etwa 36,2 Monaten und 37,4 Monaten ein Rezidiv, wohingegen Patientinnen mit einem BCL-3 IRS ≤ 8 im Schnitt erst nach 124,9 Monaten (zytosolisches BCL-3) und 124,7 Monaten (nukleares BCL-3) ein Rezidiv entwickelten (siehe Tabelle 5). Die Überlebensanalysen nach Kaplan-Meier sowie die dazugehörigen Grafiken sind in Kapitel 4.5 dargestellt. Die hier dargestellten Ergebnisse deuten auf eine durch BCL-3 vermittelte Resistenz gegenüber Tamoxifen hin.

In in vitro Analysen mit Östrogenrezeptor-positiven MCF-7 Brustkrebs-Zelllinien

wurde kein Einfluss auf das zelluläre Wachstum unter Normalbedingungen festgestellt, nachdem ein siRNA-vermittelter Knock-down der BCL-3 Expression durchgeführt wurde. Unter Zugabe von Fulvestrant und tumorassoziierten Fibroblasten war das Zellwachstum im Vergleich zur Kontrollgruppe jedoch deutlich eingeschränkt. Als mögliche Erklärung für das zelluläre Überleben trotz Ausschaltung des hauptverantwortlichen Wachstumssignalweges wurde ein NF- κ B abhängiges Wachstum, dessen Aktivität BCL-3 maßgeblich beeinflusst, postuliert [140]. Der Wirkungsmechanismus von Fulvestrant ist mit dem des Tamoxifens vergleichbar und beruht ebenfalls auf Blockierung des Östrogenrezeptors [57].

Die Hypothese wird zusätzlich durch Beobachtungen an ovariectomierten Mäusen mit Brustkrebs-Xenotransplantaten gestützt. In diesen Mäusen reagierten die Brustkrebszellen auf den Entzug von Östradiol mit einer erhöhten Bildung von BCL-3 [139]. Wie bereits in Kapitel 5.3 erwähnt wurde, basiert der Wirkungsmechanismus des Tamoxifens auf einer kompetitiven Inhibition des Östrogenrezeptors und entspricht daher einem Östrogenentzug [59].

Auf der Grundlage der genannten Studien sowie im Hinblick auf die uns vorliegenden Ergebnisse lässt sich zusammenfassend postulieren, dass BCL-3 an einer Resistenzentwicklung gegenüber Tamoxifen im Mammakarzinom beteiligt ist.

Beachtenswert ist die Beobachtung, dass keine signifikante Assoziation zwischen einer erhöhten BCL-3 Expression in beiden Lokalisationen (Nukleus und Zytosol) und einem eingeschränkten rezidivfreien Überleben unter der Therapie mit Aromatase-Inhibitoren in der untersuchten Kohorte besteht (siehe Tabelle 1). Auch ist im Hinblick auf das rezidivfreie Überleben keine Auswirkung des BCL-3 auf die mittlere Überlebenszeit unter einer Therapie mit Aromatase-Inhibitoren feststellbar (siehe Tabelle 5).

Patientinnen mit einem positiven Östrogenrezeptor-Status und einer hohen nuklearen BCL-3 Expression zeigten unter der Behandlung mit Aromatase-Inhibitoren eine durchschnittliche rezidivfreie Überlebenszeit von 95,7 Monaten. Im Vergleich dazu betrug die durchschnittliche rezidivfreie Überlebenszeit bei Patientinnen unter Tamoxifen-Therapie lediglich 36,2 Monate. Dies entspricht einer höheren Überlebenszeit von 60 Monaten und verdeutlicht damit den relativen Therapieerfolg von Aromatase-Inhibitoren in Patientinnen mit einer hohen

nuklearen BCL-3 Expression. Die weitere Bedeutung dieser Ergebnisse wird in Kapitel 5.6.1 diskutiert.

5.5 BCL-3 und der WNT Signalweg im invasiv lobulären Mammakarzinom - ein möglicher Resistenzmechanismus gegenüber Tamoxifen

Bei näherer Betrachtung der Auswirkung der BCL-3 Expression auf das rezidivfreie Überleben in Abhängigkeit der histologischen Subtypen, ergab sich eine signifikante Assoziation zwischen einer erhöhten zytosolischen und nuklearen BCL-3 Expression ($IRS > 8$) und einem verkürzten rezidivfreien Überleben bei Patientinnen mit einem invasiven lobulären Mammakarzinom. Bei Patientinnen mit einem invasivem duktalem Karzinom lag eine Korrelation lediglich bei einer erhöhten nuklearen Expression mit einem verkürztem rezidivfreiem Überleben vor (siehe Kapitel 4.6). Zu beachten ist, dass 23 Fälle mit einem invasiven lobulären Mammakarzinom und 129 Fälle mit einem invasiven duktalem Karzinom untersucht werden konnten.

Von den insgesamt 23 Fällen mit invasivem lobulärem Mammakarzinom konnten lediglich 13 Fälle auf einen Zusammenhang zwischen einem Rezidiv unter Tamoxifen-Therapie und einer erhöhten BCL-3-Expression untersucht werden. Trotz der geringen Fallzahl zeigte sich ein statistischer Trend hinsichtlich erhöhter BCL-3-Expression in beiden Lokalisationen und dem Auftreten von Rezidiven unter Tamoxifen-Therapie. Aufgrund der begrenzten Fallanzahl lassen sich jedoch keine zuverlässigen Schlussfolgerungen aus diesen Beobachtungen ziehen

Untersuchungen von Zellen des kolorektalen Karzinom zeigten, dass für BCL-3 eine fördernde Rolle im WNT-Signalweg identifiziert wurde. Übereinstimmend mit unseren Ergebnissen zeigten auch diese Zellen eine positive Korrelation zwischen zytoplasmischen BCL-3 sowie einem erhöhten Ki67 Index [112]. In diesen Zellen vermittelt BCL-3 eine NF- κ B unabhängige gesteigerte Expression von WNT-Zielgenen, weiterhin wird eine Rolle des BCL-3 als Coaktivator von β -Catenin angenommen [149, 151]. Umgekehrt inhibiert WNT3A, ein Ligand des WNT-Signalweges, den proteosomalen Abbau des BCL-3s und fördert damit

das BCL-3 Protein Niveau [149]. In einer weiteren Studie zeigte sich, dass proliferierende Zellen des kolorektalen Karzinoms vor allem zytosolisches BCL-3 exprimieren und umliegendes Normalgewebe nukleares BCL-3 [112].

Das Protein β -Catenin fungiert in zwei unterschiedlichen intrazellulären Prozessen. Als Teil der Cadherin vermittelten Zelladhäsion ermöglicht es durch Bindung der intrazellulären Domäne an das Alpha-Catenin eine Verankerung des Adhäsionskomplex an das Aktin Zytoskelett [152], weiterhin ist es als Coaktivator Teil des WNT-Signalweges [153]. Untersuchungen ergaben ein erhöhtes membran-gebundenes β -Catenin im invasivem duktalem Karzinom, wohingegen im invasiven lobulären Mammakarzinom das β -Catenin von der Membran abgekoppelt, vor allem in der paranuklearen Umgebung, aufzufinden war [154]. Weiterhin wurden in MCF-7 Zellen Veränderungen im WNT Signalweg als Adaption auf eine Therapie mit Tamoxifen durch Genexpressionsanalysen festgestellt [155] und WNT4 ein Ligand des WNT-Signalweges ist mit einer Tamoxifen Resistenz im invasivem lobulären Mammakarzinom assoziiert [156].

Im Hinblick auf die vorliegenden Ergebnisse und der oben beschriebenen Beobachtungen lässt sich vermuten, dass der WNT-Signalweg und BCL-3 an der Resistenzentwicklung gegenüber Tamoxifen im invasiven lobulären Mammakarzinom beteiligt sein könnten. Diese Arbeit liefert Impulse für weiterführende Untersuchungen mit einer größeren Patientenkohorte, um die vorliegenden Erkenntnisse zu validieren.

5.6 Ausblick - BCL-3 in der klinischen Anwendung

5.6.1 BCL-3 als Biomarker für die Resistenzentwicklung im Mammakarzinom

Die hochsignifikante Korrelation der BCL-3 Expression mit einem verkürzten rezidivfreien Überleben in der untersuchten Kohorte wurde bereits diskutiert.

Um eine Verwendung des BCL-3 als prognostischen Biomarker für den therapeutischen Erfolg unter Tamoxifen und im Hinblick auf die Gesamtkohorte zu untersuchen, erfolgte zunächst eine univariable Cox-Regression und im Anschluss die Analyse auf Unabhängigkeit von anderen pathologischen Faktoren in der multiva-

riaben Cox Regression.

Zusammenfassend konnte das zytosolische sowie nukleare BCL-3 in der Gesamtkohorte als starker unabhängiger Prognosefaktor für ein geringeres rezidivfreies Überleben identifiziert werden. Patientinnen mit einer erhöhten nuklearen BCL-3 Expression ($\text{IRS} > 8$) wiesen ein 2,78-fach ($p = 0,002$) erhöhtes Risiko sowie ein 1,81-fach ($p = 0,073$) erhöhtes Risiko der Rezidivbildung bei einer erhöhten zytosolischen BCL-3 Expression ($\text{IRS} > 8$) auf.

In der Gruppe der Patientinnen mit positiven Östrogenrezeptor Status sowie Tamoxifen Therapie zeigte sich ein noch signifikanteres Ergebnis. Eine hohe zytosolische Expression geht mit einem 6,25-fach ($p < 0,001$) erhöhtem Rezidivrisiko einher, sowie 6,84-fach ($p < 0,001$) erhöhtem Risiko bei hoher nuklearer BCL-3 Expression. Das hochsignifikant eingeschränkte rezidivfreie Überleben mit durchschnittlich 36,2 und 37,4 Monaten bei erhöhter nuklearer und zytosolischer Expression (BCL-3 $\text{IRS} > 8$) akzentuiert die Relevanz der Ergebnisse.

Die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse weisen auf eine Verwendung des BCL-3 als potenzieller Biomarker in Patientinnen mit einem Mammakarzinom hin. Von besonderer Bedeutung sind hierbei die Ergebnisse der Patientinnen, die eine Therapie mit Tamoxifen erhielten.

Denkbar wäre eine Bestimmung der BCL-3 Expression im Rahmen der immunhistochemischen Untersuchung bei Erstdiagnose. Liegt ein Mammakarzinom mit erhöhter BCL-3 Expression vor, so wären intensivere Verlaufskontrollen oder gar in Abhängigkeit des Risikos ein kompletter Verzicht auf eine Therapie mit Tamoxifen zu überdenken. Dies sollte in einer prospektiven Studie näher untersucht werden. Eine sinnvolle therapeutische Alternative stellen die Aromatasehemmer unter Ausschaltung der Ovarfunktion dar [26], was sich auch in der untersuchten Kohorte bestätigt. In der Gruppe der mit Aromatasehemmern behandelten Patientinnen konnte kein Einfluss des BCL-3 auf das rezidivfreie Überleben beobachtet werden. Im Hinblick auf die vorliegenden Ergebnisse ist die Verwendung des BCL-3 als Biomarker jedoch auch kritisch zu betrachten. Denn trotz der geringen Unterschiede der mittleren Überlebenszeit zeichnete sich kein signifikanter Einfluss des BCL-3 auf das Gesamtüberleben ab (siehe Kapitel 4.5).

Zu diskutieren ist jedoch ob der Erfolg einer Therapie mit Tamoxifen nur am Gesamtüberleben der Patientinnen gemessen werden sollte. Auch die erhöhten Re-

zidivratem sowie die im Vergleich zu den Aromatasehemmern erhöht auftretenden schwerwiegenden Nebenwirkungen wie dem Endometrialkarzinom [157] und thromboembolischen Ereignissen [158] sind zu berücksichtigen.

Weiterhin sollte beachtet werden, dass das Gesamtüberleben von verschiedenen Faktoren beeinflusst wird, die über den untersuchten Faktor hinausgehen. Unter anderem können unklare Todesursachen sowie andere wichtige Faktoren wie das Alter, der allgemeine Gesundheitszustand, Begleiterkrankungen und die Wirksamkeit anderer Behandlungen eine Rolle beim Gesamtüberleben spielen. Diese Faktoren können die Ergebnisse beeinflussen und erklären, warum die BCL-3 Expression keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben in der untersuchten Kohorte aufweist. Das Gesamtüberleben ist ein komplexer Endpunkt, der von einer Vielzahl von Faktoren beeinflusst wird.

5.6.2 BCL-3 als therapeutisches Ziel

Die Auswirkung der NF- κ B Proteine auf das Mammakarzinom sowie deren Identifikation als maßgeblicher Faktor in verschiedenen Bereichen der Tumorgenese ist bekannt. Aktuell steht die Entwicklung von therapeutischen Strategien zur Beeinflussung des NF- κ B Signalweges in der Therapie des Mammakarzinoms im Fokus [105]. Die globale Inhibition der NF- κ Bs ist angesichts der Beteiligung an physiologischen Prozessen wie dem Immunsystem problematisch [159]. Auch die gewebespezifische Inhibition des NF- κ B-Signalweges in der Brust lässt aufgrund der Beteiligung an physiologischen Prozessen im Brustgewebe [160, 161], auf Konsequenzen für das umliegende Normalgewebe schließen [125].

Eine weitere therapeutische Möglichkeit besteht durch indirekte Inhibition mittels nachgeschalteter Signalwege oder aber auch durch Beeinflussung von Cofaktoren wie dem BCL-3. Die ersten in vivo sowie in vitro Versuche mit BCL-3 als therapeutischen Ziel im Mammakarzinom sowie kolorektalen Karzinom sind bereits erfolgt [126, 149].

In der aktuellen Literatur gibt es widersprüchliche Aussagen zur Auswirkung der Ausschaltung von BCL-3 auf das normale Brustgewebe. Eine Studie, die in vivo Analysen an Mäusen mit ausgeschalteter BCL-3 Expression durchführte, zeigte keinen erkennbaren Effekt auf die Funktion oder Struktur des Brustgewebes [125]. Im

Gegensatz dazu wurde in einer anderen Studie, die ebenfalls ein in vivo Mausmodell verwendete, ein Rückgang der Brustdrüsenverzweigungen bei ausgeschalteter BCL-3 Expression nachgewiesen [142].

Die präsentierten Ergebnisse in dieser Arbeit unterstreichen die Relevanz von BCL-3 im Mammakarzinom und sollten daher als Anreiz für weitere Forschung dienen, sowohl zur Klärung seiner Rolle als auch als potenzielles therapeutisches Ziel in der Behandlung des Mammakarzinoms.

6 Zusammenfassung

Das Mammakarzinom ist die häufigste maligne Erkrankung der Frau in Deutschland. In der adjuvanten Therapie der Östrogenrezeptor-positiven Karzinome steht die Verwendung von Tamoxifen in prämenopausalen Frauen im Vordergrund. Trotz der vielen therapeutischen Vorteile, die das Medikament bietet, stellt die Entwicklung einer Resistenz gegenüber Tamoxifen für die Patientinnen ein großes Problem dar. Ziel dieser Dissertation war unter anderem die prognostische Relevanz der BCL-3 Expression in Tamoxifen resistenten Mammakarzinomen zu untersuchen. Es erfolgte eine immunhistochemische Analyse der BCL-3 Expression im Nukleus sowie Zytosol in Gewebeproben von 180 Patientinnen, die zwischen 1999 und 2009 mit einem primären Mammakarzinom an der Otto-von-Guericke-Universität diagnostiziert wurden. Ausschlusskriterium war eine bereits begonnene neoadjuvante Therapie. Bei Erstdiagnose wurden die gängigen klinisch-pathologischen Marker bestimmt sowie mittels Verlaufskontrollen klinisch-diagnostische Daten im Verlauf und abschließend zuletzt im März 2016 gesammelt.

Die Repräsentativität der untersuchten Kohorte wurde durch Vergleiche der Ausprägungen gängiger klinisch-pathologischer Parameter mit denen der statistischen Grundgesamtheit der Brustkrebspatientinnen analysiert.

Es zeigte sich trotz geringer Fallzahlen eine Korrelation zwischen der BCL-3 Expression im duktalem Karzinom in situ und invasivem Karzinom.

Eine erhöhte zytosolische BCL-3 Expression korrelierte mit einer fortgeschrittenen Tumorgroße sowie einem erhöhten Proliferationsindex. Eine mögliche Translokation des zytosolischen BCL-3 in den Nukleus im Verlauf einer Therapie mit Tamoxifen ist denkbar und würde eine erworbene Resistenzen gegenüber Tamoxifen im Mammakarzinom erklären. Möglich erscheint jedoch auch eine funktionelle Rolle des zytosolischen BCL-3 unabhängig des NF- κ B Signalweges. Ein möglicher Resistenzmechanismus gegenüber Tamoxifen durch zytosolisches BCL-3 im WNT-Signalweg wurde postuliert.

Das wichtigste Resultat dieser Arbeit ist jedoch der Nachweis einer signifikanten Auswirkung einer erhöhten BCL-3 Expression sowohl im Nukleus als auch im Zytosol auf ein verkürztes rezidivfreien Überleben. Besonders bemerkenswert ist dabei die Auswirkung in der Subgruppe der Patientinnen mit einer Tamoxifen Therapie.

Eine Verwendung des BCL-3 als Biomarker, um prognostische Aussagen bezüglich einer Resistenzentwicklung gegenüber Tamoxifen zu machen, ist im Hinblick auf die hier vorliegenden Daten denkbar. Wichtig ist zudem, dass die uns vorliegenden Daten auf einen therapeutischen Vorteil von Aromatasehemmern gegenüber Tamoxifen in Patientinnen mit einer BCL-3 Überexpression hinweisen.

Literatur

- [1] Robert Koch-Institut, „Krebs in Deutschland für 2015 / 2016“, *Zentrum für Krebsregisterdaten*, Jg. 12, S. 78–82, 2019.
- [2] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram u. a., „Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries“, *CA - A Cancer Journal for Clinicians*, Jg. 68, Nr. 6, S. 394–424, 2018.
- [3] American Cancer Society, *Global Cancer Facts & Figures 4th Edition*. 2018.
- [4] K. McPherson, C. Steel und J. Dixon, „ABC of Breast Diseases: Breast cancer-epidemiology, risk factors and genetics“, *The BMJ*, Jg. 321, Nr. 7261, S. 624–628, 2000.
- [5] F. Lalloo und D. G. Evans, „Familial Breast Cancer“, *Clinical Genetics*, Jg. 82, Nr. 2, S. 105–114, 2012.
- [6] A. Antoniou, P. Pharoah, S. Narod u. a., „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“, *American Journal of Human Genetics*, Jg. 72, Nr. 5, S. 1117–1130, 2003.
- [7] D. Ford, D. Easton, M. Stratton u. a., „Genetic Heterogeneity and Penetrance Analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in Breast Cancer Families“, *The American Journal of Human Genetics*, Jg. 62, Nr. 3, S. 676–689, 1998.
- [8] D. Thull und V. Vogel, „Recognition and Management of Hereditary Breast Cancer Syndroms“, *The Oncologist*, Jg. 9, Nr. 1, S. 13–24, 2004.

- [9] S. S. Nazari und P. Mukherjee, „An overview of mammographic density and its association with breast cancer“, *Breast Cancer*, Jg. 25, Nr. 3, S. 259–267, 2018.
- [10] D. G. Evans, E. van Veen, A. Howell u. a., „Heritability of mammographic breast density“, *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, Jg. 10, Nr. 12, S. 2387–2391, 2020.
- [11] C. L. Lee, L. Chen und J. Elmore, „Risk-Based Breast Cancer Screening: Implications of Breast Density“, *Medical Clinics of North America*, Jg. 101, Nr. 4, S. 725–741, 2018.
- [12] M. Barnard, C. Boeke und R. Tamimi, „Established breast cancer risk factors and risk of intrinsic tumor subtypes“, *BBA - Reviews on Cancer*, Jg. 1856, Nr. 1, S. 73–85, 2015.
- [13] J. Russo, R. Moral, G. Balogh u. a., „The protective role of pregnancy in breast cancer“, *Breast Cancer Research*, Jg. 7, Nr. 3, S. 131–142, 2005.
- [14] L. Harmann, T. Sellers, M. Frost u. a., „Benign Breast Disease and the Risk of Breast Cancer“, *The New England Journal of Medicine*, Jg. 353, Nr. 3, S. 229–237, 2005.
- [15] K. Michels, K. Terry und W. Willett, „Longitudinal study on the role of body size in premenopausal breast cancer“, *Archives of Internal Medicine*, Jg. 166, Nr. 21, S. 2395–2402, 2006.
- [16] R. Fortner, V. Katzke, T. Kühn u. a., „Obesity and Breast Cancer“, *Recent Results in Cancer Research*, Nr. 208, S. 43–65, 2016.
- [17] M. Playdon, M. Bracken, T. Sanft u. a., „Weight Gain After Breast Cancer Diagnosis and All-Cause Mortality: Systematic Review and Meta-Analysis“, *Journal of the National Cancer Institute*, Jg. 107, Nr. 12, S. 1–15, 2015.
- [18] S. S. Coughlin, „Epidemiology of Breast Cancer in Women“, in *Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance*, 2019.

- [19] K. Shield, I. Soerjomataram und J. Rehm, „Alcohol Use and Breast Cancer : A Critical Review“, *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, Jg. 40, Nr. 6, S. 1166–1181, 2016.
- [20] A. J. White, L. A. Deroo, C. R. Weinberg u. a., „Lifetime Alcohol Intake , Binge Drinking Behaviors , and Breast Cancer Risk“, *American Journal of Epidemiology*, Jg. 186, Nr. 5, S. 541–549, 2017.
- [21] Y. Liu, N. Nguyen und G. Colditz, „Links between alcohol consumption and breast cancer : a look at the evidence“, *Womens Health*, Jg. 11, Nr. 1, S. 65–77, 2015.
- [22] J. Russo, *The Pathobiology of Breast Cancer*. 2016.
- [23] W. Böcker, T. Decker, M. Ruhnke u. a., „Duktale Hyperplasie und Duktales Carcinoma in situ“, *Der Pathologe*, Jg. 18, S. 3–18, 1997.
- [24] AWMF, „Interdisziplinäre S3-Leitlinie Früherkennung , Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms“, Version 4.2, 2021.
- [25] L. Dion, A. Racin, S. Brousse u. a., „Atypical epithelial hyperplasia of the breast: state of the art“, *Expert Review of Anticancer Therapy*, Jg. 16, Nr. 9, S. 943–953, 2016.
- [26] AWMF, „Konsultationsfassung der S3-Leitlinie für die Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms: Wesentliche Neuerungen in Version 4“, Version 4, 2020.
- [27] S. J. Schnitt, „Flat epithelial atypia - Classification, pathologic features and clinical significance“, *Breast Cancer Research*, Jg. 5, Nr. 5, S. 263–268, 2003.
- [28] D. L. Page, T. Kidd, W. Dupont u. a., „Lobular neoplasia of the breast: Higher risk for subsequent invasive cancer predicted by more extensive disease“, *Human Pathology*, Jg. 22, Nr. 12, S. 1232–1239, 1991.
- [29] D. J. Dabbs, S. Schmitt, F. Geyer u. a., „Lobular neoplasia of the breast revisited with emphasis on the role of E-cadherin immunohistochemistry“, *American Journal of Surgical Pathology*, Jg. 37, Nr. 7, S. 434–435, 2013.

- [30] A. Reed Mccart, J. Kutasovic, S. Lakhani u. a., „Invasive lobular carcinoma of the breast : morphology , biomarkers and ' omics“, *Breast Cancer Research*, Jg. 17, Nr. 12, S. 1–11, 2015.
- [31] S. K. Mardekian, A. Bombonati und J. Palazzo, „Ductal carcinoma in situ of the breast: The importance of morphologic and molecular interactions“, *Human Pathology*, Jg. 49, S. 114–123, 2016.
- [32] S. Badve, R. AHern, A. Ward u. a., „Prediction of local recurrence of ductal carcinoma in situ of the breast using five histological classifications: A comparative study with long follow-up“, *Human Pathology*, Jg. 29, Nr. 9, S. 915–923, 1998.
- [33] A. Lebeau, M. Kriegsmann, E. Burandt u. a., „Invasive Mammakarzinome : Die aktuelle WHO-Klassifikation“, *Der Pathologe*, Jg. 35, S. 7–17, 2014.
- [34] C. B. Vos, A. Cleton-Janse, G. Berx u. a., „E-cadherin inactivation in lobular carcinoma in situ of the breast: An early event in tumorigenesis“, *British Journal of Cancer*, Jg. 76, Nr. 9, S. 1131–1133, 1997.
- [35] C. W. Elston und I. O. Ellis, „Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up“, *Histopathology*, Jg. 19, Nr. 5, S. 403–410, 1991.
- [36] H. J. Bloom und W. W. Richardson, „Histological grading and prognosis in breast cancer“, *British Journal of Cancer*, Jg. 11, Nr. 3, S. 359–377, 1957.
- [37] M. Christgen, F. Länger und H. Kreipe, „Histologisches Grading beim Mammakarzinom“, *Der Pathologe*, Jg. 37, S. 328–336, 2016.
- [38] G. N. Hortobagyi, S. B. Edge und A. Giuliano, *New and Important Changes in the TNM Staging System for Breast Cancer*. 2018, Bd. 38, S. 457–467.
- [39] M. Galea, R. Blamey, C. Elston u. a., „The Nottingham prognostic index in primary breast cancer“, *Breast Cancer Research and Treatment*, Jg. 22, Nr. 3, S. 207–219, 1992.

- [40] W. Remmele und H. E. Stegner, „Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue“, *Der Pathologe*, Jg. 8, Nr. 3, S. 138–140, 1987.
- [41] J. M. Harvey, G. M. Clark, C. K. Osborne u. a., „Estrogen Receptor Status by Immunohistochemistry is Superior to the Ligand-Binding Assay for Predicting Response to Adjuvant Endocrine Therapy in Breast Cancer“, *Journal of Clinical Oncology*, Jg. 17, Nr. 5, S. 1474–1481, 1999.
- [42] A. Goldhirsch, W. C. Wood, A. S. Coates u. a., „Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: Highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011“, *Annals of Oncology*, Jg. 22, Nr. 8, S. 1736–1747, 2011.
- [43] A. Howell, J. Robertson, P. Abram u. a., „Comparison of fulvestrant versus tamoxifen for the treatment of advanced breast cancer in postmenopausal women previously untreated with endocrine therapy: A Multinational, Double-blind, Randomized trial“, *Journal of Clinical Oncology*, Jg. 22, Nr. 9, S. 1605–1613, 2004.
- [44] S. Ali, M. Rasool, H. Chaoudhry u. a., „Molecular mechanisms and mode of tamoxifen resistance in breast cancer“, *Bioinformation*, Jg. 12, Nr. 3, S. 135–139, 2016.
- [45] C. K. Osborne, „Tamoxifen in the treatment of Breast Cancer“, *New England Journal of Medicine*, Jg. 339, Nr. 22, S. 1609–1618, Nov. 1998.
- [46] H. Joshi und M. Press, *Molecular Oncology of Breast Cancer*, Fifth Edit. Elsevier Inc., 2018, S. 282–307.
- [47] F. Petrelli, A. Coinu, M. Cabiddu u. a., „Five or more years of adjuvant endocrine therapy in breast cancer: A meta-analysis of published randomised trials“, *Breast Cancer Research and Treatment*, Jg. 140, Nr. 2, S. 233–240, 2013.

- [48] P. E. Goss, J. Ingle, S. Martino u. a., „Randomized Trial of Letrozole Following Tamoxifen as Extended Adjuvant Therapy in Receptor-Positive Breast Cancer : Updated Findings from NCIC CTG MA . 17“, *Journal of National Cancer Institute*, Jg. 97, Nr. 17, S. 1262–1271, 2005.
- [49] B. Fisher, J. Costantino, L. Wickerham u. a., „Tamoxifen for Prevention of Breast Cancer : Report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study“, *Journal of National Cancer Institute*, Jg. 90, Nr. 18, S. 1371–1388, 1998.
- [50] B. Fisher, J. Costantino, L. Wickerham u. a., „Tamoxifen for the Prevention of Breast Cancer : Current Status of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study“, *Journal of National Cancer Institute*, Jg. 97, Nr. 22, S. 1652–1662, 2005.
- [51] U. Veronesi, P. Maisonneuve, N. Rotmensz u. a., „Tamoxifen for the Prevention of Breast Cancer : Late Results of the Italian Randomized Tamoxifen Prevention Trial Among Women With Hysterectomy“, *Journal of National Cancer Institute*, Jg. 99, Nr. 9, S. 727–737, 2007.
- [52] J. Cuzick, I. Sestak, S. Cawthorn u. a., „Tamoxifen for prevention of breast cancer : extended long- term follow-up of the IBIS-I breast cancer prevention trial“, *Lancet Oncology*, Jg. 16, Nr. 1, S. 67–75, 2015.
- [53] J. Cuzick, T. Powles, U. Veronesi u. a., „Overview of the main outcomes in breast-cancer prevention trials“, *The Lancet*, Jg. 361, Nr. 9354, S. 296–300, 2003.
- [54] J. F. Robertson, I. M. Bondarenko, E. Trishkina u. a., „Fulvestrant 500 mg versus anastrozole 1 mg for hormone receptor-positive advanced breast cancer (FALCON): an international, randomised, double-blind, phase 3 trial“, *The Lancet*, Jg. 388, Nr. 10063, S. 2997–3005, Dez. 2016.
- [55] D. Tripathy, S. A. Im, M. Colleoni u. a., „Ribociclib plus endocrine therapy for premenopausal women with hormone-receptor-positive, advanced breast cancer (MONALEESA-7): a randomised phase 3 trial“, *The Lancet Oncology*, Jg. 19, Nr. 7, S. 904–915, 2018.

- [56] A. Hackshaw, M. Baum, T. Fornander u. a., „Long-term effectiveness of adjuvant goserelin in premenopausal women with early breast cancer“, *Journal of National Cancer Institute*, Jg. 101, Nr. 5, S. 341–349, 2009.
- [57] A. Howell, C. K. Osborne, C. Morris u. a., „Faslodex - Development of a Novel, pure Antiestrogen“, *Cancer*, Jg. 89, Nr. 4, S. 817–825, 2000.
- [58] V. Stearns, M. Johnson, R. James u. a., „Active Tamoxifen Metabolite Plasma Concentrations After Coadministration of Tamoxifen and the Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Paroxetine“, *Journal of the National Cancer Institute*, Jg. 95, Nr. 23, S. 1758–1764, 2003.
- [59] B. J. A. Furr und V. C. Jordan, „The pharmacology and clinical uses of Tamoxifen“, *Pharmacologic Therapies*, Jg. 25, Nr. 2, S. 127–205, 1984.
- [60] D. Sun, A. Sharma, R. Dellinger u. a., „Glucuronidation of Active Tamoxifen Metabolites by the Human UDP Glucuronosyltransferases“, *Drug Metabolism and Disposition*, Jg. 35, Nr. 11, S. 2006–2014, 2007.
- [61] E. Lien, E. Solheim, O. Lea u. a., „Distribution of 4-hydroxy-n-desmethyltamoxifen and other tamoxifen metabolites in human biological fluids during tamoxifen treatment“, *Cancer Research*, Jg. 49, Nr. 8, S. 2175–2183, 1989.
- [62] A. Ring und M. Dowsett, „Mechanisms of tamoxifen resistance“, *Endocrine-Related Cancer*, Jg. 11, Nr. 4, S. 643–658, 2004.
- [63] D. P. Cronin-Fenton und P. Damkier, „Tamoxifen and CYP2D6 : A Controversy in Pharmacogenetics“, *Advances in Pharmacology*, Jg. 83, S. 65–91, 2018.
- [64] D. Dustin, G. Gu und S. Fuqua, „ESR1 Mutations in Breast Cancer“, *Cancer*, Jg. 125, Nr. 21, S. 3741–3728, 2020.
- [65] N. Roodi, L. Bailey, W. Kao u. a., „Estrogen Receptor Gene Analysis in Estrogen Receptor-Positive and Receptor-Negative Primary Breast Cancer“, *Journal of the National Cancer Institute*, Jg. 87, Nr. 6, S. 446–451, 1995.

- [66] S. Johnston, G. Saccani-Jotti, I. Smith u. a., „Changes in Estrogen Receptor, Progesterone Receptor, and pS2 Expression in Tamoxifen-resistant Human Breast Cancer“, *Cancer Research*, Jg. 55, Nr. 15, S. 3331–3338, 1995.
- [67] H. Iwase, Y. Omoto, T. Toyama u. a., „DNA methylation analysis at distal and proximal promoter regions of the oestrogen receptor gene in breast cancers“, *British Journal of Cancer*, Jg. 80, Nr. 12, S. 1982–1986, 1999.
- [68] F. F. Parl, „Multiple mechanisms of estrogen receptor gene repression contribute to ER-negative breast cancer“, *The Pharmacogenomics Journal*, Jg. 3, S. 251–253, 2003.
- [69] R. Vidma-Rodriguez, L. Baiza-Gutman, F. Salamanca-Gomez u. a., „Mechanisms associated with resistance to tamoxifen in estrogen receptor-positive breast cancer“, *Oncology Reports*, Jg. 32, Nr. 1, S. 3–15, 2014.
- [70] R. Thomas, N. Sarwar, F. Phoenix u. a., „Phosphorylation at serines 104 and 106 by Erk1 / 2 MAPK is important for estrogen receptor- alpha activity“, *Journal of Molecular Endocrinology*, Jg. 40, Nr. 4, S. 173–184, 2008.
- [71] D. Chen, E. Washbrook, N. Sarwar u. a., „Phosphorylation of human estrogen receptor α at serine 118 by two distinct signal transduction pathways revealed by phosphorylation-specific antisera“, *Oncogene - Nature*, Jg. 32, Nr. 21, S. 4921–4931, 2002.
- [72] V. Likhite, F. Stossi, K. Kim u. a., „Kinase-Specific Phosphorylation of the Estrogen Receptor changes Receptor Interactions with Ligand , Deoxyribonucleic Acid , and Coregulators associated with Alterations in Estrogen and Tamoxifen Activity“, *Molecular Endocrinology*, Jg. 20, Nr. 12, S. 3120–3132, 2006.
- [73] I. Girault, I. Bieche und R. Lideau, „Role of estrogen receptor alpha transcriptional coregulators in tamoxifen resistance in breast cancer“, *Maturitas*, Jg. 54, Nr. 4, S. 342–351, 2006.

- [74] R. Clarke, J. J. Tyson und J. M. Dixon, „Endocrine resistance in breast cancer – an overview and update“, *Molecular and Cellular Endocrinology*, Jg. 418, Nr. 3, S. 220–234, 2015.
- [75] J. Shou, S. Massarweh, C. K. Osborne u. a., „Mechanisms of Tamoxifen Resistance : Increased Estrogen Receptor-HER2 / neu Cross-Talk in ER / HER2 – Positive Breast Cancer“, *Journal of National Cancer Institute*, Jg. 96, Nr. 12, S. 926–935, 2004.
- [76] S. Massarweh, C. K. Osborne, C. J. Creighton u. a., „Tamoxifen resistance in breast tumors is driven by growth factor receptor signaling with repression of classic estrogen receptor genomic function“, *Cancer Research*, Jg. 68, Nr. 3, S. 826–833, 2008.
- [77] R. Yerushalmi, K. Gelmon, S. Leung u. a., „Insulin-like growth factor receptor (IGF-1R) in breast cancer subtypes“, *Breast Cancer Research*, Jg. 132, S. 131–142, 2012.
- [78] D. T. Kruger, A. Xanthippi, M. Opdam u. a., „IGF-1R pathway activation as putative biomarker for linsitinib therapy to revert tamoxifen resistance in ER-positive breast cancer“, *International Journal of Cancer*, Jg. 146, Nr. 8, S. 2348–2359, 2020.
- [79] Y. Zhang, M. Moerkens, S. Ramaiahgari u. a., „Elevated insulin-like growth factor 1 receptor signaling induces antiestrogen resistance through the MAPK / ERK and PI3K / Akt signaling routes“, *Breast Cancer Research*, Jg. 13, Nr. 3, S. 1–16, 2011.
- [80] Y. Wallez, S. Riedl und E. Pasquale, „Association of the Breast Cancer Antiestrogen Resistance Protein 1 (BCAR1) and BCAR3 Scaffolding Proteins in Cell Signaling and Antiestrogen Resistance“, *The Journal of biological Chemistry*, Jg. 289, Nr. 15, S. 10 431–10 444, 2014.
- [81] A. Brinkman, S. van der Flier, E. Kok u. a., „BCAR1 , a Human Homologue of the Adapter Protein p130Cas , and Antiestrogen Resistance in Breast Cancer Cells“, *Journal of the National Cancer Institute*, Jg. 92, Nr. 2, S. 112–120, 2000.

- [82] T. van Agthoven, T. Van Agthoven, A. Dekker u. a., „Identification of BCAR3 by a random search for genes involved in antiestrogen resistance of human breast cancer cells“, *The EMBO Journal*, Jg. 17, Nr. 10, S. 2799–2808, 1998.
- [83] S. Van Der Flier, A. Brinkman, M. Look u. a., „Bcar1/p130Cas protein and primary breast cancer: Prognosis and response to tamoxifen treatment“, *Journal of the National Cancer Institute*, Jg. 92, Nr. 2, S. 120–127, 2000.
- [84] A. H. Bouton, R. Riggins und P. Bruce-Staskal, „Functions of the adapter protein Cas: signal convergence and the determination of cellular responses“, *Oncogene - Nature*, Jg. 20, Nr. 44, S. 6448–6458, 2001.
- [85] R. B. Riggins, K. Thomas, H. Ta u. a., „Physical and Functional Interactions between Cas and c-Src Induce Tamoxifen Resistance of Breast Cancer Cells through Pathways Involving Epidermal Growth Factor Receptor and Signal Transducer and Activator of Transcription 5b“, *Cancer Research*, Jg. 66, Nr. 14, S. 7007–7016, 2006.
- [86] M. D. Planas-Silva und K. N. Hamilton, „Targeting c-Src kinase enhances tamoxifen’s inhibitory effect on cell growth by modulating expression of cell cycle and survival proteins“, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, Jg. 60, Nr. 4, S. 535–543, 2006.
- [87] R. S. Schrecengost, R. Riggins, K. Thomas u. a., „Breast Cancer Antiestrogen Resistance-3 Expression Regulates Breast Cancer Cell Migration through Promotion of p130Cas Membrane Localization and Membrane Ruffling“, *Cancer Research*, Jg. 67, Nr. 13, S. 6174–6182, 2007.
- [88] M. Rudas, M. Lehnert, A. Huynh u. a., „Cyclin D1 expression in breast cancer patients receiving adjuvant tamoxifen-based therapy“, *Clinical Cancer Research*, Jg. 14, Nr. 6, S. 1767–1774, 2008.
- [89] M. Stendahl, A. Kronbald, L. Ryden u. a., „Cyclin D1 overexpression is a negative predictive factor for tamoxifen response in postmenopausal breast cancer patients“, *British Journal of Cancer*, Jg. 90, Nr. 10, S. 1942–1948, 2004.

- [90] Y. Ishii, S. Waxman und D. Germain, „Tamoxifen Stimulates the Growth of Cyclin D1 – Overexpressing Breast Cancer Cells by Promoting the Activation of Signal Transducer and Activator of Transcription 3“, *Cancer Research*, Jg. 68, Nr. 3, S. 852–861, 2008.
- [91] S. F. Doisneau-Sixou, C. Sergio, J. Caroll u. a., „Estrogen and antiestrogen regulation of cell cycle progression in breast cancer cells“, *Endocrine-Related Cancer*, Jg. 10, Nr. 2, S. 179–186, 2003.
- [92] C. E. Caldon, C. Sergio, J. Kang u. a., „Cyclin E2 overexpression is associated with endocrine resistance but not insensitivity to CDK2 inhibition in human breast cancer cells“, *Molecular Cancer Therapeutics*, Jg. 11, Nr. 7, S. 1488–1500, 2012.
- [93] N. Sobhani, A. D’Ángelo, M. Pittacolo u. a., „Updates on the CDK4 / 6 Inhibitory Strategy and Combinations in Breast Cancer“, *Cells*, Jg. 8, Nr. 321, S. 1–30, 2019.
- [94] C. Desmedt, F. E. Ouriaghli, V. Durbecq u. a., „Impact of cyclins E, neutrophil elastase and proteinase 3 expression levels on clinical outcome in primary breast cancer patients“, *International Journal of Cancer*, Jg. 119, Nr. 11, S. 2539–2545, 2006.
- [95] P. N. Span, V. Tjan-Heijnen, P. Manders u. a., „Cyclin-E is a strong predictor of endocrine therapy failure in human breast cancer“, *Oncogene*, Jg. 22, Nr. 31, S. 4898–4904, 2003.
- [96] W. A. Siddiqui, A. Ahad und H. Ahsan, „The mystery of BCL2 family: Bcl-2 proteins and apoptosis: an update“, *Archives of Toxicology*, Jg. 89, Nr. 3, S. 289–317, 2015.
- [97] E. Cannings, T. Kirkegaard, S. Tovey u. a., „Bad expression predicts outcome in patients treated with tamoxifen“, *Breast Cancer Research and Treatment*, Jg. 102, Nr. 2, S. 173–179, 2007.
- [98] E. Catanzaro, F. Seghetti, C. Calcabrini u. a., „Identification of a new tamoxifen-xanthene hybrid as pro-apoptotic anticancer agent“, *Bioorganic Chemistry*, Jg. 86, S. 538–549, 2019.

- [99] R. Viedma-Rodriguez, L. Baiza-Gutman, A. Garcia-Carranca u. a., „Suppression of the death gene BIK is a critical factor for resistance to tamoxifen in MCF-7 breast cancer cells“, *International Journal of Oncology*, Jg. 43, Nr. 6, S. 1777–1786, 2013.
- [100] J. Liu, W. Yue und H. Chen, „The correlation between autophagy and tamoxifen resistance in breast cancer“, *International Journal of Experimental Pathology*, Jg. 12, Nr. 6, S. 2066–2074, 2019.
- [101] P. V. Schoenlein, S. Periyasamy-Thandavan, J. Samaddar u. a., „Autophagy facilitates the progression of ER alpha-positive breast cancer cells to antiestrogen resistance“, *Autophagy*, Jg. 5, Nr. 3, S. 400–403, 2009.
- [102] S. John, I. Nayvelt, H.-C. Hsu u. a., „Regulation of Estrogenic Effects by Beclin 1 in Breast Cancer Cells“, *Cancer Research*, Jg. 68, Nr. 19, S. 7855–7864, 2008.
- [103] M. A. Qadir, B. Kwok, W. Dragowska u. a., „Macroautophagy inhibition sensitizes tamoxifen-resistant breast cancer cells and enhances mitochondrial depolarization“, *Breast Cancer Research and Treatment*, Jg. 112, Nr. 3, S. 389–403, 2008.
- [104] I. Kastrati, S. E. Joosten, S. E. Semina u. a., „The NF- κ B pathway promotes tamoxifen tolerance and disease recurrence in estrogen receptor-positive breast cancers“, *Molecular Cancer Research*, Jg. 18, Nr. 7, S. 1018–1027, 7 2020.
- [105] P. Khongthong, A. K. Roseweir und J. Edwards, „The NF-KB pathway and endocrine therapy resistance in breast cancer“, *Endocrine-Related Cancer*, Jg. 26, Nr. 6, R369–R380, 2019.
- [106] R. Chen, L. Wang, S. Liu u. a., „Bcl-3 is a novel biomarker of renal fibrosis in chronic kidney disease“, *Oncotarget*, Jg. 8, Nr. 57, S. 97 206–97 216, 2017.
- [107] H. Ohno, G. Takimoto und T. McKeithan, „The candidate proto-oncogene bcl-3 is related to genes implicated in cell lineage determination and cell cycle control“, *Cell*, Jg. 60, Nr. 6, S. 991–997, 1990.
- [108] P. E. Crossen, „Cytogenetic and Molecular Changes in Chronic B-Cell Leukemia“, *Cancer Genetics and Cytogenetics*, Jg. 43, Nr. 2, S. 143–150, 1989.

- [109] F. Michel, M. Soler-Lopez, C. Petosa u. a., „Crystal structure of the ankyrin repeat domain of Bcl-3 : a unique member of the I κ B protein family“, *The EMBO Journal*, Jg. 20, Nr. 22, S. 6180–6190, 2001.
- [110] V. Wang, Y. Li, D. Kim u. a., „Bcl3 phosphorylation by Akt, Erk2 and IKK is required for its transcriptional activity“, *Molecular Cell*, Jg. 67, Nr. 3, S. 484–497, 2016.
- [111] Q. Zhang, J. Didonato, M. Karin u. a., „BCL3 encodes a nuclear protein which can alter the subcellular location of NF- κ B proteins“, *Molecular and Cellular Biology*, Jg. 14, Nr. 6, S. 3915–3926, 1994.
- [112] K. Saamarthy, S. Björner, M. Johansson u. a., „Early diagnostic value of Bcl-3 localization in colorectal cancer“, *BMC Cancer*, Jg. 15, Nr. 341, S. 1–9, 2015.
- [113] R. Massoumi, K. Chmielarska, K. Hennecke u. a., „Cyd1 Inhibits Tumor Cell Proliferation by Blocking Bcl-3-Dependent NF- κ B Signaling“, *Cell*, Jg. 125, S. 665–677, 2006.
- [114] R. Massoumi, S. Kuphal, C. Hellerbrand u. a., „Down-regulation of CYLD expression by Snail promotes tumor progression in malignant melanoma“, *Journal of Experimental Medicine*, Jg. 206, Nr. 1, S. 221–232, 2009.
- [115] B. Zhang, E. Harhaj, L. Bell u. a., „Bcl-3 Expression and Nuclear Translocation Are Induced by Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor and Erythropoietin in Proliferating Human Erythroid Precursors“, *Blood*, Jg. 92, Nr. 4, S. 1225–1234, 1998.
- [116] A. R. Brasier, M. Lu, T. Hai u. a., „NF- κ B-inducible BCL-3 Expression is an Autoregulatory Loop Controlling Nuclear p50 / NF- κ B1 Residence“, *The Journal of Biological Chemistry*, Jg. 276, Nr. 34, S. 32 080–32 093, 2001.
- [117] S. Rocha, A. Martin, D. Meek u. a., „p53 represses cyclin D1 transcription through down regulation of BCL-3 and inducing increased association of the p52 NF- κ B subunit with histone deacetylase 1“, *Molecular and Cellular Biology*, Jg. 23, Nr. 13, S. 4713–4727, 2003.

- [118] D. Legge, A. C. Chambers, C. Parker u. a., „The role of B-Cell Lymphoma-3 (BCL-3) in enabling the hallmarks of cancer : implications for the treatment of colorectal carcinogenesis“, *Carcinogenesis*, Jg. 41, Nr. 3, S. 249–256, 2020.
- [119] G. Franzoso, V. Bours, V. Azarenko u. a., „The oncoprotein Bcl-3 can facilitate NF-kappa B-mediated transactivation by removing inhibiting p50 homodimers from select kappa B sites.“, *The EMBO Journal*, Jg. 12, Nr. 10, S. 3893–3901, 1993.
- [120] V. Bours, G. Franzoso, V. Azarenko u. a., „The Oncoprotein BCL-3 Directly Transactivates through kB Motifs via Association with DNA-Binding p50B Homodimers“, *Cell*, Jg. 72, S. 729–739, 1993.
- [121] F. Takashi, G. Nolan, H. Liou u. a., „The candidate proto-oncogene bcl-3 encodes a transcriptional coactivator that activates through NF-kB“, *Genes and Development*, Jg. 7, S. 1354–1363, 1993.
- [122] J. C. Ruaidhri, Q. Ruan, S. Palmer u. a., „Negative regulation of toll-like receptor signaling by NF-kappaB p50 ubiquitination blockade“, *Science*, Jg. 317, S. 675–679, 2007.
- [123] A. Keutgens, K. Shostak, P. Close u. a., „The Repressing Function of the Oncoprotein BCL-3 Requires CtBP , while Its Polyubiquitination and Degradation Involve the E3 Ligase TBLR1“, *Molecular and Cellular Biology*, Jg. 30, Nr. 16, S. 4006–4021, 2010.
- [124] D. Kahsatus, P. Cogswell und A. Baldwin, „Expression of the Bcl-3 proto-oncogene suppresses p53 activation“, *Genes and Development*, Jg. 20, S. 225–235, 2005.
- [125] A. Wakefield, J. Soukupova, A. Montagne u. a., „Bcl3 selectively promotes metastasis of ERBB2-driven mammary tumors“, *Cancer Research*, Jg. 73, Nr. 2, S. 745–755, 2013.
- [126] D. J. Turnham, W. Yang, J. Davies u. a., „Bcl-3 promotes multi-modal tumour cell migration via NF- κ B1 mediated regulation of Cdc42“, *Carcinogenesis*, Jg. 41, Nr. 10, S. 1432–1443, 2020.

- [127] W. Y. Au, D. Horsman, H. Ohno u. a., „Bcl-3/IgH translocation (14;19)(q32;q13) in Non- Hodgkin's Lymphomas“, *Leukemia & Lymphoma*, Jg. 43, Nr. 4, S. 813–816, 2002.
- [128] O. Canoz, G. Rassidakis, J. Admirand u. a., „Immunohistochemical detection of BCL-3 in lymphoid neoplasms : a survey of 353 cases“, *Modern Pathology*, Jg. 17, S. 911–917, 2004.
- [129] N. J. Thornburg, R. Pathmanathan und N. Raab-Traub, „Activation of Nuclear Factor- κ B p50 Homodimer / Bcl-3 Complexes in Nasopharyngeal Carcinoma“, *Cancer Management and Research*, Jg. 63, Nr. 35, S. 8293–8301, 2003.
- [130] J. Pallares, J. Martinez-Giutarte, X. Dolcet u. a., „Abnormalities in the NF- κ B family and related proteins in endometrial carcinoma“, *Journal of Pathology*, Jg. 204, S. 569–577, 2004.
- [131] K. Ahlqvist, K. Saamarthy, A. S. S. Khaja u. a., „Expression of Id proteins is regulated by the Bcl-3 proto-oncogene in prostate cancer“, *Oncogene*, Jg. 32, S. 1601–1608, 2013.
- [132] H. Zhao, W. Wang, Q. Zhao u. a., „BCL3 exerts an oncogenic function by regulating STAT3 in human cervical cancer“, *OncoTargets and Therapy*, Jg. 9, S. 6619–6629, 2016.
- [133] K. Tu, Z. Liu, B. Yao u. a., „BCL-3 promotes the tumor growth of hepatocellular carcinoma by regulating cell proliferation and the cell cycle through cyclin D1“, *Oncology Reports*, Jg. 35, S. 2382–2390, 2016.
- [134] J. Dai, Y. Lu, J. Wang u. a., „A four-gene signature predicts survival in clear-cell renal-cell carcinoma“, *Oncotarget*, Jg. 7, Nr. 50, S. 82 712–82 726, 2016.
- [135] P. C. Cogswell, D. C. Guttridge, W. K. Funkhouser u. a., „Selective activation of NF- κ B subunits in human breast cancer: potential roles for NF- κ B2/p52 and for Bcl-3“, *Oncogene - Nature*, Jg. 19, Nr. 9, S. 1123–1131, 2000.
- [136] V. Maldonado und J. Melendez-Zajgla, „Role of Bcl-3 in solid tumors“, *Molecular Cancer*, Jg. 10, Nr. 152, S. 1–7, 2011.

- [137] S. D. Westerheide, M. Mayo, V. Anest u. a., „The Putative Oncoprotein Bcl-3 Induces Cyclin D1 To Stimulate G1 Transition“, *Molecular and Cellular Biology*, Jg. 21, Nr. 24, S. 8428–8436, 2001.
- [138] X. Chen, X. Cao, X. Sun u. a., „Bcl-3 regulates TGF- β signaling by stabilizing Smad3 during breast cancer pulmonary metastasis“, *Cell Death and Disease*, Jg. 7, Nr. 12, 2016.
- [139] M. A. C. Pratt, T. Bishop, D. White u. a., „Estrogen Withdrawal-Induced NF-kB Activity and Bcl-3 Expression in Breast Cancer Cells: Roles in Growth and Hormone Independence“, *Molecular and Cellular Biology*, Jg. 23, Nr. 19, S. 6887–6900, 2003.
- [140] B. Leyh, A. Dittmer, T. Lange u. a., „Stromal cells promote anti-estrogen resistance of breast cancer cells through an insulin-like growth factor binding protein 5 (IGFBP5)/B-cell leukemia/lymphoma 3 (Bcl-3) axis“, *Oncotarget*, Jg. 6, Nr. 36, S. 39307–39328, 2015.
- [141] B. Y. Ahn, A. Elwi, B. Lee u. a., „Genetic screen identifies Insulin-like growth factor binding protein 5 as a modulator of tamoxifen resistance in breast cancer“, *Cancer Research*, Jg. 70, Nr. 8, S. 3013–3019, 2010.
- [142] D. Carr, A. Zein, J. Coulombe u. a., „Multiple roles for Bcl-3 in mammary gland branching, stromal collagen invasion, involution and tumor pathology“, *Breast Cancer Research*, Jg. 24, S. 1–20, 2022.
- [143] A. Ignatov, T. Ignatov, C. Weißenborn u. a., „G-protein-coupled estrogen receptor GPR30 and tamoxifen resistance in breast cancer“, *Breast Cancer Research and Treatment*, Jg. 128, S. 457–466, 2011.
- [144] P. Czapiewski, M. Cornelius, R. Hartig u. a., „BCL3 expression is strongly associated with the occurrence of breast cancer relapse under tamoxifen treatment in a retrospective cohort study“, *Virchows Archiv*, Jg. 430, S. 529–541, 2022.
- [145] S. L. Spruance, J. Reid, M. Grace u. a., „Hazard Ratio in Clinical Trials“, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Jg. 48, Nr. 8, S. 2787–2792, 2004.
- [146] P. Kumar und R. Aggarwal, „An overview of triple-negative breast cancer“, *Archives of Gynecology and Obstetrics*, Jg. 293, Nr. 2, S. 247–269, 2016.

- [147] E. C. Inwald, M. Klinkhammer-Schalke, F. Hofstädter u. a., „Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients : results of a large population-based cohort of a cancer registry“, *Breast Cancer Research and Treatment*, Jg. 139, Nr. 2, S. 539–552, 2013.
- [148] P. A. Francis, O. Pagani, G. F. Fleming u. a., „Tailoring Adjuvant Endocrine Therapy for Premenopausal Breast Cancer“, *New England Journal of Medicine*, Jg. 379, Nr. 2, S. 122–137, 2018.
- [149] X. Chen, C. Wang, Y. Jiang u. a., „Bcl-3 promotes Wnt signaling by maintaining the acetylation of β -catenin at lysine 49 in colorectal cancer“, *Signal Transduction and Targeted Therapy*, Jg. 5, Nr. 52, 2020.
- [150] K. R. Walter, M. E. Ford, M. J. Gregoski u. a., „Advanced glycation end products are elevated in estrogen receptor- positive breast cancer patients , alter response to therapy , and can be targeted by lifestyle intervention“, *Breast Cancer Research and Treatment*, Jg. 173, Nr. 3, S. 559–571, 2019.
- [151] D. N. Legge, A. P. Shephard, T. J. Collard u. a., „BCL-3 promotes a cancer stem cell phenotype by enhancing β -catenin signalling in colorectal tumour cells“, *DMM Disease Models and Mechanisms*, Jg. 12, Nr. 3, S. 1–62, 2019.
- [152] M. P. Stemmler, „Cadherins in development and cancer“, *Molecular BioSystems*, Jg. 4, Nr. 8, S. 835–850, 2008.
- [153] W. J. Nelson und R. Nusse, „Convergence of Wnt, β -Catenin, and Cadherin pathways“, *Science*, Jg. 303, Nr. 5663, S. 1483–1487, 2004.
- [154] D. J. Dabbs, M. Kaplai, M. Chivukula u. a., „The Spectrum of Morphomolecular Abnormalities of the E-Cadherin / Catenin Complex in Pleomorphic Lobular Carcinoma of the Breast“, *Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, Jg. 15, Nr. 3, S. 260–266, 2007.
- [155] M. Porsch, E. Özdemir, M. Wisniewski u. a., „Time resolved gene expression analysis during tamoxifen adaption of MCF-7 cells identifies long non-coding RNAs with prognostic impact“, *RNA Biology*, Jg. 16, Nr. 5, S. 661–674, 2019.

- [156] M. J. Sikora, B. M. Jacobsen, K. Levine u. a., „WNT4 mediates estrogen receptor signaling and endocrine resistance in invasive lobular carcinoma cell lines“, *Breast Cancer Research*, Jg. 18, Nr. 92, S. 1–16, 2016.
- [157] R. Haque, R. Chlebowski, J. Schottinger u. a., „Aromatase Inhibitors, Tamoxifen, and Endometrial Cancer in Breast Cancer Survivors“, *Cancer*, Jg. 121, Nr. 13, S. 1–9, 2015.
- [158] X. Xu, R. T. Chlebowski, J. Shi u. a., „Aromatase inhibitor and tamoxifen use and the risk of venous thromboembolism in breast cancer survivors“, *Breast Cancer Research and Treatment*, Jg. 174, Nr. 3, S. 785–794, 2019.
- [159] S. Vallabhapurapu und M. Karin, „Regulation and function of NF- κ B transcription factors in the immune system“, *Annual Review of Immunology*, Jg. 27, S. 693–733, 2009.
- [160] Y. Cao, G. Bonizzi, T. N. Seagroves u. a., „IKK α provides an essential link between RANK signaling and cyclin D1 expression during mammary gland development“, *Cell*, Jg. 107, Nr. 6, S. 763–775, 2001.
- [161] F. O. Baxter, P. J. Came, K. Abell u. a., „IKK β /2 induces TWEAK and apoptosis in mammary epithelial cells“, *Development*, Jg. 133, Nr. 17, S. 3485–3494, 2006.

Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei all den Menschen bedanken, die mich auf meinem Weg zur Fertigstellung dieser Dissertation unterstützt haben.

Besonderer Dank gebührt Priv.-Doz. Dr. Norbert Naß, für seine hervorragende Anleitung, seine Geduld und sein unermüdliches Engagement bei der Betreuung meiner Arbeit.

Ein weiterer großer Dank gilt Priv.-Doz. Dr. med. habil. Piotr Czapiewski für die Anfertigung und Auswertung der Schnittpräparate. Darüber hinaus möchte ich mich bei allen Labormitarbeitern herzlich bedanken.

In tiefster Dankbarkeit möchte ich meine Eltern hervorheben, die mich während meines gesamten Bildungsweges und auch bei der Fertigstellung dieser Dissertation unermüdlich unterstützt und ermutigt haben.

Ehrenerklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

Prognostische Relevanz der BCL-3 Expression im Tamoxifen resistenten Mammakarzinom

am Institut für Pathologie der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg

mit Unterstützung durch PD. Dr. Norbert Naß

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den [Datum]

[Maxmilian Cornelius]

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Maximilian Cornelius
Geburtsdatum: 12.02.1995
Geburtsort: Langenhagen
Staatsangehörigkeit: Deutsch

Schulbildung

- **Grundschule auf der Wunderburg, Oldenburg**
2001 bis 2005
- **Herbartgymnasium, Oldenburg**
2005 bis 2011
- **Blundells School, Tiverton, England**
2011 bis 2012
- **Helene-Lange Schule, Oldenburg**
2012 bis 2014

Hochschulbildung

- **Pommersche Medizinische Universität**
2014 bis 2016
- **Otto-von-Guericke Universität**
2016 bis 2019
- **Charité – Universitätsmedizin Berlin**
2019 bis 2021

Berufsbiographie

- **Assistenzarzt, Klinik für Innere Medizin - Kardiologie, DRK Kliniken Berlin Westend**
seit 2021

Magdeburg, den 22.05.2024

[Maximilian Cornelius]