

## **Abschlussbericht der Promotionsförderung der Hamburger Krebsgesellschaft e.V. im Projekt:**

„Molekulare Wirkmechanismen des nukleären Rezeptors  
NR2F6 in Endometriumkarzinomzellen und sein Einfluss auf  
die Chemosensitivität“

### **Stipendiatin:**

**Helena Alberti**  
(Promotionsstudentin der Humanmedizin)

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf  
Zentrum für Operative Medizin  
Klinik und Poliklinik für Gynäkologie  
Campus Forschung I - N27  
Martinistraße 52  
20246 Hamburg  
Email: [helena.alberti@stud.uke.uni-hamburg.de](mailto:helena.alberti@stud.uke.uni-hamburg.de)

### **Betreuerin:**

**Prof. Dr. rer. nat. Leticia Oliveira-Ferrer**  
(Wissenschaftliche Laborleiterin)

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf  
Zentrum für Operative Medizin  
Klinik und Polyklinik für Gynäkologie  
Campus Forschung I - N27, Raum 00.065  
Martinistraße 52  
20246 Hamburg  
Email: [ferrer@uke.de](mailto:ferrer@uke.de)

# **Molekulare Wirkmechanismen des nukleären Rezeptors NR2F6 in Endometriumkarzinomzellen und sein Einfluss auf die Chemosensitivität**

## **Einleitung**

Das Endometriumkarzinom ist die häufigste maligne gynäkologische Tumorerkrankung. Frühe Stadien sind in der Regel gut behandelbar, während die Prognose bei fortgeschrittener oder rezidivierter Erkrankung deutlich eingeschränkt ist. Zu den wichtigsten Risikofaktoren zählen das Lebensalter, langfristig erhöhte Östrogenspiegel, Übergewicht und Diabetes mellitus. Die steigende Inzidenz der Erkrankung wird neben der zunehmenden Alterung der Gesellschaft auch auf die Verbreitung westlicher Lebensgewohnheiten zurückgeführt.

Die Daten des „The Cancer Genome Atlas (TCGA)“- Projekts führten angesichts der heterogenen Tumorbiologie des Endometriumkarzinoms zu weitreichenden Erkenntnissen. Es resultierte eine neue Klassifikation in vier Subtypen, basierend auf molekulargenetischen Eigenschaften. Diese Subtypen sind eng mit der Prognose sowie therapeutischen Implikationen verknüpft. Sie reflektieren zugrundeliegende molekulare Alterationen, die zunehmend an Bedeutung als prädiktive Biomarker für zielgerichtete Therapien und differenzierte immunonkologische Behandlungsstrategien gewinnen.

Zu den prominentesten Beispielen der Immunonkologie zählen die Mikrosatelliteninstabilität und die Expression von PD-L1, die als relevante Prädiktoren für das Ansprechen auf Immuncheckpoint-Inhibitoren klinisch fest etabliert sind.

Vor diesem Hintergrund rücken weitere molekulare Faktoren in den Fokus, die sowohl zur tumorbiologischen Charakterisierung des Endometriumkarzinoms beitragen als auch potenzielle therapeutische Zielstrukturen darstellen können. Ein solcher Kandidat ist der nukleäre Rezeptor NR2F6, der als Transkriptionsfaktor für verschiedene regulatorische Funktionen in einer Zelle zuständig ist. Patientinnen, bei denen eine starke Expression von NR2F6 in Tumorzellen gefunden wurde, zeigten ein signifikant längeres Überleben im Vergleich zu jenen, mit einer niedrigen oder negativen NR2F6-Expression. In weiteren Analysen konnte NR2F6 als ein unabhängiger Prognosemarker bestätigt werden. Als zentraler Regulator der Tumor-Immun-Dynamik rückt NR2F6 entitätenübergreifend in den Fokus immunonkologischer Forschung.

## **Zielsetzung**

Ziel dieses Projektes ist es, neue Erkenntnisse über die molekularen Mechanismen zu gewinnen, die dem antitumorogenen Effekt von NR2F6 in Endometriumkarzinomzellen zugrunde liegen. Darüber hinaus soll die Rolle von NR2F6 im Immunkompartiment im Kontext der Tumorgenese spezifiziert werden. Im Zentrum steht dabei die Frage, ob und in welcher Form NR2F6 ein potenzielles Ziel für zukünftige immuntherapeutische Strategien beim Endometriumkarzinoms darstellt.

## **Vorgehen und Ergebnisse**

Zunächst wurden Patientenproben sowie etablierte Endometriumkarzinomzelllinien hinsichtlich ihrer NR2F6-Expression subtypenübergreifend charakterisiert. Dabei wurden sowohl die mRNA- als auch die Proteinexpression miteinander verglichen. Auf mRNA-Ebene zeigten sich in Gewebeproben von Patienten deutlich höhere NR2F6-Expressionslevel als in etablierten, kommerziell erhältlichen Endometriumkarzinomzelllinien. Darüber hinaus wurden Unterschiede in Abhängigkeit von der Herkunft des Patientengewebes beobachtet, wobei die höchsten mRNA-Level in solidem Tumorgewebe nachweisbar waren.

Auf Proteinebene zeigte sich hingegen keine Korrelation mit den mRNA-Daten. Die höchste Proteinexpression fand sich in einer kommerziell akquirierten Endometriumkarzinomzelllinie.

Zur Untersuchung funktioneller Effekte einer veränderten NR2F6-Expression wurden mittels lentiviraler Transduktion stabil NR2F6-überexprimierende Endometriumkarzinomzellen generiert und in funktionellen Assays untersucht. Dabei wurden sowohl die Proliferation als auch die Zytotoxizität gegenüber klinisch relevanten Chemotherapeutika analysiert. Während hinsichtlich der Proliferation keine Unterschiede zwischen Zellen mit hoher und niedriger NR2F6-Expression festgestellt werden konnten, zeigten sich signifikante Unterschiede in der Sensitivität gegenüber den eingesetzten Zytostatika. Diese Unterschiede wurden sowohl in zweidimensionalen als auch in dreidimensionalen Zellkulturmodellen untersucht. Die erstellten Dosis-Wirkungs-Kurven weisen signifikant veränderte Sensitivitätsprofile bei insgesamt konsistenten Kurvenverläufen auf. Diese vorliegenden Ergebnisse deuten auf eine modulierende Funktion von NR2F6 hinsichtlich der Chemosensitivität hin, wobei von komplexen zugrunde liegenden Mechanismen auszugehen ist.

Ein weiterer Schwerpunkt des Projektes befasst sich mit der immunhistochemischen Analyse von NR2F6 in Patientenproben. Mittels simultaner Doppelfärbung wurde die Expression von NR2F6 im Zusammenhang mit der Infiltration von CD3-positiven T-Zellen als Repräsentanten des Immunkompartiments untersucht. Dabei erfolgte eine differenzierte Betrachtung von Tumor- und Stromakompartimenten. Es zeigt sich ein Trend zu einer inversen Korrelation, der mit der Hypothese einer immunmodulatorischen Funktion von NR2F6 vereinbar ist.

## **Ausblick**

Insbesondere die sich in den immunhistochemischen Analysen identifizierten Trends werden aktuell im Rahmen einer internationalen Kooperation in erweiterten Untersuchungen an größeren Patientenkollektiven vertieft. Ergänzend sind RNA-Sequenzanalysen vorgesehen, um NR2F6-assoziierte differenzielle Expressionsmuster und zugrunde liegende Signalwege zu identifizieren. Eine Publikation der daraus resultierenden Daten ist geplant.