

Evaluation klinischer Surrogatmarker zur Prädiktion der Immunzellinfiltration von Weichteilsarkomen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin (Dr. med.)

an der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

Avi Schotland

aus

Köln

2026

Betreuer:in / Gutachter:in der Dissertation: PD Dr. Anna Duprée

Gutachter:in der Dissertation: Prof. Dr. Parisa Moll-Khosrawi

Vorsitz der Prüfungskommission: Prof. Dr. Parisa Moll-Khosrawi

Mitglied der Prüfungskommission: Prof. Dr. Oliver Mann

Mitglied der Prüfungskommission: PD Dr. Matthias Priemel

Datum der mündlichen Prüfung: 11.08.2026

Inhaltsverzeichnis

1. Arbeitshypothese und Fragestellung	1
2. Einleitung.....	2
2.1 Grundlagen der Tumorart Weichteilsarkom	2
2.2 Grundlagen der immunonkologischen Behandlung	8
2.3 Immunonkologische Behandlung der Weichteilsarkome	10
2.3.1 Mechanismus der Immunantwort bei Sarkom Zellen.....	10
2.3.2 Immuncheckpoint-Inhibitoren in der Tumorthherapie	11
2.3.3 Immuncheckpoint-Inhibitoren in Kombination mit Chemotherapie	12
2.3.4 Immuncheckpoint-Inhibitoren in Kombination mit Tyrosinkinase Inhibitoren	13
2.3.5 Biomarker und Ihre Rolle in der Immuntherapie bei Weichteilsarkomen.....	14
2.4 Das Tumormikroumfeld bei Weichgewebssarkomen	16
2.5 Exhausted T-Zellen: Mechanismen und therapeutisches Potenzial	17
2.6 Der Surrogatmarker als prädiktiver Parameter	18
3. Material und Methoden.....	20
3.1 Vorarbeiten	20
3.1.1 Immunprofil der T-Zellen in den Patientenproben.....	21
3.2 Patientenkollektiv.....	22
3.3 Datenerhebung.....	23
3.4 Statistische Auswertung	24
4. Ergebnisse.....	25
4.1 Klinischer und histopathologischer Subtyp und Immunzellinfiltration	25
4.1.1 Durchflusszytometrisch erfasste Marker Expression in Abhängigkeit von Tumorparametern	25
4.1.1.1. Erhöhte T-Zellinfiltration beim dedifferenzierten Liposarkom sowie G3-Tumoren	25
4.1.2. Durchflusszytometrisch erfasste Marker Expression in Abhängigkeit von adjuvanter Therapie und Tumorrezidiv.....	27
4.1.2.1 Tumorrezidive gehen mit erhöhter Immunzellinfiltration einher	27
4.1.3. Durchflusszytometrisch erfasste Expression in Abhängigkeit von klinischen Patientenfaktoren	28
4.1.3.1 Immunzellinfiltration in Abhängigkeit vom ECOG-Status	29
4.1.3.2 Zusammenhang zwischen Alter und DN T-Zellen	29
4.1.4 Durchflusszytometrisch erfasste Expression in Abhängigkeit von systemischer Tumorsymptomatik und postoperativen Komplikationen	30
4.1.4.1 B-Symptomatik ist mit erhöhter Immunzellinfiltration und Checkpoint-Expression assoziiert.....	30

4.2 Laborchemische Analyse und Immunzellinfiltration	31
4.2.1 Korrelationen zwischen T-Zellinfiltration und klinisch-chemischen Parametern im Tumorgewebe ..	31
4.2.1.1 Erhöhte Immunzellinfiltration ist mit vermindertem Hämoglobin und erhöhter Leberenzymaktivität assoziiert	32
4.2.2. Korrelationen zwischen T-Zellinfiltration und klinisch-chemischen Parametern im Blut	33
4.2.2.1 T-Zellinfiltration im Blut zeigt keine laborchemischen Korrelationen	33
5. Diskussion	35
5.1. T-Zell-Zunahme ohne verlässlichen Therapie-Benefit	35
5.2. Grad-3-Sarkome mit einer höheren Immunzellichte, aber häufig erschöpfter Immunantwort	36
5.3. Tumorrezidive mit erhöhter PD-1-Expression	37
5.4 Klinische Fitness als Surrogatmarker der Tumorimmunität: ECOG, NLR und TILs im Zusammenspiel	39
5.5. Doppelnegative T-Zellen als Bindeglied zwischen Immunoseneszenz und tumorassoziierter Entzündungsreaktion.....	40
5.6. Spezifische Laborparameter korrelieren mit lokaler Immunaktivität im Weichteilsarkom	41
6. Zusammenfassung/Summary	44
6.1 Deutsch.....	44
6.2 English	45
7. Literaturverzeichnis	46
8. Abkürzungsverzeichnis.....	55
9. Abbildungsverzeichnis.....	57
10. Tabellenverzeichnis.....	57
11. Erklärung des Eigenanteils.....	58
12. Eidesstattliche Versicherung	59
13. Danksagung	60

1. Arbeitshypothese und Fragestellung

Bei Weichteilsarkomen liegen Hinweise vor, die eine ausgeprägte Heterogenität der T-Zell-infiltration betonen. Das Ausmaß sowie die Zusammensetzung des Infiltrats korrelieren dabei mit dem Ansprechen auf immunonkologische Therapien.

In einer Vorstudie wurde die T-Zellinfiltration in operierten Weichteilsarkomen quantitativ bestimmt. Anschließend wurde für diese Kohorte eine Großzahl klinischer Determinanten retrospektiv erhoben und analysiert.

Ziel dieser Untersuchung ist es, anhand klinischer Korrelationsanalysen mögliche Surrogatmarker zu identifizieren, um die tatsächliche intratumorale T-Zellinfiltration vorhersagen zu können.

2. Einleitung

2.1 Grundlagen der Tumorart Weichteilsarkom

Bei Weichteilsarkomen handelt es sich um seltene und heterogene maligne Tumoren, die aus mesenchymalem Gewebe entstehen und mehr als 100 histologischen Subtypen aufweisen. Etwa 1 % aller soliden Tumoren bei Erwachsenen sind Weichteilsarkome (Leitlinienprogramm Onkologie Deutsche Krebsgesellschaft 2022). Insbesondere die Heterogenität der Tumoren erschwert deren Diagnostik und Therapie, wodurch in der Klinik ein spezialisiertes und interdisziplinäres Vorgehen erforderlich ist.

Die Analyse der Krebsregisterdaten des Robert Koch-Instituts aus dem Jahr 2022 zeigte in Deutschland 2.365 Neuerkrankungsfälle bei Männern (Inzidenz von 4,0/100.000) und 2.087 Diagnosen bei Frauen (Inzidenz von 3,3/100.000). Im Durchschnitt erkrankten Menschen dabei geschlechterunabhängig im Alter von etwa 69 Jahren (Robert Koch-Institut (Hrsg.) sowie Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg) 2023).

Im Jahr 2013 wies die Todesursachenstatistik in Deutschland insgesamt 1.509 Menschen aus, die an einem Weichteilsarkom verstorben sind. Frauen waren hierbei mit 803 Fällen etwas häufiger betroffen als Männer mit 706 Todesfällen. Dabei stieg die Zahl der Todesfälle in den Jahren zwischen 2004 und 2013 bei Männern um etwa 2,2 % und bei Frauen um etwa 1 % pro Jahr. Für 2013 und 2014 wies das Zentrum für Krebsregisterdaten eine relative 5-Jahres-Überlebensrate von 64 % bei Männern und 49 % bei Frauen auf (Jochen Schütte et al. 2019).

Weichteilsarkome entstehen hauptsächlich sporadisch ohne eindeutig eruierbare Ätiologie. Die Ursache ist in den meisten Fällen somit unklar. Es gibt jedoch einige Risikofaktoren, die zur Entstehung von Weichteilsarkomen beitragen können. Hereditäre Prädispositionen spielen hierbei eine wichtige Rolle. Erkrankungen wie das Li-Fraumeni-Syndrom, die Neurofibromatose Typ 1, das Retinoblastom oder die familiäre adenomatöse Polyposis sind mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Weichteilsarkomen assoziiert (Jochen Schütte et al. 2019). Iatrogene Ursachen wie ionisierende Strahlung, etwa bei früheren Tumorbehandlungen, in der Kindheit oder bei beruflicher Exposition, sowie der Kontakt mit bestimmten chemischen Substanzen erhöhen das Erkrankungsrisiko (Jochen Schütte et al. 2019). So gilt es als gesichert, dass die Exposition gegenüber Vinylchlorid, wie es in der PVC-

Herstellung eingesetzt wird, mit der Entstehung von Angiosarkomen der Leber assoziiert ist (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft) 2022).

Die Klassifikation der Sarkome basiert auf der histologischen Differenzierung des Tumors und richtet sich in der Regel nach dem Ursprungsgewebe. Die Auswertung der Krebsregisterdaten in Deutschland zeigte für das Jahr 2013 folgende Häufigkeiten (Jochen Schütte et al. 2019):

Tabelle 1: Häufigkeit der histologischen Sarkom Subtypen im Jahr 2013 in Deutschland

Histologischer Subtyp	Anteil [%]
NOS (not otherwise specified)	27,6
Liposarkome	23,1
Leiomyosarkome	14,8
Fibrosarkome	9,7
Pleomorphe Sarkome	6,3
Angiosarkome	5,7
Synovialsarkome	4,5
Rhabdomyosarkome	2,2
Ewing-Sarkom-Familie	1,4
Dermatofibrosarkome	1,2
Epitheloide Sarkome	1,2
Periphere Nervenscheidentumoren	1
Klarzellsarkome	0,8
Chondrosarkome	0,7
Gastrointestinale Stromatumoren	0,5
Chordome	0,3
Osteosarkome	0,2

Klinisch präsentieren sich Weichteilsarkome oft unspezifisch, was die Diagnosestellung erschwert und zu Verzögerungen führen kann. Am Körperstamm und an den Extremitäten manifestieren sich die Tumoren meist als sicht- oder tastbare, schmerzlose, langsam wachsende Schwellungen. Bilden sich die Neoplasien intraabdominell oder im Retroperitoneum, bleibt ihr Wachstum hingegen oft lange unentdeckt. Bei Infiltration oder

Kompression umliegender Organe und Strukturen kann es im fortgeschrittenen Stadium auch zu Schmerzen kommen. Allgemeinsymptome einer malignen Erkrankung wie Fieber, Nachtschweiß oder Gewichtsverlust, die als B-Symptomatik zusammengefasst werden, können in späteren Stadien auftreten (Jochen Schütte et al. 2019).

Die Magnetresonanztomographie (MRT) gilt als Goldstandard zur Diagnostik von Weichteilsarkomen, zur Beurteilung der Tumorausdehnung und zur Differenzierung gegenüber umliegendem Gewebe. Zur besseren Einschätzung, insbesondere für die Detektion von Metastasen, kann die Computertomographie (CT) hilfreich sein. Eine gesicherte Diagnosestellung erfordert jedoch stets eine Gewebeprobe (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft) 2022). Dazu wird in den meisten Fällen eine Stanzbiopsie durchgeführt. Zu beachten ist dabei, dass die Verschleppung von Tumorzellen unbedingt zu vermeiden ist; die Biopsie sollte daher entlang des späteren Resektionsweges erfolgen. Auch können molekulargenetische Untersuchungen von chromosomalen Translokationen oder Mutationen, die für die Diagnostik und Therapie der Subtypen hinweisend sind, ergänzend zur Diagnostik herangezogen werden (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft) 2022).

Je nach Tumorstadium, histologischem Subtyp und Lokalisation des Tumors unterscheidet sich die Therapie der Weichteilsarkome. Die operative Entfernung stellt die wichtigste therapeutische Maßnahme dar und sollte mit einem ausreichenden Sicherheitsabstand erfolgen, um das Rezidivrisiko zu senken. Diese sollte in einer dafür spezialisierten Abteilung erfolgen, mit Zugriff auf ein interdisziplinäres Tumorboard zur kontinuierlichen Evaluation der Erkrankung. Eine neoadjuvante oder adjuvante Strahlentherapie kann ergänzend eingesetzt werden, wenn große Tumoren vorliegen oder eine Resektion schwierig erscheint. In fortgeschrittenen oder metastasierten Stadien ist auch die systemische Chemotherapie von Bedeutung (Jochen Schütte et al. 2019).

Um Tumoren verschiedener Lokalisationen effizient und stadiengerecht klassifizieren und dadurch die geeignete Therapie bestimmen zu können, dient die nachfolgende Tabelle der TNM-Klassifikation gemäß den Vorgaben der UICC/AJCC von 2017 (modifiziert nach Jochen Schütte et al. 2019).

Tabelle 2: TNM-Klassifikation von Weichteilsarkomen (nach UICC/AJCC 2017) (modifiziert nach Jochen Schütte et al. 2019)

Klassifikation	Extremitäten und oberflächlicher Stamm	Retroperitoneum	Kopf-Hals- Bereich	Eingeweide des Thorax und Abdomens
TX	Keine Beurteilung des Primärtumors möglich			
T0	Kein Primärtumor			
T1	Tumor ≤5 cm	Tumor ≤5 cm	Tumor ≤2 cm	Begrenzung des Tumors auf ein Organ
T2a	T2 Tumor > 5 cm und ≤ 10 cm	T2 Tumor > 5 cm und ≤ 10 cm	T2 Tumor > 2 cm und ≤4 cm	Infiltration des Tumors in die Serosa des viszerale Peritoneums (ohne Durchbruch)
T2b				Mikroskopische Ausbreitung jenseits der Serosa
T3	Tumor >10 cm und ≤15 cm	Tumor >10 cm und ≤15 cm	Tumor >4 cm	Infiltration eines zusätzlichen Organs oder makroskopisch sichtbare Ausbreitung über die Serosa

T4a	Tumor >15 cm	Tumor >15 cm	Infiltration der Orbita, Schädelbasis oder Dura, zentraler Eingeweide, Gesichtsknochen oder <i>Musculi pterygoidei</i>	Ausbreitung des Tumors über mehr als zwei Lokalisationen eines Organs (multifokal)
T4b			Infiltration des Gehirns, der prävertebralen Muskulatur, Umschließung der A. carotis	Beteiligung von mehr als zwei, aber nicht mehr als fünf Bereichen (multifokal)
T4c			oder mit Beteiligung des ZNS. Beteiligung von mehr als zwei, aber nicht mehr als fünf Bereichen (multifokal) durch eine perineurale Ausbreitung	Ausbreitung über mehr als fünf Bezirken (multifokal)
NX	Keine Beurteilung der regionären Lymphknoten möglich			
N0	Keine regionäre Lymphknotenmetastasen			
N1	Regionäre Lymphknotenmetastasen			
M0	Keine Fernmetastasen			

Für die Untersuchung in dieser Arbeit sind insbesondere die folgenden drei Subtypen, die zu den häufigsten Sarkom Entitäten zählen (vgl. Tabelle 1), von besonderem Interesse: das gut differenzierte Liposarkom (WDLS), das dedifferenzierte Liposarkom (DDLs) und das nicht weiter spezifizierte Sarkom (NOS).

Das WDLS und das DDLs machen den Hauptteil der Liposarkome aus. Der größte Unterschied besteht in der Differenzierung (gut vs. dedifferenziert) sowie im Grading (WDLS = G1, DDLs meist High-Grade). Beiden gemein ist eine Amplifikation des MDM2-Gens, das das Tumorsuppressorprotein p53 inhibiert, wodurch seine antiproliferativen Effekte sowie die Fähigkeit, die Apoptose der Zellen einzuleiten, blockiert werden und somit das Tumorstadium begünstigt wird (Zafar et al. 2023). Das WDLS präsentiert sich dabei als langsam wachsender Tumor, beispielsweise im Retroperitoneum und in den proximalen Extremitäten. Es hat kaum metastatisches Potenzial und ist mit einer guten Prognose verbunden, wenn eine vollständige chirurgische Entfernung gelingt. Lokalrezidive sind jedoch häufig, wenn es im Retroperitoneum, Mediastinum oder in der paratestikulären Region auftritt (Thomas et al. 2017).

Während im deutschsprachigen Raum teilweise noch der atypische lipomatöse Tumor, typischerweise an Extremitäten oder am Körperstamm gelegen, vom gut differenzierten Liposarkom, meist im Retroperitoneum gelegen, unterschieden wird (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft) 2022), wird in der amerikanischen Literatur aufgrund der klinischen, morphologischen und molekulargenetischen Eigenschaften häufig eine Zusammenfassung beider Entitäten vorgenommen (Piperi et al. 2012). Auch in der vorliegenden Arbeit wurde diese Klassifikation entsprechend der angloamerikanischen Literatur übernommen.

Das DDLs ist eine hochgradig aggressive Erkrankung, die am häufigsten im Retroperitoneum entsteht und mit einer hohen Rate an lokalen und metastatischen Rezidiven sowie einer sechsfach erhöhten krankheitsspezifischen Mortalität im Vergleich zum WDLS assoziiert ist. Gemeinsame morphologische und molekulare Merkmale deuten darauf hin, dass das DDLs als innerhalb einer WDLS-Vorläuferläsion entsteht, wobei 90 % der DDLs innerhalb eines

primären WDLPS und 10 % innerhalb von lokal rezidiertem WDLPS gefunden werden. WDLPS sind weitgehend strahlen- und chemotherapieresistent, während DDLS, insbesondere im G3-Stadium, eine Strahlensensitivität aufweisen und daher im Rahmen multimodaler Konzepte häufig bestrahlt werden (Thomas et al. 2017, Gronchi et al. 2021)

Als nicht weiter spezifiziertes oder undifferenziertes Weichteilsarkome (NOS) wird in der aktuellen Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation für Weichgewebs- und Knochentumoren jene Tumoren beschrieben, die mit den derzeit verfügbaren Untersuchungsmethoden keine erkennbare Differenzierungslinie aufweisen. Diese Gruppe ist äußerst heterogen, und die Diagnose eines NOS bleibt eine Ausschlussdiagnose. NOS können in vier morphologische Untergruppen unterteilt werden: pleomorphe, spindelzellige, rundzellige und epitheloide undifferenzierte Sarkome. Diese kombinierte Gruppe macht bis zu 20 % aller Weichteilsarkome aus (Thway und Fisher 2021).

2.2 Grundlagen der immunonkologischen Behandlung

Bis heute sind die Chirurgie, die Strahlentherapie und die Chemotherapie die zentralen Säulen in der Behandlung onkologischer Erkrankungen. Diese klassischen Verfahren vereinen das Ziel, Tumorzellen direkt zu zerstören oder operativ zu entfernen. Mit dem Aufkommen der Immuntherapie hat sich jedoch ein weiterer therapeutischer Ansatz etabliert, der zunehmend an Bedeutung gewinnt und die gezielte Aktivierung des körpereigenen Immunsystems zur Erkennung und Eliminierung maligner Zellen nutzt. Diese Behandlungsstrategie hat bereits in vielen Fachbereichen die Therapie maligner Erkrankungen revolutioniert. Umso erstaunlicher ist, dass, obwohl bereits vor fast 100 Jahren erste Versuche unternommen wurden, die Felder der Onkologie und Immunologie zu verbinden – als der Chirurg William Coley abgetötete Bakterien in Sarkome injizierte und dabei eine Schrumpfung des Tumors beobachtete (Coley 1936) –, die Immuntherapie bei Sarkomen noch eine untergeordnete Rolle spielt.

Wie die Aktivierung des Immunsystems funktioniert und welche Mechanismen die moderne Immuntherapie nutzt, soll im Folgenden näher erläutert werden.

Das Immunsystem schützt den Körper sowohl vor äußeren Gefahren, etwa Viren und Bakterien, als auch vor inneren Bedrohungen wie Neoplasien. Bei der Erkennung solcher Gefahren wird zunächst das angeborene, unspezifische Immunsystem aktiviert, das schnell

fremde Antigene angreifen und präsentieren kann, um das spezifische, erworbene Immunsystem zu aktivieren. Antigenpräsentierende Zellen wie dendritische Zellen spielen dabei eine zentrale Rolle, da sie Tumorantigene präsentieren und über stimulierende Signale T-Lymphozyten aktivieren (Retz und Gschwend 2021).

T-Lymphozyten besitzen die Fähigkeit, zwischen körpereigenen und körperfremden Antigenen zu unterscheiden, die von den antigenpräsentierenden Zellen über den sogenannten MHC-Komplex (Major Histocompatibility Complex) präsentiert werden. Dabei wird zwischen zwei Klassen des MHC-Komplexes unterschieden. MHC-Klasse I ist auf allen kernhaltigen Zellen vorhanden und interagiert mit $CD8^+$ -T-Zellen, während die MHC-Klasse II nur auf antigenpräsentierenden Zellen vorkommt und $CD4^+$ -T-Zellen bindet (Murphy and Weaver 2018). Die Interaktion zwischen MHC-II-Komplex und $CD4^+$ -T-Zellen bildet. Die Interaktion zwischen MHC-II-Komplex und $CD4^+$ -T-Zellen führt zur Bildung von Gedächtniszellen, regulatorischen T-Zellen und T-Helferzellen, die wiederum die B-Zellen aktivieren können. Dagegen aktiviert die Bindung des MHC-I-Komplexes an $CD8^+$ -T-Zellen zytotoxische T-Zellen, die eine zentrale Rolle in der Tumorabwehr spielen (Murphy and Weaver 2018).

Die vollständige Aktivierung von $CD8^+$ -T-Zellen erfordert neben der Bindung an den MHC-I-Komplex auch zusätzliche Signale, insbesondere die Bindung des CD28-Rezeptors an B7-Moleküle auf antigenpräsentierenden Zellen. Diese doppelte Aktivierung führt zur klonalen Expansion, also einer schnellen Vermehrung identischer T-Zellen, und zur Freisetzung proapoptotischer und zytotoxischer Mediatoren (Wik und Skålhegg 2022). Gleichzeitig existieren im menschlichen Körper Mechanismen, um eine überschießende Immunantwort zu verhindern. Diese sogenannten Immun-Checkpoints regulieren die Immunantwort. Zwei wesentliche Rezeptoren spielen hierbei eine zentrale Rolle. Der CTLA-4-Rezeptor konkurriert mit CD28 um die Bindung an B7-Moleküle und hemmt so die T-Zell-Aktivierung. Der PD-1-Rezeptor auf T-Zellen induziert Apoptose und fördert regulatorische T-Zellen, um überschießende Immunreaktionen zu verhindern (Waldman et al. 2020).

Tumorzellen nutzen diese Immun-Checkpoints aus, um der Zerstörung durch das Immunsystem zu entgehen. Beispielsweise reduzieren sie die Expression des MHC-I-Komplexes, wodurch sie für $CD8^+$ -T-Zellen weniger erkennbar werden (Dhatchinamoorthy et al. 2021). Zudem setzen sie immunsuppressive Zytokine frei, die regulatorische T-Zellen aktivieren und zytotoxische T-Zellen hemmen (Tie et al. 2022). Auch die Expression des PD-L1-

Liganden, der an den PD-1-Rezeptor auf T-Zellen bindet und deren Aktivität hemmt, stellt einen weiteren Mechanismus der Immunevasion von Tumoren dar (Sunshine und Taube 2015).

Einen weiteren wichtigen inhibitorischen Immuncheckpoint, der eine überschießende Immunantwort verhindern soll, stellt der TIGIT-Rezeptor (T cell immunoreceptor with Ig und ITIM domains) dar. Dieser wird auf Lymphozyten exprimiert und interagiert mit CD155, das auf antigenpräsentierenden Zellen oder Tumorzellen exprimiert wird, um die Funktionen von T-Zellen und NK-Zellen herunterzuregulieren, was zu einer verminderten Immunüberwachung und indirekt zur Förderung des Tumorwachstums führen kann. Dabei hat er sich als wichtiger Hemmfaktor in der antitumoralen Immunantwort erwiesen, der verschiedene Schritte des Krebsimmunitätszyklus beeinträchtigen kann (Harjunpää und Guillerey 2020).

Die immunonkologische Behandlung zielt insgesamt darauf ab, die Strategien der Tumorzellen zu umgehen und die Immunantwort zu verstärken. Dabei werden vor allem zwei Ansätze verfolgt: Zum einen werden Checkpoint-Inhibitoren, wie Antikörper, eingesetzt, die hemmende Signale blockieren und eine ungebremschte T-Zell-Aktivierung ermöglichen (Haanen und Robert 2015). Zum anderen wird versucht, das Immunsystem gezielt zu stimulieren, um eine stärkere Antwort gegen den Tumor zu erzielen (Rui et al. 2023). Durch diese Ansätze wird die körpereigene Abwehrreaktion reaktiviert, was das Potenzial hat, die Therapieergebnisse für viele Krebspatienten zu verbessern.

2.3 Immunonkologische Behandlung der Weichteilsarkome

2.3.1 Mechanismus der Immunantwort bei Sarkom Zellen

Erkennen Immunzellen die Anwesenheit von Sarkom Zellen, werden Makrophagen und natürliche Killerzellen (NK-Zellen), die Teil der angeborenen Immunantwort sind, aktiviert. Als Reaktion greifen sie die Sarkom Zellen an und zerstören diese, was wiederum zur Freisetzung tumorassozierten Neoantigenen führt und die adaptive Immunantwort auslöst (Chen und Mellman 2013). Neben Neoantigenen werden auch damage-associated molecular patterns (DAMPs) freigesetzt. Dendritische Zellen phagozytieren diese und wandern anschließend zum nächsten Lymphknoten, wo sie T-Zellen aktivieren und die adaptive Immunantwort einleiten. Bei Bindung dieser aktivierten Zellen an den Tumor werden zytotoxische Prozesse gestartet,

und es kommt zur Apoptose der Sarkom Zellen (Rosin und Okusa 2011, Dajsakdipon et al., 2022).

Ferner führt die adaptive Immunantwort zur Aktivierung von naiven CD8⁺-T-Zellen durch Signale des T-Zellrezeptors (TCR) und der MHC-Klasse-I-Moleküle. Eine Unterstützung erfolgt durch ko-stimulatorische Signale von B7 und CD28. Dieser erste Vorgang wird als *Priming-Phase* bezeichnet (Dajsakdipon et al. 2022). Zusätzlich setzen antigenpräsentierende Zellen (APCs) Interleukin-12 (IL-12) und Typ-I-Interferone frei, die die antitumorale Funktion der aktivierten zytotoxischen T-Zellen stärken. Gleichzeitig werden CD4⁺-T-Helfer Zellen durch die TCR-MHC-Klasse-II-Interaktion aktiviert, was die Unterstützung und Aktivierung von B-Zellen zur Folge hat. Danach wandern die zytotoxischen T-Zellen über die Blutgefäße in den Tumor und zerstören die Krebszellen. Dieser Schritt wird als *Effektor-Phase* bezeichnet (Chen und Mellman 2013, Chen und Files 2013, Dustin 2014, Dajsakdipon et al. 2022).

Um diese Prozesse und die Immunantwort zu umgehen, besitzen Tumorzellen verschiedene Mechanismen der Immunevasion, die ihnen dabei helfen, dem Immunsystem zu entkommen und die Immun-Checkpoints auszuschalten, wie bereits im vorherigen Teil beschrieben.

2.3.2 Immuncheckpoint-Inhibitoren in der Tumorthherapie

Um diese Verteidigungsmechanismen der Tumorzellen gegenüber der körpereigenen Abwehr zu blockieren, konzentrieren sich neuere onkologische Therapien auf die Reaktivierung und Unterstützung der Immunabwehr. Ziel ist es, die antitumorale Immunität zu aktivieren und eine Regression der Tumorzellen zu erreichen (Topalian et al. 2015).

Ipilimumab (ein Anti-CTLA-4-Antikörper) zeigte in frühen Studien bei Erwachsenen und Kindern mit Sarkomen keine relevante Aktivität (Maki et al. 2013, Merchant et al. 2016). Ebenso war Nivolumab, ein Antikörper gegen PD-1, bei uterinem Leiomyosarkom in späteren Therapielinien nicht erfolgreich (Ben-Ami et al. 2017, Dajsakdipon et al. 2022).

Im Gegensatz dazu erzielte Pembrolizumab, ein weiterer Antikörper gegen PD-1, in der SARC028-Studie (Tawbi et al. 2017) erste Anzeichen von Wirksamkeit. In der Weichteilsarkom-Kohorte (N = 40) betrug die Gesamtansprechrate (ORR) 18 %, während sie in der Knochensarkom-Kohorte nur 5 % erreichte. Trotz dieser begrenzten Ergebnisse zeigte sich bei bestimmten Subtypen, wie undifferenzierten pleomorphen Sarkomen und dedifferenzierten Liposarkomen, eine verlängerte Ansprechdauer, wobei undifferenzierte pleomorphe Sarkome

eine höhere Ansprechrate von 23 % aufwiesen, (Dajsakdipon et al. 2022, Burgess et al. 2025). In aktuellen klinischen Studien konnten diese Befunde weiter untermauert werden. In der SU2C-SARC032-Studie wurde Pembrolizumab in Kombination mit neoadjuvanter Strahlentherapie und anschließender Operation im Vergleich zur alleinigen Strahlentherapie untersucht. Dabei zeigte die Kombinationstherapie ein signifikant verlängertes Überleben (Mowery et al. 2025).

Kombinationstherapien mit Ipilimumab und Nivolumab erwiesen sich im Vergleich zu Monotherapien als vielversprechender. In Bezug auf Sarkome zeigte die Alliance-A091491-Studie eine ORR von 16 % für die Kombination, wobei vollständige und teilweise Remissionen bei verschiedenen Sarkom Entitäten auftraten. Die mediane Überlebensrate lag mit 14,3 Monaten in der Kombinationsgruppe deutlich höher als in der Monotherapiegruppe (D'Angelo et al. 2018, Dajsakdipon et al. 2022).

Dennoch bleiben die Ergebnisse insgesamt limitiert, insbesondere bei schwer behandelbaren Subtypen. Neue Ansätze wie NKTR214, ein IL-2-Rezeptoragonist, kombiniert mit Nivolumab, werden derzeit untersucht. In einer kleinen Studie konnte diese Kombination eine Ansprechrate von 8,7 % und eine mediane progressionsfreie Überlebenszeit von 1,8–3,9 Monaten erzielen (D'Angelo et al. 2019, Dajsakdipon et al. 2022),.

Aktuell werden Studien mit weiteren immuntherapeutischen Ansätzen, sowohl allgemeiner als auch subtypspezifischer Natur, durchgeführt. Während diese Ansätze Potenzial zeigen, bleiben die bisherigen Ergebnisse vor allem auf Subtypen wie undifferenzierte pleomorphe Sarkome, synoviale Sarkome und einige Liposarkom-Subtypen beschränkt. Die Kombination von Anti-PD-1- und Anti-CTLA-4-Therapien zeigt zwar verbesserte Ergebnisse, erfordert jedoch weitere Forschung, um die Effektivität zu steigern und auf breitere Subtypen auszuweiten (Dajsakdipon et al. 2022).

2.3.3 Immuncheckpoint-Inhibitoren in Kombination mit Chemotherapie

Zytotoxische Chemotherapien führen durch DNA-Schädigungen zum Absterben von Tumorzellen, was wiederum die Freisetzung von DAMPs (damage-associated molecular patterns) auslöst. Diese Moleküle stimulieren die Immunantwort und fördern die Hochregulation von PD-1, einem der bereits erwähnten Immun-Checkpoints (Rivera Vargas und Apetoh 2017). Der kombinierte Einsatz von Chemo- und Immuntherapie gilt als

vielversprechender Ansatz, um die Immunantwort zu verstärken und die Ansprechraten sowie das Überleben von Sarkompatienten zu verbessern (Dajsakdipon et al. 2022).

In der Phase-II-PEMBROSARC-Studie wurde Pembrolizumab zusammen mit Cyclophosphamid bei späteren Therapielinien in vier Kohorten (undifferenziertes pleomorphes Sarkom, Knochensarkome, andere Sarkome und gastrointestinale Stromatumoren) getestet. In allen Gruppen außer dem GIST betrug die sechs monatige progressionsfreie Überlebensrate 0 %, während beim gastrointestinalen Stromatumor eine Rate von 11 % erreicht wurde. Eine Tumorantwort wurde nur bei $n = 1$ von $n = 50$ Patienten mit einem solitären fibrösen Tumor beobachtet, und $n = 16$ Patienten zeigten stabilen Krankheitsverlauf (Toulmonde et al. 2018) (Dajsakdipon et al. 2022). Insgesamt ergab sich ein wenig vielversprechendes Ergebnis.

Eine andere Studie untersuchte die Kombination von Pembrolizumab und Doxorubicin als Erstlinientherapie für inoperable oder metastasierte Sarkome. Diese Kombination zeigte deutlich bessere Ergebnisse: Die 6-monatige progressionsfreie Überlebensrate lag bei 73 % im Vergleich zu 40 % in früheren Daten. Die Ansprechrate betrug 22 %, während 81 % der Patienten eine Krankheitskontrolle erzielten, wovon 59 % einen stabilen Krankheitsverlauf aufwiesen (Pollack et al. 2020, Dajsakdipon et al. 2022).

Obwohl die Kombination von Chemo- und Immuntherapie ein interessantes Konzept darstellt, haben die bisherigen Ergebnisse die Erwartungen nicht erfüllt. Unter den getesteten Regimen erwies sich die Kombination von Pembrolizumab und Doxorubicin als besonders vielversprechend. Zukünftige Forschungen sollten sich darauf konzentrieren, wirksamere Kombinationen zu identifizieren, die sowohl hohe Effektivität als auch geringe Nebenwirkungen aufweisen (Dajsakdipon et al. 2022).

2.3.4 Immuncheckpoint-Inhibitoren in Kombination mit Tyrosinkinase Inhibitoren

Eine weitere Möglichkeit zur Steigerung der Effektivität der Therapien bei Sarkomen ist die Kombination von Immuntherapie und anti-VEGF-Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKIs). VEGF unterdrückt die Immunogenität von Tumoren durch Veränderungen im Tumormikromilieu, unter anderem durch die Hemmung der Angiogenese (Yang et al. 2018). Wird diese wiederum gehemmt, könnte die Wirksamkeit immunbasierter Krebstherapien gesteigert werden (Dajsakdipon et al. 2022).

In einer Phase-II-Studie wurde Axitinib, ein Anti-VEGF-TKI, in Kombination mit Pembrolizumab bei N = 33 Patienten untersucht. Positive Ergebnisse wurden vor allem bei alveolärem Weichteilsarkom (ASPS) und Leiomyosarkom (LMS) erzielt. Die drei monatige progressionsfreie Überlebensrate (PFS) lag bei 65,6 % und in der ASPS-Gruppe bei 72,7 %. Die mediane PFS betrug 4,6 Monate, und das mediane Gesamtüberleben lag bei 18,7 Monaten. Insgesamt erzielten 25 % der Patienten eine partielle Remission (PR) und 28 % wiesen eine stabile Erkrankung (SD) auf. Es wurde jedoch keine vollständige Remission (CR) beobachtet. Besonders bemerkenswert war die PR-Rate von 54,5 % in der ASPS-Gruppe (Wilky et al. 2019). Allerdings bleibt unklar, ob diese Ergebnisse allein durch Axitinib oder durch eine synergistische Wirkung mit Pembrolizumab erzielt wurden (Dajskdipon et al. 2022).

In der IMMUNOSARC-Studie wurde Sunitinib, ein weiterer VEGF-TKI, in Kombination mit Nivolumab bei vorbehandelten Patienten mit fortgeschrittenen Weichteil- oder Knochensarkomen untersucht. Bei der Weichteilsarkom-Kohorte betrug die 6-monatige PFS-Rate 50 %, mit einer medianen PFS von 5,9 Monaten. Die Ansprechraten umfassten eine vollständige Remission (CR) bei einem Patienten (2,3 %), partielle Remissionen (PR) bei drei Patienten (7 %), eine stabile Erkrankung (SD) bei 60 % und eine Krankheitsprogression bei 30 % der Patienten (Dajskdipon et al. 2022, Palmerini et al. 2025).

Aufgrund der ermutigenden Ergebnisse werden derzeit mehrere Studien durchgeführt, die Immuncheckpoint-Inhibitoren (ICIs) in Kombination mit VEGFR-TKIs oder VEGF-Inhibitoren wie Lenvatinib, Sunitinib, Bevacizumab, Cabozantinib, Pazopanib und Cediranib untersuchen. Einige Studien evaluieren auch die Kombination mit anderen innovativen Wirkstoffen wie dem PARP-Inhibitor Olaparib beim LMS. Zusätzlich werden nicht-VEGF-Inhibitoren wie Epacadostat (anti-IDO1), Olaratumab (PDGF-Rezeptor-alpha-Antikörper) und Dasatinib in Kombination mit ICIs untersucht (Dajskdipon et al. 2022).

Die Kombination von Immuntherapie und VEGFR-TKIs zeigt großes Potenzial bei Sarkomen, insbesondere bei ASPS. Aktuelle Daten stützen vor allem die Wirksamkeit von Pembrolizumab in Kombination mit Axitinib sowie Nivolumab in Kombination mit Sunitinib (Dajskdipon et al. 2022).

2.3.5 Biomarker und Ihre Rolle in der Immuntherapie bei Weichteilsarkomen

Bei der Erforschung von Immuntherapien zeigen diese jedoch nur bei bestimmten und wenigen Subtypen Erfolge, sodass der Nutzen dieser Therapien über ein breiteres Spektrum

von Weichgewebssarkom-Subtypen hinweg begrenzt ist. Dies lässt sich auf die Heterogenität des Tumormikroumfelds und die komplexe Interaktion von Immunzellen zurückführen (Fazel et al. 2023).

Aktuell ergeben sich demnach zwei zentrale Herausforderungen für den möglichen Einsatz von Immuntherapien als Erstlinientherapien. Zunächst müssen geeignete Patienten für diese Therapien identifiziert werden. Weiterhin sollte die Zahl der Patienten, die von diesen Behandlungen profitieren können, erhöht werden, indem Mechanismen der Erschöpfung in der Immunabwehr gezielt überwunden werden (Fazel et al. 2023).

Zum Erreichen dieser Ziele wäre ein vertieftes Verständnis der immunologischen Umgebung des jeweiligen Tumors sowie der Einsatz verlässlicher Biomarker und Prädiktoren für das Ansprechen auf die Therapie erforderlich. Auf dieser Grundlage könnten anschließend individuell angepasste Therapiepläne weiterentwickelt werden. Bisherige Studien haben verschiedene mögliche prädiktive Biomarker untersucht, darunter PD-1/PD-L1 sowie die Infiltration von Tumoren mit Immunzellen wie TILs (tumorinfiltrierende Lymphozyten) (Wilky et al. 2019, Keung et al. 2020).

Petitprez et al. (2020) entwickelten eine Klassifikation auf Basis des Tumormikromilieus mit fünf Phänotypen (SIC-A bis -E) (Petitprez et al. 2020). Dabei wiesen die Gruppen SIC-C/D/E eine hohe Immunaktivität auf und sprachen in der SARC028-Studie am besten auf Pembrolizumab an. Insbesondere SIC-E zeigte eine ausgeprägte Immunzellinfiltration und die besten Ergebnisse, wohingegen SIC-A/B eine geringe Immunaktivität aufwiesen und kaum ein Ansprechen zeigten. Zudem korrelierten SIC-D/E mit einem verbesserten Gesamtüberleben (Petitprez et al., 2020, Dajsakdipon al., 2022).

Die Tumormutationslast (TMB) ist ein weiterer vielversprechender Marker, der in vielen Tumorarten bereits mit dem Ansprechen auf ICIs assoziiert ist. Bei Sarkomen ist die TMB jedoch im Durchschnitt niedrig (ca. zwei Mutationen pro Megabase DNA, während Melanome durchschnittlich 14 Mutationen pro Megabase DNA aufweisen) (Chalmers et al. 2017). Darüber hinaus variiert die TMB je nach Subtyp: Angiosarkome, UPS und Leiomyosarkome weisen meist zwei bis drei Mutationen pro Megabase DNA auf, während myxoide/rundzell-Liposarkome und synoviale Sarkome zum Teil weniger als zwei Mutationen pro Megabase DNA besitzen. Es gibt jedoch Untergruppen bestimmter Sarkome, bei denen eine hohe TMB

nachgewiesen werden kann. Ob sich diese bei Sarkomen als prädiktiver Faktor für Immuntherapien etablieren lässt, ist derzeit noch unklar (Dajsakdipon et al. 2022).

Ein weiterer möglicher Biomarker ist der IDO-Signalweg, der über die Kynurenin-Produktion zu einer Unterdrückung der T-Zell-Antwort führen kann. In einer Studie (Toulmonde et al. 2018) wurde festgestellt, dass Sarkome mit hoher IDO1-Expression und Kynurenin/Tryptophan-Produktion eher nicht auf eine Kombination aus Pembrolizumab und Cyclophosphamid ansprechen. Daraus lässt sich die Vermutung ableiten, dass eine erhöhte IDO1-Aktivität als möglicher negativer Prädiktor fungieren könnte (Dajsakdipon et al. 2022).

Derzeit deuten die Daten darauf hin, dass insbesondere die Immun-Klassifikation nach Petitprez (SIC) (Petitprez et al. 2020), die Tumormutationslast (Chalmers et al. 2017) und die Aktivität des IDO1-Signalwegs (Toulmonde et al. 2018) potenziell wertvolle prädiktive Biomarker für die Immuntherapie bei Sarkomen sein könnten. Aufgrund der Seltenheit vieler Sarkom Subtypen und den damit verbundenen Herausforderungen bei der Studienrekrutierung sind jedoch noch größere, prospektive Untersuchungen erforderlich, um diese Biomarker zuverlässig zu validieren (Dajsakdipon et al. 2022). Bislang fehlen klinisch leicht messbare Surrogatmarker, die auf eine erhöhte Aktivität des Immunsystems und damit idealerweise auf die Ansprechwahrscheinlichkeit einer Immuntherapie hindeuten könnten.

2.4 Das Tumormikroumfeld bei Weichgewebssarkomen

Der Schlüssel zum Verständnis des Potenzials von Immuntherapien bei Weichgewebssarkomen liegt in der Entschlüsselung des immunologischen Tumormikroumfelds.

Dieses besteht aus verschiedenen komplex miteinander interagierenden Immunzellen, die sowohl das Tumorwachstum als auch auf das Ansprechen auf Immuntherapien beeinflussen. Hinzu kommt, dass Sarkom-Tumorzellen im Gegensatz zu den meisten anderen Tumoren nicht aus epitheliale, sondern aus mesenchymalem Gewebe entstehen, was ihre Interaktion mit dem Umliegenden Gewebe weiter von anderen Tumorentitäten unterscheidet (Subramanian et al. 2024).

Ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Immunzellen charakterisiert das Tumormikroumfeld von Weichgewebssarkomen, wobei T-Zellen eine zentrale Rolle spielen.

Die Interaktion dieser Zellen mit dem Tumor beeinflusst maßgeblich den Krankheitsverlauf und die therapeutischen Antworten (Petitprez et al. 2020). Aktuelle Studien zeigen, dass insbesondere CD8⁺-zytotoxische T-Zellen für die Vermittlung einer antitumoralen Immunität von entscheidender Bedeutung sind. Darüber hinaus ist das Zusammenspiel mit anderen Immunzellen, wie CD4⁺-T-Zellen und dendritischen Zellen, wesentlich für die effektive Eliminierung von Tumorzellen. Eine kürzlich durchgeführte Studie, unter anderem an murinen Sarkomen, zeigte, dass CD8⁺-zytotoxische Zellen allein nicht ausreichen, um Tumoren zu eliminieren, da sie einen erschöpften Phänotyp entwickeln. Wurden jedoch zusätzlich tumorspezifische CD4⁺-T-Zellen übertragen, konnte das Tumorwachstum gestoppt und der Phänotyp der CD8⁺-Zellen von einem erschöpften Zustand in einen stammzellähnlichen Zustand umprogrammiert werden (Espinosa-Carrasco et al. 2024).

Da die Präsenz und Funktion von T-Zell-Populationen jedoch stark zwischen verschiedenen Weichgewebssarkom-Subtypen variieren (Resag et al. 2022), lassen sich einheitliche Rückschlüsse auf das gesamte immunologische Umfeld und die klinischen Ergebnisse nur begrenzt ziehen. Eine Klassifikation der Sarkome in unterschiedliche immunologische Phänotypen, wie beispielsweise die bereits erwähnte Einteilung nach Petitprez (Petitprez et al. 2020) ist daher unerlässlich, um die unterschiedlichen Reaktionen auf Therapien, insbesondere Immuntherapien, zu verstehen und möglicherweise vorherzusagen.

2.5 *Exhausted* T-Zellen: Mechanismen und therapeutisches Potenzial

Der PD-1-Rezeptor stellt nicht nur eine mögliche Zielstruktur der Immuncheckpoint-Inhibitor-Therapien dar, sondern kann zugleich auch als Marker für den funktionellen Zustand der T-Zellen verwendet werden. Insbesondere der in der englischsprachigen Literatur als *exhausted* (Wang et al. 2023) bezeichnete Zustand beschreibt die Dysfunktion, in die T-Zellen nach chronischer Antigenexposition eintreten, beispielsweise bei Krebs oder chronischen Infektionen. Dieser Zustand ist durch die Hochregulierung inhibitorischer Rezeptoren gekennzeichnet, die die T-Zell-Antwort gegen Tumoren abschwächen. *Exhausted* T-Zellen zeigen eine reduzierte Effektor Funktion, einschließlich einer verringerten Zytokin Produktion und zytolytischen Aktivität, was eine bedeutende Barriere für eine effektive antitumorale Immunität darstellt (Wang et al. 2023).

Exhausted T-Zellen lassen sich in zwei Subtypen unterscheiden: *progenitor-exhausted* und *terminal-exhausted* T-Zellen. *Progenitor-exhausted* T-Zellen behalten ein gewisses Maß an Effektor Funktion bei und besitzen die Fähigkeit zur Proliferation sowie zur Wiederherstellung ihrer Funktionalität, was auf einen teilweise reversiblen Zustand hinweist, der in der Therapie von großer Bedeutung sein könnte. *Terminal-exhausted* T-Zellen zeigen hingegen tiefgreifende funktionelle Beeinträchtigungen und erholen sich nicht wesentlich, was auf einen stabilen Zustand hindeutet (Miller et al. 2019).

Das Verständnis und die gezielte Beeinflussung der Signalwege, die zu diesem Zustand der T-Zellen führen, sind entscheidend, um die Wirksamkeit von Immuntherapien bei Weichgewebssarkomen zu verbessern. Strategien, die T-Zellen reaktivieren oder ihre *Exhaustion* verhindern, könnten das therapeutische Potenzial für diese Tumoren grundlegend verändern. Im Gegensatz zu anderen soliden Tumorerkrankungen ist über die *Exhaustion* von T-Zellen bei Weichgewebssarkomen bislang wenig bekannt, obwohl sie möglicherweise einen Grund für die uneinheitlichen Ansprechraten auf Immuntherapien bei diesen Tumoren darstellt.

2.6 Der Surrogatmarker als prädiktiver Parameter

Die Wirksamkeit neuer Medikamente muss nachgewiesen werden, was in der Regel in großen Phase-III-Studien erfolgt, um eine Zulassung zu erhalten. Die Effektivität von Krebsmedikamenten wird üblicherweise durch eine Verlängerung des Überlebens und/oder eine Verbesserung der Symptome sowie der Lebensqualität der Patienten demonstriert. Das Gesamtüberleben definiert dabei die Zeit vom Zeitpunkt der Randomisierung bis zum Tod durch jede beliebige Ursache. Dieser Parameter gilt als objektiv, präzise und leicht messbar. Daher wird er als der zuverlässigste und klinisch bedeutendste Endpunkt zur Bewertung der Wirksamkeit von Krebsmedikamenten in klinischen Studien angesehen. Allerdings erfordert dieser Endpunkt eine große Stichprobengröße und eine lange Nachbeobachtungszeit, was nicht nur hohe Kosten verursacht, sondern auch das Risiko birgt, dass das untersuchte Medikament bei Studienabschluss bereits wieder veraltet ist. Zudem kann das Gesamtüberleben durch wirksame Anschlussbehandlungen beeinflusst oder abgeschwächt werden. Diese Einschränkungen des Gesamtüberlebens als Endpunkt sind die Hauptgründe für die Verwendung von Surrogat Endpunkten in onkologischen Studien. Insbesondere bei

seltenen Erkrankungen oder in Fällen mit effektiven Anschlussbehandlungen ist dies von Bedeutung, vor allem im Zeitalter der personalisierten Medizin (Fengmin Zhao 2016).

Der Surrogat Endpunkt ist eine spezielle Form des Biomarkers, der als Ersatz für einen klinischen Endpunkt dient. Er kann eine Laboruntersuchung oder ein physikalisches Zeichen darstellen, das als Marker für einen klinisch relevanten Endpunkt verwendet wird. Dieser misst direkt, wie sich ein Patient fühlt, funktioniert oder überlebt und soll die Wirkung einer Therapie vorhersagen (Fengmin Zhao 2016). Buyse et al. (2010) sprechen nur dann von einem validen Surrogat Endpunkt, wenn sowohl auf individueller Ebene als auch auf Studienebene eine Korrelation zum eigentlichen klinischen Endpunkt, wie dem Gesamtüberleben, gezeigt werden kann. Diese Trennung ist wichtig, da der Marker zwar prognostisch hinweisend sein kann, aber keinen validen Endpunkt darstellt, wenn der Effekt der Behandlung nicht das Gesamtüberleben widerspiegelt (Buyse et al. 2010).

Im Vergleich zu einem klinischen Endpunkt kann ein Surrogat Endpunkt meist früher gemessen werden und benötigt eine kleinere Stichprobengröße sowie eine kürzere Nachbeobachtungszeit. In der Onkologie werden Biomarker, die die biologische antitumorale Aktivität eines Medikaments erfassen, wie die objektive Ansprechrates und das progressionsfreie Überleben, häufig als Surrogat Endpunkte in klinischen Studien untersucht und bewertet (Fengmin Zhao 2016). Ein prädiktiver Biomarker soll dabei auf eine bestimmte Therapieantwort hinweisen (Buyse et al. 2010).

In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob sich auch andere klinisch gut erfassbare Parameter wie das Alter, der BMI, Nikotinkonsum oder Laborwerte als Surrogatmarker eignen, die T-Zell-infiltration im Tumorgewebe abzubilden und damit auf immunologische Aktivitätsmuster hinzuweisen.

3. Material und Methoden

3.1 Vorarbeiten

Im von der Deutschen Krebsgesellschaft zertifizierten Sarkom Zentrum am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) wurden bei Sarkompatienten im Rahmen ihrer überwiegend chirurgischen Behandlung Gewebeproben entnommen. Seit dem Jahr 2022 wurden Proben von Weichteilsarkomen, peripherem Blut sowie gesundem peritumoralem Gewebe von operierten Patienten gewonnen.

In diesen Vorarbeiten wurde eine nahtlose Prozesskette etabliert, um das Gewebe direkt vom Operationssaal in das Labor zu transportieren. Dadurch konnten Frischproben verarbeitet werden, was einen entscheidenden Schritt für funktionelle Analysen darstellt. Speziell für Weichteilsarkome wurden Protokolle zur Lymphozyten Isolierung weiter optimiert und umfangreiche Panels für die Durchflusszytometrie entwickelt, um verschiedene Subpopulationen infiltrierender und residenter Lymphozyten zu analysieren. Die Probenakquise, -verarbeitung und -analyse mittels FACS erfolgten unabhängig von der vorliegenden Arbeit im Rahmen bestehender immunologischer Grundlagenprojekte und Biobanking-Aktivitäten unter Leitung des betreuenden Arbeitskreises.

Nach mechanischer und enzymatischer Aufarbeitung der Tumorproben wurde eine Einzelzellsuspension gewonnen. Anschließend wurden Tumorzellen sowie tumorinfiltrierende Lymphozyten (TILs) separat analysiert (Abbildung 1a).

Parallel dazu wurden unter anderem die ko-inhibitorische Rezeptoren LAG3, CTLA-4, TIGIT, TIM3 und PD-1 untersucht. Dies erfolgte sowohl auf RNA-Ebene als auch mittels FACS-Analyse auf Proteinebene. Die initialen Analysen fokussierten sich dabei insbesondere auf CD8⁺-T-Zellen, die eine Schlüsselrolle bei der Tumorabwehr spielen.

Mononukleäre Zellen für die FACS-Analyse wurden anhand ihrer Oberflächenmarker (CD45, CD3, CD8) sowie mittels Färbung charakterisiert. Hierzu wurde peripheres Blut in EDTA-Röhrchen gewonnen, um eine Gerinnung zu verhindern. Anschließend wurden durch Dichtegradientenzentrifugation (Ficoll-Paque) die peripheren mononukleären Zellen (PBMCs) von anderen Blutbestandteilen getrennt. Das Interphasenband mit den PBMCs wurde

vorsichtig entnommen und zweimal mit PBS (2 % FBS) gewaschen. Anschließend wurden die Zellzahl sowie die Vitalität (z. B. per Trypanblau oder Propidiumiodid) bestimmt.

Für die FACS-Färbung wurden spezifische Antikörper gegen CD45, CD3, CD8, CD4 sowie ein Viabilitätsfarbstoff (z. B. 7-AAD oder ein Live/Dead-Reagenz) eingesetzt. Zur Reduktion unspezifischer Bindungen erfolgte zunächst eine Blockierung der Fc-Rezeptoren, gefolgt von einer Inkubation der Zellen für 30 Minuten bei 4 °C im Dunkeln mit den entsprechenden Antikörpern.

Für die vorliegende Arbeit wurden insbesondere folgende immunologische Parameter berücksichtigt: die gemessene Infiltration von T-Zellen und natürlichen Killerzellen sowie die Expression verschiedener Aktivierungs- und Checkpointmarker (u. a. TIGIT⁺, PD-1⁺, CD103⁺, CD69⁺, CD49a⁺) auf unterschiedlichen T-Zell-Subpopulationen.

3.1.1 Immunprofil der T-Zellen in den Patientenproben

Im Rahmen der Vorarbeiten wurde die grundlegende Zusammensetzung des Tumormikromilieus analysiert. Dabei zeigte sich, dass die überwiegende Mehrheit der CD3⁺ T-Zellen weder CD4 noch CD8 als Oberflächenmarker exprimierte und somit als doppelt negativ (CD4⁻CD8⁻, DN) klassifiziert werden konnte (Abbildung 1b). Neben dieser Population waren CD8⁺ zytotoxische T-Zellen nachweisbar, während CD4⁺ T-Zellen im Tumorgewebe, im Gegensatz zum peripheren Blut, nur in sehr geringer Zahl oder teilweise gar nicht vorhanden waren. Insgesamt verdeutlichen diese Befunde die großen Unterschiede im T-Zell-Profil zwischen Sarkom Gewebe, peripherem Blut und angrenzendem Normalgewebe (unveröffentlichte Daten Sagebiel et al.).

Darüber hinaus zeigte sich, dass CD3⁺CD8⁺ T-Zellen im Sarkom Gewebe verschiedene ko-inhibitorische Rezeptoren exprimierten, wobei insbesondere PD-1 eine hohe Expression aufwies. Im Vergleich zum Blut- und Kontrollgewebe (Fettgewebe) war die PD-1-Expression signifikant erhöht (Abbildung 1c) (unveröffentlichte Daten Sagebiel et al.).

Die weiterführende Analyse der CD8⁺-T-Zellen ergab zudem, dass tumorinfiltrierende T-Zellen (TILs) zytotoxische Moleküle wie Granzyme und Perforin sowie proinflammatorische Zytokine (IFN- γ , TNF- α) exprimierten (Abbildung 1d), was auf ein grundsätzlich vorhandenes, antitumorales Aktivierungspotenzial hinweist (unveröffentlichte Daten Sagebiel et al.).

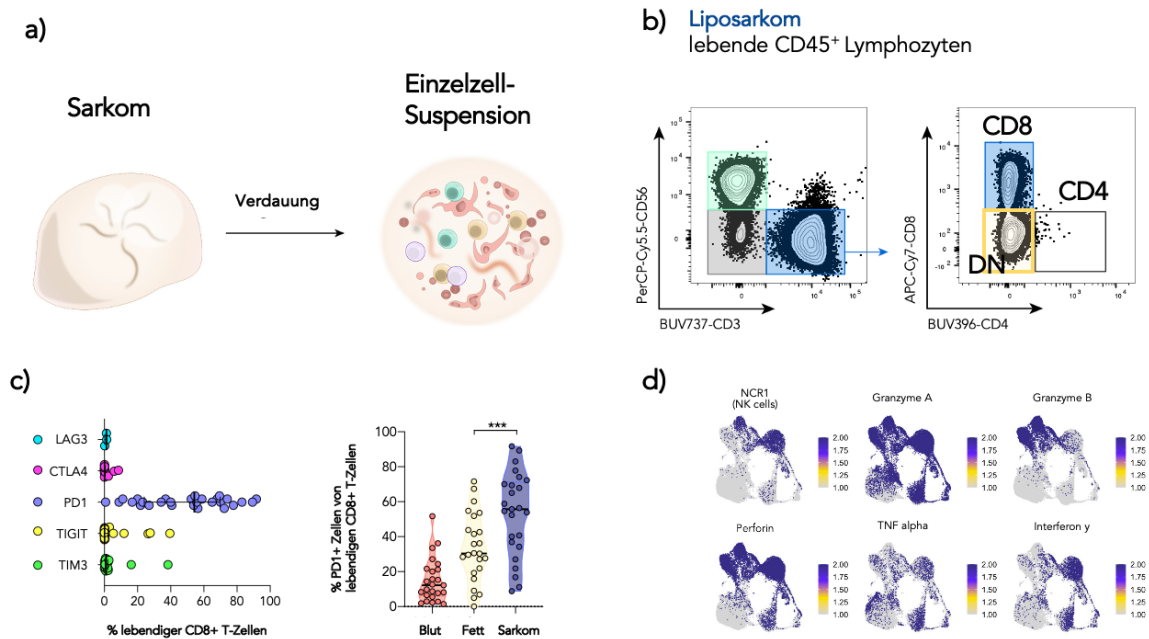


Abbildung 1: a) Schematische Darstellung der Verarbeitung humaner Tumorproben. Nach mechanischer und enzymatischer Gewebedissoziation erfolgten die Färbung sowie die durchflusszytometrische Analyse des Tumormikromilieus. b) Exemplarischer Flow-Cytometrie-Plot der lebenden CD45⁺ Lymphozyten mit anschließendem Gating auf CD3⁺ T-Zellen sowie Darstellung der CD8⁺, CD4⁺ und doppelt negativen (CD4⁻CD8⁻, DN) T-Zell-Populationen. c) Prozentualer Anteil der Expression verschiedener coinhibitorischer Rezeptoren auf CD8⁺ T-Zellen sowie Vergleich des Anteils PD-1⁺ CD8⁺ T-Zellen zwischen peripherem Blut, Fettgewebe und Sarkom-Tumorgewebe. d) UMAP-Plot mit exemplarischer Darstellung der Expression zytotoxischer Moleküle sowie proinflammatorischer Zytokine basierend auf einem Einzelzell-RNA-Sequenzierungsdatensatz retroperitonealer Liposarkome (n = 5)

3.2 Patientenkollektiv

Für die nun vorliegende Arbeit wurden insgesamt N = 119 Patienten in einer Datenbank erfasst. Voraussetzung für den Einschluss war das Vorliegen durchflusszytometrischer Daten. Eine detaillierte Auswertung erfolgte für n = 33 Patienten. Der Fokus lag auf den drei häufigsten histologischen Subtypen innerhalb des Gesamtkollektivs. Darunter befanden sich n = 19 Männer und n = 14 Frauen. Insgesamt wiesen n = 13 Patienten ein dedifferenziertes Liposarkom, n = 12 ein gut differenziertes Liposarkom und n = 8 Personen ein nicht weiter spezifiziertes Sarkom (NOS) auf. Eingeschlossen wurden sowohl Primär-, Rezidiv- und Metastasenoperationen. Das Durchschnittsalter des Kollektivs betrug 64 Jahre.

3.3 Datenerhebung

Die klinischen Daten der Patienten wurden pseudonymisiert in eine speziell angelegte REDCap-Datenbank übertragen und mit der bereits bestehenden FACS-Datenbank abgeglichen. Folgende klinische Parameter wurden für die Analyse berücksichtigt:

Tabelle 3: Für die Auswertung erhobene Parameter

Histologie
ECOG-Status
B-Symptomatik
Nikotinabusus
Rezidivoperation
neoadjuvante Radiatio
neoadjuvante Chemotherapie
Grading
ASA-Status
Body-Mass-Index
Lokalisation
postoperative Komplikationen
Alter
TNM-Klassifikation

Es wurden zudem folgende Laborwerte bestimmt, um diese mit der vorhandenen T-Zellinfiltration zu vergleichen:

Tabelle 4: Für die Auswertung untersuchte Laborwerte

Hämoglobin
Leukozyten
Thrombozyten
Kalium
Natrium
Albumin
Bilirubin

Kreatinin
Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)
alkalische Phosphatase (AP)
C-reaktives Protein (CRP)
Amylase
Lipase
Laktatdehydrogenase (LDH)
International Normalized Ratio (INR)

3.4 Statistische Auswertung

Zur statistischen Analyse wurde das Programm GraphPad Prism (Version 10) verwendet. Die Zusammenhänge zwischen den laborchemischen Parametern und den T-Zell-Subpopulationen wurden mittels Spearman-Rangkorrelation untersucht.

Beim Vergleich zweier unabhängiger Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test angewendet. Ergebnisse mit einem p-Wert < 0,05 wurden als statistisch signifikant gewertet.

4. Ergebnisse

4.1 Klinischer und histopathologischer Subtyp und Immunzellinfiltration

4.1.1 Durchflusszytometrisch erfasste Marker Expression in Abhängigkeit von Tumorparametern

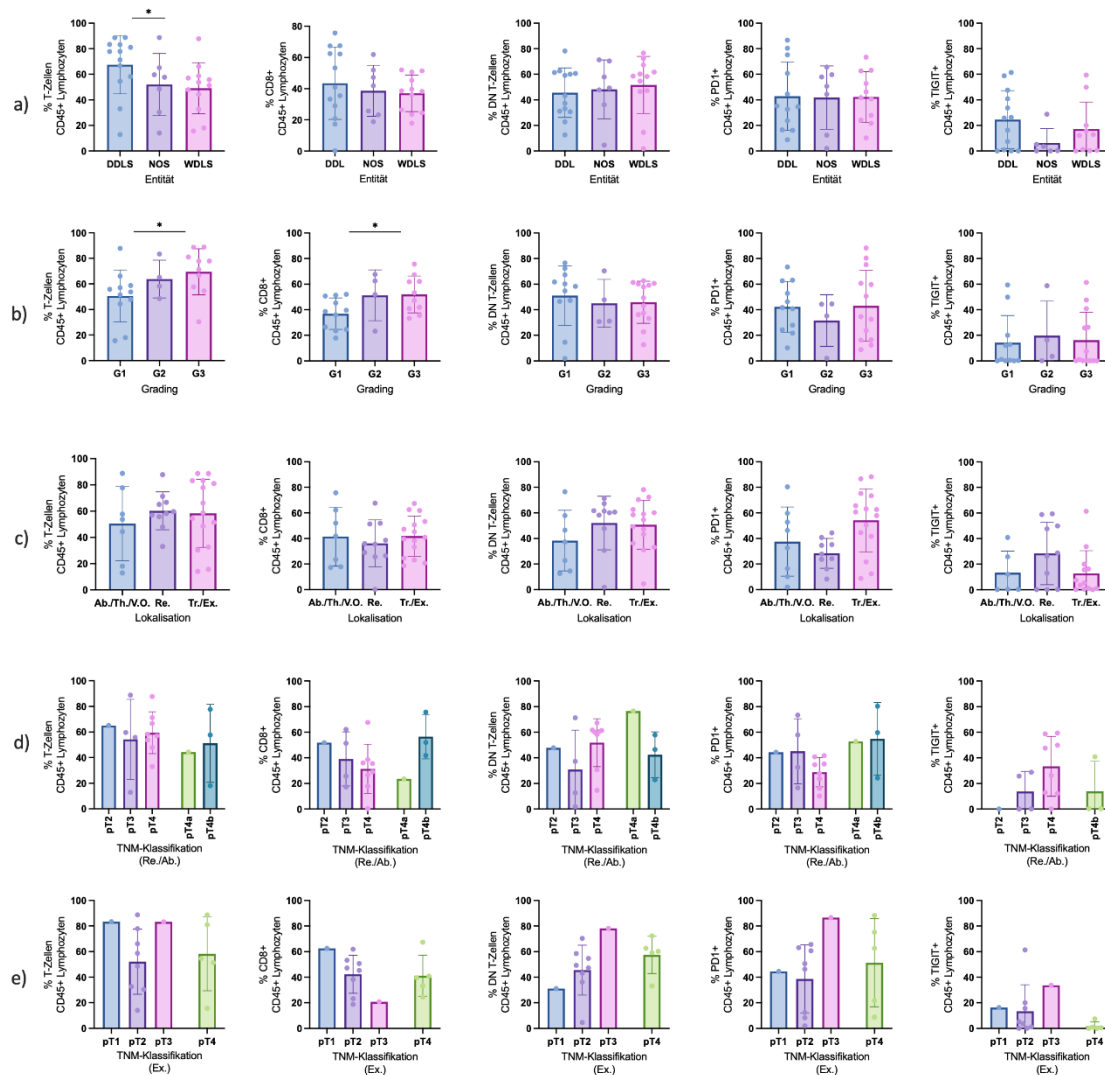


Abbildung 2: Prozentuale Expression durchflusszytometrisch analysierter T-Zellen, CD8⁺ T-Zellen, doppelnegativer T-Zellen (CD4⁺CD8⁻), sowie PD-1⁺- und TIGIT⁺-T-Zellen im Tumorareal, jeweils bezogen auf die Gesamtzahl CD45⁺ lebendiger Lymphozyten. Balkendiagramme zeigen Vergleiche dieser Subpopulationen nach (a) Histologie Typ (Dedifferenziertes Liposarkom (DDL), nicht weiter spezifiziertes Sarkom (NOS) und gut differenziertes Liposarkom (WDLs)), (b) Grading (G1–G3), (c) Lokalisation (Abdomen/Thorax/Viszerale Organe, Retroperitoneum und Truncus/Extremitäten), (d) TNM-Klassifikation der Retroperitonealen und Abdominellen Tumoren (pT2–pT4a/b), sowie (e) TNM-Klassifikation der Extremitäten Tumoren (pT1–pT4). Einzelpunkte repräsentieren individuelle Patienten. Statistische Auswertung mittels Mann-Whitney-U-Test; p < 0,05 als signifikant gekennzeichnet. Balken = Mittelwert ± SD. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit * gekennzeichnet.

4.1.1.1. Erhöhte T-Zellinfiltration beim dedifferenzierten Liposarkom sowie G3-Tumoren

In der Analyse nach histopathologischem Subtyp zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der T-Zellinfiltration zwischen den Entitäten. Die höchsten T-Zell-Anteile wurden im

dedifferenzierten Liposarkom (DDLs) beobachtet (Median = 77,80 %, IQR 56,35 %-83,30 %), während das WDLS (Median = 52,55 %, IQR 35,55 %-58,28 %) sowie das NOS (Median = 57,70 %, IQR 30,40 %-65,10 %) niedrigere Werte aufwiesen ($p = 0,0434$).

Die T-Zellinfiltration war zudem signifikant vom Tumor Grading abhängig ($p = 0,0197$). G3-Tumoren zeigten höhere T-Zell-Anteile (Median = 74,55 %, IQR 56,90 %-82,90 %) als G1-Tumoren (Median = 53,70 %, IQR 44,40 %-58,70 %). Für G2-Tumoren zeigte sich ein ähnlicher Trend (Median = 61,65 %, IQR 50,93 %-78,83 %), ohne statistische Signifikanz.

Auch für die CD8⁺-T-Zellen zeigte sich eine signifikant höhere ($p = 0,0357$) Infiltration in G3-Tumoren (Median = 50,25 %, IQR 39,55 %-63,50 %) im Vergleich zu G1-Tumoren (Median = 38,60 %, IQR 24,50 %-50,70 %). Für G2-Tumoren ergaben sich folgende Werte: Median = 57,20 %, IQR 30,38 %-66,33 %.

Die Expression von PD-1⁺-T-Zellen sowie doppelnegativen T-Zellen (DN) unterschied sich nicht signifikant zwischen den Subgruppen, allerdings durchwegs auf stabil hohem Niveau wie etwa die Konzentration von DN T-Zellen bei G1 Tumoren (Median = 58,30 %, IQR 46,50 %-67,30 %) und G3-Tumoren (Median 49,30 %, IQR 34,65 %-60,35 %). Weitere Parameter, einschließlich Tumorlokalisation und -ausdehnung, zeigten keinen signifikanten Zusammenhang mit der Infiltration von T-Zell-Subpopulationen.

4.1.2. Durchflusszytometrisch erfasste Marker Expression in Abhängigkeit von adjuvanter Therapie und Tumorrezidiv

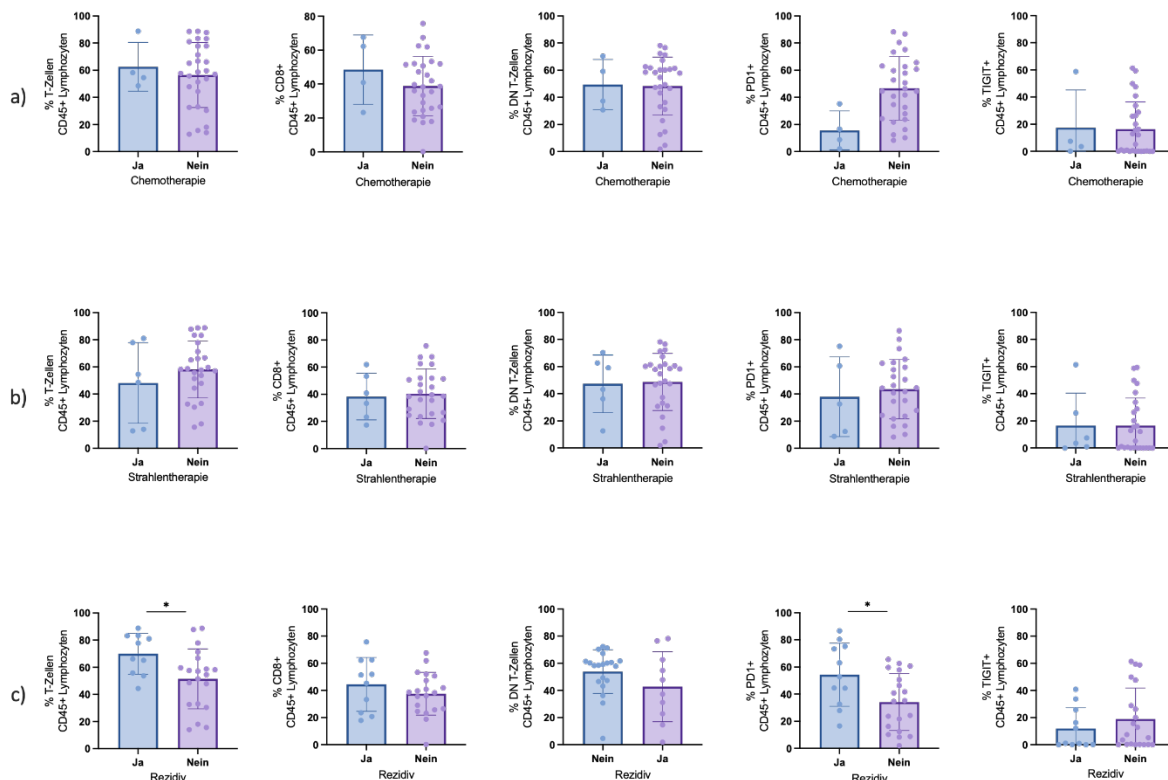


Abbildung 3: Prozentuale Expression durchflusszytometrisch erfasster T-Zellen, CD8⁺ T-Zellen, doppelnegativer T-Zellen (CD4⁻CD8⁻), sowie PD-1⁺- und TIGIT⁺-Zellen im Tumorareal, jeweils bezogen auf die Gesamtzellzahl. Die Daten sind gruppiert nach (a) erhaltene Chemotherapie (ja/nein), (b) erhaltene Strahlentherapie (ja/nein), sowie (c) Auftreten eines Tumorrezidivs (ja/nein). Einzelne Punkte repräsentieren individuelle Patientenproben. Statistische Auswertung mittels Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$ als signifikant gekennzeichnet. Balken = Mittelwert $\pm$ SD. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit * gekennzeichnet.

4.1.2.1 Tumorrezidive gehen mit erhöhter Immunzellinfiltration einher

In dieser Subgruppe wurde der Einfluss von vorherigen operativen, neoadjuvanten Radio- und Chemotherapien auf die Immunmarker-Konzentration im Tumor untersucht. Patienten mit einem Tumorrezidiv wiesen einen signifikant ($p = 0,0439$) höheren Anteil an T-Zellen im Tumorgewebe auf (Median = 71,95 %, IQR 55,28 %-83,25 %) im Vergleich zu Patienten mit Primärtumoren (Median = 55,75 %, IQR 32,70 %-64,93 %).

Auch die Expression von PD-1 auf den tumorinfiltrierenden T-Zellen war bei Patienten mit einem Rezidiv (Median = 52,80 %, IQR 32,60 %-75,20 %) signifikant höher ($p = 0,0255$) im Vergleich zu Patienten mit Primärbefund (Median = 34,90 %, IQR 13,35 %-56,08 %).

Für weitere T-Zell-Subpopulationen konnte keine Signifikanz in Bezug auf ein Tumorrezidiv festgestellt werden. Ebenso konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen adjuvanten Therapien und Immunzellinfiltration nachgewiesen werden.

4.1.3. Durchflusszytometrisch erfasste Expression in Abhängigkeit von klinischen Patientenfaktoren

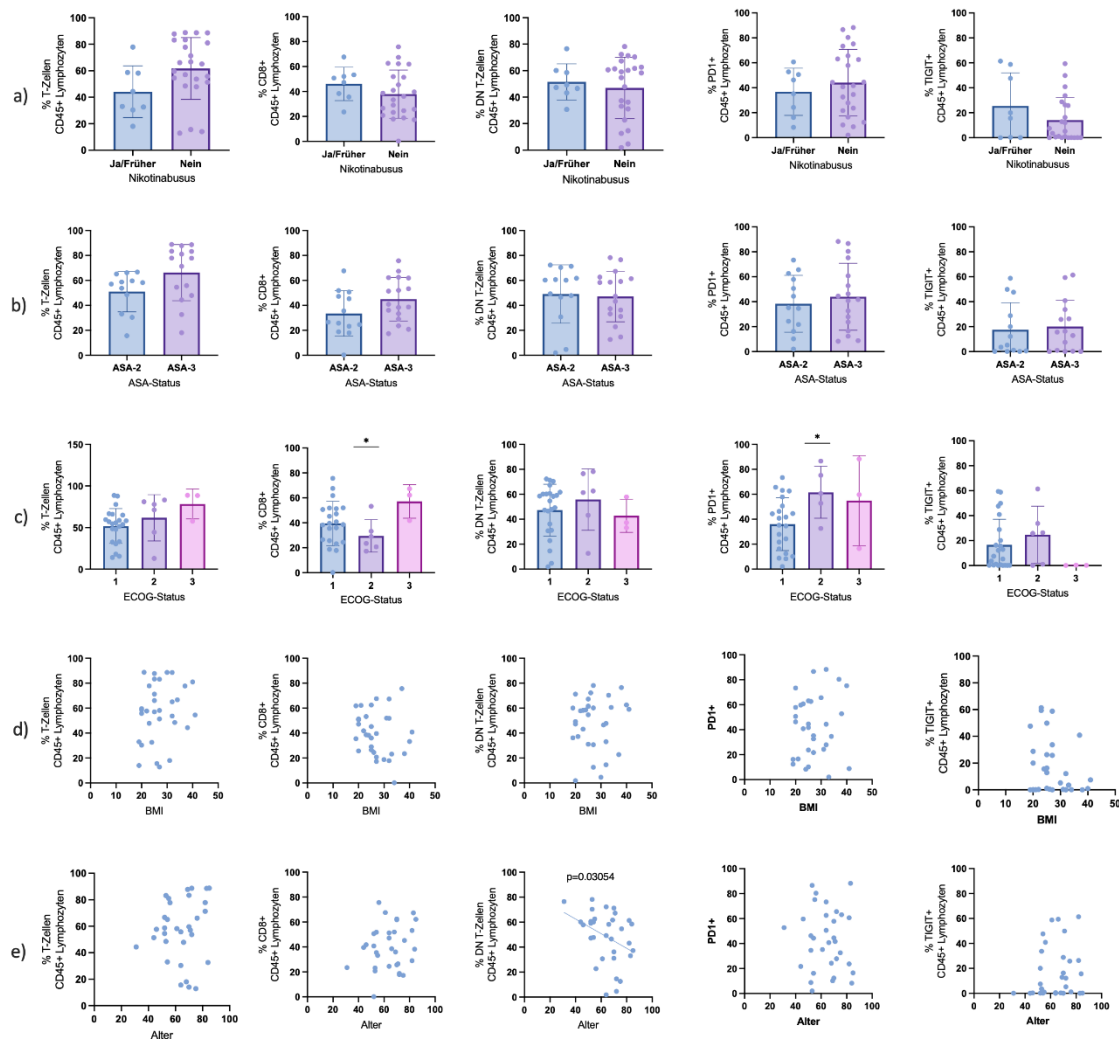


Abbildung 4: Die Balken- und Punktdiagramme zeigen die prozentuale Expression durchflusszytometrisch erfasster T-Zellen, CD8⁺ T-Zellen, doppelnegativer T-Zellen (CD4⁺CD8⁻), sowie PD-1⁺- und TIGIT⁺-Zellen im Tumoreal, jeweils bezogen auf die Gesamtzellzahl. Die Daten wurden in Abhängigkeit von (a) Nikotinkonsum (aktuell/früher vs. nie), (b) ASA-Score (ASA-2 vs. ASA-3), (c) ECOG-Performance-Status (1 vs. 2 vs. 3), sowie (d) kontinuierlich erfassten Parametern wie Body-Mass-Index (BMI, kg/m²) und (e) Alter (Jahre) dargestellt. Die Balkendiagramme zeigen Mittelwert ± Standardabweichung (SD), während Punktdiagramme individuelle Proben mit Regressionslinie darstellen. Signifikante Unterschiede wurden mittels Mann-Whitney-U-Test ermittelt ($p < 0,05$); bei kontinuierlichen Variablen erfolgte die Auswertung durch Korrelation (nicht-parametrisch, Spearman). Statistisch signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ sind mit * gekennzeichnet.

4.1.3.1 Immunzellinfiltration in Abhängigkeit vom ECOG-Status

Im nächsten Schritt wurden klinische Scoringparameter wie der *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) Performance Status sowie der Status der *American Society of Anesthesiologists* (ASA) untersucht. Hierbei zeigte sich insbesondere bei einem steigenden ECOG-Status eine Zunahme der CD8⁺-T-Zellinfiltration. Im Vergleich zu Patienten mit ECOG 1 (Median = 39,1 %, IQR 25,4 %-51,53 %) wiesen Patienten mit ECOG 3 (Median = 62,20 %, IQR 41,90 %-67,40 %) einen signifikant höheren Anteil ($p = 0,0476$) an CD8⁺-T-Zellen auf. Für ECOG 2 ergaben sich folgende Werte: Median = 26,25 %, IQR 19,93 %-38,30 %.

Auch für PD-1⁺-T-Zellen zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Patienten mit ECOG 3 wiesen signifikant ($p = 0,0397$) höhere Werte auf (Median = 59,70 %, IQR 16,50 %-88,30 %) als Patienten mit ECOG 1 (Median = 38,00 %, IQR 15,25 %-52,43 %). Für ECOG 2 lag der Median bei 60,70 % (IQR 42,70 %-80,90 %).

4.1.3.2 Zusammenhang zwischen Alter und DN T-Zellen

Zwischen dem Alter der Patienten und der Infiltration von DN T-Zellen bestand eine signifikant negative Korrelation ($p = 0,03054$).

4.1.4 Durchflusszytometrisch erfasste Expression in Abhängigkeit von systemischer Tumorsymptomatik und postoperativen Komplikationen

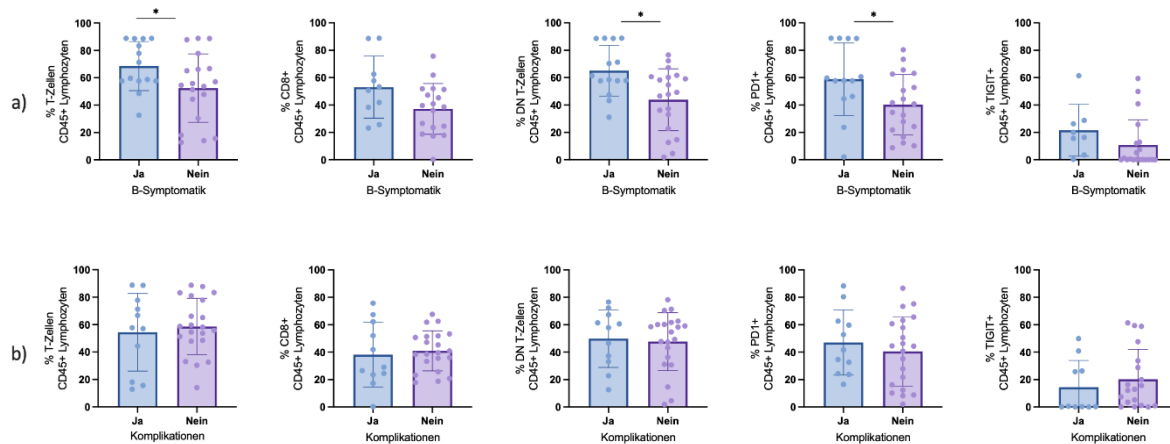


Abbildung 5: Prozentuale Expression von T-Zellen, CD8⁺ T-Zellen, doppelnegativen T-Zellen (CD4⁺CD8⁻) sowie PD-1⁺- und TIGIT⁺-Zellen im Tumorgewebe, jeweils relativ zur Gesamtzellzahl. Die Balkendiagramme vergleichen Patienten (a) mit und ohne systemische B-Symptomatik (Fieber, Nachtschweiß, Gewichtsverlust; oberer Reihenabschnitt) sowie (b) mit und ohne dokumentierte postoperative Komplikationen (unterer Reihenabschnitt). Einzelne Punkte repräsentieren individuelle Patientenproben. Statistische Auswertung erfolgte mittels Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$ als signifikant gekennzeichnet. Balken = Mittelwert $\pm$ SD. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit * gekennzeichnet.

4.1.4.1 B-Symptomatik ist mit erhöhter Immunzellinfiltration und Checkpoint-Expression assoziiert

Patienten mit B-Symptomatik wiesen höhere T-Zell-Anteile im Tumorgewebe auf (Median = 65,45 %, IQR 57,70 %-88,60 %) als Patienten ohne B-Symptomatik (Median = 54,50 %, IQR 30,40 %-66,70 %). Dieser höhere Anteil an Zellen war bei Vorliegen einer B-Symptomatik statistisch signifikant ($p = 0,0375$).

Auch der Anteil an PD-1⁺-T-Zellen war bei Patienten mit B-Symptomatik erhöht (Median = 57,90 %, IQR 45,40 %-88,60 %) im Vergleich zu Patienten ohne Symptomatik (Median = 40,80 %, IQR 21,70 %-62,60 %), was ebenfalls mit statistischer Relevanz ($p = 0,0481$) belegt wurde.

Die Infiltration DN-T-Zellen war bei Vorliegen einer B-Symptomatik (Median = 59,95 %, IQR 55,0 %-88,60 %) ebenfalls signifikant höher als bei Patienten ohne B-Symptomatik (Median = 48,55 %, IQR 25,38 %-60,50 %; $p = 0,0266$).

4.2 Laborchemische Analyse und Immunzellinfiltration

4.2.1 Korrelationen zwischen T-Zellinfiltration und klinisch-chemischen Parametern im Tumorgewebe

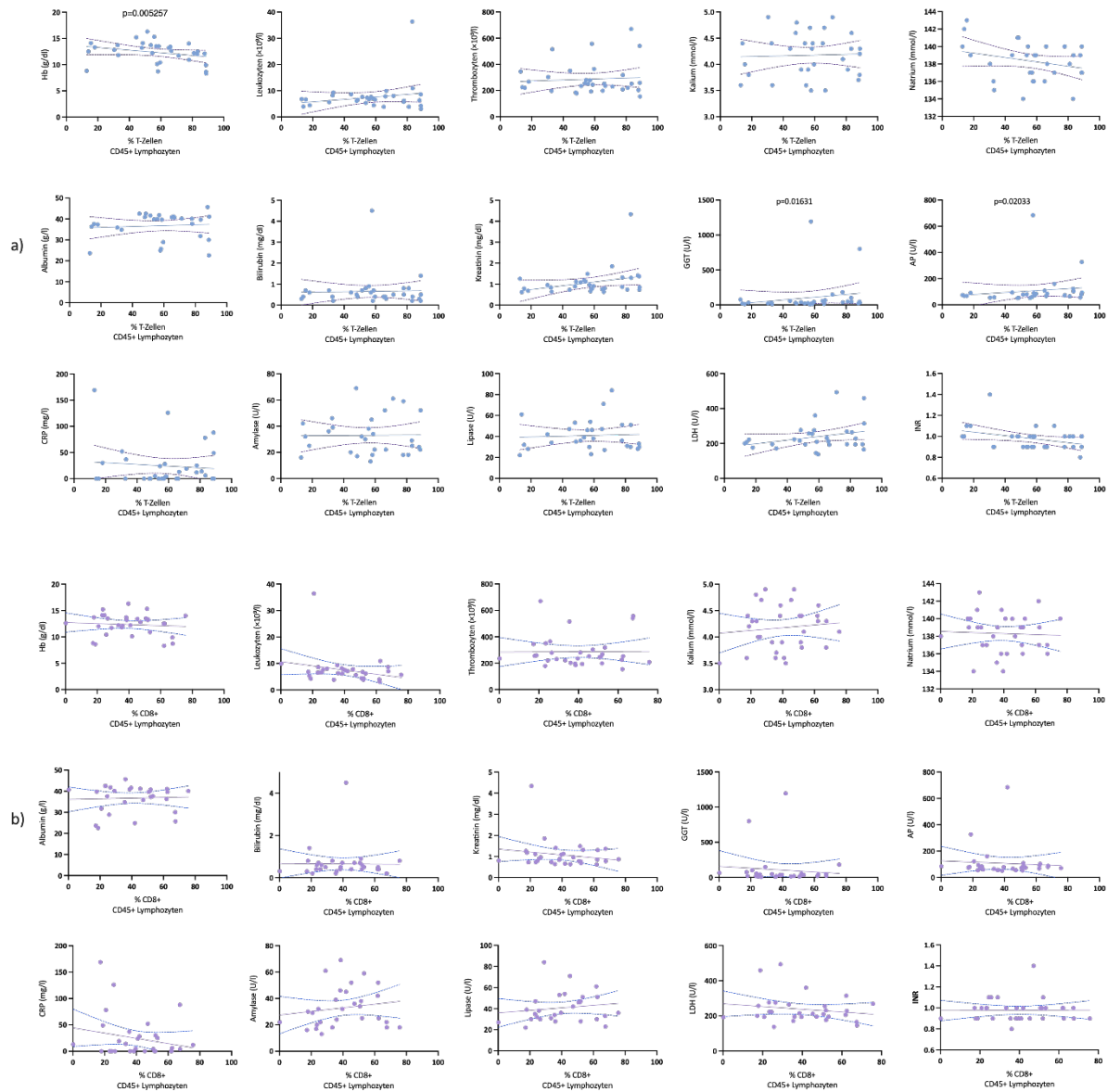


Abbildung 6: Spearman-Korrelationsanalysen (zwischen dem Anteil tumorinfiltrierender T-Lymphozyten und laborchemischen Parametern). (a) zeigt die Analysen für den prozentualen Anteil der Gesamt-T-Zellen, (b) die entsprechenden Korrelationen für CD8⁺-T-Zellen, jeweils aus Tumorgewebeproben. Auf der y-Achse sind die folgenden Parameter dargestellt: Hämoglobin (Hb, g/dl), Leukozyten ($\times 10^9/l$), Thrombozyten ($\times 10^9/l$), Kalium (mmol/l), Natrium (mmol/l), Albumin (g/l), Bilirubin (mg/dl), Kreatinin (mg/dl), Gamma-Glutamyltransferase (GGT, U/l), Alkalische Phosphatase (AP, U/l), C-reaktives Protein (CRP, mg/l), Amylase (U/l), Lipase (U/l), Laktatdehydrogenase (LDH, U/l) sowie die International Normalized Ratio (INR). Die x-Achse zeigt den jeweiligen Anteil der T- bzw. CD8⁺-T-Lymphozyten im Tumor. Die Regressionslinien mit 95 %-Konfidenzintervall veranschaulichen den Zusammenhang zwischen den T-Zell-Anteilen und den jeweiligen Laborparametern. Signifikante Korrelationen ($p < 0,05$) sind im jeweiligen Diagramm angegeben.

4.2.1.1 Erhöhte Immunzellinfiltration ist mit vermindertem Hämoglobin und erhöhter Leberenzymaktivität assoziiert

In der Spearman-Korrelationsanalyse ergaben sich bei der (a) Untersuchung der T-Zellinfiltration und ausgewählten laborchemischen Parametern im Tumorgewebe mehrere signifikante Zusammenhänge. Positive Korrelationen zeigte der Vergleich zwischen der T-Zellinfiltration und den Leberfunktionsparametern Gamma-Glutamyltransferase (GGT; $r = 0,384$, $p = 0,016$) sowie alkalischer Phosphatase (AP; $r = 0,376$, $p = 0,020$). Eine negative Korrelation bestand zwischen dem Anteil an T-Zellen und dem Hämoglobinwert (Hb; $r = -0,446$, $p = 0,005$).

Für weitere Parameter, wie Leukozytenzahl, Thrombozyten, Elektrolyte (Kalium, Natrium), Albumin, Bilirubin, Kreatinin, Laktatdehydrogenase (LDH), INR sowie C-reaktives Protein (CRP), ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge ($p < 0,05$).

Für die CD8⁺-T-Zellen (b) konnte bei keinem der untersuchten Laborparameter eine statistische Signifikanz ($p < 0,05$) nachgewiesen werden. Demnach kann vermutet werden, dass die beobachteten signifikanten Zusammenhänge vor allem die Gesamt-T-Zellpopulationen betreffen und nicht spezifisch die CD8⁺-Subpopulation.

4.2.2. Korrelationen zwischen T-Zellinfiltration und klinisch-chemischen Parametern im Blut

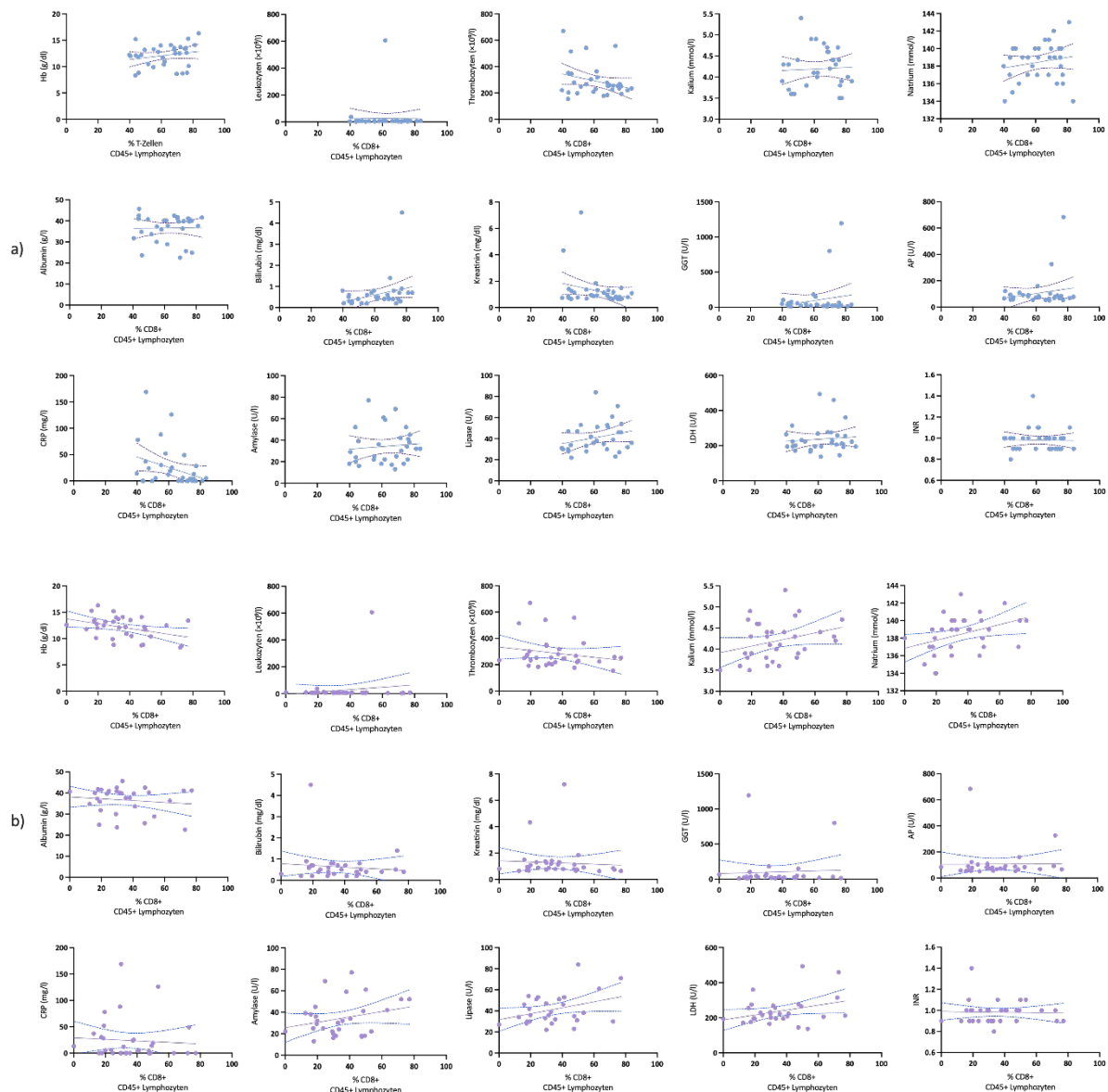


Abbildung 7: Spearman-Korrelationsanalysen zwischen dem Anteil tumorinfiltrierender T-Lymphozyten und laborchemischen Parametern. (a) zeigt die Analysen für den prozentualen Anteil der Gesamt-T-Zellen, (b) die entsprechenden Korrelationen für CD8⁺-T-Zellen, jeweils aus Blutproben. Auf der y-Achse sind die folgenden Parameter dargestellt: Hämoglobin (Hb, g/dl), Leukozyten ($\times 10^9/l$), Thrombozyten ($\times 10^9/l$), Kalium (mmol/l), Natrium (mmol/l), Albumin (g/l), Bilirubin (mg/dl), Kreatinin (mg/dl), Gamma-Glutamyltransferase (GGT, U/l), Alkalische Phosphatase (AP, U/l), C-reaktives Protein (CRP, mg/l), Amylase (U/l), Lipase (U/l), Laktatdehydrogenase (LDH, U/l) sowie die International Normalized Ratio (INR). Die x-Achse zeigt den jeweiligen Anteil der T- bzw. CD8⁺-T-Lymphozyten im Tumor. Die Regressionslinien mit 95 %-Konfidenzintervall veranschaulichen den Zusammenhang zwischen den T-Zellanteilen und den jeweiligen Laborparametern. Signifikante Korrelationen ($p < 0,05$) sind im jeweiligen Diagramm angegeben.

4.2.2.1 T-Zellinfiltration im Blut zeigt keine laborchemischen Korrelationen

Bei der Spearman-Korrelationsanalyse zeigten sich weder für Gesamt-T-Zellen noch für CD8⁺-T-Zellen signifikante Korrelationen mit den untersuchten laborchemischen Parametern Hämoglobin, Leukozyten, Thrombozyten, Elektrolyte (Kalium, Natrium), den

Leberfunktionswerten (Albumin, Bilirubin, GGT, AP) sowie den Nierenfunktionsparametern (Kreatinin) oder den Entzündungsmarkern (CRP, LDH) ($p > 0,05$).

5. Diskussion

5.1. T-Zell-Zunahme ohne verlässlichen Therapie-Benefit

In der untersuchten Kohorte zeigten dedifferenzierte Liposarkome (DDLs; Median = 77,80 %, IQR 56,35 %-83,30 %) eine signifikant höhere T-Zellinfiltration (bezogen auf den Anteil an den CD45⁺-Immunzellen) als gut differenzierte Liposarkome (WDLs; Median = 52,55 %, IQR 35,55 %-58,28 %). Dieses Muster könnte darauf hindeuten, dass im Verlauf der Dedifferenzierung ein stärker entzündliches Tumormikromilieu entsteht. Diese Beobachtung deckt sich mit der aktuellen Literatur, in der das DDLs als der Subtyp unter den Weichteilsarkomen beschrieben wird, der die höchste Immunzellinfiltration aufweist (Abeshouse et al. 2017). Gruel et al. (2024) berichten zudem, dass das DDLs im Vergleich zu WDLs höhere Anteile an regulatorischen CD4⁺ FOXP3⁺-T-Zellen (5,9 % vs. 3,2 %) sowie CD8⁺ PD-1⁺ *exhausted* T Zellen (71,8 % vs. 60,8 %) aufweist (Gruel et al. 2024). Dies könnte jedoch weniger auf eine gesteigerte Immunaktivität als vielmehr auf ein immunsuppressiveres Mikroumfeld hinweisen. So zeigten Chae et al., dass PD-L1 in 31,5 % der untersuchten WDLs-Patienten und in 51,3 % DDLs-Fälle exprimiert wurde, ohne dass sich dies wesentlich auf das Gesamtüberleben auswirkte (Chae et al. 2022). Während in dieser Studie die Expression des Liganden PD-L1 auf Tumorzellen untersucht wurde, wurde in dieser Arbeit die Expression des korrespondierenden Rezeptors PD-1 auf T-Zellen untersucht. Beide Befunde beleuchten komplementäre Aspekte derselben immun inhibitorischen PD-1/PD-L1-Achse, deren Aktivierung eine regulierte Immunsuppression im Tumormikroumfeld vermittelt. Diese Beobachtungen könnten auch als Grundlage für den therapeutischen Einsatz von Anti-PD-L1-Antikörpern (z. B. Durvalumab) bei Weichteilsarkomen dienen. Insgesamt sprechen die vorliegenden Daten somit für eine erhöhte Immunzellaktivität im DDLs, jedoch gleichzeitig für eine mögliche funktionelle Bremsung der Immunantwort trotz erhöhter Gesamtzellzahl.

Eine hohe T-Zellinfiltration im Tumor wird häufig mit einer erhöhten Tumormutationslast (TMB) und der daraus resultierenden Entstehung zahlreicher Neoantigene in Verbindung gebracht. Dies gilt in vielen Studien als prädiktiver Marker für ein gutes Ansprechen auf eine Immuntherapie (Ricciuti et al. 2022). Jedoch beschreiben Abeshouse et al. (2017) eine niedrige TMB in den untersuchten Sarkom Entitäten (Abeshouse et al. 2017). Die beobachtete T-Zellinfiltration lässt sich damit nicht erklären. Stattdessen zeigen Sarkome im Vergleich zu anderen Tumorentitäten weniger eine hohe Punktmutationslast als vielmehr eine

ausgeprägte Amplifikation von Onkogenen wie CDK4 und MDM2 (Gruel et al. 2024). Dies spricht dafür, dass die erhöhte Immunaktivität im dedifferenzierten Sarkom weniger auf einer Vielzahl neuer Neoantigene beruht, sondern vielmehr auf Veränderungen im Tumormikromilieu.

Die SARC028 Studie zeigte zudem, dass Pembrolizumab beim DDLS im Vergleich zu anderen Subtypen die höchste Ansprechrate erzielte, wenn auch insgesamt auf moderatem Niveau (Tawbi et al. 2017). Dies wurde unter anderem auf ein höheres Ausgangsniveau aktivierter CD8⁺-T-Zellen (Tawbi et al. 2017) sowie weiterer immunologischer Faktoren zurückgeführt und unterstreicht die Bedeutung der funktionellen Qualität der Immunzellen im Vergleich zur reinen Quantität. Wie bereits beschrieben, sind insbesondere TLS-Strukturen mit B-zellreichen Anteilen, wie von Petitprez et al. (2020) beschrieben und kategorisiert, mit höheren Ansprechraten assoziiert.

Die Daten zur erhöhten Immunzellinfiltration stimmen mit der aktuellen Studienlage überein, können jedoch nur einen Teil zur Prädiktion beitragen. Ein relevanter Anteil der T-Zellen kann sich bereits in einem *exhausted* oder regulatorischen Zustand befinden und trägt somit nicht zwangsläufig zu höheren Ansprechraten bei. Neben der reinen Zellzahl sollte daher insbesondere eine Selektion anhand von TLS berücksichtigt werden.

5.2. Grad-3-Sarkome mit einer höheren Immunzellichte, aber häufig erschöpfter Immunantwort

Beim Grading ließ sich ebenfalls eine signifikant höhere Dichte an tumorinfiltrierenden T-Zellen bei G3-Tumoren (Median = 74,55 %, IQR 56,90 %-82,90 %) beobachten, als bei G1-Tumoren (Median = 53,70 %, IQR 44,40 % - 58,70 %). Dieses Ergebnis deckt sich mit einer großen multizentrischen Studie, in der die Anzahl an CD3⁺-T-Zellen in G3-Tumoren signifikant höher war als bei G1/2-Tumoren (Smolle et al. 2021), was für eine quantitativ höhere T-Zell-Antwort bei höherem Grading spricht. Gleichzeitig korrelieren Tumoren mit einem höheren Grading mit erhöhter Expression von PD-1-Rezeptoren, dem Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) (Pollack et al. 2017) und dem Lymphocyte-Activation Gene-3 (LAG-3), einem weiteren Immuncheckpoint-Rezeptor, der zur T-Zell Erschöpfung führt, und ebenso eine höhere

Expression bei höherem Grading aufweist (Que et al. 2019). Dies spricht dafür, dass ein höheres Grading mit einem *exhausted*-Zustand der T-Zellen assoziiert ist.

Auch die Dichte von CD8⁺-T-Zellen unterschied sich signifikant zwischen G3-Tumoren (Median = 50,25 %, IQR 39,55 %-63,50 %) und G1-Tumoren (Median = 38,60 %, IQR 24,50 %-50,70 %). Dies entspricht einem entzündlicheren Tumormikroumfeld bei höherem Grading und stützt die Vorstellung einer stärkeren antitumoralen Immunaktivität. Rupp et al. (2023) berichten ebenfalls von statistisch signifikanten Unterschieden in der Konzentration zwischen G3- und G2-Tumoren, weisen jedoch gleichzeitig daraufhin, dass die Frequenz von LAG-3⁺ CD8⁺-T-Zellen bei höhergradigen Tumoren zunimmt und auf einen unterdrückten Zustand der Immunzellen hindeutet (Rupp et al. 2023).

Da das Tumor Grading bereits präoperativ mittels Feinnadelbiopsie bestimmt werden kann, ist es theoretisch als Entscheidungshilfe nutzbar. Wie beschrieben, muss eine höhere T-Zellinfiltration jedoch nicht zwangsläufig auf ein aktive immunologische Umgebung hinweisen. Entscheidend wäre daher die gleichzeitige Bestimmung von Erschöpfungsmarkern (z. B. PD-1, PD-L1, LAG-3), um das Tumor Grading prädiktiv besser einordnen zu können.

5.3. Tumorrezidive mit erhöhter PD-1-Expression

PD-1⁺-T-Zellen zeigten sich im untersuchten Kollektiv bei Rezidiv Tumoren im Vergleich zu Primärtumoren signifikant erhöht (Median = 52,80 %, IQR 32,60 %-75,20 % vs. Median = 34,90 %, IQR 13,35 %-56,08 %). Die längere Exposition gegenüber den Tumorzellen und dem damit einhergehenden Erschöpfungszustand könnte dafür erklärend sein (Wherry und Kurachi 2015). Auch Pauken und Wherry (2015) berichten von einer anhaltenden PD-1 Expression bei chronischer Antigenexposition (Pauken und Wherry 2015). In der Literatur finden sich weitere Checkpoint-Verschiebungen bei wiederaufgetreten Befunden. Vargas et al. (2020) beobachteten in einem Teil ihrer Kohorte eine Erhöhung der PD-L1-Expression bei metastasierten oder rezidierten Gewebe (Vargas et al. 2020). Im Vergleich zum Primärtumor zeigte sich dies in sechs von neun Fällen. Das weist auf eine möglicherweise stärker regulierte Immunantwort im Vergleich zum Primärtumor hin. Ähnliche Muster wurden auch bei anderen Entitäten beschrieben.

Bei Rezidiv Befunden beschreiben Sauerer et al. (2023) eine Hochregulation von PD-1 auf T-Zellen im Knochenmark bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie, besonders nach allogener Stammzelltransplantation. Diese Beobachtung könnte einen parallelen T-Zell-Erschöpfungs- und Immunresistenzmechanismus illustrieren, ist jedoch im Kontext hämatologischer Erkrankungen zu verorten und nicht direkt auf solide Tumoren oder Sarkom Rezidive übertragbar (Sauerer et al. 2023). Bei soliden Tumoren finden sich dabei unterschiedliche Beobachtungen, die die PD1-Expression auf tumorinfiltrierenden Zellen und den Krankheitsverlauf beschreiben sowie entitätsabhängig sind. Die Untersuchung von Shi et al. (2011) von Patienten mit einem hepatozellulärem Karzinom zeigte, dass eine hohe PD1-Expression auf CD8⁺-T-Zellen mit einer früheren Rezidivierung sowie einem kürzeren krankheitsfreien Überleben verknüpft war. Die Hochregulierung der PD-1/PD-L1-Achse mit der daraus resultierenden erhöhten Apoptose von Effektor-T-Zellen weist auf einen wichtigen funktionellen Ausweichmechanismus des Tumors hin, der ein potenzielles Ziel immuntherapeutischer Ansätze darstellen könnte (Shi et al. 2011). Demgegenüber berichten Berghoff et al. (2015) in einer Kohorte von Glioblastom Patienten über keine signifikanten Unterschiede in der PD1-Expression auf tumorinfiltrierenden Zellen zwischen neu diagnostizierten Primärtumoren und Rezidiv Befunden sowie über einen prognostischen Effekt in den Überlebensanalysen (Berghoff et al. 2015).

Insgesamt verdeutlichen die unterschiedlichen Beobachtungen in der beschriebenen Literatur, dass die PD1-Expression bei Rezidiv Befunden keine generalisierte Beobachtung darstellt und vom Tumortyp, dem spezifischen Tumormikroumfeld und vermutlich auch von den verwendeten Analysemethoden abhängig ist. Therapeutisch sind die Ergebnisse dieser Arbeit dennoch relevant, da die immuntherapeutische PD-1-Blockade bei Tumoren in rezidierten oder metastasierten Stadien bereits Überlebensvorteile gezeigt hat, beispielsweise in der KEYNOTE-048-Studie (Harrington et al. 2022). Allerdings zeigen Weichteilsarkome in der SARC028-Studie insgesamt nur ein moderates Ansprechen auf Pembrolizumab (Tawbi et al. 2017). Es ist jedoch zu beachten, dass eine erhöhte PD-1-Expression nicht zwingend einen terminalen Funktionsverlust bedeutet. Insbesondere die bereits diskutierten *progenitor-exhausted* T-Zellen können auf eine PD-1-Blockade ansprechen, während *terminal-exhausted* T-Zellen eine geringere Therapieempfindlichkeit aufweisen (Chen et al. 2019). Dieser Umstand könnte erklären, warum Rezidive trotz einer erhöhten PD-1-Expression ein unterschiedliches Therapieansprechen zeigen. Für die gezielte

Auswahl geeigneter Patienten sollte im Rahmen einer Re-Biopsie eine differenzierte Analyse von Erschöpfungsmarkern zur Charakterisierung der T-Zellen erfolgen, ergänzend zur Untersuchung der PD-1/PD-L1-Achse.

5.4 Klinische Fitness als Surrogatmarker der Tumorimmunität: ECOG, NLR und TILs im Zusammenspiel

Der ECOG-Status 1 definiert Patienten, die bei körperlich anstrengenden Aktivitäten eingeschränkt, aber gehfähig und in der Lage sind, leichte oder sitzende Arbeiten auszuführen, wie etwa leichte Hausarbeit oder Büroarbeit. Der ECOG-Status 2 beschreibt jene Patienten, die gehfähig und zu sämtlicher Selbstversorgung in der Lage, jedoch zu keiner beruflichen Tätigkeit mehr fähig sind. Sie verbringen mehr als 50 % ihrer Wachzeit aktiv und auf den Beinen. Patienten, die einem ECOG-Status 3 zugewiesen werden, gelten als nur eingeschränkt zur Selbstversorgung fähig, während sie mehr als 50 % der Wachzeit an Bett oder Stuhl gebunden sind (Azam et al. 2019).

In dieser Kohorte wiesen Patienten mit ECOG-Status 2 eine niedrigere CD8⁺-T-Zell Konzentration auf (Median = 26,25 %, IQR 19,93 %-38,30 %), als jene mit ECOG-Status 1 (Median = 39,1 %, IQR 25,4 %-51,53 %). Signifikant war hingegen die Steigerung der Konzentration von ECOG-Status 2 zu ECOG 3 (Median = 62,20 %, IQR 41,90 %-67,40 %). Da der ECOG-Status 3 jedoch nur n = 3 Patienten umfasste, sollte die Signifikanz vorsichtig interpretiert werden.

Sofern die Abnahme des Anteils der CD8⁺-T-Zellen von einem ECOG 1 zu ECOG 2 betrachtet wird, deckt sich diese mit der Literatur. Ein schlechterer Allgemeinzustand ist dabei plausibel vereinbar mit einer höheren systemischen Entzündung. Diese spiegelt sich häufig in einem erhöhten Neutrophilen-zu-Lymphozyten-Quotienten (NLR) wider. Studien zu Gallengangs Karzinomen (Tanaka et al. 2020) sowie großzelligen neuroendokrinen Lungenkarzinomen (Shirasawa et al. 2021) zeigen ein konsistentes Bild. Die Gesamtüberlebensrate bei hohem NLR ist kürzer als bei niedrigerem NLR. Außerdem weisen Patienten mit einer hohen Konzentration an CD8⁺-T-Zellen eine längere Gesamtüberlebenszeit auf (Tanaka et al. 2020). Besonders interessant ist, dass die NLR in beiden Studien negativ mit der CD8⁺-T-Zellkonzentration korreliert. Bezogen auf die Immuntherapie zeigt sich in der Untersuchung der Patienten mit einem nichtkleinzelligen Lungenkarzinom eine heterogene Reaktion bei unterschiedlichem ECOG-Status. So besitzen Patienten mit einem hohen ECOG-Status nach Initiation der

Immuntherapie eine niedrigere Ansprechrates und eine kürzere Gesamtüberlebenszeit gegenüber denen mit einem niedrigeren Status (Meyers et al. 2023). Das unterstreicht die Relevanz der allgemeinen Fitness für die Reaktion auf eine Immuntherapie, da eine höhere Konzentration an tumorinfiltrierenden Lymphozyten mit besserem Überleben assoziiert ist (Brummel et al. 2023).

Die einzige statistische Signifikanz zeigte der Vergleich von ECOG-Status 3 mit ECOG-Status 2. Angesichts $n = 3$ Patienten mit einem ECOG-Status 3 ist dieser Unterschied statistisch sehr unsicher und möglicherweise durch Einzelfälle beeinflusst. Der Vergleich des ECOG-Status 1 mit ECOG-Status 2 zeigte zwar einen nicht signifikanten Trend zu niedrigerer CD8⁺-Zellinfiltration bei ECOG 2, deckt sich jedoch mit der Studienlage. Sofern in einem größeren Patientenkollektiv von einer signifikanten Bestätigung dieser Hypothese ausgegangen wird, könnte der Allgemeinzustand zukünftig als Surrogatmarker nutzbar gemacht werden. Präoperativ kann der ECOG-Status einfach erhoben und durch den NLR aus dem Blut ergänzt werden. Zusätzlich kann die TIL-Konzentration aus entnommenem Biopsie Material verwendet werden, um anschließend ein komplettes Ansprechprofil zu ermitteln.

5.5. Doppelnegative T-Zellen als Bindeglied zwischen Immunoseneszenz und tumorassoziierter Entzündungsreaktion

In dieser Kohorte nahm der Anteil doppelnegativer T-Zellen (DN-T-Zellen) mit zunehmendem Alter der Patienten signifikant ($p = 0,03054$) ab. Zudem trat eine B-Symptomatik (insbesondere Fieber) häufiger bei Patienten mit höherer DN-T-Zellinfiltration auf (Median = 65,45, IQR 57,70 %-88,60 % vs. Median = 54,50 %, IQR 30,40 %-66,70 %). DN-T-Zellen sind eine funktionell heterogene Subpopulation der T-Zellen, die einen T-Zell-Rezeptor besitzen, aber weder CD4 noch CD8 exprimieren. Sie können in Blut, Geweben und im Tumormikromilieu gefunden werden und übernehmen proinflammatorische oder immunsuppressive Aufgaben (Wu et al. 2022). Im Tumormikroumfeld sind DN-T-Zellen bei Patienten mit einem kolorektalen Karzinomen eingehend untersucht und dort als negative Regulatoren der antitumoralen Antwort beschrieben worden (Okamura et al. 2024).

Der altersassoziierte Rückgang der DN-T-Zellen, der in dieser Studie beobachtet wurde, ist in der Literatur kaum beschrieben, reiht sich jedoch in das allgemeine Phänomen der

Immunoseneszenz, des Fähigkeitsverlustes des Immunsystems mit steigendem Alter, ein (Rodriguez et al. 2021). Dass eine B-Symptomatik bei Patienten mit DN-T-zellreichen Tumoren auftrat, ist mit dem proinflammatorischen DN-T-Zell-Subtyp vereinbar und passt zur Rolle pyrogener Zytokine (v. a. Interleukin-6, daneben Interleukin-1 und Tumornekrosefaktor), die von diesem Subtyp sezerniert werden und an der Fieberentstehung beteiligt sind (Conti et al. 2004). Eine IL-6 getriebene paraneoplastische Entzündungsreaktion bei Sarkomen wurde bereits in Fallberichten beschrieben und kann durch Tocilizumab, einen IL-6-Rezeptor-Antikörper, gebessert werden. Dies unterstreicht die Verbindung zwischen systemischen Entzündungszeichen und der Akkumulation von DN-T-Zellen zusätzlich.

Zusammengefasst erlaubt die Akkumulation von DN-T-Zellen keine direkte Aussage über einen möglichen Therapieerfolg. Wichtig ist in diesem Zusammenhang eine genaue Untersuchung der weiteren Funktionsmarker im Tumormikroumfeld, um den genauen Subtyp der DN-T-Zellen als proinflammatorisch oder regulatorisch identifizieren zu können. Somit könnten anschließend therapierbare Achsen wie z. B. IL-6 als Ansatzpunkte abgeleitet werden.

5.6. Spezifische Laborparameter korrelieren mit lokaler Immunaktivität im Weichteilsarkom

Die Analyse des Tumorgewebes zeigte eine gesteigerte T-Zellinfiltration, die signifikant mit niedrigeren Hämoglobinwerten und erhöhten Leberenzymwerten (GGT, AP) korrelierte. Der inverse Zusammenhang mit dem Hämoglobin ist bei Tumoren beschrieben und lässt sich unter anderem mit einer verringerten Erythropoese bei gleichzeitig gesteigerter Zerstörung von Erythrozyten durch von Tumorzellen ausgeschüttete Zytokine erklären (Yuan et al. 2023). Diese Beobachtung passt zu den Ergebnissen von Szkandera et al. (2014), die retrospektiv N = 367 Patienten mit einem Weichteilsarkom auf ihren präoperativen Hb-Wert untersuchten. Dabei stellten sie fest, dass ein niedrigerer präoperativer Wert als negativer Prognosefaktor für das Überleben dienen kann (Szkandera et al. 2014). Während diese Studie einen prognostischen Zusammenhang zwischen Hb-Werten im Blut und dem Überleben zeigt, weist die in dieser Kohorte beobachtete inverse Beziehung zwischen dem Hb-Wert und der Immunzellinfiltration möglicherweise auf einen Zusammenhang mit erhöhter Tumoraktivität und einer verstärkten lokalen Immunreaktion hin.

Die positive Korrelation der GGT-Aktivität könnte ebenfalls auf eine Verbindung zwischen Immunaktivität und Tumormikromilieu hinweisen. Schwameis et al. (2016) untersuchten N = 44 Patienten mit Leiomyosarkom und identifizierten erhöhte präoperative GGT-Werte als negativen Prognosefaktor mit einer signifikant niedrigeren fünf Jahres-Überlebensrate. Dies führten die Autoren auf eine induzierte Tumoraktivität bei oxidativem Stress zurück, die wiederum direkt mit dem GGT-Wert in Zusammenhang steht (Schwameis et al. 2016). Erhöhte AP-Werte werden hingegen in der Literatur mit erhöhter Tumorlast und einer verringerten Ansprechrate auf Immuntherapien assoziiert (Ding 2024).

Für die weiteren untersuchten Laborparameter konnten keine signifikanten Korrelationen nachgewiesen werden. Dies wurde insbesondere bei den Entzündungsparametern CRP sowie der Leukozytenzahl nicht erwartet und scheint zunächst ferner der gängigen Literatur zu widersprechen, die erhöhte CRP-Spiegel mit systemischer Entzündungsaktivität und prognostisch ungünstigen Verläufen beschreibt (Nakamura et al. 2024). Dies könnte allerdings dadurch erklärbar sein, dass der CRP-Wert und die Leukozytenzahl auf eine systemische Reaktion des Körpers auf den Tumor hinweisen, während die T-Zellanzahl die lokale Antwort innerhalb des Tumormikromilieus anzeigt. Eine lokale und systemische Reaktion muss demnach nicht zwingend parallel ablaufen. Die negativen Korrelationen dieser Studie zwischen dem CRP und den Leukozyten mit der T-Zellinfiltration stehen daher nicht in direktem Widerspruch zur Literatur, sondern verdeutlichen die Trennung zwischen systemischer Entzündungsantwort und lokaler Immunaktivität. Auch die Messzeitpunkte, potenzielle perioperative Einflüsse und die Subtyp-Heterogenität der Sarkome könnten diese fehlenden Zusammenhänge zusätzlich erklären.

Insgesamt stützen die Ergebnisse dieser Arbeit die Annahme, dass Hämoglobin, GGT und AP potenzielle Surrogatmarker einer Tumorprogression mit inflammatorischer Begleitreaktion darstellen, während klassische systemische Entzündungsparameter wie CRP oder Leukozytenzahl hierfür ungeeignet scheinen. Die vorliegenden Ergebnisse legen die Hypothese nahe, dass systemische und lokale Immunreaktionen beim Weichteilsarkom nicht linear miteinander verknüpft sind, sondern unterschiedliche pathophysiologische Ebenen repräsentieren. Zukünftige Untersuchungen sollten kombinierte Ansätze entwickeln, die systemische Entzündungsparameter mit histopathologischen und immunologischen

Gewebedaten kombinieren, um ein ganzheitliches Verständnis der Tumor-Immun-Achse bei Weichteilsarkomen zu ermöglichen.

6. Zusammenfassung/Summary

6.1 Deutsch

Weichteilsarkome stellen eine heterogene Tumorgruppe dar, deren Therapieansprechen und immunologisches Verhalten bislang nicht vollständig verstanden sind. Ziel dieser Arbeit war es, prädiktive Marker zu identifizieren, die auf ein immunologisch aktives Tumormikromilieu hinweisen könnten. Hierzu wurden $n = 33$ Patienten mit vorhandenen FACS-Daten retrospektiv untersucht und die Korrelation klinischer Parameter mit tumorinfiltrierenden T-Zell-Subpopulationen analysiert.

Dedifferenzierte Liposarkome (DDLs) wiesen die höchste Immunzellinfiltration auf. Eine erhöhte Dichte an T- und CD8⁺-Zellen wurde sowohl bei DDLs als auch bei G3-Tumoren beobachtet, ohne dass dies zwangsläufig mit einer funktionellen Aktivität einherging. Die verstärkte Expression des Erschöpfungsmarkers PD-1 deutet vielmehr auf einen *exhausted* oder regulatorischen Zustand und damit auf eine potenzielle Dysfunktionalität der T-Zellen hin. Patienten mit B-Symptomatik zeigten eine erhöhte Infiltration von T-Zellen, PD-1⁺-Zellen und DN-T-Zellen auf. Ein höherer ECOG-Status korrelierte mit gesteigerten Anteilen an CD8⁺- und PD-1⁺-T-Zellen. Diese Befunde sprechen dafür, dass systemische Reaktionen mit einer erhöhten Immunzellinfiltration einhergehen können, jedoch häufig von einem funktionell eingeschränkten Immunstatus begleitet werden. Die altersabhängige Abnahme der Konzentration an doppelt-negativen T-Zellen weist zudem auf immunoseneszenzbedingte Veränderungen im Tumormikromilieu hin. Laborchemisch zeigte sich eine positive Korrelation der T-Zellinfiltration mit den Leberenzymen GGT und AP sowie eine inverse Korrelation mit dem Hämoglobinwert. Insgesamt deuten die Ergebnisse darauf hin, dass systemische und lokale Immunreaktionen bei Sarkomen nicht zwingend linear miteinander verknüpft sind. Routinelaborparameter könnten daher besser zur Abschätzung der intratumoralen Immunaktivität geeignet sein als klassische systemische Entzündungsmarker.

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen auf mehrere potenziell einfach zugängliche Surrogatmarker hin, die im klinischen Alltag verfügbar sind. Diese Parameter sind kostengünstig und breit einsetzbar und könnten zur Patientenselektion vor Beginn einer Immuntherapie beitragen. Die Kombination aus klinischen Parametern, Biopsie Ergebnissen und einer differenzierten Analyse des Tumormikromilieus könnte langfristig eine individualisierte Therapieplanung mithilfe prädiktiver Marker ermöglichen.

6.2 English

Among the highly heterogeneous soft tissue sarcomas, therapeutic response and immunological behavior remain incompletely understood. The aim of this study was to identify predictive markers indicative of an immunologically active tumor microenvironment. To this end, $n = 33$ patients with available FACS data were retrospectively analyzed for clinical, laboratory, and histopathological parameters, and their correlation with tumor-infiltrating T-cell subpopulations was assessed.

Dedifferentiated liposarcomas (DDLs) exhibited the highest immune cell infiltration. Increased densities of T cells and CD8+ T cells were observed in DDLs and G3 tumors, however, increased quantity does not necessarily imply functional quality. The enhanced expression of the exhaustion marker PD-1 suggests an *exhausted* or regulatory phenotype and thus potential functional impairment. Patients presenting with B symptoms showed higher densities of T cells, PD-1+ cells, and double-negative T cells. A higher ECOG performance status correlated with increased proportions of CD8+ and PD-1+ T cells. These findings indicate that systemic disease activity may be associated with increased immune cell infiltration, which is frequently accompanied by functional dysfunction. The age-dependent decline in double-negative T-cells supports the presence of immunosenescence and associated alterations in the tumor microenvironment. Laboratory analysis revealed a positive correlation between T-cell infiltration and liver enzymes (GGT and alkaline phosphatase), as well as an inverse correlation with hemoglobin levels. Overall, these results suggest that systemic and local immune responses in sarcomas do not necessarily correlate. Routine laboratory parameters may therefore better reflect intratumoral immune activity than conventional systemic inflammatory markers.

The findings of this study point to several potential surrogate markers that are readily available in routine clinical practice. These markers are easy to obtain, cost-effective, and widely accessible, making them potentially suitable for patient stratification prior to immunotherapy. However, further prospective validation is required, and functional characterization of T-cell populations should complement phenotypic analyses. The integration of clinical parameters, biopsy findings, and detailed characterization of the tumor microenvironment may ultimately facilitate individualized treatment strategies based on predictive biomarkers.

7. Literaturverzeichnis

Abeshouse, A., Adebamowo, C., Adebamowo, Sally N, et al. (2017) 'Comprehensive and Integrated Genomic Characterization of Adult Soft Tissue Sarcomas', *Cell*, 171(4), pp. 950-965.e28. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.10.014>.

Azam, F. et al. (2019) 'Performance Status Assessment by Using ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) Score for Cancer Patients by Oncology Healthcare Professionals', *Case Reports in Oncology*, 12(3), pp. 728–736. Available at: <https://doi.org/10.1159/000503095>.

Ben-Ami, E. et al. (2017) 'Immunotherapy with single agent nivolumab for advanced leiomyosarcoma of the uterus: Results of a phase 2 study', *Cancer*, 123(17), pp. 3285–3290. Available at: <https://doi.org/10.1002/cncr.30738>.

Berghoff, A.S. et al. (2015) 'Programmed death ligand 1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes in glioblastoma', *Neuro-Oncology*, 17(8), pp. 1064–1075. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou307>.

Brummel, K. et al. (2023) 'Tumour-infiltrating lymphocytes: from prognosis to treatment selection', *British Journal of Cancer*. Springer Nature, pp. 451–458. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41416-022-02119-4>.

Burgess, M.A. et al. (2025) 'Clinical activity of pembrolizumab (P) in undifferentiated pleomorphic sarcoma (UPS) and dedifferentiated/pleomorphic liposarcoma (LPS): Final results of SARC028 expansion cohorts.', *Journal of Clinical Oncology*, 37(15_suppl), p. 11015. Available at: https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.11015.

Buyse, M. et al. (2010) 'Biomarkers und surrogate end points-The challenge of statistical validation', *Nature Reviews Clinical Oncology*, pp. 309–317. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2010.43>.

Chae, H. et al. (2022) 'Clinicopathologic Characteristics and Clinical Outcome of Localized Liposarcoma: A Single-Center Experience over 25 Years und Evaluation of PD-L1 Expression', *Cancer Research and Treatment*, 54(2), pp. 579–589. Available at: <https://doi.org/10.4143/crt.2021.496>.

Chalmers, Z.R. et al. (2017) 'Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden', *Genome Medicine*, 9(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s13073-017-0424-2>.

Chen, D.S. and Mellman, I. (2013) 'Oncology meets immunology: The cancer-immunity cycle', *Immunity*, pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.07.012>.

Chen, L. and Flies, D.B. (2013) 'Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition', *Nature Reviews Immunology*, pp. 227–242. Available at: <https://doi.org/10.1038/nri3405>.

Chen, Z. et al. (2019) 'TCF-1-Centered Transcriptional Network Drives an Effector versus Exhausted CD8 T Cell-Fate Decision', *Immunity*, 51(5), pp. 840-855.e5. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.09.013>.

Coley, W.B. (1936) *ORIGINAL ARTICLES THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF BONE SARCOMA.* Surgeon-in-Chief Emeritus, Hospital for Ruptured und Crippled; Consulting Surgeon, Memorial Hospital, Glasgow Medical Journal New (7th) Series August.*

Conti, B. et al. (2004) *CYTOKINES AND FEVER, Frontiers in Bioscience.*

Dajsakdipon, T. et al. (2022) 'Immunotherapy and Biomarkers in Sarcoma', *Current Treatment Options in Oncology*. Springer, pp. 415–438. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11864-022-00944-6>.

D'Angelo, S. et al. (2019) 'Pilot study of NKTR214 and nivolumab in patients with sarcomas.', *Journal of Clinical Oncology*, 37, p. 11010. Available at: https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.11010.

D'Angelo, S.P. et al. (2018) 'Nivolumab with or without ipilimumab treatment for metastatic sarcoma (Alliance A091401): two open-label, non-comparative, randomised, phase 2 trials', *The Lancet Oncology*, 19(3), pp. 416–426. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30006-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30006-8).

Dhatchinamoorthy, K., Colbert, J.D. and Rock, K.L. (2021) 'Cancer Immune Evasion Through Loss of MHC Class I Antigen Presentation', *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.636568>.

Ding, N. (2024) 'Predictive value of serum alkaline phosphatase, tumor-specific growth factor, and macrophage migration inhibitory factor for the efficacy of immunotargeted therapy in osteosarcoma patients', *American Journal of Cancer Research*, 14(7), pp. 3545–3554. Available at: <https://doi.org/10.62347/dkbox4311>.

Dustin, M.L. (2014) 'The immunological synapse', *Cancer immunology research*, pp. 1023–1033. Available at: <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0161>.

Espinosa-Carrasco, G. et al. (2024) 'Intratumoral immune triads are required for immunotherapy-mediated elimination of solid tumors', *Cancer Cell*, 42(7), pp. 1202-1216.e8. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2024.05.025>.

Fazel, M. et al. (2023) 'Immunotherapy for Soft Tissue Sarcomas: Anti-PD1/PDL1 and Beyond', *Cancers*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers15061643>.

Fengmin Zhao (2016) 'Evolution of randomized trials in advanced/metastatic soft tissue sarcoma: End point selection, surrogacy, and quality of reporting', *Journal of Clinical Oncology*, (13), pp. 1469–1475. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.64.3437>.

Gronchi, A. et al. (2021) 'Soft tissue and visceral sarcomas: ESMO–EURACAN–GENTURIS Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up☆', *Annals of Oncology*, 32(11), pp. 1348–1365. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.07.006>.

Gruel, N. et al. (2024) 'Cellular origin and clonal evolution of human dedifferentiated liposarcoma', *Nature Communications*, 15(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-52067-1>.

Haanen, J.B.A.G. and Robert, C. (2015) 'Immune Checkpoint Inhibitors', *Progress in Tumor Research*, 42, pp. 55–66. Available at: <https://doi.org/10.1159/000437178>.

Harjunpää, H. and Guillerey, C. (2020) 'TIGIT as an emerging immune checkpoint', *Clinical and Experimental Immunology*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 108–119. Available at: <https://doi.org/10.1111/cei.13407>.

Harrington, K.J. et al. (2022) 'Pembrolizumab with or Without Chemotherapy in Recurrent or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Updated Results of the Phase III KEYNOTE-048 Study', *J Clin Oncol*, 41, pp. 790–802. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.21>.

Jochen Schütte et al. (2019) *Weichgewebssarkome (maligne Weichgewebstumoren) des Erwachsenen*. Available at: <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/weichgewebssarkome-maligne-weichgewebstumoren-des-erwachsenen/@@guideline/html/index.html> (Accessed: 4 February 2025).

Keung, E.Z. et al. (2020) 'Correlative analyses of the SARC028 trial reveal an association between sarcoma-associated immune infiltrate and response to pembrolizumab', *Clinical Cancer Research*, 26(6), pp. 1258–1266. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-1824>.

Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, D.K.A. (2022) *S3-Leitlinie Adulte Weichgewebesarkome, Langversion 1.1, AWMF- Registernummer: 032/044OL*. Available at: <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/adulte-weichgewebesarkome/> (Accessed: 4 February 2025).

Maki, R.G. et al. (2013) 'A pilot study of anti-CTLA4 antibody ipilimumab in patients with synovial sarcoma', *Sarcoma*, 2013. Available at: <https://doi.org/10.1155/2013/168145>.

Margitta Retz und Jürgen E. Gschwend (2021) *Immuntherapie in der Uroonkologie*. Springer-Verlag GmbH Deutschland. Available at: <https://doi.org/10.1007/978-3-662-60978-1>.

Merchant, M.S. et al. (2016) 'Phase i clinical trial of ipilimumab in pediatric patients with advanced solid tumors', *Clinical Cancer Research*, 22(6), pp. 1364–1370. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-0491>.

Meyers, D.E. et al. (2023) 'Impact of Performance Status on Survival Outcomes and Health Care Utilization in Patients with Advanced NSCLC Treated with Immune Checkpoint Inhibitors', *JTO Clinical and Research Reports*, 4(4). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jtocrr.2023.100482>.

Miller, B.C. et al. (2019) 'Subsets of exhausted CD8+ T cells differentially mediate tumor control and respond to checkpoint blockade', *Nature Immunology*, 20(3), pp. 326–336. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0312-6>.

Mowery, Y.M. et al. (2025) *SU2C-SARC032: A randomized trial of neoadjuvant RT and surgery with or without pembrolizumab for soft tissue sarcoma*.

Murphy, K. und Weaver, C. (2018) 'Wie Antigene den T-Lymphocyten präsentiert werden', in *Janeway Immunologie*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 273–326. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-662-56004-4_6.

Nakamura, T. et al. (2024) 'C-reactive protein and related predictors in soft tissue sarcoma (Review)', *Molecular and Clinical Oncology*, 20(1). Available at: <https://doi.org/10.3892/mco.2023.2704>.

Okamura, K. et al. (2024) 'Characterization of double-negative T cells in colorectal cancers and their corresponding lymph nodes', *OncolImmunology*, 13(1). Available at: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2024.2373530>.

Palmerini, E. et al. (2025) 'Nivolumab and sunitinib in patients with advanced bone sarcomas: A multicenter, single-arm, phase 2 trial', *Cancer*, 131(1). Available at: <https://doi.org/10.1002/cncr.35628>.

Pauken, K.E. and Wherry, E.J. (2015) 'Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer', *Trends in Immunology*. Elsevier Ltd, pp. 265–276. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.it.2015.02.008>.

Petitprez, F. et al. (2020) 'B cells are associated with survival and immunotherapy response in sarcoma cells are associated with survival and immunotherapy response in sarcoma', *Nature*, 577(7791). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1906-8>.

Piperi, E. et al. (2012) 'Well-Differentiated Liposarcoma/Atypical Lipomatous Tumor of the Oral Cavity: Report of Three Cases and Review of the Literature', *Head and Neck Pathology*, pp. 354–363. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12105-011-0327-2>.

Pollack, S.M. et al. (2017) 'T-cell infiltration and clonality correlate with programmed cell death protein 1 and programmed death-ligand 1 expression in patients with soft tissue sarcomas', *Cancer*, 123(17), pp. 3291–3304. Available at: <https://doi.org/10.1002/cncr.30726>.

Pollack, S.M. et al. (2020) 'Assessment of Doxorubicin and Pembrolizumab in Patients with Advanced Anthracycline-Naive Sarcoma: A Phase 1/2 Nonrandomized Clinical Trial', *JAMA Oncology*, 6(11), pp. 1778–1782. Available at: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.3689>.

Que, Y. et al. (2019) 'LAG-3 expression on tumor-infiltrating T cells in soft tissue sarcoma correlates with poor survival', *Cancer Biology and Medicine*, 16(2), pp. 331–340. Available at: <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0306>.

Resag, A. et al. (2022) 'The Immune Contexture of Liposarcoma and Its Clinical Implications', *Cancers*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers14194578>.

Ricciuti, B. et al. (2022) 'Association of High Tumor Mutation Burden in Non–Small Cell Lung Cancers with Increased Immune Infiltration and Improved Clinical Outcomes of PD-L1 Blockade Across PD-L1 Expression Levels', *JAMA Oncology*, 8(8), pp. 1160–1168. Available at: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2022.1981>.

Rivera Vargas, T. and Apetoh, L. (2017) 'Danger signals: Chemotherapy enhancers?', *Immunological Reviews*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 175–193. Available at: <https://doi.org/10.1111/imr.12581>.

Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg) (2023) *Krebs in Deutschland für 2019/2020.14. Ausgabe*. Berlin. Available at: <https://doi.org/10.25646/11357>.

Rodriguez, I.J. et al. (2021) 'Immunosenescence Study of T Cells: A Systematic Review', *Frontiers in Immunology*, 11. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.604591>.

Rosin, D.L. and Okusa, M.D. (2011) 'Dangers within: DAMP responses to damage und cell death in kidney disease', *Journal of the American Society of Nephrology*. American Society of Nephrology, pp. 416–425. Available at: <https://doi.org/10.1681/ASN.2010040430>.

Rui, R., Zhou, L. and He, S. (2023) 'Cancer immunotherapies: advances and bottlenecks', *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media SA. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1212476>.

Rupp, L. et al. (2023) 'Prognostic impact of the post-treatment T cell composition and spatial organization in soft tissue sarcoma patients treated with neoadjuvant hyperthermic radio(chemo)therapy', *Frontiers in Immunology*, 14. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1185197>.

Sauerer, T., Velázquez, G.F. and Schmid, C. (2023) 'Relapse of acute myeloid leukemia after allogeneic stem cell transplantation: immune escape mechanisms and current implications for

therapy', *Molecular Cancer*. BioMed Central Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01889-6>.

Schwameis, R. et al. (2016) 'Gamma-glutamyltransferase as novel biomarker in patients with uterine leiomyosarcoma', *Scientific Reports*, 6. Available at: <https://doi.org/10.1038/srep33757>.

Shi, F. et al. (2011) 'PD-1 and PD-L1 upregulation promotes CD8+ T-cell apoptosis and postoperative recurrence in hepatocellular carcinoma patients', *International Journal of Cancer*, 128(4), pp. 887–896. Available at: <https://doi.org/10.1002/ijc.25397>.

Shirasawa, M. et al. (2021) 'Prognostic impact of peripheral blood neutrophil to lymphocyte ratio in advanced-stage pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma and its association with the immune-related tumour microenvironment', *British Journal of Cancer*, 124(5), pp. 925–932. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41416-020-01188-7>.

Smolle, M.A. et al. (2021) 'T-regulatory cells predict clinical outcome in soft tissue sarcoma patients: a clinico-pathological study', *British Journal of Cancer*, 125(5), pp. 717–724. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41416-021-01456-0>.

Subramanian, A. et al. (2024) 'Sarcoma microenvironment cell states and ecosystems are associated with prognosis and predict response to immunotherapy', *Nature Cancer* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1038/s43018-024-00743-y>.

Sunshine, J. and Taube, J.M. (2015) 'PD-1/PD-L1 inhibitors', *Current Opinion in Pharmacology*. Elsevier Ltd, pp. 32–38. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2015.05.011>.

Szkandera, J. et al. (2014) 'Pre-Treatment anemia is a poor prognostic factor in soft tissue sarcoma patients', *PLoS ONE*, 9(9). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107297>.

Tanaka, R. et al. (2020) 'Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts tumor-infiltrating CD8+ T cells in biliary tract cancer', *Anticancer Research*, 40(5), pp. 2881–2887. Available at: <https://doi.org/10.21873/anticanres.14264>.

Tawbi, H.A. et al. (2017) 'Pembrolizumab in advanced soft-tissue sarcoma and bone sarcoma (SARC028): a multicentre, two-cohort, single-arm, open-label, phase 2 trial', *The Lancet*

Oncology, 18(11), pp. 1493–1501. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30624-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30624-1).

Thomas, A. et al. (2017) 'JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY Clinical and Molecular Spectrum of Liposarcoma'. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2017>.

Thway, K. and Fisher, C. (2021) 'Undifferentiated and dedifferentiated soft tissue neoplasms: Immunohistochemical surrogates for differential diagnosis', *Seminars in Diagnostic Pathology*, 38(6), pp. 170–186. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1053/j.semdp.2021.09.005>.

Tie, Y. et al. (2022) 'Immunosuppressive cells in cancer: mechanisms and potential therapeutic targets', *Journal of Hematology and Oncology*. BioMed Central Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01282-8>.

Topalian, S.L., Drake, C.G. and Pardoll, D.M. (2015) 'Immune checkpoint blockade: A common denominator approach to cancer therapy', *Cancer Cell*. Cell Press, pp. 450–461. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.03.001>.

Toulmonde, M. et al. (2018) 'Use of PD-1 Targeting, Macrophage Infiltration, and IDO Pathway Activation in Sarcomas: A Phase 2 Clinical Trial', *JAMA Oncology*, 4(1), pp. 93–97. Available at: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.1617>.

Vargas, A.C. et al. (2020) 'Prevalence of PD-L1 expression in matched recurrent and/or metastatic sarcoma samples and in a range of selected sarcomas subtypes', *PLoS ONE*, 15(4). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222551>.

Waldman, A.D., Fritz, J.M. and Lenardo, M.J. (2020) 'A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice', *Nature Reviews Immunology*. Nature Research, pp. 651–668. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0306-5>.

Wang, Q., Qin, Y. and Li, B. (2023) 'CD8+ T cell exhaustion and cancer immunotherapy', *Cancer Letters*, 559, p. 216043. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2022.216043>.

Wherry, E.J. and Kurachi, M. (2015) 'Molecular and cellular insights into T cell exhaustion', *Nature Reviews Immunology*. Nature Publishing Group, pp. 486–499. Available at: <https://doi.org/10.1038/nri3862>.

Wik, J.A. and Skålhegg, B.S. (2022) 'T Cell Metabolism in Infection', *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.840610>.

Wilky, B.A. et al. (2019) 'Axitinib plus pembrolizumab in patients with advanced sarcomas including alveolar soft-part sarcoma: a single-centre, single-arm, phase 2 trial', *The Lancet Oncology*, 20(6), pp. 837–848. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30153-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30153-6).

Wu, Z. et al. (2022) 'CD3+CD4-CD8- (Double-Negative) T Cells in Inflammation, Immune Disorders and Cancer', *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.816005>.

Yang, J., Yan, J. and Liu, B. (2018) 'Targeting VEGF/VEGFR to modulate antitumor immunity', *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00978>.

Zafar, A., Khan, M.J. and Naeem, A. (2023) 'MDM2- an indispensable player in tumorigenesis', *Molecular Biology Reports*. Springer Science and Business Media B.V., pp. 6871–6883. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08512-3>.

8. Abkürzungsverzeichnis

AAD	<i>Aminoactinomycin D</i>
AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
AP	<i>Alkalische Phosphatase</i>
APCs	<i>Antigenpräsentierende Zellen</i>
ASA	<i>American Society of Anesthesiologists</i>
ASPS	<i>Alveoläres Weichteilsarkom</i>
BMI	<i>Body-Mass-Index</i>
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
CD4 ⁺	<i>T-Helferzellen (CD4-positiv)</i>
CD8 ⁺	<i>Zytotoxische T-Zellen (CD8-positiv)</i>
CDK	<i>Cyclin-Dependent Kinase</i>
CR	<i>Komplette Remission</i>
CRP	<i>C-reaktives Protein</i>
CT	<i>Computertomographie</i>
CTLA-4	<i>Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4</i>
DAMPs	<i>Damage-associated molecular patterns</i>
DDLS	<i>Dedifferenziertes Liposarkom</i>
dl	<i>Deziliter</i>
DN	<i>Doppelt-negative T-Zellen</i>
DNA	<i>Desoxyribonukleinsäure</i>
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status</i>
FACS	<i>Fluorescence-Activated Cell Sorting</i>
FBS	<i>Fetal Bovine Serum</i>
FcR	<i>Fc-Rezeptor</i>
g	<i>Gramm</i>
G	<i>Grading</i>
GGT	<i>Gamma-Glutamyl-Transferase</i>
GIST	<i>Gastrointestinale Stromatumore</i>
Hb	<i>Hämoglobin</i>
ICIs	<i>Immunecheckpoint-Inhibitoren</i>
IDO	<i>Indolamin-2,3-Dioxygenase</i>
IL	<i>Interleukin</i>
INR	<i>International Normalized Ratio</i>
IQR	<i>Interquartile range</i>
l	<i>Liter</i>
LAG	<i>Lymphocyte-activation gene</i>
LDH	<i>Laktat-Dehydrogenase</i>
LMS	<i>Leiomyosarkom</i>
M	<i>Metastasis</i>
Mb	<i>Megabasen</i>
mg	<i>Milligramm</i>
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
mmol	<i>Millimol</i>
MRT	<i>Magnetresonanztomographie</i>
N	<i>Node</i>
NK-Zellen	<i>Natürliche Killerzellen</i>

NLR	<i>Neutrophilen-zu-Lymphozyten-Quotienten</i>
NOS	<i>Nicht weiter spezifizierte Sarkome</i>
ORR	<i>Gesamtansprechrate</i>
PARP	<i>Poly(ADP-ribose)-Polymerasen</i>
PBMCs	<i>Periphere mononukleäre Zellen</i>
PBS	<i>Phosphate-Buffered Saline</i>
PD-1	<i>Programmed Cell Death 1</i>
PD-L1	<i>Programmed Death Ligand 1</i>
PFS	<i>Progressionsfreies Überleben</i>
PR	<i>Partielle Remission</i>
PVC	<i>Polyvinylchlorid</i>
SD	<i>Stabile Erkrankung, Standardabweichung</i>
SIC	<i>Sarcoma Immune Class</i>
T	<i>Tumor</i>
TCR	<i>T-Zellrezeptor</i>
TIGIT	<i>T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains</i>
TILs	<i>Tumorinfiltrierende Lymphozyten</i>
TIM3	<i>T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3</i>
TKIs	<i>Tyrosinkinase Inhibitoren</i>
TLS	<i>Tertiäre lymphatische Strukturen</i>
TMB	<i>Tumormutationslast</i>
TNM	<i>Tumor-Node-Metastasis</i>
U	<i>Einheiten</i>
UICC	<i>Union Internationale Contre le Cancer</i>
UKE	<i>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf</i>
UPS	<i>Undifferenziertes pleomorphes Sarkom</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VEGFR	<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor</i>
WDLS	<i>Well developed Liposarcoma/gut differenziertes Liposarkom</i>

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Probenverarbeitung, Flow-Zytometrie-Gating und funktionelle Profilierung der T-Zell-Subpopulationen.....	22
Abbildung 2: Prozentuale Expression durchflusszytometrisch analysierter T-Zellen, CD8 ⁺ T-Zellen, doppelnegativer T-Zellen (CD4 ⁻ CD8 ⁻), sowie PD-1 ⁺ - und TIGIT ⁺ -T-Zellen im Tumorareal, jeweils bezogen auf die Gesamtzahl CD45 ⁺ lebendiger Lymphozyten.....	25
Abbildung 3: Prozentuale Expression durchflusszytometrisch erfasster T-Zellen, CD8 ⁺ T-Zellen, doppelnegativer T-Zellen (CD4 ⁻ CD8 ⁻), sowie PD-1 ⁺ - und TIGIT ⁺ -Zellen im Tumorareal, jeweils bezogen auf die Gesamtzellzahl.....	27
Abbildung 4: Balken- und Punktdiagramme zeigen die prozentuale Expression durchflusszytometrisch erfasster T-Zellen, CD8 ⁺ T-Zellen, doppelnegativer T-Zellen (CD4 ⁻ CD8 ⁻), sowie PD-1 ⁺ - und TIGIT ⁺ -Zellen im Tumorareal, jeweils bezogen auf die Gesamtzellzahl.....	28
Abbildung 5: Prozentuale Expression von T-Zellen, CD8 ⁺ T-Zellen, doppelnegativen T-Zellen (CD4 ⁻ CD8 ⁻), sowie PD-1 ⁺ - und TIGIT ⁺ -Zellen im Tumorgewebe, jeweils relativ zur Gesamtzellzahl.....	30
Abbildung 6: Spearman-Korrelationsanalysen (zwischen dem Anteil tumorinfiltrierender T-Lymphozyten und laborchemischen Parametern.....	31
Abbildung 7: Spearman-Korrelationsanalysen zwischen dem Anteil tumorinfiltrierender T-Lymphozyten und laborchemischen Parametern.....	33

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Häufigkeit der histologischen Sarkom Subtypen im Jahr 2013 in Deutschland.....	3
Tabelle 2: TNM-Klassifikation von Weichteilsarkomen modifiziert nach UICC/AJCC 2017.....	5
Tabelle 3: Für die Auswertung erhobene Parameter.....	23
Tabelle 4: Für die Auswertung untersuchte Laborparameter.....	23

11. Erklärung des Eigenanteils

Der Themenvorschlag dieser Arbeit geht auf PD Dr. med. Anna Duprée und Dr. med. Adrian Sagebiel zurück. Die Grundlage der vorliegenden Dissertation bilden experimentelle Vorarbeiten von Dr. med. Adrian Sagebiel zur Charakterisierung der Zellinfiltration in entnommenen Tumorproben im Rahmen eines laufenden Forschungsprojekts am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf.

Die retrospektive Erhebung der zu den Proben gehörenden Patientendaten, deren Übertragung in die REDCap-Datenbank sowie die statistische Auswertung wurden eigenständig von mir durchgeführt.

Die Interpretation der statistischen Analysen sowie die Abfassung der vorliegenden Dissertation erfolgten in enger Abstimmung und unter kontinuierlicher Betreuung meiner Betreuer.

12. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe, insbesondere ohne entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten, verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe. Das gilt insbesondere auch für alle Informationen aus Internetquellen.

Soweit beim Verfassen der Dissertation KI-basierte Tools („Chatbots“) verwendet wurden, versichere ich ausdrücklich, den daraus generierten Anteil deutlich kenntlich gemacht zu haben. Die „Stellungnahme des Präsidiums der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zum Einfluss generativer Modelle für die Text- und Bilderstellung auf die Wissenschaften und das Förderhandeln der DFG“ aus September 2023 wurde dabei beachtet.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Datum

Unterschrift

13. Danksagung

Zunächst gilt mein Dank Prof. Dr. med. Thilo Hackert für die Möglichkeit diese Arbeit an seiner Klinik durchführen zu können. Ich möchte mich ebenfalls bei meiner „Doktormutter“ PD Dr. med. Anna Duprée herzlich für die Überlassung des Themas sowie für die stets konstruktive und vertrauensvolle Zusammenarbeit bedanken. Besonders hervorheben möchte ich, dass auch die Einbindung meines Betreuers Dr. med. Adrian Sagebiel auf Ihre Initiative zurückgeht, was für die Entstehung dieser Arbeit von entscheidender Bedeutung war.

Ein besonderer Dank gilt Adrian, der mich während der gesamten Bearbeitungszeit mit großem Engagement begleitet hat. Durch seine kontinuierliche Erreichbarkeit, seine schnelle Unterstützung und den stets kollegialen Austausch auf Augenhöhe hat er maßgeblich zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen. Ohne seine wertvolle Vorarbeit und seine fortlaufende Betreuung wäre diese Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen.

Darüber hinaus möchte ich meiner Familie von Herzen danken, insbesondere meiner Mutter, meinem Vater, meinen Geschwistern sowie meinen Großeltern. Sie haben mich auf meinem bisherigen Weg stets begleitet, mich in allen Phasen meines Studiums und darüber hinaus unterstützt und mir den notwendigen Rückhalt gegeben, auch in herausfordernden Zeiten meinen Weg konsequent weiterzugehen. Ihr Vertrauen, ihre Geduld und ihre Ermutigung haben maßgeblich dazu beigetragen, dass ich diesen Abschnitt meiner Ausbildung erfolgreich abschließen konnte. Ich danke euch!