

Transkriptomska razčlenitev napredovalih primarnih tumorjev endometrija glede na status popravljanja neujemanja

Transcriptomic stratification of advanced primary endometrial tumors by mismatch repair status

Gjorgoska Marija¹, Lanišnik Rižner Tea¹

¹Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko, Vrazov trg 2, Ljubljana

Korespondenca: asist. dr. Marija Gjorgoska, dipl. inž. biol. - biok. in fiziol.

E-mail: marija.gjorgoska@mf.uni-lj.si

Poslano / Received: 30. 11. 2025

Sprejeto / Accepted: 12. 2. 2026

doi: 10.25670/oi2026-002on

IZVLEČEK

Ozadje: Rak endometrija (EC) je eden najpogostejših ginekoloških rakov v razvitih državah in ima slabo prognozo pri napredovali bolezni. Uvedba dopolnilnega zdravljenja z imunoterapijo je občutno izboljšala preživetje bolnic z napredovalim EC s pomajkljivim popravljanjem neujemanja pri podvajanju DNA (MMRd), za katerega je značilna visoka mikrosatelitska nestabilnost (MSI-H). Se pa pri več kot dveh tretjinah bolnic razvijejo tumorji z ohranjenim popravljanjem neujemanja (MMRp), ki so mikrosatelitsko stabilni (MSS) in se na imunoterapijo slabo odzivajo. To kaže na veliko klinično potrebo po razvoju novih pristopov za zdravljenje bolnic z napredovalim EC, ki so MMRp-MSS.

Metode: Prosto dostopne klinične in transkriptomske podatke iz kohorte TCGA-UCEC smo prenesli z uporabo knjižnice TCGA-Biolinks v okolju R Studio. Vključene so bile bolnice s primarnim EC v napredovalem stadiju ter razpoložljivimi kliničnimi in transkriptomskimi podatki. Razlike v izražanju genov glede na status MMR smo analizirali z uporabo knjižnice DESeq2. Za oceno povezav med ravnmi različno izraženih genov in specifičnim preživetjem (DSS) smo v podskupini MMRp-MSS uporabili Coxove modele sorazmernih tveganj. V osnovni analizi smo primerjali tumorje tipa MMRp-MSS s tumorji tipa MMRd-MSI-H. Pri tem smo MSS tumorje molekularnih podtipov POLE^{mut}, TP53^{alt} ter tumorje z nespecifičnim molekularnim profilom (NSMP) razvrstili v skupino MMRp-MSS. V podanalizi pa smo primerjavo ponovili po izključitvi POLE^{mut} tumorjev iz skupine MMRp-MSS (MMRp-MSS (brez POLE^{mut}) proti MMRd-MSI-H).

Rezultati: Od 545 bolnic z EC je bila pri 139 bolnicah prisotna napredovala bolezen (27 tipa MMRd-MSI-H, 112 tipa MMRp-MSS). Med podskupinama s tumorji tipa MMRp-MSS in tipa MMRd-MSI-H ni bilo pomembnih razlik v preživetju. Analiza sprememb v izražanju genov (kratna razlika v izražanju | > 2, prilagojeni $p < 0,01$) je pokazala 974 genov. Od tega je bilo 268 genov pomembno povezanih z DSS v skupini s tumorjem tipa MMRp-MSS. Z daljšim preživetjem je bilo povezano večje izražanje genov, povezanih z aktivacijo imunskega sistema in zaviranjem signalne poti Wnt. Nasprotno pa je večje izražanje genov, vključenih v onkogeno signalizacijo, izogibanje imunskemu sistemu, nevronske diferenciacije ter preoblikovanje zunajceličnega matriksa, napovedovalo slabši izid. Podanaliza, v kateri smo primerjali MMRp-MSS (brez POLE^{mut}) proti MMRd-MSI-H, je pokazala povsem primerljive rezultate: tudi v tej analizi ni bilo razlik v preživetju med skupinama, obenem pa so bili opaženi podobni vzorci diferencialnega izražanja genov ter enaka funkcionalna vozlišča, povezana s preživetjem, kot v osnovni primerjavi MMRp-MSS proti MMRd-MSI-H.

Zaključki: Napredovali EC tipa MMRp-MSS se na ravni transkriptoma razlikuje od napredovalih tumorjev tipa MMRd-MSI-H. V tumorjih tipa MMRp-MSS smo identificirali izražanje naborov genov, povezanih s prognozo. Te ugotovitve izpostavljajo možne terapevtske tarče za to podskupino EC z visokim tveganjem in podpirajo razvoj strategij zdravljenja, prilagojenih molekularnemu podtipu.

Ključne besede: napredovali rak endometrija, popravljanje neujemanja (MMR), imunoterapija, transkriptomska analiza, terapevtske tarče

ABSTRACT

Background: Endometrial cancer (EC) is one of the most common gynaecological malignancies in developed countries and has a poor prognosis in advanced disease. The introduction of adjuvant treatment with immunotherapy has significantly improved survival in patients with advanced EC with deficient mismatch repair (MMRd), which is characterized by high microsatellite instability (MSI-H). However, more than two-thirds of patients develop tumours with proficient mismatch repair (MMRp), which are microsatellite stable (MSS) and respond poorly to immunotherapy. This highlights a substantial clinical need for the development of new therapeutic approaches for patients with advanced EC who are MMRp-MSS.

Methods: Clinical and transcriptomic data from the TCGA-UCEC cohort were downloaded using the TCGABiolinks package in RStudio. Patients with primary, advanced-stage EC and available clinical, molecular, and transcriptomic data were included. Differential gene expression according to MMR status was performed using DESeq2. Cox proportional hazards models were fitted to evaluate associations between levels of differentially expressed genes and disease-specific survival (DSS) in the MMRp-MSS subgroup. In the primary analysis, we compared MMRp-MSS tumours with MMRd-MSI-H tumours. In this analysis, MSS tumours belonging to the *POLE^{mut}*, *TP53^{alt}* and nonspecific molecular profile (NSMP) subtypes were classified as MMRp-MSS. In the subanalysis, we repeated the comparison after excluding *POLE^{mut}* tumours from the MMRp-MSS group (MMRp-MSS excluding *POLE^{mut}* vs. MMRd-MSI-H).

Results: Of the 545 patients with EC, 139 had advanced disease (27 with MMRd-MSI-H tumours and 112 with MMRp-MSS tumours). There were no significant differences in survival between the MMRp-MSS and MMRd-MSI-H subgroups. Differential gene expression analysis ($|\text{fold change}| > 2$, adjusted $p < 0.01$) identified 974 genes. Of these, 268 genes were significantly associated with DSS within the MMRp-MSS tumour group. Higher expression of genes involved in immune system activation and inhibition of the Wnt signalling pathway was associated with longer survival. In contrast, higher expression of genes involved in oncogenic signalling, immune evasion, neuronal differentiation, and extracellular matrix remodelling predicted poorer outcomes. The subanalysis comparing MMRp-MSS (excluding *POLE^{mut}*) with MMRd-MSI-H showed fully comparable results: again, no survival differences were observed between the groups, and similar patterns of differential gene expression and the same functional survival-related hubs emerged as in the primary comparison of MMRp-MSS versus MMRd-MSI-H.

Conclusions: Advanced MMRp-MSS ECs are transcriptionally distinct from advanced MMRd-MSI-H tumours. Within MMRp-MSS tumours, we identified gene expression programs associated with prognosis. These findings highlight potential therapeutic targets for this high-risk subgroup and support the development of molecular subtype-adjusted treatment strategies.

Keywords: advanced endometrial cancer, mismatch repair (MMR), immunotherapy, transcriptomic analysis, therapeutic targets

UVOD

Rak endometrija (EC) je najpogostejši ginekološki rak v razvitih državah z ocenjenimi 420.000 novimi primeri in 98.000 smrtnimi izidi po svetu v letu 2022 (1). Njegova pojavnost globalno narašča, predvsem zaradi debelosti, sedečega življenjskega sloga in presnovnih motenj (2–5). EC se običajno pojavi po menopavzi, večina primerov med 65. in 75. letom starosti (6), čeprav se pojavnost pri ženskah pred menopavzo prav tako povečuje zaradi naraščajoče pogostosti dejavnikov tveganja (7).

Tradicionalno se EC razvršča v dve glavni histološki skupini: tip I, ki je endometrioidni, odvisen od estrogenov in praviloma povezan z ugodno prognozo; ter tip II, ki je neendometrioidni, običajno ni odvisen od estrogenov in je povezan s slabšimi izidi (8). Endometrioidni tumorji se dodatno razvrščajo v rake nizkega gradusa (stopnji 1 in 2), ki so večinoma povezani z dobro prognozo, ter visokega gradusa (stopnja 3), ki imajo praviloma slabšo prognozo (9). Stadij tumorja, opredeljen po sistemu Mednarodne zveze za ginekološko onkologijo (FIGO), razlikuje štiri stadije, zgodnje (FIGO I–II) in napredovale (FIGO III–IV) (10, 11).

Poleg histologije in stadija je molekularna klasifikacija postala bistvena za stratifikacijo bolnic in načrtovanje zdravljenja. Evropsko združenje za ginekološko onkologijo (ESGO), Evropsko združenje za radioterapijo in onkologijo (ESTRO) ter Evropsko združenje za patologijo (ESP) priporočajo razvrstitev tumorjev EC v štiri molekularne podtipе: POLE (DNA polimeraza ϵ)-mutirani (*POLE^{mut}*), tumorji s pomanjkljivim popravljanjem neujemanj pri podvajanju DNA (\gg mismatch repair deficient«, MMRd), tumorji brez specifičnega molekularnega profila (NSMP) in tumorji z abnormalnim p53 (*p53^{abn}*) (11). Ta molekularna klasifikacija natančneje opredeljuje prognozo in usmerja terapevtske strategije.

Večino primerov EC (okoli 80 % (12)) diagnosticirajo v zgodnjem stadiju, ki je pogosto ozdravljiv zgolj s kirurškim posegom (11–13). Pri napredovalih EC in v primeru ponovitve bolezni imajo bolnice slabo prognozo, s 5-letnim celokupnim preživetjem (\gg overall survival«, OS) le 20–25 % (14). Pri bolnicah z napredovalim EC ali ob ponovitvi bolezni se priporoča citoreduktivna operacija z namenom popolne odstranitve tumorja, če je izvedljiva ob sprejemljivem tveganju, čemur sledi sistemska kemoterapija s kombinacijo karboplatina in paklitaksela (11, 12, 15). Žal ima kemoterapija sama omejeno in kratkotrajno korist.

Pri bolnicah s tumorji tipa MMRd, ki predstavljajo približno 25–30 % primerov EC (18–20), so opisali daljše preživetje ob zdravljenju z zaviralci imunskih kontrolnih točk (\gg immune checkpoint inhibitors«, ICI), ki se danes uporabljajo v kombinaciji s klasično kemoterapijo. To se običajno pripisuje višjemu mutacijskemu bremenu tumorja in povečani ekspresiji receptorja za programirano celično smrt 1 (PD-1) ter njegovih ligandov (PD-L1 in PD-L2), kar omogoča odzivnost na terapije z anti-PD-1 in anti-PD-L1 učinkovinami (18, 20, 21). Nasprotno pa ima večina bolnic (69–75 %) tumorje z ohranjenim popravljanjem neujemanj pri podvajanju DNA (\gg mismatch repair proficient«, MMRp) (22, 23), ki se slabo odzivajo na obstoječe režime kemoterapije z imunoterapijo (15, 24–26). To poudarja pomembno neizpolnjeno potrebo po razvoju novih terapevtskih strategij, saj ima največja molekularna podskupina bolnic z napredovalim EC le omejeno korist od obstoječih zdravljenj.

V naši študiji smo prvi primerjali profile transkriptoma primarnih, napredovalih tumorjev EC tipov MMRd-MSI-H in MMRp-MSS pred začetkom sistemskega zdravljenja iz podatkovne zbirke The Cancer Genome Atlas (TCGA). Odkrili smo pomembne razlike v transkriptomu obeh podskupin. V podskupini MMRp-MSS smo

identificirali izražanje številnih genov, ki so vključeni v ključne celične procese, ki vplivajo na usodo tumorskih celic in so povezani z izidi preživetja bolnic. Identificirani geni predstavljajo nove terapevtske tarče, specifične za MMRp-MSS tumorje, kar odpira možnost razvoja prilagojenih terapij in s tem izboljšanja izidov zdravljenja pri tej podskupini bolnic.

2. MATERIALI IN METODE

2.1. PRIDOBIVANJE PODATKOV

Klinične in transkriptomске podatke iz kohorte TCGA – uterine corpus endometrial carcinoma (UCEC) smo pridobili z uporabo knjižnice TCGABiolinks v okolju R Studio (27) dne 1. 6. 2025.

2.2. OPIS KOHORTE

Kohorta TCGA-UCEC vključuje bolnice z endometrijskimi adenokarcinomi in seroznimi karcinomi, ki so jih zdravili s kirurško odstranitvijo tumorja (histerektomijo). Bolnice so imele primarni tumor brez metastaz in pred operativnim posegom niso prejele kemoterapije ali radioterapije. Zbiranje vzorcev je potekalo v 22 kliničnih centrih po Združenih državah Amerike in Kanadi. Ujemajoči se klinični (vključno s podatki o molekularnem podtipu) podatki in podatki transkriptoma so bili na voljo za 482 bolnic. Od tega jih je 139 imelo napredovalo bolezen, opredeljeno kot stadij FIGO III-IV.

Status MMRd-MSI-H temelji na statusu mikrosatelitske nestabilnosti (»microsatellite instability«, MSI), ki so ga preiskali z uporabo panela štirih mononukleotidnih ponovitvenih lokusov (poliadeninski odseki BAT25, BAT26, BAT40 in receptor za transformirajoči rastni faktor tipa II) ter treh dinukleotidnih ponovitvenih lokusov (CA ponovitve v D2S123, D5S346 in D17S250). Vzorci so bili razvrščeni kot tumorji z visoko mikrosatelitsko nestabilnostjo, če so bili spremenjeni trije označevalci ali več.

Osnovni opis bolnic, vključenih v to študijo, je prikazan v tabeli 1. Podrobnejši opis cele kohorte je na voljo v izvornem članku Kandoth in sod. (28). V osnovni analizi smo primerjali MMRp-MSS tumorje (n = 112) proti MMRd-MSI-H (n = 27) tumorjem. V podanalizi pa smo enak pristop ponovili po izključitvi POLE^{mut} tumorjev (n = 15) iz skupine MMRp-MSS (MMRp-MSS (brez POLE^{mut}) (n = 97) proti MMRd-MSI-H (n = 27)).

2.3. ANALIZA SPREMEMB V IZRAŽANJA GENOV

Podatke o izražanju genov smo pridobili kot matrike surovih štetij (»raw counts«) izražanja RNA in kot vrednosti fragmentov na kilobazo eksona na milijon poravnanih odčitkov (»fragments per kilobase of exon per million mapped reads«, FPKM). Analizo diferencialnega izražanja genov smo izvedli na surovih štetjih z uporabo paketa DESeq2 v okolju R Studio (29). Diferenčno izražene gene smo opredelili na podlagi praga spremembe izražanja (»fold change«, večjega od 2 (absolutna vrednost), in prilagojene p-vrednosti (po metodi Benjamini-Hochberg, BH), manjše od 0,01.

2.4. ANALIZE PREŽIVETJA

Krivulje preživetja smo pripravili s Kaplan–Meierjevo metodo. Za oceno razmerja tveganja (»hazard ratio«, HR) za specifično preživetje (»disease-specific survival«, DSS) in prosti interval brez bolezni (»disease-free interval«, DFI) smo prilagodili univariatne Coxove proporcionalne modele tveganja. Pri ocenjevanju

povezave med izražanjem genov in preživetjem smo najprej določili optimalno mejno vrednost glede na DSS z uporabo log₂ transformiranih vrednosti FPKM z uporabo knjižnice maxstat v okolju R Studio (30).

Gene, povezane s kliničnimi izidi, smo razvrstili v funkcionalne kategorije za lažjo interpretacijo njihove biološke vloge. Vsak gen je bil dodeljen podvozlišču, ki najbolj opisuje njegovo biološko funkcijo (npr. »regulatorji Wnt poti«, »kemokini/imunsko signaliziranje«, »regulatorji zunajceličnega matriksa«, ter širšemu vozlišču (npr. »onkogeno signaliziranje«, »imunski/vnetni odziv«, »zunajcelični matriks/adhezija in remodeliranje«, izpeljanemu iz podatkovnih baz poti (GO Slim, KEGG, Reactome) v okolju R Studio. Geni brez neposrednih anotacij v podatkovnih zbirkah so bili ročno razvrščeni na podlagi objavljenih funkcionalnih dokazov.

3. REZULTATI

3.1. OPIS KOHORTE

Analizirali smo klinične in transkriptomске podatke 139 bolnic s primarnim, napredovalim tumorjem EC pred začetkom sistemskega zdravljenja. Med njimi je bilo 27 (19,4 %) tumorjev tipa MMRd-MSI-H in 112 (80,6 %) tumorjev tipa MMRp-MSS (tabela 1).

Podskupina MMRd-MSI-H je imela mediano starosti 58,0 leta in mediano indeksa telesne mase (ITM) 33,15 kg/m². Večina bolnic je imela tumorje z endometrioidno histologijo (96,3 %), pri čemer je bila večina diagnosticirana v stadiju FIGO III (85,2 %). Podskupina MMRp-MSS je bila starejša (mediana 65,0 leta; p = 0,003) z mediano ITM 30,82 kg/m². Histološka porazdelitev med endometrioidnim (47,3 %) in seroznim (47,3 %) tipom je bila v podskupini MMRp-MSS bolj uravnotežena v primerjavi s podskupino MMRd-MSI-H, večina pa je bila razvrščena v stadij FIGO III (83,0 %). Znotraj tumorjev MMRp-MSS je prevladoval molekularni podtip p53_{abn} (67,0 %).

3.2. IZIDI PREŽIVETJA PRI BOLNICAH S PRIMARNIM, NAPREDOVALIM EC SE NE RAZLIKUJEJO GLEDE NA MMR STATUS

Specifično preživetje se med tumorji MMRp-MSS in MMRd-MSI-H ni statistično značilno razlikovalo (MMRp-MSS proti MMRd-MSI-H, razmerje tveganja (HR) = 0,95; 95-odstotni interval zaupanja (CI): 0,44–2,05; p = 0,89) (slika 1A). Podobno med skupinama ni bilo razlik v prostem intervalu brez bolezni (MMRp-MSS proti MMRd-MSI-H, HR = 0,91; 95-% CI: 0,47–1,76; p = 0,77) (slika 1B).

Prav tako se v podanalizi tumorjev MMRp-MSS (brez POLE^{mut}) in MMRd-MSI-H specifično preživetje med skupinama ni statistično značilno razlikovalo (MMRp-MSS (brez POLE^{mut}) proti MMRd-MSI-H, HR = 1,17; 95-% CI: 0,54–2,55; p = 0,69) (dopolnilna slika 1A). Podobno med skupinama ni bilo statistično značilnih razlik v prostem intervalu brez bolezni (MMRp-MSS (brez POLE^{mut}) proti MMRd-MSI-H, HR = 1,10; 95-% CI: 0,56–2,14; p = 0,79) (dopolnilna slika 1B).

3.3. NAPREDOVALI TUMORJI ENDOMETRIJA MMRp-MSS IN MMRd-MSI-H KAŽEJO POMEMBNE RAZLIKE V TRANSKRIPTOMU

Z analizo diferencialnega izražanja genov smo med tumorji MMRp-MSS in MMRd-MSI-H identificirali 974 statistično značilno spremenjeno izraženih genov (absolutna sprememba izražanja > 2, prilagojena p-vrednost < 0,01), od katerih je bilo 87 znižano in 887 povečano izraženih v tumorjih MMRp-MSS

v primerjavi s tumorji MMRd-MSI-H (slika 2; dopolnilna tabela 1). V podanalizi, ki izključuje POLE^{mut} tumorje, smo med tumorji MMRp-MSS (brez POLE^{mut}) in MMRd-MSI-H identificirali 1180 statistično značilno diferencirano izraženih genov. Od teh je bilo 127 genov znižano, 1053 pa povečano izraženih v tumorjih MMRp-MSS (brez POLE^{mut}) v primerjavi s tumorji MMRd-MSI-H (dopolnilna slika 2, dopolnilna tabela 2).

Skupina znižano izraženih genov v tumorjih MMRp-MSS v primerjavi s tumorji MMRd-MSI-H je vključevala gene, povezane z metabolizmom steroidov/ksenobiotikov (npr. *AKR1C1/2/3, AKR1B10, ADH1C, ADH4, ALDH3A1, NQO1*), metabolizmom/transportom lipidov (*FABP1, FABP4, LPCAT2, GPX2*), zunajceličnim matriksom/adhezijo (*ITGA4, AMIGO2, CNTN1, MUC13*), in gene, ki kodirajo za sekretorne signalne peptide (*NTS, INSL4, UCN3, ADM, ANG, APLN*). Pri tumorjih MMRp-MSS smo opazili tudi zmanjšano izražanje genov,

vključenih v imunski odziv, zlasti pro-vnetnih ter efektorskih/kemotaktičnih genov, kot so *IL1A, CSF3, CCL22, GZMK, KLRB1* in *RAET1L*. Znižano izraženi so bili tudi nekateri regulatorji razvoja in transkripcije, kot so *HOXAI0, BMP2, NPASI*, ter več članov družine *TRIM/SP*.

V podanalizi smo potrdili enak vzorec znižanega izražanja genov v podskupini MMRp-MSS (brez POLE^{mut}) v primerjavi s tumorji MMRd-MSI-H, kot smo ga opazili v osnovni analizi. Med znižano izraženimi geni so prevladovali geni, vključeni v metabolizem steroidov in ksenobiotikov (*AKR/ADH/ALDH*), metabolizem in transport lipidov (*FABP/LPCAT*), ter regulatorji zunajceličnega matriksa in celične adhezije (integrini/adh. molekule). Poleg tega smo v podskupini MMRp-MSS (brez POLE^{mut}) opazili tudi širše znižanje izražanja genov, ki kodirajo imunske označevalce, vključno s T-celičnimi efektorskimi geni (*CD3D/E/G, CD8A, ITK, EOMES, TIGIT, SH2DIA*) in B-ce-

Tabela 1: Demografske in klinične značilnosti bolnic.

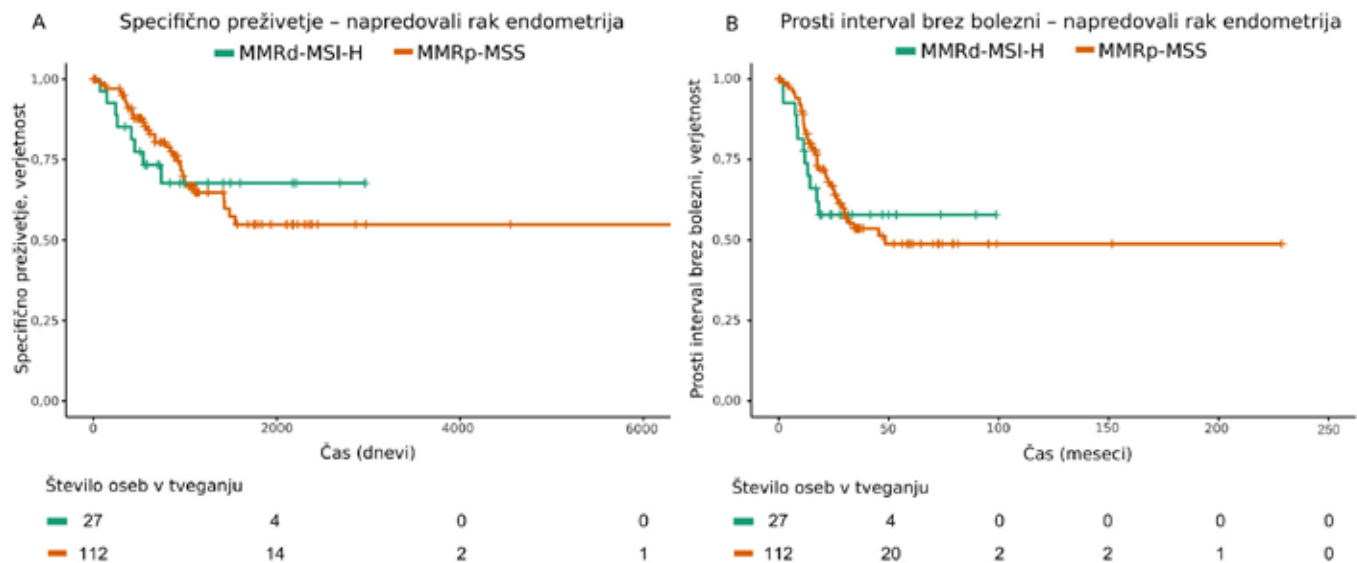
Značilnost	Podskupina MMRd-MSI-H (n = 27)	Podskupina MMRp-MSS (n = 112)	Celotna kohorta (n = 139)
Starost – leta, p = 0,003			
Mediana (razpon) – leta	58,00 (35,00–81,00)	65,00 (33,00–86,00)	63,00 (33,00–86,00)
ITM – kg/m²			
Mediana (razpon)	33,15 (20,78–45,73)	30,82 (18,03–53,78)	31,20 (18,03–53,78)
Manjkajoči podatki	2 (7,41 %)	6 (5,36 %)	8 (5,76 %)
Rasa ali etnična skupina – št. (%)			
Belopolte	18 (66,67 %)	68 (60,71 %)	86 (61,87)
Temnopolte	6 (22,22 %)	30 (26,86 %)	36 (25,90 %)
Azijke	1 (3,70 %)	3 (2,68 %)	4 (2,88 %)
Ameriške Indijanke ali staroselke Aljaske	1 (3,70 %)	1 (0,89 %)	2 (1,44 %)
Havajke ali druge prebivalke pacifiških otokov	1 (3,70 %)	3 (2,68 %)	4 (2,88 %)
Ni poročano	0	7 (6,25 %)	7 (5,04 %)
Histološki tip – št. (%), p < 0,001			
Endometrioidni	26 (96,30 %)	53 (47,32 %)	79 (56,83 %)
G1	4 (15,38 %*)	8 (15,09 %*)	12 (15,19 %*)
G2	7 (26,92 %*)	12 (22,64 %*)	19 (24,05 %*)
G3	15 (57,69 %*)	33 (62,26 %*)	48 (60,76 %*)
Serozni adenokarcinom	0	53 (47,32 %)	53 (38,13 %)
Mešani karcinom	1 (3,70 %)	6 (5,36 %)	7 (5,04 %)
FIGO stadij po histerektomiji – št. (%)			
III	23 (85,19 %)	93 (83,04 %)	116 (83,45 %)
IVA	0	1 (0,88 %)	1 (0,72 %)
IVB	3 (11,11 %)	18 (16,07 %)	21 (15,11 %)
Molekularni podtip			
POLE ^{mut}	0	15 (13,39 %)	15 (10,80 %)
MMRd-MSI-H	27 (100 %)	0	27 (19,42 %)
NSMP	0	22 (19,64 %)	22 (15,83 %)
p53 _{abn}	0	75 (66,96 %)	75 (54,00 %)

opombe:

* odstotek v skupini endometrioidnih tumorjev.

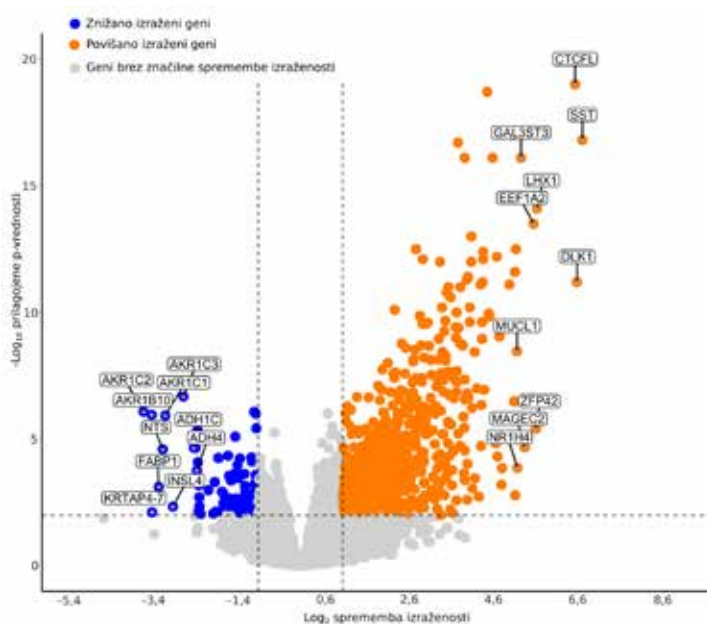
ITM – indeks telesne mase; MMRd-MSI-H – pomanjkljivo popravljano neujemanje pri podvajanju DNA in visoka mikrosatelitska nestabilnost; FIGO – Mednarodna zveza za ginekološko onkologijo; NSMP – nespecifični molekularni profil; p53_{abn} – abnormalni p53; MMRp-MSS – ohranjeno popravljano neujemanje pri podvajanju DNA in mikrosatelitska stabilnost; POLE, DNA polimeraza ε; POLE^{mut} – POLE-mutirani.

Slika 1: Izidi preživetja pri bolnicah s primarnim, napredovalim EC glede na MMR status.



Opombe: (A) Kaplan-Meierjeva krivulja verjetnosti specifičnega preživetja glede na MMR status (MMRd-MSI-H, n = 27; MMRp-MSS, n = 112). (B) Kaplan-Meierjeva krivulja verjetnosti prostega intervala brez bolezni glede na MMR status (n kot v A). DSS – preživetje, specifično za bolezen; EC, rak endometrija; MMRd-MSI-H – pomanjkljivo popraviljanje neujemanja pri podvajanju DNA in visoka mikrosatelitska nestabilnost; MMRp-MSS – ohranjeno popraviljanje neujemanja pri podvajanju DNA in mikrosatelitska stabilnost.

Slika 2: Diferencialno izraženi geni med primarnimi, napredovalimi tumorji endometrija tipov MMRp-MSS in MMRd-MSI-H.



Opombe: Graf prikazuje primerjavo izražanja genov med tumorji MMRp-MSS (n = 112) in MMRd-MSI-H (n = 27). Modre točke označujejo gene, ki so statistično značilno znižano izraženi, oranžne točke pa gene, ki so statistično značilno povečano izraženi v tumorjih MMRp-MSS v primerjavi z MMRd-MSI-H. Sive točke predstavljajo gene brez statistično značilnih razlik v izražanju. Prag za diferencialno izražanje je določen kot absolutna sprememba izražanja > 2 (navpične črčkane črte) in prilagojena p-vrednost < 0,001 (vodoravna črčkana črta). Na sliki je označenih 10 najbolj spremenjenih genov glede na velikost absolutne spremembe izražanja. MMRd-MSI-H – pomanjkljivo popraviljanje neujemanja pri podvajanju DNA in visoka mikrosatelitska nestabilnost; MMRp-MSS – ohranjeno popraviljanje neujemanja pri podvajanju DNA in mikrosatelitska stabilnost.

ličnimi markerji (*MS4A1*, *FCRLA*), skupaj s kemokini (*CXCL9*, *CXCL13*, *CCL20*, *CXCL3*). To dodatno poudarja izrazitejši imunski fenotip tumorjev MMRd-MSI-H.

Nasprotno pa je skupina genov z večjo izraženostjo v tumorjih MMRp-MSS v primerjavi s tumorji MMRd-MSI-H vključevala gene, vključene v razvoj organizma (npr. *WNT6/7A/10A/11*, *FGF3/11/19*, *BMP3/7*, geni *HOX*, *HMGA2*), gene, vključene v prenos signala v nevronih (komponente poti *GABA*, glutamata in nevrotrifinov, kot so *GABRA5/B2/R2/Q*, *GRI1A1*, *GRIK1/5*, *GRM4*, *NTRK1/3*, *SNAP25*), ter gene, povezane z remodeliranjem zunajceličnega matriksa/adhezijo (*COL4A3/4A4/6A6/9A1/9A3/11A2/20A1/22A1*, *MMP7*, *TIMP3*, *ADAM33/TSI6*, *LAMC3*, *COMP*, *MFAP5*, *CRTACT*). Pri tumorjih MMRp-MSS smo opazili selektivno indukcijo genov, povezanih z imunskim odzivom, vključno z interferonom stimuliranimi in imunomodulatornimi geni (*ISG15*, *IFIT1/2/3*, *IFI6*, *IFI44L*, *RSAD2*, *BST2*, *HERC5*, *IFNLD*), citokini/imunomodulatorji (*IL6*, *IL10*, *IL13RA2*, *IL12RB2*) ter označevalci kontrolnih točk (*PVRIG*, *KLRG2*).

V podanalizi smo potrdili enak vzorec zvišanega izražanja genov v podskupini MMRp-MSS (brez *POLE^{mut}*) v primerjavi s tumorji MMRd-MSI-H, kot smo ga opazili v osnovni analizi. Med povišano izraženimi geni so prevladovali geni, vključeni v razvoj in diferenciacijo (npr. signalizacije *WNT*, *FGF* in *BMP* ter številni transkripcijski regulatorji, vključno z geni *HOX*). Poleg tega smo zaznali tudi povečano izražanje genov, povezanih s prenosom signalov v nevronih (npr. komponente poti *GABA*, glutamata in nevrotrifinov). Povišano izraženi so bili tudi geni, vključeni v remodeliranje zunajceličnega matriksa in celično adhezijo (npr. kolageni, matriks metaloproteinaze). V tumorjih MMRp-MSS (brez *POLE^{mut}*) smo opazili še zvišano izražanje genov, povezanih z interferonsko stimulacijo, imunomodulacijo in izbranimi citokini, skupaj s povečanim izražanjem označevalca kontrolnih točk *PVRIG*.

3.4. SPREMEMBE V TRANSKRIPTOMU, POVEZANE Z IZIDI PREŽIVETJA PRI NAPREDOVALIH TUMORJIH ENDOMETRIJA MMRp-MSS

V nadaljevanju smo raziskali, kateri izmed diferencialno izraženih genov med podskupinama MMRp-MSS in MMRd-MSI-H vplivajo na preživetje v podskupini MMRp-MSS in bi lahko predstavljali potencialne terapevtske tarče pri tej skupini bolnic. Ugotovili smo, da je 268 genov statistično značilno povezanih z izidi preživetja (prilagojena *p*-vrednost < 0,01). Seznam genov je prikazan v dopolnilni tabeli 3.

Sedem genov je bilo povezanih z izboljšano prognozo (slika 3). Gre za gene, povezane s citotoksičnimi in imunskimi efektorskimi funkcijami (*GZMK*, *CCL22*) ter z aktivnostjo naravnih celic ubijalk (*KLRB1/CD161*). Modulatorji poti *Wnt* (*NOTUM*, *SP5*), gen za olfaktorni receptor *OR51E1* in faktor za obdelavo *RNA* *PNLDC1* so bili prav tako povezani z boljšimi izidi preživetja v podskupini MMRp-MSS.

Ta zaščitni profil se je potrdil tudi v podanalizi, ki izključuje *POLE^{mut}* tumorje. Isti nabor genov, vključno z geni povezanimi z imunskimi efektorskimi funkcijami (*GZMK*, *CCL22*, *KLRB1/CD161*), modulatorji poti *Wnt* (*NOTUM*, *SP5*) ter genov *PNLDC1* in *OR51E1*, je bil povezan z boljšimi izidi pri podskupini MMRp-MSS (brez *POLE^{mut}*). Poleg tega se je kot dodatni ugoden označevalec izkazal še *TMEM132B* (dopolnilna slika 3, dopolnilna tabela 4).

Nasprotno pa je bilo več kot 200 genov povezanih s slabšimi izidi v podskupini MMRp-MSS. Ti geni so bili razvrščeni v več funkcionalnih vozlišč (glej dopolnilno tabelo 3), od katerih je pet največjih prikazanih na sliki 4.

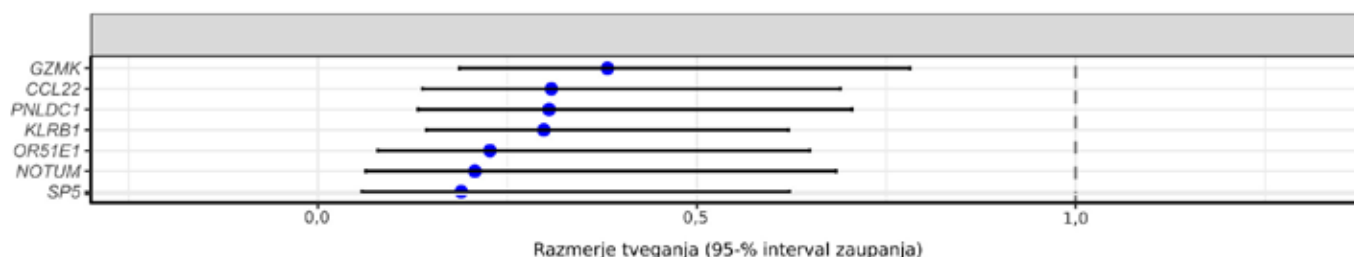
Imunsko/vnetno vozlišče je vključevalo gene, stimulirane z interferonom (*RSAD2*, *HERC5*, *BST2*, *MX2*, *ISG15*, *IFI44L*, *RTP4*), modulatorje prirojene imunosti (*SSC4D*, *IL1RL2*), *KLRG2*, označevalec neaktivnosti celic ubijalk/T-celic ter druge (glej dopolnilno tabelo 3). Ti vzorci nakazujejo, da sta kronično signaliziranje tipa I interferona in izčrpanost imunskega sistema povezana s slabšim preživetjem pri bolnicah z napredovalimi tumorji tipa MMRp-MSS.

Onkogeno vozlišče je bilo obogateno z geni, povezanimi s celično dediferenciacijo in proliferacijo. Med geni, povezanimi z dediferenciacijo, so bili obogateni transkripcijski faktorji, povezani z razvojem (*SOX11*), aktivatorji in modulatorji poti *Wnt* (*RSPO4*, *WNT7A*, *BRINP1*), receptorji s tirozin kinazno aktivnostjo ter receptorji, povezani z G-proteinom (GPCR) (*GPRI58*, *ALK*, *CNRI*, *HTR3C*, *SSTR1*, *ADRAID*), onkogeni transkripcijski faktorji (*THRBI*, *PLAG1*) ter drugi (glej dopolnilno tabelo 3).

Med geni, povezanimi s proliferacijo, so bili obogateni regulatorji celičnega cikla (*CDKN2A*, *TRIM58*, *FAM110B*, *DLL3*), rastni faktorji in njihovi receptorji (*PCBP3*, *IGFBP6*, *NPY*) ter onkogeni transkripcijski regulatorji (*ACTN2*, *LIN28A*) (glej dopolnilno tabelo 3). Ti nabori genov kažejo, da transkripcijski programi, ki vzdržujejo onkogeno signalizacijo, napovedujejo slabše izide pri bolnicah z napredovalimi tumorji tipa MMRp-MSS.

Nevronsko/sinaptično vozlišče je vključevalo gene, ki kodirajo

Slika 3: Diferencialno izraženi geni v tumorjih MMRp-MSS v primerjavi z MMRd-MSI-H, ki so povezani z boljšim specifičnim preživetjem, pri bolnicah z napredovalimi tumorji endometrija MMRp-MSS.



Opombe: Podatki so prikazani kot razmerje tveganja in 95-odstotni interval zaupanja. MMRd-MSI-H – pomanjkljivo popraviljanje neujemanja pri podvajanju DNA in visoka mikrosatelitska nestabilnost; MMRp-MSS – ohranjeno popraviljanje neujemanja pri podvajanju DNA in mikrosatelitska stabilnost.

ionske kanale (*CLCN4, CLCNKB, KCNT1/2/9, KCNH8*), gene, vključene v prenos signala v sinapsah (*SLC6A11, GABRE, SNAP25, FREM3*), ter druge (glej dopolnilno tabelo 3). Ti vzorci nakazujejo, da ta nabor genov, povezanih z diferenciacijo nevronov, napoveduje slabše preživetje pri bolnicah z napredovalimi tumorji tipa MMRp-MSS.

Nazadnje je vozlišče zunajceličnega matriksa/adhezije vključevalo kolagene (*COL4A4, COL6A6, COL9A1*), regulatorje zunajceličnega matriksa (*CRTAC1, PAPLN, CHAD, ADAMTS16*), gene, povezane z adhezijo (*MMP7, MMP24, FBLN2, CEACAM19*), ter druge (glej dopolnilno tabelo 3). To nakazuje, da so ti nabori genov, povezani z remodeliranjem zunajceličnega matriksa in disfunkcijo adhezije, povezani s slabšo prognozo pri bolnicah z napredovalimi tumorji tipa MMRp-MSS.

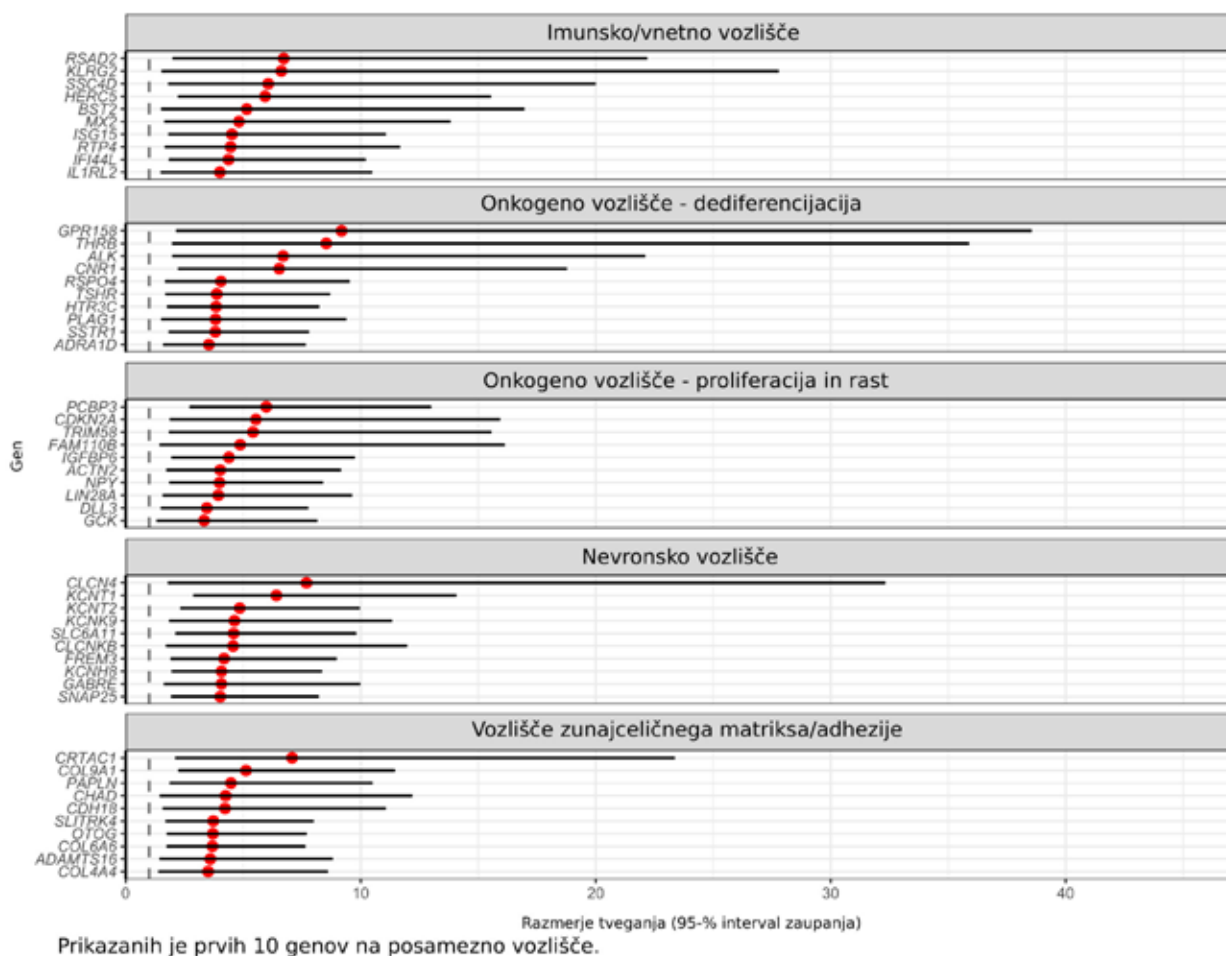
V podanalizi brez *POLE^{mut}* tumorjev smo ponovno potrdili, da je povišano izražanje genov iz ključnih funkcionalnih vozlišč še naprej neugodno povezano s preživetjem v podskupini MMRp-MSS (brez *POLE^{mut}*) (dopolnilna slika 3, dopolnilna tabela 4). Imunsko/vnetno vozlišče je vključevalo gene, povezane z interferonsko signalizacijo, in protivirusne gene (npr. *IFNLI/2, IFNB1, PTX3, BPIFA2*). Onkogeno vozlišče je vključevalo gene, vključene v razvoj in onkogeno signalizacijo (*PLAG1, NEUROD1,*

EN1, NR5A1), ter *GPCR/RTK* signalne komponente (*CNRI, HTR3C, PROKR2, ADRA1D*). Nevronsko/sinaptično vozlišče je vključevalo gene za ionske kanale (*KCNH8, KCNT1/2/9, SCN3B*) ter sinaptične regulatorje (*SLC6A11, TAGLN3, DPYSL5*). Vozlišče zunajceličnega matriksa/adhezije je vključevalo kolagene (*COL4A3/4A4, COL6A6, COL9A1*) in regulatorje zunajceličnega matriksa in adhezije (*RELN, OTOG, PAPLN, CDH6, CLDN19*).

4. RAZPRAVA IN ZAKLJUČKI

V naši študiji smo identificirali razlike v izražanju genov med primarnimi, napredovalimi tumorji endometrija MMRd-MSI-H in MMRp-MSS pred začetkom sistemskega zdravljenja ter odkrili kandidate genov, ki bi lahko služili kot terapevtske tarče ali prognostični bioznačevalci v tumorjih MMRp-MSS. Višja izraženost genov, povezanih z aktivacijo imunskega sistema in inhibicijo poti Wnt, je bila povezana z boljšim preživetjem pri bolnicah z napredovalimi tumorji tipa MMRp-MSS. Nasprotno pa je povišana izraženost genov, vključenih v onkogeno signaliziranje, izogibanje imunskemu nadzoru, nevronske diferenciacije in remodeliranje zunajceličnega matriksa, napovedovala slabše izide v podskupini MMRp-MSS. Enake vzorce smo potrdili tudi

Slika 4: Diferencialno izraženi geni v tumorjih MMRp-MSS v primerjavi z MMRd-MSI-H, ki so povezani s slabšim specifičnim preživetjem, pri bolnicah z napredovalimi tumorji endometrija MMRp-MSS.



Opombe: Podatki so prikazani kot razmerje tveganja in 95-odstotni interval zaupanja. MMRd-MSI-H – pomanjkljivo popravljane neujemanja pri podvajanju DNA in visoka mikrosatelitska nestabilnost; MMRp-MSS – ohranjeno popravljane neujemanja pri podvajanju DNA in mikrosatelitska stabilnost.

v podanalizi, iz katere smo izključili POLE^{mut} tumorje iz podskupine MMRp-MSS, za katero trenutno še ni dovolj jasnih smernic glede zdravljenja napredovalih oblik (11).

Zanimivo je, da so se glavna vozlišča, povezana z izidi preživetja v podskupini MMRp-MSS (z ali brez POLE^{mut} tumorjev), združevala v osrednjih programih onkogeneze, ki predstavljajo uveljavljene značilnosti ne le raka endometrija, temveč raka nasploh (31). Kot ključni napovedni dejavnik izstopa modulacija poti Wnt: inhibitorji Wnt (*NOTUM* (32), *SP5* (33)) so bili povezani z ugodnejšimi izidi, medtem ko so bili aktivatorji Wnt (*RSPO4* (34), *WNT7A* (35)) povezani s slabšim preživetjem. Ta opažanja potrjujejo uveljavljeno vlogo spremenjene signalizacije Wnt in dediferenciacije pri spodbujanju agresivne narave tumorja in neodzivnosti na terapije (36). Wnt tako predstavlja obetavno, a premalo raziskano terapevtsko tarčo pri tumorjih endometrija MMRp-MSS. V skladu z negativnim vplivom onkogenov na prognozo bolnic so bili s slabšimi izidi povezani tudi geni, vključeni v celično proliferacijo in regulacijo celičnega cikla, kar poudarja, da nekontrolirana rast kot ena od značilnosti raka (31) vpliva tudi na prognozo v podskupini MMRp-MSS.

Poleg programov onkogeneze je na prognozo v populaciji MMRp-MSS (z ali brez POLE^{mut} tumorjev) vplivalo tudi izražanje genov imunskih poti. Večja izraženost genov, ki kodirajo označevalce citotoksičnosti (*GZMK*, *CCL22*) in označevalce celic ubijalk (*KLRB1/CD161*), je bila povezana z izboljšanim preživetjem, kar poudarja velik pomen ohranjenega imunskega nadzora za potek boleznih (37). Nasprotno pa sta povišano izražanje genov, povezanih s signalizacijo interferona, ter prisotnost znakov imunske izčrpanosti napovedovala slabšo prognozo. Čeprav je signalna pot interferona ključna za protitumorsko imunost, lahko njena kronična ali dolgotrajna aktivacija paradoksalno oslabi delovanje imunskega sistema, spodbuja izčrpanost T-celic ter prispeva k terapevtski odpornosti in napredovanju tumorja pri številnih vrstah raka (38–43). To nakazuje, da negativna povezava med signalizacijo interferona in preživetjem v podskupini MMRp-MSS verjetno odraža stanje neustreznega delovanja imunskega sistema, ne pa učinkovitega imunskega nadzora, kar bi lahko pojasnilo omejeno učinkovitost kombinacij ICI s kemoterapijo pri bolnicah s tumorji MMRp-MSS.

Dodatno sta k neugodnim izidom prispevala tudi nevronska diferenciacija in remodeliranje zunajceličnega matriksa. Tumorske celice lahko izkoriščajo nevronske signalne poti za povečanje preživetja, invazivnosti, metastatskega potenciala in odpornosti na zdravljenje pri različnih vrstah raka (44, 45), vključno z rakom debelega črevesa, pljuč, dojke in prostate (44, 46, 47). Podobno spremembe v sestavi kolagena, aktivnosti matriks metaloproteinaz in molekul adhezije olajšajo invazijo in metastaziranje, kar poudarja ključno vlogo preoblikovanja mikrookolja pri razvoju agresivnega tumorja (48–50).

Naša študija prispeva nova spoznanja in razlago, zakaj se tumorji MMRd-MSI-H in MMRp-MSS različno odzovejo na kombinacije ICI s kemoterapijo. Boljši odziv tumorjev MMRd-MSI-H običajno pripisujejo njihovi povečani imunogenosti zaradi okvarjenega popraviljanja DNA in višjega mutacijskega bremena v primerjavi s tumorji MMRp-MSS (18, 51, 52). Kljub temu nekatere bolnice z MMRd-MSI-H ne odgovorijo na zdravljenje z ICI in kažejo minimalno imunske infiltracije (51), kar potrjuje, da so poleg statusa MMR ključni dejavniki učinkovitosti zdravljenja tudi obseg imunske infiltracije ter interakcije imunskih celic z drugimi celičnimi populacijami znotraj tumorskega okolja.

Razlike v sestavi imunskih celic glede na status MMR so opazili tako pri raku endometrija kot pri raku debelega črevesa in danke, kjer je pomanjkljivost MMR posebej pogosta (53). Pri raku

debelega črevesa tumorji tipa MMRd kažejo večjo infiltracijo citotoksičnih T-limfocitov in celic ubijalk ter vsebujejo »imunska žarišča« aktiviranih T-celic v neposredni bližini rakavih celic, ki izločajo kemokine. Ta žarišča v tumorjih MMRp manjkajo (54). Pri raku endometrija je mogoče tumorje podobno razlojiti v skupine glede na imunske infiltracije, vključno z imunske aktivnim, imunske osiromašenim in imunske dominantnim fenotipom. Imunske aktivni fenotip prevladuje pri tumorjih POLE^{mut}, medtem ko je imunske osiromašen fenotip pogostejši pri NSMP in p53^{abn}, lahko pa se pojavi tudi v nekaterih podskupinah MMRd-MSI-H in POLE^{mut} (55). Te razlike verjetno odražajo različne programe izražanja genov, ki smo jih identificirali med tumorji MMRp-MSS in MMRd-MSI-H.

Če povzamemo, naša študija poudarja, da lahko pri napredovalem raku endometrija tipa MMRp-MSS znaki imunske aktivacije, zlasti izraženost označevalcev citotoksičnih T-limfocitov in celic ubijalk, pomagajo opredeliti podskupine bolnic, ki bodo verjetneje imele korist od imunoterapije. Nasprotno pa tumorji, za katere so značilni okrepljeno izražanje onkogenov, imunosupresivni programi, aktivacija nevronske signalne poti, remodeliranje zunajceličnega matriksa, predstavljajo agresivnejše fenotipe, odporne na pristope, ki se osredotočajo na imunske sistem, in zato zahtevajo alternativna ali kombinirana zdravljenja. Prostorska analiza transkriptoma posameznih celic bi lahko izboljšala stratifikacijo bolnic z napredovanim EC, ki bi imele korist od kombiniranega zdravljenja z ICI in kemoterapijo, omogočila pa bi tudi razvoj tarčno usmerjene terapije pri EC tipa MMRp-MSS.

DOPOLNILNO GRADIVO

Dopolnilna gradiva (dopolnilne slike in dopolnilne tabele) za ta članek so na voljo na spletni povezavi: <https://dirros.openscience.si/IzpisGradiva.php?id=28918>

LITERATURA

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2024;74(3):229–63.
2. Arthur RS, Kabat GC, Kim MY, Wild RA, Shadyab AH, Wactawski-Wende J, et al. Metabolic syndrome and risk of endometrial cancer in postmenopausal women: a prospective study. *Cancer Causes Control*. 2019;30(4):355–63.
3. Friberg E, Orsini N, Mantzoros CS, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of endometrial cancer: a meta-analysis. *Diabetologia*. 2007;50(7):1365–74.
4. Bhaskaran K, Douglas I, Forbes H, dos-Santos-Silva I, Leon DA, Smeeth L. Body-mass index and risk of 22 specific cancers: a population-based cohort study of 5.24 million UK adults. *The Lancet*. 2014;384(9945):755–65.
5. Ng M, Gakidou E, Lo J, Abate YH, Abbafati C, Abbas N, et al. Global, regional, and national prevalence of adult overweight and obesity, 1990–2021, with forecasts to 2050: a forecasting study for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet*. 2025;405(10481):813–38.
6. Morice P, Leary A, Creutzberg C, Abu-Rustum N, Darai E. Endometrial cancer. *Lancet*. 2016;387(10023):1094–108.
7. Ugai T, Sasamoto N, Lee H-Y, Ando M, Song M, Tamimi RM, et al. Is early-onset cancer an emerging global epidemic? Current evidence and future implications. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2022;19(10):656–73.
8. International Agency for Research on Cancer (IARC). Female genital tumours: WHO classification of tumours. 5th ed., vol. 4. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020.
9. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1983;15(1):10–7.
10. Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. *Int J Gynaecol Obstet*. 2009;105(2):103–4.
11. Concin N, Matias-Guiu X, Cibula D, Colombo N, Creutzberg CL, Ledermann J, et al. ESGO-ESTRO-ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma: update 2025. *The Lancet Oncology*. 2025;26(8):e423–e35.
12. Oaknin A, Bosse TJ, Creutzberg CL, Giordano G, Harter P, Joly F, et al. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2022;33(9):860–77.
13. Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I, Cibula D, Mirza MR, Marnitz S, et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *International Journal of Gynecological Cancer*. 2021;31(1):12.
14. Creasman WT, Odicino F, Maisonneuve P, Quinn MA, Beller U, Benedet JL, et al. Carcinoma of the Corpus Uteri. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2006;95(S1):S105–S43.
15. Powell MA, Bjørge L, Willmott L, Novák Z, Black D, Gilbert L, et al. Overall survival in patients with endometrial cancer treated with dostarlimab plus carboplatin-paclitaxel in the randomized ENGOT-EN6/GOG-3031/RUBY trial. *Ann Oncol*. 2024;35(8):728–38.
16. Miller DS, Filiaci VL, Mannel RS, Cohn DE, Matsumoto T, Tewari KS, et al. Carboplatin and Paclitaxel for Advanced Endometrial Cancer: Final Overall Survival and Adverse Event Analysis of a Phase III Trial (NRG Oncology/GOG0209). *J Clin Oncol*. 2020;38(33):3841–50.
17. Sorbe B, Andersson H, Boman K, Rosenberg P, Kalling M. Treatment of primary advanced and recurrent endometrial carcinoma with a combination of carboplatin and paclitaxel-long-term follow-up. *Int J Gynecol Cancer*. 2008;18(4):803–8.
18. Dudley JC, Lin M-T, Le DT, Eshleman JR. Microsatellite Instability as a Biomarker for PD-1 Blockade. *Clinical Cancer Research*. 2016;22(4):813–20.
19. Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg MJL, Singh N, Nottegar A, Bosse T, et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. *Ann Oncol*. 2019;30(8):1232–43.
20. Bonneville R, Krook MA, Kautto EA, Miya J, Wing MR, Chen HZ, et al. Landscape of Microsatellite Instability Across 39 Cancer Types. *JCO Precis Oncol*. 2017;2017.
21. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017;357(6349):409–13.
22. Kelkar SS, Prabhu VS, Zhang J, Corman S, Macahilig C, Rusibamayila N, et al. Treatment patterns and real-world clinical outcomes in patients with advanced endometrial cancer that are non-microsatellite instability high (non-MSI-high) or mismatch repair proficient (pMMR) in the United States. *Gynecol Oncol Rep*. 2022;42:101026.
23. Pina A, Wolber R, McAlpine JN, Gilks B, Kwon JS. Endometrial Cancer Presentation and Outcomes Based on Mismatch Repair Protein Expression From a Population-Based Study. *Int J Gynecol Cancer*. 2018;28(8):1624–30.
24. Mirza MR, Chase DM, Slomovitz BM, dePont Christensen R, Novák Z, Black D, et al. Dostarlimab for Primary Advanced or Recurrent Endometrial Cancer. *N Engl J Med*. 2023;388(23):2145–58.
25. Eskander RN, Sill MW, Beffa L, Moore RG, Hope JM, Musa FB, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in advanced or recurrent endometrial cancer: overall survival and exploratory analyses of the NRG GY018 phase 3 randomized trial. *Nat Med*. 2025;31(5):1539–46.
26. Westin SN, Moore KN, Guy M, Jordan S, McHale M, Miller E, et al. Durvalumab plus carboplatin/paclitaxel followed by durvalumab with or without olaparib as first-line treatment for endometrial cancer: Longitudinal changes in circulating tumor DNA. *J Clin Oncol*. 2025;43(16 suppl):5512.
27. Colaprico A, Silva TC, Olsen C, Garofano L, Cava C, Garolini D, et al. TCGAAbiolinks: an R/Bioconductor package for integrative analysis of TCGA data. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(8):e71.
28. Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, Akbani R, Liu Y, Shen H, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature*. 2013;497(7447):67–73.
29. Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*. 2014;15(12):550.
30. Hothorn T, Lausen B. On the exact distribution of maximally selected rank statistics. *Computational Statistics & Data Analysis*. 2003;43(2):121–37.

31. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov.* 2022;12(1):31–46.
32. Kakugawa S, Langton PF, Zebisch M, Howell SA, Chang T-H, Liu Y, et al. Notum deacylates Wnt proteins to suppress signalling activity. *Nature.* 2015;519(7542):187–92.
33. Huggins JJ, Bos T, Gaylord O, Jessen C, Lonquich B, Puranen A, et al. The WNT target SP5 negatively regulates WNT transcriptional programs in human pluripotent stem cells. *Nature Communications.* 2017;8(1):1034.
34. ter Steege EJ, Bakker ERM. The role of R-spondin proteins in cancer biology. *Oncogene.* 2021;40(47):6469–78.
35. Xue C, Chu Q, Shi Q, Zeng Y, Lu J, Li L. Wnt signaling pathways in biology and disease: mechanisms and therapeutic advances. *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 2025;10(1):106.
36. Clevers H, Nusse R. Wnt/ β -catenin signaling and disease. *Cell.* 2012;149(6):1192–205.
37. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nature Reviews Cancer.* 2012;12(4):298–306.
38. Benci JL, Xu B, Qiu Y, Wu TJ, Dada H, Twyman-Saint Victor C, et al. Tumor Interferon Signaling Regulates a Multigenic Resistance Program to Immune Checkpoint Blockade. *Cell.* 2016;167(6):1540–54.e12.
39. Minn AJ. Interferons and the Immunogenic Effects of Cancer Therapy. *Trends Immunol.* 2015;36(11):725–37.
40. Bolado-Carrancio A, Lee M, Ewing A, Muir M, Macleod KG, Gallagher WM, et al. ISGylation drives basal breast tumour progression by promoting EGFR recycling and Akt signalling. *Oncogene.* 2021;40(44):6235–47.
41. Cheriyaundath S, Basu S, Haase G, Doernberg H, Gavert N, Brabletz T, et al. ISG15 induction is required during LI-mediated colon cancer progression and metastasis. *Oncotarget.* 2019;10(67):7122–31.
42. Lyu F, Li Y, Yan Z, He Q, Cheng L, Zhang P, et al. Identification of ISG15 and ZFP36 as novel hypoxia- and immune-related gene signatures contributing to a new perspective for the treatment of prostate cancer by bioinformatics and experimental verification. *J Transl Med.* 2022;20(1):202.
43. Butt DQ, Harun MH, Che Jalil NA, Shamsuddin SH, Jaafar S, Ahmad B. Protumorigenic Interferon-Stimulated Genes in Cancer: A Comprehensive Review. *Cureus.* 2024;16(6):e63216.
44. Amit M, Eichwald T, Roger A, Anderson J, Chang A, Vermeer PD, et al. Neuro-immune cross-talk in cancer. *Nature Reviews Cancer.* 2025;25(8):573–89.
45. Bloomer H, Dame HB, Parker SR, Oudin MJ. Neuronal mimicry in tumors: lessons from neuroscience to tackle cancer. *Cancer and Metastasis Reviews.* 2025;44(1):31.
46. Conteduca V, Aieta M, Amadori D, De Giorgi U. Neuroendocrine differentiation in prostate cancer: Current and emerging therapy strategies. *Critical Reviews in Oncology/Hematology.* 2014;92(1):11–24.
47. Jiang J, Han D, Wang J, Wen W, Zhang R, Qin W. Neuroendocrine transdifferentiation in human cancer: molecular mechanisms and therapeutic targets. *MedComm.* 2024;5(10):e761.
48. Sleeboom JFF, van Tienderen GS, Schenke-Layland K, van der Laan LJW, Khalil AA, Versteegen MMA. The extracellular matrix as hallmark of cancer and metastasis: From biomechanics to therapeutic targets. *Science Translational Medicine.* 16(728):eadg3840.
49. Egeblad M, Rasch MG, Weaver VM. Dynamic interplay between the collagen scaffold and tumor evolution. *Curr Opin Cell Biol.* 2010;22(5):697–706.
50. Lu P, Weaver VM, Werb Z. The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression. *J Cell Biol.* 2012;196(4):395–406.
51. Grau Bejar JF, Yaniz Galende E, Zeng Q, Genestie C, Rouleau E, de Bruyn M, et al. Immune predictors of response to immune checkpoint inhibitors in mismatch repair-deficient endometrial cancer. *J Immunother Cancer.* 2024;12(7).
52. Stadler ZK, Battaglin F, Middha S, Hechtman JF, Tran C, Cercek A, et al. Reliable Detection of Mismatch Repair Deficiency in Colorectal Cancers Using Mutational Load in Next-Generation Sequencing Panels. *Journal of Clinical Oncology.* 2016;34(18):2141–7.
53. Ambrosini M, Manca P, Nasca V, Sciortino C, Ghelardi F, Seligmann JF, et al. Epidemiology, pathogenesis, biology and evolving management of MSI-H/dMMR cancers. *Nat Rev Clin Oncol.* 2025;22(6):385–407.
54. Pelka K, Hofree M, Chen JH, Sarkizova S, Pirl JD, Jorgji V, et al. Spatially organized multicellular immune hubs in human colorectal cancer. *Cell.* 2021;184(18):4734–52.e20.
55. de Biase D, Lenzi J, Ceccarelli C, Maloberti T, Grillini M, Coadă CA, et al. Spatial Cancer-Immune Phenotypes Predict Shorter Recurrence-Free Survival in the No Specific Molecular Profile Molecular Subtype of Endometrial Carcinoma. *Modern Pathology.* 2025;38(1):100624.

© Avtor(ji). To delo je objavljeno pod licenco Creative Commons Priznanje avtorstva 4.0.

© The author(s). This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>