

Aus der Klinik für Kardiologie und Pneumologie
(Prof. Dr. med. G. Hasenfuß)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Progress versus Pseudoprogress beim Lungenkarzinom unter Immuntherapie

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Annett Jenny Schiwitza

aus

Passau

Göttingen 2019

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

Betreuungsausschuss

Betreuer/in Prof. Dr. S. Andreas

Ko-Betreuer/in: Prof. Dr. H.-U. Schildhaus

Prüfungskommission

Referent/in

Ko-Referent/in:

Drittreferent/in:

Datum der mündlichen Prüfung:

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Progress versus Pseudoprogress beim Lungenkarzinom unter Immuntherapie" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den

.....
(Unterschrift)

Ein Teil, der in dieser Studie gewonnenen Daten, wurde unter dem Titel „Checkpointinhibition in lung cancer – How to distinguish pseudoprogression from progressive disease“ auf dem European Respiratory Society (ERS) Kongress am 03.09.2016 in London präsentiert (Poster Nummer 4844).

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden unter dem Titel „Monitoring efficacy of checkpoint inhibitor therapy in patients with non-small-cell lung cancer“ im Journal Immunotherapy am 23.05.2019 veröffentlicht (Band 11, Ausgabe 9, Seiten 769-782).

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	V
1 Einleitung	1
1.1 Lungenkarzinom.....	1
1.1.1 Definition und pathologische Klassifikation	1
1.1.2 Epidemiologie.....	2
1.1.3 Ätiologie.....	3
1.1.4 Prognose und Staging.....	5
1.1.5 Therapie	10
1.2 Immuntherapie	12
1.2.1 Tumormmunologie und die drei Phasen des Immunoediting.....	12
1.2.2 Immunsystem-Aktivierung und Checkpoint-Inhibition	14
1.2.3 PD-1-Signalweg und der therapeutische Ansatz bei der Checkpoint-Inhibition.....	16
1.2.4 Phänomen des Pseudoprogresses.....	17
1.3 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit	21
2 Material und Methoden	23
2.1 Patientenkollektiv	23
2.2 Datenerhebung	23
2.3 Datenanalyse	25
2.4 Pathologische Analysen.....	25
2.5 Bewertung des Therapieansprechens nach den RECIST-Kriterien.....	26
2.6 Berechnung des Scores.....	27
2.7 Statistische Auswertung.....	28
2.8 Ethik	30
3 Ergebnisse.....	31
3.1 Probandencharakteristika.....	31
3.2 CT-Messungen.....	33
3.3 Nebenwirkungen und klinische Besonderheiten.....	35
3.4 Pathologie.....	35
3.5 Klinische Parameter	40
3.6 Score-Schema.....	47
3.7 Prädiktion des Therapieansprechens mit Hilfe des Scores.....	49
3.8 Überlebensanalyse	53

4	Diskussion.....	57
4.1	Bewertung des Therapieansprechens nach RECIST 1.1-Kriterien.....	57
4.2	Einschätzung der verwendeten Laborwerte.....	62
4.3	Bedeutung der pathologischen Merkmale der Patienten	64
4.4	Klinische Symptome und Beurteilung der Signifikanz des Prädiktions-Scores.....	66
4.5	Stärken und Schwächen.....	67
4.6	Schlussfolgerung.....	67
5	Zusammenfassung.....	68
6	Anhang	69
7	Literaturverzeichnis	76

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Absolute Zahl der Neuerkrankungs- und Sterbefälle.....	2
Abbildung 2: Die vier häufigsten histologischen Lungenkarzinome mit prozentualer Verteilung von Rauchern und Nicht-Rauchern	4
Abbildung 3: Absolute Überlebensraten bis 10 Jahre nach Erstdiagnose nach Geschlecht, Deutschland 2011-2012	6
Abbildung 4: Aktivierung und Inhibition von Checkpoints zur Stimulation des Immunsystems.....	15
Abbildung 5: Zunahme von Immunzellen am Tumor als Erklärung für eine sogenannte Pseudoprogession.....	19
Abbildung 6: Pseudoprogession unter Nivolumab-Therapie.....	19
Abbildung 7: Pseudoprogession bei einer Patientin mit Adenokarzinom.....	20
Abbildung 8: Flussdiagramm bezüglich des Therapiestatus der Patientenkohorte	31
Abbildung 9: Patientenverteilung nach Ansprechmuster gemäß RECIST-Kriterien	34
Abbildung 10: Prozentuale Tumorgrößenveränderung verglichen mit Ausgangswert	35
Abbildung 11 A: Patientenverteilung nach histologischen Subtypen. B: Tabelle mit prozentualer Verteilung bei den jeweiligen histologischen Subtypen.....	36
Abbildung 12: Relative LDH-Wertveränderung im zeitlichen Verlauf innerhalb der jeweiligen Ansprechgruppen.....	41
Abbildung 13: Relative G/L-Indexveränderung im zeitlichen Verlauf innerhalb der jeweiligen Ansprechgruppen.....	42
Abbildung 14: Relative CRP-Wertveränderung im zeitlichen Verlauf innerhalb der jeweiligen Ansprechgruppen.....	43
Abbildung 15: Relative Gewichtsveränderung im zeitlichen Verlauf innerhalb der jeweiligen Ansprechgruppen.....	44
Abbildung 16: Therapieschema.....	45
Abbildung 17: Prozentuale Veränderungen relativ vom Ausgangswert zum Ausgangswert an Tag 43 ausgewählter Parameter	46
Abbildung 18: Prozentuale Veränderungen relativ vom Ausgangswert zum Ausgangswert an Tag 99 ausgewählter Parameter	47
Abbildung 19: Zweistufig hierarchisch aufgebaute ROC-Analysen.....	50
Abbildung 20: Vorhergesagte Werte	52
Abbildung 21: Score-Punkteverteilung	53
Abbildung 22: Überlebenszeitanalyse entsprechend den einzelnen Ansprechgruppen.....	54

Abbildung 23: Hazard-Ratio der Überlebenswahrscheinlichkeit.....	55
Abbildung 24: Überlebenszeitanalyse durch RPD-Vorhersage	56
Abbildung 25: Schnelle Pseudoprogression.....	58
Abbildung 26: Linker Hemithorax schnelle Pseudoprogression	59

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Prävalenz der am häufigsten, nach histologischen Kriterien, auftretenden Lungenkarzinome	1
Tabelle 2: TNM-Klassifikation, 8. Auflage nach IASLC	7
Tabelle 3: Klassifikation der Tumorstadien nach UICC 8.....	9
Tabelle 4: Variablen für die Datenerhebung.....	24
Tabelle 5: Evaluation der Zielläsionen nach RECIST 1.1-Kriterien.....	27
Tabelle 6: Deskriptive Daten der Patientenkohorte	32
Tabelle 7: Zwei-Wege-Übersichtstabelle mit Häufigkeitenverteilung.....	37
Tabelle 8: Statistische Evaluation der histologischen Subtypen	37
Tabelle 9: Verteilung der Patienten nach Alter, Geschlecht, histologischer Differenzierung des Lungenkarzinoms und Raucherstatus.....	38
Tabelle 10: PD-L1-, KRAS- und EGFR-Status innerhalb der Ansprechgruppen.....	39
Tabelle 11: Berechnung der Score-Punkte	48
Tabelle 12: Gewichtung der Parameter.....	48
Tabelle 13: Vergleich von RECIST 1.1 und iRECIST anhand des vorliegenden Patientenkollektivs.....	60
Tabelle 14: Einschätzung von Biomarkern	63

Abkürzungsverzeichnis

ADC	Adenokarzinom
AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
ANOVA	<i>analysis of variance</i>
AUC	<i>area under the curve</i>
CD	<i>cluster of differentiation</i>
CI	<i>confidence interval</i>
COPD	<i>chronic obstructive pulmonary disease</i>
CPD	<i>Complete Progressiv Disease</i>
CR	<i>Complete Response</i>
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
CTLA-4	<i>cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4</i>
CV	<i>cross validation</i>
EGFR	<i>epidermal growth factor receptor</i>
EML4-ALK	<i>anaplastic lymphoma kinase-echinoderm microtubule-associated protein-like protein 4</i>
G/L	Granulozyten/Leukozyten
HR	Hazard-Ratio
IASLC	<i>International Association for Study of Lung Cancer</i>
IgG	Immunglobulin G
IHC	<i>immunohistochemistry</i>
INF γ	Interferon gamma
KRAS	<i>kirsten rat sarcoma virus</i>
LDH	Lactatdehydrogenase
LCNEC	<i>large cell neuroendocrine carcinoma</i>
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
NSCLC	<i>non-small cell lung cancer</i>
OR	<i>Objective Response</i>
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PD-1	<i>programmed cell death protein 1</i>
PD-L1	<i>programmed death ligand 1</i>
PEC	Plattenepithelkarzinom

PR	<i>Partial Response</i>
PsPr	<i>Pseudoprogression</i>
RECIST	<i>response evaluation criteria in solid tumors</i>
ROC	<i>receiver operating characteristic</i>
RPD	<i>Real Progressive Disease</i>
SCLC	<i>small cell lung cancer</i>
SD	<i>Stable Disease</i>
TILs	<i>tumor infiltrating leukocytes</i>
TPS	<i>tumor proportion score</i>
TRAIL	<i>tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand</i>
UICC	<i>Union for International Cancer Control</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

1 Einleitung

1.1 Lungenkarzinom

1.1.1 Definition und pathologische Klassifikation

Das Lungenkarzinom ist eine maligne Neoplasie, welche vom Epithel des Lungengewebes ausgeht. Der Ursprung der bösartigen Transformation der Zellen kann dabei von den Bronchien, den Bronchiolen, aber auch von den terminalen bronchioalveolären Abschnitten des Atmungsorgans stammen (Popper et al. 2012).

Im Jahr 2015 wurden mehr als 50 verschiedene Lungentumoren in der WHO-Klassifikation aufgelistet. Die am meisten verbreiteten Lungentumortypen sind in Tabelle 1 mit entsprechender Prävalenz aufgeführt. Zudem wird weiter histologisch unterteilt in nicht-kleinzellige Lungenkarzinome (engl.: *non-small cell lung cancer*, NSCLC), zu diesen zählen das Adenokarzinom, das Plattenepithelkarzinom und das großzellige Karzinom, sowie in das kleinzellige Lungenkarzinom (engl.: *small cell lung cancer*, SCLC), welche sich hinsichtlich der Prognose und Auswahl der Therapie unterscheiden (Travis et al. 2015). Das kleinzellige Lungenkarzinom wird aufgrund seiner morphologischen Charakteristika zu den neuroendokrinen Karzinomen gerechnet. Zu diesen zugehörig sind auch die typischen und atypischen Karzinoide und die großzelligen neuroendokrinen Tumoren (Capelozzi 2009).

Tabelle 1: Prävalenz der am häufigsten, nach histologischen Kriterien, auftretenden Lungenkarzinome (Niederhuber et al. 2014)

Klasse	Prävalenz (%)
Adenokarzinom	50
Plattenepithelkarzinom	20
Kleinzellige Tumoren	25
Großzellige Tumoren	10
Adenosquamöse Tumoren	<5
Karzinoide	<5
Tumoren von den Bronchialdrüsen ausgehend	<5

1.1.2 Epidemiologie

Unter den Krebserkrankungen bleibt das Lungenkarzinom weiterhin die häufigste Todesursache bei Männern und die zweithäufigste, nach dem Mammakarzinom, bei Frauen. Dies verdeutlichen die Inzidenzzahlen von 34.490 bei den Männern und 18.000 bei den Frauen im Jahre 2012 in Deutschland, davon verstarben 29.700 Männer und 14.800 Frauen (Robert Koch-Institut 2015).

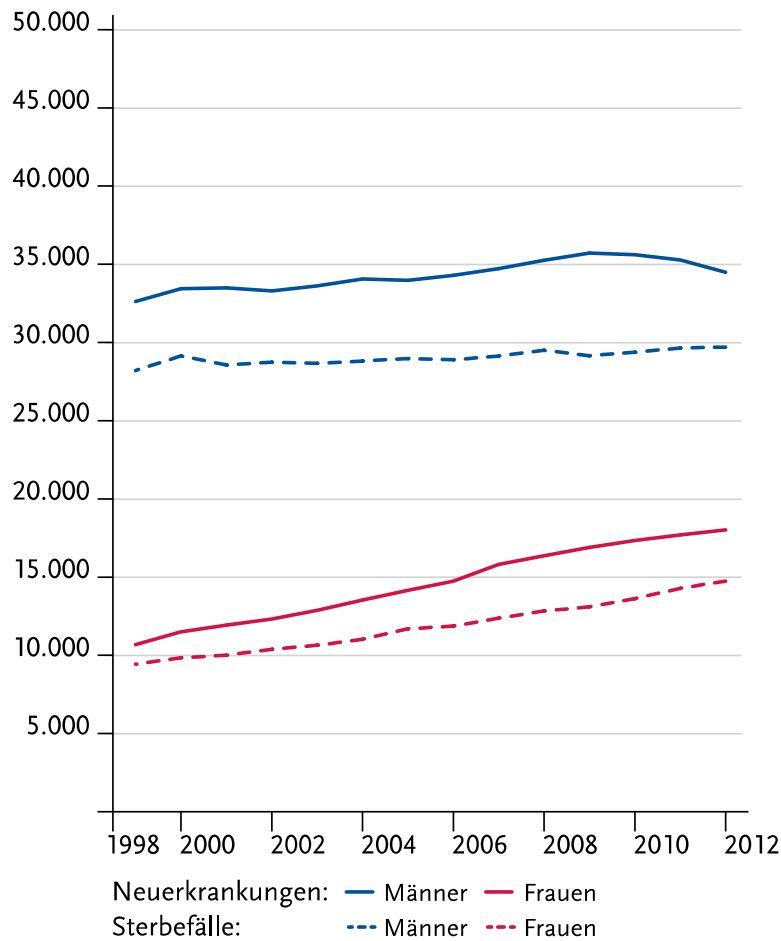


Abbildung 1: Absolute Zahl der Neuerkrankungs- und Sterbefälle (der Abdruck erfolgt mit freundlicher Genehmigung des Robert Koch-Instituts; Robert Koch-Institut 2015)

Eine Prognose des Robert Koch-Institutes, Zentrum für Krebsregisterdaten, schätzt für das Jahr 2016 insgesamt über 55.000 Neuerkrankungen.

Obwohl die Inzidenzrate für Lungenkrebs in Deutschland bei Männern immer noch höher ist als für Frauen, zeigt sich seit den 1980er-Jahren auch für die weibliche Bevölkerung ein

kontinuierlicher Anstieg der Erkrankungsrate (Mons et al. 2008). Im internationalen Vergleich haben die Frauen die Männer in manchen Ländern bereits überholt, beispielhaft sind hier die USA oder UK zu nennen (Robert Koch-Institut 2015). Dieser Trend lässt sich mit der gesteigerten Rauchergewohnheit der Frauen begründen (Egleston et al. 2009; North und Christiani 2013).

1.1.3 Ätiologie

Der aktive Konsum von Tabak ist bei bis zu 85% der Patienten der Hauptgrund für eine maligne Lungentumorerkrankung (Parsons et al. 2010; Andreas et al. 2013). Dabei ist unerheblich, ob der Genuss in Pfeifen-, Zigarren- oder Zigarettenform geschieht, entscheidend ist die Anzahl der täglich gerauchten Packungen pro Raucherjahr, welches im klinischen Alltag auch als *pack years* bezeichnet wird (Molina et al. 2008). Besonders stark sind das Plattenepithelkarzinom und das kleinzellige Karzinom mit dem Rauchen assoziiert, weniger das Adenokarzinom. Der Zusammenhang zwischen den häufigsten histologischen Lungenkarzinom-Arten und der Exposition durch das aktive Rauchen wurde in einer repräsentativen Kohortenstudie von Kenfield et al. (2008) untersucht. Aus den Ergebnissen lässt sich ein Kreisdiagramm zur grafischen Verdeutlichung erstellen (siehe Abbildung 2).

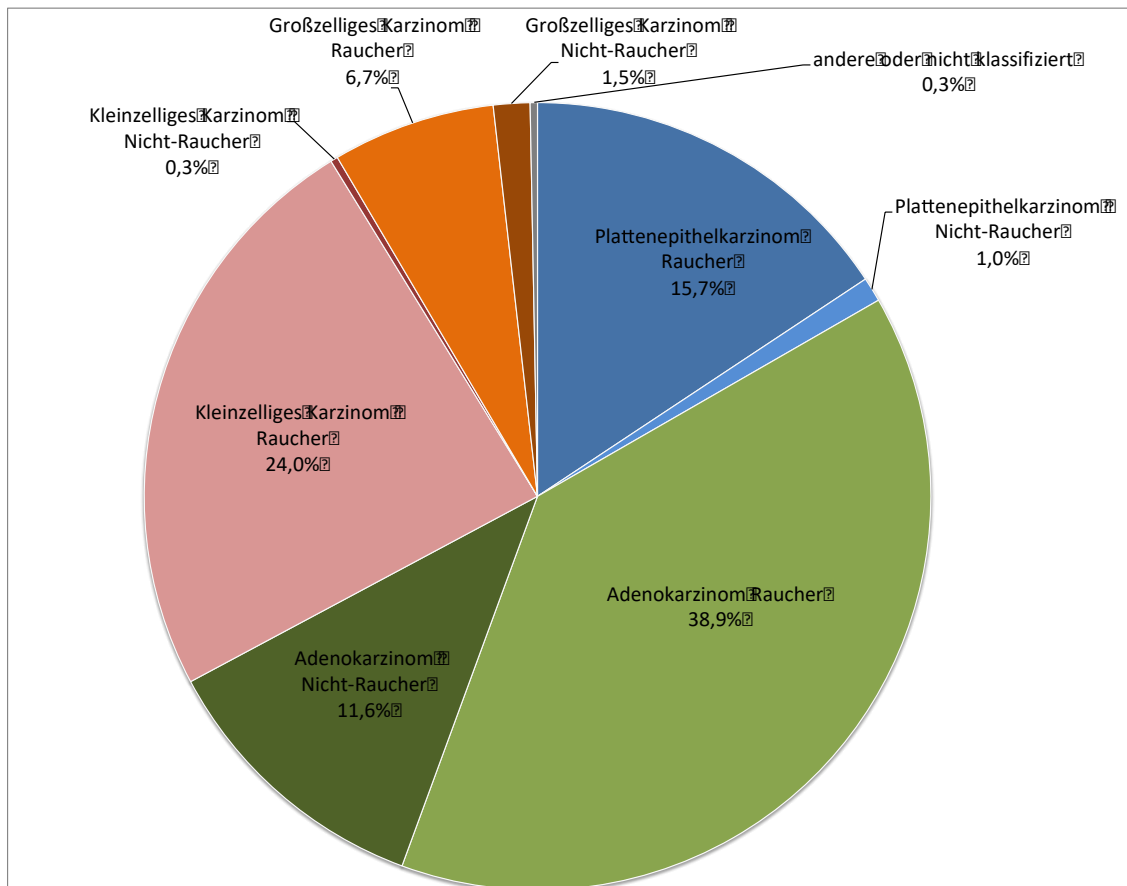


Abbildung 2: Die vier häufigsten histologischen Lungenkarzinome mit prozentualer Verteilung von Rauchern und Nicht-Rauchern (nach Kenfield et al. 2008)

Neben dem aktiven Rauchen erhöht auch das Passivrauchen das Risiko, an einer bösartigen Neoplasie der Lunge zu erkranken. Statistisch gesehen ist dies eine Erhöhung um den Faktor 1,3 - 2,0 (Li et al. 2016; Becher et al. 2017). Von Bedeutung sind hierbei vor allem die Dauer und Intensität der Exposition durch den Tabakrauch. Nach statistischen Schätzungen sind 5,6% aller Todesfälle, die durch Lungenkrebs verursacht sind, durch das Passivrauchen zu begründen (Öberg et al. 2011).

Das Erkrankungsrisiko wird zusätzlich verstärkt, wenn zum Tabakkonsum eine berufliche Exposition mit kanzerogenen Stoffen hinzukommt. Im Besonderen sind hier zu nennen: Chrom, Arsen, Radon, Chrom, Asbest, Haloether, Nickel, Kokereirohgas und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, welches alle Stoffe sind, die bei vermehrter Inhalation eine toxische und kanzerogene Wirkung aufweisen können (Herold 2018).

Eine weitere, eher untergeordnete, aber nicht außer Acht zu lassende Rolle spielen Umwelt-oxen wie Luftverschmutzung und Emissionen. In Europa liegt das attributale Risiko, an einem Lungenkarzinom aufgrund der städtischen Verschmutzung zu erkranken, bei etwa 11% (Molina et al. 2008).

Wie in Abbildung 2 schon angedeutet, gibt es auch Nicht-/Nie-Raucher, welche weder im Haushalt eines Rauchers lebten noch sich im Beruf oder im Alltag kanzerogenen Stoffen aussetzten und trotzdem an einem malignen Lungentumor erkranken. Diese Personen-Gruppe weist möglicherweise eine genetische Prädisposition auf. Eine solche kann eine maligne Entartung begünstigen. Die Metaanalyse einer genomweiten Assoziationsstudie mit einer Kohorte von 14.900 Lungenkrebspatienten und einer Kontrollgruppe mit 29.485 Personen im Jahre 2012 ergab, dass es mehrere Stellen auf Chromosomen gibt, die bei Mutationen zu einer Erhöhung des Krebsrisikos führen können; dies können zum Beispiel genetische Varianten von 5p15.33, 6p21–6p22 oder 15q25.1 sein (Timofeeva et al. 2012).

Zudem ist die Lunge Prädilektionsstelle für eine maligne Entartung, wenn bereits andere Erkrankungen wie COPD (engl.: *chronic obstructive pulmonary disease*), die idiopathische pulmonale Fibrose oder die Tuberkulose das Organ betreffen (de-Torres et al. 2015 und Collins et al. 2007). Auch sogenannte Lungennarben sind mit dem Lungenkrebs assoziiert und können zu „Narbenkarzinomen“ und „Kavernenkarzinomen“ führen (Yu et al. 2008).

1.1.4 Prognose und Staging

Neben dem Leberkarzinom, dem Mesotheliom und dem Pankreaskarzinom ist die 5- bzw. 10-Jahres-Überlebensrate beim Lungenkarzinom am geringsten. Nach der Erstdiagnose leben weniger als 20% der Betroffenen länger als 10 Jahre (siehe Abbildung 3) (Robert Koch-Institut 2015). Je nach histologischer Differenzierung würde die Überlebenszeit ohne Behandlung jedoch nur wenige Monate betragen, sodass die stadienadaptierte Wahl der Therapie von großer Bedeutung ist (Wao et al. 2013). Hierfür muss der Tumor zunächst einem sogenannten Staging, der Stadieneinteilung nach TNM-Klassifikation und der Zuordnung nach den *Union for International Cancer Control* (UICC)-Kriterien unterzogen werden. Die TNM-Klassifikation definiert T für lokale Tumorausbreitung, N ist der Lymphknotenbefall und M die Metastasenausbreitung. Die aktuelle Einteilung, welche in den Tabellen 2 und 3 dargestellt ist, entstand aus der Untersuchung von fast 100.000 Patienten. Die aktuelle 8. Auflage der TNM-Klassifikation trat am 01.01.2017 in Kraft und wurde in fünf Publikationen unter der Kooperation mit *International Association for Study of Lung Cancer* (IASLC), *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) und UICC veröffentlicht (Eberhardt et al. 2015; Rami-Porta et al. 2015; Goldstraw et al. 2016).

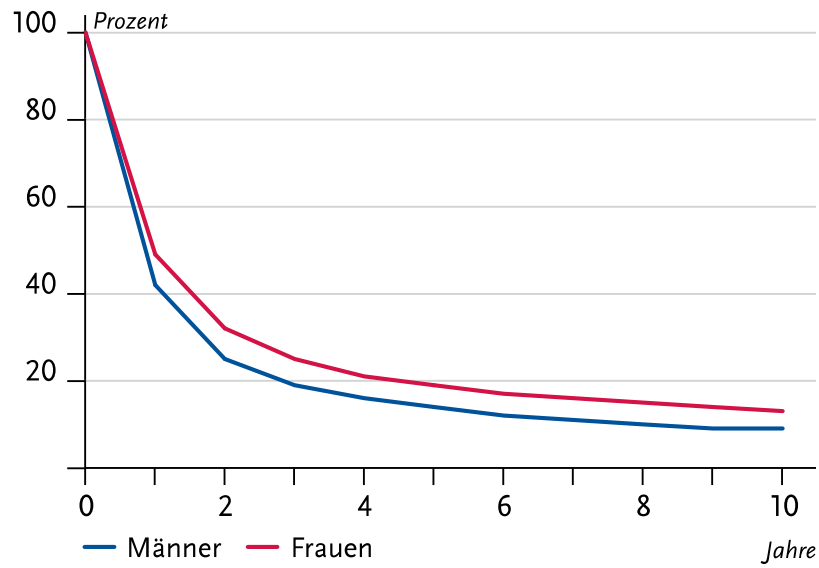


Abbildung 3: Absolute Überlebensraten bis 10 Jahre nach Erstdiagnose nach Geschlecht, Deutschland 2011-2012 (der Abdruck erfolgt mit freundlicher Genehmigung des Robert Koch-Instituts; Robert Koch-Institut 2015)

Tabelle 2: TNM-Klassifikation, 8. Auflage nach IASLC (Eberhardt et al. 2015; Rami-Porta et al. 2015; Goldstraw et al. 2016)

Kategorie	Stadium	Kurzbeschreibung
T	Tis	Carcinoma in situ
	T1	größter Durchmesser < 3 cm, umgeben von Lungengewebe oder viszeraler Pleura, Hauptbronchus nicht beteiligt
	T1a (mi)	Minimal invasives Adenokarzinom
	T1a	größter Durchmesser < oder = 1 cm
	T1b	größter Durchmesser > 1 oder < oder = 2 cm
	T1c	größter Durchmesser > 2 oder < oder = 3 cm
	T2	- größter Durchmesser > 3 aber < oder = 5 cm oder - Infiltration des Hauptbronchus unabhängig vom Abstand von der Carina, aber ohne direkte Invasion der Carina - Infiltration der viszeralen Pleura oder - tumorbedingte partielle Atelektase oder obstruktive Pneumonie die bis in den Hilus reichen, Teile der Lunge oder die gesamte Lunge umfassen
	T2a	größter Durchmesser > 3 < oder = 4 cm
	T2b	größter Durchmesser > 4 < oder = 5 cm
	T3	- größter Durchmesser > 5 aber < oder = 7 cm - Infiltration von Thoraxwand (inklusive parietale Pleura und Superior Sulcus), N. phrenicus oder parietalem Perikard - zusätzlicher Tumorknoten im selben Lungenlappen wie der Primärtumor
	T4	- größter Durchmesser > 7cm oder mit direkter Infiltration von Diaphragma, Mediastinum, Herz, großen Gefäßen, Trachea, N. laryngeus recurrens, Ösophagus, Wirbelkörper oder Karina - zusätzlicher Tumorknoten in einem anderen ipsilateralen Lungenlappen

Kategorie	Stadium	Kurzbeschreibung
N	N0	keine Lymphknotenmetastasen
	N1	Metastase in ipsilateralen, peribronchialen und/oder ipsilateralen hilären Lymphknoten und/oder intrapulmonalen Lymphknoten oder direkte Invasion dieser Lymphknoten
	N2	Metastase in ipsilateralen mediastinalen und/oder subkarinalen Lymphknoten
	N3	Metastase in kontralateralen mediastinalen, kontralateralen hilären, ipsi- oder kontralateral tief zervikalen, supraclaviculären Lymphknoten
M	M0	keine Fernmetastasen
	M1	Fernmetastasen
	M1a	<p>separater Tumorknoten in einem kontralateralen Lungenlappen</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pleura mit knotigem Befall - maligner Pleuraerguss - maligner Perikarderguss
	M1b	isolierte Fernmetastase in einem extrathorakalen Organ
	M1c	mehrere Fernmetastasen (>1) in einem oder mehreren Organen

Tabelle 3: Klassifikation der Tumorstadien nach UICC 8 (Goldstraw et al. 2016)

Stadium	Primärtumor	Lymphknoten	Fernmetastasen
0	Tis	N0	M0
IA1	T1a (mi)	N0	M0
	T1a	N0	M0
IA2	T1b	N0	M0
IA3	T1c	N0	M0
IB	T2a	N0	M0
IIA	T2b	N0	M0
IIB	T1a-c	N1	M0
	T2a	N1	M0
	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T1a-c	N2	M0
	T2a-b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
IIIB	T1a-b	N3	M0
	T2a-b	N3	M0
	T3	N2	M0
	T4	N2	M0
IIIC	T3	N3	M0
	T4	N3	M0
IVA	jedes T	jedes N	M1a
	jedes T	jedes N	M1b
IVB	jedes T	jedes N	M1c

Aufgrund der zu geringen Kohortenzahl und der somit fehlenden neuen Erkenntnisse wird beim SCLC noch die 7. Auflage der UICC Einteilung für das Fernmetastasen-Staging beibehalten. Ebenso wird nicht, wie beim NSCLC in IVA und IVB differenziert, sondern es besteht nur römisch IV als Zuordnungsstadium. Im Jahre 1957 wurde von der Veterans Administration Lung Study eine Einteilung des SCLC entwickelt, welche bis heute im klinischen Alltag zusätzlich zur TNM-Klassifikation von Relevanz ist. Besonders im Hinblick auf die Durchführbarkeit einer Strahlentherapie wird dieses Schema verwendet (Rami-Porta et al. 2011).

1.1.5 Therapie

Die Therapiewahl beim kleinzelligen Lungenkarzinom richtet sich nach der Einteilung der Stadien *very limited disease*, *limited disease* und *extensive disease*. Eine Strahlen-Chemotherapie mit simultaner Radiotherapie und adjuvanter Schädelbestrahlung wird im limitierten Stadium empfohlen. Bei Erstdiagnose befinden sich dabei bereits um die 70 % der Patienten im Stadium der *extensive disease*; hier wird eine palliative Chemotherapie mit prophylaktischer Schädelbestrahlung durchgeführt oder es werden Maßnahmen nach dem Prinzip der *best supportive care* eingeleitet. Der SCLC ist ein sich rapide vergrößernder, schnell metastasierender und aggressiver Tumor. Da kleinzellige Lungenkarzinome häufig erst in fortgeschrittenem Stadium diagnostiziert werden gibt es – anders als beim NSCLC – wenige Behandlungsalternativen (CLCGP und NGM 2013; Carter et al. 2014; Li et al. 2017).

Die Methode der ersten Wahl beim NSCLC in den frühen Stadien, IA und IB (Tumorgröße ≤ 4 cm) ist die operative Resektion des Tumors. Die stereotaktische Bestrahlung wird nur bei Kontraindikationen wie Komorbiditäten und schlechtem Allgemeinzustand eingesetzt. Auch bei den Stadien IB (Tumorgröße > 4 cm), IIA/B, IIIA_{1,2,3} gilt die operative Entfernung als erste Option mit anschließender adjuvanter Chemotherapie. Bei Patienten im Stadium IIIA bei denen intraoperativ bzw. postoperativ in der pathohistologischen Auswertung der N2-Status festgestellt worden ist (formell spricht man von IIIA₁ bzw. IIIA₂), ist eine adjuvante Chemotherapie indiziert. Zusätzlich zu diesen beiden Stadien gehört noch das IIIA₃ N2 unilevel, welches sich durch eine ipsilaterale mediastinale Lymphknotenmetastase auszeichnet und durch eine supplementäre Radiatio behandelt werden kann. Hier ist noch der Pancoast-Tumor als Sonderfall zu nennen: die optimale Therapie besteht aus einer Strahlen-Chemotherapie mit anschließender Operation.

Um die 40% der Patienten befinden sich bei Erstdiagnose im Stadium IV der Lungentumorerkrankung. Bei diesen Patienten kommt in der Mehrheit eine palliative Therapie in Frage. Ausgenommen sind die Fälle, in denen isolierte Nebennieren oder zerebrale Metastasen gefunden wurden, hier lässt sich eine kurative Therapie mit additiver Chemo-

und/oder Strahlentherapie diskutieren. Seit der Jahrtausendwende rücken zunehmend alternative Behandlungsmöglichkeiten in den Vordergrund und eröffnen den Patienten vor allem im fortgeschrittenen Stadium als Erstlinientherapie neue Behandlungsperspektiven (Chan und Hughes 2015).

Die zielgerichtete Therapie und die Immuntherapie werden in Hinblick auf genetische Mutationen, Komorbidität, Allgemeinzustand und Vorbehandlungen abgewogen. Im Folgenden werden alle wesentlichen Alternativen zur Operation, Radiatio und Chemotherapie beim Nicht-Kleinzelligen Lungenkarzinom im fortgeschrittenen Stadium aufgeführt.

Molekulare Mechanismen von Lungentumoren bieten Angriffspunkte für neue Behandlungsmethoden. Diese molekularen Zielstrukturen geben den Methoden den englischen Namen der *targeted therapies*. Eines dieser Ziele ist der EGF-Rezeptor (engl.: *epidermal growth factor receptor*), ein transmembranäres Glykoprotein, welches durch seine intrazelluläre Tyrosinkinasedomäne das zelluläre Wachstum regulieren und kontrollieren kann. Durch Hemmung dieses Rezeptors kann die lokale Invasion und Angiogenese der Neoplasie eingeschränkt werden, was infolgedessen eine deutliche Verlängerung der Lebenszeit für den Patienten bedeutet (Bethune et al. 2010; CLCGP and NGM 2013; Ettinger et al. 2017). Als Medikamente werden Tyrosinkinase-Inhibitoren wie Afatinib, Erlotinib und Gefitinib eingesetzt, kleine Moleküle, die oral aufgenommen werden können und die intrazelluläre Tyrosinkinase des Rezeptors hemmen (Sgambato et al. 2014; Ettinger et al. 2017).

Ein weiteres Ziel ist das EML4-ALK (engl.: *anaplastic lymphoma kinase-echinoderm microtubule-associated protein-like protein 4*) Fusionsgen. Aufgrund einer Inversion auf dem Chromosom 2p kommt es zu einer dauerhaften Aktivierung des Tyrosinkinaserzeptors, welche als Konsequenz eine maligne Entartung fördert (Soda et al. 2007; Chan und Hughes 2015). Die Mutation wird vor allem bei Nicht-Rauchern und jungen Patienten mit Adenokarzinom beobachtet und kann mit Tyrosinkinase-Inhibitoren wie Crizotinib, Ceritinib und Alectinib gut behandelt werden (Chan und Hughes 2015; Ettinger et al. 2017; Peters et al. 2017; Soria et al. 2017)

Nur wenige Lungenkrebspatienten (1-2%) mit einem Adenokarzinom weisen eine Translokation des ROS1-Gens auf, welche ebenfalls als Ziel für eine *targeted therapy* in Frage kommt. Dennoch spricht diese Mutation sehr gut auf den Inhibitor Crizotinib an, sodass eine Genmutationsanalyse auf diese Translokation bei negativen Befund oben genannter Gene in Erwägung gezogen wird (Chan und Hughes 2015; Ettinger et al. 2017).

Obwohl immer mehr Gen-Aberrationen für eine zielgerichtete Therapie gefunden worden sind, weisen nur wenige Patienten eine dieser gesuchten Mutationen auf, sodass es für diese Patientengruppe lange Zeit keine weiteren alternativen Behandlungsmöglichkeiten gab. Erst Anfang des 21. Jahrhunderts fand man neue Ansätze zur Tumorbekämpfung (Rosenberg 2012; Sullivan et al. 2013). Im Mittelpunkt steht nun das Immunsystem des Krebspatienten. Durch die Aktivierung oder auch Inhibition sogenannter Checkpoint-Moleküle wird das Immunsystem stimuliert, um selbst gegen den Tumor anzukämpfen. Seit 2016 ist Nivolumab,

ein Checkpoint-Inhibitor, als Zweitlinientherapie für alle histologischen Subtypen des NSCLC in Europa zugelassen (Borghaei et al. 2015; Brahmer et al. 2015). Aufgrund vielversprechender Studienergebnisse ist seit Februar 2017 in Europa ein weiterer hemmender Wirkstoff Pembrolizumab, sogar als Erstlinientherapie beim NSCLC auf dem Markt (Reck et al. 2016; Merck.com 2017).

Die molekularen Mechanismen der Checkpoint-Inhibition, wie auch die daraus resultierenden neuen Erkenntnisse und Problematiken werden in den anschließenden Abschnitten genauer dargelegt.

1.2 Immuntherapie

Die Immuntherapie ist deutlich abzugrenzen von der traditionellen Chemotherapie, deren Zielstruktur sich schnell teilende Zellen sind und von der zielgerichteten Therapie, welche mit Schlüsselmolekülen in Tumorzellen interferiert, um das Tumorwachstum und dessen Gewebeinvasion zu unterbinden. Die konventionelle onkologische Therapie mit Zytostatika zielt darauf ab, die Krebszellen selber zu vergiften, was zu problematischen Nebenwirkungen führt, da sich der Stoffwechsel und Replikationswege der Krebszellen und gesunden Körperzellen kaum unterscheiden. Anders die Immuntherapie, in der das körpereigene Immunsystems zur Abtötung von Tumorzellen genutzt wird (Borghaei et al. 2009; Pardoll 2012). Das Bestreben der Immuntherapie ist hierbei die Unterstützung des Immunsystems bei der Identifizierung entarteter Zellen. Darüber hinaus entwickeln maligne Tumore während ihrer Entstehung Mechanismen, die eine Wirkung des Immunsystems hemmen, wodurch die Tumorzellen ungehindert wachsen können (Borghaei et al. 2009). Diese immuntherapeutischen Ansätze basieren auf der Erkenntnis, dass das Immunsystem eine Schlüsselrolle bei der Überwachung und Auslöschung der Malignität spielt und dass Tumore Wege entwickelt haben, um dem Immunsystem zu entgehen. Die Überlegungen, dass es Tumoren möglich ist, dem Immunsystem zu entfliehen, haben 2004 Dunn et al. mit den bereits vorhandenen Erkenntnissen früherer Untersuchungen aufgearbeitet und zusammengefasst (Dunn et al. 2004). Sieben Jahre später wurde dies von Vesely et al. aufgegriffen und durch ein besseres Verständnis des Immunsystems und innovativere Techniken auf den neusten Stand der Wissenschaft gebracht (Vesely et al. 2011). Spätestens durch die Effektivität der Immuntherapie wird klar, dass das Immunsystem eine Schlüsselrolle in der Tumorüberwachung spielen muss und es Prinzipien gibt, die es den entarteten Zellen ermöglichen sich vor dieser Überwachung zu maskieren.

1.2.1 Tumormunologie und die drei Phasen des Immunoediting

Als Immunoediting wird die Antwort des Immunsystems auf eine neoplastische Veränderung im Gewebe verstanden. Es ist ein Prozess, der sich über einen längeren Zeitraum erstreckt und mit der Tumorentwicklung interagiert (Vesely et al. 2011). Aufgrund von Gen-Umwelt-Interaktionen ist Krebs eine multifaktorielle Erkrankung, welche sich durch eine

Vielzahl von Mutationen in den somatischen Zellen des Körpers auszeichnet. Nicht alle Mutationen führen zu einer Entartung des Gewebes. Das ist bedingt durch intrinsische und extrinsische Tumor-Unterdrückungsmechanismen des Immunsystems. Die intrinsischen Faktoren ermöglichen eine Reparatur, frühzeitige Alterung oder Apoptose der mutierten Zellen.

Der Schutz durch das extrinsische System wird nochmals in vier Stadien unterteilt (Vesely et al. 2011; Murphy und Weaver 2016).

Zuerst kommt es durch das angeborene Immunsystem zu einer Antigenpräsentierung der Tumorzellen. Es entsteht eine Entzündungsreaktion, welche Immunzellen einwandern lässt. Daraufhin wird die Ausschüttung und Produktion von Interferon (IFN)- γ induziert.

Im zweiten Schritt hemmt das IFN- γ die Angiogenese des Tumors und bewirkt eine Apoptose der mutierten Zellen. Die abgestorbenen Zellen können von naiven dendritischen Zellen phagozytiert werden, welche dadurch reifen und in die Lymphknoten auswandern können. Die Aktivierung dieser Antigen-präsentierenden Zellen triggert zudem die Expression von B7.1 und B7.2 auf selbigen. Im Lymphknoten präsentieren die nun reifen dendritischen Zellen über MHC-II-Moleküle den T-Zellen die Apoptosestücke als „Zielantigen“.

Sofern ein kostimulierendes Signal von B7.1 oder B7.2 und CD28 der T-Zellen vorliegt, werden die T-Zellen für die Tumorbekämpfung insbesondere die zytotoxischen T-Zellen (CD8⁺ T-Zellen) aktiviert. Zudem gelangen natürliche Killerzellen (NK-Zellen) und Makrophagen zur Tumorstelle. Dort kommt es zur weiteren Ausschüttung von IFN- γ und auch Interleukin-12. Natürliche Killerzellen können mit Hilfe von TRAIL (engl.: *tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand*) oder durch Perforin induziert Tumorzellen töten.

Im vierten Schritt kommt es zum sogenannten *homing*. Dabei wandern Tumor-spezifische CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen zur Tumorstelle aus und können über den FAS-Liganden oder Perforine und Granzyme Tumorzellen zerstören. Auch hierzu bedarf es wieder eines kostimulierenden Signals. In malignen Tumoren ist aber häufig ein ko-inhibierendes Signal überexprimiert und unterdrückt die immunologische Zerstörung der Krebszellen.

Dies ist der gleiche Mechanismus, der durch das Immunsystem in anderen pathogenen Prozessen wie Virusinfektionen durchgeführt wird (Murphy und Weaver 2016).

Dieses Stadium der extrinsischen und intrinsischen Überwachung im Zusammenhang mit entarteten Zellen wird nach Dunn et. all auch als *Elimination* beschrieben und ist das erste der drei „E's“ im Prozess des Immunoeditings (Dunn et al. 2004).

Das zweite „E“ steht für *Equilibrium* und symbolisiert das Gleichgewicht zwischen mutierten Zellen und der Immunsystemüberwachung. Diese Phase kann über mehrere Jahre hinweg aufrechterhalten werden. Aufgrund von neuen Tumormutationen kommt es dabei zu einer genetischen Instabilität und einer geringeren Immunogenität des Wirtes.

Die letzte Phase des Immunoeditings ist die *Escape*-Phase. Wie der Name schon sagt, ist es den mutierten Zellen in diesem Stadium möglich, der Immunsystemüberwachung zu entkommen (Dunn et al. 2004; Vesely et al. 2011). Mehrere Ansatzpunkte können eine Tumorexpanansion und eine zum ersten Mal auch klinische sichtbare Malignität bewirken. Nach Hanahan und Weinberg gibt es sogenannte *Hallmarks of Cancer*, die dem Tumor die „Flucht“ vor dem Immunsystem und damit ein unkontrolliertes Wachstum ermöglichen (Hanahan und Weinberg 2011).

Zu diesen gehören:

- Anhaltende Signale zur Proliferation
- Ausweichen von Wachstumsunterdrückern
- Aktivierung zur Invasion und Metastasierung
- Möglichkeit der replikativen Unsterblichkeit
- Induktion von Angiogenese
- Apoptoseresistenz
- Verhinderung der immunologischen Zerstörung
- tumorfördernde Entzündungsreaktion
- Genominstabilität und Mutation
- Deregulation von zellulärer Energetik

1.2.2 Immunsystem-Aktivierung und Checkpoint-Inhibition

Im Fokus der Immuntherapie ist nun das Tumorkennzeichen die „Verhinderung der immunologischen Zerstörung“. Wie die Eliminationsphase des Immunoeditings andeutet, werden zahlreiche Mechanismen benötigt, um das Immunsystem effektiv gegen die Tumorzellen zu richten. In der Immuntherapie werden zwei wesentliche Schritte der Immunsystemaktivierung beeinflusst: zum einen die Tumorzellerkennung und zum anderen die Präsentation von Tumorantigenen und die damit einhergehende T-Zellaktivierung. Unter normalen physiologischen Bedingungen sind Checkpoints dafür zuständig, den Selbstschutz vor dem eigenen Immunsystem aufrecht zu erhalten (Murphy und Weaver 2016). Dies passiert im Rahmen der Prävention von Autoimmunerkrankungen oder der Verhinderung einer Abstoßungsreaktion des Fetus während einer Schwangerschaft (Pardoll 2012; Tian et al. 2016). Bei einer Infektion durch pathogene Erreger wird außerdem das umliegende Gewebe durch Aktivierung von Checkpoints geschützt und eine dauerhafte Immunantwort wird limitiert (Pardoll 2012). Dieser Mechanismus der Eindämmung einer Immunreaktion kann von Tumorzellen kopiert werden. Tumorzellen sind in der Lage die gleichen Checkpoint-Proteine wie antigenpräsentierende Zellen auf ihrer Zelloberfläche zu exprimieren, um dann ebenfalls an T-Zellen zu binden (Mellman et al. 2011).

Die onkologische Immuntherapie macht sich die Inhibition oder Aktivierung von Checkpoints zu Nutze, um die Immunantwort zu stimulieren (siehe Abbildung 4). Folglich gibt es

zwei Möglichkeiten, die Antigen-spezifische T-Zell-Reaktion zu beeinflussen: die Aktivierung von ko-stimulierenden Rezeptoren oder die Antagonisierung von inhibierenden Signalen. Beide Möglichkeiten resultieren in einer Verstärkung der T-Zell-Antwort. Daraus resultiert, dass die Tumorzellen für das Immunsystem sichtbar werden und sich dieses verstärkt gegen die mutierten Zellen richten kann.

Zwei Checkpoints und deren Signalwege sind nach heutigem Stand der Forschung sehr gut untersucht. Zum einen das sogenannte *cytotoxic T-lymphocyte antigen 4* (CTLA-4) und der *programmed death receptor 1* (PD-1). Die CTLA-4-Regulation findet vor allem in den lymphatischen Organen statt. Dort beeinflusst sie die frühe T-Zell Aktivität. Nachdem T-Zellen durch antigenpräsentierende Zellen aktiviert wurden, wird die CTLA-4-Expression auf den T-Zellen erhöht (Pardoll 2012). CTLA-4 konkurriert mit CD28 mit einer höheren Affinität zu B7.1 und B7.2 um die ko-stimulierende Bindung an der antigenpräsentierenden Zelle. Als Folge kommt es zu einem negativen Signal an der T-Zelle, welches eine Dämpfung der weiteren T-Zell-Funktion bewirkt (Fong und Small 2008).

Die hemmende Wirkung auf das Immunsystem durch PD-1 spielt sich in der Peripherie ab. Da der PD-1-Checkpoint die Zielstruktur der Therapie in dieser klinischen Studie ist, wird dessen Signalweg im folgenden Absatz genauer beschrieben.

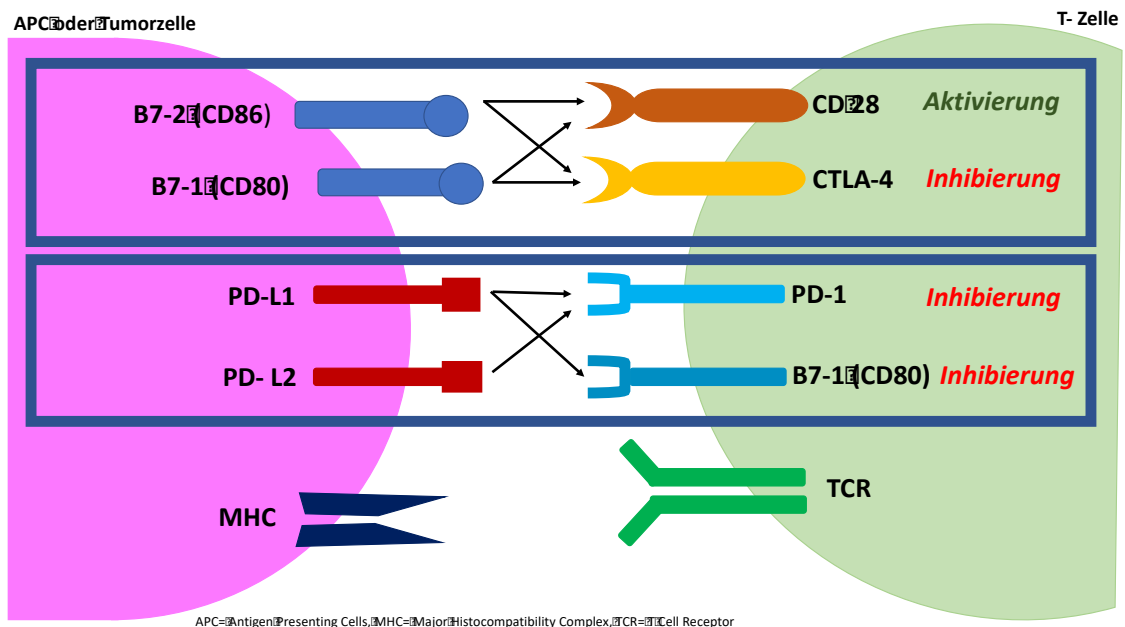


Abbildung 4: Aktivierung und Inhibition von Checkpoints zur Stimulation des Immunsystems

1.2.3 PD-1-Signalweg und der therapeutische Ansatz bei der Checkpoint-Inhibition

Ebenso wie bei CTLA-4 kommt es bei PD-1 mit der Bindung seines Liganden zu einer Dämpfung der Immunantwort. Diese Liganden können sich auf antigenpräsentierenden Zellen oder auf Tumorzellen befinden. Für die Immuntherapie bedeutet das, dass diese Checkpoints oder ihre Liganden inhibiert werden müssen, um eine verstärkte Immunantwort zu erhalten (Fife und Bluestone 2008; He et al. 2015).

Wie bereits erwähnt, spielt sich der PD-1-Signalweg im peripheren Gewebe zum Zeitpunkt einer entzündlichen Infektion ab. Seine Hauptaufgabe ist es, Autoimmunreaktionen zu verhindern, sodass es verständlich ist, dass vor allem regulatorische T-Zellen, welche für die Kontrolle der Selbsttoleranz zuständig sind, PD-1 auf ihrer Zelloberfläche exprimieren (Ishida et al. 1992; Keir et al. 2006; Okazaki und Honjo 2007). PD-1 wird, anders als CTLA-4, noch auf anderen aktiven Nicht-T-Lymphozyten, nämlich auf B-Zellen und NK-Zellen, exprimiert. Primär dient die PD-1-Blockade einer Verbesserung der T-Zell Aktivität im Gewebe, möglicherweise beeinflusst sie aber auch die NK-Zellen-Dynamik in Tumoren und indirekt oder direkt über PD1⁺ B-Zellen die Antikörperproduktion (Velu et al. 2009; Pardoll 2012). Darüber hinaus kann es zur sogenannten Anergie unter antigenspezifischen T-Zellen kommen. Die Anergie ist eine Form der T- oder B-Zell-Inaktivierung, bei der die Zelle am Leben bleibt, aber nicht aktiviert werden kann, um eine Immunantwort auszuführen. Dieses Phänomen kann auftreten, sobald die T-Zellen einer dauerhaften Antigen-Exposition, wie bei chronischer Virusinfektion und Krebs und damit einhergehender hoher PD-1-Expression, ausgesetzt sind. Es ist ein reversibler Zustand, der durch PD-1-Signalweg-Blockade teilweise aufgehoben werden kann (Aubert et al. 2011; Pardoll 2012).

Es gibt zwei bisher bekannte PD-1-Liganden: zum einen den PD-Ligand-1 (PD-L1, auch als B7-H1 und CD274 bezeichnet) und zum anderen den PD-L2 (auch bezeichnet als B7-DC und CD273) (Freeman et al. 2000; Francisco et al. 2009). Es wurde eine weitere Interaktion zwischen PD-L1 und CD80, ebenfalls auf T-Zellen exprimiert, nachgewiesen. Diese Interaktion führt ebenfalls zu einer Hemmung der T-Zellaktivierung. Der genaue Grund für diese Verbindung ist noch nicht abschließend geklärt und bedarf weiterer Investigation (Butte et al. 2007). Es wurde aber bereits eine vielversprechende Phase-III-Studie mit Durvalumab als Erstlinienmedikament für NSCLC durchgeführt. Bei Durvalumab handelt es sich um einen monoklonalen IgG1-Antikörper, welcher PD-L1 bindet, um die Interaktion mit PD-1 und CD80 zu hemmen (Rizvi et al. 2015).

PD-1 kann auf den meisten tumor-infiltrierenden Lymphozyten (TILs) von Tumoren verschiedener Gewebsarten exprimiert werden. In der Regulation der Expression von PD-1 und seinen Liganden auf Tumorzellen spielt die konstitutive und adaptive Immunresistenz eine große Rolle (Ahmadzadeh et al. 2009; Sfanos et al. 2009). Zunächst wurde erwiesen, dass das Melanom, Ovarial- und das Lungenkarzinom ein sehr hohes Expressionsniveau bezüglich

PD-L1 aufweisen. Nach weiteren Untersuchungen wurde festgestellt, dass Tumorzellen in der Lage sind, die PD-L1-Expression zu regulieren (Lau et al. 2017).

Es gibt zwei mögliche Mechanismen für die Regulation von PD-L1 durch Tumorzellen. Sie werden auch angeborene und adaptive Immunresistenz genannt (Taube et al. 2012; Berry und Taube 2015).

Die angeborene Immunresistenz zeichnet sich dadurch aus, dass einige Tumoren die konstitutive onkogene Signalisierung für die PD-L1-Expression auf allen Tumorzellen unabhängig von entzündlichen Signalen in der Tumor-Mikroumgebung hochregulieren können (Pardoll 2012). Ebenso kann die PD-L1-Expression durch die Aktivierung des PI3K/AKT-Signalwegs (engl.: *phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase b-pathway*) und durch die STAT3-Proteine (engl.: *signal transducers and activators of transcription*) angetrieben werden (Parsa et al. 2007; Marzec et al. 2008). Eben genannter Signalweg beeinflusst das Zellwachstum und den Zellstoffwechsel (Cellsignal.com 2017).

Die adaptive Immunresistenz beschreibt das Phänomen, dass PD-1 und auch PD-L1 nicht dauerhaft auf Tumorzellen exprimiert werden, sondern erst als Reaktion auf ein entzündliches Immunvorgehen in der Tumorumgebung (Pardoll 2012).

Es gibt mittlerweile mehrere Antikörper, die den PD-1/PD-L1-Signalweg hemmen können und zur Therapie von malignen Neoplasien zum Einsatz kommen. Genauer gesagt handelt es sich hierbei um Anti-PD-L1 Antikörper wie Durvalumab, Atezolizumab, Pembrolizumab und Nivolumab.

In dieser Arbeit wurden alle Patienten ausschließlich mit Nivolumab als Zweit- oder Mehrlinienmedikament behandelt. Dies garantierte die genauere Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Nivolumab ist ein monoklonaler Antikörper der IgG4-Familie (Wang et al. 2014; Davies und Sutton 2015). Die *US Food and Drug Administration* hat Nivolumab Ende des Jahres 2014 für das fortgeschrittene Melanom und ein Jahr später für Patienten mit fortgeschrittenen NSCLC nach Therapieversagen von Standard Platin-basierter Chemotherapie zugelassen (Drugs.com 2017). Unter den gleichen Bedingungen ist Nivolumab als Zweitlinienmedikament seit dem 20. Juli 2015 in Europa für das Plattenepithelkarzinom zugelassen und seit dem 6. April 2016 für alle weiteren NSCLC (Oncotrends.de 2017).

Eine Vielzahl von Studien, die PD-L1-positive Patienten mit Chemotherapie versus Nivolumab versus Nivolumab + Ipilimumab und PD-L1-negative Patienten mit Chemotherapie versus Nivolumab + Ipilimumab testet, wird aktuell durchgeführt (Paz-Ares et al. 2017).

1.2.4 Phänomen des Pseudoprogresses

Zwar wird die Immuntherapie in den Medien als „Stille Revolution“ in der Krebsforschung betitelt, dennoch kommen mit neuen Erkenntnissen auch neue Fragen auf. Zum ersten Mal in der Krebstherapie ist nicht der Tumor das Zielobjekt der Medikation, sondern das eigene Immunsystem wird beeinflusst, um den bösartigen Tumor zu bekämpfen. Dies bedeutet,

dass neue Nebenwirkungen auftreten. Müdigkeit und Hautausschlag treten am häufigsten als negativer Nebeneffekt auf, ebenso zu erwarten sind immunsystembezogene Nebenwirkungen wie zum Beispiel Colitis, Hepatitis oder Nephritis (Naidoo et al. 2015; Abdel-Wahab et al. 2016; Nishino 2016). Besonders zu erwähnen sind die Pneumonitis und die Myokarditis, welche im Vergleich zu einer Standardtherapie mit Zytostatika häufiger auftreten. Große Metaanalysen wie die von Hu et al. 2017 oder Peng et al. 2017 zeigen, dass diese schweren Nebenwirkungen über Grad III trotzdem nur bei unter 10% der Patienten auftreten. Insgesamt sind diese unerwünschten Arzneimittelwirkungen gut mit einer Corticosteroid-Therapie zu kontrollieren, sodass es selten zu schwerwiegenden oder tödlichen Komplikationen kommt (Borghaei et al. 2015; Brahmer et al. 2015; Herbst et al. 2016; Rittmeyer et al. 2017). Im Vergleich dazu beklagen die Patienten unter Standard-Chemotherapie Nebenwirkungen wie Obstipation, Diarrhoe, Haarverlust, Müdigkeit, Erbrechen und Entzündungen im Mundbereich. Diese Nebeneffekte sind in bis zu einem Drittel der Fälle im Schweregrad III oder IV einzuordnen. Ebenso ist die Inzidenz auf bis zu 80% erhöht, dass mindestens eine Nebenwirkung bei einer Chemotherapie auftritt (Fehrenbacher et al. 2016; Pearce et al. 2017). Einen direkten Vergleich zwischen Nivolumab als Erstlinienmedikament und einer Standard-Chemotherapie bietet die Studie von Carbone et al.; 18% der Patienten, welche mit Nivolumab behandelt worden sind, hatten Nebenwirkungen Grad I bis IV, im Gegensatz dazu waren es 51% der Patienten mit Grad III und IV Nebenwirkungen, welche die Chemotherapie erhielten (Carbone et al. 2017).

Ein weiteres neues Charakteristikum der Immuntherapie stellt das Phänomen des Pseudoprogresses dar. Aufgrund der Stimulation des Immunsystems zur Bekämpfung des Tumors kommt es zu einer vermehrten Invasion und Anlagerung von Immunzellen in den Tumor (Carter et al. 2016). Als Folge kommt es zu Ödem- und Nekrosenbildung (Chiou und Burotto 2015). Dem scheinbaren Anschwellen des Tumors folgt eine Regression als Antwort auf ein positives Therapieansprechen (siehe Abbildung 5). Bislang konnte dieser Pseudoprogress nur durch längere Therapiebeobachtung und bildgebende Verfahren erkannt werden (siehe Abbildung 6 und 7). Das bedeutet, dass Patienten mit einem pseudoprogressiven Tumorwachstum keine bisher besonders auffälligen klinischen oder histologischen Muster aufwiesen bzw. diese nicht im Besonderen untersucht wurden.

Ein Weiterführen der Immuntherapie bei im radiologischen Bild scheinbar progressivem Verhalten des Tumors, lag bisher im Ermessen des Arztes. Diese Handlung stütze sich meist auf den guten oder sich sogar bessernden Allgemeinzustand des Patienten (Rizvi et al. 2015; Ferris et al. 2016).

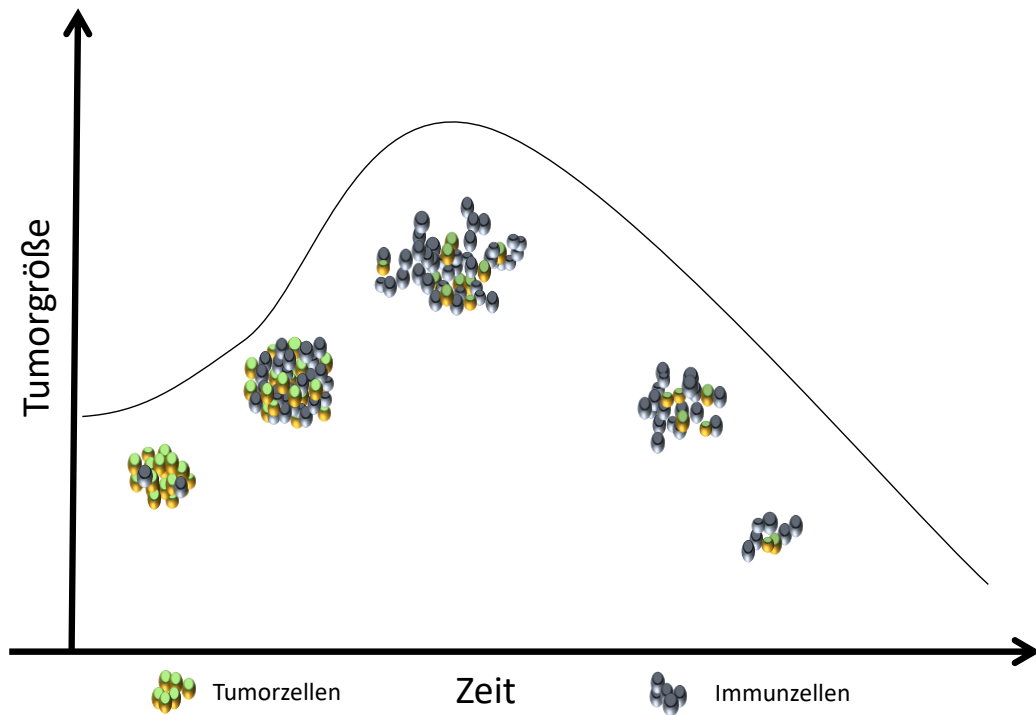


Abbildung 5: Zunahme von Immunzellen am Tumor als Erklärung für eine sogenannte Pseudoprogression

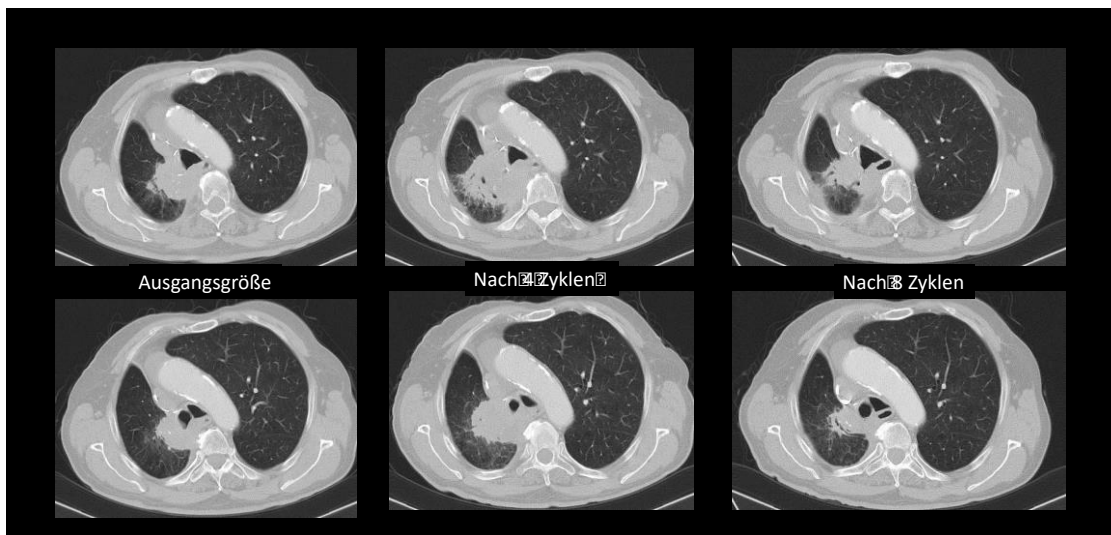


Abbildung 6: Pseudoprogress unter Nivolumab-Therapie (zur Verfügung gestellt von der Lungenfachklinik Immenhausen)

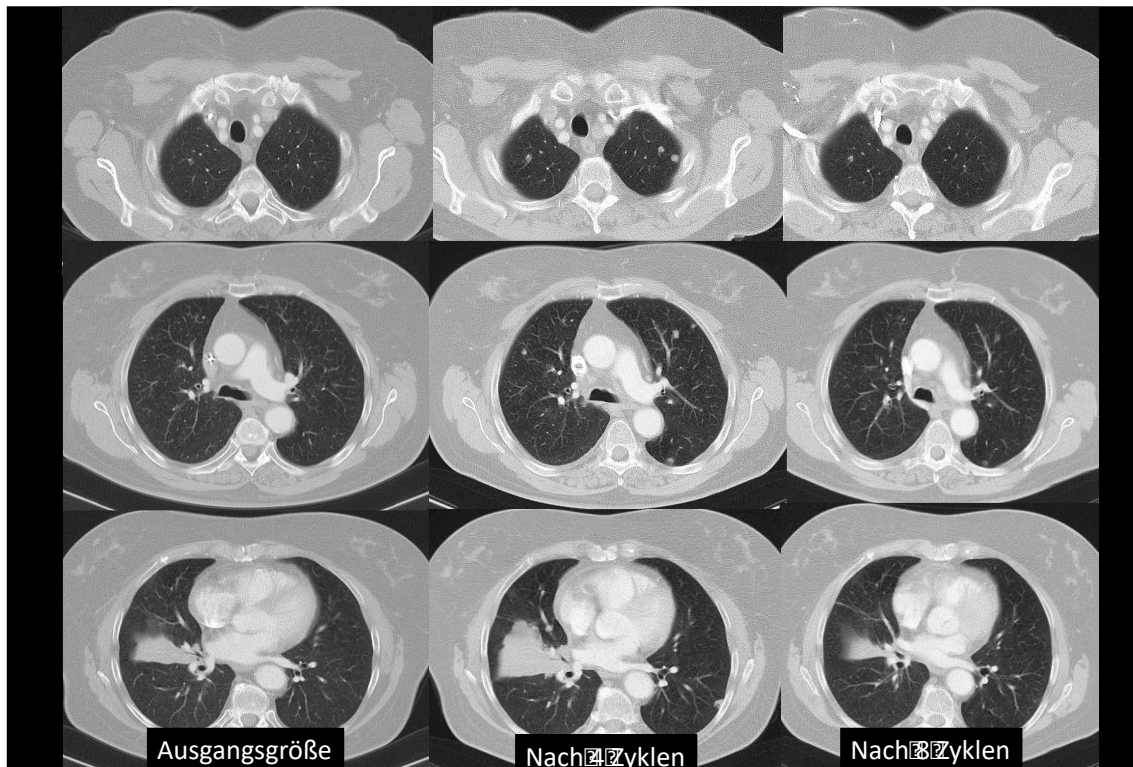


Abbildung 7: Pseudoprogression bei einer Patientin mit Adenokarzinom. Nach vier Zyklen mit Nivolumab ist der zentrale Tumor vergrößert mit zusätzlichen Knoten in beiden Lungen. Nach acht Zyklen findet ein objektives Ansprechen gemäß den RECIST 1.1-Kriterien statt. (zur Verfügung gestellt von der Lungenfachklinik Immenhausen)

Dieses neue Verhalten der Tumorgrößenveränderung führte dazu, dass man sich mit neuen Bemessungsmethoden für radiologische Aufnahmen auseinandersetzte. Im Jahr 2000 postulierten Therasse et al. neue Kriterien, die sogenannten RECIST-Kriterien (engl.: *response evaluation criteria in solid tumors*) zur einheitlichen Tumorbemessung. Das zentrale Bestreben lag darin, dass alle Arbeitsgruppen im Bereich der Onkologie ein kongruentes Konzept zur Bemessung des Tumors verfolgen sollen. In diesen wurde festgelegt, dass nicht die Summe aller Läsionen, sondern die Summe der Durchmesser aller Läsionen als Referenz für das Gesamtansprechen herangezogen wird. Aufbauend auf diesen RECIST-Kriterien veröffentlichten 2009 Eisenhauer et al. neue RECIST 1.1-Kriterien, welche bis dato als Standard Bemessungsleitlinien für solide Tumore fungieren (Eisenhauer et al. 2009). Diese Kriterien werden auch für solide Tumoren unter Immuntherapiebehandlung herangezogen. Im gleichen Jahr veröffentlichte Wolchok et al. die irRECIST-Kriterien, welche die Problematik des Pseudoprogresses aufnahmen (Wolchok et al. 2009). Diese neuen Empfehlungen zur Beurteilung des Therapieansprechens unter Immuntherapie wurden aber nicht konsequent angewandt, nicht nur weil sich dessen Studienergebnisse auf der Untersuchung von Melanomen unter Ipilimumab beschränkten, sondern auch, weil zahlreiche Kritiken bezüglich der klaren Definition und der allgemeinen Reproduzierbarkeit der verwendeten Ergebnisse aufkamen (Nishino et al. 2014). Im März 2017 wurde ein neues Konzept vorgestellt, welches als

Grundlage eben genannte Kriterien beinhaltet und diese mit den neusten Erfahrungen mit der Immuntherapie vereint (Seymour et al. 2017). Bevor diese, nun iRECIST Kriterien genannten, Bemessungsnormen etabliert werden, müssen sie aber noch weitere Schritte der Validierung durchlaufen (Nakatani et al. 2017).

Trotz der wiederholten Infragestellung der RECIST 1.1-Kriterien bleiben das bildgebende Verfahren und die direkte Messung des Tumors die Grundlage zur Beurteilung der Wirksamkeit der Checkpoint-Inhibitortherapie. Dies stellt ein sehr einseitiges und im klinischen Alltag fehleranfälliges Instrument dar, sodass es wesentlich ist neue Mittel zu finden, die das Ansprechmuster der Neoplasie unter Immuntherapie früh erfassen. Dies leitet über zu der Zielsetzung dieser Arbeit (Villaruz und Socinski 2013).

1.3 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Bei Behandlung von Patienten mit Checkpoint-Inhibitoren kann es zu einem atypischen Ansprechen kommen, bei dem sich die radiologisch messbaren Tumorkläsionen zunächst vergrößern. Ursache hierfür ist vermutlich eine entzündliche Infiltration des Tumors. Erst im weiteren Verlauf verkleinern sich die Tumorherde. Dieses Phänomen wird Pseudoprogression genannt. Bisher lag es im Ermessen des behandelnden Arztes, ob die Behandlung mit Checkpoint-Inhibitoren fortgesetzt wird, wenn sich radiologisch ein Progress zeigt. Die Entscheidung, die Therapie fortzuführen, wurde dann unter Betrachtung des Allgemeinzustandes und des (Nicht-) Auftretens von Nebenwirkungen getroffen (Chiou und Burotto 2015; Kerr et al. 2015; Rizvi et al. 2015; Kolla und Patel 2016).

Frühzeitig eine Pseudoprogression von einer wirklich progredienten Erkrankung unterscheiden zu können, würde helfen die Therapie rechtzeitig umzustellen, falls ein Patient nicht von Checkpoint-Inhibitoren profitiert. Umgekehrt könnten Patienten weiter behandelt werden, die erst im späteren Verlauf radiologisch ansprechen und ansonsten zu früh auf eine Chemotherapie mit erheblich stärkeren Nebenwirkungen umgesetzt würden.

Das Ziel der Arbeit war es, retrospektiv verschiedene Basischarakteristika, Routineuntersuchungen, klinischer Beschwerden und laborchemische Befunde von Patienten unter Nivolumab-Therapie, zu vergleichen, ob diese mit dem radiologischen Ansprechen zu korrelieren. Insbesondere sollten Merkmale gefunden werden, die schon im frühen Stadium der Therapie eine Differenzierung zwischen Pseudoprogress und wirklichem Erkrankungsprogress ermöglichen.

Folgende Fragestellung galt es zu klären:

Ist es möglich, anhand von Routineparametern oder deren Kombination in einem „Score“, in einem frühen Stadium der Checkpoint-Inhibitortherapie eine Aussage darüber zu treffen ob ein Patient von dieser profitiert?

Um diese Frage zu beantworten, wurden Daten von 68 konsekutiven Patienten mit einem Bronchialkarzinom im fortgeschrittenen Stadium, welche in der Lungenfachklinik Immenhausen mit Nivolumab behandelt worden sind, untersucht.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Alle retrospektiv ausgewerteten Daten stammen von 68 Patienten, die im Zeitraum vom 01. April 2015 bis zum 30. September 2016 mit der Checkpoint-Inhibitortherapie in der Lungenfachklinik Immenhausen (Ärztliche Leitung Prof. Dr. med. S. Andreas) begonnen haben. Dabei gilt als Einschlusskriterium, dass Nivolumab nach Scheitern vorangegangener platinbasierter Chemotherapie verabreicht wurde. Dabei wurde bei 13 Patienten - davon drei mit Plattenepithelkarzinom und zehn mit einem Adenokarzinom - vor der offiziellen Zulassung in Deutschland mit der Nivolumab-Therapie begonnen. Dies war nur dadurch möglich, dass aufgrund der positiven Ergebnisse und der vorausgehenden Zulassung in den USA die jeweilige Krankenkasse des jeweiligen Patienten eine Kostenübernahme des Medikaments garantierte.

Der Therapieablauf wurde für alle 68 Patienten identisch beibehalten, sodass aussagekräftige Vergleiche der einzelnen Patientenparameter möglich waren. Nivolumab wurde mit 3 mg/kg als intravenöse Infusion alle zwei Wochen, entspricht einem Zyklus, appliziert. Die Therapie wurde fortgesetzt solange der Patient von Nivolumab – im Ermessen des behandelnden Arztes – profitiert oder keine unerwünschten Nebenwirkungen auftraten. Die Ergebnisse der Blutproben und klinische Symptome wie Myalgie, Fieber, Dyspnoe, Husten und Schmerzen wurden nach klinischen Routineverfahren registriert. Die meisten Patienten wurden ambulant behandelt, sodass die Mehrheit der Parameter bei Gabe von Nivolumab kontrolliert und untersucht wurden. Das Tumorwachstum wurde zudem nach RECIST 1.1 mittels eines computertomographischen (CT) Bildes nach jedem 4. Zyklus beurteilt.

2.2 Datenerhebung

Die anonymisierte Analyse der gesammelten Parameter erfolgte mittels des Tabellenkalkulationsprogramms Microsoft[®] Excel 2016 und 2017. Zur retrospektiven Datenerhebung dienten die Informationen aus MEDOS und die schriftlichen Dokumentationen in den jeweiligen Patientenakten aus der Lungenfachklinik Immenhausen. Nachdem festgelegt worden ist, auf welche Befunde der Fokus für die Analysen gelegt werden soll, wurden die Daten aus allen Dokumenten, die über den Patienten vorhanden waren, herangezogen. Dazu zählten unter anderem Arztbriefe wie z.B. Entlassungsberichte, Verlegungsberichte oder Dokumentationen aus Tumorkonferenzen. Insbesondere hier zu nennen sind auch die histologischen und pathologischen Berichte. Letztere stammen aus den Untersuchungen von Herrn Prof. Dr. med. H.-U. Schildhaus, Universitätsmedizin

Göttingen, und Prof. Dr. med. J. Rüschoff, Pathologie Nordhessen. Vor Beginn der Erhebung musste genau evaluiert werden, welche Parameter entscheidend für das Therapieansprechen sein könnten. Die Auswahl setzte sich zusammen aus Informationen vorangegangener Studienergebnisse, die verschiedene Variablen als mögliche Hinweise für die Reflektion des Therapieansprechens vermuten, und Basisdaten, die im Allgemeinen im Zusammenhang mit onkologischen Patienten von Bedeutung sind (Carter et al. 2016; Weide et al. 2016; Yamaguchi 2016). Folgende Daten wurden in die Excel-Matrix aufgenommen (siehe Tabelle 4):

Tabelle 4: Variablen für die Datenerhebung

Basisdaten:	
	Geschlecht
	Alter
	Therapiebeginn/Therapieende
	Therapielinie
	Histologie des Tumors
	Metastasen
	Stadieneinteilung bei Erstdiagnose und UICC
	Raucherstatus [nie/immer noch/aufgehört/aufgehört bei Diagnosestellung]
	Gewicht [kg]
Pathologie:	
	KRAS-Mutation
	EGFR-Mutation
	PD-L1-Status
	andere Mutationen
Klinische Symptome:	
	Myalgien
	Fieber
	Gelenkschmerzen
	Nebenwirkungen die Atemwege und die Lunge betreffend

	andere Nebenwirkungen
Blutwerte:	
	G/L [$10^3 \mu\text{l} / 10^3 \mu\text{l}$]
	LDH [U/L]
	CRP [mg/l]
CT-Bild Beurteilung:	
	Größenveränderung
	<i>blurred appearance</i> ¹
	<i>central brightening</i> ¹

Abkürzungen: G/L = Granulozyten/Lymphozyten; LDH = Lactatdehydrogenase; CRP = C-reaktives Protein; KRAS = *kirsten rat sarcoma virus*; EGFR = *epidermal growth factor receptor*; PD-L1 = *programmed death ligand 1*; ¹Pseudoprogress spezifische Phänomene; nähere Erläuterung im Diskussionsteil: 4.1. Beurteilung des Therapieansprechens nach RECIST 1.1-Kriterien

2.3 Datenanalyse

In eine Excel-Datenmatrix wurden alle Variablen für die 68 Patienten aufgenommen. Bis auf die Basisdaten und die Pathologie (siehe Tabelle 4: Variablen für die Datenerhebung) wurden die restlichen Werte und Besonderheiten entsprechend ihrem zweiwöchentlichen Zyklus ergänzt. Danach wurden die Werte der Lactatdehydrogenase (LDH), des C-reaktiven Proteins (CRP), des Granulozyten/Lymphozyten (G/L) -Verhältnisses, das Gewicht und die Tumorgroße abhängig von ihrem Ausgangswert in prozentuale Wertveränderungen umgerechnet. Dies ermöglichte eine grafische Darstellung in einzelne Verlaufsdiagrammen.

2.4 Pathologische Analysen

Der Leitlinien entsprechend wurden Analysen bezüglich möglicher Mutationen im KRAS (engl.: *kirsten rat sarcoma virus*) Protein und im EGF-Rezeptor durchgeführt.

PD-L1-Proteinexpression wurde in Vorbehandlungsbiopsien mit einem immunhistochemischen Assay unter Verwendung des Dako-Klons 28-8 ausgewertet. Die angefärbten Präparate wurden unabhängig von Prof. Dr. med. H.-U. Schildhaus, Universitätsmedizin Göttingen, und Prof. Dr. med. J. Rüschoff, Pathologie Nordhessen überprüft. PD-L1-Ergebnisse wurden als Prozentsatz der Tumorzellen (TPS-Tumoranteilscore) und der Fläche des Immuninfiltrates, die PD-L1 unabhängig vom Expressionsgrad exprimieren, angegeben.

2.5 Bewertung des Therapieansprechens nach den RECIST-Kriterien

Nach publizierten Empfehlungen und etablierter klinischer Praxis wurde zu Beginn der Therapie mit dem Checkpoint-Inhibitor und anschließend jeweils nach allen acht Wochen, das bedeutet nach jedem 4. Zyklus mit dem Medikament, ein CT der Lunge des Patienten angefertigt. Dabei wurde der Tumor und alle neuen Läsionen gemäß den RECIST 1.1-Kriterien nach Eisenhauser et al. bemessen und notiert (Eisenhauser et al. 2009). Dies erfolgte durch den behandelnden Arzt Dr. med A. Rittmeyer, Oberarzt der pneumologischen Onkologie der Lungenfachklinik Immenhausen. Die Tumorgöße wurde im längsten Durchmesser unidimensional berechnet. Den RECIST 1.1-Kriterien folgend wurden alle neuen Läsionen in die Größenbestimmung miteinbezogen.

Dabei ist zu beachten, dass die minimale Größe einer Läsion dann als messbar gilt, wenn:

- sie im CT-Bild mindestens 10 mm beträgt und die Dicke der CT-Schicht 5 mm nicht überschreitet
- mindestens 20 mm im Thoraxröntgenbild angezeigt sind
- eine 10 mm Läsion mittels eines Messschiebers durch klinische Untersuchung erfasst wird (Läsionen, die nicht genau mit einem Messschieber gemessen werden können, sollten als nicht messbar aufgezeichnet werden)

Nach Eisenhauser et al. 2009 gelten folgende Regeln für nicht messbare Läsionen:

„Alle anderen Läsionen, einschließlich kleiner Läsionen (längster Durchmesser <10 mm oder pathologische Lymphknoten mit ≥ 10 bis <15 mm kurze Achse) sowie wirklich nicht messbare Läsionen. Läsionen, die als wirklich nicht messbar eingestuft werden, sind: leptomeningeale Erkrankungen, Aszites, Pleura- oder Perikarderguss, entzündliche Brustkrankheit, lymphangitische Beteiligung von Haut oder Lunge, Bauchmassen/Bauchorganomegalie, die durch körperliche Untersuchung identifiziert wurden, die durch reproduzierbare bildgebende Verfahren nicht messbar ist.“

Um das Ansprechen zu beurteilen, ist es notwendig, die Gesamttumorlast als Ausgangswert zu Beginn einer onkologischen Therapie zu bemessen und dann als Vergleichswert für nachfolgende Messungen zu verwenden.

Folgendes Bemessungsschema (siehe Tabelle 5) mit entsprechenden Ansprechgruppen ist nach Eisenhauser et al. etabliert und wurde folglich auch für diese Studie angewandt:

Tabelle 5: Evaluation der Zielläsionen nach RECIST 1.1-Kriterien (Eisenhauer et al. 2009)

Ansprechgruppe	Definition
Complete Response (CR)	Es müssen alle Zielläsionen verschwunden sein. Alle pathologischen Lymphknoten müssen in ihrer kurzen Achse um <10 mm verkleinert sein.
Partial Response (PR)	Es ist eine Verkleinerung des Tumors um mindestens 30 % in der Summe seines Durchmessers zu erkennen. Als Referenzwert gilt hier die Baseline des Gesamtdurchmessers.
Progressive Disease (PD)	Der Tumor ist um mindestens 20 % in der Summe aller Zielläsionen vergrößert. Als Referenzwert wird die kleinste Summe der Studie herangezogen.
Stable Disease (SD)	Die Tumorveränderung kann weder mit PD noch mit PR beurteilt werden.

Es gibt auch Nicht-Zielläsionen, die im CT-Bild messbar sein können. Die Messung fließt dabei aber nur qualitativ in die Gesamtbeurteilung ein.

Nach den RECIST 1.1-Kriterien wird eine Re-Evaluation mittels eines bildgebenden Verfahrens alle 6-8 Wochen empfohlen (Eisenhauer et al. 2009). Diese Zeitspanne soll abhängig von der jeweiligen Therapie individuell bestimmt werden, sodass die Patienten in der Lungenfachklinik Immenhausen, die mit Nivolumab behandelt wurden, alle acht Wochen eine CT-Aufnahme bekommen haben.

Wie eingangs bereits erläutert, ist die Bestimmung der Tumorgröße mit Hilfe der RECIST 1.1-Kriterien das einzig konventionelle Verfahren, um das Therapieansprechen der Immuntherapie zu beurteilen. Als Konsequenz wurde die prozentuale Tumorgrößenveränderung im Vergleich zum Ausgangswert als Grundlage für die Einteilung der Patienten in verschiedene Ansprechgruppen in dieser Studie genutzt. In weiterer Folge war es möglich, innerhalb der Gruppen sich wiederholende Parameter zu finden und in Bezug zum Ansprechen der Neoplasie zu setzen. Ebenso war es dadurch möglich innerhalb der verschiedenen Gruppen signifikante Unterschiede festzustellen.

2.6 Berechnung des Scores

Die erste Überlegung war, dass die drei Blutparameter LDH, G/L-Index und CRP mit in die Score-Berechnung einfließen sollten, da anhand der Verlaufsgrafiken bereits Unterschiede zwischen den Ansprechgruppen ermittelt werden konnten. Danach wurde festgelegt, dass

Punkte zwischen 0 und 2 für die Score-Ermittlung vergeben werden können, um eine möglichst simple und somit alltagstaugliche Score-Berechnung zu erhalten. Durch zunächst optische Evaluation der Grafiken wurden die drei Bereiche für 0, 1 und 2 Punkte mit prozentualen Veränderungen vom Ausgangswert des jeweiligen Parameters begrenzt. Die CRP-Wertveränderungen erwiesen sich als teilweise nicht sehr zuverlässig, da zum Beispiel wenig schwerwiegende Erkältungen eine drastische CRP-Wertschwankung für einen kurzen Zeitraum bedeuteten. Dies führte zu der weiteren Überlegung, die Parameter mit einer Gewichtung bezüglich ihrer Genauigkeit zu multiplizieren. Im Fokus der statistischen Analysen stand nun die Überprüfung, ob eben genanntes Konzept auch signifikante Unterschiede zwischen den Ansprechgruppen widerspiegelt und ob sich der Score auch als prädiktiver Score in einem frühen Therapiestadium eignet.

2.7 Statistische Auswertung

Zunächst wurde bei allen klinischen Parametern von Tag 15 bis 99 eine Interquartils-Berechnung für die jeweiligen Ansprechgruppen durchgeführt, diese ließ eine erste Einschätzung in Hinblick auf den Zusammenhang zwischen Ansprechgruppen und Parametern zu. Um weitere mögliche Beziehungen zwischen den Ansprechgruppe und den ausgewählten Parametern zu erhalten, wurden Varianzanalysen (ANOVA (engl.: *analysis of variance*) und Chi-Quadrat-Test) als zwei-seitige Tests für alle deskriptiven Patientendaten durchgeführt.

Zur Bestimmung der Score-Qualität wurde der Kruskal-Wallis ANOVA-Test mit anschließendem Holm-Bonferroni-adjustierten Mann-U-Whitney Test berechnet. Das Signifikanzniveau wurde für alle statistischen Tests auf $\alpha = 5\%$ festgelegt und mit dem SPSS Statistics, Version 24.0 herausgegeben 2016, IBM Corp., Armonk, NY durchgeführt. Für die Beurteilung der Validität des Scores wurde zusätzlich die Sensitivität und Spezifität mit dazugehörigen positiven und negativen Prädiktionswerten berechnet. Zuerst wurde ein Cutoff-Score-Wert gewählt, welcher sich aufgrund oben genannter Berechnungen und darauffolgender grafischer Darstellungen als passend erwies. Hierbei ist die Sensitivität definiert als die Fähigkeit alle Patienten zu erkennen, die von der Therapie mit Nivolumab profitieren. Eine hohe Spezifität drückt sich dadurch aus, dass der Score die Patienten, die nicht von der Therapie profitieren, richtig bestimmt.

Unter Assistenz von studentischen Hilfskräften im Rahmen des betreuten statistischen Arbeitens im Institut für Medizinische Statistik der Universitätsmedizin Göttingen wurde mit dem Programm Statistiksoftware R (Version 3.1.2, www.r-project.org) eine *receiver-operating-characteristic*-Kurve (ROC-Kurve) mit dem Cutoff-Punkt über dem maximalen Youden-Index angefertigt. Der Youden-Index fungiert hierbei als Gütekriterium für den Score und ermöglicht eine genaue Definition für den Cutoff-Score-Wert mit optimaler Sensitivität und Spezifität.

Der Youden-Index berechnet sich wie folgt aus:

$$\text{Youden-Index} = \text{Sensitivität} + \text{Spezifität} - 1$$

Die ROC-Kurve dient dabei der Visualisierung, um den bestmöglichen Cutoff-Punkt für die Score-Werte, abhängig von den Ansprechgruppen, zu finden.

Diese Ergebnisse wurden von Herrn Dr. Andreas Leha, Leiter der Zentrale Serviceeinheit Medizinische Biometrie und Statistische Bioinformatik vom Institut für Medizinische Statistik der Universitätsmedizin Göttingen, nochmals überprüft und überarbeitet, sodass folgende Schritte von diesem durchgeführt worden sind.

Für jede Ansprechgruppe wurden die klinischen Variablen separat durch den Mittelwert \pm Standardabweichung kontinuierlich skaliert, oder durch die absoluten und relativen Frequenzen nominell skaliert, zusammengefasst. Jede klinische Variable wurde zwischen den Ansprechgruppen durch den entsprechenden Test verglichen (ANOVA, Fisher's exakter Test oder Likelihood Ratio). Für jeden potentiellen Biomarker wurde zu jedem Zeitpunkt die Änderung vom Ausgangswert in Bezug auf die Basislinie berechnet. Die Entwicklung im Laufe der Zeit wurde mit Hilfe von Median-Box-Plots, die über Linienplots überlagert wurden, visualisiert.

Um einen validen Test unabhängig von den tatsächlichen Tagesdaten zu erhalten, wurden die Werte der folgenden vier Tage: 57, 71, 85, 99 in die Analyse aufgenommen und spiegeln die statistischen Trainingsdaten wider. Zusätzlich sind die Ausgangswerte am ersten Therapietag von CRP, LDH, G/L-Index und die Tumorgröße sowie die Tumorgröße nach acht Wochen Teil der Trainingsdaten.

Der trainierte Prädiktor besteht aus einer zweistufigen hierarchisch strukturierten ROC-Analyse für jede Variable der Trainingsdaten. In der ersten Stufe der ROC-Analyse wurde die Antwortgruppe RPD von den anderen getrennt. In der zweiten Stufe wurde die Antwortgruppe OR von den übrigen Gruppen SD und PsPr getrennt. In beiden ROC-Analysen wurden die dem Youden-Index entsprechenden Cutoff-Werte verwendet. Für jede Variable erhalten Proben, die als RPD klassifiziert werden, null Punkte, Proben, die als SD oder PsPr klassifiziert werden, einen Punkt und Proben, die als OR klassifiziert werden, zwei Punkte. Diese Punkte werden gewichtet und zusammengefasst, um die Gesamtpunktzahl zu erhalten.

Um einen robusten und zuverlässigen Score-Test zu erhalten, der in der täglichen klinischen Routine verwendet werden kann, wurden mehrere Kombinationen von Parametern ausgetestet. Das Ziel war hierbei die resultierende Punktzahl auf eine maximale Sensitivität zu optimieren, um diejenigen Patienten zu erkennen, die von einer Therapie mit Nivolumab profitieren. Zunächst wurden die Score-Werte für die Tage 43 und 99 berechnet. An beiden Tagen wurden die Punkte zwischen RPD und den anderen durch paarweise Mann-Whitney-U-Tests verglichen. Die Klassifikation der RPD gegenüber der restlichen Ansprechgruppen wurde mittels des Cutoffs von eben diesem Score durchgeführt, dies entspricht ebenso dem

Youden-Index einer ROC-Analyse, welche dieser Score als Grundlage benutzt. Das Potenzial dieses Prädiktors wurde mittels einer 10-fach wiederholten, geschichteten 10-fach Kreuzvalidierung beurteilt. Die Auswertung erfolgte mit Daten aus der Basislinie und Tag 43. Die Ergebnisse geben die Genauigkeit, die AUC (engl.: *area under the curve*), sowie die erreichte Sensitivität bei einer Spezifität von 50% wieder.

Das Gesamtüberleben wurde über zwei getrennte Cox-Regressionen analysiert: 1. die Wirkung der Ansprech-Gruppe auf das Überleben und 2. die Wirkung der abgeleiteten Punktzahl am Tag 43 auf das Überleben wurde analysiert. Kaplan-Meier-Kurven wurden aufgestellt, um diese Effekte zu visualisieren.

Alle Analysen wurden mit R (<https://www.R-project.org/>) in Version 3.4.1. durchgeführt.

2.8 Ethik

Entsprechend der Deklaration von Helsinki gehört die Analyse von medizinischen Daten in den Bereich der medizinischen Forschung und muss damit entsprechend der ärztlichen Berufsordnung einer Ethikkommission vorgelegt werden. Dieser Verpflichtung wurde nachgekommen. Die Ethikkommission der Universitätsmedizin Göttingen äußerte keine Bedenken gegen die Durchführung dieser Studie (DOK_82_2016). Die Grundsätze des Datenschutzes wurden dem Niedersächsischen und Hessischen Datenschutzgesetz entsprechend eingehalten.

3 Ergebnisse

3.1 Probandencharakteristika

Zwischen dem 01. April 2015 und dem 30. September 2016 haben 68 Patienten mit der Nivolumab-Therapie begonnen. Den vierten Zyklus Nivolumab und damit korrelierend das erste Lungen-CT-Bild bekamen 51 Patienten (siehe Abbildung 8). Um vergleichende Analysen der Parameter basierend auf der Tumorgrößenveränderung durchführen zu können, wird diese CT-Bild Klassifikation nach dem 4. Zyklus benötigt. Somit sind alle weiteren Berechnungen mit den Daten von 51 Patienten umgesetzt worden. Dementsprechend stammen die Daten in Tabelle 6 von diesen 51 Patienten. Die deskriptiven Werte sind anhand der Ansprechgruppen kategorisiert. Das Verfahren zur Gruppenverteilung wird im Kapitel 3.2 CT-Messung genauer erläutert.

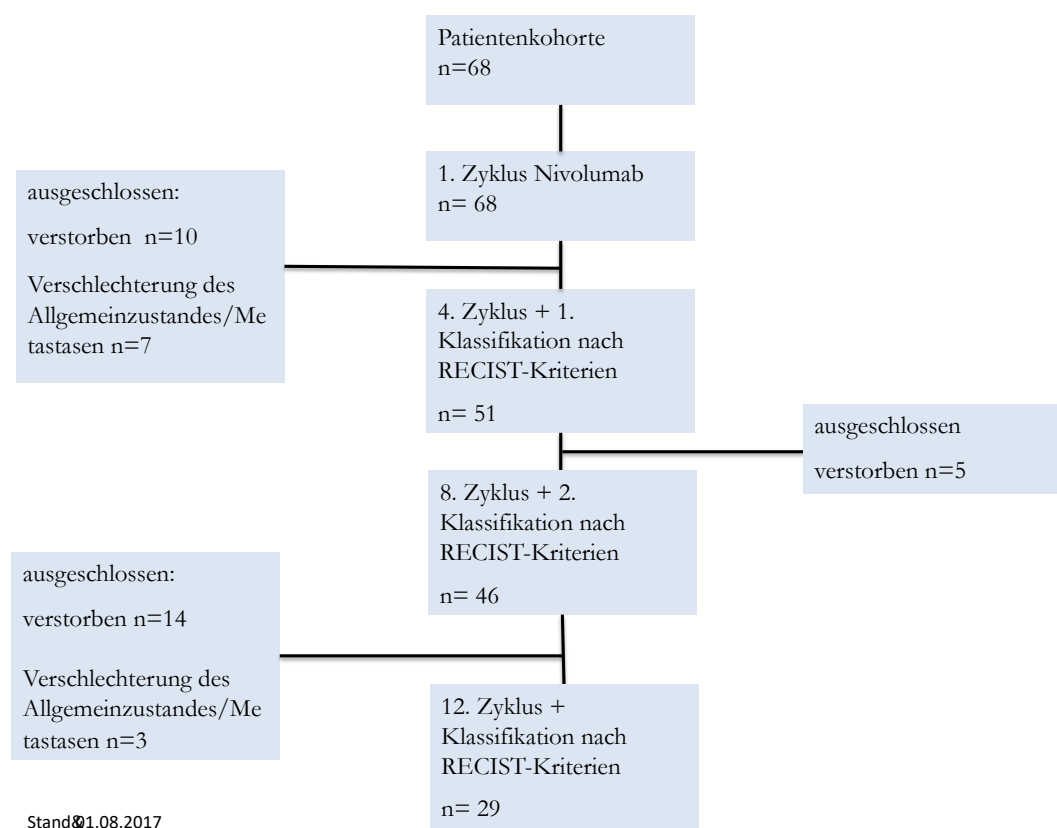


Abbildung 8: Flussdiagramm bezüglich des Therapiestatus der Patientenkohorte. Insgesamt 51 Patienten erhielten mindestens den vierten Zyklus Nivolumab mit dem dazugehörigen CT-Bild

Tabelle 6: Deskriptive Daten der Patientenkohorte

Parameter	Skalenniveau	OR	PsPr	RPD	SD	p-Wert*
n		10	6	25	10	
Alter						0.57
	Mittelwert \pm sd	64 \pm 11	68 \pm 12	67 \pm 11	70 \pm 5.2	
	Median (min; max)	61 (46; 80)	72 (52; 80)	66 (38; 85)	68(64; 77)	
Altersgruppe						0.51
	(0,50)	1 (10.0%)	0 (0.0%)	2 (8.0%)	0 (0.0%)	
	[50, 60]	3 (30.0%)	2 (33.3%)	3 (12.0%)	0 (0.0%)	
	(60,70]	3 (30.0%)	1 (16.7%)	11 (44.0%)	6 (60.0%)	
	(70, >70)	3 (30.0%)	3 (50.0%)	9 (36.0%)	4 (40.0%)	
Geschlecht						0.03
	w	8 (80.0%)	3 (50.0%)	7 (28.0%)	3 (30.0%)	
	m	2 (20.0%)	3 (50.0%)	18 (72.0%)	7 (70.0%)	
Histologie						0.20
	ADC	7 (70.0%)	3 (50.0%)	10 (40.0%)	4 (40.0%)	
	LCNEC	0 (0.0%)	1 (16.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
	PEC	3 (30.0%)	2 (33.3%)	15 (60.0%)	6 (60.0%)	
Raucherstatus						0.65
	nie	1 (10.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (10.0%)	
	aufgehört	6 (60.0%)	4 (66.7%)	17 (68.0%)	5 (50.0%)	
	anhaltend	3 (30.0%)	2 (33.3%)	8 (32.0%)	4 (40.0%)	
Therapie-Linie						0.79
	zweite	6 (60.0%)	3 (50.0%)	14 (56.0%)	6 (60.0%)	
	dritte	3 (30.0%)	2 (33.3%)	8 (32.0%)	2 (20.0%)	
	vierte	0 (0.0%)	1 (16.7%)	3 (12.0%)	2 (20.0%)	
	fünfte	1 (10.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
Therapie-dauer [Wochen]†						< 0.001
	Median (95% CI)	72 (63.6 - NA)	33.4 (24 - NA)	16 (14 - 20.3)	36.6 (21.9 - NA)	
	eingeschränkter Mittelwert \pm se	75 \pm 7.4	41.1 \pm 10.5	17.7 \pm 1.7	43.5 \pm 7.6	

Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoproggression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease

SD = *standard deviation*; ADC = Adenokarzinom; LCNEC = *large cell neuroendocrine carcinoma*; PEC = Plattenepithelkarzinom; SE = *standard error*

* Klinische Parameter wurden auf signifikante Unterschiede (P-Wert) zwischen jeder Ansprechgruppe getestet. Der exakte Test von Fisher wurde für alle Variablen außer "Alter", das mittels einer Einweg-Varianzanalyse getestet wurde, und "Therapiedauer", die zensierte Fälle enthält und mit einem Likelihood-Quotienten-Test zwischen dem Cox-Modell, welches die "Therapiedauer" beinhaltet, und einem Nullmodell.

† Therapiedauer bezieht sich auf die Daten vom 1. August 2017.

Die klinischen Parameter in Tabelle 6 sind vom Ausgangswert über den Mittelwert und Standardabweichung oder durch die absoluten (relativen) Frequenzen innerhalb jeder Ansprechgruppe (OR, PsPr, RPD, SD) zusammengefasst und auf signifikante Unterschiede zwischen den Ansprechgruppen getestet. Der p-Wert wird in der letzten Spalte auf einem Signifikanzniveau von $<0,05$ angegeben. Die Verteilung der Geschlechter innerhalb der Ansprechgruppen ist mit einem p-Wert von 0,02 signifikant; gleichermaßen unter dem Signifikanzniveau befindet sich die histologische Verteilung. Dieses Ergebnis, zusammen mit den weiteren pathologischen Erkenntnissen, wird im separaten Kapitel 3.5 Pathologie näher untersucht. Der exakte Fisher-Test wurde für alle Variablen mit der Ausnahme von „Alter“ verwendet, das mit einem Einweg-ANOVA getestet wurde. Die „Therapiedauer in Wochen“ enthält zensierte Fälle, da sich zum Zeitpunkt der Berechnung (01.08.2017) noch acht Patienten verteilt auf die Gruppen OR, PsPr und SD in Behandlung befanden. Dieser Parameter wurde deshalb mit einem Likelihood-Verhältnis-Test zwischen dem Cox-Modell einschließlich Therapiedauer und einem Null-Modell getestet. Es wird hier eine Signifikanz zwischen den Gruppen von unter 0,001 erreicht. Sehr deutlich wird dies, wenn man zum Beispiel die mittlere Therapiedauer der Objective-Response-Gruppe und der Real-Progressiv-Disease-Gruppe näher betrachtet. Bei der OR-Gruppe haben wir eine erwartete mittlere Therapiedauer von 75 Wochen und im Vergleich dazu hat die RPD-Gruppe eine mittlere Therapiedauer von 17,7 Wochen.

3.2 CT-Messungen

Mit Hilfe der CT-Messung und der einhergehenden Evaluierung gemäß den RECIST 1.1-Kriterien konnten vier Ansprechgruppen unterschieden werden (siehe Abbildung 9).

Per definitionem mit einem Tumorwachstum von mindestens 20 Prozent, sind 25 Patienten in der Real Progressive Disease (RPD, $n = 25$) Gruppe.

Zehn Patienten erlebten eine partielle Remission, sodass sie der Objective Response (OR, $n = 10$) Gruppe zugeordnet wurden.

Weitere zehn Patienten hatten weder eine Remission noch einen Progress und sind deshalb nach RECIST 1.1-Kriterien Stable Disease Patienten (SD, n = 10).

Die Patienten, die aufgrund der Nivolumab-Therapie einen Pseudoprogess hatten, konnten erst nach der 2. CT Aufnahme eindeutig klassifiziert werden. Die Patientengruppe (PsPr, n = 6) wies zunächst ein Tumorwachstum von über 20 % auf und dann eine objektive Remission ($\geq -30\%$) nach weiteren vier Behandlungszyklen.

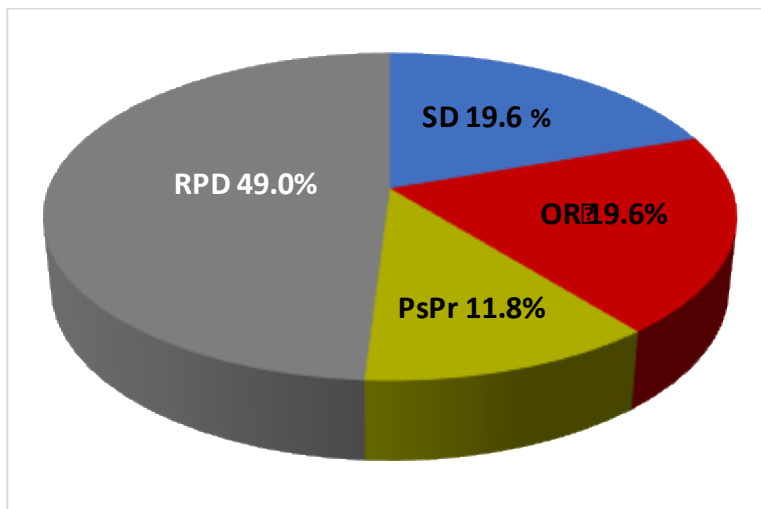


Abbildung 9: Patientenverteilung nach Ansprechmuster gemäß RECIST-Kriterien

Abkürzungen: OR= Objective Response; PsPr = Pseudoprogession; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease

Die Verlaufsgrafik in Abbildung 13 verdeutlicht die Größenentwicklung der Neoplasie im zeitlichen Kurs innerhalb der jeweiligen Ansprechgruppe. Die Veränderung ist immer im prozentualen Bezug zum Ausgangswert am 1. Messtag. Die Daten der Ansprechgruppen sind farblich voneinander abgetrennt. Die Boxen geben die Interquartilsspannweite des unteren Quartils (25%) bis zum oberen Quartil (75%) wieder, wobei der horizontale Strich in der Mitte der Box dem jeweiligen Medianwert entspricht. Zu sehen ist ebenso der kleinste Wert (unterer Whisker der Box) und der Maximalwert (oberer Whisker) für den jeweiligen Zyklustag innerhalb einer Gruppe.

Bei zwei Patienten konnte im CT-Bild das Phänomenen des *blurred appearance*, also einer verschwommen erscheinenden Tumormasse im CT-Bild, festgestellt werden. *Central brightening* die hyperdense Verdichtung im Zentrum des Tumors im CT-Bild, trat bei keinem Patienten auf.

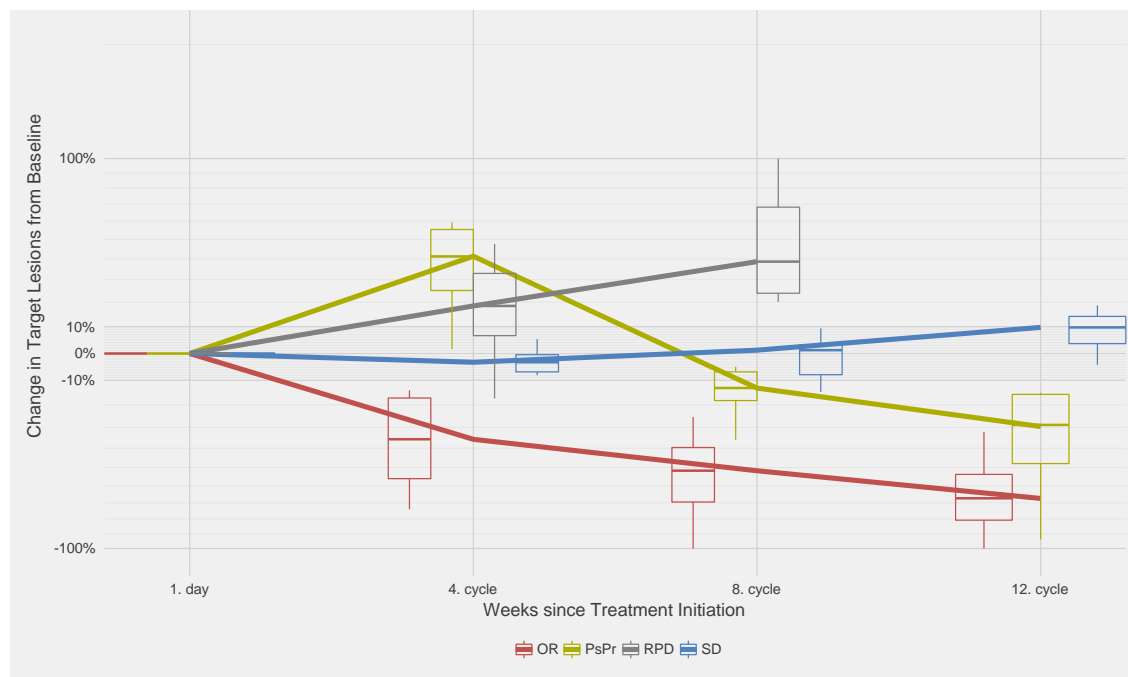


Abbildung 10: Prozentuale Tumorgößenveränderung verglichen mit dem Ausgangswert. Auf der X-Achse ist der zeitliche Verlauf in Zyklen abgebildet

Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive disease; SD = Stable Disease; G/L = Granulozyten/Lymphozyten

3.3 Nebenwirkungen und klinische Besonderheiten

Hervorgehend aus den Ergebnissen anderer Studien, wurde vor allem auf die Symptome Muskelschmerzen, Gelenkschmerzen, Fieber, Husten und Dyspnoe geachtet. Diese zeigten aber im zeitlichen Verlauf keine signifikanten Veränderungen zwischen den vier Ansprechgruppen. Lediglich vier Patienten sprachen von starken Schulter- und Oberarmschmerzen, welche aber ebenso nicht in Bezug zum Therapieansprechen gebracht werden konnten.

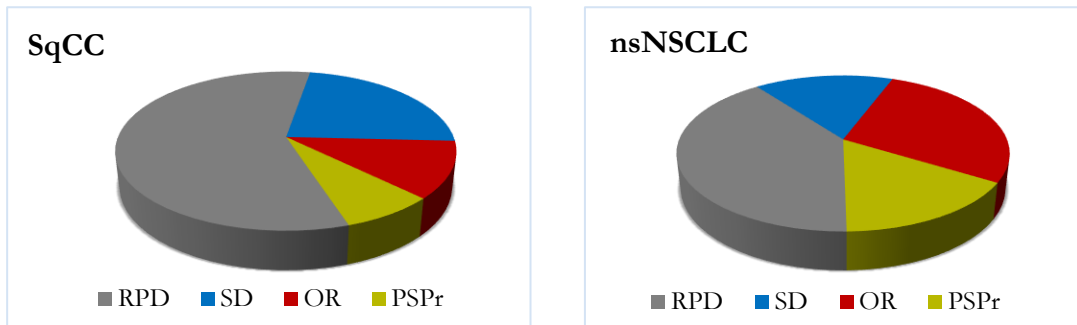
Unerwünschte Ereignisse traten unabhängig von der Wirksamkeit von Nivolumab auf. Bei 6 von 51 Patienten traten sogenannte Immunsystem-bezogene Nebenwirkungen auf. Vier Patienten entwickelten eine Pneumonitis (7,8%), zwei Patienten eine Kolitis (3,9%), ein Patient eine Nephritis (2%). Ein Patient erlitt gleichzeitig eine Kolitis und Pneumonitis, was zum Absetzen von Nivolumab führte. Alle Nebenwirkungen konnten erfolgreich mit Steroiden behandelt werden.

3.4 Pathologie

Der histologische Nachweis ergab bei 26 Patienten ein Plattenepithelkarzinom. Die weiteren 25 Patienten wiesen den Subtyp eines Nicht-Kleinzelligen Lungenkarzinoms ohne

platteneithelartige Differenzierung auf. Diese beiden primär vorliegenden Subtyp des Lungenkarzinoms können jeweils prozentuell aufgeteilt werden in die vier Ansprechgruppen. (siehe Abbildung 11 A und B)

A



B

SqCC	RPD	SD	OR	PsPr	Summe
	58%	23%	12%	8%	100%
	15	6	3	2	26
nsNSCLC	RPD	SD	OR	PsPr	Summe
	40%	16%	28%	16%	100%
	10	4	7	4	25

Abbildung 11 A: Patientenverteilung nach histologischen Subtypen. B: Tabelle mit prozentualer Verteilung bei den jeweiligen histologischen Subtypen

Abkürzungen: nsNSCLC = *non squamos non-small cell lung cancer*; SqCC = *squamos cell lung cancer*; OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease

In Tabelle 7 wurde die Patientenkohorte in zwei Gruppen aufgeteilt, zum einen die OR- und PsPr-Patienten und zum anderen die RPD- und die SD-Patienten. Den prozentual größten Anteil macht hier die Gruppe der Plattenepithelkarzinome in der RPD- und SD-Gruppe. Die Zwei-Wege Übersichtstabelle war die Basis zur Berechnung eines Pearson Chi-Quadrat-Tests.

Tabelle 7: Zwei-Wege-Übersichtstabelle mit Häufigkeitenverteilung. Grundlage für die statistische Evaluation der histologischen Subtypen

Histologie	Ansprechgruppe: OR, PsPr	Ansprechgruppe: RPD, SD	Gesamtzahl in der Reihe
nsNSCLC	11	14	25
Reihe %	44,00 %	56,00 %	
Gesamt %	21,57 %	27,45 %	49,02 %
SqCC	5	21	26
Reihe %	19,23 %	80,77 %	
Gesamtanzahl	16	35	51
Gesamt %	31,37 %	68,63 %	100,00 %

Abkürzungen: nsNSCLC = *non squamos non-small cell lung cancer*; SqCC = *squamos cell lung cancer*; OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogession; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease

Der Pearson-Chi-Quadrat-Test zeigt hierbei (Chi-square=3.63, $p=0,05669$) einen numerischen, aber nicht statistisch signifikanten Unterschied zwischen SqCC und nsNSCLC, wobei die Patienten mit letztgenanntem dazu neigen, ein besseres Therapieansprechen vorzuweisen und weniger eine progressive Erkrankung zu zeigen (Tabelle 8).

Tabelle 8: Statistische Evaluation der histologischen Subtypen. Gruppenverteilung OR, PsPr versus RPD, SD

Statistik	Chi-square	df= degrees of freedom	p- Wert
Pearson Chi-square	3,63	df=1	$p=0,057$
M-L Chi-square	3,70	df=1	$p=0,055$

Die Verteilung des histologischen Subtyps in Bezug zum Alter, Geschlecht und Raucherstatus wird in Tabelle 9 aufgezeigt. Die RPD-Gruppe weist die größte Alterspanne auf und beinhaltet auch die meisten Raucher, die trotz Diagnosestellung weiter Tabak konsumieren. Es befindet sich jeweils ein Nichtraucher in der OR- und einer in der SD-Gruppe.

Tabelle 9: Verteilung der Patienten nach Alter, Geschlecht, histologischer Differenzierung des Lungenkarzinoms und Raucherstatus

	PsPr n= 6	OR n=10	SD n=10	RPD n= 25
Median des Alters und Alterspanne	72 (52-78)	61 (46-80)	68 (63-77)	66 (38-84)
männlich/weiblich	3/3	2/8	7/3	18/7
Histologie				
PEC	2	3	6	15
ADC	3	7	4	10
LCNEC	1	0	0	0
Raucherstatus				
anhaltend	2	3	4	8
früher	4	6	5	17
nie	0	1	1	0

Abkürzungen: PEC = Plattenepithelkarzinom; ADC = Adenokarzinom; LCNEC = *large cell neuro-endocrine carcinoma*; OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease

Nach Isolierung der genomischen DNA und Amplifizierung der Exone 18, 19, 20 und 21 des EGFR-Gens mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und anschließender bidirektionaler Sanger-Sequenzierung konnte keine Mutation in einem der untersuchten Lungenkarzinomgewebe festgestellt werden. Die Exon-2-Amplifikation, ebenfalls durch eine PCR des KRAS-Gens, ergab, dass vier Patienten in der RPD-Gruppe und jeweils ein Patient in der SD und ein Patient in der PsPr eine Mutation in diesem Gen besitzen.

Die immunhistochemische Färbereaktion mit dem Anti-PD-L1-Antikörper 28-8 wird für das Tumorgewebe als *tumor proportion score* (TPS) angegeben und beschreibt die prozentuelle Verteilung der sich immunologisch angefärbten Zellen. 18 der untersuchten Patientengewebe

ergaben eine Färbung von <1% und können somit als immunnegativ gewertet werden. Davon befanden sich vier Patienten in der OR-, zwei in der PsPr-, sieben in der RPD- und fünf in der SD-Gruppe. Nur das Gewebe einzelner Tumor lassen sich in die >1% oder >50% Immunhistochemie einordnen. Diese fast gleichmäßige Verteilung wird durch den nicht signifikanten Fisher's exakte Test mit 0,48 widergespiegelt. Eine statistische Signifikanz ist beim Parameter PD-L1-Expression der Immunzellen mit einem p-Wert von 0,03 erreicht worden. Das peritumorale inflammatorische Stroma exprimiert PD-L1 somit innerhalb der Ansprechgruppen unterschiedlich stark.

Tabelle 10: PD-L1-, KRAS- und EGFR-Status innerhalb der Ansprechgruppen

Parameter	Skalenniveau	OR	PsPr	RPD	SD	p Wert*
PD-L1 TPS [%]						0.48
	< 1%	4 (66.7%)	2 (100.0%)	7 (70.0%)	5 (100.0%)	
	>1 %	1 (16.7%)	0 (0.0%)	1 (10.0%)	0 (0.0%)	
	>50 %	1 (16.7%)	0 (0.0%)	2 (20.0%)	0 (0.0%)	
	fehlt	4	4	15	5	
PD-L1 IC [%]						0.03
	< 1%	1 (16.7%)	0 (0.0%)	3 (30.0%)	5 (100.0%)	
	>1 %	5 (83.3%)	2 (100.0%)	7 (70.0%)	0 (0.0%)	
	>50 %	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
	fehlt	4	4	15	5	
KRAS						0.33
	Mut Exon 2	0 (0.0%)	1 (50.0%)	4 (57.1%)	1 (50.0%)	
	Wildtyp	4 (100.0%)	1 (50.0%)	3 (42.9%)	1 (50.0%)	
	fehlt	6	4	18	8	
EGFR						1.00
	mutiert	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
	Wildtyp	7 (100.0%)	4 (100.0%)	9 (100.0%)	2 (100.0%)	
	fehlt	3	2	16	8	

Abkürzungen: PD-L1 = *programmed death ligand 1*; TPS = *tumor proportion score*; Mut = Mutation; IC = *immunocells*; KRAS = *kirsten rat sarcoma virus*; EGFR = *epidermal growth factor receptor*; OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease; * siehe Tabelle 6

3.5 Klinische Parameter

Die zeitliche Entwicklung der ausgewählten Parameter ist in den Abbildungen 12 bis 15 dargestellt.

Um die relative Veränderung im Laufe der Zeit besser zu visualisieren, wurden, wie bereits auch für die Tumorgößenveränderung, Boxplots verwendet. Diese Darstellung hebt die Änderung vom relativen Ausgangswert zum Ausgangswert der verschiedenen Zeitpunkte innerhalb der Antwortgruppen hervor.

Die Analyse der Veränderungen in der LDH-Grafik zeigt Unterschiede zwischen den vier Ansprechgruppen mit einem kontinuierlich abnehmenden Niveau für die OR-Gruppe (rote Linie) und einem kontinuierlichen Anstieg für diejenigen mit einem progressiven Tumorstadium (graue Linie). LDH der SD- und PsPr-Gruppe bleiben im Laufe der Zeit unverändert (Abb. 15).

Hinsichtlich der Änderung des G/L-Index wurde für die PsPr- und die OR-Gruppe eine kontinuierliche Abnahme sowie eine stetige Zunahme der RPD-Gruppe und keine wesentlichen Änderungen für die SD-Gruppe festgestellt (Abbildung 16).

In Abbildung 17 kann man die Veränderung des CRP-Wertes nachvollziehen. Der relative prozentuale Unterschied zwischen den Gruppen ist im Vergleich zur LDH und G/L-Index Kurve geringer. Dennoch sieht man, dass die Kurve der RPD-Gruppe über die Zeit hinweg vor allem im positiven Skalenbereich der x-Achse zu finden ist.

Zwar wirkt es auf den ersten Blick, als würde es auch im Hinblick auf die Gewichtsveränderung (Abbildung 15) deutliche Unterschiede geben, zu beachten ist hier aber die angepasste y-Achsenkalibrierung. Zu sehen sind hier Wertschwankungen von wenigen Prozentpunkten.

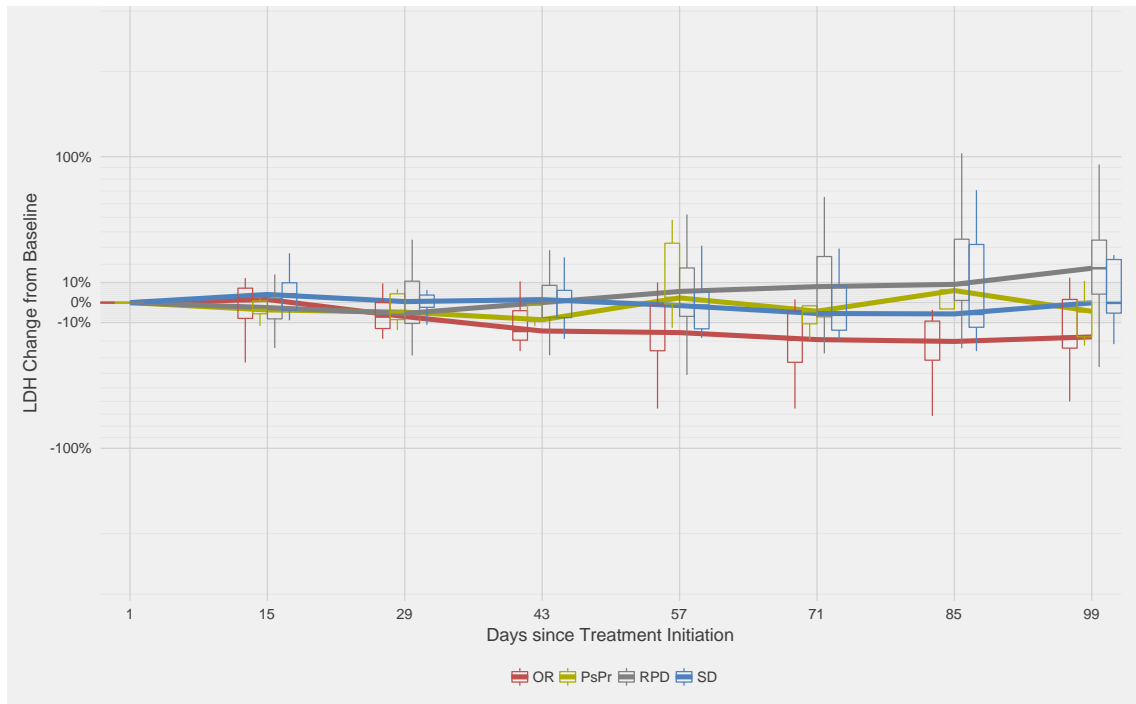


Abbildung 12: Relative LDH-Wertveränderung im zeitlichen Verlauf innerhalb der jeweiligen Ansprechgruppen

Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease; LDH=Lactatdehydrogenase

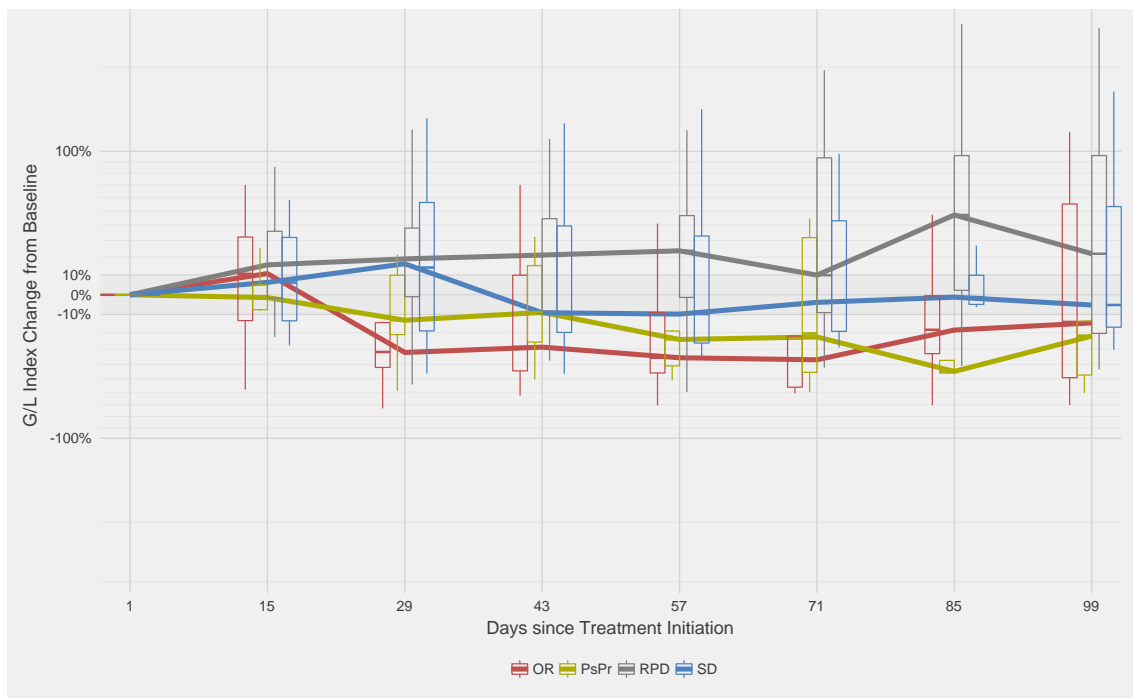


Abbildung 13: Relative G/L-Indexveränderung im zeitlichen Verlauf innerhalb der jeweiligen Ansprechgruppen

Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease; G/L-Index = Granulozyten/Lymphozyten

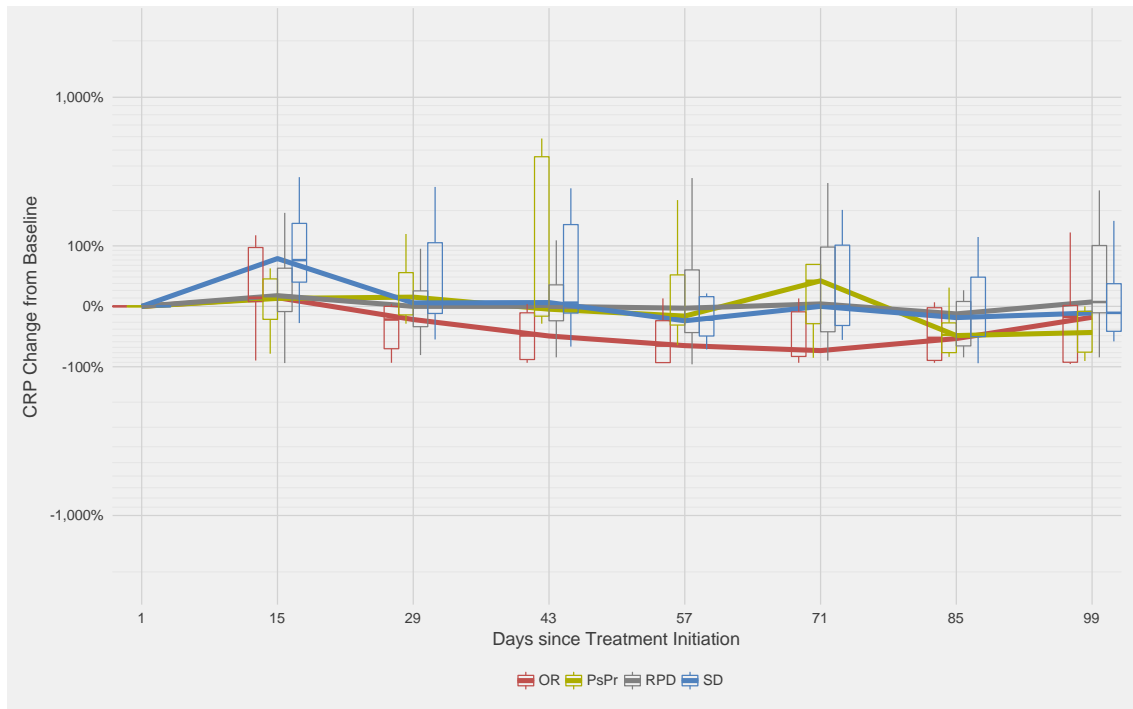


Abbildung 14: Relative CRP-Wertveränderung im zeitlichen Verlauf innerhalb der jeweiligen Ansprechgruppen

Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease; CRP=C-reaktives Protein

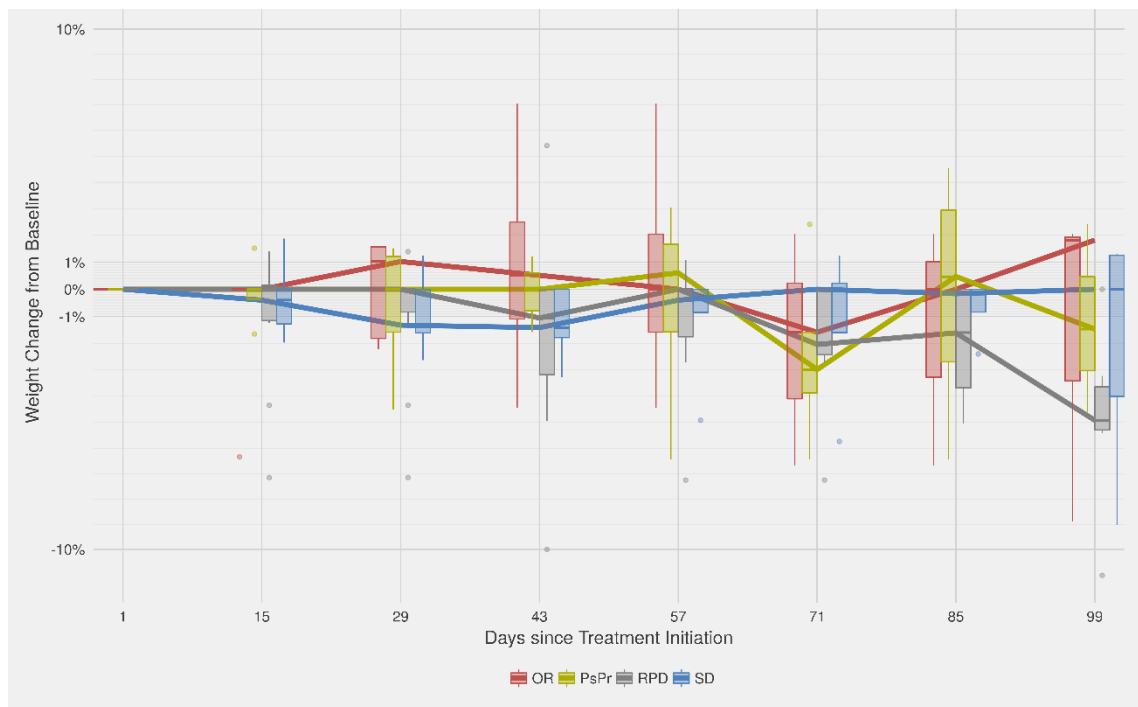


Abbildung 15: Relative Gewichtsveränderung im zeitlichen Verlauf innerhalb der jeweiligen Ansprechgruppen

Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease

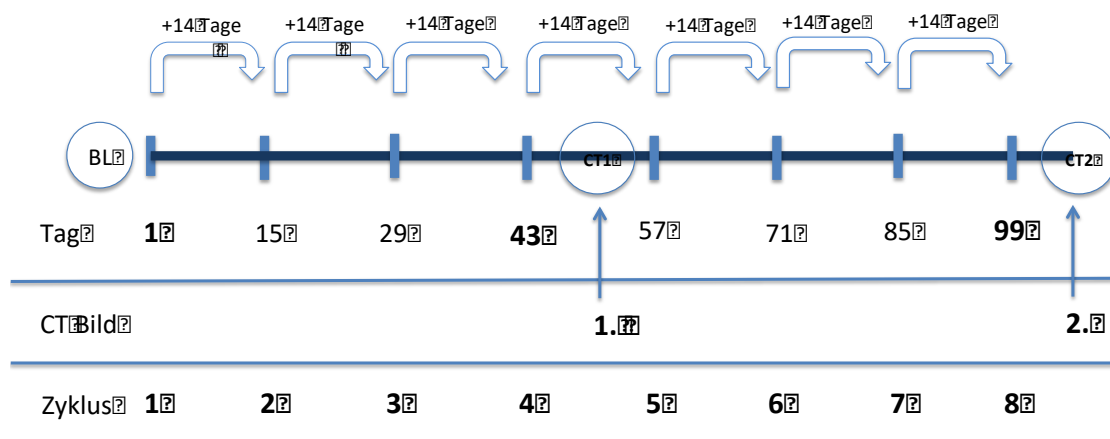


Abbildung 16: Therapieschema

Abkürzungen: BL = Baseline, CT-Bild bis 28 Tage vor Therapiebeginn

Für die Etablierung des Scores sind die Tage 43, entspricht dem 4. Zyklus und somit dem 1. vergleichenden CT-Bild und der Tag 99, somit der 8. Zyklus und das 2. CT-Bild während der Therapie, entscheidend (siehe Abbildung 16).

Zur weiteren Veranschaulichung wurde eine Grafik mit Boxen erstellt, welche sich vom 25%- Quartil bis zum 75%- Quartil erstrecken (siehe Abbildung 17 und 18). Der Median ist durch einen horizontalen Strich darin markiert. Auch in dieser Darstellung lässt sich der kleinste Wert, – unterer Whisker der Box – und der größte Wert, – oberer Whisker – innerhalb einer Gruppe ermitteln; bzw. falls es Werte gibt, die nicht im Interquartilsbereich zu finden sind, werden diese auf einer vertikalen Linie als Punkt ober- und unterhalb angezeigt.

Diesem Schema folgend wurde noch eine Grafik mit den jeweils dazugehörigen Ausgangswerten angefertigt (siehe Anhang).

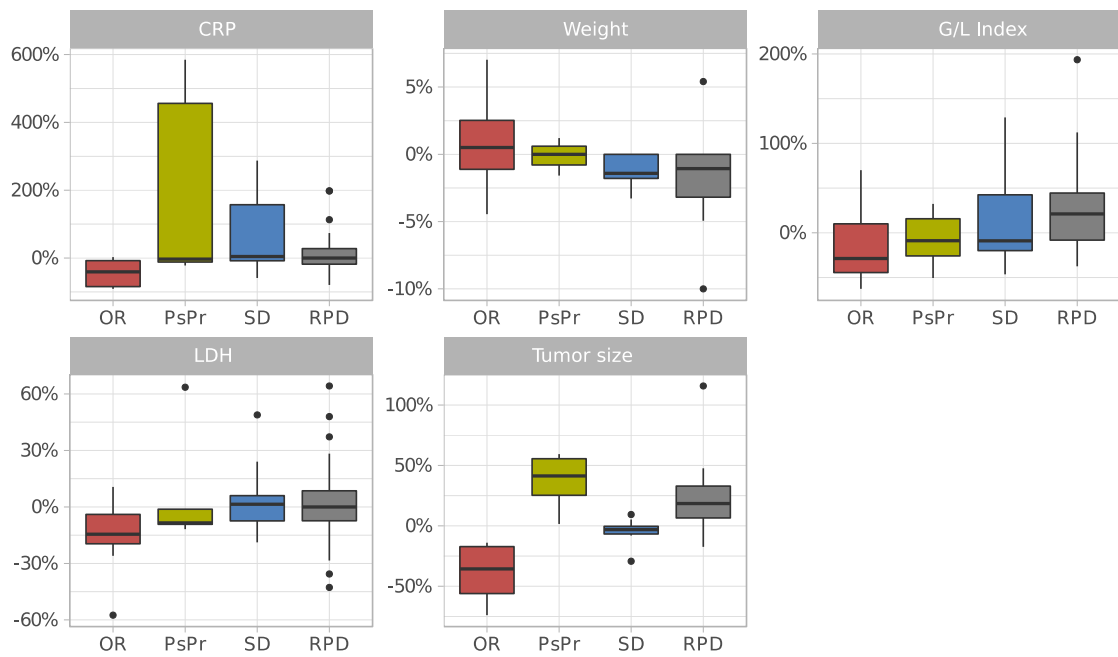


Abbildung 17: Prozentuale Veränderungen relativ vom Ausgangswert zum Ausgangswert an Tag 43 ausgewählter Parameter

Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease; CRP = C-reaktives Protein; LDH = Lactatdehydrogenase; G/L = Granulozyten/Lymphozyten

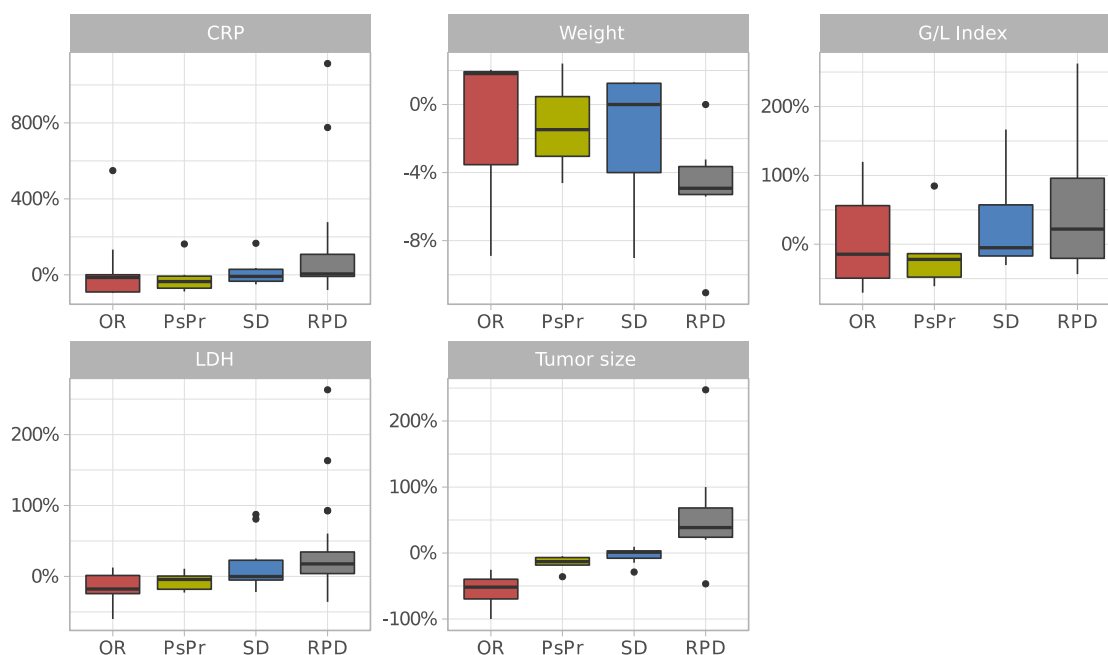


Abbildung 18: Prozentuale Veränderungen relativ vom Ausgangswert zum Ausgangswert an Tag 99 ausgewählter Parameter

Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease; CRP = C-reaktives Protein; LDH = Lactatdehydrogenase; G/L = Granulozyten/Lymphozyten

3.6 Score-Schema

Um die Aussagekraft der einzelnen Laborwerte im zeitlichen Verlauf weiter zu verbessern, sind die Werte von LDH, CRP und der G/L-Index in einem einzigen Score zusammengefasst. Der Score wurde retrospektiv unter Verwendung von Laborwerten, die am vierten und achten Zyklus von Nivolumab (d.h. Tag 43 und 99) gesammelt wurden, berechnet (siehe Abbildung 17 und 18). Die beste Kombination stellt die Addition von LDH-, CRP- und G/L-Index-Werten, LDH-, CRP- und G/L-Index-Veränderungen und die Veränderung der Tumorgröße im ersten CT-Scan nach Beginn der Nivolumab-Therapie dar. Am besten bedeutet in diesem Fall, dass mit Hilfe von zweistufig hierarchisch aufgebauten ROC-Analysen, im Vergleich zu anderen Parameterkombinationen die höchste Sensitivität von 92,3% erreicht worden ist (siehe Abbildung 19). Da der G/L-Index ausgehend von seinem Grundwert keinem linearen Trend folgt und dadurch keine Cutoff-Wert Bestimmung durch die ROC-Analyse möglich war, wird der Ausgangswert des G/L-Index nicht in die Score-Berechnung einbezogen (siehe Tabelle 11).

Tabelle 11: Berechnung der Score-Punkte

Punkte	2	1	0
Relative CRP-Wert Veränderung	< -0.6	$-0.6 < -0.2$	≥ -0.2
Relative LDH-Wert Veränderung	< -0.1	$-0.1 < 0$	≥ 0
Relative G/L-Index Veränderung	< -0.3	$-0.3 < 0.1$	≥ 0.1
Relative Tumorgößenveränderung	< -0.1	$-0.1 < 0$	≥ 0
Ausgangs CRP-Wert [mg/l]	< 5	$5 < 60.4$	≥ 60.4
Ausgangs LDH-Wert [U/l]	< 150	$150 < 207$	≥ 207
Ausgangs TumorgroÙe [mm]	< 32	$32 < 61$	≥ 61

Abkürzungen: CRP = C-reaktives Protein; LDH = Lactatdehydrogenase; G/L = Granulozyten/Lymphozyten

Die Berechnungen der ROC-Analyse ergaben zudem, dass die Sensitivität optimiert werden kann, wenn die jeweiligen Parameter mit einer spezifischen Gewichtung zu multipliziert werden, um eine höhere Aussagekraft des jeweiligen Parameters für den Gesamtscorewert zu erhalten. Folgende Faktoren wurden ermittelt:

Tabelle 12: Gewichtung der Parameter

Parameter	Faktor
TumorgroÙe	1.0
CRP	0.5
LDH	2.0
G/L-Index	1.0

Abkürzungen: CRP=C-reaktives Protein; LDH=Lactatdehydrogenase; G/L =Granulozyten/Lymphozyten

3.7 Prädiktion des Therapieansprechens mit Hilfe des Scores

Die ROC-Analyse mit den ausgewählten Parametern weist mit einer Sensitivität von 92,3% jene Patienten nach, die nach nur vier Zyklen tatsächlich von Nivolumab profitierten (Abbildung 19). Hierbei ist die Sensitivität definiert als die Fähigkeit alle Patienten zu erkennen, die von der Therapie mit Nivolumab profitieren. Die ROC-Analysen sind mit einer festgelegten Spezifität von 0,50 durchgeführt worden. Für die ROC-Kurve mit der höchsten Sensitivität erhält man eine AUC von 0,80.

Die grauen Linien zeigen das Ergebnis in jeder Wiederholung der ROC-Analyse an. Die durchgezogene schwarze Linie ist die Konsens ROC-Kurve über alle 10 Wiederholungen hinweg. Der Youden-Index der Konsens ROC-Kurve ist mit einem Punkt markiert. Die Fläche unter der Kurve der Konsens ROC-Kurve sowie die Sensitivität und Spezifität am Youden-Index sind in der unteren rechten Ecke der Kurven angegeben.

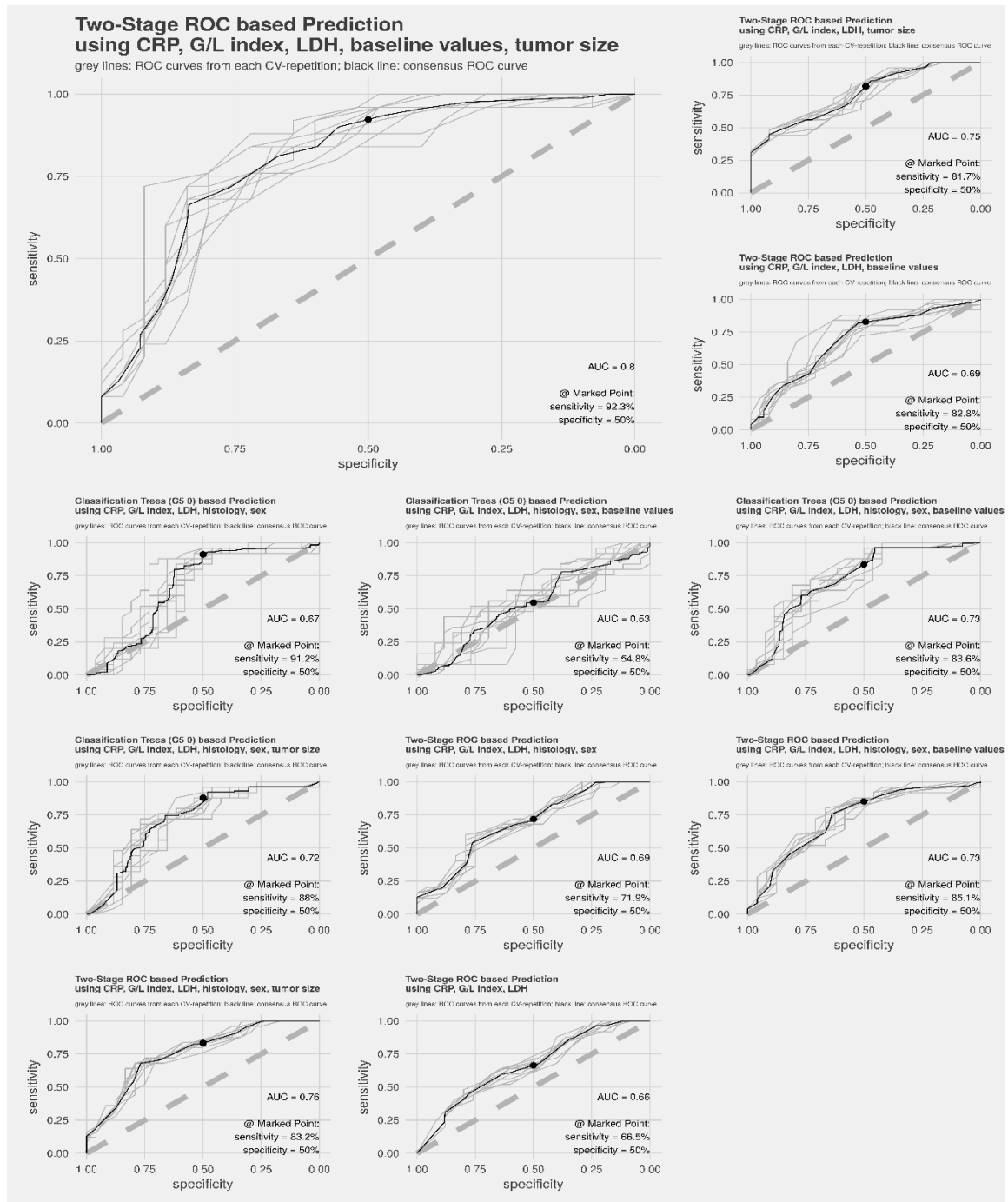


Abbildung 19: Zweistufig hierarchisch aufgebaute ROC-Analysen zur Validierung des Scores als Prädiktor

Abkürzungen: CRP = C-reaktives Protein; LDH = Lactatdehydrogenase; G/L = Granulozyten/Lymphozyten; AUC = *area under the curve*; CV = *cross validation*

Die Klassifizierung in RPD gegenüber den anderen Ansprechgruppen erfolgt über einem Cutoff des Scores, welcher dem Youden-Index einer ROC-Analyse mit der jeweiligen Score-Punktzahl entspricht. Die Abgrenzung zur Unterscheidung von Patienten mit RPD von denen, die von Nivolumab profitieren (SD, OR und PsPr) liegt bei einem Cutoff-Wert von

5,5. Das bedeutet, dass der Score einen Patienten in die RPD-Gruppe klassifiziert, sobald dieser unter einen kumulativen Score-Wert von 5,5 kommt.

An beiden Tagen (43 und 99) wurden die Punkte zwischen RPD und den anderen Gruppen durch paarweise Mann-Whitney-U-Tests verglichen (Abbildung 20). Die Holm-angepassten p-Werte aus den paarweisen Vergleichen mit RPD unter Verwendung des Mann-Whitney-U-Tests sind in der Grafik aufgeführt. Die Score-Punktzahl spiegelt die Unterschiede zwischen der RPD- und der OR-Gruppe am Tag 43 und 99 ($p = 3,4 * 10^{-5}$ und $p = 0,00022$) wieder. An Tag 43 war der Score statistisch höher für die PsPR-Gruppe als für die RPD-Gruppe ($p = 0,051$). Dieser Trend, dass sich die beiden Gruppen signifikant unterscheiden, wird am Tag 99 mit einem p-Wert von 0,02 verstärkt. Die Medianwerte der RPD- und PsPR-Gruppe unterschieden sich am Tag 43 mit einem Score von 3,5 für RPD- und 5,5 für die PsPr-Gruppe. Am Tag 99 erhöhte sich die Differenz zwischen den beiden Gruppen mit 3 Score-Punkten für die RPD-Gruppe und 6 Score-Punkten für die PsPr-Gruppe.

In Abbildung 21 sind alle Score-Punkte der jeweiligen Ansprechgruppen in Form eines Säulendiagramms aufgelistet. Die fehlende Säule bei der PsPr-Gruppe an Tag 43 bedeutet, dass genau für diesen Tag einzelne Parameter nicht vorhanden sind, sodass dieser Patient für diesen Tag nicht in die Berechnung miteinbezogen werden konnte. Die zusammengefassten Score-Punkte innerhalb einer Gruppe wurden mit RPD als Referenz verglichen. Alle Patienten, die von der Nivolumab-Therapie profitieren (SD, PsPr und OR), zeigten höhere Werte als die Patienten mit RPD. Als Ergebnis des Cutoff-Werts von 5,5 wurden alle Patienten in der OR-Gruppe (10/10) korrekt für den Tag 43 klassifiziert, vier von fünf waren in der PsPr-Gruppe korrekt vorhergesagt, ebenso waren acht von zehn Patienten in der SD-Gruppe oberhalb des Cutoff von 5,5 korrekt klassifiziert. Es wurden nur vier Patienten in der RPD-Gruppe (4/25) fälschlicherweise als falsch positiv kategorisiert.

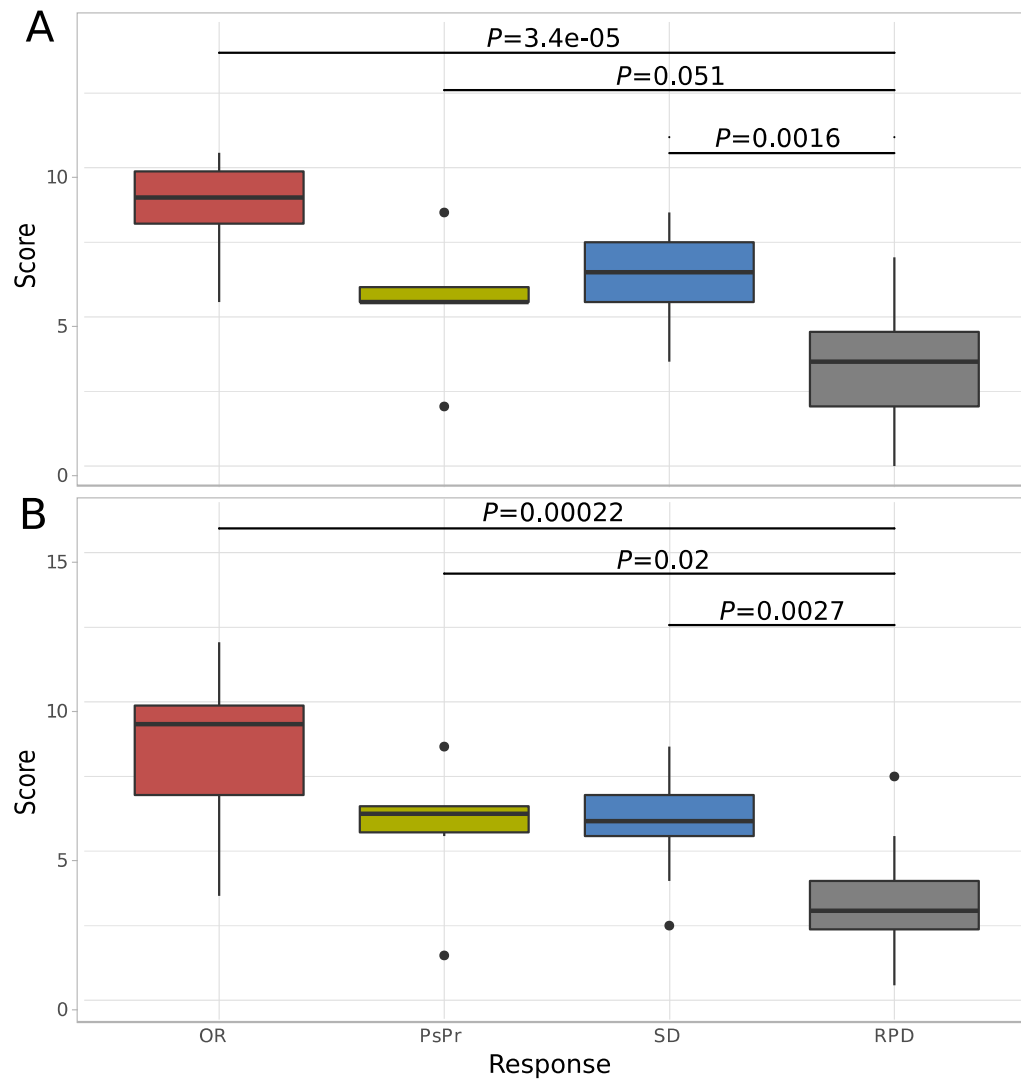


Abbildung 20: Vorhergesagte Werte für (A) Tag 43 und (B) Tag 99 werden separat für jede Ansprechgruppe angezeigt. Die P-Werte spiegeln die Vergleiche mit der RPD-Gruppe unter Verwendung des Mann-Whitney-U-Tests wider (Holm adjustiert)

Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease

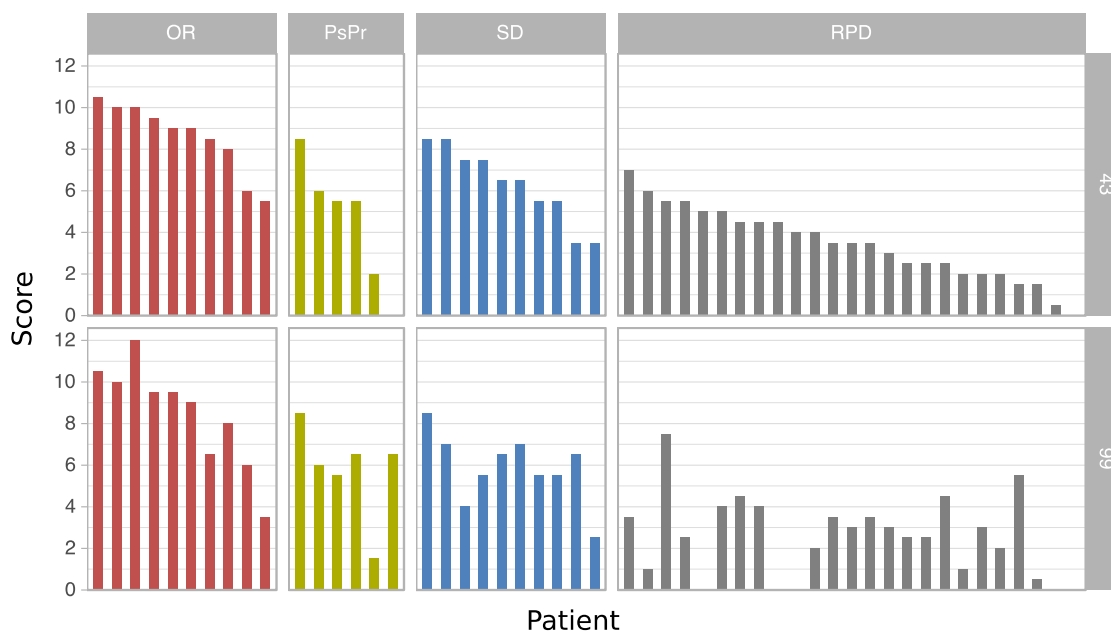


Abbildung 21: Score-Punkteverteilung gemäß den verschiedenen Ansprechgruppen an Tag 43 und 99

Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease

3.8 Überlebensanalyse

Die Kaplan-Meier-Überlebensanalyse zeigte einen statistisch signifikanten Unterschied in der Überlebenswahrscheinlichkeit zwischen den RPD- und OR-Gruppen (Hazard-Ratio [HR] = 0,13, 95%-CI 0,03-0,56; $P < 0,01$) (Abbildung 21). Die Hälfte der Patienten in der RPD-Gruppe starb weniger als 26 Wochen nach Beginn der Nivolumab-Behandlung. Zum Zeitpunkt der endgültigen Überlebensanalyse (Stichtag: 1. August 2017) war ein Patient in der OR-Gruppe ein Jahr nach Beginn der Behandlung mit Nivolumab verstorben. Länger als ein Jahr nach Nivolumab-Therapiebeginn waren acht Patienten am Leben, und ein neunter Patient lebte auch 341 Tage nach Beginn der Behandlung mit Nivolumab, dieser musste jedoch aufgrund des Stichtags zensiert werden. In den anderen Ansprechgruppen waren 70% (SD), 66,7% (PsPr) und 24% (RPD) der Patienten noch nach einem Jahr am Leben (Abbildung 22).

Die Hazard-Ratio für Patienten in der OR-Gruppe im Vergleich zu denen in der RPD-Gruppe betrug 0,13 ($P = 0,006$) (Abbildung 23). Zum Zeitpunkt des Stichtages haben 23 von 51 Patienten gelebt, wohingegen 28 bereits verstorben waren. Dies ist in der Abbildung 23 an $n. event = 28$ abzulesen.

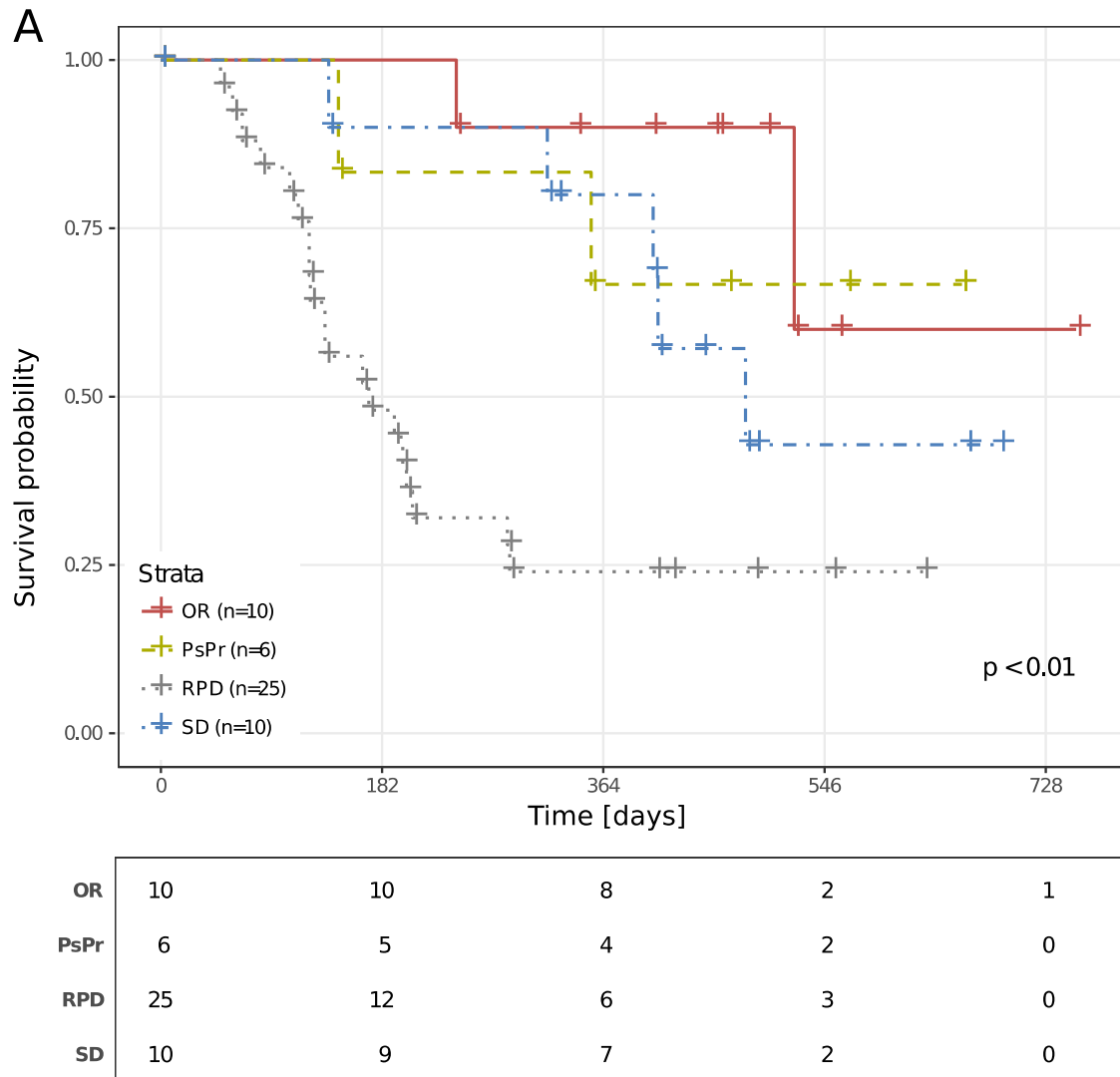


Abbildung 22: Überlebenszeitanalyse entsprechend den einzelnen Ansprechgruppen

Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease

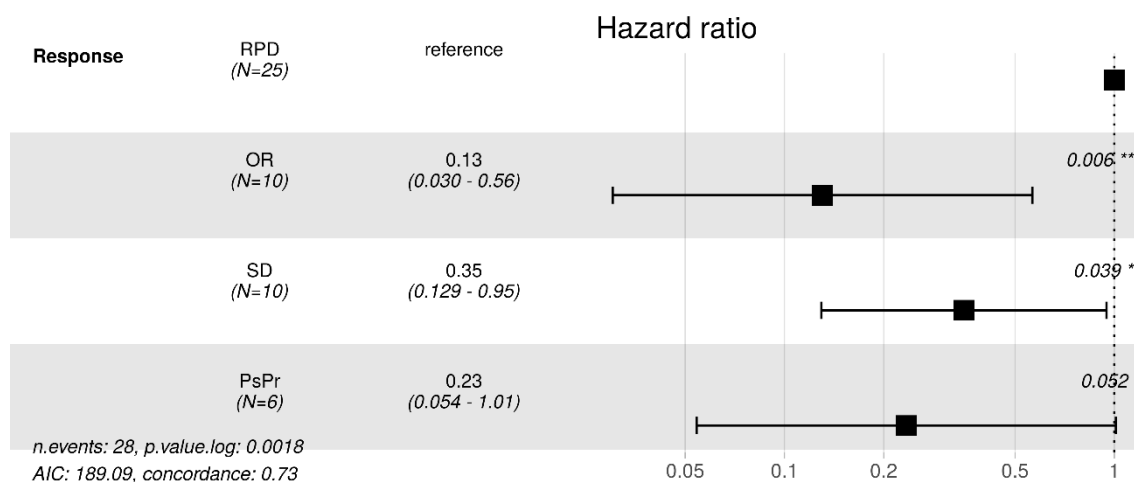


Abbildung 23: Hazard-Ratio der Überlebenswahrscheinlichkeit innerhalb der Ansprechgruppen im Verhältnis zur RPD-Überlebenswahrscheinlichkeit

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease

In Abbildung 24 wird eine Kaplan-Meier-Kurve gezeigt, welche als Grundlage nicht die Ansprechgruppen nach radiologischer Klassifizierung durch die RECIST 1.1-Kriterien verwendet, sondern nur den vorgeschlagenen Score zur Berechnung des Gesamtüberlebens einsetzt. Dies bedeutet, dass der Cutoff des Scores festlegt, ob ein Patient in der RPD oder in der nonRPD Gruppe ist und dies legt wiederum das prädiktive Überleben fest. Auch hier erkennt man einen statistisch signifikanten Unterschied im Gesamtüberleben bei Patienten (SD, PsPr und OR) gegenüber denen in der RPD-Gruppe (HR = 2,61, 95%-CI 1,22 bis 5,60; $P = 0,01$). Wie bereits in der Abbildung 21 ersichtlich, fehlen für einen Patienten aus der PsPr-Gruppe Laborparameter für den Tag 43, sodass auch hier für die prädiktive Berechnung des Überlebens nach Kaplan-Meier nur 50 Patienten in Frage kommen.

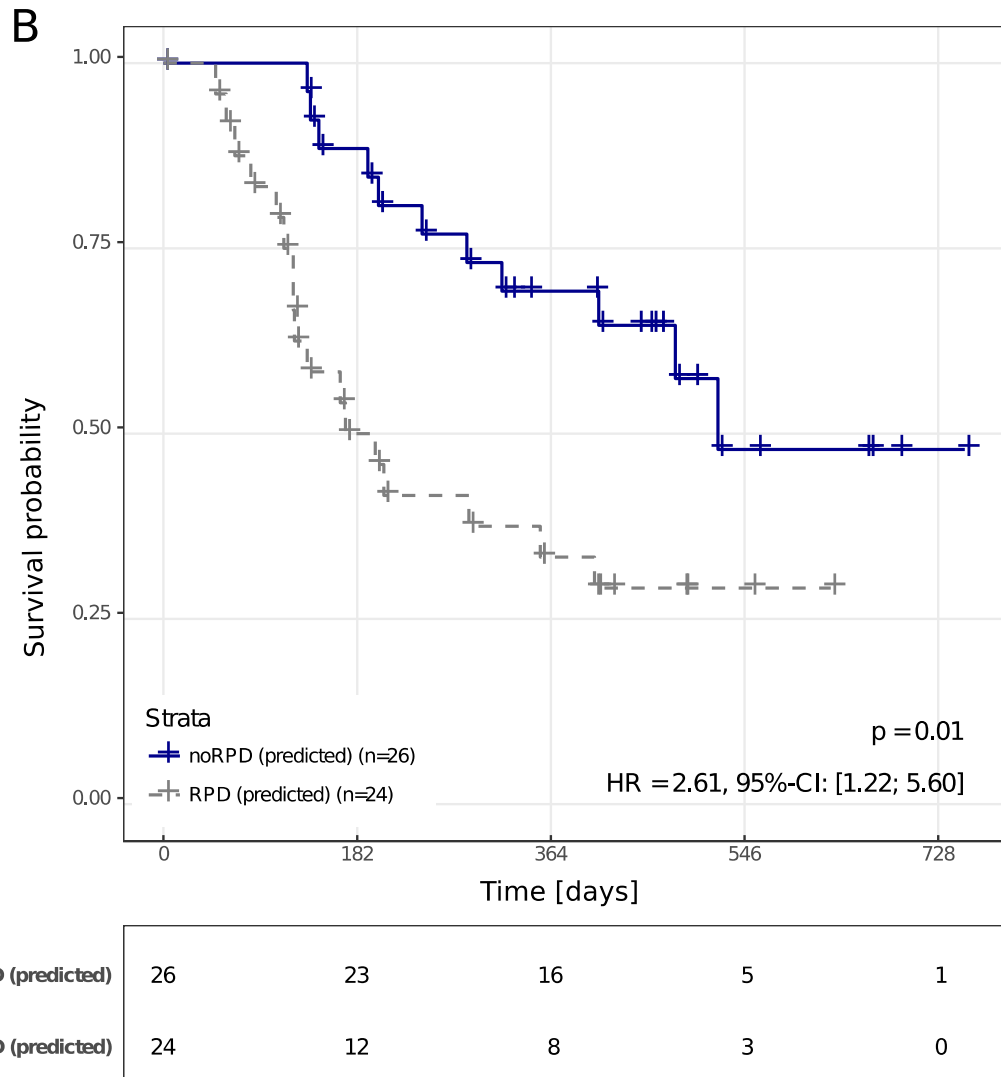


Abbildung 24: Überlebenszeitanalyse durch RPD-Vorhersage

Abkürzungen: RPD = Real Progressive Disease; HR = Hazard-Ratio; CI = *confidence interval*

4 Diskussion

Nach Literaturrecherchen ist diese Studie bis dato die einzige, die mit Hilfe von Laborparametern und der Tumorgrößenveränderung in einem frühen Therapiestadium das immunonkologische Therapieansprechen bewertet. In dieser Untersuchung war es möglich, die Patientengruppe mit positivem Ansprechen signifikant abzutrennen von den Patienten, die einen Progress erlebten. Bislang gibt es keinen zuverlässigen prädiktiven Test, der dies ermöglicht. Es konnte gezeigt werden, dass der hier etablierte Score, trotz unklarer radiologischer Veränderungen, Therapieversagen von Therapieansprechen signifikant unterscheiden kann.

Änderungen in LDH, CRP und dem G/L-Index spiegeln das Ansprechen auf die Checkpoint-Inhibition bei Patienten wider. Da nur ein geringer Teil, ungefähr 20%, aller behandelten Patienten auf die Therapie mit Checkpoint-Inhibitoren anspricht, ist es wichtig, Wege zu finden, die Wirksamkeit während der Behandlung zu überwachen (Chen und Mellman 2017; Moya-Horno et al. 2018).

Außerdem kann das Phänomen der Pseudoprogession zu mehrdeutigen radiologischen Ergebnissen und als Folge zu falschen Schlussfolgerungen bezüglich der Wirksamkeit der Therapie führen (Solinas et al. 2017; Schliep et al. 2018).

Der Score wird durch die signifikanten Ergebnisse der ROC-Kurvenanalysen sowie die weiteren Analysen mit dem Mann-Whitney-Test und der differenzierten prognostizierten Überlebenszeitanalyse der einzelnen Ansprechgruppen gestützt. Es konnte folglich nachgewiesen werden, dass relative Veränderungen im Zeitverlauf die unterschiedlichen Ansprechmuster mit hoher Sensitivität widerspiegeln.

4.1 Bewertung des Therapieansprechens nach RECIST 1.1-Kriterien

Die Annahme von Wolchok et al. 2009, dass Pseudoprogession mit einer Häufigkeit von ungefähr 10% auftritt und somit eine nicht seltene Erscheinung darstellt, wird in dieser Studie bestätigt. Dabei muss eingeräumt werden, dass die Häufigkeit der Pseudoprogession ebenso wahrscheinlich von dem Intervall abhängt, das für CT-Kontrollen gewählt wurde. Es konnte ebenso eine frühe Pseudoprogession nachweisen werden, die nur an den Röntgenaufnahmen zwischen dem zweiten bis vierten Zyklus der Nivolumab-Therapie sichtbar war und dann bis zur ersten CT-Kontrolle in eine partielle Remission bzw. eine stabile Erkrankung überging (siehe Abbildung 25 und 26). Andere Ansprechreaktionen wie eine Hyperprogression konnten nicht beobachtet werden (Nasseri et al. 2014; Champiat et al. 2017). Ebenso konnten keine weiteren radiologischen Erscheinungen wie der *blurred appearance* oder dem *central brightening* mit dem Pseudoprogess in dieser Studie in Beziehung gebracht werden (Kato et al. 2017; Wang et al. 2017).

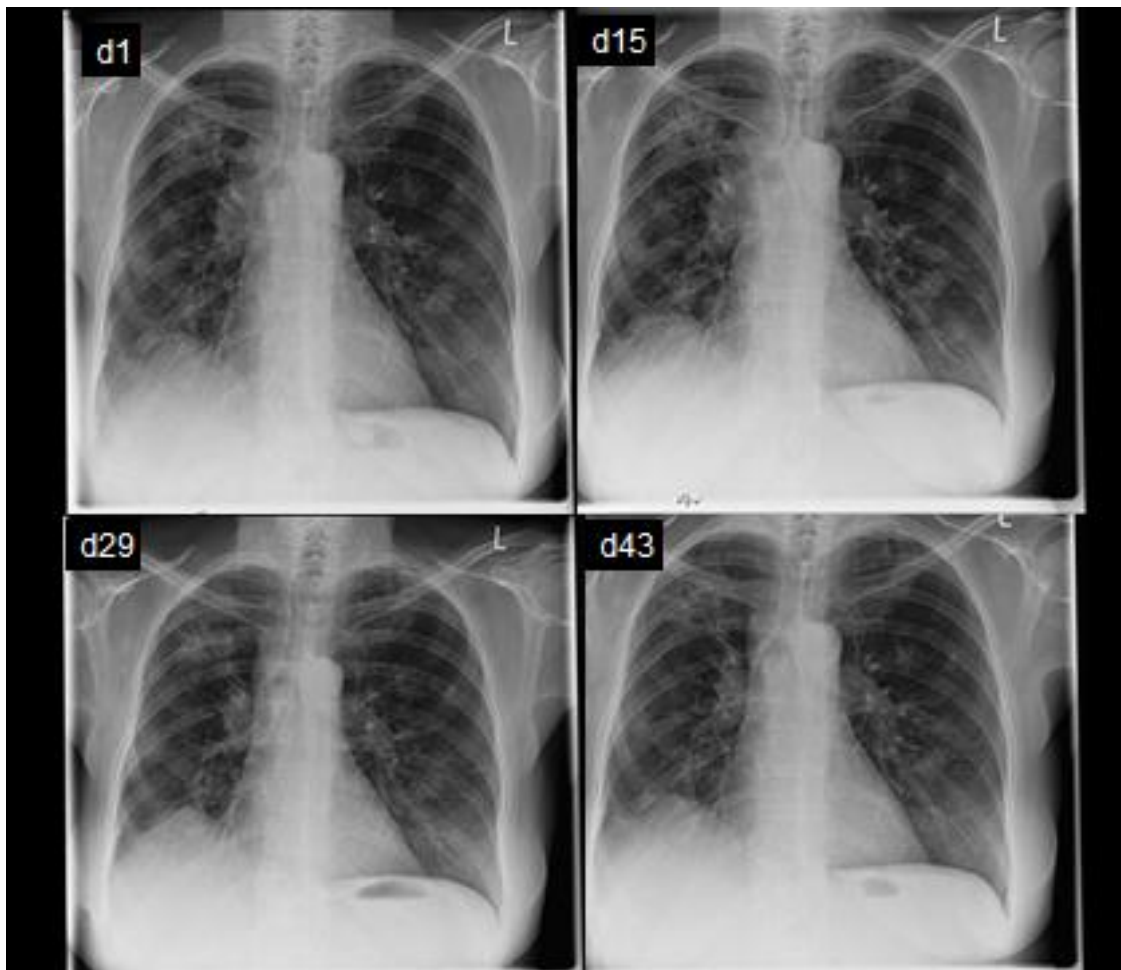


Abbildung 25: Schnelle Pseudoprogression bei einem Patienten mit einer Zunahme der TumorgroÙe nach einem Zyklus von Nivolumab (Tag 1), gefolgt von kontinuierlichem Schrumpfen bei den Zyklen 2 bis 4 (Tage 15, 29 und 43).

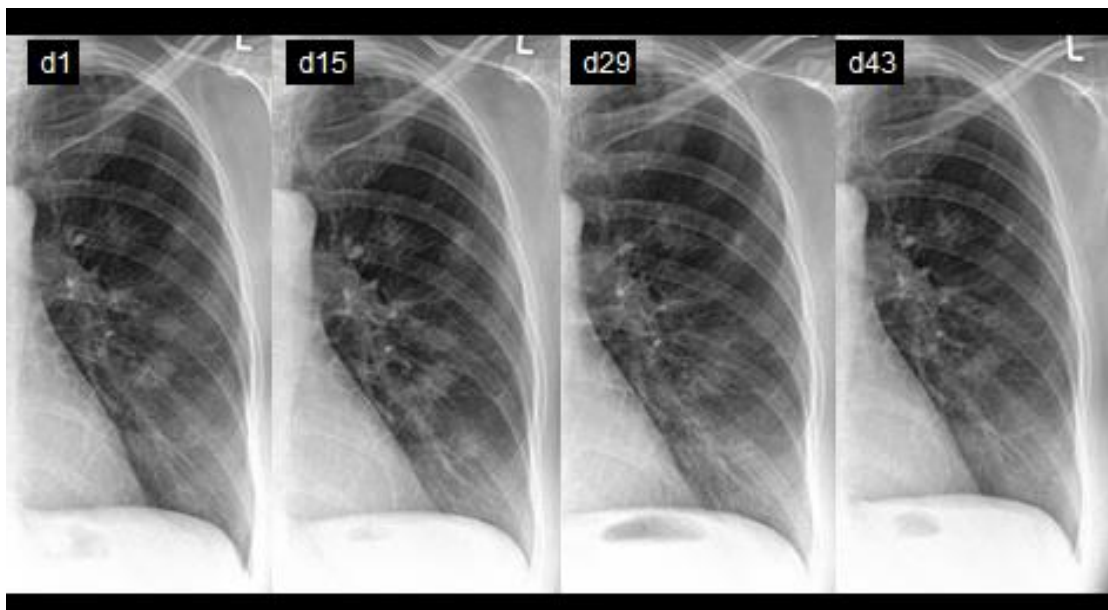


Abbildung 26: Linker Hemithorax (gleicher Patient wie in Abb. 25) vor dem ersten, zweiten, dritten und vierten Zyklus von Nivolumab (Tage 15, 29 und 43). Zum Zeitpunkt des ersten Computertomographie-Scans (Tag 1) ist das Ansprechen ein partielles Ansprechen gemäß RECIST 1.1 und ein objektives Ansprechen gemäß unseren vier Gruppen.

Wolchok et al. 2009 waren die ersten, die nach den Standard RECIST 1.1 von Eisenhauer et al. 2009 eine adaptierte Bemessung von soliden Tumoren unter Immuntherapie vorschlugen. Diese bidimensionale Beurteilung des Tumors wurde durch weitere Änderungen von (Nishino et al. 2014) durch unidimensionales Messen der Läsionen im Jahr 2014 abgelöst. Dennoch blieben RECIST 1.1-Kriterien nach Eisenhauer et al. bis heute als Standard erhalten, da sich die anderen Methoden als fehleranfällig erwiesen. Trotzdem können in frühen Therapiestadien besondere Ansprechmuster nicht erklärt werden, sodass Seymour et al. 2017 neue Ansätze vorstellt. In der Tabelle 13 sind alle Patienten aus dieser Studie aufgelistet und nach dem neuen Schema von Seymour et al. in ihrem Therapieansprechen kategorisiert. In der Spalte ganz rechts ist die Klassifizierung nach RECIST 1.1, welche die Grundlage für die hier vorliegenden Ergebnisse darstellt und als Vergleichsvorlage dient.

Das Präfix steht für das englische *immune* und soll zu erkennen geben, dass es sich um ein Schema speziell für Tumore unter Immuntherapie handelt.

Als neue Klassifikationsgruppen, neben den bekannten: iCR = Complete Response, iCPD = Complete Progression, iPR = Partial Response, iSD = Stable Disease, gibt es nun die Gruppe iUPD = Unconfirmed Progression. In diese Kategorie gelangen alle Patienten, bei denen der Tumor nach mindestens vier Wochen um $\geq 20\%$ gewachsen ist. In diesem Moment kann man noch nicht definitiv von echtem Progress sprechen. Danach kommt es zu weiteren radiologischen Untersuchungen und erst dann kann die Stufe der „unbestätigten Progression“ verlassen werden und der Tumor wird nun weiter je nach Größenveränderung definiert. Bei

weiterem Wachstum in die iCPD-Gruppe, bei stabiler Größe in die iSD-Gruppe und bei deutlicher Größenminderung um 50% in die iPR- bzw. iCR-Gruppe. Diese neue Kategorisierung nach Seymour et al. geht auf den problematischen Sachverhalt einer möglicherweise unentdeckten Pseudoprogression ein und bietet neue Beschreibungsmöglichkeiten, ebenso ermöglicht es dem Therapeuten eine scheinbar bedenkenloses Abwarten bis zum nächsten CT-Bild, dennoch bleibt die Kernproblematik, dass man im frühen Therapiestadium anhand bildgebender Verfahren nicht sicher beurteilen kann ob es sich um einen echten Progress oder einen Pseudoprogess handelt. Im konkreten Fall, welcher in Tabelle 13 dargestellt ist, würde dies bedeutet, dass bei drei der fünf Pseudoprogess Patienten erst nach dem 16. Zyklus deutlich wird, dass diese von der Therapie profitieren. Bis zu diesem Zeitpunkt würden sie in die Kategorie iUPD fallen. Im Umkehrschluss bedeutet das, dass diese Patienten 16 Zyklen lang ebenso wie bisher nach dem Ermessen des behandelnden Arztes weiter mit Checkpoint-Inhibitoren behandelt werden. Wenn die Therapie bereits nach dem 8. Zyklus abgesetzt worden wäre, da man erneute Läsionen oder ein Größenwachstum von ≥ 5 mm beobachtete und somit von einem gesicherten progressiven Verhalten des Tumors ausgeht (iCPD), hätten diese Patienten nicht mehr die Möglichkeit die vergleichsweise nebenwirkungsarme Therapie fortzuführen. Die zwei anderen Pseudoprogess Patienten aus dieser Studie, wären nach dem 8. Zyklus in die Gruppe Stable Disease kategorisiert.

Tabelle 13: Vergleich von RECIST 1.1 (Eisenhauer et al. 2009) und iRECIST (Seymour et al. 2017) anhand des vorliegenden Patientenkollektivs

Patientennummer	Nach dem 4. Zyklus	Nach dem 8. Zyklus	Nach dem 16. Zyklus	Best overall Ansprechen nach iRECIST	Best overall Ansprechen nach RECIST 1.1
1	iSD	iSD	iPR	iPR	OR
2	iPR	iCR	iCR	iCR	OR
3	iSD	iSD		iSD	RPD
4	iPR	iPR	iPR	iPR	OR
5	iPR	iPR	iPR	iPR	OR
6	iSD	iSD		iSD	SD
7	iUPD	iCPD		iCPD	RPD
8	iUPD	iCPD		iCPD	RPD
9	iUPD	iUPD	iPR	iPR	PsPr*
10	iUPD	iUPD	iPR	iPR	PsPr*
11	iSD			iSD	RPD

Patienten- nummer	Nach dem 4. Zyklus	Nach dem 8. Zyklus	Nach dem 16. Zyklus	Best overall An- sprechen nach iRECIST	Best overall Ansprechen nach RECIST 1.1
12	iSD	iUPD		iCPD	RPD
13	iUPD	iUPD	iSD	iSD	PsPr*
14	iSD	iUPD		iCPD	RPD
15	iUPD	iCPD		iCPD	RPD
16	iSD	iUPD		iCPD	RPD
17	iSD	iSD	iSD	iSD	SD
18	iSD	iUPD		iCPD	RPD
19	iSD	iSD		iSD	SD
20	iSD	iUPD		iCPD	RPD
21	iSD	iUPD		iCPD	RPD
22	iSD	iSD	iSD	iSD	SD
23	iSD	iSD	iSD	iSD	SD
24	iSD	iUPD		iCPD	RPD
25	iUPD			iCPD	RPD
26	iSD	iSD	iSD	iSD	SD
27	iPR	iPR	iPR	iPR	OR
28	iUPD	iCPD		iCPD	RPD
29	iPR	iPR	iPR	iPR	OR
30	iSD	iSD	iSD	iSD	SD
31	iSD			iSD	RPD
32	iUPD	iSD	iPR	iPR	PsPr*
33	iSD	iSD	iUPD	iSD	SD
34	iSD	iUPD		iCPD	RPD
35	iUPD	iSD	iPR	iSD	PsPr*
36	iUPD	iCPD		iCPD	RPD
37	iSD	iPR	iPR	iPR	OR
38	iUPD	iCPD		iCPD	RPD
39	iSD	iSD		iSD	SD
40	iUPD	iCPD		iCPD	RPD
41	iUPD	iSD	iSD	iSD	PsPr*
42	iSD	iUPD		iCPD	RPD

Patienten-nummer	Nach dem 4. Zyklus	Nach dem 8. Zyklus	Nach dem 16. Zyklus	Best overall Ansprechen nach iRECIST	Best overall Ansprechen nach RECIST 1.1
43	iUPD			iCPD	RPD
44	iPR	iPR	iPR	iPR	OR
45	iSD	iPR		iPR	OR
46	iSD			iSD	RPD
47	iUPD	iCPD		iCPD	RPD
48	iUPD	iCPD		iCPD	RPD
49	iSD	iUPD		iCPD	RPD
50	iSD	iPR		iPR	OR
51	iSD	iPR		iPR	SD

Präfix „i“ indiziert Immunantwort gemäß iRECIST; ohne „i“ gemäß RECIST 1.1 evaluiert; RECIST = *response evaluation criteria in solid tumors*; iCR = Complete Response; iCPD = Complete Progression; iPR = Partial Response; iSD = Stable Disease; iUPD = Unconfirmed Progression; *PsPr = Pseudoprogession Patienten im Vergleich

4.2 Einschätzung der verwendeten Laborwerte

Die ausgewählten Laborparameter sind bereits zuvor als prognostische oder prädiktive Marker in der Krebstherapie beschrieben worden. G/L-Index von > 2 , CRP-Wert $> 0,5$ mg/dl, sowie hohe LDH sind statistisch als ungünstig prognostiziert (Lee et al. 2011; Aref und Refaat 2014; Yamaguchi 2016; Yu et al. 2017).

Einige Parameter, welche nach Auffassung von Yamaguchi 2016 zur Therapieprognose beitragen, sind in Tabelle 14 aufgelistet. Diese Parameter wurden aber noch nie retrospektiv an einer größeren Patientenkohorte überprüft. Ebenso wenig existiert mit den aufgelisteten Parametern ein prädiktiver Score.

Tabelle 14: Einschätzung von Biomarkern nach Yamaguchi (2016)

Lokalisation	Biomarker	
	Positiv	Negativ
In der näheren Umgebung	CD8 T-Zellen Infiltration	- Treg Zellen - PD-L1 Expression auf den Tumorzellen
Systemisch	Lymphozytenzahl \geq 1,000	- Lymphozytenzahl $<$ 1,000 - G/L \geq 2 - CRP $>$ 0.5 mg/dl - Treg Zellen

Abkürzungen: Treg Zellen = regulatorische T-Zellen; PD-L1 = *programmed death ligand 1*; G/L = Granulozyten/Leukozyten; CRP = C-reaktives Protein;

Kürzlich fanden Bagley et al. 2017 heraus, dass der G/L-Index zu Beginn der Therapie als Marker dienen kann, der das Ansprechen auf Nivolumab unter Verwendung eines Werts von 5 als Cutoff vorhersagt.

Die Ergebnisse dieser Patientenkohorte konnten keinen G/L-Index-Cutoff von 5 unterstützen, da die Ansprechrate bei fünf Patienten in jeder Gruppe mit einem G/L-Index zu Beginn sowohl unter als auch über 5 lag (siehe Abbildung 1 im Anhang). Zusätzlich verwendeten Bagley et al. keine standardisierte RECIST-Auswertung, während bei dieser Untersuchung alle Patienten nach RECIST 1.1 ausgewertet wurden.

Bereits 2010 konnte in einer koreanischen Studie mit über 80000 Patienten, welche sich in einem Gesundheitsförderungszentrum eines Allgemeinkrankenhauses in Therapie verschiedener Krankheiten befanden, festgestellt werden, dass die 729 Krebspatienten ein signifikant erhöhtes CPR aufwiesen (Lee et al. 2011). Eine weitere Untersuchung ergab, dass die Größe des Tumors mit der Erhöhung des CRP-Spiegels korreliert (Aref und Refaat 2014). Diese Beobachtungen können mit den hier vorliegenden Ergebnissen untermauert werden. Bereits der Ausgangswert des CRP in der RPD-Gruppe war im Vergleich zu den anderen Gruppen signifikant erhöht (siehe Abbildung 1 im Anhang). Der oberhalb der Normwerte liegende CRP-Spiegel wurde für die RPD-Gruppen auch an den darauffolgenden Untersuchungsstagen festgestellt (siehe Abbildung 14,17 und 18). Im Gegensatz dazu war das CRP-Niveau für die Gruppe mit positivem Ansprechen, also die OR-Gruppe, von Therapiebeginn an niedriger, sank aber im zeitlichen Verlauf zusätzlich um bis zu 10% des Ausgangswertes (siehe Abbildung 14). Trotz dieser Korrelation zwischen CRP und Tumorgroße hatten einige Patienten einen nicht krebsbedingten Infekt – einer ebenso aus der Pseudoprogressgruppe – sodass die prädiktive Reliabilität in Frage zu stellen ist und als Konsequenz eine Gewichtung von 0,5 beim CRP-Wert für den Score verwendet wurde.

Bei der Lactatdehydrogenase handelt es sich zunächst um einen Parameter, der im Zusammenhang mit Gewebsschädigung einhergeht, diese kann durch verschiedene Krankheitsbilder, aber eben vor allem durch Tumorerkrankungen im Blut erhöht sein (Furger 2014). Aktuelle Studien bestätigen, dass LDH als prognostischer Faktor sowohl für das progressionsfreie Überleben als auch für das Gesamtüberleben eine erhebliche Rolle spielt (Cacho-Díaz et al. 2018; Mezquita et al. 2018). Auch hier decken sich die Aussagen mit den retrospektiven Beobachtungen dieser Studie. Wie in Abbildung 12 zu erkennen, verhalten sich RPD-Gruppe und OR-Gruppe gegenläufig zu einander; während der LDH-Spiegel in der RPD-Gruppe um bis zu 20% steigt, sinkt er in der OR-Gruppe um mehr als 10%.

4.3 Bedeutung der pathologischen Merkmale der Patienten

Es wurde in der Studie kein Patient mit einer zielgerichteten Treibermutation wie EGFR, ALK oder MET behandelt (Von Laffert et al. 2013; Schildhaus et al. 2015; Petersen et al. 2017). So sind 22 Patienten auf eine EGFR-Mutation analysiert worden, die lediglich den Wildtypen aufweisen (siehe Tabelle 10). Dies ist nicht als Nachteil zu werten, da Studien angeben, dass sich die Immuntherapie bei Patienten mit einer EGFR-Mutation als weniger wirksam erweist und die Patienten keinen Vorteil im Gesamtüberleben zeigen (Lee et al. 2017; Petersen et al. 2017; Rangachari et al. 2017).

Da Nivolumab im Juli 2015 in der EU für das Plattenepithelkarzinom und im April 2016 für nicht-plattenepitheliale NSCLC zugelassen wurde, umfassten die Daten der Kohorte eine größere Anzahl von Patienten mit Plattenepithelkarzinomen als erwartet. Es sind nur wenige Patienten mit Nicht-Plattenepithelkarzinomen behandelt worden, folglich noch weniger Patienten mit einer nachweisbaren KRAS-Mutation vorliegen (siehe Abbildung 9 und 10). Von diesen mit einer KRAS-Mutation assoziierten Patienten ist ein Patient in der PsPr-Gruppe, vier hatten einen echten Progress und ein Patient mit einem stabilen Krankheitsverlauf (siehe Abbildung 10); daher konnten die vorausgegangen Beobachtungen anderer Studienergebnisse, dass Patienten, die mit einer Immuntherapie behandelt werden und eine KRAS-Mutation haben, ein positives Ansprechen im Vergleich zu den Kontrollgruppen ohne Mutation zeigen, nicht reproduziert werden (Kempf et al. 2016; Kim et al. 2017).

Als weiteres pathologisches und für diese Studie bedeutsames Merkmal ist der PD-L1-Status der Patienten. Zunächst ist es allgemein schwierig zu beurteilen, ob PD-L1 als prädiktiver Parameter von Bedeutung ist. Zum einen gibt es kein international einheitliches Färbeverfahren, welches die Vergleichbarkeit der Daten erleichtert, zum anderen sind die Auswertkriterien unterschiedlich. Es ist auch denkbar, dass obwohl beide Kriterien Färbemethode und Auswertkriterien einheitlich verwendet wurden, die Ansprechraten innerhalb der Organsystem oder Adenokarzinom versus Plattenkarzinom variieren (Kerr et al. 2015).

Ein Ansatz, um das Problem der inhomogenen Färbemethode zu beseitigen, war die Durchführung einer Studie wie der ersten deutschen Harmonisierungsstudien für die PD-L1-IHC (engl.: *programmed death ligand 1 immunohistochemistry*) (Scheel et al. 2016; Scheel et al. 2018).

Bereits 2015 hat Borghaei et al. in seiner Phase-III-Studie den Dako 28-8 pharmDx Antikörper zur Färbung der Lungentumorzellen verwendet. Nach dieser Erprobung bleibt für das PD-L1 IHC Assay beim Nicht-Kleinzelligen Bronchialkarzinom unter Nivolumab-Therapie weiterhin der Dako 28-8 pharmDx Antikörper als Standard, welches ebenso in dieser Studie Anwendung fand.

Die Expression des PD-L1 auf Tumorzellen als prognostischer Marker wird unterschiedlich gewertet. So beschreibt Yamaguchi 2016, dass PD-L1 ein negativer prognostischer Wert für das Ansprechen der Immuntherapie und das Gesamtüberleben ist (siehe Tabelle 14). Diese Annahme wird schon ein Jahr vorher durch eine Studie mit 870 Patienten untermauert (Qin et al. 2015). Hierbei muss aber hervorgehoben werden, dass es sich bei der Studie um die Immuntherapie beim Brustkerbs handelt und die immunhistochemische Färbung mit Ventana durchgeführt worden ist. Die IHC Assays mit Dako 28-8 oder 22C3 unterscheiden sich von der Ventana SP142 bzw. SP263 in der Beschreibung der Membran, des Zytoplasmas, der Proportion und Intensität der PD-L1-Expression auf Tumorzellen, sodass man die Ergebnisse nur mit Einschränkungen vergleichen kann (Scheel et al. 2016).

Anders beschreiben große, renommierte Studien eine direkte Korrelation zwischen der PD-L1-Expression und der Ansprechrate auf die Immuntherapie (Garon et al. 2015; Gettinger et al. 2015; Fehrenbacher et al. 2016; Herbst et al. 2016).

Garon et al. und Fehrenbacher et al. sagen sogar noch deutlicher, dass je stärker die Expression des PD-L1 auf Tumorzellen ist, desto besser ist das Ansprechen und ebenso länger die Gesamtüberlebenszeit der Patienten.

In zwei Phase-III-Studien konnte dennoch gezeigt werden, dass selbst Patienten mit einem PD-L1 negativen Status im Vergleich zur zytotoxischen Chemotherapie mit Doxetacel einen Vorteil im progressionsfreien Überleben und in der Gesamtüberlebenszeit vorwiesen (Borghaei et al. 2015; Brahmer et al. 2015).

In dieser Untersuchung korreliert der immunhistochemische PD-L1-Status ebenso nicht mit der Wahrscheinlichkeit oder Geschwindigkeit einer Remission und der damit einhergehenden Verlängerung der Gesamtüberlebenszeit. Bei vier Patienten aus der Objective-Response-Gruppe waren die Tumorzellen <1% mit PD-L1 positiv angefärbt, trotzdem hatten die Patienten eine Therapiedauer von über 16 Wochen. Des Weiteren waren die Tumorzellen bei zwei Patienten aus der RPD-Gruppe mit über 50% PD-L1 positiv, diese zeigten nach acht Wochen kein positives Ansprechen und verstarben auch wenige Wochen nach absetzen der Therapie (siehe Tabelle 10).

Insgesamt ist aber einzuräumen, dass das Tumormaterial einiger Patienten aufgrund von fehlendem Material oder zu geringer Größe nicht gefärbt werden konnte und folglich die Stichprobe der PD-L1-Status klein ist.

4.4 Klinische Symptome und Beurteilung der Signifikanz des Prädiktions-Scores

Zunächst wurde in die Excel-Matrix für jeden Patienten zusätzlich die klinischen Symptome wie Fieber, Husten, Schmerzen im Allgemeinen, Gelenk- und Muskelschmerzen und weitere mögliche körperliche Beschwerden aufgenommen. Es stellte sich heraus, dass es keine signifikanten Unterschiede innerhalb der einzelnen Gruppen oder auch in der Gesamtgruppe zu beobachten sind. Ebenso wenig konnte die Pseudoprogessgruppe durch spezifische Symptome herausstechen. Insgesamt bleibt, wie bereits beschreiben, die Nebenwirkungsrate sehr gering (siehe oben). Folglich liegt der Fokus bei den ROC-Analysen und den daraus resultierenden Sensitivitäts- und Spezifitätsberechnungen, dass kein Patient, der von der Therapie profitiert, übersehen wird. Weniger gravierend wäre dabei die Weiterbehandlung der nebenwirkungsarmen Immuntherapie. Somit wurde eine einheitliche Spezifität von 50% gewählt. Abbildung 19 stellt dies anschaulich dar. Ein Score-Wert von 5,5 oder mehr bedeutet, dass ein Patient von der Therapie profitiert. Bereits an Tag 43 hatten alle Patienten aus der OR-Gruppe einen Wert von 5,5 oder mehr, das weist darauf hin, dass alle Patienten aus der OR für den Tag 99 richtig vorhergesagt worden sind. Acht von zehn Patienten aus der SD-Gruppe hatten einen Wert von über 5,5. Durch den Score richtig bestimmt wurden vier von fünf Patienten aus der Pseudoprogess, wobei ein Score-Wert von einem Patienten für den Tag 43 fehlt. Vice versa wurden in der RPD-Gruppe 20 der 24 Patienten richtig bewertet, da sie einen Score-Wert von unter 5,5 am Tag des ersten CT-Kontrolltages erzielten.

Patienten, die keine progressive Erkrankung zeigen (OR-, PsPr- und SD-Gruppe), zeigen unter Nivolumab eine signifikant längere Überlebenswahrscheinlichkeit. Auch hier bestätigen die Ergebnisse der Überlebenswahrscheinlichkeit die Qualität des prädiktiven Scores. Die Verwendung des Scores anstelle der radiologischen Ansprechgruppenklassifikation ermöglicht eine signifikante Unterscheidung der Patienten, sortiert nach ihrer Überlebenswahrscheinlichkeit ($P = 0,004$). Ein Jahr nach Beginn der Behandlung waren in der RPD-Gruppe nur noch 24% der Patienten am Leben, verglichen mit 73% der Patienten in der "no RPD"-Gruppe (d.h. OR-, PsPr- und SD-Gruppe). Folglich war es dem Score in dieser Patientenkohorte möglich, nicht nur zu unterscheiden, ob es sich um in einen progressiven Krankheitsverlauf handelt, sondern auch das Überleben statistisch signifikant vorherzusagen. Ein derartiges Instrument zur Prognoseeinschätzung fehlt in der Immuntherapie, da es zudem, wie bereits beschrieben, keine sicheren prognostischen Faktoren zur Beurteilung des Therapieansprechens gibt.

4.5 Stärken und Schwächen

Die Stärke dieser Studie liegt darin, dass erstmalig anhand von Laborparametern, ein Score etabliert wurde, der es erlaubt, das Therapieansprechen unter Immuntherapie beim Lungenkarzinom zu bewerten.

Die offensichtlichste Schwäche dieser Studie ist die geringe Anzahl an Patienten. Dies ist unter anderem der Aktualität der Wirkstoffzulassung geschuldet und der daraus resultierenden insgesamt noch kleinen, mit der Immuntherapie behandelten Patientengruppe. Deshalb sollten diese Ergebnisse mit den aggregierten Daten aus einer der großen Phase-III klinischen Studien zur Validierung des dargestellten Ansatzes verwendet werden. Zudem wurden die Daten mittels Post-hoc-Analyse ausgewertet. Dabei liefern die Gruppenmittelwerte die Grundlage für die Bewertung ob sich die Gruppe signifikant unterscheiden. Des Weiteren handelt es sich um eine monozentrische Studie, so dass die Ergebnisse nicht zwanglos auf andere klinische Szenarien zu übertragen sind. Das Bestreben lag darin, einen klinisch praktikablen Score, welche möglichst wenig verschiedene Werte miteinbezieht, zu entwickeln. Dennoch sollte als zusätzliche Schwäche erwähnt werden, dass nur eine begrenzte Anzahl an Parametern auf ihre potenzielle Prädiktion untersucht worden sind.

4.6 Schlussfolgerung

Mit dem vorgeschlagenen Score könnte die Überwachung der Therapie mit Checkpoint-Inhibitoren unterstützt werden. Es ist denkbar, dass die Entscheidung, ob die Behandlung fortgesetzt oder beendet wird, nach der Überprüfung des Scores erleichtert wird. Dies würde dazu führen, dass die Patienten, die von der Therapie profitieren nicht fälschlicherweise auf ein weniger effektives Medikament umgestellt werden würden. Außerdem würde ein Therapieversagen frühzeitiger identifiziert werden. Prospektive Validierung an einem größeren Kollektiv ist notwendig, bevor der Score in die klinische Routine mit aufgenommen werden kann.

5 Zusammenfassung

Das Lungenkarzinom ist nach wie vor ein maligner Tumor mit einer sehr schlechten Prognose. Die Therapie mit Checkpoint-Inhibitoren ist zu einer neuen Perspektive in der Zweitlinienbehandlung von metastasiertem NSCLC geworden. Die Ansprechraten in Phase-III-Studien reichten von 15 bis zu 20%. Ein wichtiges klinisches Problem ist das Phänomen der Pseudoprogression. Dabei handelt es sich um eine initiale Tumormassenerhöhung, obwohl im weiteren Verlauf der Tumor auf die Therapie anspricht. Es wird vermutet, dass bei der Pseudoprogression das Tumorumfang aufgrund eines entzündlichen Prozesses und der einhergehenden Immunzelleninvasion zunimmt. In der klinischen Praxis ist es schwierig, die Pseudoprogression von echtem progressivem Tumorwachstum zu unterscheiden. Ziel der Arbeit war es, durch retrospektive Datenauswertung sich wiederholende Muster zu finden, um Pseudoprogression von progressivem Tumorwachstum zu differenzieren.

Alle Patienten, die in diese Studie eingeschlossen worden sind, wurden in der Lungenfachklinik Immenhausen mit Nivolumab in der zweiten oder weiteren Linie behandelt. Es wurden verschiedene Parameter wie Tumorgrößenveränderung, histologische und zytologische Merkmale, PD-L1-Expression und andere Treiber-Mutationen, Korrelationen von Laborwerten und klinischen Symptomen in die Analysen einbezogen. Die Parameter von zunächst 68 Patienten wurden in die Datenauswertung aufgenommen. Von diesen erhielten 51 mindestens eine CT-Aufnahme nach vier Zyklen der Behandlung und konnten für die weiteren Analysen betrachtet werden.

Gemäß den RECIST 1.1-Kriterien zur Evaluation des Therapieansprechens wurde die Patientenkohorte in vier verschiedene Ansprechgruppen aufgeteilt: Pseudoprogression ($n = 6/11,8\%$), Objective Response ($n = 10/19,6\%$), Stable Disease ($n = 10/19,6\%$) und Real Progressive Disease ($n = 25/49\%$). Von allen ausgewerteten Parametern zeigten nur die Veränderungen von LDH, CRP und Granulozyten/Lymphozyten Verhältnis sowie die Größenveränderung des Tumors im CT-Bild signifikante Unterschiede innerhalb der Ansprechgruppen. Diese Parameter wurden zusammen mit der prozentualen Tumorgrößenänderung gewichtet und in einem Score zusammengefasst.

Der so erarbeitete Score erreichte in ROC-Analysen eine Sensitivität von 92,3%, um diejenigen Patienten zu identifizieren, die nach nur vier Zyklen tatsächlich von Nivolumab profitierten (Spezifität 0,50; AUC 0,80). Zudem reflektiert der Score signifikant die Unterschiede zwischen der RPD- und der OR-Gruppe an den Tagen 43 und 99 ($P = 3,4 \times 10^{-5}$ und $P = 0,00022$).

Wenn sich die Ergebnisse an größeren Kollektiven bestätigen, könnte dieser Score im klinischen Alltag als Hilfsmittel genutzt werden, um frühzeitig bei der Behandlung von Checkpoint-Inhibitoren vorherzusagen, ob der Patient einen Therapienutzen hat oder sich möglicherweise in einem Progress befindet.

6 Anhang

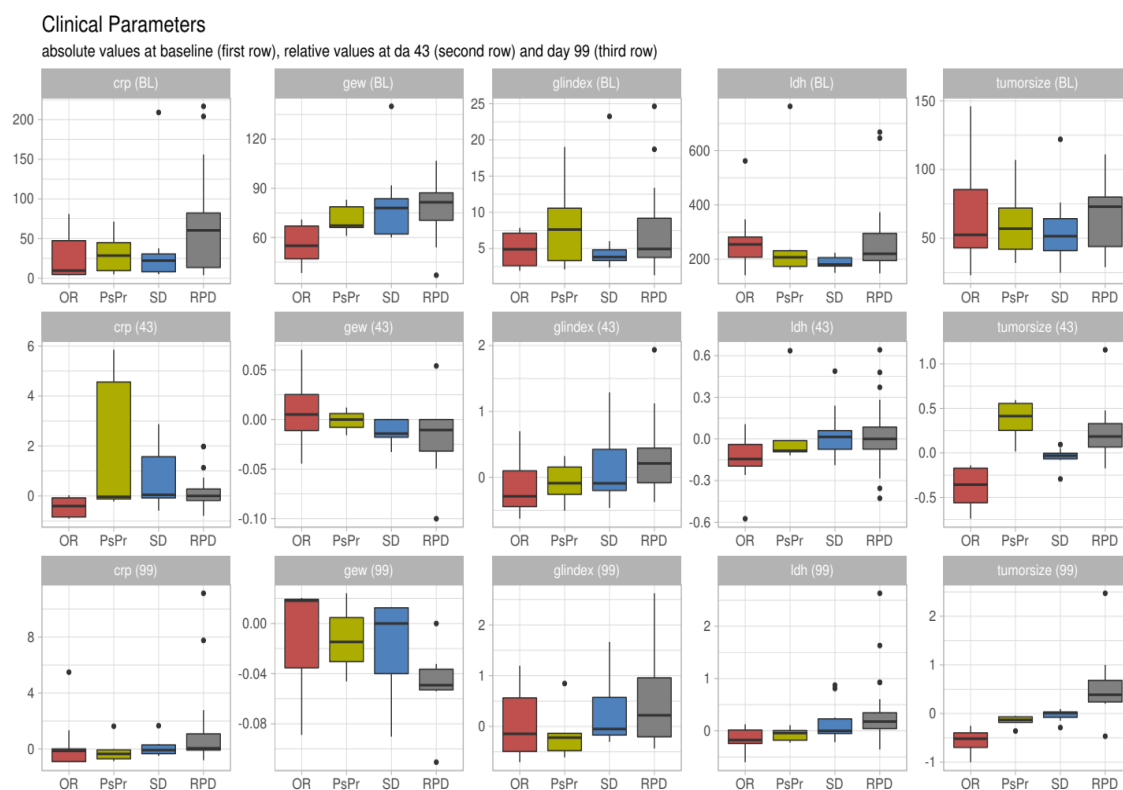


Abbildung A1: Gesamtübersicht von CRP, Gewicht, G/L Index, LDH und Tumorgöße mit dem Ausgangswert und den Werten an den Tagen 43 und 99

Abkürzungen: OR = Objective Response; PsPr = Pseudoprogression; RPD = Real Progressive Disease; SD = Stable Disease; BL = Baseline; CRP = C-reaktives Protein; LDH = Lactatdehydrogenase; G/L = Granulozyten/Lymphozyten; Gew = Gewicht

Tabelle A1. Absolute Werte: C-reaktives Protein [mg/L]

Patient	Tag							
	1	15	29	43	57	71	85	99
1	49	52	41	21	17	11	8	7
2	42	46	5	4	4	4		4
3	156	127	58	39	35	52	65	69
4	81	91	33	8	7	24	8	5
5	55	8	5	5	5	5	5	5
6	5	22	5	5	5	5	5	6
7	107	62	51	73	70	71	46	54
8	6	6	6	5	5	77	5	10
9	49	75	60	47	21	10	13	6

10	5	5	5	28	5	7	6	5
11	204			155				
12	24		15	5	16	5	5	5
13	34	49	53	232	114	173	14	89
14	70	60	44	40	40.8	57	40	68
15	30	76	34	33		60		
16	82	165	125	72	87	98	91	91
17	32	45	48	29	37	36	50	32
18	5	5	5	5	5	5	5	5
19	209	165	135	146	134	111	151	143
20	5	6	5	5	9	6	5	8
21	135	110	127	127	131	95	138	122
22	11	15	9	10	6	7	6	6
23	18	58	10	8	8	37	39	49
24	78	104	112	108	51	45	94	76
25	91	104	117	89				
26	26	54	70	89	89	79	58	34
27	14	26	5	5	7	5	5	13
28	48	51	51	61	73	7	34	160
29	5	11	5	4		3	4	4
30	5	5	5	14	5	5	5	7
31	70	115	18	150	174	146	200	69
32	23	7	53		38	38	5	5
33	38	49	148	146	95		3	32
34	217	200	198	196	191	207		202
35	5	3.9	3.9	3.9	3.8	3.9	3.9	3.7
36	12.9	23	12.3	22.4	19.8	26.6	4	40.8
37	4	4	4	4	4	4	4	4
38	39.9	116.5	33.6	52.8		51.2		68.9
39	7.4	15.4	8	15.3	4.7	16.4	4.3	4.9
40	63.2	5.3	105.9	73.9	3.5	31.4		
41	71.3	84.9	61.4	62.8	54.4		56.7	40
42	48.8	56	21.2	16.5	24.9		20	23.1
43	60.6	59.6	77.1	70.3	59.8			
44	4.6	57.3	3.9	3.9		4.3	4.5	4.3
45	5.7	11.3		5.4	4.3			37
46	5	5.59		14.9	112	45.7		43.8
47	13.6	23.7	26.3	40.5	59.2	55.9	51.5	51.4
48	3.9		3.9	4	3.9	4.3		47.3

49	60.4	72.3	57.2	57.5		62.1	62.9	91
50	4.2	4.4	24.8	4.2	4.6	4.6	4.4	9.8
51	26.9	74.9	62.2	29.3	9.7	20.3	9.2	13.6

Tabelle A2. Absolute Werte: Lactat Dehydrogenase [U/L]

Patient	Tag							
	1	15	29	43	57	71	85	99
1	562	377	297	239	194	194	161	225
2	347	295	347	302	282	233	233	215
3	312	287	274	289	322	354	380	391
4	217	223	190	172	174	152	173	169
5	289	259	251	214	158	150	198	217
6	224	214	199	198	183	182	166	175
7	321	295	283	326	307	264	243	206
8	205	175	218	263	212	207	210	228
9	162	143	158	147	161	131	157	155
10	167	160	178	165	166	160	177	160
11	668			1097				
12	207		196	194	182	156	177	174
13	220	207	205	194	192	252		170
14	148	149	147	158	172	181	150	285
15	646	765	504	416				
16	221	218	209	216	207	202	250	235
17	150	148	157	186	184	194	226	188
18	195	183	183	195	179	203	203	203
19	183	169	178	190	183	198	202	211
20	170	169	158	170	203	200	214	226
21	218	201	199	203	217		178	203
22	223	243	224	181	184	177	189	230
23	178	182	179	187	182	207	249	322
24	172	208	200	236	214	218	208	216
25	220	191	169	169				
26	206	227	207	219	219	195	182	199
27	250	281	203	210	243	245	229	218
28	233	227	260	296	344	323	474	846
29	260	286	272	218		210	207	210
30	177	187	188	175	170	185	166	169
31	295	224	257	211	173.9	279	494	397
32	194	198	167		278	191	206	215

33	174	220	236	259	228		297	326
34	157	161	173	160	182.4	222		252
35	235	228	214	215	247	210	188	182
36	258	260	287	280	327	353	550	679
37	199	216	218	212	219	202	192	224
38	220	215	200	201		244		259
39	205	187	203	203	199	188	195	194
40	304	250	217	174	201	221		242
41	763	942	1188	1248	1131		808	779
42	161	175	181	171	189		169	192
43	373	345	503	456	409			
44	204	207	190	198		193	176	171
45	259	258		241	228			275
46	249	229		229	219	195		203
47	196	224	259	290	298	324	359	378
48	254		241	246	273	274		285
49	178	200	188	174		191	178	196
50	141	143	135	156	146	135	128	155
51	157	175	137	142	131	135	137	145

Tabelle A3. Absolute Werte: Granulozyten [$\times 10^3/\mu\text{L}$]/Lymphozyten ($[\times 10^3/\mu\text{L}]$ Index

Patient	Tag							
	1	15	29	43	57	71	85	99
1	6.67	2.79	2.65	2.48	1.95	2.61	3.08	1.97
2	7.86	10.61	5.96	4.25	4.25	3.44		3.75
3	5.29	5.20	4.45	3.31	4.01	3.06	3.25	4.76
4	2.00	2.86	1.15	1.34	1.20	1.19	1.47	1.94
5	7.49	3.50	2.02	3.11	2.29	2.91	2.20	2.42
6	3.50	2.91	2.71	2.42	2.56	2.48	2.01	2.44
7	8.04	6.83	5.17	7.38	3.22	5.85		6.10
8	2.75	2.79	2.24	2.76	3.25	6.98	2.03	1.94
9	19.02	19.62	17.19	13.38	9.32	10.35	10.28	8.74
10	2.12	2.00	1.64	2.05	1.73	2.12	2.11	1.51
11	3.95			6.84				
12	5.12		3.06	4.04	2.82	4.49	3.90	4.07
13	11.09	10.20	9.25	13.53	19.94	41.10		9.64

14								14.9
	13.39	24.86	15.62	15.80	14.74	14.19	23.61	9
15	4.55	6.68	5.48	5.74				
16	9.18	11.60	12.84	11.12	13.81	9.71	13.65	8.75
17	6.02	8.39	8.38	5.56	5.22	4.92	6.03	5.90
18	3.77	3.71	6.06	4.96	4.90	3.97	4.46	7.12
19								21.3
	23.24	25.72	18.71	18.36	16.00	16.61	21.82	2
20	5.38	6.59	6.31	6.00	7.17	7.70	8.16	9.54
21								17.3
	24.63	22.21	37.48	21.13	29.17	30.62	35.79	5
22	3.80	4.24	3.13	3.40	2.88	3.66	3.61	3.48
23	5.10	3.78	2.74	2.73	3.33	4.11	5.77	5.14
24	1.31	2.09	1.92	1.77	1.40	1.21	1.60	1.15
25	10.37	8.01		8.03				
26	3.28	3.34	5.19	5.19	5.37	4.69	3.16	2.63
27	3.35	3.52	2.89	2.52	2.18	2.61	2.94	4.18
28								13.5
	4.94	6.74	6.54	7.46	7.82	14.59	18.23	3
29	1.93	2.39	1.16	2.02		1.34	1.45	1.43
30	2.50	3.84	3.76	5.07	3.62	3.97	3.16	4.76
31								13.9
	6.21	7.78	8.21	6.15	7.80	11.70	20.49	8
32	6.24	6.58	7.30		4.91	3.43	3.45	2.44
33								10.2
	3.84	2.78	6.09	3.67	3.60		3.80	4
34								22.8
	18.70	25.03	24.47	27.00	25.29	39.41		0
35	2.35	2.95	2.86	3.11	1.72	3.40	1.25	4.35
36	3.93	3.48	3.87	4.09	3.77	3.70	7.68	6.25
37	2.40	4.08	3.17	4.08	4.80	2.88	3.53	4.76
38	12.78	13.86	5.84	9.49	7.53	7.53	7.53	7.23
39	2.37	2.28	2.20	1.97	2.42	2.38	2.34	1.88
40	2.70	2.49	6.00	5.73	5.98	4.39		9.79
41	8.99	5.71	3.69	4.44	4.86	3.58	5.64	7.63
42	2.28	3.26	6.33	6.71	4.62		4.87	5.08
43	9.35	9.69	11.81	11.68	17.68			
44	7.26	7.22	4.30	4.36	4.68	4.58	6.57	4.30
45								13.1
	5.98	4.91	4.99	6.68	5.44			3
46	3.47	5.72		5.72	4.26	8.80		6.80
47	1.97	2.02	2.10	3.28	3.04	4.17	3.87	3.90

48	4.85		4.88	3.46	4.52	3.17		2.98
49	4.36	5.39	4.61	5.31	5.43	4.97	4.82	6.51
50	3.81	4.43	5.96	5.43	5.38	5.54	4.91	6.35
51	4.01	6.33	9.39	9.17	9.81	7.91	7.66	7.05

Tabelle A4. Absolute Werte: Gewicht [kg]

Patient	Tag							
	1	15	29	43	57	71	85	99
1	45	45	44	43	43	42	42	41
2								
3	60	60	60	60	60	60	60	
4	55		54		55		55	56
5	63	63	64	63	62	62		
6	91.8	90.5	90.5	90.5	91	92	91.5	93
7	69	66	66	66.4	64	64		
8								95
	100	100	100	100	100			.1
9	68	68	68	68	68	66	67	67
10	83	83	84	84	84	85	85	85
11	88			83.7				
12								56
			56.3	56.3	56.3	56	56.9	.2
13	66.5	65.4	63.5					
14			54	54	53	53	49	
15	96	96	95	95				
16	83	83	83	83	83	83	83	83
17	76	74.5	74	74.5				
18	93	94	93	92	94	91	90	90
19		59.6		62	60	60	66	68
20	83.2	82.5	83	82	82	81.5	79	74
21			73.8	73.5		72	75.2	
22	60	60	60	60	60	60	60	60
23	80	81.5	81	80	80	81	80	81
24	54		54					
25	85	84						
26								55
	61	61	60	59	58	57.5		.5
27	71	71						
28	72	73	73	71.5				
29	71	66.5						

Patient	Tag							
	1	15	29	43	57	71	85	99
30	62.5	62	61.5	61.5	62	61.5	61	60
31	76							
32	66	67	67		68	64	69	
33	140	140	140	140	140			
34			79.5		78	78		
35	61							
36	106.8	107						
37								
38		85	85	84	83	83	83	83
39					96	94		96 .9
40		80.6	80	78.4	79.5			
41	82.3	82	81	81	77	77	77	78 .5
42		87.4	89.5		86.5	86.5		
43	37	36.6	37	39				
44	49	49	49.5	49.5	50	50	50	50
45								
46	82	83	82	82	82	82		
47	81	80	80	77				77
48	70	65	65	63				
49	74		74	73	72	72		70
50	38.4	38.4	39	41.1	41.1			
51	81	80	80					

7 Literaturverzeichnis

- Abdel-Wahab N, Shah M, Suarez-Almazor ME (2016): Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Blockade in Patients with Cancer: A Systematic Review of Case Reports. *PLoS ONE* 11, e0160221
- Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, Wunderlich JR, Dudley ME, White DE, Rosenberg SA (2009): Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* 114, 1537–1544
- Andreas S, Rittmeyer A, Hinterthaler M, Huber RM (2013): Smoking cessation in lung cancer-achievable and effective. *Dtsch Arzteblatt Int* 110, 719–724
- Aref H, Refaat S (2014): CRP evaluation in non-small cell lung cancer. *Egypt J Chest Dis Tuberc* 63, 717–722
- Aubert RD, Kamphorst AO, Sarkar S, Vezys V, Ha S-J, Barber DL, Ye L, Sharpe AH, Freeman GJ, Ahmed R (2011): Antigen-specific CD4 T-cell help rescues exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 21182–21187
- Bagley SJ, Kothari S, Aggarwal C, Bauml JM, Alley EW, Evans TL, Kosteva JA, Ciunci CA, Gabriel PE, Thompson JC, et al. (2017): Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as a marker of outcomes in nivolumab-treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 106, 1–7
- Becher H, Belau M, Winkler V, Aigner A (2017): Estimating lung cancer mortality attributable to second hand smoke exposure in Germany. *Int J Public Health* 63, 367–375
- Berry S, Taube JM (2015): Innate vs. Adaptive: PD-L1-mediated immune resistance by melanoma. *Oncoimmunology* 4, e1029704
- Bethune G, Bethune D, Ridgway N, Xu Z (2010): Epidermal growth factor receptor (EGFR) in lung cancer: an overview and update. *J Thorac Dis* 2, 48–51
- Borghaei H, Smith MR, Campbell KS (2009): Immunotherapy of cancer. *Eur J Pharmacol* 625, 41–54
- Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, Chow LQ, Vokes EE, Felip E, Holgado E, et al. (2015): Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Non-squamous Non-small Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 373, 1627–1639
- Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WEE, Poddubskaya E, Antonia S, Pluzanski A, Vokes EE, Holgado E, et al. (2015): Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 373, 123–135

- Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, Sharpe AH, Freeman GJ (2007): Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity* 27, 111–122
- Cacho-Díaz B, Lorenzana-Mendoza NA, Reyes-Soto G, Hernández-Estrada A, Monroy-Sosa A, Guraieb-Chahin P, Cantu-de-León D (2018): Lactate dehydrogenase as a prognostic marker in neoplastic meningitis. *J Clin Neuroscience* 51, 39-42
- Capelozzi VL (2009): Role of immunohistochemistry in the diagnosis of lung cancer. *J Bras Pneumol* 35, 375–382
- Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, Creelan B, Horn L, Steins M, Felip E, van den Heuvel MM, Ciuleanu T-E, Badin F, et al. (2017): First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 376, 2415–2426
- Carter BW, Glisson BS, Truong MT, Erasmus JJ (2014): Small cell lung carcinoma: staging, imaging, and treatment considerations. *Radiogr* 34, 1707–1721
- Carter CA, Schmitz B, Peterson PG, Quinn M, Degesys A, Jenkins J, Oronsky B, Scicinski J, Caroen S, Reid TR, et al. (2016): Immune Reactivity and Pseudoprogression or Tumor Flare in a Serially Biopsied Neuroendocrine Patient Treated with the Epigenetic Agent RRx-001. *Case Rep Oncol* 9, 164–170
- Cellsignal.com: PI3K/Akt Signaling Interactive Pathway (2017); Zugriff am 20.09.2017
- Champiat S, Dercle L, Ammari S, Massard C, Hollebecque A, Postel-Vinay S, Chaput N, Eggermont A, Marabelle A, Soria J-C, Ferte C (2017): Hyperprogressive Disease Is a New Pattern of Progression in Cancer Patients Treated by Anti-PD-1/PD-L1. *Clin Cancer Res* 23, 1920–1928
- Chan BA, Hughes BGM (2015): Targeted therapy for non-small cell lung cancer: current standards and the promise of the future. *Transl Lung Cancer Res* 4, 36–54
- Chen DS, Mellman I (2017): Elements of cancer immunity and the cancer–immune set point. *Nature* 541, 321-330
- Chiou VL, Burotto M (2015): Pseudoprogression and Immune-Related Response in Solid Tumors. *J Clin Oncol* 33, 3541–3543
- CLCGP-The Clinical Lung Cancer Genome Project and (NGM) Network Genomic Medicine (2013): A Genomics-Based Classification of Human Lung Tumors. *Sci Transl Med* 5, 209ra153-209ra153
- Davies AM, Sutton BJ (2015): Human IgG4: a structural perspective. *Immunol Rev* 268, 139–159
- de-Torres JP, Wilson DO, Sanchez-Salcedo P, Weissfeld JL, Berto J, Campo A, Alcaide AB, García-Granero M, Celli BR, Zulueta JJ (2015): Lung Cancer in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Development and Validation of the COPD Lung

- Cancer Screening Score. *Am J Respir Crit Care Med* 191, 285–291
- Drugs.com (2017): Opdivo approval history; Zugriff am 17.09.2017
- Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD (2004): The Three Es of Cancer Immunoediting. *Annu Rev Immunol* 22, 329–360
- Eberhardt WEE, Mitchell A, Crowley J, Kondo H, Kim YT, Turrisi A, Goldstraw P, Rami-Porta R (2015): The IASLC Lung Cancer Staging Project. *J Thorac Oncol* 10, 1515–1522
- Egleston BL, Meireles SI, Flieder DB, Clapper ML (2009): Population-based Trends in Lung Cancer Incidence in Women. *Semin Oncol* 36, 506–515
- Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, et al. (2009): New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 45, 228–247
- Ettinger DS, Wood DE, Aisner DL, Akerley W, Bauman J, Chirieac LR, D’Amico TA, DeCamp MM, Dilling TJ, Dobelbower M, et al. (2017): Non–Small Cell Lung Cancer, Version 5.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 15, 504–535
- Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanzetz M, Vansteenkiste J, Mazieres J, Park K, Smith D, Artal-Cortes A, Lewanski C, et al. (2016): Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet* 387, 1837–1846
- Ferris RL, Blumenschein GJ, Fayette J, Guigay J, Colevas AD, Licitra L, Harrington K, Kasper S, Vokes EE, Even C, et al. (2016): Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *N Engl J Med* 375, 1856–1867
- Fife BT, Bluestone JA (2008): Control of peripheral T-cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways. *Immunol Rev* 224, 166–182
- Fong L, Small EJ (2008): Anti-cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 antibody: the first in an emerging class of immunomodulatory antibodies for cancer treatment. *J Clin Oncol* 26, 5275–5283
- Francisco LM, Salinas VH, Brown KE, Vanguri VK, Freeman GJ, Kuchroo VK, Sharpe AH (2009): PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J Exp Med* 206, 3015–3029
- Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, Fitz LJ, Malenkovich N, Okazaki T, Byrne MC, et al. (2000): Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med* 192, 1027–1034
- Furger P: Labor quick: Laborwerte und Laborbefunde von A - Z, Differenzialdiagnose,

- Labormedizin. 2. vollständig überarbeitete Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2014
- Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leighl N, Balmanoukian AS, Eder JP, Patnaik A, Aggarwal C, Gubens M, Horn L, et al. (2015): Pembrolizumab for the Treatment of Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 372, 2018–2028
- Gettinger SN, Horn L, Gandhi L, Spigel DR, Antonia SJ, Rizvi NA, Powderly JD, Heist RS, Carvajal RD, Jackman DM, et al. (2015): Overall Survival and Long-Term Safety of Nivolumab (Anti-Programmed Death 1 Antibody, BMS-936558, ONO-4538) in Patients With Previously Treated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 33, 2004–2012
- Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, Rami-Porta R, Asamura H, Eberhardt WEE, Nicholson AG, Groome P, Mitchell A, Bolejack V, et al. (2016): The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 11, 39–51
- Hanahan D, Weinberg RA (2011): Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* 144, 646–674
- He J, Hu Y, Hu M, Li B (2015): Development of PD-1/PD-L1 Pathway in Tumor Immune Microenvironment and Treatment for Non-Small Cell Lung Cancer. *Sci Rep* 5, 13110
- Herbst RS, Baas P, Kim D-W, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han J-Y, Molina J, Kim J-H, Arvis CD, Ahn M-J, et al. (2016): Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet* 387, 1540–1550
- Herold G: Innere Medizin. Gerd Herold (Verlag), Köln 2018
- Hu Y-B, Zhang Q, Li H-J, Michot JM, Liu H-B, Zhan P, Lv T-F, Song Y, written on behalf of the AME Academic Lung Cancer Cooperation Group (2017): Evaluation of rare but severe immune related adverse effects in PD-1 and PD-L1 inhibitors in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Transl Lung Cancer Res* 6, S8–S20
- Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T (1992): Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J* 11, 3887–3895
- Kato R, Hayashi H, Tanizaki J, Tanaka K, Takeda M, Nakagawa K (2017): Peritumoural ground-glass opacity associated with tumour pseudoprogression in a patient with non-small cell lung cancer treated with nivolumab. *ESMO Open* 2, e000145
- Keir ME, Liang SC, Guleria I, Latchman YE, Qipo A, Albacker LA, Koulmanda M, Freeman GJ, Sayegh MH, Sharpe AH (2006): Tissue expression of PD-L1 mediates peripheral T cell tolerance. *J Exp Med* 203, 883–895

- Kempf E, Rousseau B, Besse B, Paz-Ares L (2016): KRAS oncogene in lung cancer: focus on molecularly driven clinical trials. *Eur Respir Rev* 25, 71–76
- Kenfield SA, Wei EK, Stampfer MJ, Rosner BA, Colditz GA (2008): Comparison of Aspects of Smoking Among Four Histologic Types of Lung Cancer. *Tob Control* 17, 198–204
- Kerr KM, Tsao M-S, Nicholson AG, Yatabe Y, Wistuba II, Hirsch FR (2015): Programmed Death-Ligand 1 Immunohistochemistry in Lung Cancer: In what state is this art? *J Thorac Oncol* 10, 985–989
- Kim JH, Kim HS, Kim BJ (2017): Prognostic value of KRAS mutation in advanced non-small-cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors: A meta-analysis and review. *Oncotarget* 8, 48248–48252
- Kolla BC, Patel MR (2016): Recurrent pleural effusions and cardiac tamponade as possible manifestations of pseudoprogression associated with nivolumab therapy- a report of two cases. *J Immunother Cancer* 4, 80
- Lau J, Cheung J, Navarro A, Lianoglou S, Haley B, Totpal K, Sanders L, Koeppen H, Caplazi P, McBride J, et al. (2017): Tumour and host cell PD-L1 is required to mediate suppression of anti-tumour immunity in mice. *Nat Commun* 8, 14572-14583
- Lee CK, Man J, Lord S, Links M, GebSKI V, Mok T, Yang JC-H (2017): Checkpoint Inhibitors in Metastatic EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer-A Meta-Analysis. *J Thorac Oncol* 12, 403–407
- Lee S, Choe J-W, Kim H-K, Sung J (2011): High-Sensitivity C-Reactive Protein and Cancer. *J Epidemiol* 21, 161–168
- Li Q, Wu T, Jing L, Li M-J, Tian T, Ruan Z-P, Liang X, Nan K-J, Liu Z-Y, Yao Y, Guo H (2017): Angiogenesis inhibitors for the treatment of small cell lung cancer (SCLC). *Medicine (Baltimore)* 96, e6412
- Li W, Tse LA, Au JSK, Wang F, Qiu H, Yu IT-S (2016): Secondhand Smoke Enhances Lung Cancer Risk in Male Smokers: An Interaction. *Nicotine Tob Res* 18, 2057–2064
- Marzec M, Zhang Q, Goradia A, Raghunath PN, Liu X, Paessler M, Wang HY, Wysocka M, Cheng M, Ruggeri BA, Wasik MA (2008): Oncogenic kinase NPM/ALK induces through STAT3 expression of immunosuppressive protein CD274 (PD-L1, B7-H1). *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 20852–20857
- Mellman I, Coukos G, Dranoff G (2011): Cancer immunotherapy comes of age. *Nature* 480, 480–489
- Merck.com (2017): European commission approves keytruda (pembrolizumab) for first-line treatment of patients with metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC) whose tumors have high PD-L1 Expression with no EGFR or ALK positive tumor mutations; Zugriff am 23.04.2017

- Mezquita L, Auclin E, Ferrara R, Charrier M, Remon J, Planchard D, Ponce S, Ares LP, Leroy L, Audigier-Valette C, et al. (2018): Association of the Lung Immune Prognostic Index With Immune Checkpoint Inhibitor Outcomes in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol* 4, 351-357
- Molina JR, Yang P, Cassivi SD, Schild SE, Adjei AA (2008): Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Treatment, and Survivorship. *Mayo Clin Proc* 83, 584–594
- Mons U, Pust S, Pötschke-Langer M: Frauen und Rauchen in Deutschland. Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg 2008
- Moya-Horno I, Viteri S, Karachaliou N, Rosell R (2018): Combination of immunotherapy with targeted therapies in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *Ther Adv Med Oncol* 10, 1758834017745012
- Murphy K, Weaver C (Hrsg.): Janeway's immunobiology. 9. Auflage; Garland Science/Taylor & Francis Group, LLC, New York 2016
- Naidoo J, Page DB, Li BT, Connell LC, Schindler K, Lacouture ME, Postow MA, Wolchok JD (2015): Toxicities of the anti-PD-1 and anti-PD-L1 immune checkpoint antibodies. *Ann Oncol* 26, 2375–2391
- Nakatani Y, Yonemori Y, Matsushima J, Yazawa T: Classification of adenocarcinoma of the lung with a special reference to prognosis. In: Takiguchi Y (Hrsg.): *Molecular Targeted Therapy of Lung Cancer*. Springer Singapore, Singapore 2017, 3-28
- Nasseri M, Gahramanov S, Netto JP, Fu R, Muldoon LL, Varallyay C, Hamilton BE, Neuwelt EA (2014): Evaluation of pseudoprogression in patients with glioblastoma multiforme using dynamic magnetic resonance imaging with ferumoxytol calls RANO criteria into question. *Neuro Oncol* 16, 1146–1154
- Niederhuber JE, Armitage JO, Doroshow JH, Kastan MB, Tepper JE: *Abeloff's clinical oncology*. 5. Auflage; Elsevier, Philadelphia 2014
- Nishino M (2016): Immune-related response evaluations during immune-checkpoint inhibitor therapy: establishing a “common language” for the new arena of cancer treatment. *J Immunother Cancer* 4, 30
- Nishino M, Gargano M, Suda M, Ramaiya NH, Hodi FS (2014): Optimizing immune-related tumor response assessment: does reducing the number of lesions impact response assessment in melanoma patients treated with ipilimumab? *J Immunother Cancer* 2, 17
- North CM, Christiani DC (2013): Women and Lung Cancer: What's New? *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 25, 87-94
- Öberg M, Jaakkola MS, Woodward A, Peruga A, Prüss-Ustün A (2011): Worldwide burden

- of disease from exposure to second-hand smoke: a retrospective analysis of data from 192 countries. *Lancet* 377, 139–146
- Okazaki T, Honjo T (2007): PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int Immunol* 19, 813–824
- Oncotrends.de (2017): Nivolumab BMS (Nivolumab) erhält EU-Zulassung beim lokal fortgeschrittenen oder metastasierten nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom mit plattenepithelialer Histologie nach Chemotherapie; Zugriff am 20.09.2017
- Pardoll DM (2012): The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 12, 252–264
- Parsa AT, Waldron JS, Panner A, Crane CA, Parney IF, Barry JJ, Cachola KE, Murray JC, Tihan T, Jensen MC, et al. (2007): Loss of tumor suppressor PTEN function increases B7-H1 expression and immunoresistance in glioma. *Nat Med* 13, 84–88
- Parsons A, Daley A, Begh R, Aveyard P (2010): Influence of smoking cessation after diagnosis of early stage lung cancer on prognosis: systematic review of observational studies with meta-analysis. *BMJ* 340, b5569
- Paz-Ares L, Brahmer J, Hellmann MD, Reck M, O’Byrne K, Borghaei H, Geese WJ, Lu H, Nathan FE, Ramalingam S (2017): 144TiPCheckMate 227: A randomized, open-label phase 3 trial of nivolumab, nivolumab plus ipilimumab, or nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy in chemotherapy-naïve patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *Ann Oncol* 28 Suppl 2, mdx091.064
- Pearce A, Haas M, Viney R, Pearson S-A, Haywood P, Brown C, Ward R (2017): Incidence and severity of self-reported chemotherapy side effects in routine care: A prospective cohort study. *PLoS ONE* 12, e0184360
- Peng T-R, Tsai F-P, Wu T-W (2017): Indirect comparison between pembrolizumab and nivolumab for the treatment of non-small cell lung cancer: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Int Immunopharmacol* 49, 85–94
- Peters S, Camidge DR, Shaw AT, Gadgeel S, Ahn JS, Kim D-W, Ou S-HI, Pérol M, Dziadziuszko R, Rosell R, et al. (2017): Alectinib versus Crizotinib in Untreated *ALK*-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 377, 829–838
- Petersen I, Dietel M, Geilenkeuser WJ, Mireskandari M, Weichert W, Steiger K, Scheel AH, Büttner R, Schirmacher P, Warth A, et al. (2017): EGFR immunohistochemistry as biomarker for antibody-based therapy of squamous NSCLC - Experience from the first ring trial of the German Quality Assurance Initiative for Pathology (QuIP®). *Pathol Res Pract* 213, 1530–1535
- Popper H, Soltermann A, Bubendorf L, Petersen I: Lunge. In: Böcker W, Denk H, Heitz PU, Moch H, Höfler G, Kreipe H (Hrsg.): *Pathologie*. 5. Auflage; Urban&Fischer/Elsevier, München 2012, 476-513

- Qin T, Zeng Y, Qin G, Xu F, Lu J, Fang W, Xue C, Zhan J, Zhang X, Zheng Q, et al. (2015): High PD-L1 expression was associated with poor prognosis in 870 Chinese patients with breast cancer. *Oncotarget* 6, 33972–33981
- Rami-Porta R, Bolejack V, Goldstraw P (2011): The New Tumor, Node, and Metastasis Staging System. *Semin Respir Crit Care Med* 32, 044–051
- Rami-Porta R, Bolejack V, Crowley J, Ball D, Kim J, Lyons G, Rice T, Suzuki K, Thomas CF, Travis WD, Wu Y-L (2015): The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revisions of the T Descriptors in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 10, 990–1003
- Rangachari D, VanderLaan PA, Shea M, Le X, Huberman MS, Kobayashi SS, Costa DB (2017): Correlation between Classic Driver Oncogene Mutations in EGFR, ALK, or ROS1 and 22C3-PD-L1 $\geq 50\%$ Expression in Lung Adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 12, 878–883
- Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, Gottfried M, Peled N, Tafreshi A, Cuffe S, et al. (2016): Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 375, 1823–1833
- Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, Pawel J von, Gadgeel SM, Hida T, Kowalski DM, Dols MC, et al. (2017): Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 389, 255–265
- Rizvi N, Barlesi F, Brahmer J, Felip E, Forde P, Garassino M, Goldberg S, Vansteenkiste J, Jankowski A, McIntosh S, et al. (2015): Phase III, randomized, open-label study of durvalumab (MEDI4736) in combination with tremelimumab or durvalumab alone versus platinum-based chemotherapy in first-line treatment of patients with advanced/metastatic NSCLC: MYSTIC. *J Immunother Cancer* 3, P171
- Robert Koch-Institut: Krebs in Deutschland 2011/2012. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Robert Koch-Institut, Berlin 2015
- Rosenberg SA (2012): Raising the bar: the curative potential of human cancer immunotherapy. *Sci Transl Med* 4, 127ps8
- Scheel AH, Dietel M, Heukamp LC, Jöhrens K, Kirchner T, Reu S, Rüschoff J, Schildhaus H-U, Schirmacher P, Tiemann M, et al. (2016): Harmonized PD-L1 immunohistochemistry for pulmonary squamous-cell and adenocarcinomas. *Mod Pathol* 29, 1165–1172
- Scheel AH, Baenfer G, Baretton G, Dietel M, Diezko R, Henkel T, Heukamp LC, Jasani B, Jöhrens K, Kirchner T, et al. (2018): Interlaboratory concordance of PD-L1 immunohistochemistry for non-small-cell lung cancer. *Histopathology* 72, 449–459
- Schildhaus H-U, Schultheis AM, Rüschoff J, Binot E, Merkelbach-Bruse S, Fassunke J, Schulte W, Ko Y-D, Schlesinger A, Bos M, et al. (2015): MET amplification status in

- therapy-naïve adeno- and squamous cell carcinomas of the lung. *Clin Cancer Res* 21, 907–915
- Schliep S, Agaimy A, Cavallaro A, Kiesewetter F, Schuler G, Heinzerling L (2018): Concealed complete response in melanoma patients under therapy with immune checkpoint inhibitors: two case reports. *J Immunother Cancer* 6, 2
- Seymour L, Bogaerts J, Perrone A, Ford R, Schwartz LH, Mandrekar S, Lin NU, Litière S, Dancey J, Chen A, et al. (2017): iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics. *Lancet Oncol* 18, e143–e152
- Sfanos KS, Bruno TC, Meeker AK, De Marzo AM, Isaacs WB, Drake CG (2009): Human prostate-infiltrating CD8+ T lymphocytes are oligoclonal and PD-1+. *Prostate* 69, 1694–1703
- Sgambato A, Casaluce F, Maione P, Rossi A, Ciardiello F, Gridelli C (2014): Cetuximab in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): the showdown? *J Thorac Dis* 6, 578–580
- Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, Fujiwara S, Watanabe H, Kurashina K, Hatanaka H, et al. (2007): Identification of the transforming EML4–ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 448, 561–566
- Solinas C, Porcu M, Hlavata Z, Silva PD, Puzzone M, Willard-Gallo K, Scartozzi M, Saba L (2017): Critical features and challenges associated with imaging in patients undergoing cancer immunotherapy. *Crit Rev Oncol Hematol* 120, 13–21
- Soria J-C, Tan DSW, Chiari R, Wu Y-L, Paz-Ares L, Wolf J, Geater SL, Orlov S, Cortinovis D, Yu C-J, et al. (2017): First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet* 389, 917–929
- Sullivan RJ, LoRusso PM, Flaherty KT (2013): The intersection of immune-directed and molecularly targeted therapy in advanced melanoma: Where we have been, are, and will be. *Clin Cancer Res* 19, 5283–5291
- Taube JM, Anders RA, Young GD, Xu H, Sharma R, McMiller TL, Chen S, Klein AP, Pardoll DM, Topalian SL, Chen L (2012): Colocalization of Inflammatory Response with B7-H1 Expression in Human Melanocytic Lesions Supports an Adaptive Resistance Mechanism of Immune Escape. *Sci Transl Med* 4, 127ra37
- Tian M, Zhang Y, Liu Z, Sun G, Mor G, Liao A (2016): The PD-1/PD-L1 inhibitory pathway is altered in pre-eclampsia and regulates T cell responses in pre-eclamptic rats. *Sci Rep* 6, 27683
- Timofeeva MN, Hung RJ, Rafnar T, Christiani DC, Field JK, Bickeböller H, Risch A, McKay JD, Wang Y, Dai J, et al. (2012): Influence of common genetic variation on lung cancer risk: meta-analysis of 14 900 cases and 29 485 controls. *Hum Mol Genet* 21, 4980–

4995

- Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, Chirieac LR, Dacic S, Duhig E, Flieder DB, et al. (2015): The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors. *J Thorac Oncol* 10, 1243–1260
- Velu V, Titanji K, Zhu B, Husain S, Pladevega A, Lai L, Vanderford TH, Chennareddi L, Silvestri G, Freeman GJ, et al. (2009): Enhancing SIV-specific immunity in vivo by PD-1 blockade. *Nature* 458, 206–210
- Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, Smyth MJ (2011): Natural Innate and Adaptive Immunity to Cancer. *Annu Rev Immunol* 29, 235–271
- Villaruz LC, Socinski MA (2013): The Clinical Viewpoint: Definitions, Limitations of RECIST, Practical Considerations of Measurement. *Clin Cancer Res* 19, 2629–2636
- Von Laffert M, Warth A, Penzel R, Schirmacher P, Jonigk D, Kreipe H, Schildhaus H-U, Merkelbach-Bruse S, Büttner R, Reu S, et al. (2013): Anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene rearrangement in non-small cell lung cancer (NSCLC): results of a multi-centre ALK-testing. *Lung Cancer* 81, 200–206
- Wang C, Thudium KB, Han M, Wang X-T, Huang H, Feingersh D, Garcia C, Wu Y, Kuhne M, Srinivasan M, et al. (2014): In vitro characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and in vivo toxicology in non-human primates. *Cancer Immunol Res* 2, 846–856
- Wang GX, Guo LQ, Gainor JF, Fintelman FJ (2017): Immune Checkpoint Inhibitors in Lung Cancer: Imaging Considerations. *AJR Am J Roentgenol* 209, 567–575
- Wao H, Mhaskar R, Kumar A, Miladinovic B, Djulbegovic B (2013): Survival of patients with non-small cell lung cancer without treatment: a systematic review and meta-analysis. *Syst Rev* 2, 10
- Weide B, Martens A, Hassel JC, Berking C, Postow MA, Bisschop K, Simeone E, Mangana J, Schilling B, Giacomo AMD, et al. (2016): Baseline Biomarkers for Outcome of Melanoma Patients Treated with Pembrolizumab. *Clin Cancer Res* 15, 5487–5496
- Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, Weber JS, Hamid O, Lebbé C, Maio M, Binder M, Bohnsack O, Nichol G, et al. (2009): Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. *Clin Cancer* 15, 7412–7420
- Yamaguchi Y: Overview of current cancer immunotherapy. In: Yamaguchi Y (Hrsg.): *Immunotherapy of cancer: an innovative treatment comes of age*. Springer Japan, Tokyo 2016, 3-17
- Yu S-L, Xu L-T, Qi Q, Geng Y-W, Chen H, Meng Z-Q, Wang P, Chen Z (2017): Serum lactate dehydrogenase predicts prognosis and correlates with systemic inflammatory response in patients with advanced pancreatic cancer after gemcitabine-based

chemotherapy. *Sci Rep* 7, 45194

Yu Y-Y, Pinsky PF, Caporaso NE, Chatterjee N, Baumgarten M, Langenberg P, Furuno JP, Lan Q, Engels EA (2008): Lung Cancer Risk Following Detection of Pulmonary Scarring by Chest Radiography in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial. *Arch Intern Med* 168, 2326–2332

Danksagung

Ich bedanke mich sehr bei dem Leiter des Bereiches Pneumologie-Forschung und Lehre der Klinik für Kardiologie und Pneumologie der Universitätsmedizin Göttingen und ärztlichem Leiter der Lungenfachklinik Immenhausen, Herrn Prof. Dr. Stefan Andreas, für das Überlassen des Themas, die Möglichkeit der Durchführung der Untersuchungen sowie für die hervorragende Betreuung während der Arbeit; großen Dank für das Engagement im Zuge der Publikation sowie der kritischen Auseinandersetzung und der Durchsicht meiner Dissertation.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. Achim Rittmeyer für die enorme Unterstützung. Jederzeit gewährte er mir bei der Planung, Durchführung und Auswertung der vorliegenden Arbeit außerordentlich sachkundige, erfahrene und wertvolle Unterstützung. Diese umfangreiche und zeitintensive Hilfe trug maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit und auch der Publikation bei.

Zudem danke ich Herrn Prof. Dr. Hans-Ulrich Schildhaus für die wissenschaftliche Betreuung und die Bereitstellung der pathologischen Befunde.

Weiterhin gilt mein Dank den Mitarbeitern der Lungenfachklinik Immenhausen, insbesondere den Ärzten auf der Station III, die mich während der Recherchearbeit unterstützt haben.

Dank gebührt auch den studentischen Hilfskräften im Institut für Statistik für die aufschlussreiche Einführung in die medizinische Statistik und Hilfestellung bei der Bearbeitung der Datensätze mit Statistica. Zudem möchte ich mich bei Herrn Dr. Andreas Leha aus dem Institut für medizinische Statistik für die Zusammenarbeit zur Erstellung der fundierten statistischen Ergebnisse bedanken.