

Aus der
Neurologischen Universitätsklinik Tübingen
Abteilung Neurologie mit Interdisziplinärem
Schwerpunkt Neuroonkologie

**Retrospektive Analyse molekulargenetischer Alterationen
und des klinischen Verlaufs neuroonkologischer
PatientInnen nach
Immuneckpoint-Inhibitor-Behandlung**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Hirt, Mona Elisabeth

2023

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professorin Dr. Dr. G. Tabatabai

2. Berichterstatter: Professorin Dr. L. Quintanilla Martinez de Fend

Tag der Disputation: 09.10.2023

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| Tabellenverzeichnis | 4 |
| Abbildungsverzeichnis | 6 |
| Abkürzungsverzeichnis | 7 |
| 1 Einleitung | 12 |
| 1.1 Gliome | 12 |
| 1.1.1 Diagnostik | 12 |
| 1.1.2 Histologie und Molekulargenetik | 13 |
| 1.1.3 Therapie | 15 |
| 1.1.4 Nachsorge, Verlaufskontrollen | 17 |
| 1.2 Immuncheckpoint-Inhibition | 18 |
| 1.2.1 Wirkmechanismus | 19 |
| 1.2.2 Indikationen | 21 |
| 1.2.3 Nebenwirkungen | 22 |
| 1.3 Genetik bei Tumoren | 23 |
| 1.3.1 Personalisierte Medizin / zielgerichtete Therapien | 25 |
| 1.4 Fragestellung | 25 |
| 2 Material und Methoden | 27 |
| 2.1 Übersicht Patientenkollektiv | 27 |
| 2.1.1 Erhebung klinischer Daten und Follow-up | 28 |
| 2.2 Therapie mit Immuncheckpoint-Inhibitoren | 30 |
| 2.3 Neuropathologische Analyse | 32 |
| 2.4 Erweiterte molekulare Diagnostik – Tumorpanel-Sequenzierung | 33 |
| 2.4.1 DNA-Sequenzierung und bioinformatische Auswertung | 37 |
| 2.4.1.1 Auswertung der genetischen Daten | 38 |
| 2.4.1.2 Bewertung im Rahmen der vorliegenden Arbeit | 39 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 2.4.2 | Weitere molekulargenetische Analysen..... | 39 |
| 3 | Ergebnisse | 41 |
| 3.1 | Übersicht Patientenkollektiv | 41 |
| 3.2 | Progression | 51 |
| 3.2.1 | Frühe Progression | 56 |
| 3.2.2 | Keine frühe Progression | 58 |
| 3.3 | Mutationslast | 60 |
| 3.3.1 | Patienten mit hoher Mutationslast..... | 64 |
| 3.3.2 | Patienten mit niedriger oder intermediärer Mutationslast | 67 |
| 3.4 | Patienten mit mehreren Tumorproben..... | 69 |
| 3.4.1 | Patient GL-ICI-2 | 71 |
| 3.4.1.1 | Genetische Daten Patient GL-ICI-2 | 72 |
| 3.4.2 | Patient GL-ICI-5 | 74 |
| 3.4.2.1 | Genetische Daten Patient GL-ICI-5 | 75 |
| 3.4.3 | Patient GL-ICI-8 | 77 |
| 3.4.3.1 | Genetische Daten Patient GL-ICI-8 | 77 |
| 3.4.4 | Patient GL-ICI-9 | 80 |
| 3.4.4.1 | Genetische Daten Patient GL-ICI-9 | 80 |
| 3.4.5 | Wiederholtes Auftreten von molekulargenetischen Veränderungen bei mehreren Tumorproben | 83 |
| 3.5 | Auswertung genetischer Daten des Patientenkollektivs..... | 84 |
| 3.5.1 | MMR-Gene und hohe Mutationslast | 89 |
| 4 | Diskussion..... | 91 |
| 4.1 | Wesentliche Ergebnisse der Arbeit | 91 |
| 4.2 | Diskussion und Einordnung der Ergebnisse..... | 94 |
| 4.2.1 | Klinischer Verlauf / Therapieansprechen | 94 |
| 4.2.2 | Mutationslast als Biomarker | 101 |
| 4.2.3 | Hypothesen für weitere prädiktive Biomarker | 106 |
| 4.3 | Grenzen und Einschränkungen der Arbeit | 110 |

| | | |
|----------|---------------------------------------|------------|
| 4.4 | Ausblick | 114 |
| 5 | Zusammenfassung | 118 |
| 6 | Literaturverzeichnis..... | 120 |
| 7 | Erklärung zum Eigenanteil..... | 135 |
| 8 | Anhang | 137 |
| 9 | Danksagung | 154 |

In der vorliegenden Arbeit wird aus Gründen der besseren Lesbarkeit das generische Maskulinum verwendet, wobei alle Geschlechter gleichermaßen gemeint sind.

Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 1: Übersicht Gewebedaten der einzelnen Patienten | 35 |
| Tabelle 2: Klinische Charakteristika des Patientenkollektivs | 41 |
| Tabelle 3: Vortherapien der einzelnen Patienten vor Beginn der Immuncheckpoint-Inhibition | 48 |
| Tabelle 4: Übersicht progressionsfreies und Gesamtüberleben nach Beginn der Immuncheckpoint-Blockade im Kollektiv..... | 51 |
| Tabelle 5: Vergleich klinischer Daten zwischen Patienten mit früher und Patienten ohne frühe Progression | 55 |
| Tabelle 6: Vergleich klinischer Daten zwischen Patienten mit hoher und denen mit niedriger / intermediärer Mutationslast..... | 62 |
| Tabelle 7: Übersicht Patienten mit zwei sequenzierten Tumorproben..... | 69 |
| Tabelle 8: SNVs Patient GL-ICI-2 | 72 |
| Tabelle 9: CNVs Patient GL-ICI-2..... | 73 |
| Tabelle 10: SNVs Patient GL-ICI-5 | 75 |
| Tabelle 11: CNVs Patient GL-ICI-5..... | 75 |
| Tabelle 12: Expression der veränderten Gene in der Tumorprobe GL-ICI-5 (Transkriptomanalyse)..... | 76 |
| Tabelle 13: SNVs Patient GL-ICI-8 | 77 |

| | |
|--|-----|
| Tabelle 14: CNVs Patient GL-ICI-8..... | 79 |
| Tabelle 15: SNVs Patient GL-ICI-9 | 80 |
| Tabelle 16: CNVs Patient GL-ICI-9..... | 82 |
| Tabelle 17: Gene des Somatischen Tumorpanels, Version 3..... | 137 |
| Tabelle 18: Gene des Somatischen Tumorpanels, Version 4..... | 139 |
| Tabelle 19: Klinische und genetische Daten der einzelnen Patienten | 142 |
| Tabelle 20: Häufig detektierte SNVs im Tumorgewebe (Ergänzung zu Abbildung 9) | 146 |
| Tabelle 21: Häufig detektierte CNVs (Deletionen) im Tumorgewebe (Ergänzung zu Abbildung 9) | 149 |
| Tabelle 22: Häufig detektierte CNVs (Amplifikationen) im Tumorgewebe (Ergänzung zu Abbildung 9) | 150 |
| Tabelle 23: Detektierte Veränderungen in MMR-Genen im Kollektiv | 151 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abbildung 1: CONSORT-Diagramm Behandlung mit Immuncheckpoint-Inhibitoren im Patientenkollektiv | 32 |
| Abbildung 2: Diagramm Durchführung der Tumorsequenzierungen | 34 |
| Abbildung 3: Vergleich progressionsfreies und Gesamtüberleben nach Beginn der Immuncheckpoint-Therapie (Angabe des Median-Wertes)... | 54 |
| Abbildung 4: Progressionsfreies und Gesamtüberleben der Patienten mit früher Progression unter Immuncheckpoint-Inhibition..... | 56 |
| Abbildung 5: Progressionsfreies und Gesamtüberleben der Patienten ohne frühe Progression unter Immuncheckpoint-Inhibition | 59 |
| Abbildung 6: Mutationslast der einzelnen Patienten | 61 |
| Abbildung 7: Vergleich Mutationslast 1. und 2. Tumorprobe | 71 |
| Abbildung 8: Wiederholtes Auftreten von SNVs bzw. CNVs bei Patienten mit mehreren Tumorproben..... | 83 |
| Abbildung 9: Detektierte Veränderungen im Tumorgewebe nach Patient | 85 |
| Abbildung 10: Detektierte Veränderungen im Tumorgewebe, vereinfachte Darstellung mit Einteilung nach Progression..... | 87 |
| Abbildung 11: Veränderungen in MMR-Genen im Patientenkollektiv | 90 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------|---|
| A | Adenin |
| aktiv. | aktivierend |
| Ala | Alanin |
| Am | Amplifikation |
| Arg | Arginin |
| Asn | Asparagin |
| Asp | Asparaginsäure |
| Astro | Astrozytom (anaplastisch, WHO-Grad III bzw. <i>ZNS-WHO-Grad 3</i>) |
| B2M | Beta-2-Mikroglobulin |
| BEV | Bevacizumab |
| BRCA1 | Breast Cancer 1 |
| BRCA2 | Breast Cancer 2 |
| BWK | Brustwirbelkörper |
| bzgl. | bezüglich |
| C | Cytosin |
| CCNU | Lomustin |
| CDKN2A | Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A |
| CDKN2B | Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2B |
| Chr. | Chromosom |
| cMRT | zerebrale Magnetresonanztomographie |
| CNV | Copy number variant |
| CTCAE | Common Terminology Criteria for Adverse Events |
| CTLA-4 | Cytotoxic T Lymphocyte associated Antigen 4 |
| CTx | Chemotherapie |
| CUSP9v3 | Coordinated Undermining of Survival Paths by 9 Repurposed Drugs, Version 3 |
| Cys | Cystein |
| D | Deletion |
| DGN | Deutsche Gesellschaft für Neurologie |
| DMG | Diffuses Mittelliniengliom WHO-Grad IV (<i>ZNS-WHO-Grad 4</i>) |

| | |
|-------------|---|
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| Dupl. | Duplikation |
| ED | Erstdiagnose |
| EDTA | Ethylendiamintetraazetat |
| EGFR | Epidermal Growth Factor Receptor |
| Essent. Sp. | Essential Splice Site |
| FET | F-18-Fluorethyltyrosin |
| FFPE | Formalin-fixiert, Paraffin-eingebettet |
| FISH | Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung |
| FLAIR | Fluid Attenuated Inversion Recovery |
| FPKM | Fragments per kilobase of transcript per million mapped reads |
| G | Guanin |
| GBM | Glioblastom WHO-Grad IV (<i>ZNS-WHO-Grad 4</i>) |
| GC | Gliomatosis cerebri |
| ggf. | gegebenenfalls |
| Glios | Gliosarkom WHO-Grad IV (<i>ZNS-WHO-Grad 4</i>) |
| Gln | Glutamin |
| Glu | Glutaminsäure |
| Gly | Glycin |
| Gy | Gray |
| he / het. | heterozygot |
| His | Histidin |
| HIT-SKK | Hirntumor Säuglinge und Kleinkinder |
| HML | Hohe Mutationslast |
| ho / hom. | homozygot |
| ICI | Immuncheckpoint-Inhibition |
| ID | Identifikationsnummer (der Patienten) |
| IDH | Isozitatdehydrogenase |
| Ile | Isoleucin |
| inakt. | inaktivierend |
| INC280 | Capmatinib |
| Indel | (small) Insertions and Deletions |

| | |
|----------|--|
| i. R. | im Rahmen |
| irAE | Immune related Adverse Event |
| iRANO | Immunotherapy Response Assessment in Neuro-Oncology |
| irRC | Immune-related Response Criteria |
| K | Keimbahn (-mutation) |
| k. A. | keine Angabe |
| k. B. | keine Bewertung |
| KM | Kontrastmittel |
| k. t. R. | keine therapeutische Relevanz |
| Leu | Leucin |
| LOH | Loss of Heterozygosity |
| LWK | Lendenwirbelkörper |
| Lys | Lysin |
| M | Mutation |
| MDM2 | Murine Double Minute 2 |
| MDM4 | Murine Double Minute 4 |
| Met | Methionin |
| MGMT | O6-Methylguanyl-DNA-Methyltransferase |
| MHC-I | Major Histocompatibility Complex Class I |
| min. | mindestens |
| MMR | Mismatch Repair |
| MRT | Magnetresonanztomographie |
| MTX | Methotrexat |
| n | Anzahl |
| NAF | Novel Allele Frequency |
| NF1 | Neurofibromin 1 |
| NGS | Next Generation Sequencing |
| NSCLC | Non-Small Cell Lung Cancer (Nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom) |
| Oligo | Oligodendrogliom (anaplastisch, WHO-Grad III bzw. <i>ZNS-WHO-Grad 3</i>) |
| OS | Overall Survival (Gesamtüberleben) |

| | |
|-------------|---|
| part. | partiell |
| PC | Procarbazin, CCNU (Lomustin) |
| PCR | Polymerase-Kettenreaktion |
| PCV | Procarbazin, CCNU (Lomustin), Vincristin |
| PD-1 | Programmed Cell Death Protein 1 |
| PD-L1 | Programmed Cell Death Ligand 1 |
| PD-L2 | Programmed Cell Death Ligand 2 |
| PE | Probenentnahme |
| PET | Positronenemissionstomographie |
| PFS | Progression Free Survival (Progressionsfreies Überleben) |
| Phe | Phenylalanin |
| PNET | Primitiver neuroektodermaler Tumor |
| Pro | Prolin |
| Prog | Progression |
| PTEN | Phosphatase and Tensin Homolog |
| p. t. R. | potentielle therapeutische Relevanz |
| RANO | Response Assessment in Neuro-Oncology |
| RB1 | Retinoblastoma 1 |
| RECIST | Response Evaluation Criteria in Solid Tumors |
| RNA | Ribonukleinsäure |
| RPKM | Reads per kilobase of transcript per million mapped reads |
| RTx | Radiotherapie |
| Ser | Serin |
| SNV | Single nucleotide variant |
| Splice Reg. | Splice Region |
| subkl. | subklonal |
| T | Thymin |
| Thr | Threonin |
| TMZ | Temozolomid |
| TP53 | Tumor Protein p53 |
| Trp | Tryptophan |
| TTF | Tumor Treating Fields |

| | |
|-------------|---|
| Tyr | Tyrosin |
| u.a. | unter anderem |
| UKT | Universitätsklinikum Tübingen |
| USA | United States of America (Vereinigte Staaten von Amerika) |
| v | EGFR Variante vIII |
| V. a. | Verdacht auf |
| Val | Valin |
| VEGF | Vascular endothelial growth factor |
| v. Funk. | veränderte Funktion |
| vs. | versus |
| w. aktiv. | wahrscheinlich aktivierend |
| WHO | World Health Organization |
| w. inaktiv. | wahrscheinlich inaktivierend |
| WT | Wildtyp |
| ZNO | Zentrum für Neuroonkologie |
| ZNS | Zentrales Nervensystem |

1 Einleitung

1.1 Gliome

Gliome machen beim erwachsenen Menschen den größten Anteil der bösartigen hirneigenen Tumore aus (Yang et al., 2022). Die aktuelle Inzidenz von Gliomen liegt bei ca. 5-6 Fällen pro 100.000 Einwohner pro Jahr (Wick et al., 2021). Ein Screening für die breite Bevölkerung existiert nicht, dies wird nur bei Personen mit genetischer Vorbelastung (z.B. bei Vorliegen einer Neurofibromatose oder eines Turcot- oder Li Fraumeni-Syndroms) durchgeführt (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021).

Symptomatisch können hirneigene Tumore werden durch u.a. fokalneurologische Defizite, neu aufgetretene epileptische Anfälle sowie Symptome, die durch erhöhten intrakraniellen Druck entstehen, wie Vigilanzstörungen, Kopfschmerzen oder Erbrechen (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Es erfolgt die Erhebung einer Eigen- und ggf. auch Fremdanamnese sowie eine klinische Untersuchung (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021).

1.1.1 Diagnostik

Zur Abklärung bei Verdacht auf eine Neoplasie des zentralen Nervensystems sollte eine MRT (Magnetresonanztomographie) mit und ohne Kontrastmittel als bildgebendes Verfahren durchgeführt werden (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Die Gewinnung von Liquor cerebrospinalis durch eine Lumbalpunktion ist für die Diagnostik eines Glioms nicht entscheidend und kann ggf. sogar kontraindiziert sein (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Falls andere Differentialdiagnosen in Frage kommen (z.B. entzündliche ZNS-Erkrankungen, primäres ZNS-Lymphom), wird jedoch ggf. eine Lumbalpunktion ergänzt (Wick et al., 2021). Wenn sich durch obengenannte Untersuchungen der Verdacht auf einen hirneigenen Tumor ergibt, sollte anschließend eine Fallbesprechung in

einem interdisziplinären Tumorboard erfolgen, das aus Neuroradiologen, Neuropathologen, Neurochirurgen, Neuroonkologen und Radioonkologen besteht (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). In der Regel folgt daraufhin die bioptische Sicherung (und ggf. Resektion) des Tumors, ohne die keine genaue Diagnose gestellt werden kann und auf die nur in wenigen Ausnahmefällen verzichtet werden sollte (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021).

1.1.2 Histologie und Molekulargenetik

Schon intraoperativ sollte die erste histologische Diagnostik erfolgen mit der Fragestellung, ob geeignetes Material für die anschließende neuropathologische Diagnostik entnommen worden ist (Weller et al., 2017). Das entnommene Gewebe wird später in Formalin fixiert sowie in Paraffin eingebettet, außerdem wird standardmäßig eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung durchgeführt (Weller et al., 2017).

Die nächsten Schritte auf dem Weg zur Diagnosestellung sind zunächst die histologische Typisierung, gefolgt von der Gradierung des Tumors und zuletzt die molekulare Diagnostik (Weller et al., 2017). Histologische Kriterien umfassen dabei u.a. vaskuläre Proliferate, Nekrosen, Zell- und Kernpolymorphien (Wick et al., 2021).

Während die vorherige WHO-Klassifikation der Tumoren des Zentralen Nervensystems weitestgehend histologische Kriterien enthielt, wurde die Diagnosestellung in der Revision 2016 um molekulare Marker ergänzt (Louis et al., 2016). Es können teilweise diskordante Befunde zwischen Histologie und molekularen Befunden entstehen, bei denen die Histologie jedoch den molekularen Markern untergeordnet ist (Louis et al., 2016). Im Jahr 2021 ist erneut eine aktualisierte WHO-Klassifikation der Tumoren des Zentralen Nervensystems erschienen, die sich noch stärker an molekularen Markern orientiert (Louis et al., 2021). Änderungen umfassen u.a. die Nomenklatur, aber auch die Tumor-Gradierung, die nun als „ZNS-WHO-Grad“ und in arabischen

statt wie zuvor in römischen Zahlen erfolgt (Louis et al., 2021; Weller et al., 2022).

Da in dieser Arbeit Patienten mit höhergradigen astrozytären und oligodendroglialen Tumoren analysiert werden, soll hier lediglich auf diese Tumore und für sie relevante molekulare Marker eingegangen werden:

- Oligodendrogliome weisen eine IDH-Mutation sowie eine 1p/19q-Kodeletion auf und werden entsprechend als „Oligodendrogliom, IDH-mutiert und 1p/19q-kodeletiert“ bezeichnet (Louis et al., 2021; Weller et al., 2022). Sie werden den WHO-Graden II oder III (bzw. nun 2 oder 3) zugeordnet (Louis et al., 2021; Weller et al., 2022).
- Das „Astrozytom, IDH-mutiert“ weist, wie der Name bereits sagt, eine IDH-Mutation auf (Louis et al., 2021; Weller et al., 2017). In der WHO-Klassifikation 2016 bestanden noch drei verschiedene Entitäten für IDH-mutierte Astrozytome („diffus“, „anaplastisch“ bzw. „Glioblastom“), nach der neuen Klassifikation von 2021 existiert nun nur noch der Tumortyp „Astrozytom, IDH-mutiert“, der in die WHO-Grade II – IV (bzw. nun 2 - 4) eingeteilt wird (Louis et al., 2021; Weller et al., 2022).
- Glioblastome stellen nun die einzigen diffusen (adulten) Tumore dar, die keine IDH-Mutation aufweisen, und werden von den IDH-mutierten Astrozytomen eindeutig abgegrenzt (Louis et al., 2021; Weller et al., 2022). Nach der WHO-Klassifikation 2016 existierte noch der Tumortyp „Glioblastom, IDH-mutiert“ (Louis et al., 2016), nach der Revision von 2021 gibt es lediglich noch das „Glioblastom, IDH-Wildtyp“, das dem WHO-Grad IV bzw. 4 zugeordnet wird (Louis et al., 2021; Weller et al., 2022).
- Das „Diffuse Mittelliniengliom, H3-K27-alteriert“ (WHO-Grad IV bzw. 4) weist eine reduzierte Methylierung im Bereich der Position 27 von Histon 3 (z.B. durch Mutation) sowie einen IDH-Wildtyp auf und wächst im Bereich mittelliniennaher Hirnregionen (Weller et al., 2022).

- Das „Diffuse hemisphärische Gliom, H3-G34-mutiert“ (WHO-Grad IV bzw. 4) weist eine Histon-H3-G34-Mutation auf, zudem liegt häufig ein nukleärer ATRX-Verlust vor (Weller et al., 2022).
- Die Gliomatosis cerebri stellt nach der WHO-Klassifikation 2016 keine eigene Tumorentität mehr dar (Louis et al., 2016), ist aber aufgrund des Wachstumsmusters mit Tumorbeteiligung von mindestens drei Hirnlappen bzw. -arealen weiterhin von klinischer Bedeutung (Wick et al., 2021).

Während das „Astrozytom, IDH-mutiert“, das „Oligodendrogliom, IDH-mutiert und 1p/19q-kodeletiert“ und das „Glioblastom, IDH-Wildtyp“ den adulten diffusen Gliomen zugeordnet werden, finden das „Diffuse Mittelliniengliom, H3-K27-alteriert“ sowie das „Diffuse hemisphärische Gliom, H3-G34-mutiert“ ihre Einordnung bei den pädiatrischen diffusen Gliomen (Louis et al., 2021; Weller et al., 2022). Weitere, in einigen Fällen für die Diagnosestellung relevante molekulare Parameter sind u.a. ATRX-Verlust, homozygote CDKN2A/B-Deletion, Mutationen im TERT-Promotor, EGFR-Amplifikationen und +7/-10-Kopienzahl-Veränderung (Louis et al., 2021; Weller et al., 2022). IDH-Mutationen umfassen Mutationen in IDH1 (Kodon 132) und / oder IDH2 (Kodon 172) (Louis et al., 2016; Weller et al., 2017). Weiterhin wird der MGMT-Promotor untersucht, wobei ein methylierter MGMT-Promotor ein prädiktiver Biomarker für das Ansprechen auf eine alkylierende Chemotherapie ist, hauptsächlich für Patienten mit der Diagnose „Glioblastom, IDH-Wildtyp“ (Wick et al., 2021; Weller et al., 2022).

1.1.3 Therapie

Folgendes Kapitel bezieht sich auf oligodendrogliale und astrozytäre Tumore im Erwachsenenalter. Die tumorspezifische Therapie beinhaltet – wenn möglich – eine Resektion des Tumors, wobei hierbei mikrochirurgische Techniken unter Verwendung von Navigationssystemen, Ultraschall, intraoperativer MRT, Neuromonitoring und dem Einsatz von 5-Aminolävulinsäure als

fluoreszenzgestütztem Verfahren genutzt werden (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Bei nicht kurativ entfernbareren Gliomen gilt insbesondere, dass durch die Operation keine neuen neurologischen Defizite erzeugt werden sollen (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Diffus wachsende Gliome können nicht kurativ reseziert werden (Yang et al., 2022).

Im Anschluss erfolgt in der Regel eine Bestrahlung, die nachweislich ein verlängertes Überleben erbringt, und in der Regel fraktioniert in 1,8 – 2 Gy-Sitzungen mit einer Gesamtstrahlendosis von 50 – 60 Gy durchgeführt wird (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Zudem bestehen Möglichkeiten der fokussierten Strahlentherapie, dazu gehören u.a. intensitätsmodulierte oder stereotaktische Bestrahlungen (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021).

Auch eine zytotoxische Chemotherapie wird bei den meisten Gliom-Patienten standardmäßig durchgeführt (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Hierbei spielt das Alkylans Temozolomid (TMZ), das oral verabreicht wird und eine gute ZNS-Gängigkeit aufweist, die wichtigste Rolle (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Weitere wichtige zytotoxische Substanzen in der Behandlung sind Nitrosoharnstoffe, zu dieser Gruppe gehört u.a. Lomustin (CCNU) (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Eine geläufige Kombinationstherapie ist die PCV-Chemotherapie, die aus Lomustin (CCNU), Procarbazin und Vincristin besteht (Wick et al., 2021). Auch hat der anti-angiogenetische Wirkstoff Bevacizumab, der als Antikörper zu VEGF (Vascular endothelial growth factor = vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor) fungiert, zur Therapie progredienter Glioblastome in einigen Ländern die Zulassung erhalten, nicht aber in der Europäischen Union (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Eine weitere Therapieform, die für neudiagnostizierte Glioblastome während der TMZ-Erhaltungstherapie zugelassen ist, sind alternierende elektrische Felder (Novo-TTF, Tumor Treating Fields) (Wick et al., 2021).

Spezifische Therapieempfehlungen richten sich nach der genauen Diagnose, WHO-Gradierung, molekularen Markern sowie teilweise auch dem Patientenalter (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Neben der tumorspezifischen Therapie relevant sind u.a. Antikonvulsiva bei Auftreten

epileptischer Anfälle sowie eine ggf. notwendige Therapie mit Kortikosteroiden (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Mögliche Therapieoptionen im Rahmen einer Progression umfassen u.a. eine erneute Resektion, (Re-)Bestrahlung oder eine (erneute) Chemotherapie (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021). Zudem kann eine Behandlung im Rahmen einer Studie erwogen werden (Wick et al., 2021).

Trotz Therapie können diffuse Gliome nicht geheilt werden (Finch et al., 2021). Insbesondere für das Glioblastom, bei dem das mediane Gesamtüberleben mit Standardtherapie bei 14,6 Monaten und die 5-Jahres-Überlebensrate bei 9,8% liegt (Stupp et al., 2009), ist die Prognose schlecht. Hier muss jedoch angemerkt werden, dass in dieser Studie vermutlich auch IDH-mutierte Tumore analysiert wurden, die nach der WHO-Klassifikation von 2021 nicht mehr als Glioblastom gewertet werden. Die 5-Jahres-Überlebensraten für andere Gliom-Entitäten sind etwas besser: Die von anaplastischen Astrozytomen beträgt etwa 30,2%, die von anaplastischen Oligodendrogliomen 60,2% (Ostrom et al., 2019), wobei sich diese beiden Daten auf die USA beziehen und sich die Diagnosen hier nicht nach den Kriterien der aktuellen WHO-Klassifikation der Tumoren des Zentralen Nervensystems von 2021 richten.

1.1.4 Nachsorge, Verlaufskontrollen

Um den Krankheitsverlauf zu überwachen, werden in der Regel alle drei Monate MRT-Aufnahmen sowie klinische Untersuchungen durchgeführt (Weller et al., 2017). Je nach genauem Tumortyp und Krankheitsverlauf wird dieses Zeitintervall ggf. angepasst (Weller et al., 2017; Wick et al., 2021).

Der radiologische Verlauf wurde lange Zeit nach den MacDonalds-Kriterien beurteilt, wobei hier jedoch nur Tumorläsionen mit Kontrastmittelaufnahme in die Bewertung eingeschlossen wurden (Chukwueke und Wen, 2019). Probleme ergaben sich dadurch, dass z.B. Bevacizumab als antiangiogenetische Substanz zu einem alleinigen Rückgang dieser KM-aufnehmenden Läsionen

ohne Rückgang der tatsächlichen Tumorgroße führen kann, sodass eine Progression vorliegen kann, die nach den MacDonalds-Kriterien jedoch nicht als solche gewertet wird (Chukwueke und Wen, 2019). Deshalb haben sich in der Verlaufskontrolle von Hirntumoren die RANO-Kriterien (Response Assessment in Neurooncology) durchgesetzt: Hier werden für höhergradige Gliome neben den KM-aufnehmenden Läsionen auch die T2- / FLAIR-Sequenzen in der MRT betrachtet und das Therapieansprechen wird in die Kategorien *Stable Disease* (= *stabile Erkrankung*), *Partial Response* (= *partielle Remission*), *Complete Response* (= *komplette Remission*) und *Progressive Disease* (= *Progression*) (zudem existieren Kriterien für „*Pseudoprogession*“ bzw. „*Pseudoresponse*“) eingeteilt (Chukwueke und Wen, 2019). Um zwischen einer Progression und einer Pseudoprogession differenzieren zu können, kann eine Perfusions-MRT oder Aminosäure-PET zur Anwendung kommen (Weller et al., 2017). Für Immuntherapien wurden zudem die iRANO-Kriterien entwickelt, die auf den irRC- (Immune-related Response Criteria) und RANO-Kriterien basieren (Okada et al., 2015). Besonderheit der iRANO-Kriterien ist, dass in den ersten sechs Monaten nach Beginn der Immuntherapie bei für eine Progression verdächtigen bildgebenden Veränderungen – im Falle klinischer Stabilität - eine Kontrollbildgebung (nach einem Zeitraum von \geq drei Monaten) notwendig ist, in der die Progression erst bestätigt werden kann und bis dahin die Immuntherapie fortgeführt werden sollte (Okada et al., 2015). Falls es jedoch zu einer deutlichen klinisch-neurologischen Verschlechterung kommt, ist ein Therapieabbruch und die Wertung als Progression indiziert, auch innerhalb der ersten sechs Monate (Okada et al., 2015).

1.2 Immuncheckpoint-Inhibition

Die Behandlung mit Immuncheckpoint-Inhibitoren hat sich als Durchbruch in der Behandlung einer Vielzahl von fortgeschrittenen Tumoren erwiesen, da mithilfe dieser Medikamente bei einem Teil der Patienten ein lang anhaltendes Therapieansprechen sowie auch ein Langzeitüberleben beobachtet werden

konnten (Zander et al., 2020). In einer der ersten Studien konnte etwa ein verlängertes Überleben bei Patienten mit bereits vorbehandelten, fortgeschrittenen Melanomen unter Therapie mit dem monoklonalen Antikörper Ipilimumab (Anti-CTLA-4) aufgezeigt werden (Hodi et al., 2010). Immuncheckpoints sind der Angriffspunkt dieser Wirkstoffe. Die physiologische Rolle der Immun-Checkpoints besteht darin, die Immunreaktion zu kontrollieren (z.B. im Rahmen von Infekten) und eine Bekämpfung eigener Körperzellen (Autoimmunität) zu verhindern (Pardoll, 2012; Zander et al., 2020). Grundlage der Entwicklung der Checkpoint-Inhibitoren ist das Wissen, dass das menschliche Immunsystem die Fähigkeit besitzt, Tumorzellen selbst zu bekämpfen (Wilden et al., 2016; Zander et al., 2020). So können T-Zellen Antigene auf Tumorzellen erkennen (Zander et al., 2020). Durch Bindung des T-Zell-Rezeptors an das MHC-I-Molekül kommt es zur Erkennung des Antigens und dadurch zur Aktivierung von zytotoxischen T-Zellen, die wiederum Tumorzellen zerstören können (Zander et al., 2020). Tumore besitzen jedoch die Fähigkeit, der Erkennung und auch Bekämpfung durch das Immunsystem auf verschiedenen Wegen zu entgehen (McDermott und Atkins, 2013; Vinay et al., 2015).

1.2.1 Wirkmechanismus

In der klinischen Praxis existieren bereits eine Vielzahl von monoklonalen Antikörpern, die sich gegen folgende Immuncheckpoints richten: PD-1 (Programmed Cell Death Protein 1), PD-L1 (Programmed Cell Death Ligand 1) und CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte associated Antigen 4) (Zander et al., 2020). Die Wirkmechanismen sollen im Folgenden erläutert werden.

Der PD-1-Rezeptor sowie sein Ligand PD-L1 können neben aktivierten T-Zellen auch auf anderen Zellen, z.B. dendritischen Zellen und aktivierten Monozyten, gefunden werden (Vibhakar et al., 1997; Freeman et al., 2000; Brown et al., 2003; Keir et al., 2008). Auch Tumorzellen können PD-L1 exprimieren (Keir et al., 2008; Wilden et al., 2016). Im Rahmen der klonalen Expansion von T-Zellen

wird die Expression des PD-1-Rezeptors auf T-Zellen hochgefahren (Wilden et al., 2016). Wenn PD-1 an seinen Liganden PD-L1 bzw. PD-L2 (als weiteren möglichen Liganden) bindet, kommt es zur Inhibition der T-Zelle (Wilden et al., 2016). Durch diese Bindung von PD-L1 auf Tumorzellen mit PD-1 auf T-Zellen können Tumorzellen der zytotoxischen Wirkung von T-Zellen entgehen (Wilden et al., 2016; Zander et al., 2020). Die Autoren Wilden et al. (2016) fassen zusammen, dass die PD-L1-Expression zu den häufigsten Wegen gehört, den Tumorzellen nutzen, um der Tumorabwehr durch das Immunsystem zu entgehen (Wilden et al., 2016). Weiterhin kommt es oft zur Infiltration des Tumors mit regulatorischen T-Zellen sowie myeloiden Suppressorzellen, die oft ebenfalls PD-L1 exprimieren und ein immunsuppressives Mikromilieu bilden (Wilden et al., 2016). Indem PD-1-Antikörper die Bindung von PD-1 an PD-L1 bzw. PD-L2 blockieren, wird die inhibitorische Wirkung dieser Bindung auf T-Zellen unterbunden, sodass die T-Zellen wieder ihre zytotoxische Aktivität gegen Tumorzellen ausüben können (Zander et al., 2020). Die PD-1-Antikörper Pembrolizumab und Nivolumab haben Mitte 2015 in der Erstlinientherapie bei fortgeschrittenen Melanomen in Deutschland ihre Zulassung erhalten (Wilden et al., 2016). Im Jahr 2017 wurde der erste PD-L1-Inhibitor zugelassen (Zander et al., 2020).

Auch wenn in der folgenden Arbeit nur Patienten mit PD-1-Blockade analysiert werden, soll darauf hingewiesen werden, dass auch Therapien mit Antikörpern gegen CTLA-4 existieren: Im Rahmen der Antigenpräsentation kommt es zur Aktivierung der T-Zellen, u.a. durch Bindung von CD28 an CD80 (B7-1) bzw. CD86 (B7-2) (Wilden et al., 2016). Dauert die Stimulation der T-Zellen länger an, exprimieren diese CTLA-4, um einer Überaktivierung der T-Zellen entgegenzuwirken (Wilden et al., 2016). CTLA-4 kann ebenfalls an die B7-Moleküle binden, es handelt sich dabei um eine kompetitive Bindung, wodurch die Stimulation der T-Zelle durch die CD28-B7-Bindung vermindert wird (Schadendorf und Bernhard, 2014; Wilden et al., 2016). Der CTLA-4-Antikörper Ipilimumab ist bereits seit 2011 für die Behandlung fortgeschrittener Melanome zugelassen (Wilden et al., 2016).

1.2.2 Indikationen

Folgende Immuncheckpoint-Inhibitoren sind für nachstehende Indikation als Monotherapie in der Europäischen Union zugelassen (Zander et al., 2020):

- Ipilimumab (CTLA-4): Melanom
- Nivolumab (PD-1): Melanom, nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom, Nierenzellkarzinom, Hodgkin-Lymphom, Plattenepithelkarzinom des Kopf-Hals-Bereiches, Urothelkarzinom
- Pembrolizumab (PD-1): Melanom, nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom, Plattenepithelkarzinom des Kopf-Hals-Bereiches, Hodgkin-Lymphom, Urothelkarzinom
- Cemiplimab (PD-1): Kutanes Plattenepithelkarzinom
- Atezolizumab (PD-L1): Urothelkarzinom, nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom
- Avelumab (PD-L1): Merkelzellkarzinom
- Durvalumab (PD-L1): Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom

Die Zulassung ist für einige Indikationen an das Vorliegen von Biomarkern (PD-L1-Expression) geknüpft bzw. nur für einen bestimmten klinischen Status (z.B. nur Zulassung als Zweitlinientherapie) gegeben (Zander et al., 2020). Weiterhin existieren mehrere Zulassungen für Kombinationstherapien (Zander et al., 2020).

Um die Wirksamkeit dieser Medikamente aufzuzeigen, sollen hier beispielhaft objektive Ansprechraten auf die Therapie mit Immuncheckpoint-Inhibitoren für einige Tumorentitäten aufgeführt werden: Diese lagen für fortgeschrittene, bisher unbehandelte Melanome bei 19% für Ipilimumab, bei 44% für Nivolumab und bei 58% für die Kombination aus Ipilimumab und Nivolumab (Wolchok et al., 2017). Bei fortgeschrittenen, bisher nicht systemisch behandelten nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen (mit PD-L1-Expression von min. 50%) konnte eine objektive Ansprechrate von 44,8% unter Pembrolizumab-Therapie beobachtet werden (Reck et al., 2016).

Als positiver prädiktiver Marker für ein Ansprechen auf Immuncheckpoint-Inhibition wurde u.a. eine hohe Mutationslast des Tumorgewebes bei einigen Entitäten beschrieben (Snyder et al., 2014; Rizvi et al., 2015).

1.2.3 Nebenwirkungen

Nebenwirkungen, die im Rahmen einer Immuntherapie auftreten, unterscheiden sich meist von denen unter zytotoxischer Chemotherapie, pathophysiologisch liegt hier eine überschießende Immunreaktion zugrunde (Martins et al., 2019). Die Autoren Martins et al. (2019) listen in ihrer Übersichtsarbeit (Review verschiedener Arbeiten über Ipilimumab, Nivolumab, Nivolumab + Ipilimumab, Pembrolizumab, Avelumab, Atezolizumab, Durvalumab) folgende Manifestationen als die häufigsten autoimmunen Nebenwirkungen auf, wobei prinzipiell jedes Organ betroffen sein kann (Martins et al., 2019):

- endokrin (Thyreoiditis, Hypophysitis, Adrenitis)
- hämatologisch (Anämie, Neutropenie, Thrombozytopenie)
- der abdominalen Organe (Kolitis, Gastritis, Hepatitis, Pankreatitis mit der Entwicklung eines autoimmunen Diabetes, Nephritis)
- pulmonal (Pneumonitis, Pleuritis)
- kardial (Myokarditis, Perikarditis)
- dermatologisch (u.a. Pruritus, Vitiligo, Hautausschlag)
- muskuloskelettal (u.a. Myalgien, Arthralgien)
- neurologisch (u.a. autoimmune Enzephalitis, Meningitis, Polyneuropathie)
- ophthalmologisch (u.a. Sjögren-Syndrom, Uveitis, Konjunktivitis, Retinitis)
- vaskulär (u.a. Gefäßentzündungen)
- Allgemeinsymptome wie etwa Müdigkeit (Fatigue)

Diese Nebenwirkungen werden als „irAEs“ (Immune-related Adverse Events) bezeichnet (Martins et al., 2019; Zander et al., 2020). Die Schwere der Nebenwirkung wird als CTCAE-Stufe eingeteilt (National Cancer Institute's

Common Terminology Criteria for Adverse Events), wobei irAEs häufiger unter CTLA-4-Inhibition als unter PD-1-Inhibition auftreten (Wilden et al., 2016; Martins et al., 2019). Wenn indiziert, werden immunvermittelte Nebenwirkungen in der Regel mit hochdosierten Glukokortikosteroiden behandelt (Wilden et al., 2016).

1.3 Genetik bei Tumoren

Krebs ist im Wesentlichen eine genetische Erkrankung, die auf der Grundlage von Mutationen des Genoms entsteht (Holinski-Feder, 2017a). Mutationen werden eingeteilt in Genom-, Chromosomen- und Genmutationen (Holinski-Feder, 2017b). Unter Genommutationen versteht man eine veränderte Gesamtzahl des gesamten Chromosomensatzes oder der Gesamtzahl einzelner Chromosomen (Holinski-Feder, 2017b). Bei Chromosomenmutationen sind größere Bereiche eines Chromosoms verändert, u.a. durch Deletionen oder Duplikationen (Holinski-Feder, 2017b). Bei Genmutationen wird wiederum zwischen Punktmutationen (Substitution oder Deletionen / Insertionen einzelner Nukleotide), Kopienzahlveränderungen (Deletionen, Duplikationen) im Kilo- bzw. Megabasenbereich, Inversionen und dynamischen Mutationen unterschieden (Holinski-Feder, 2017b). In der englischsprachigen Literatur wird oft von „SNV“ (Single nucleotide variant, Punktmutation) und „CNV“ (Copy number variant, Kopienzahlveränderung) gesprochen. Der Nachweis einer veränderten DNA-Sequenz kann z.B. mittels Next Generation Sequencing erfolgen (Holinski-Feder, 2017c).

Im Rahmen von Krebserkrankungen spielen vor allem somatische Punktmutationen, Amplifikationen chromosomaler DNA, Translokationen, Aneuploidien, Imprinting-Mutationen sowie bei bestimmten Krebsarten die Insertion exogener viraler DNA eine Rolle (Holinski-Feder, 2017a). Die krebsverursachenden Mutationen betreffen sogenannte Tumorsuppressorgene oder Onkogene (Holinski-Feder, 2017a). Tumorsuppressorgene haben eine

wachstumshemmende Funktion inne, indem sie an der Regulation der Zellteilung beteiligt sind (Holinski-Feder, 2017a). Durch Mutationen in Tumorsuppressorgenen können diese inaktiviert oder deletiert werden und damit ihre Aufgabe in der Regulation der Zellteilung verlieren („loss of function“) (Holinski-Feder, 2017a). Protoonkogene sind ebenfalls an der Regulation der Zellteilung beteiligt, jedoch üben sie eine aktivierende Funktion aus (Holinski-Feder, 2017a). Durch Mutationen können sie zu Onkogenen werden, wodurch die Zellteilung beschleunigt wird, es kommt zu einem „gain of function“ (Holinski-Feder, 2017a).

Zudem existiert eine weitere Genklasse, die bei der Tumorentstehung beteiligt sein kann, dabei handelt es sich um Stabilitätsgene, zu denen u.a. die Mismatch-Repair-Gene (MMR) gehören (Vogelstein und Kinzler, 2004). Werden durch den Ausfall von DNA-Reparaturmechanismen DNA-Schäden nicht korrekt repariert, kann es zur Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen oder zur Entstehung von Onkogenen und dadurch zur Krebsentstehung kommen (Höhn, 2017). Für die DNA-Reparatur wichtig ist - neben weiteren Mechanismen - das Mismatch-Repair-System (Höhn, 2017), wobei hierbei die Genprodukte von MLH1, MSH2, MSH6 und PMS2 am bedeutsamsten sind (Zhao P et al., 2019; Anghileri et al., 2021). Weitere MMR-Gene sind MLH3, MSH3, MSH4, MSH5 und PMS1 (Anghileri et al., 2021). Die Funktion dieser DNA-Mismatch-Repair-Proteine besteht darin, bei der DNA-Replikation falsch eingebaute Basen bzw. Insertionen / Deletionen zu korrigieren (Cerretelli et al., 2020). Fällt ein MMR-Protein aus (MMR-Defizienz), fallen ebendiese DNA-Reparaturmechanismen aus und die unkorrigierten Fehlpaarungen sammeln sich im Bereich der Mikrosatelliten an (Wang et al., 2022). Bei Mikrosatelliten handelt es sich um kurze, repetitive DNA-Sequenzen, die im Genom verstreut vorliegen (Poeggel und Meitinger, 2017). Diese Längenveränderungen im Bereich der Mikrosatelliten, die auf die MMR-Defizienz zurückzuführen sind, werden als Mikrosatelliteninstabilität (MSI) bezeichnet (Lynch et al., 2015). Die Mismatch Repair-Defizienz geht mit einer hohen Mutationslast des Tumors

(„Hypermuation“) einher (Le et al., 2015; Campbell et al., 2017; Anghileri et al., 2021; Olave und Graham, 2022).

1.3.1 Personalisierte Medizin / zielgerichtete Therapien

Mithilfe der „personalisierten Medizin“ sollen Untergruppen von Patienten anhand von Biomarkern stratifiziert werden, um medizinische Maßnahmen wie etwa Tumortherapien zielgerichteter auf den Patienten abstimmen zu können (Schildmann et al., 2013). Eine Vielzahl zielgerichteter Therapien („targeted therapies“) wurde auch bereits bei Gliomen untersucht (Yang et al., 2022). Hierbei spielen molekulare Tumorboards eine Rolle, dort werden die Befunde von z.B. Genpanel-Sequenzierungen oder Exomanalysen besprochen und mögliche zielgerichtete Therapien evaluiert (Tabatabai und Weller, 2019). Auch erfolgen für Patienten mit ZNS-Malignomen teilweise individuelle off-label-Behandlungen (Tabatabai und Weller, 2019). Die DGN-Leitlinie „Gliome“ von 2021 empfiehlt insbesondere für MGMT-unmethylierte, IDH-negative Glioblastome die Durchführung einer molekularen Diagnostik, um z.B. potentiell in Frage kommende, zielgerichtete off label-Therapien evaluieren zu können (Wick et al., 2021).

1.4 Fragestellung

Für Patienten mit höhergradigen Gliomen (High-Grade Glioma), zu denen die WHO-Grade III und IV (nach der aktuellen WHO-Klassifikation *ZNS-WHO-Grad 3 - 4*) zählen (Yang et al., 2022), stehen aktuell nur limitierte Standardtherapien zur Verfügung, insbesondere in der Situation der Krankheitsprogression. Trotz Therapie ist die Lebenserwartung dieser Patienten stark eingeschränkt, da Gliome der WHO-Grade III – IV nicht kurativ behandelt werden können (Finch et al., 2021). Zusätzlich verursachen diese Tumore durch das Auftreten verschiedener neurologischer Symptome eine hohe Morbidität.

Aufgrund der schlechten Prognose von Gliomen und der vielversprechenden Therapieresultate bei anderen Tumorentitäten wird aktuell der Nutzen von Immuncheckpoint-Inhibitoren auch bei Gliomen erprobt. In dieser Arbeit wird ein Patientenkollektiv mit Gliomen der WHO-Grade III und IV, das eine Behandlung mit einem PD-1-Inhibitor erhalten hat, retrospektiv analysiert. Hierzu werden klinische und bildmorphologische Eigenschaften sowie molekulare Veränderungen, die im Rahmen einer erweiterten somatischen Tumordiagnostik erhoben wurden, beschrieben und miteinander korreliert. Ziel der Dissertation ist es, potentielle prädiktive (Bio-)Marker für das Therapieansprechen bzw. -versagen zu identifizieren, die für folgende prospektive Studien genutzt werden können. Es handelt sich bei der vorliegenden Arbeit um eine rein deskriptive Analyse.

2 Material und Methoden

2.1 Übersicht Patientenkollektiv

Das in der folgenden Arbeit untersuchte Kollektiv besteht aus 22 Patienten mit erstdiagnostizierten oder progredienten Gliomen der WHO-Grade III – IV (nach der aktuellen WHO-Klassifikation *ZNS-WHO-Grad 3 - 4*). Alle 22 Patienten erhielten zu einem Zeitpunkt ihrer Tumorerkrankung eine Therapie mit einem PD-1-Inhibitor. Dabei wurden 21 Patienten mit dem PD-1-Inhibitor Nivolumab und ein Patient mit dem PD-1-Inhibitor Pembrolizumab behandelt.

Die Entscheidung zur Durchführung der Therapie mit einem Immuncheckpoint-Inhibitor erfolgte für 14 der insgesamt 22 Patienten nach interdisziplinärer Diskussion im neuroonkologischen Tumorboard bzw. nach individueller Entscheidung durch die behandelnden Ärzte. Bei acht der 22 Patienten erfolgte die Behandlung im Rahmen der BMS-CA209-498-Studie (auch *CheckMate 498* genannt). Hierbei handelt es sich um eine randomisierte, offene (open label) Phase-3-Studie, in der bei neudiagnostizierten Glioblastomen mit unmethyliertem MGMT-Promotor eine Therapie mit Nivolumab konkomitant zur Radiotherapie gegen eine Therapie mit Temozolomid konkomitant zur Radiotherapie verglichen wurde (Omuro et al., 2023).

Bei einigen Patienten erfolgte im Rahmen der klinischen Routine eine erweiterte somatische Tumordiagnostik. Die Befunde der Tumorsequenzierung wurden in einigen Fällen im Rahmen des Molekularen Tumorboards des Zentrums für Personalisierte Medizin am Universitätsklinikum Tübingen besprochen, um potentielle zielgerichtete Therapien zu evaluieren. Bei den übrigen Patienten wurde diese somatische Tumordiagnostik im Rahmen des Forschungsprojektes ergänzt.

Einschlusskriterien für die vorliegende retrospektive Analyse stellen dar:

- Diagnose eines Glioms der WHO-Grade III oder IV

- Alter des Patienten mindestens 18 Jahre (bei Therapiebeginn)
- Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung zur Verwendung der Biomaterialien für wissenschaftliche Zwecke (in diesem Kollektiv bei $n = 6$ Patienten Einverständniserklärung der neurochirurgischen Biobank, bei $n = 16$ Patienten UKT-Standardaufklärung)

Das Studienprotokoll wurde von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen genehmigt (Ethikvotum Nummer 841/2017BO2). Zu den letztendlich analysierten 22 Patienten wurden weitere 14 Patienten für das Projekt gescreent, konnten jedoch nicht eingeschlossen werden (Gründe: fehlende Einverständniserklärung, abweichende Diagnose, letztendlich doch keine Immuncheckpoint-Inhibition erhalten, keinerlei Follow-up, andere Gründe).

Im Rahmen des Follow-ups erfolgten klinische Verlaufskontrollen zwischen den zwei- bzw. vierwöchigen Infusionsterminen. Bildmorphologische Verlaufskontrollen, in der Regel mittels cMRT, wurden routinemäßig in Drei-Monats-Intervallen durchgeführt. Im Falle einer klinischen Verschlechterung wurde entsprechend auch früher eine Bildgebung durchgeführt. Falls indiziert, wurden FET-PET-Aufnahmen zur Differenzierung zwischen Tumorprogression oder Pseudoprogression durchgeführt.

2.1.1 Erhebung klinischer Daten und Follow-up

Die klinischen Daten für die vorliegende Arbeit wurden über das Medizinische Datenerfassungssystem des Universitätsklinikums Tübingen patientenspezifisch recherchiert. Hierzu zählen Diagnose, Datum der Erstdiagnose, OP-Daten, molekulare Marker, Vortherapien und ggf. histologische Besonderheiten. Zudem wurde ermittelt, wann die erste und letzte Gabe des Immuncheckpoint-Inhibitors, wie viele Zyklen verabreicht wurden und wie sich der klinische Verlauf darunter gestaltete. Progressions- und Todesdaten wurden ebenfalls ermittelt. Den Patienten wurden

pseudonymisierte Identifikationsnummern zugeordnet, die den Vorsatz „GL-ICI“ (GL = „Gliome“, ICI = „Immuncheckpoint-Inhibition“) tragen.

Als Therapiebeginn mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor wurde der Tag definiert, an dem die erste Gabe dieses Medikamentes erfolgte. Bei einem Patienten war nur der Monat des Therapiebeginns über den Hausarzt in Erfahrung zu bringen, hier wurde der Therapiebeginn auf den ersten Tag des entsprechenden Monats kodiert. Bei den übrigen 21 Patienten war der Beginn der Therapie auf den Tag genau bekannt. Das progressionsfreie Überleben nach Therapiebeginn wurde entsprechend definiert als Zeitdifferenz zwischen dem Tag der ersten ICI-Gabe und dem Tag, an dem die erste Progression nach Beginn dieser Therapie nachgewiesen wurde. In der Regel handelte es sich dabei um eine bildmorphologisch nachgewiesene Progression (MRT bzw. PET). Falls nach Therapiebeginn keine Bildgebung mehr vorlag, wurde der dokumentierte Tag der klinischen Verschlechterung als Progressionsdatum definiert ($n = 1$). Falls auch dies nicht bekannt war, wurde das Todesdatum ebenfalls als Progressionsdatum kodiert ($n = 2$). Patient *GL-ICI-20* erhielt zweimal eine Therapie mit einem Immuncheckpoint-Inhibitor, zwischen der initialen Beendigung der Therapie und Wiederaufnahme der Medikation lagen sieben Monate. Bei diesem Patienten wurde die Zeitdifferenz zwischen dem erstmaligen Beginn der Therapie und dem Datum der ersten Progression danach als progressionsfreies Überleben definiert.

Weiterhin wurden als Stadium der Tumorerkrankung, in dem die Immuncheckpoint-Therapie verabreicht wurde, zwei Kategorien festgelegt: Dabei bedeutet „progredient“ (oder nachfolgend als „Progression“ bezeichnet), dass bereits vor der Immuncheckpoint-Therapie mindestens eine in der Bildgebung gesicherte Progression der Grunderkrankung aufgetreten ist. Mit „erstdiagnostiziert“ oder „Erstdiagnose“ ist gemeint, dass es vor Beginn der Immuncheckpoint-Therapie noch zu keiner (bildmorphologischen) Progression der Tumorerkrankung gekommen ist. Ggf. sind jedoch bereits andere

tumorspezifische Therapien durchgeführt worden, auf die später eingegangen wird.

2.2 Therapie mit Immuncheckpoint-Inhibitoren

Alle 22 Patienten wurden mit einem PD-1-Inhibitor behandelt, davon 21 Patienten mit Nivolumab und ein Patient mit Pembrolizumab. Dabei wurde die Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor teils als Monotherapie, teils als Kombinationstherapie mit anderen tumorspezifischen Therapien durchgeführt. Die Applikation des PD-1-Inhibitors erfolgte intravenös. Die Infusionen mit Immuncheckpoint-Inhibitoren wurden im Zeitraum zwischen Juni 2016 bis Januar 2019 verabreicht.

In diesem Kollektiv wurden zwei unterschiedliche Therapieschemata für die Applikation von Nivolumab herangezogen: Einige Patienten erhielten eine gewichtsadaptierte Behandlung mit einer Dosis von 3 mg / kg Körpergewicht. Der Großteil (u.a. alle Patienten, die im Rahmen der BMS-CA209-498-Studie behandelt wurden) erhielt eine gewichtsunabhängige Standarddosierung von 240 mg pro Gabe. Die Nivolumab-Infusionen erfolgten alle zwei Wochen bis einschließlich zur achten Gabe, anschließend wurde auf vierwöchentliche Infusionen mit jeweils 480 mg Gesamtdosis umgestellt. Unter den Patienten, deren Nivolumab-Gaben gewichtsadaptiert verabreicht wurden, erhielten alle weniger als acht Gaben (Maximum sechs Gaben). Das Therapieregime für Pembrolizumab bestand aus einer Dosis von 2 mg pro kg Körpergewicht, die alle drei Wochen verabreicht wurde. Die genauen Dosen für den jeweiligen Patienten können Tabelle 19 im Anhang entnommen werden.

Die Behandlung mit einem Immuncheckpoint-Inhibitor erfolgte für 16 Patienten vollständig am Zentrum für Neuroonkologie des Universitätsklinikums Tübingen (UKT). Ein Patient wurde in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Tübingen behandelt (trotz Alter > 18 Jahre). Bei zwei Patienten wurde die Therapie am Zentrum für Neuroonkologie des UKT

begonnen und im Verlauf extern fortgesetzt. Ein Patient erhielt die Therapie zunächst an einem externen Klinikum, die Behandlung wurde im Verlauf am Zentrum für Neuroonkologie des UKT fortgeführt. Zwei Patienten erhielten die Infusionen ausschließlich extern. Für 21 der 22 Patienten ist das exakte Datum der ersten Infusion mit dem verabreichten Checkpoint-Inhibitor bekannt. Bei einem Patienten ließ sich nur der Monat, in dem die erste Gabe erfolgt war, ermitteln. Dieser Patient (*GL-ICI-14*) wurde ausschließlich extern behandelt, auch die Anzahl der verabreichten Zyklen blieb unbekannt. Bei zwei weiteren Patienten (*GL-ICI-22* und *24*) ist eine Mindestanzahl an verabreichten Gaben des Immuncheckpoint-Inhibitors bekannt, wie viele Gaben darüber hinaus (extern) noch erfolgten, ist unklar. Für die übrigen 19 Patienten ist das genaue Datum der letzten Checkpoint-Infusion bekannt, ebenso wie die genaue Anzahl der verabreichten Zyklen. Eine graphische Übersicht bietet Abbildung 1.

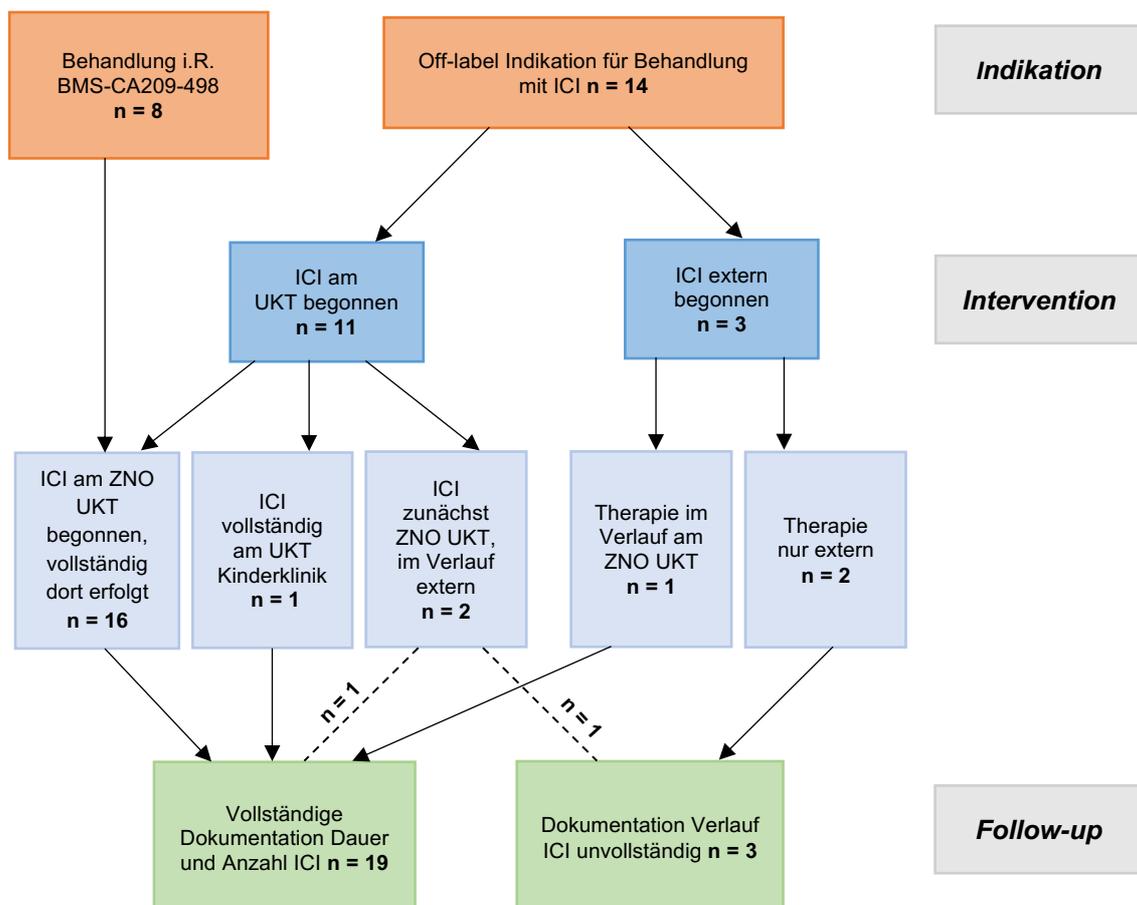


Abbildung 1: CONSORT-Diagramm Behandlung mit Immuncheckpoint-Inhibitoren im Patientenkollektiv

Abkürzungen: ICI = Immuncheckpoint-Inhibition; i.R. = im Rahmen; n = Anzahl; UKT = Universitätsklinikum Tübingen; ZNO = Zentrum für Neuroonkologie

Der Abbruch der Immuncheckpoint-Blockade erfolgte bei nachgewiesener Progression. Ausnahmen stellten dar, wenn bei erst kürzlich begonnener Immuncheckpoint-Therapie trotz nachgewiesener bildmorphologischer Progression das Therapieansprechen noch nicht beurteilt werden konnte (nach iRANO-Kriterien). Diese Fälle wurden im Interdisziplinären Neuroonkologischen Tumorboard besprochen und die Indikation zur Fortführung der Therapie dort getroffen. Bei Auftreten relevanter autoimmuner Nebenwirkungen musste die Therapie ebenfalls beendet werden. Bei einigen Patienten wurde im Rahmen eines großen Tumorödems eine hohe Steroiddosis notwendig, sodass eine Weiterführung der Immuncheckpoint-Blockade (vorübergehend) nicht sinnvoll war. In der Regel wurde die Entscheidung zum Abbruch der Therapie im Rahmen des ZNO-Tumorboards am UKT getroffen.

2.3 Neuropathologische Analyse

Von allen 22 Patienten liegt mindestens eine Tumorgewebeprobe vor. Nach Entnahme der Gewebe in der Neurochirurgischen Klinik wurden diese in die Abteilung für Neuropathologie – ebenfalls am UKT – transportiert und dort analysiert.

Die Präparate wurden makroskopisch begutachtet und der Tumorzellgehalt in Prozent abgeschätzt. Anschließend erfolgte die mikroskopische Untersuchung der Präparate durch den Neuropathologen. Dafür wurde das entnommene Gewebe in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet (FFPE). Routinemäßig wurde eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung durchgeführt. Im Rahmen der Diagnosestellung erfolgte zunächst die histologische Einordnung (u.a.

Nekrosen, Gefäßproliferate) nach der WHO-Klassifikation der Tumoren des Zentralen Nervensystems. Die histologische Analyse wurde durch die Untersuchung molekularer Marker ergänzt, sodass unter Berücksichtigung beider Aspekte schlussendlich die genaue Diagnose gestellt werden konnte.

Folgende molekulare Marker wurden untersucht: IDH1 (Immunhistochemie oder Sequenzierung) und ggf. IDH2 (Sequenzierung) sowie der MGMT-Promotor (Methylierungsspezifische PCR / Pyrosequenzierung). Falls indiziert, erfolgte die Untersuchung des ATRX-Status (Immunhistochemie) und Histon-H3-Mutationen (Immunhistochemie, Sequenzierung). Ggf. wurde eine Analyse auf das Vorliegen einer 1p/19q-Kodeletion (FISH / Mikrosatellitenbasierte LOH-Analyse) ergänzt. Eine PD-L1-Färbung (Immunhistochemie) wurde nicht standardmäßig durchgeführt, im hier untersuchten Kollektiv nur bei zwei Patienten (*GL-ICI-1* und *28*).

In der vorliegenden Arbeit wird diejenige Tumordiagnose genannt, die zum Zeitpunkt der Behandlung des jeweiligen Patienten gestellt wurde. Falls durch die neue WHO-Klassifikation von 2021 eine andere Diagnose resultiert, erfolgt eine Anmerkung an entsprechender Stelle. Dies trifft für die Tumordiagnose von fünf Patienten (*GL-ICI-15*, *17*, *20*, *28* und *23*) zu. Ebenfalls wird in dieser Arbeit die zum Zeitpunkt der Behandlung und auch der Datenerhebung gebräuchliche WHO-Gradierung in römischen Zahlen verwendet.

2.4 Erweiterte molekulare Diagnostik – Tumorpanel-Sequenzierung

Bei 19 der 22 Patienten erfolgte eine erweiterte molekulare Tumordiagnostik im Rahmen der klinischen Routine. Bei drei weiteren Patienten wurde diese im Rahmen des Forschungsprojektes ergänzt. Einen Überblick gibt Abbildung 2.

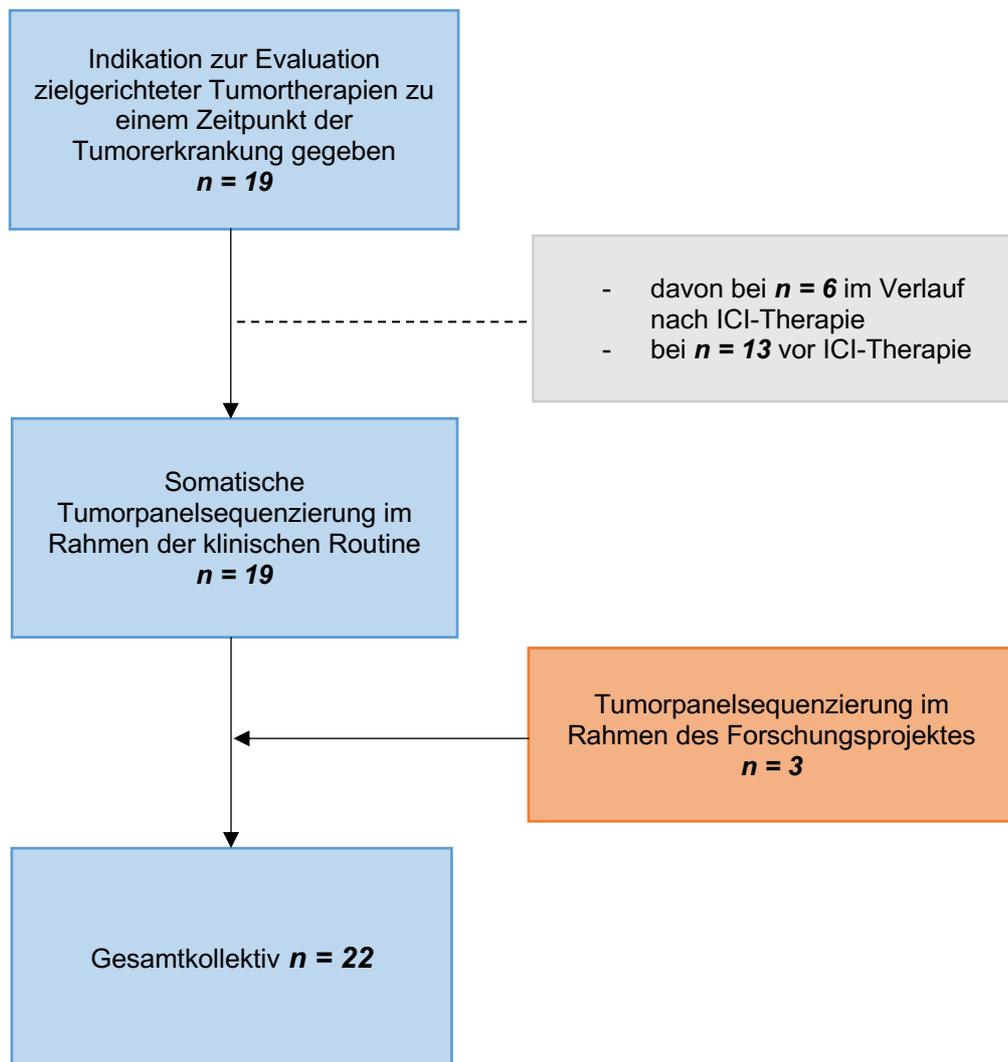


Abbildung 2: Diagramm Durchführung der Tumorsequenzierungen

Abkürzungen: ICI = Immuncheckpoint-Inhibition; n = Anzahl

Von allen 22 Patienten liegt mindestens eine Tumorgewebeprobe vor. Teilweise handelt es sich dabei um Gewebe, das zum Zeitpunkt der Erstdiagnose der Tumorerkrankung entnommen wurde. Bei einigen Patienten wurde für die erweiterte molekulare Diagnostik Gewebe genutzt, das zum Zeitpunkt einer Progression gewonnen wurde. Allen Tumorproben, die im Rahmen dieser Arbeit ausgewertet werden, ist jedoch gemein, dass diese vor dem Beginn der Behandlung mit einem Immuncheckpoint-Inhibitor entnommen wurden. Die

Resektionen bzw. Biopsien der Tumorgewebe, die im Rahmen der erweiterten molekularen Diagnostik sequenziert wurden, erfolgten im Zeitraum von Februar 2015 bis September 2018. Bei 21 Patienten wurde das für diese Zwecke verwendete Tumorgewebe in der Klinik für Neurochirurgie am Universitätsklinikum Tübingen entnommen. Bei einem Patienten war der Tumorgehalt der am UKT entnommenen Probe zu gering für die somatische Tumordiagnostik, sodass eine konservierte Probe, die an einem externen Klinikum im Rahmen einer früheren OP gewonnen wurde, herangezogen wurde. Diese Probe stammt aus dem Jahr 2013.

Zwischen dem Zeitpunkt der Gewebegewinnung und dem Beginn der Immuntherapie wurden bei einigen Patienten andere Therapien durchgeführt. Dabei handelt es sich um Radio- und Chemotherapien sowie Therapien mit dem VEGF-Inhibitor Bevacizumab, dem Tyrosinkinase-Inhibitor Regorafenib, dem mTOR-Inhibitor Everolimus oder mit Tumor Treating Fields. Von insgesamt zehn Patienten wurde therapienaives Gewebe untersucht (*GL-ICI-1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 23* und *26*). Von vier Patienten wurde eine zusätzliche Tumorsequenzierung durchgeführt, die nach Beendigung der Checkpoint-Inhibitor-Behandlung gewonnen wurde. Eine Übersicht über die Charakteristika der Gewebeproben gibt nachfolgende Tabelle (Tabelle 1).

Tabelle 1: Übersicht Gewebedaten der einzelnen Patienten

Abkürzungen: BEV = Bevacizumab; CCNU = Lomustin; CTx = Chemotherapie; ED = Erstdiagnose; ICI = Immuncheckpoint-Inhibition; ID = Identifikationsnummer der Patienten; PE = Probenentnahme (bezieht sich auf die Gewebeprobe für die Sequenzierung); Prog = Progression; RTx = Radiotherapie; TMZ = Temozolomid; TTF = Tumor Treating Fields

Anmerkungen: + = ja; - = nein; *¹: für Tumorsequenzierung verwendetes Gewebe therapienaiv; *²: konkomitant zu ICI

| ID | Krankheitsstatus bei Beginn ICI | Sequenziertes Gewebe von ED oder Progression | RTx zwischen PE und ICI | CTx zwischen PE und ICI | Weitere Therapien zwischen PE und ICI | Weitere Probe sequenziert? |
|------------------|---------------------------------|--|-------------------------|-------------------------|--|----------------------------|
| <i>GL-ICI-1</i> | ED | ED *1 | +*2 | - | - | - |
| <i>GL-ICI-2</i> | ED | ED *1 | +*2 | - | - | + |
| <i>GL-ICI-3</i> | ED | ED *1 | +*2 | - | - | - |
| <i>GL-ICI-5</i> | ED | ED *1 | +*2 | - | - | + |
| <i>GL-ICI-6</i> | ED | ED *1 | +*2 | - | - | - |
| <i>GL-ICI-7</i> | ED | ED *1 | +*2 | - | - | - |
| <i>GL-ICI-8</i> | ED | ED *1 | +*2 | - | - | + |
| <i>GL-ICI-9</i> | ED | ED *1 | +*2 | - | - | + |
| <i>GL-ICI-14</i> | Prog | Prog | + | CCNU | BEV | - |
| <i>GL-ICI-15</i> | Prog | Prog | +*2 | CCNU | - | - |
| <i>GL-ICI-16</i> | Prog | Prog | - | - | - | - |
| <i>GL-ICI-17</i> | Prog | Prog | - | CCNU | - | - |
| <i>GL-ICI-18</i> | Prog | Prog | - | - | - | - |
| <i>GL-ICI-19</i> | Prog | Prog | + | CCNU | - | - |
| <i>GL-ICI-20</i> | Prog | Prog | - | - | - | - |
| <i>GL-ICI-21</i> | Prog | Prog | + | CCNU | Everolimus | - |
| <i>GL-ICI-22</i> | Prog | Prog | - | Carbo- platin | BEV, Clopidogrel und trizyklisches Antidepressivum | - |
| <i>GL-ICI-23</i> | ED | ED *1 | + | TMZ | - | - |
| <i>GL-ICI-24</i> | Prog | Prog | + | CCNU | BEV | - |
| <i>GL-ICI-26</i> | Prog | ED *1 | + | CCNU, TMZ | TTF, BEV, Regorafenib | - |
| <i>GL-ICI-28</i> | Prog | Prog | + | - | - | - |
| <i>GL-ICI-30</i> | Prog | Prog | - | - | - | - |

2.4.1 DNA-Sequenzierung und bioinformatische Auswertung

Bei allen 22 Patienten wurde eine somatische Tumordiagnostik durch CeGaT (Center for Genomics and Transcriptomics) bzw. die Praxis für Humangenetik Tübingen durchgeführt. Im Folgenden wird aus Gründen der besseren Lesbarkeit ausschließlich „CeGaT“ genannt. Hierfür wurde ein von CeGaT entworfenes Tumorpanel (Somatisches Tumorpanel TUM01, Version 3 bzw. 4) verwendet. Die analysierten Gene können Tabelle 17 bzw. 18 entnommen werden. Hierfür wurde DNA aus FFPE-Tumorgewebe und Normalgewebe (EDTA-Blut oder Speichel) sequenziert. Bei 21 Patienten wurde Tumorgewebe genutzt, das im Rahmen eines Eingriffes in der Neurochirurgischen Klinik am Universitätsklinikum Tübingen entnommen wurde. Bei einem Patienten wurde das für die Tumorsequenzierung herangezogene Gewebe in einer Operation an einem externen Klinikum gewonnen. Falls die Untersuchung nicht bereits im Rahmen der klinischen Routine erfolgt war, wurde sowohl für die Analyse der Tumor- als auch der Blutprobe ausschließlich archiviertes Restmaterial verwendet. Die Analysen erfolgten zwischen April 2016 (Eingang der ersten Tumorprobe) und Oktober 2018 (Befunddatum der letzten Tumorprobe).

Eine Makrodissektion und Isolierung der Tumor-DNA war bei Probeneingang bei CeGaT bereits erfolgt, diese erfolgte in der Abteilung für Neuropathologie am UKT. Die weiteren Arbeitsschritte wurden bei CeGaT durchgeführt, die dort etablierte Methodik (inhouse entwickelter und validierter Test) wird im Folgenden gemäß den Befundberichten wiedergegeben, die im Rahmen dieser Arbeit vorlagen. Dabei handelt es sich um einen von CeGaT entwickelten und validierten Test (Laboratory developed test). Nach Anreicherung der kodierenden Bereiche mitsamt der angrenzenden Intronbereiche mittels der Agilent in Solution- Technologie folgte die Sequenzierung mit dem HiSeq2500/4000-System (Illumina). Die sequenzierten Adapter-Sequenzen wurden mittels Skewer entfernt. Für die bioinformatische Auswertung wurde ein Alignment gegen das Humane Referenzgenom (hg19) durchgeführt, hierfür wurde der Burrows Wheeler Aligner verwendet. Falls eine Sequenz nicht

eindeutig einer genomischen Position zuordnenbar war, wurde diese entfernt. Anschließend erfolgte die Bestimmung der Varianten (samtools und varscan) sowie die Annotation dieser Daten mittels Datenbanken.

Auch potentiell vorhandene Kopienzahlveränderungen wurden von CeGaT mithilfe einer intern hierfür entwickelten Methode bestimmt. Bedingung hierfür war, dass die Sequenzen eindeutig einer genomischen Position zugeordnet werden können. Mittels Referenzproben wurde ein Modell der erwarteten Abdeckung erstellt. Anschließend wurde das sogenannte CNV-Calling durchgeführt, wofür in den jeweiligen Proben die normalisierte Abdeckung sowie die Abweichung von der erwarteten Abdeckung bestimmt wurde. Eine Einstufung als Variante erfolgte, wenn die jeweilige genomische Region dabei einen signifikanten Unterschied zur erwarteten Abdeckung aufwies.

2.4.1.1 Auswertung der genetischen Daten

Nach erfolgter Sequenzierung erfolgte die Bewertung der detektierten somatischen Varianten (SNVs / Small Indels), die innerhalb der kodierenden Regionen und der angrenzenden nicht-kodierenden Bereiche (-/+ 8 Basenpaare) liegen und eine Novel Allele Frequency von über 5 % aufweisen. Dabei handelt es sich um die Frequenz, mit der das mutierte Allel detektiert wurde. Diese wird als Dezimalzahl zwischen 0 und 1 bzw. als Prozentzahl angegeben. In den Befunden wurden diese somatischen Varianten mit ihren entsprechenden funktionellen Klasse (3 prime UTR, 5 prime UTR, Essential splice site, Frameshift, Inframe, Intronic, Missense, Splice region, Stop gained, Synonymous) sowie Basenveränderungen und ggf. auch Veränderungen auf Aminosäure-Ebene aufgelistet. Falls nachweisbar, wurden auch Keimbahnvarianten aufgeführt. Weiterhin wurden Kopienzahlveränderungen („copy number variations“) größerer genomischer Bereiche detektiert und beschrieben. Hierzu gehören Amplifikationen und Deletionen.

Anschließend erfolgte eine klinische Interpretation der gefundenen Veränderungen mithilfe genetischer Datenbanken und / oder einer Literaturrecherche. Je nach Einfluss auf die Proteinfunktion wurde eine Einteilung in „inaktivierend“, „aktivierend“ oder „Funktion verändert“

vorgenommen. Bei nicht spezifisch gesicherter Datenlage wurden die Veränderungen (inaktivierend / aktivierend / Funktion verändert) mit dem Zusatz „wahrscheinlich“ versehen, bei nicht vorhandener Datenlage wurden die Veränderungen als „unklar“ aufgeführt.

2.4.1.2 Bewertung im Rahmen der vorliegenden Arbeit

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollen alle detektierten Veränderungen betrachtet werden, unabhängig davon, ob diese als „potentiell therapie relevant“, „aufgrund der aktuellen Datenlage nicht therapie relevant“ oder (bei einigen Mutationen) klinisch nicht bewertet wurden. Lediglich Synonymous-Mutationen werden aufgrund der fehlenden Veränderung auf Aminosäure-Ebene außer Acht gelassen.

2.4.2 Weitere molekulargenetische Analysen

Für die meisten Patienten wurde zudem die rechnerische Mutationslast im untersuchten Tumor auf Exom-Ebene angegeben, bei der es sich um die Anzahl somatischer SNV-, Indel- und essentieller Spleißveränderungen pro kodierender Megabase DNA handelt. Die Mutationslast kann dabei aus den Veränderungen im untersuchten Bereich mittels Extrapolation abgeleitet werden. Eine Einteilung in drei Kategorien wurde vorgenommen: Eine geringe Mutationslast besteht bei $\leq 3,3$ Varianten / Megabase, eine intermediäre Mutationslast zwischen 3,3 und 23,1 Varianten / Megabase und eine hohe Mutationslast bei $> 23,1$ Varianten / Megabase (angelehnt an: Johnson et al., 2016; Chalmers et al., 2017). Bei einigen Patienten wurde diese lediglich als „hoch“ ohne genaue Angabe in Varianten pro Megabase kodierender DNA aufgeführt.

Eine Mikrosatellitenanalyse wurde für zwei Patienten (*GL-ICI-26* und *28*) durchgeführt. Hierfür wurden fünf Mononukleotid-Marker (BAT25, BAT26, NR21, NR22, NR27) aus Keimbahn- sowie Tumor-DNA mithilfe einer Marker-überspannenden PCR analysiert (angelehnt an: Goel et al., 2010; Pagin et al.,

2013; Hegde et al., 2014) und die daraus resultierenden PCR-Fragmente mit Kapillarelektrophorese aufgetrennt. Danach wurden die Größenunterschiede beurteilt und der Mikrosatelliten-Status bestimmt.

Bei weiteren zwei Patienten (*GL-ICI-1* und 5) erfolgte eine Transkriptom-Analyse, für die RNA analysiert wurde. Anschließend wurde die relative Expressionsstärke der veränderten Gene in der Probe (FPKM = fragments per kilobase of transcript per million mapped reads) ermittelt und mit Gehirnormalgewebe (RPKM, Human Protein Atlas) verglichen.

3 Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit sollen der klinische Verlauf von Patienten mit Gliomen der WHO-Grade III – IV unter Behandlung mit einem Immuncheckpoint-Inhibitor sowie molekulargenetische Veränderungen, die im Rahmen einer erweiterten molekularen Diagnostik erhoben wurden, analysiert werden. Zunächst werden die klinischen Charakteristika (Kapitel 3.1) sowie die Überlebensdaten des Kollektivs (Kapitel 3.2) beschrieben. Anschließend wird auf die Befunde der Tumor-Sequenzierung eingegangen, dazu wird in Kapitel 3.3 das Kollektiv hinsichtlich der Tumor-Mutationslast betrachtet. Anschließend werden in Kapitel 3.4 die Befunde derjenigen Patienten verglichen, bei denen zwei Sequenzierungen erfolgt sind. In Kapitel 3.5 werden schließlich einige molekulargenetische Veränderungen im Gesamtkollektiv besprochen.

3.1 Übersicht Patientenkollektiv

Zunächst soll ein Überblick über das gesamte Patientenkollektiv gegeben werden. Insgesamt wurden 22 Patienten mit Gliomen der WHO-Grade III oder IV eingeschlossen. In nachfolgender Tabelle (Tabelle 2) sind klinische Parameter des Kollektivs dargestellt, die in folgendem Kapitel genauer ausgeführt werden. In Tabelle 19 im Anhang findet sich zudem eine patientenspezifische Darstellung der klinischen Charakteristika.

Tabelle 2: Klinische Charakteristika des Patientenkollektivs

Abkürzungen: BEV = Bevacizumab; CCNU = Lomustin; CTx = Chemotherapie; CUSP9v3 = Coordinated Undermining of Survival Paths by 9 Repurposed Drugs, Version 3; HIT-SKK = Hirntumor Säuglinge und Kleinkinder; ICI = Immuncheckpoint-Inhibition; IDH = Isozitatdehydrogenase; INC280 = Capmatinib (MET-Inhibitor); MGMT = O6-Methylguanyl-DNA-Methyltransferase; MTX = Methotrexat; n = Anzahl; PC = Procarbazin und CCNU; PCV = Procarbazin, CCNU und Vincristin; RTx = Radiotherapie; TMZ = Temozolomid; TTF = Tumor Treating Fields; WHO = World Health Organization

Anmerkungen: *¹: Ein Patient erhielt zunächst drei Zyklen Nivolumab als Monotherapie, dann mehrere Monate Pause. Bei Wiederaufnahme (vier Zyklen Nivolumab) in Kombination mit Bevacizumab, daher in letztgenannte Kategorie gezählt; *²: n = 19 (bei

drei Patienten genaue Anzahl der Zyklen nicht genannt, deshalb hier ausgeschlossen); *³: in Monaten nach Beginn ICI; *⁴: Patienten, die 1. RTx konkomitant erhielten, wurden als „keine“ gewertet, da Therapie erst kurz zuvor begonnen; *⁵: bei einzelnen Patienten auch mehrere dieser Therapien durchgeführt, daher Mehrfachnennungen möglich; *⁶: Zwei dieser Patienten erhielten Bevacizumab in Kombination mit Nivolumab, hier wurde die Bevacizumab-Therapie jedoch bereits früher begonnen (sechs bzw. neun Monate vor Nivolumab-Start)

| | Gesamtkollektiv n = 22 |
|---|-------------------------------|
| Diagnosen | Anzahl (%) |
| Glioblastom WHO-Grad IV | 15 (68,2%) |
| Gliosarkom WHO-Grad IV | 2 (9,1%) |
| Diffuses Mittelliniengliom WHO-Grad IV | 1 (4,5%) |
| Astrozytom / Gliomatosis cerebri WHO-Grad III | 1 (4,5%) |
| Oligodendrogliom WHO-Grad III | 3 (13,6%) |
| Alter bei Beginn ICI | Zahlen in ganzen Jahren |
| Spannweite | 18 - 68 |
| Median | 52 |
| Geschlecht | Anzahl (%) |
| weiblich | 6 (27,3%) |
| männlich | 16 (72,7%) |
| Molekulare Marker | Anzahl (%) |
| <u>MGMT-Promotor</u> | |
| methyliert | 7 (31,8%) |
| unmethyliert | 15 (68,2%) |
| <u>IDH 1/2</u> | |
| mutiert | 5 (22,7%) |
| Wildtyp | 17 (77,3%) |
| Erkrankungsstatus bei Beginn ICI | Anzahl (%) |
| Erstdiagnose | 9 (40,9%) |
| Progression | 13 (59,1%) |
| Mutationslast | Anzahl (%) |
| niedrig | 8 (36,4%) |

| | |
|--|-------------------|
| intermediär | 3 (13,6%) |
| hoch | 7 (31,8%) |
| unbekannt | 4 (18,2%) |
| Immuncheckpoint-Inhibitor, ggf. Kombination | Anzahl (%) |
| Nivolumab | 5 (22,7%) |
| Nivolumab und RTx | 9 (40,9%) |
| Nivolumab und TTF | 1 (4,5%) |
| Nivolumab und BEV *1 | 4 (18,2%) |
| Nivolumab und intrathekales MTX | 1 (4,5%) |
| Nivolumab, Begleitmedikation unbekannt | 1 (4,5%) |
| Pembrolizumab und TMZ | 1 (4,5%) |
| Anzahl Zyklen ICI | Anzahl |
| Spannweite | 2 – 43 *2 |
| Median | 5 |
| Überlebensdaten | Anzahl in Monaten |
| <u>Progressionsfreies Überleben</u> *3 | |
| Spannweite | 0,5 – 33,3 |
| Median | 2,4 |
| <u>Gesamtüberleben</u> *3 | |
| Spannweite | 1,3 – 64,1 |
| Median | 5,4 |
| Schwere autoimmune Nebenwirkungen unter ICI | Anzahl (%) |
| keine schweren Nebenwirkungen | 16 (72,7%) |
| unbekannt | 1 (4,5%) |
| möglich, jedoch keine Abklärung erfolgt | 1 (4,5%) |
| ja, aber Fortführung der Therapie möglich | 1 (4,5%) |
| ja, Therapieabbruch notwendig | 3 (13,6%) |
| Vorthérapien | Anzahl (%) |
| <u>Operation</u> | |
| keine / nur Biopsie | 2 (9,1%) |
| Resektion einmal | 9 (40,9%) |
| Resektion zweimal oder mehr | 11 (50%) |

| | |
|---|--------------|
| <u>RTx</u> | |
| keine *4 | 8 (36,4%) |
| RTx einmal | 5 (22,7%) |
| RTx zweimal | 8 (36,4%) |
| RTx dreimal | 1 (4,5%) |
| <u>CTx</u> | |
| keine | 8 (36,4%) |
| nur TMZ | 1 (4,5%) |
| TMZ und CCNU | 9 (40,9%) |
| TMZ und PC | 1 (4,5%) |
| TMZ, CCNU und PCV | 1 (4,5%) |
| TMZ, PCV und Carboplatin | 1 (4,5%) |
| TMZ, CCNU und CTx nach HIT-SKK | 1 (4,5%) |
| <u>Weitere Therapien</u> *5 | |
| keine | 10 (45,6%) |
| Bevacizumab | 5 (22,7%) *6 |
| Regorafenib | 2 (9,1%) |
| Sorafenib | 1 (4,5%) |
| IDH1-Inhibitor | 2 (9,1%) |
| INC280 | 1 (4,5%) |
| Everolimus | 1 (4,5%) |
| TTF | 1 (4,5%) |
| CUSP9v3 | 1 (4,5%) |
| Fotodynamische Therapie | 1 (4,5%) |
| Vakzinierung mit autologen dendritischen Zellen | 1 (4,5%) |

Alter und Geschlecht

Wie bereits erwähnt, wurden 22 Patienten untersucht, von denen sechs (27,3%) weiblichen und 16 (72,7%) männlichen Geschlechts sind. Das mediane Alter bei Beginn der Therapie mit einem PD-1-Inhibitor betrug 52 Jahre.

Diagnosen, molekulare Marker, Krankheitssituation, Mutationslast

Alle Patienten wurden mit einem Gliom der WHO-Grade III bzw. IV diagnostiziert. Hierbei war das Glioblastom WHO-Grad IV mit 15 Patienten (68,2%) am häufigsten vertreten. Zwei Patienten (9,1%) erhielten die Diagnose eines Gliosarkoms WHO-Grad IV. Ein Patient (4,5%) wurde mit einer Gliomatosis cerebri diagnostiziert, wobei histologisch ein Anaplastisches Astrozytom WHO-Grad III vorlag. Ebenfalls sind ein Patient (4,5%) mit Diagnose eines Diffusen Mittellinienglioms WHO-Grad IV sowie drei Patienten (13,6%) mit einem Anaplastischen Oligodendrogliom WHO-Grad III vertreten.

Anmerkungen zu den Diagnosen: Nach der revidierten WHO-Klassifikation von 2021 sind zwei Patienten (*GL-ICI-15* und *20*), die hier mit der Diagnose eines Glioblastoms WHO-Grad IV aufgeführt sind, der neuen Klassifikation „Astrozytom, ZNS-WHO-Grad 4“ zuzuordnen. Zwei weitere Patienten (*GL-ICI-17* und *28*), die mit einem Glioblastom WHO-Grad IV diagnostiziert wurden, wiesen jeweils einen nukleären ATRX-Verlust sowie eine H3-G34-Mutation auf, sodass gemäß der WHO-Klassifikation 2021 die Diagnose „Diffuses hemisphärisches Gliom, H3-G34-mutiert, ZNS-WHO-Grad 4“ zu stellen wäre. Beim Patienten mit Diagnose einer Gliomatosis cerebri (*GL-ICI-23*) wurde histologisch ein Anaplastisches Astrozytom WHO-Grad III diagnostiziert, wobei bei diesem Patienten keine IDH-Mutation vorliegt. Bei diesem Patienten wurde ein nukleärer ATRX-Verlust festgestellt, eine im Rahmen einer anderen Studie durchgeführte molekulare Analyse ergab ein Methylierungsprofil eines hochgradigen Glioms der Mittellinie.

Zum Zeitpunkt des Beginns der Immuntherapie befanden sich neun Patienten (40,9%) in der erstdiagnostizierten Krankheitssituation. 13 Patienten (59,1%) hatten zuvor bereits eine oder mehrere Progressionen erlitten.

Ein methylierter MGMT-Promotor lag bei sieben Patienten (31,8%) vor, bei den restlichen 15 Patienten (68,2%) war dieser unmethyliert. Eine IDH1-Mutation konnte bei fünf Patienten (22,7%) nachgewiesen werden, einer dieser Patienten

wies zusätzlich eine IDH2-Mutation auf. Ein IDH1/2-Wildtyp lag bei 17 Patienten (77,3%) vor.

Von jedem Patienten wurde Tumorgewebe, das vor Beginn der Therapie mit einem Immuncheckpoint-Inhibitor entnommen wurde, sequenziert. Die Mutationslast im Gewebe war bei acht Patienten (36,4%) als niedrig, bei drei Patienten (13,6%) als intermediär und bei sieben Patienten (31,8%) als hoch einzustufen. Bei vier Patienten (18,2%) bleibt die Höhe der Mutationslast unbekannt.

Therapie mit einem Immuncheckpoint-Inhibitor

Alle Patienten erhielten im Laufe der Erkrankung eine Therapie mit einem PD-1-Inhibitor. Fünf Patienten (22,7%) erhielten Nivolumab-Infusionen ohne begleitende tumorspezifische Therapie. Neun Patienten (40,9%) wurden parallel zur Therapie mit Nivolumab bestrahlt. Ein Patient (4,5%) erhielt parallel zu den Nivolumab-Infusionen eine Therapie mit Tumor Treating Fields, vier Patienten (18,2%) wurden konkomitant mit Nivolumab und Bevacizumab behandelt. Intrathekales Methotrexat über ein Rickham-Reservoir zwischen zwei Gaben von Nivolumab wurde einem Patienten (4,5%) verabreicht, diese Behandlung erfolgte an einer externen Klinik ohne Rücksprache mit den behandelnden Ärzten am UKT. Ein Patient (4,5%) erhielt eine Kombinationstherapie aus dem PD-1-Inhibitor Pembrolizumab und dem Zytostatikum Temozolomid.

Im Median wurden fünf Gaben des Immuncheckpoint-Inhibitors verabreicht. Drei Patienten wurden in dieser Berechnung nicht berücksichtigt, da die Anzahl aufgrund externer Behandlung nicht genau nachzuvollziehen ist. Die Spannweite lag zwischen zwei und 43 Gaben.

Autoimmune Nebenwirkungen

Im hier untersuchten Kollektiv kam es bei vier Patienten (18,2%) zu schwereren autoimmunen Komplikationen. Bei drei Patienten (insgesamt 13,6% des

Gesamtkollektivs) war aus diesem Grund ein Therapieabbruch notwendig. Davon entwickelte ein Patient mit erstdiagnostiziertem Glioblastom (*GL-ICI-7*) nach zwei Gaben Nivolumab eine schwere autoimmune Hepatitis. Ein weiterer Patient (*GL-ICI-8*) musste die Nivolumab-Therapie nach zwölf Gaben ebenfalls bei schweren autoimmunen Nebenwirkungen in Form einer Polyserositis abbrechen. Ein Patient mit progredientem Anaplastischen Oligodendrogliom WHO-Grad III (*GL-ICI-30*) entwickelte nach vier Gaben Nivolumab eine aseptische Meningitis. Aus diesem Grund – und wegen einer gleichzeitig vorliegenden Tumorprogression – wurde die Nivolumab-Therapie beendet.

Bei einem Patienten traten autoimmune Nebenwirkungen auf, wobei die Nivolumab-Therapie fortgesetzt werden konnte. Dieser Patient (*GL-ICI-3*) mit erstdiagnostiziertem Glioblastom entwickelte unter der Therapie einen autoimmunen Diabetes Typ I. Im Verlauf wurden eine Pneumonie sowie eine reaktive Spondylarthritis diagnostiziert. Als wahrscheinlichste Ätiologie wurde ebenfalls eine autoimmune Nebenwirkung im Rahmen der Nivolumab-Therapie diskutiert. Die Immuncheckpoint-Blockade konnte dennoch bis zur nachgewiesenen Tumorprogression fortgeführt werden.

Ein weiterer Patient (*GL-ICI-24*) präsentierte eine klinische Symptomatik, die eine autoimmune Genese vermuten ließ, lehnte aber eine diesbezügliche Abklärung ab und verstarb kurz darauf. Für Patient *GL-ICI-14* ließen sich keine Daten zu möglichen autoimmunen Nebenwirkungen erheben. Bei den übrigen 16 Patienten (72,7%) sind keine schwerwiegenden autoimmunen Komplikationen unter der Immuncheckpoint-Blockade dokumentiert. Bei einigen dieser Patienten traten jedoch leichte Nebenwirkungen (CTCAE-Grad I oder II, z.B. Fatigue, Kopfschmerzen, Blähungen, Pruritus, Hyperbilirubinämie) auf, die jedoch keiner besonderen Behandlung und keines Therapieabbruchs bedurften.

Überlebensdaten

Alle 22 Patienten sind zum Zeitpunkt der finalen Datenauswertung verstorben. Das mediane progressionsfreie Überleben nach Beginn der Immuncheckpoint-Therapie betrug 2,4 Monate (Spannweite 0,5 – 33,3 Monate). Das mediane

Gesamtüberleben lag bei 5,4 Monaten, wobei eine Spannweite von 1,3 – 64,1 Monaten bestand.

Vortherapien

Vor Beginn der Therapie mit einem Checkpoint-Inhibitor hatte jeder der 22 Patienten bereits eine andere tumorspezifische Therapie erhalten. Eine genaue Auflistung der Vortherapien der einzelnen Patienten kann nachfolgender Tabelle 3 entnommen werden

Tabelle 3: Vortherapien der einzelnen Patienten vor Beginn der Immuncheckpoint-Inhibition

Abkürzungen: BEV = Bevacizumab; CCNU = Lomustin; CTx = Chemotherapie; CUSP9v3 = Coordinated Undermining of Survival Paths by 9 Repurposed Drugs, Version 3; HIT-SKK = Hirntumor Säuglinge und Kleinkinder; ICI = Immuncheckpoint-Inhibition; ID = Identifikationsnummer der Patienten; IDH = Isozitatdehydrogenase; INC280 = Capmatinib (MET-Inhibitor); PC = Procarbazin und CCNU; PCV = Procarbazin, CCNU und Vincristin; RTx = Radiotherapie; TMZ = Temozolomid; TTF = Tumor Treating Fields

Anmerkungen: - = nein; + = ja; *¹: nur abgeschlossene RTx gewertet, konkomitante RTx als - gewertet; *²: zweimal RTx zerebral, einmal spinale RTx

| ID | Anzahl Resektionen | Anzahl RTx | CTx mit TMZ | CTx mit CCNU | CTx mit anderen Substanzen | Sonstiges / Studie / off label |
|------------------|--------------------|------------------|-------------|--------------|----------------------------|--------------------------------|
| GL-ICI-1 | 1 | - * ¹ | - | - | - | - |
| GL-ICI-2 | 1 | - * ¹ | - | - | - | - |
| GL-ICI-3 | 1 | - * ¹ | - | - | - | - |
| GL-ICI-5 | 1 | - * ¹ | - | - | - | - |
| GL-ICI-6 | 1 | - * ¹ | - | - | - | - |
| GL-ICI-7 | 1 | - * ¹ | - | - | - | - |
| GL-ICI-8 | 1 | - * ¹ | - | - | - | - |
| GL-ICI-9 | 1 | - * ¹ | - | - | - | - |
| GL-ICI-14 | 3 | 2 | + | + | PCV | BEV |

| ID | Anzahl Resektionen | Anzahl RTx | CTx mit TMZ | CTx mit CCNU | CTx mit anderen Substanzen | Sonstiges / Studie / off label |
|------------------|--------------------|------------|-------------|--------------|----------------------------|--|
| GL-ICI-15 | 4 | 1 *1 | + | + | - | INC280 |
| GL-ICI-16 | 3 | 1 | + | - | PC | - |
| GL-ICI-17 | 3 | 2 | + | + | - | - |
| GL-ICI-18 | 3 | 1 | + | + | - | Fotodynamische Therapie, CUSP9v3 |
| GL-ICI-19 | 2 | 2 | + | + | - | - |
| GL-ICI-20 | 4 | 2 | + | + | - | IDH1-Inhibitoren |
| GL-ICI-21 | 2 | 2 | + | + | - | Everolimus |
| GL-ICI-22 | 3 | 2 | + | - | PCV, Carboplatin | BEV, (<i>Clopidogrel</i> und <i>trizyklisches Antidepressivum</i>) |
| GL-ICI-23 | 0 | 1 | + | - | - | - |
| GL-ICI-24 | 2 | 2 | + | + | - | BEV |
| GL-ICI-26 | 0 | 1 | + | + | - | TTF, BEV, Regorafenib |
| GL-ICI-28 | 4 | 3 *2 | + | + | CTx nach HIT-SKK | Sorafenib, Vakzinierung mit autologen dendritischen Zellen |
| GL-ICI-30 | 1 | 2 | + | + | - | BEV, IDH1-Inhibitoren, Regorafenib |

Eine Resektion des Tumorgewebes wurde bei neun Patienten (40,9%) durchgeführt, bei elf Patienten (50%) waren im Vorfeld sogar zwei oder mehr (Maximum vier) Resektionen erfolgt. Lediglich bei zwei Patienten (9,1%) war keine operative Tumorentfernung möglich, hier erfolgte eine Biopsie zur Diagnosesicherung.

Fünf Patienten (22,7%) wurden im Vorfeld der Immuntherapie einmal bestrahlt, acht Patienten (36,4%) sogar zweimal. Ein Patient (4,5%) erhielt dreimal eine Bestrahlung, davon zweimal eine zerebrale und einmal eine spinale Bestrahlung. Bei den übrigen acht Patienten (36,4%) wurde die (erste) Radiatio

konkomitant zur Gabe des Immuncheckpoint-Inhibitors durchgeführt, daher wurden diese Patienten hier als nicht vorbehandelt in Bezug auf die Bestrahlung gewertet.

Diese acht Patienten (36,4%) erhielten vor dem Beginn mit dem PD-1-Inhibitor auch keine zytotoxische Chemotherapie. Die übrigen 14 Patienten wurden im Vorfeld chemotherapeutisch behandelt, davon erhielt ein Patient (4,5%) lediglich Temozolomid. Neun Patienten (40,9%) waren mit Temozolomid und Lomustin vorbehandelt. Jeweils ein Patient (jeweils 4,5%) erhielt eine Chemotherapie mit Temozolomid sowie PC (Procarbazin und Lomustin) bzw. Temozolomid, Lomustin sowie PCV (Procarbazin, Lomustin und Vincristin) bzw. Temozolomid, PCV (Procarbazin, Lomustin und Vincristin) sowie Carboplatin. Ein weiterer Patient (4,5%) wies eine Vorbehandlung mit TMZ, CCNU sowie einer Chemotherapie nach dem HIT-SKK-Protokoll auf.

Zwölf der insgesamt 22 Patienten hatten im Vorfeld der Immuncheckpoint-Inhibition ebenfalls bereits weitere tumorspezifische Therapien erhalten, darunter war die anti-angiogenetische Substanz Bevacizumab am häufigsten vertreten, diese hatten bereits fünf Patienten (22,7%) erhalten. Bei zwei dieser fünf Patienten wurde die Therapie während der Immuncheckpoint-Inhibitor-Gabe fortgeführt. Drei weitere Patienten wurden mit einem Tyrosinkinase-Inhibitor therapiert, davon zwei (9,1%) mit Regorafenib und ein Patient (4,5%) mit Sorafenib. Zwei Patienten (9,1%) wurden vor der Checkpoint-Therapie mit einem IDH1-Inhibitor behandelt. Ein MET-Inhibitor (INC280) bzw. ein mTOR-Inhibitor (Everolimus) wurden jeweils einem Patienten (4,5%) appliziert. Ebenfalls war bei jeweils einem Patienten (jeweils 4,5%) im Vorfeld eine Therapie mit Tumor Treating Fields, CUSP9v3, Fotodynamischer Therapie oder Vakzinierung mit autologen dendritischen Zellen erfolgt.

3.2 Progression

Wie im vorherigen Kapitel bereits beschrieben, lag das mediane progressionsfreie Überleben im gesamten Kollektiv bei 2,4 Monaten und das Gesamtüberleben bei 5,4 Monaten, jeweils nach Beginn der Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor Nivolumab bzw. Pembrolizumab. Die in den folgenden Kapiteln genannten Überlebensdaten beziehen sich immer auf den Zeitraum nach Beginn der Checkpoint-Blockade.

Das mediane PFS für Patienten mit einem erstdiagnostizierten Gliom betrug dabei 7,1, das mediane PFS der Patienten, die vor der Immuncheckpoint-Therapie bereits eine Progression der Tumorerkrankung erlitten hatten, lag bei 1,9 Monaten. Das mediane Gesamtüberleben für Patienten mit Erstdiagnose betrug 17,0 und für Patienten in der Progression 3,6 Monate.

In nachfolgender Tabelle 4 ist zudem aufgeführt, wie viele Patienten nach einem bestimmten Zeitraum noch progressionsfrei (PFS) bzw. am Leben (OS) waren. Weniger als die Hälfte waren drei Monate nach Therapie-Initiierung noch progressionsfrei, gerade einmal die Hälfte war nach einem halben Jahr noch am Leben. In der Subgruppe der bereits im Vorfeld progredienten Patienten erreichte keiner ein PFS von neun Monaten, nur einer lebte ein Jahr nach Beginn der Therapie noch. In der Subgruppe der erstdiagnostizierten Patienten erreichten zwei Patienten ein progressionsfreies Überleben von 12 Monaten, vier Patienten waren zum Zeitpunkt 18 Monate nach Therapiebeginn noch am Leben. Die übrigen Daten sind Tabelle 4 zu entnehmen.

Tabelle 4: Übersicht progressionsfreies und Gesamtüberleben nach Beginn der Immuncheckpoint-Blockade im Kollektiv

Abkürzungen: n = Anzahl

| | Gesamtkollektiv <i>n</i> = 22 | Erstdiagnose <i>n</i> = 9 | Progression <i>n</i> = 13 |
|---|---|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Progressionsfreies Überleben Median (in Monaten) | 2,4 | 7,1 | 1,9 |
| Progressionsfreies Überleben Rate – Anzahl (%) | | | |
| 3 Monate | 9 (40,9%) | 6 (66,7%) | 3 (23,1%) |
| 6 Monate | 6 (27,3%) | 5 (55,6%) | 1 (7,7%) |
| 9 Monate | 3 (13,6%) | 3 (33,3%) | 0 (0%) |
| 12 Monate | 2 (9,1%) | 2 (22,2%) | 0 (0%) |
| 18 Monate und länger | 1 (4,5%) | 1 (11,1%) | 0 (0%) |
| Gesamtüberleben Median (in Monaten) | 5,4 | 17,0 | 3,6 |
| Gesamtüberleben Rate – Anzahl (%) | | | |
| 3 Monate | 17 (77,3%) | 8 (88,9%) | 9 (69,2%) |
| 6 Monate | 11 (50%) | 7 (77,8%) | 4 (30,8%) |
| 9 Monate | 8 (36,4%) | 7 (77,8%) | 1 (7,7%) |
| 12 Monate | 8 (36,4%) | 7 (77,8%) | 1 (7,7%) |
| 18 Monate | 4 (18,2%) | 4 (44,4%) | 0 (0%) |
| 24 Monate und länger | 3 (13,6%) | 3 (33,3%) | 0 (0%) |

Da interindividuell erhebliche Unterschiede im progressionsfreien bzw. Gesamtüberleben bestanden (siehe Tabelle 19 im Anhang), sollen im Folgenden klinische Charakteristika, die mit gutem bzw. unzureichendem Therapieansprechen assoziiert sein könnten, evaluiert werden. Dazu erfolgte in dieser Arbeit eine Einteilung in zwei Gruppen: „frühe Progression“ bzw. „keine frühe Progression“. Hierfür wurde die zeitliche Latenz bis zum Auftreten einer Progression unter der Immuncheckpoint-Inhibition, sprich das progressionsfreie

Überleben (PFS), ausgewertet. Dabei wurde eine frühe Progression in dieser Arbeit definiert als Auftreten einer Progression der Tumorerkrankung in der ersten MRT, die im Rahmen der routinemäßigen Verlaufskontrolle nach Beginn der Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor durchgeführt wurde. Wurde bereits vor dieser Verlaufskontrolle eine zerebrale bzw. spinale Bildgebung durchgeführt, etwa im Rahmen einer klinischen (neurologischen) Verschlechterung, in der sich eine Progression darstellte, wurde dies entsprechend ebenfalls als frühe Progression gewertet. Die routinemäßigen radiologischen Verlaufsbeurteilungen wurden in der Regel in Drei-Monats-Intervallen durchgeführt. Dieser Definition nach wurden 14 Patienten (63,6%) der Kategorie „frühe Progression“ und acht Patienten (36,4%) der Kategorie „keine frühe Progression“ zugeordnet. In Abbildung 3 ist das mediane PFS bzw. OS der jeweiligen Subgruppe des Patientenkollektivs dargestellt. Während das mediane PFS in der Gruppe „frühe Progression“ bei 1,7 Monaten und in der Gruppe „keine frühe Progression“ bei 7,8 Monaten lag, unterschied sich auch das mediane OS deutlich mit 3,5 vs. 16,2 Monaten.

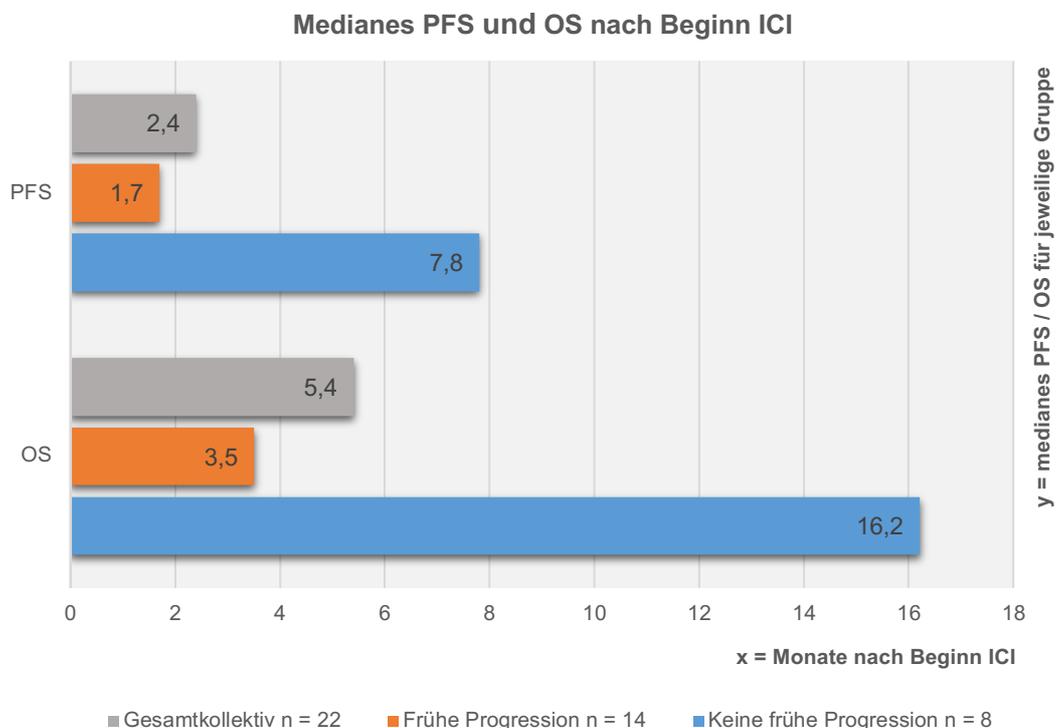


Abbildung 3: Vergleich progressionsfreies und Gesamtüberleben nach Beginn der Immuncheckpoint-Therapie (Angabe des Median-Wertes)

Abkürzungen: ICI = Immuncheckpoint-Inhibition; n = Anzahl; OS = Gesamtüberleben; PFS = Progressionsfreies Überleben

Anmerkungen: grau = medianes PFS / OS im Gesamtkollektiv; orange = medianes PFS / OS bei Patienten mit früher Progression; blau = medianes PFS / OS bei Patienten ohne frühe Progression

In Tabelle 5 und den folgenden beiden Kapiteln sollen die beiden Gruppen hinsichtlich klinischer Charakteristika genauer untersucht werden. Hierbei wurden verschiedene Faktoren berücksichtigt, von denen angenommen wurde, dass sie Einfluss auf die Wirksamkeit der Immuncheckpoint-Inhibition haben könnten: Zum einen die histopathologische Diagnose inklusive WHO-Gradierung sowie molekulare Marker, die im Rahmen der klinischen Routine bestimmt wurden (MGMT-Promotor, IDH-Status). Zudem wurde auch der Erkrankungsstatus bei Beginn der Immuncheckpoint-Blockade (Erstdiagnose vs. bereits Progression der Erkrankung aufgetreten) betrachtet.

Weiterhin wurde anhand vorliegender MRT- bzw. PET-Aufnahmen vor Beginn der Immuncheckpoint-Therapie die Tumormasse analysiert. Unter dem Begriff Tumormasse ist die Tumormasse bzw. -dissemination zu verstehen. Dabei wurde die letzte vorliegende Bildgebung des jeweiligen Patienten vor Beginn der Checkpoint-Blockade herangezogen und eine Einteilung der Tumormasse in folgende Kategorien vorgenommen:

- Eine makroskopische Komplettresektion ist vor Beginn ICI erfolgt, d.h. makroskopisch ist keine Tumormasse vor Therapiebeginn nachweisbar
- Lediglich geringe Schrankenstörungen in der Bildgebung nachweisbar
- Eine Teilresektion ist erfolgt bzw. es ist ausschließlich lokal Tumormasse vorhanden
- Multifokale Tumormasse ist nachweisbar und / oder der Tumor infiltriert den Balken mit Überwachsen auf die kontralaterale Hemisphäre
- Spinale und zerebrale Tumormanifestation vorhanden
- Unbekannt (falls keine aktuelle Bildgebung vor Beginn der Therapie vorlag)

Tabelle 5: Vergleich klinischer Daten zwischen Patienten mit früher und Patienten ohne frühe Progression

Abkürzungen: ICI = Immuncheckpoint-Inhibition; IDH = Isozitratdehydrogenase; MGMT = O6-Methylguanyl-DNA-Methyltransferase; n = Anzahl; WHO = World Health Organization

Anmerkungen: *: auch bei Infiltration des Balkens

| | Frühe Progression n = 14 | Keine frühe Progression n = 8 |
|---|-------------------------------------|--|
| Diagnosen Anzahl (%) | | |
| Glioblastom WHO-Grad IV | 7 (50%) | 8 (100%) |
| Gliosarkom WHO-Grad IV | 2 (14,3%) | 0 (0%) |
| Oligodendrogliom WHO-Grad III | 3 (21,4%) | 0 (0%) |
| Astrozytom WHO-Grad III | 1 (7,1%) | 0 (0%) |
| Diffuses Mittelliniengliom WHO-Grad IV | 1 (7,1%) | 0 (0%) |
| Molekulare Marker Anzahl (%) | | |
| <u>MGMT-Promotor</u> | | |
| methyliert | 5 (35,7%) | 2 (25%) |
| unmethyliert | 9 (64,3%) | 6 (75%) |
| <u>IDH 1/2</u> | | |
| mutiert | 3 (21,4%) | 2 (25%) |
| Wildtyp | 11 (78,6%) | 6 (75%) |
| Erkrankungsstatus vor ICI Anzahl (%) | | |
| Erstdiagnose | 3 (21,4%) | 6 (75%) |
| Progression | 11 (78,6%) | 2 (25%) |
| Tumorlast vor ICI Anzahl (%) | | |
| Makroskopische Komplettresektion | 1 (7,1%) | 5 (62,5%) |
| Teilresektion bzw. lokale Tumormasse | 3 (21,4%) | 1 (12,5%) |
| Minimale Schrankenstörungen | 2 (14,3%) | 0 (0%) |
| Multifokal Tumormasse * | 5 (35,7%) | 2 (25%) |
| Spinale und zerebrale Beteiligung | 1 (7,1%) | 0 (0%) |
| Unbekannt | 2 (14,3%) | 0 (0%) |

3.2.1 Frühe Progression

Patienten wurden als „früh progredient“ bezeichnet, wenn eine Progression unter der Immuncheckpoint-Inhibition bereits in der ersten routinemäßigen Bildgebung (bzw. noch früher etwa im Falle einer klinischen Verschlechterung) nachgewiesen wurde. Gemäß dieser Definition erlitten 14 Patienten (63,6%) des Gesamtkollektivs eine frühe Progression. In Abbildung 4 sind das progressionsfreie Überleben sowie das Gesamtüberleben jedes einzelnen Patienten dieser Gruppe dargestellt. Das mediane PFS in dieser Gruppe betrug 1,7 Monate (Spannweite 0,5 - 3,6), das mediane OS 3,5 Monate (Spannweite 1,3 - 17,0).

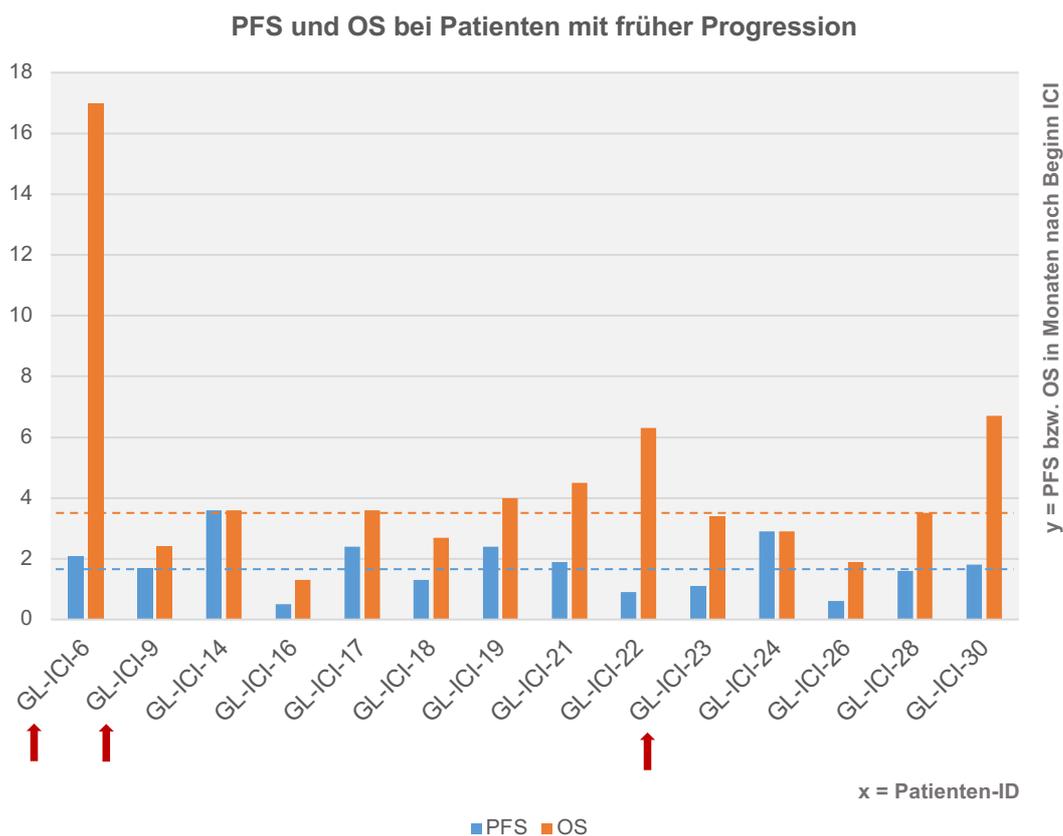


Abbildung 4: Progressionsfreies und Gesamtüberleben der Patienten mit früher Progression unter Immuncheckpoint-Inhibition

Abkürzungen: ICI = Immuncheckpoint-Inhibition; ID = Identifikationsnummer der Patienten; OS = Gesamtüberleben; PFS = Progressionsfreies Überleben
Anmerkungen: Blaue Linie = Median-Wert PFS (= 1,7 Monate); Orange Linie = Median-Wert OS (= 3,5 Monate); mit Pfeilen markiert sind diejenigen Patienten mit erstdiagnostizierten Gliomen

Anmerkung: Bei Patient *GL-ICI-14* waren nur der Monat des Beginns der Checkpoint-Therapie sowie das Todesdatum bekannt. Der Beginn wurde daher auf den ersten Tag des entsprechenden Monats kodiert. Die Zeitdifferenz zum Todesdatum betrug 3,6 Monate. Bei Patient *GL-ICI-24* war der genaue Beginn der Immuncheckpoint-Blockade bekannt, der Patient stellte sich trotz klinischer Verschlechterung nicht mehr vor und verstarb 2,9 Monate nach Therapieinitiierung. Beide Patienten (*GL-ICI-14* und *24*) wurden der Kategorie „frühe Progression“ zugeordnet.

Folgende Diagnosen sind in der Gruppe „frühe Progression“ vertreten: Sieben Patienten (50%) mit Glioblastom WHO-Grad IV, zwei Patienten (14,3%) mit Gliosarkom WHO-Grad IV, drei Patienten (21,4%) mit Oligodendrogliom WHO-Grad III sowie jeweils ein Patient (jeweils 7,1%) mit Astrozytom WHO-Grad III bzw. Diffusem Mittelliniengliom WHO-Grad IV. *Anmerkung:* Nach der WHO-Klassifikation von 2021 ist bei zwei Patienten (*GL-ICI-17* und *28*), die hier mit einem Glioblastom WHO-Grad IV aufgeführt werden, die Diagnose „Diffuses hemisphärisches Gliom, H3-G34-mutiert, ZNS-WHO-Grad 4“ zu stellen. Beim Patienten mit Diagnose einer Gliomatosis cerebri (*GL-ICI-23*) wurde histologisch ein Anaplastisches Astrozytom WHO-Grad III diagnostiziert, wobei bei diesem Patienten keine IDH-Mutation vorliegt. Ein nukleärer ATRX-Verlust wurde festgestellt und eine im Rahmen einer anderen Studie durchgeführte molekulare Analyse ergab ein Methylierungsprofil eines hochgradigen Glioms der Mittellinie.

Insgesamt drei Patienten (21,4%) in dieser Gruppe wiesen eine IDH1/2-Mutation auf, bei den übrigen elf (78,6%) war die Wildtypsequenz nachzuweisen. Der MGMT-Promotor war bei fünf Patienten (35,7%) methyliert und bei neun Patienten (64,3%) unmethyliert.

Nur drei (21,4%) der 14 Patienten mit früher Progression befanden sich vor Checkpoint-Inhibitor-Therapiebeginn in der erstdiagnostizierten Krankheitssituation. Elf Patienten (78,6%) hatten jedoch bereits mindestens eine Progression erlitten.

Von den 14 Patienten dieser Gruppe war bei einem Patienten (7,1%) eine makroskopische Kompletresektion des Tumors erfolgt. Bei drei Patienten (21,4%) konnte eine Teilresektion vor Therapiebeginn durchgeführt werden bzw. es war noch lokal Tumormasse vorhanden (falls keine Resektion zuvor erfolgt war). Minimale Schrankenstörungen nach der OP waren ebenfalls bei zwei Patienten (14,3%) nachweisbar. Beim größten Teil dieser Gruppe, nämlich fünf Patienten (35,7%), war vor Therapiestart multifokal Tumormasse vorhanden. Ein weiterer Patient (7,1%) wies sowohl spinale als auch zerebrale Tumormanifestationen auf, während bei zwei Patienten (14,3%) die Tumorlast vor Therapiebeginn unklar blieb, da keine aktuelle Bildgebung vorlag. Insgesamt bestand damit bei sechs Patienten (42,9%) eine disseminierte Tumorerkrankung (hier definiert als multifokale Tumormasse bzw. spinale und zerebrale Tumormanifestation) vor Therapiestart. Anzumerken ist, dass sich der einzige Patient, bei dem in der Gruppe „frühe Progression“ vor Therapiebeginn eine makroskopische Kompletresektion erfolgt war (*GL-ICI-9*), auch in der erstdiagnostizierten Krankheitssituation befand.

3.2.2 Keine frühe Progression

Falls in der ersten routinemäßigen Bildgebung im Rahmen der Therapie mit dem Checkpoint-Inhibitor keine Progression nachweisbar war, wurden die Patienten in die Gruppe „keine frühe Progression“ eingeordnet. Dies traf auf acht Patienten (36,4%) des Gesamtkollektivs zu. In Abbildung 5 sind das progressionsfreie Überleben sowie das Gesamtüberleben jedes einzelnen Patienten dieser Gruppe dargestellt. Das mediane PFS in dieser Gruppe betrug 7,8 Monate (Spannweite 3,2 – 33,3), das mediane OS 16,2 Monate (Spannweite 7,1 – 64,1).

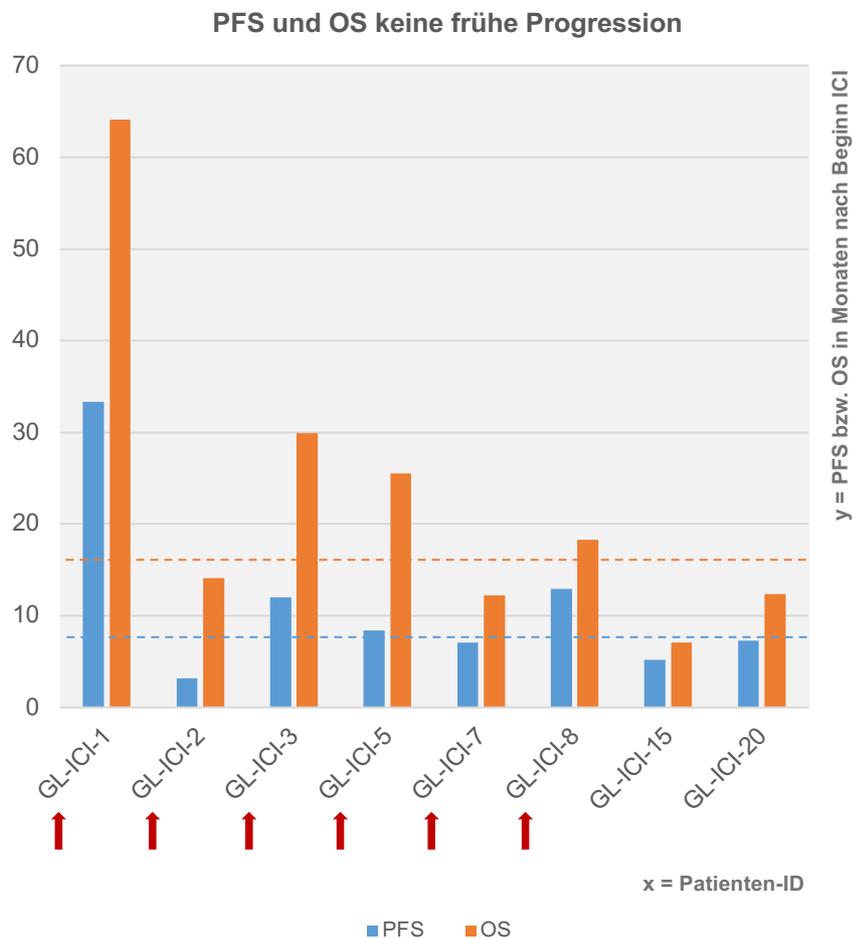


Abbildung 5: Progressionsfreies und Gesamtüberleben der Patienten ohne frühe Progression unter Immuncheckpoint-Inhibition

Abkürzungen: ICI = Immuncheckpoint-Inhibition; ID = Identifikationsnummer der Patienten; OS = Gesamtüberleben; PFS = Progressionsfreies Überleben

Anmerkungen: Blaue Linie = Median-Wert PFS (= 7,8 Monate); Orange Linie = Median-Wert OS (= 16,2 Monate); mit Pfeilen markiert sind diejenigen Patienten mit erstdiagnostizierten Gliomen

In der Gruppe „keine frühe Progression“ wurden alle acht Patienten (100%) mit einem Glioblastom WHO-Grad IV diagnostiziert. *Anmerkung:* Nach der WHO-Klassifikation 2021 liegt bei zwei dieser Patienten (GL-ICI-15 und 20) ein „Astrozytom, IDH-mutiert, ZNS-WHO-Grad 4“ vor.

Ebendiese zwei Patienten (25%) wiesen eine Mutation in IDH1/2 auf, bei den übrigen sechs (75%) war die Wildtypsequenz nachzuweisen. Der MGMT-Promotor war bei zwei Patienten (25%) methyliert und bei sechs Patienten (75%) unmethyliert.

In dieser Gruppe befanden sich sechs Patienten (75%) in der erstdiagnostizierten Krankheitssituation, lediglich zwei Patienten (25%) hatten im Vorfeld der Immuncheckpoint-Inhibition bereits mindestens eine Progression der Gliom-Erkrankung erlitten. Damit ist der Anteil an erstdiagnostizierten Patienten mit 75% deutlich höher als bei den Patienten mit früher Progression. Bei fünf Patienten und damit mit 62,5% dem größten Teil erfolgte vor Beginn der Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor eine makroskopische Komplettresektion. Bei einem Patienten (12,5%) war eine Teilresektion möglich bzw. lokal Tumormasse vorhanden. Multifokale Tumorerkrankungen fanden sich wiederum bei zwei Patienten (25%).

3.3 Mutationslast

Als nächstes soll auf die genetischen Befunde eingegangen werden. In den analysierten Tumorproben wurden unterschiedlich hohe Mutationslasten festgestellt, die als „niedrig“, „intermediär“ oder „hoch“ klassifiziert wurden. Hierbei wurden die Mutationslasten von CeGaT folgendermaßen definiert: „gering“ bis 3,3 Varianten / Megabase, „intermediär“ zwischen 3,3 und 23,1 Varianten / Megabase und „hoch“ > 23,1 Varianten / Megabase. Bei vier Patienten wurde keine Mutationslast angegeben, bei drei Patienten wurde diese lediglich als „hoch“ klassifiziert. Die Spannweite lag dabei zwischen < 0,1 – 274,5 Varianten / Megabase. In nachfolgendem Diagramm (Abbildung 6) sind die Mutationslasten der einzelnen Patienten dargestellt. Bei Patienten mit mehreren Tumorproben wird hier die Mutationslast der ersten Tumorprobe, die vor der Immuncheckpoint-Blockade gewonnen wurde, aufgeführt.

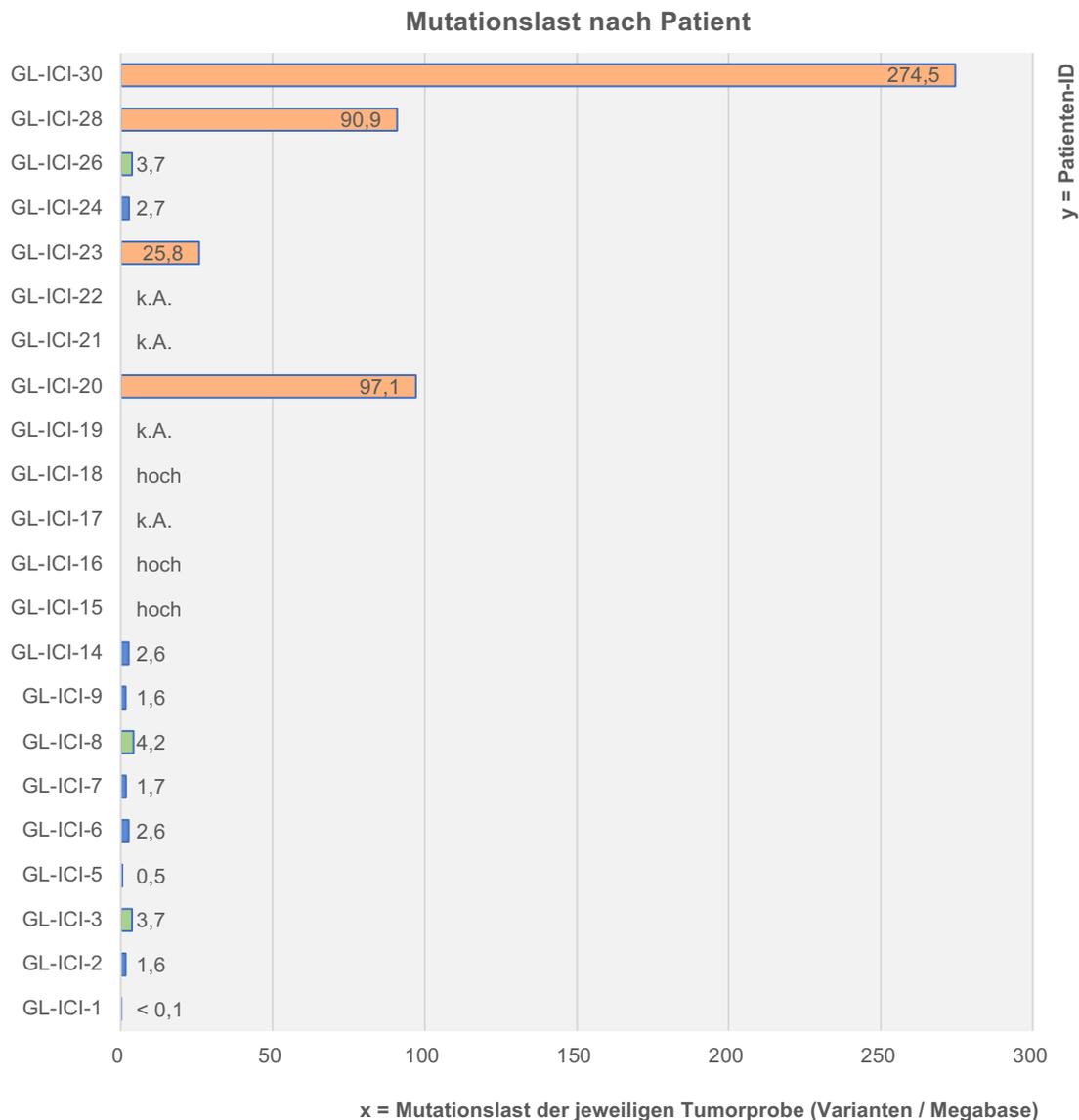


Abbildung 6: Mutationslast der einzelnen Patienten

Abkürzungen: ID = Identifikationsnummer der Patienten; k.A. = keine Angabe

Anmerkungen: orange = hohe Mutationslast; grün = intermediäre Mutationslast; blau = niedrige Mutationslast; in Zahlen angegeben ist die genaue Mutationslast des jeweiligen Patienten in Varianten / Megabase kodierender DNA (bei einigen Patienten ist in den Befundberichten nur „hoch“ angegeben)

Aufgrund des bei anderen Tumorentitäten beschriebenen Stellenwertes einer hohen Mutationslast als prädiktiver Biomarker für die Checkpoint-Blockade (siehe Kapitel 1.2.2), sollen auch in dieser Arbeit Patienten mit hoher und

Patienten mit niedriger bzw. intermediärer Mutationslast gesondert betrachtet werden, vor allem im Hinblick auf das Therapie-assoziierte progressionsfreie Überleben bzw. Gesamtüberleben. Bei insgesamt sieben Patienten wurde keine genaue Mutationslast in Varianten / Megabase angegeben. Dass eine hohe Mutationslast vorliegt, wurde aber bei drei dieser Patienten im Befund explizit angegeben. Daher sind die in Kapitel 3.1 als „unbekannt“ klassifizierten hier der Gruppe „niedrige oder intermediäre Mutationslast“ zuzuordnen. In folgender Tabelle (Tabelle 6) werden die klinischen Eigenschaften der beiden Gruppen verglichen, erläutert werden die Daten in den folgenden beiden Kapiteln.

Tabelle 6: Vergleich klinischer Daten zwischen Patienten mit hoher und denen mit niedriger / intermediärer Mutationslast

Abkürzungen: ICI = Immuncheckpoint-Inhibition; IDH = Isozitatdehydrogenase; MGMT = O6-Methylguanyl-DNA-Methyltransferase; n = Anzahl; WHO = World Health Organization

Anmerkungen: Falls bei einem Patienten mehrere Tumorproben vorliegen, wird hier die Mutationslast vor Immuncheckpoint-Blockade genannt.

*1: in Varianten/Megabase kodierender DNA; *2: n = 4 (bei 3 Patienten genaue Mutationslast nicht bekannt); *3: n = 11 (bei 4 Patienten genaue Mutationslast nicht bekannt); *4: auch bei Infiltration des Balkens; *5: in Monaten nach Beginn ICI

| | Hohe Mutationslast n = 7 | Niedrige / intermediäre Mutationslast n = 15 |
|---|-----------------------------|---|
| Mutationslast *1 in Varianten / Megabase | | |
| Spannweite | 25,8 – 274,5 *2 | < 0,1 – 4,2 *3 |
| Diagnosen Anzahl (%) | | |
| Glioblastom WHO-Grad IV | 5 (71,4%) | 10 (66,7%) |
| Gliosarkom WHO-Grad IV | 0 (0%) | 2 (13,3%) |
| Oligodendrogliom WHO-Grad III | 1 (14,3%) | 2 (13,3%) |
| Astrozytom WHO-Grad III | 1 (14,3%) | 0 (0%) |
| Diffuses Mittelliniengliom WHO-Grad IV | 0 (0%) | 1 (6,7%) |

| | Hohe Mutationslast <i>n</i> = 7 | Niedrige / intermediäre Mutationslast <i>n</i> = 15 |
|---|------------------------------------|--|
| Molekulare Marker Anzahl (%) | | |
| <u>MGMT-Promotor</u> | | |
| methyliert | 6 (85,7%) | 1 (6,7%) |
| unmethyliert | 1 (14,3%) | 14 (93,3%) |
| <u>IDH 1/2</u> | | |
| mutiert | 3 (42,9%) | 2 (13,3%) |
| Wildtyp | 4 (57,1%) | 13 (86,7%) |
| Erkrankungsstatus vor ICI Anzahl (%) | | |
| Erstdiagnose | 1 (14,3%) | 8 (53,3%) |
| Progression | 6 (85,7%) | 7 (46,7%) |
| Tumorlast vor ICI Anzahl (%) | | |
| Makroskopische Komplettresektion | 0 (0%) | 6 (40%) |
| Teilresektion bzw. lokale Tumormasse | 1 (14,3%) | 3 (20%) |
| Minimale Schrankenstörungen | 1 (14,3%) | 1 (6,7%) |
| Multifokal Tumormasse *4 | 4 (57,1%) | 3 (20%) |
| Spinale und zerebrale Beteiligung | 1 (14,3%) | 0 (0%) |
| Unbekannt | 0 (0%) | 2 (13,3%) |
| Progression Anzahl (%) | | |
| Frühe Progression | 5 (71,4%) | 9 (60%) |
| Keine frühe Progression | 2 (28,6%) | 6 (40%) |
| Progressionsfreies Überleben *5 in Monaten | | |
| Spannweite | 0,5 – 7,3 | 0,6 – 33,3 |
| Median | 1,6 | 2,9 |
| Gesamtüberleben *5 in Monaten | | |
| Spannweite | 1,3 – 12,4 | 1,9 - 64,1 |
| Median | 3,5 | 6,3 |

3.3.1 Patienten mit hoher Mutationslast

Zunächst soll ein Überblick über alle Patienten mit hoher Mutationslast gegeben werden. Bei insgesamt sieben Patienten (*GL-ICI-15, 16, 18, 20, 23, 28* und *30*) konnte eine hohe Mutationslast im Tumorgewebe nachgewiesen werden, das entspricht 31,8% des Gesamtkollektivs. Fünf dieser Patienten (71,4%) wurden mit einem Glioblastom WHO-Grad IV, ein Patient (14,3%) mit einer Gliomatosis cerebri (Histologie: Astrozytom WHO-Grad III) sowie ein weiterer Patient (14,3%) mit einem Oligodendrogliom WHO-Grad III diagnostiziert. *Anmerkung:* Nach der WHO-Klassifikation 2021 liegt bei zwei dieser Patienten (*GL-ICI-15* und *20*) ein „Astrozytom, IDH-mutiert, ZNS-WHO-Grad 4“ vor, bei *GL-ICI-28* würde ein „Diffuses hemisphärisches Gliom, H3-G34-mutiert, ZNS-WHO-Grad 4“ bestehen. Beim Patienten mit Diagnose einer Gliomatosis cerebri (*GL-ICI-23*) wurde histologisch ein Anaplastisches Astrozytom WHO-Grad III diagnostiziert, jedoch liegt keine IDH-Mutation vor.

Der MGMT-Promotor war bei sechs Patienten (85,7%) methyliert und lediglich bei einem Patienten (14,3%) unmethyliert. Eine IDH1- bzw. IDH2-Mutation war bei drei Patienten (42,9%) nachzuweisen, die übrigen vier (57,1%) wiesen die Wildtyp-Sequenz auf.

Allein der Patient mit Gliomatosis cerebri mit Histologie eines Astrozytoms WHO-Grad III (14,3%) befand sich in der erstdiagnostizierten Krankheitssituation, die übrigen sechs Patienten (85,7%) hatten bereits mindestens eine Progression vor Beginn der Immuncheckpoint-Therapie erlitten.

Bei vier der sieben Patienten und damit 57,1% war vor Beginn der Immuntherapie mit einem Checkpoint-Inhibitor multifokal Tumormasse in der Bildgebung nachweisbar, ein Patient (14,3%) wies ein Tumorgeschehen mit sowohl spinaler als auch zerebraler Beteiligung auf. Nur zwei Patienten hatten hingegen eine vergleichsweise geringe Tumormasse vor Therapiebeginn, jeweils ein Patient (14,3%) hiervon mit lokaler Tumormasse und ein Patient (14,3%) mit lediglich Nachweis von minimalen Schrankenstörungen in der

Schnittbildgebung. Eine makroskopische Komplettresektion erfolgte bei keinem Patienten mit hoher Mutationslast vor Beginn der Immuncheckpoint-Blockade. Insgesamt entwickelten fünf (71,4%) der sieben Patienten eine frühe Progression nach der in Kapitel 3.2 genannten Definition. Das mediane progressionsfreie Überleben betrug 1,6 Monate (Spannweite 0,5 – 7,3), das mediane Gesamtüberleben nach Beginn der Immuncheckpoint-Therapie 3,5 Monate (Spannweite 1,3 – 12,4).

Spezielle Verläufe bei Patienten mit hoher Mutationslast

Anschließend soll der klinische und bildmorphologische Verlauf eines Patienten geschildert werden, bei dem die PD-1-Inhibition nach initialer Beendigung im Verlauf wieder aufgenommen wurde. Dieser Patient (*GL-ICI-20*) wurde mit einem sekundären Glioblastom diagnostiziert (*Anmerkung*: Nach der WHO-Klassifikation 2021 liegt bei diesem Patienten ein „Astrozytom, IDH-mutiert, ZNS-WHO-Grad 4“ vor), nachdem mehr als zehn Jahre zuvor die Resektion eines Astrozytoms WHO-Grad II erfolgt war. Zum Zeitpunkt des Therapiebeginns war der Patient multipel vorbehandelt. Im Vorfeld waren bereits mehrere Tumorsektionen, Bestrahlungen, Chemotherapien (Temozolomid, Lomustin) sowie eine Therapie mit IDH1-Inhibitoren durchgeführt worden (siehe Tabelle 3). Vor Therapiebeginn mit dem PD-1-Inhibitor Nivolumab lag bildmorphologisch eine multifokale Tumormasse vor. Nach drei Gaben Nivolumab wurde der Patient erneut vorstellig bei Verschlechterung seines klinischen Zustandes. In der aus diesem Grund durchgeführten zerebralen Magnetresonanztomographie des Schädels ließ sich eine Zunahme der KM-aufnehmenden Tumoranteile sowie des perifokalen Ödems mit beginnender Herniation nachweisen. Das ZNO-Tumorboard beschloss daraufhin die Beendigung der Nivolumab-Therapie und den Beginn einer Behandlung mit dem VEGF-Inhibitor Bevacizumab. Nach 13 Bevacizumab-Gaben kam es zu einer bildmorphologischen Progression, sodass die Therapie mit Nivolumab wieder aufgenommen wurde. Dabei wurde unter erneuter Nivolumab-Gabe die anti-angiogenetische Behandlung mit Bevacizumab beibehalten, um einer erneuten klinischen Verschlechterung

unter Nivolumab vorzubeugen. Nach vier Gaben des PD-1-Inhibitors kam es zu einer Zunahme der vorbestehenden neurologischen Defizite, bildgebend zeigte sich nun ein Mischbild aus Tumorprogression und Therapie-assoziierten Veränderungen, sodass die Nivolumab-Therapie nun definitiv beendet und lediglich die Bevacizumab-Therapie fortgeführt wurde. Die erste klinische - und bildmorphologische - Verschlechterung nach den ersten drei Gaben von Nivolumab wurde als Pseudoprogression unter Immuncheckpoint-Blockade gewertet. Die Mutationslast im Tumorgewebe dieses Patienten betrug 97,1 Varianten / Megabase und wurde damit als hoch klassifiziert.

Ein weiterer Fall soll an dieser Stelle ausgeführt werden. Der Patient (*GL-ICI-23*) wurde mit einer Gliomatosis cerebri, histologisch in diesem Fall einem Anaplastischen Astrozytom entsprechend, diagnostiziert (*Anmerkung*: Es liegt ein IDH-Wildtyp vor, eine Methylierungsanalyse ergab ein Methylierungsprofil eines hochgradigen Glioms der Mittellinie). Nach initialer Protonenbestrahlung mit konkomitanter Temozolomid-Behandlung wurde die Temozolomid-Chemotherapie fortgeführt. Kurz darauf wurde die Therapie um eine off label-Behandlung mit dem PD-1-Inhibitor Pembrolizumab ergänzt. Bis zu diesem Zeitpunkt zeigte sich ein stabiler klinischer sowie bildmorphologischer Status ohne zwischenzeitlichen Nachweis einer Tumorprogression. Unter der Immuncheckpoint-Inhibition, kombiniert mit dem Zytostatikum Temozolomid, kam es zu einer schnellen Progression (PFS 1,1 Monate) mit im Verlauf massiver klinischer Verschlechterung, die mittels FET-PET und erneuter cMRT bestätigt wurde. Der Patient verstarb 3,4 Monate nach der ersten Gabe von Pembrolizumab und insgesamt vier verabreichten Zyklen. Auch dieser Patient wies eine hohe Mutationslast mit 25,8 Varianten / Megabase auf. Die für das Tumorpanel sequenzierte Tumorprobe stammt von der Biopsie bei Erstdiagnose, es handelt sich daher um einen de novo hypermutierten Tumor.

3.3.2 Patienten mit niedriger oder intermediärer Mutationslast

Die hier ausgeführten Daten beziehen sich auf Tabelle 6 in Kapitel 3.3. Als nächstes sollen die Patienten mit niedriger oder intermediärer Mutationslast betrachtet werden. Bei vier der hier dargestellten Patienten lagen zwei Tumorproben vor (eine vor Beginn der PD-1-Inhibition sowie eine nach Beendigung dieser). In diesem Kapitel wird sich auf die Mutationslast der Tumorprobe vor Beginn der Checkpoint-Blockade bezogen.

In der somatischen Tumordiagnostik wurde bei 15 der 22 Patienten und somit 68,2% des Kollektivs eine niedrige oder intermediäre Mutationslast ermittelt. Die Diagnosen sind folgendermaßen verteilt: Zehn Patienten (66,7%) mit Glioblastom WHO-Grad IV, zwei Patienten (13,3%) mit Gliosarkom WHO-Grad IV, zwei Patienten (13,3%) mit Oligodendrogliom WHO-Grad III sowie ein Patient (6,7%) mit Diffusem Mittelliniengliom WHO-Grad IV sind hier vertreten. *Anmerkung:* Bei *GL-ICI-17*, der hier mit einem Glioblastom WHO-Grad IV aufgeführt wird, liegt nach der aktuellen WHO-Klassifikation von 2021 ein „Diffuses hemisphärisches Gliom, H3-G34-mutiert, ZNS-WHO-Grad 4“ vor.

Eine Methylierung des MGMT-Promotors ließ sich bei einem Patienten (6,7%) feststellen, die restlichen 14 Patienten (93,3%) wiesen einen unmethylierten MGMT-Promotor auf. Eine IDH1- bzw. IDH2-Mutation war bei zwei Patienten (13,3%) nachzuweisen, die übrigen 13 (86,7%) wiesen die Wildtyp-Sequenz auf. Unter den Patienten mit niedriger oder intermediärer Mutationslast waren mit acht Patienten (53,3%) etwas mehr als die Hälfte in der erstdiagnostizierten Krankheitssituation, wohingegen sieben Patienten (46,7%) bereits mindestens eine Progression zuvor erlitten hatten.

Bei sechs Patienten (40%) war vor Beginn der Immuntherapie mit einem Checkpoint-Inhibitor eine makroskopische Komplettresektion erfolgt, ein Patient (6,7%) wies bildmorphologisch minimale Schrankenstörungen auf. Drei Patienten (20%) konnten einer Teilresektion unterzogen werden bzw. es lag lokale Tumormasse vor Therapiestart vor. Wiederum drei Patienten (20%) wiesen multifokale Tumormasse in der Bildgebung auf. Bei weiteren zwei Patienten (13,3%) ist die Tumormasse vor Therapiebeginn unbekannt.

Neun Patienten (60%) entwickelten eine frühe Progression. Dabei betrug das mediane progressionsfreie Überleben in der Gruppe der Patienten mit niedriger bzw. intermediärer Mutationslast 2,9 Monate (Spannweite 0,6 – 33,3) und das mediane Gesamtüberleben 6,3 Monate (Spannweite 1,9 – 64,1) nach Beginn der Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor.

Spezielle Verläufe bei Patienten mit niedriger / intermediärer Mutationslast

An dieser Stelle soll der klinische Verlauf eines Patienten dieser Gruppe beschrieben werden. Bei Patient *GL-ICI-1* wurde die Diagnose eines Glioblastoms WHO-Grad IV gestellt. Nach makroskopischer Komplettresektion wurde der Patient im Rahmen der BMS-CA209-498-Studie in den Nivolumab-Arm eingeschlossen und analog des Studienprotokolls konkomitant zur Radiotherapie mit dem PD-1-Inhibitor Nivolumab behandelt. Insgesamt erhielt der Patient 43 Zyklen des PD-1-Inhibitors und entwickelte keine Progression über einen Zeitraum von 33,3 Monaten nach Therapiebeginn. Eine Chemotherapie mit Temozolomid oder einem anderen Zytostatikum wurde zu keinem Zeitpunkt vor oder während der Checkpoint-Blockade verabreicht. Mit einem progressionsfreien Überleben von 33,3 Monaten wies Patient *GL-ICI-1* das mit Abstand längste PFS des gesamten Kollektivs auf. Das Gesamtüberleben nach Therapiebeginn lag bei 64,1 Monaten. Während das PFS und das OS von keinem anderen Patienten so lange waren, wies dieser Patient die geringste Mutationslast aller Patienten des Kollektivs mit weniger als 0,1 Varianten / Megabase auf. Die einzige detektierte Mutation des somatischen Tumorpanels war eine Punktmutation im NF1-Gen (Essential splice site) mit einer sehr geringen NAF von 0,05. Weitere Mutationen waren nicht feststellbar. In der Transkriptomanalyse ergaben sich zudem Hinweise auf die veränderte Expression diverser Gene. So konnte eine ca. 10-fach höhere Expression von VEGFA, IGFBP2, PDFRB, FN1, COL1A1, COL1A2, COL4A1, COL4A2, RPL9, RPS27, CDK6 und MMP9 detektiert werden. Die Gene GNAS und PIK3R1 waren in der Tumorprobe von *GL-ICI-1* ca. 4-fach niedriger exprimiert als in normalem Hirngewebe. Auch für die Gene CDKN2A, CDKN2B, EGFR und VCAM1 fanden sich Transkripte, die jedoch nicht näher eingeschätzt

werden konnten. Bei diesem Patienten wurde auch eine PD-L1-Färbung durchgeführt, in der sich in der Tumorprobe keine Lymphozyten mit membranöser PD-L1-Expression zeigten. Ebenfalls konnte keine PD-CD1-Expression festgestellt werden.

3.4 Patienten mit mehreren Tumorproben

Bei insgesamt vier Patienten erfolgte zusätzlich zur Sequenzierung des Tumorgewebes vor Beginn der Immuntherapie im Verlauf der Erkrankung eine weitere Resektion bzw. Biopsie, aus deren Gewebe erneut eine erweiterte molekulare Tumordiagnostik durchgeführt wurde. Die zweite Probe stammte dabei von einem Zeitpunkt nach Beendigung der Immuncheckpoint-Therapie. Es handelt sich dabei um vier Patienten (*GL-ICI-2*, *5*, *8* und *9*) mit einem erstdiagnostizierten Glioblastom WHO-Grad IV, die konkomitant zur Radiotherapie eine Therapie mit Nivolumab im Rahmen der BMS-CA209-498-Studie erhielten. Die klinischen Charakteristika dieser Patientengruppe sind in Tabelle 7 dargestellt. Es wurden zwischen vier und 14 Gaben Nivolumab verabreicht. Zwischen den beiden entnommenen Proben wurde alle vier Patienten bestrahlt (parallel zu Nivolumab im Rahmen der Studie), ein Patient (*GL-ICI-8*) erhielt zudem eine Chemotherapie mit Temozolomid nach Abbruch der Nivolumab-Behandlung. Die erste Probenentnahme erfolgte bei allen Patienten aus der primären, supratentoriell gelegenen Tumorlokalisation. Die zweite Tumorprobe wurde bei drei (*GL-ICI-5*, *8* und *9*) der vier Patienten von der gleichen Lokalisation entnommen, bei einem Patienten (*GL-ICI-2*) erfolgte eine Biopsie aus einer spinalen Abtropfmetastase.

Tabelle 7: Übersicht Patienten mit zwei sequenzierten Tumorproben

Abkürzungen: BWK = Brustwirbelkörper; CTx = Chemotherapie; GBM = Glioblastom WHO-Grad IV; ICI = Immuncheckpoint-Inhibition; ID = Identifikationsnummer der Patienten; LWK = Lendenwirbelkörper; PE = Probenentnahme; PNET = Primitiver neuroektodermaler Tumor; RTx = Radiotherapie; TMZ = Temozolomid; V.a. = Verdacht auf; ZNS = Zentrales Nervensystem

Anmerkungen: *: Angabe in Monaten

| ID | Diagnose | Zyklen ICI | Zeitlicher Abstand zwischen den Proben * | Andere Therapie außer ICI zwischen beiden Proben | Lokalisation PE im ZNS 1. Probe | Lokalisation PE im ZNS 2. Probe | Histologische Besonderheiten |
|-----------------|----------|------------|--|--|---------------------------------|----------------------------------|---|
| GL-ICI-2 | GBM | 7 | 4,6 | RTx | Rechts temporal | Abtropf-Metastase BWK 12 / LWK 1 | Primärtumor V.a. PNET-Komponente / Abtropfmetastase ausschließlich PNET |
| GL-ICI-5 | GBM | 14 | 10,2 | RTx | Links temporal | Links temporal | - |
| GL-ICI-8 | GBM | 12 | 14,7 | RTx, CTx (TMZ) | Rechts parietal | Rechts parietal | - |
| GL-ICI-9 | GBM | 4 | 2,9 | RTx | Rechts fronto-temporal | Rechts temporal | Primärtumor PNET-Komponente / Tumorgewebe bei Progression ausschließlich PNET |

Bei allen Proben wurde die Mutationslast der Tumorprobe auf Exom-Ebene bestimmt, diese wurde bei allen vier Patienten als entweder gering oder intermediär klassifiziert. Eine hohe Mutationslast lag bei keinem dieser Patienten vor. Die Mutationslasten zwischen erster und zweiter Probe unterschieden sich dabei bei allen vier Patienten nicht wesentlich (siehe Abbildung 7). Bei drei der vier Patienten (*GL-ICI-5*, *8* und *9*) war die Mutationslast in der zweiten Tumorprobe etwas höher, bei einem Patienten (*GL-ICI-2*) niedriger als in der ersten Tumorprobe.

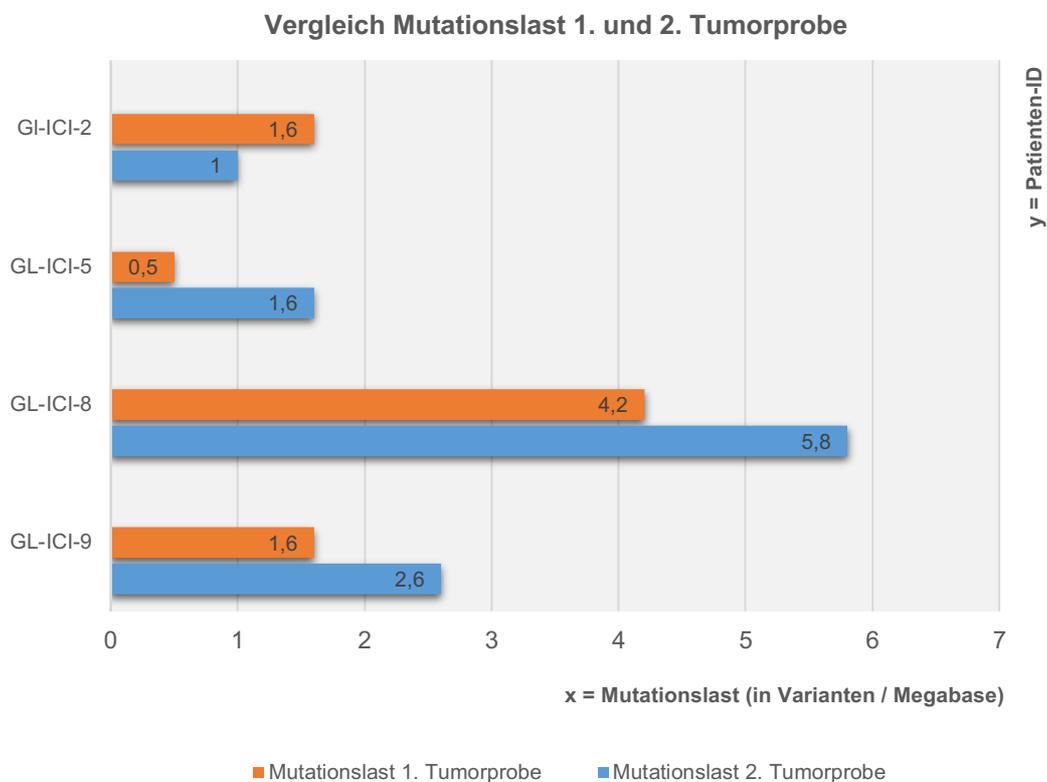


Abbildung 7: Vergleich Mutationslast 1. und 2. Tumorprobe

Abkürzungen: ID = Identifikationsnummer der Patienten

Im Folgenden werden die genetischen Veränderungen, die in der ersten und der zweiten Probe bestimmt wurden, für jeden Patienten gesondert beschrieben und verglichen.

3.4.1 Patient GL-ICI-2

Es handelt sich um einen Patienten, bei dem sich in der initial durchgeführten cMRT eine rechtstemporale Raumforderung sowie weitere Tumoranteile im insulären Kortex sowie den Stammganglien rechts darstellten. Die neuropathologische Analyse der Tumorprobe, die im Rahmen einer subtotalen Resektion rechts temporal gewonnen wurde, ergab die Diagnose eines

Glioblastoms WHO-Grad IV. Zusätzlich wurden im histologischen Befund fokal geringe Anteile mit primitiver neuroepithelialer Entdifferenzierung beschrieben, die immunhistochemisch jedoch nicht bestätigt werden konnten.

Bei klinischer Verschlechterung im Verlauf unter der Therapie mit Nivolumab erfolgte eine Kontrollbildgebung, in der sich der Verdacht auf eine Progression der Tumorerkrankung ergab. In der spinalen MRT zeigte sich eine spinale Aussaat, aufgrund dessen eine offene Biopsie auf Höhe BWK12 / LWK1 durchgeführt wurde. Die Histologie ergab schließlich eine Abtropfmetastase des bekannten Glioblastoms WHO-Grad IV mit ausschließlich kleinzelliger Entdifferenzierung. Im neuropathologischen Befund zum Zeitpunkt der Progression wurde ein zelldichter, klein-, rund- und blauzelliger Tumor beschrieben. Bis zu diesem Zeitpunkt hatte der Patient sieben Gaben Nivolumab erhalten. Aufgrund der nachgewiesenen Progression wurde die Beendigung der Nivolumab-Therapie beschlossen. Insgesamt betrug das progressionsfreie Überleben dieses Patienten 3,2 Monate und das Gesamtüberleben 14,1 Monate nach Beginn der Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor.

3.4.1.1 Genetische Daten Patient GL-ICI-2

Der zeitliche Abstand zwischen erster und zweiter Tumorprobe lag bei 4,6 Monaten. Die Mutationslast der ersten Probe betrug 1,6 Varianten / Megabase, die zweite zeigte eine Mutationslast von 1,0 Varianten / Megabase. In Tabelle 8 und 9 sind die bei diesem Patienten detektierten Veränderungen aufgelistet.

Tabelle 8: SNVs Patient GL-ICI-2

Abkürzungen: A = Adenin; Ala = Alanin; Arg = Arginin; Asp = Asparaginsäure; C = Cytosin; Cys = Cystein; G = Guanin; Gln = Glutamin; Glu = Glutaminsäure; His = Histidin; Lys = Lysin; NAF = Novel Allele Frequency; T = Thymin; Thr = Threonin; Tyr = Tyrosin

Anmerkungen zu Spalte 1. und 2. Tumorprobe: + = Veränderung vorhanden; - = Veränderung nicht vorhanden

| Gen | Funktionelle Klasse | Basen-Veränderung | Aminosäuren-Veränderung | 1. Tumorprobe | NAF 1. Probe | 2. Tumorprobe | NAF 2. Probe |
|---------------|---------------------|---------------------|-------------------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
| EGFR | Missense | <i>c.1087A>G</i> | <i>p.Thr363Ala</i> | + | 0,017 | + | 0,15 |
| STAG2 | Stop gained | <i>c.2962C>T</i> | <i>p.Gln988*</i> | + | 0,09 | - | - |
| PTPN11 | Missense | <i>c.181G>T</i> | <i>p.Asp61Tyr</i> | - | - | + | 0,3 |
| MYH11 | Missense | <i>c.3898G>A</i> | <i>p.Glu1300Lys</i> | + | 0,26 | - | - |
| PLCG2 | Missense | <i>c.2867G>A</i> | <i>p.Arg956His</i> | + | 0,25 | - | - |
| ATM | Missense | <i>c.1373G>A</i> | <i>p.Cys458Tyr</i> | + | 0,27 | - | - |

Mutationen in STAG2, MYH11, PLCG2 und ATM konnten nur in der ersten Tumorprobe, jedoch nicht in der zweiten beobachtet werden, während sich die Mutation des Gens PTPN11 lediglich in der zweiten Tumorprobe fand. Die EGFR-Mutation wurde in beiden Tumorproben festgestellt.

Starke Amplifikationen (jeweils über 15 Kopien) von MDM2, CDK4 und GLI1 lagen nur in der zweiten, nicht aber in der ersten Tumorprobe vor. Weiterhin liegt möglicherweise in beiden Proben eine Monosomie des Chromosoms 10 (betrifft PTEN), eine partielle heterozygote Deletion auf Chromosom 13 (betrifft u.a. BRCA2) und eine partielle heterozygote Deletion auf Chromosom 6 vor. Zudem könnte in der ersten Tumorprobe eine Trisomie des Chromosoms 7 vorliegen, was u.a. die Gene MET, EGFR, CDK6 und BRAF betreffen würde.

Tabelle 9: CNVs Patient GL-ICI-2

Abkürzungen: Chr. = Chromosom; Dupl. = Duplikation; het. = heterozygot; part. = partiell

Anmerkungen zu Spalte 1. und 2. Tumorprobe: + = Veränderung vorhanden; - = Veränderung nicht vorhanden; * = Veränderung liegt möglicherweise vor

| Betroffenes Gen | Chromosomen-abberation | Funktionelle Klasse | Kopienanzahl bei Amplifikation | 1. Tumorprobe | 2. Tumorprobe |
|-----------------|---------------------------------|-----------------------|--------------------------------|---------------|---------------|
| <i>MDM2</i> | - | Amplifikation | > 15 | - | + |
| <i>CDK4</i> | - | Amplifikation | > 15 | - | + |
| <i>GLI1</i> | - | Amplifikation | > 15 | - | + |
| <i>MET</i> | Trisomie Chr. 7 | Amplifikation (Dupl.) | 3 | +* | - |
| <i>EGFR</i> | Trisomie Chr. 7 | Amplifikation (Dupl.) | 3 | +* | - |
| <i>CDK6</i> | Trisomie Chr. 7 | Amplifikation (Dupl.) | 3 | +* | - |
| <i>BRAF</i> | Trisomie Chr. 7 | Amplifikation (Dupl.) | 3 | +* | - |
| <i>PTEN</i> | Monosomie Chr. 10 | Het. Deletion | - | +* | +* |
| <i>BRCA2</i> | Part. Het. Deletion auf Chr. 13 | Het. Deletion | - | +* | +* |
| - | Part. Het. Deletion auf Chr. 6 | Het. Deletion | - | +* | +* |

3.4.2 Patient GL-ICI-5

Bei diesem Patienten fand im Rahmen der Erstdiagnose eine Tumorresektion links temporal statt. Bei einer im Verlauf durchgeführten cMRT ergab sich der Verdacht auf eine Tumorprogression. Bestätigt wurde die Progression durch eine anschließend erfolgte FET-PET, woraufhin eine erneute Resektion beschlossen wurde. Aufgrund der nachgewiesenen Progression erfolgte nach 14 Zyklen die Beendigung der Nivolumab-Therapie. Insgesamt lag ein progressionsfreies Überleben von 8,4 Monaten und ein Gesamtüberleben von 25,5 Monaten nach Beginn der Immuncheckpoint-Infusionen vor.

3.4.2.1 Genetische Daten Patient GL-ICI-5

Der zeitliche Abstand zwischen erster und zweiter Tumorprobe lag bei 10,2 Monaten. Die Mutationslast der ersten Probe betrug 0,5, die der zweiten 1,6 Varianten / Megabase.

Tabelle 10: SNVs Patient GL-ICI-5

Abkürzungen: A = Adenin; Arg = Arginin; Asn = Asparagin; C = Cytosin; G = Guanin; Glu = Glutaminsäure; het. = heterozygot; K = Keimbahnmutation; Leu = Leucin; Lys = Lysin; NAF = Novel Allele Frequency; T = Thymin; Thr = Threonin

Anmerkungen zu Spalte 1. und 2. Tumorprobe: + = Veränderung vorhanden; - = Veränderung nicht vorhanden

| Gen | Funktionelle Klasse | Basen-Veränderung | Aminosäuren-Veränderung | 1. Tumorprobe | NAF 1. Probe | 2. Tumorprobe | NAF 2. Probe |
|-------------------------------|---------------------|----------------------|-------------------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
| BRCA2 <i>K het.</i> | Missense | <i>c.831T>G</i> | <i>p.Asn277Lys</i> | + | - | + | - |
| C11orf30 | Frameshift | <i>c.2902delA</i> | <i>p.Thr968Leufs*68</i> | - | - | + | 0,37 |
| RYR1 | Missense | <i>c.14602G>A</i> | <i>p.Glu4868Lys</i> | + | 0,28 | + | 0,31 |
| SSTR3 | Stop gained | <i>c.607C>T</i> | <i>p.Arg203*</i> | + | 0,42 | + | 0,43 |

Bei diesem Patienten handelt es sich bei der BRCA2-Mutation um eine Keimbahnmutation. Mutationen in RYR1 und SSTR3 konnten in beiden Tumorproben mit ähnlich hoher NAF festgestellt werden. Eine Mutation in C11orf30 fand sich jedoch nur in der zweiten Tumorprobe.

Tabelle 11: CNVs Patient GL-ICI-5

Abkürzungen: Chr. = Chromosom

Anmerkungen zu Spalte 1. und 2. Tumorprobe: + = Veränderung vorhanden; - = Veränderung nicht vorhanden

| Betroffenes Gen | Chromosomen-abberation | Funktionelle Klasse | Kopienanzahl bei Amplifikation | 1. Tumorprobe | 2. Tumorprobe |
|-----------------|------------------------------------|---------------------|--------------------------------|---------------|---------------|
| <i>EGFR</i> | Amplifikation Exon 2-25 auf Chr. 7 | Amplifikation | ca. 10 | + | + |
| - | Amplifikation Chr. 7 | Amplifikation | ca. 3 | + | + |
| - | Amplifikation Chr. 19 | Amplifikation | ca. 3 | + | + |

Ebenfalls konnten bei diesem Patienten Kopienzahlveränderungen im Tumorgewebe detektiert werden, in diesem Fall eine Amplifikation von EGFR sowie der Chromosomen 7 und 19. Diese Amplifikationen waren in beiden Tumorproben nachweisbar.

Table 12: Expression der veränderten Gene in der Tumorprobe GL-ICI-5 (Transkriptomanalyse)

Anmerkungen: *1 = FPKM (entspricht der relativen Expressionsstärke des Gens in der Probe); *2 = Median-Wert Gehirngewebe (RPKM, Human Protein Atlas)

| Gen | Expression 1. Tumorprobe *1 | Expression 2. Tumorprobe *1 | Expression Gehirngewebe *2 |
|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| <i>EGFR</i> | 686 | 381 | 3,1 |
| <i>BRCA2</i> | 1,78 | 0,9 | 0,3 |
| <i>C11orf30</i> | 14,1 | 7,8 | 2,1 |
| <i>RYR1</i> | 2,2 | 3,1 | 3,5 |
| <i>SSTR3</i> | 0,03 | 1,8 | 3,9 |

In der ergänzend durchgeführten Transkriptom-Analyse konnte die Expression eines verkürzten Transkripts von EGFR bestätigt werden, insgesamt ergaben sich durch die stark erhöhte Expression von EGFR im Tumorgewebe Hinweise auf eine pathogen aktivierte Signaltransduktion dieses Gens. Für die übrigen mutierten Gene bestanden weniger ausgeprägte Abweichungen der Expressionsstärke im Tumorgewebe im Vergleich zu normalem Hirngewebe.

3.4.3 Patient GL-ICI-8

Nach Resektion der rechts parietalen Raumforderung wurde die Diagnose eines Glioblastoms WHO-Grad IV gestellt. Die Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor Nivolumab musste im Verlauf nach insgesamt zwölf Gaben aufgrund einer Polyserositis als schwerer Therapie-assoziiertes Nebenwirkung beendet werden, daraufhin erfolgten vier Zyklen einer Chemotherapie mit Temozolomid. Bei vermuteter Tumorprogression unter dieser Therapie wurde eine erneute Resektion im Bereich der ventralen Resektionshöhle durchgeführt. Für diesen Patienten ergibt sich ein progressionsfreies Überleben von 12,9 Monaten sowie ein Gesamtüberleben von 18,3 Monaten, jeweils nach Beginn der Immuntherapie.

3.4.3.1 Genetische Daten Patient GL-ICI-8

Der zeitliche Abstand zwischen erster und zweiter Tumorprobe lag bei 14,7 Monaten. Die Mutationslast der ersten Probe betrug 4,2, die zweite erbrachte 5,8 Varianten / Megabase.

Tabelle 13: SNVs Patient GL-ICI-8

Abkürzungen: A = Adenin; Ala = Alanin; Arg = Arginin; Asn = Asparagin; Asp = Asparaginsäure; C = Cytosin; Cys = Cystein; G = Guanin; Glu = Glutaminsäure; Gly = Glycin; His = Histidin; Ile = Isoleucin; Leu = Leucin; Met = Methionin; NAF = Novel Allele Frequency; Pro = Prolin; Ser = Serin; T = Thymin; Thr = Threonin; Trp = Tryptophan; Val = Valin

Anmerkungen zu Spalte 1. und 2. Tumorprobe: + = Veränderung vorhanden; - = Veränderung nicht vorhanden

| Gen | Funktionelle Klasse | Basen-Veränderung | Aminosäuren-Veränderung | 1. Tumorprobe | NAF 1. Probe | 2. Tumorprobe | NAF 2. Probe |
|----------------|---------------------|-------------------|-------------------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
| EGFR | Missense | c.866C>T | p.Ala289Val | + | 0,93 | + | 0,86 |
| PTEN | Missense | c.302T>C | p.Ile101Thr | + | 0,6 | + | 0,75 |
| MET | Frameshift | c.1178_1179 delAT | p.Asn393Thr fs*2 | + | 0,21 | + | 0,2 |
| ARID2 | Frameshift | c.5280dupA | p.Glu1761Argfs*6 | - | - | + | 0,08 |
| CUL4B | Frameshift | c.958delA | p.Met320Cys fs*18 | - | - | + | 0,55 |
| EGR2 | Missense | c.1403C>A | p.Pro468His | + | 0,05 | - | - |
| FLT3 | Missense | c.2562G>T | p.Trp854Cys | + | 0,42 | + | 0,42 |
| PRKAR1A | Splice region | c.973+5G>A | p.? | + | 0,29 | + | 0,41 |
| RYR1 | Missense | c.14939C>T | p.Thr4980Met | + | 0,35 | + | 0,41 |
| RYR1 | 3 prime UTR | c.*6C>A | p.? | - | - | + | 0,21 |
| BCL11B | Missense | c.116A>G | p.Glu39Gly | - | - | + | 0,07 |
| ELANE | Frameshift | c.613_619 del | p.Pro205Serfs*5 | - | - | + | 0,22 |
| MYH11 | Missense | c.1831T>G | p.Ser611Ala | - | - | + | 0,22 |
| PTPRT | Missense | c.4249A>C | p.Ile1417Leu | - | - | + | 0,08 |
| SMC3 | Missense | c.1437A>C | p.Glu479Asp | - | - | + | 0,24 |

Sowohl in der ersten als auch in der zweiten Tumorprobe konnten Mutationen von EGFR und PTEN (jeweils mit hoher NAF) sowie MET festgestellt werden. In beiden Tumorproben waren Mutationen in FLT3, PRKAR1A und RYR1 zu finden. Nur in der zweiten Tumorprobe festgestellt wurden eine zweite RYR1-Mutation sowie Veränderungen von ARID2, CUL4B, BCL11B, ELANE, MYH11, PTPRT und SMC3. Eine Mutation in EGR2 konnte lediglich in der ersten Tumorprobe nachgewiesen werden.

Tabelle 14: CNVs Patient GL-ICI-8

Abkürzungen: Chr. = Chromosom; Dupl. = Duplikation; het. = heterozygot; hom. = homozygot; WT = Wildtyp

Anmerkungen zu Spalte 1. und 2. Tumorprobe: + = Veränderung vorhanden; - = Veränderung nicht vorhanden; / = unklar, ob in dieser Probe vorhanden

| Betroffenes Gen | Chromosomen-abberation | Funktionelle Klasse | Kopienanzahl bei Amplifikation | 1. Tumorprobe | 2. Tumorprobe |
|-----------------|--|-----------------------|--------------------------------|---------------|---------------|
| EGFR | - | Amplifikation | > 10 | + | + |
| MET | Trisomie Chr. 7 | Amplifikation (Dupl.) | 3 | / | + |
| CDK6 | Trisomie Chr. 7 | Amplifikation (Dupl.) | 3 | / | + |
| - | Trisomie Chr. 18 | Amplifikation (Dupl.) | 3 | / | + |
| CDKN2A | - | Hom. Deletion | - | + | + |
| CDKN2B | - | Hom. Deletion | - | + | + |
| JAK2 | Kopienzahlneutraler Verlust der Heterozygotie von Chr. 9 | Het. Deletion | - | / | + |
| PTEN | Het. Deletion Chr. 10 | Verlust WT-Allel | - | + | + |
| TP53BP1 | Het. Deletion Chr. 15q | Het. Deletion | - | + | + |
| B2M | Het. Deletion Chr. 15q | Het. Deletion | - | + | + |
| NF2 | Het. Deletion Chr. 22q | Het. Deletion | - | / | + |
| CHEK2 | Het. Deletion Chr. 22q | Het. Deletion | - | / | + |

Neben den Punktmutationen in diesen Genen ließen sich auch Kopienzahlveränderungen in EGFR (starke fokale Amplifikation) und PTEN (Verlust des Wildtyp-Allels) in beiden Proben feststellen. Weiterhin liegen in beiden Proben eine fokale homozygote Deletion von CDKN2A und CDKN2B und heterozygote Deletionen von TP53BP1 und B2M vor. Zudem konnten in der zweiten Tumorprobe Amplifikationen von Chromosom 7 (betrifft MET und CDK6) und Chromosom 18 sowie eine heterozygote Deletion von Chromosom 22q (betrifft die Gene NF2 und CHEK2) und der kopienzahlneutrale Verlust der

Heterozygotie von Chromosom 9 (betrifft JAK2) detektiert werden. Bei diesen letztgenannten Veränderungen ist unklar, ob sie auch in der primären Tumorprobe vorlagen.

3.4.4 Patient GL-ICI-9

Bei diesem Patienten war in der cMRT eine Raumforderung rechts insulär mit deutlichem perifokalen Ödem aufgefallen. Daraufhin wurde eine Resektion des Tumors rechts frontotemporal durchgeführt, in der ein Glioblastom WHO-Grad IV mit primitiver neuronaler Tumorkomponente diagnostiziert wurde. Aufgrund massiver klinischer Verschlechterung nach vier Nivolumab-Infusionen wurde eine Bildgebung der gesamten Neuroachse angefertigt, in der sich neben einer lokalen Progression auch eine spinale leptomeningeale KM-Aufnahme darstellte. Es erfolgte eine Biopsie im Bereich des ursprünglichen Tumors rechts temporal, in der sich histologisch ausschließlich PNET-Anteile des Glioblastoms fanden. Aufgrund der nachgewiesenen Progression wurde die Beendigung der Nivolumab-Therapie beschlossen. Das progressionsfreie Überleben nach Beginn der Immuncheckpoint-Therapie betrug lediglich 1,7 Monate, das Gesamtüberleben ebenfalls nur 2,4 Monate.

3.4.4.1 Genetische Daten Patient GL-ICI-9

Der zeitliche Abstand zwischen erster und zweiter Tumorprobe lag bei 2,9 Monaten. Die Mutationslast der ersten Probe betrug 1,6, die der zweiten 2,6 Varianten / Megabase.

Tabelle 15: SNVs Patient GL-ICI-9

Abkürzungen: A = Adenin; Ala = Alanin; C = Cytosin; G = Guanin; Gln = Glutamin; Glu = Glutaminsäure; Leu = Leucin; Lys = Lysin; NAF = Novel Allele Frequency; T = Thymin; Thr = Threonin

Anmerkungen zu Spalte 1. und 2. Tumorprobe: + = Veränderung vorhanden; - = Veränderung nicht vorhanden

| Gen | Funktionelle Klasse | Basen-Veränderung | Aminosäuren-Veränderung | 1. Tumorprobe | NAF 1. Probe | 2. Tumorprobe | NAF 2. Probe |
|--------------|-----------------------|----------------------|-------------------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
| RB1 | Stop gained | <i>c.473T>A</i> | <i>p.Leu158*</i> | + | 0,54 | + | 0,91 |
| DIS3 | Essential splice site | <i>c.654+1G>A</i> | <i>p.?</i> | + | 0,32 | + | 0,44 |
| DCC | Splice region | <i>c.1860C>T</i> | <i>p.=</i> | + | 0,05 | - | - |
| FANCC | Missense | <i>c.259C>A</i> | <i>p.Gln87Lys</i> | - | - | + | 0,21 |
| MECOM | Missense | <i>c.850G>A</i> | <i>p.Ala284Thr</i> | + | 0,1 | - | - |
| MYCN | Missense | <i>c.985C>G</i> | <i>p.Gln329Glu</i> | - | - | + | 0,23 |

Mutationen von RB1 und DIS3 fanden sich in beiden Tumorproben, während jeweils zwei Mutationen nur in der ersten (DCC und MECOM) bzw. in der zweiten Probe (FANCC und MYCN) nachweisbar waren.

Weiterhin weisen die Sequenzierdaten dieses Patienten auf das Vorliegen einiger Abberationen größerer genomischer Bereiche hin (siehe Tabelle 16). Starke Amplifikationen von MDM2, MDM4 und FRS2 konnten dabei sowohl in der ersten als auch in der zweiten Tumorprobe gefunden werden, während die starke Amplifikation des Gens PIK3C2B nur in der ersten Probe und die von MYCN nur in der zweiten Probe nachweisbar war. Ebenfalls lagen in beiden Proben eine heterozygote Deletion von Chromosom 10 (betrifft PTEN) und ein Verlust des Wildtyp-Allels von RB1 vor. Folgende Veränderungen fanden sich nur in der ersten Probe: Duplikation von Chromosom 7 (betrifft BRAF, CDK6, MET und EGFR), die partielle heterozygote Deletion von Chromosom 1q und 22q (betrifft CHEK2 und NF2). Nur in der zweiten Probe vorliegend waren die partielle Duplikation von Chromosom 1p und 1q (betrifft CKS1B, MUC1 und AKT3) sowie die subklonale Duplikation eines Abschnitts von Chromosom 8 (betrifft MYC).

Tabelle 16: CNVs Patient GL-ICI-9

Abkürzungen: Chr. = Chromosom; Dupl. = Duplikation; het. = heterozygot; part. = partiell; subkl. = subklonal; WT = Wildtyp

Anmerkungen zu Spalte 1. und 2. Tumorprobe: + = Veränderung vorhanden; - = Veränderung nicht vorhanden; * = Part of duplication

| Betroffenes Gen | Chromosomen-abberation | Funktionelle Klasse | Kopienanzahl bei Amplifikation | 1. Tumorprobe | 2. Tumorprobe |
|-----------------|---|-----------------------|--------------------------------|---------------|---------------|
| MDM2 | Cluster 12q15 | Amplifikation | > 20 | + | + |
| FRS2 | Cluster 12q15 | Amplifikation | > 20 | + | + |
| MDM4 | Cluster 1q32.1 | Amplifikation | > 10 | + | +* |
| PIK3C2B | Cluster 1q32.1 | Amplifikation | > 10 | + | - |
| MYCN | - | Amplifikation | > 20 | - | + |
| - | Part. Duplikation Chr. 1p | Amplifikation (Dupl.) | 3 | - | + |
| CKS1B | Part. Duplikation Chr. 1q | Amplifikation (Dupl.) | 3 | - | + |
| MUC1 | Part. Duplikation Chr. 1q | Amplifikation (Dupl.) | 3 | - | + |
| AKT3 | Part. Duplikation Chr. 1q | Amplifikation (Dupl.) | 3 | - | + |
| BRAF | Trisomie Chr. 7 | Amplifikation (Dupl.) | 3 | + | - |
| CDK6 | Trisomie Chr. 7 | Amplifikation (Dupl.) | 3 | + | - |
| MET | Trisomie Chr. 7 | Amplifikation (Dupl.) | 3 | + | - |
| EGFR | Trisomie Chr. 7 | Amplifikation (Dupl.) | 3 | + | - |
| MYC | Duplikation Chr. 8: 107132344-141685788 | Amplifikation (Dupl.) | subkl. | - | + |
| RB1 | - | Verlust WT-Allel | - | + | + |
| - | Part. Het. Deletion Chr. 1p | Het. Deletion | - | + | + |
| - | Part. Het. Deletion Chr. 1q | Het. Deletion | - | + | - |
| PTEN | Het. Deletion Chr. 10 | Het. Deletion | - | + | + |
| CHEK2 | Het. Deletion Chr. 22q | Het. Deletion | - | + | - |
| NF2 | Het. Deletion Chr. 22q | Het. Deletion | - | + | - |

3.4.5 Wiederholtes Auftreten von molekulargenetischen Veränderungen bei mehreren Tumorproben

In Abbildung 8 ist graphisch dargestellt, wie viele der Punktmutationen (SNVs) bzw. Kopienzahlveränderungen (CNVs) prozentual in beiden Tumorproben und wie viele nur einmalig zu finden waren (also exklusiv in der 1. bzw. 2. Tumorprobe).

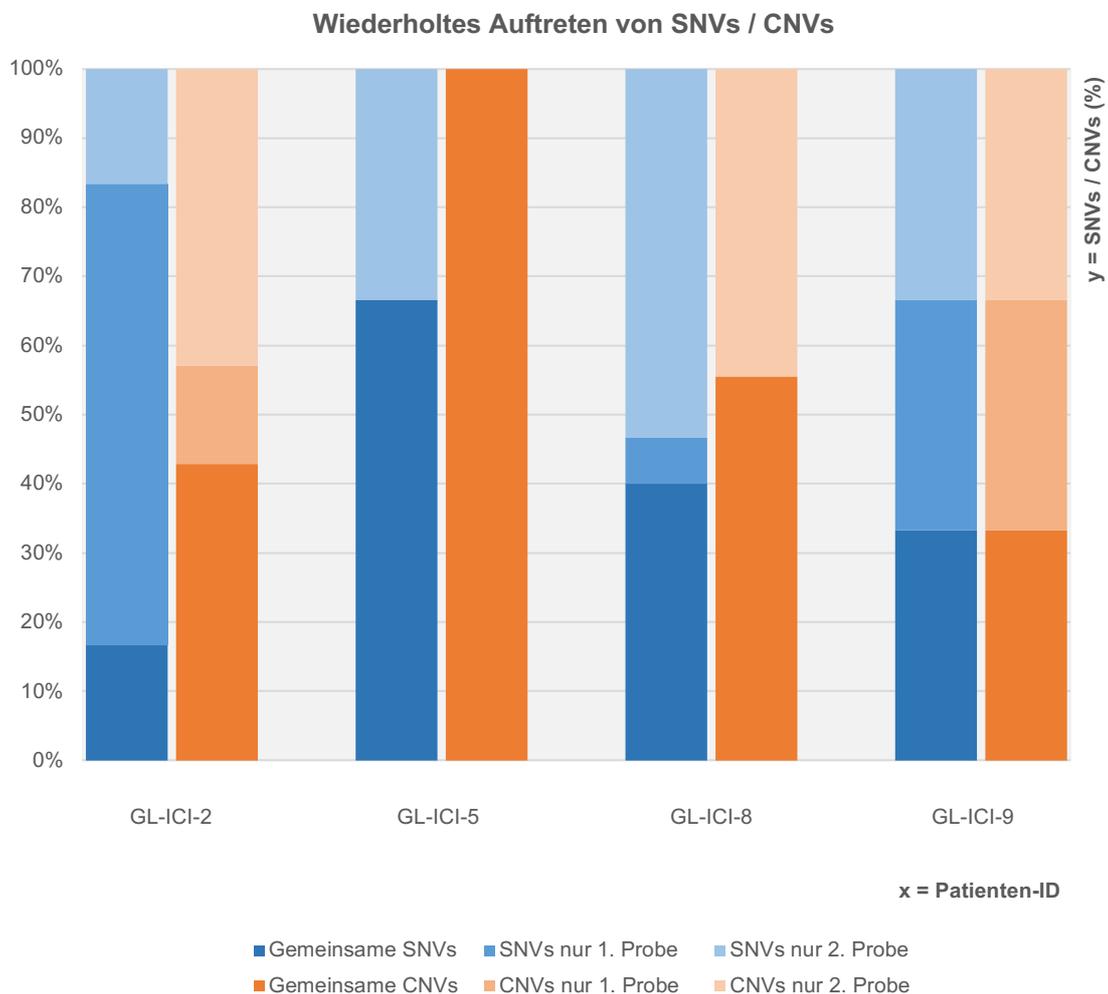


Abbildung 8: Wiederholtes Auftreten von SNVs bzw. CNVs bei Patienten mit mehreren Tumorproben

Abkürzungen: CNV = Copy number variations; ID = Identifikationsnummer; SNV = Single nucleotide variations

Anmerkungen: Als eine CNV wurde eine fokale Amplifikation / Deletion bzw. eine Chromosomenabberation gewertet (z.B. Duplikation Chromosom 7), auch wenn dies mehrere Kandidatengene betraf. Die Keimbahnmutation von *GL-ICI-2* ist hier nicht einbezogen. Bei *GL-ICI-8* ist unklar, ob einige CNVs auch bereits in der 1. Probe vorhanden waren. Diese wurden hier als nur in der 2. Probe vorhanden gewertet.

Wie in den letzten Kapiteln ausgeführt, waren einige molekulargenetische Veränderungen in beiden Proben nachweisbar, während andere nur in der ersten bzw. zweiten Tumorprobe vorhanden waren. Dies war – wie oben beschrieben - interindividuell sehr unterschiedlich, insgesamt waren die CNVs jedoch „beständiger“. Teilweise lag nur ein kurzer zeitlicher Abstand zwischen beiden Proben (hier Minimum 2,9 Monate bei *GL-ICI-9*).

3.5 Auswertung genetischer Daten des Patientenkollektivs

Zuletzt sollen die Befunde der Tumorpanel-Untersuchung betrachtet werden. Im Folgenden werden ausgewählte Veränderungen dargestellt, die im Kollektiv häufig vertreten und als potentielle Biomarker bei anderen Entitäten bereits beschrieben sind (siehe Diskussion). Eingeteilt sind diese in Punktmutationen (funktionelle Klassen: Missense, Frameshift, Essential splice site, Stop gained, Inframe, Intronic, 3 prime UTR, 5 prime UTR, diese sind in unterschiedlichen Farben eingefärbt) sowie Kopienzahlveränderungen (Amplifikationen, Deletionen). Zudem ist bei jedem Patienten vermerkt, ob eine hohe Mutationslast vorliegt oder nicht. In den Tabellen 20 - 22 im Anhang werden die hier aufgeführten Mutationen detailliert beschrieben inklusive Basen- und Aminosäureveränderung, Allelfrequenz und klinischer Bedeutung der Veränderung. Für Patienten, bei denen zwei Tumorproben untersucht wurden (das betrifft die Patienten *GL-ICI-2*, 5, 8 und 9), wird hier jeweils die erste Tumorprobe (d.h. die vor Behandlung mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor) herangezogen.

| Gen | ID | GL-ICI-1 | GL-ICI-2 | GL-ICI-3 | GL-ICI-5 | GL-ICI-6 | GL-ICI-7 | GL-ICI-8 | GL-ICI-9 | GL-ICI-14 | GL-ICI-15 | GL-ICI-16 | GL-ICI-17 | GL-ICI-18 | GL-ICI-19 | GL-ICI-20 | GL-ICI-21 | GL-ICI-22 | GL-ICI-23 | GL-ICI-24 | GL-ICI-26 | GL-ICI-28 | GL-ICI-30 |
|-----------------|----|---------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | TP53 <i>D</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| TP53 <i>M</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RB1 <i>D</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RB1 <i>M</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PTEN <i>D</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PTEN <i>M</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| NF1 <i>M</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| EGFR <i>Am</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| EGFR <i>D</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| EGFR <i>M</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CDKN2A <i>D</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CDKN2B <i>D</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MDM2 <i>Am</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MDM2 <i>M</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MDM4 <i>Am</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MDM4 <i>M</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| B2M <i>D</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| B2M <i>M</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| NOTCH1 <i>D</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| NOTCH1 <i>M</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BRCA1 <i>D</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BRCA1 <i>M</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BRCA2 <i>D</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BRCA2 <i>M</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| HML | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Abbildung 9: Detektierte Veränderungen im Tumorgewebe nach Patient

Abkürzungen: Am = Amplifikation; D = Deletion; he = heterozygot; HML = Hohe Mutationslast; ho = homozygot; ID = Identifikationsnummer der Patienten; K = Keimbahn; M = Mutation (gemeint sind Punktmutationen/SNVs); v = EGFR Variante VIII

Anmerkungen: Zahlen innerhalb eines Kästchens geben die Anzahl der Punktmutationen/SNVs an, wenn mehrere pro Gen vorliegen; geteilte Kästchen = mehrere Mutationen unterschiedlicher funktioneller Klassen

Weitere Anmerkungen:

Zu GI-ICI-18: Insgesamt drei MDM4-Mutationen (2 x missense, 1 x splice region)

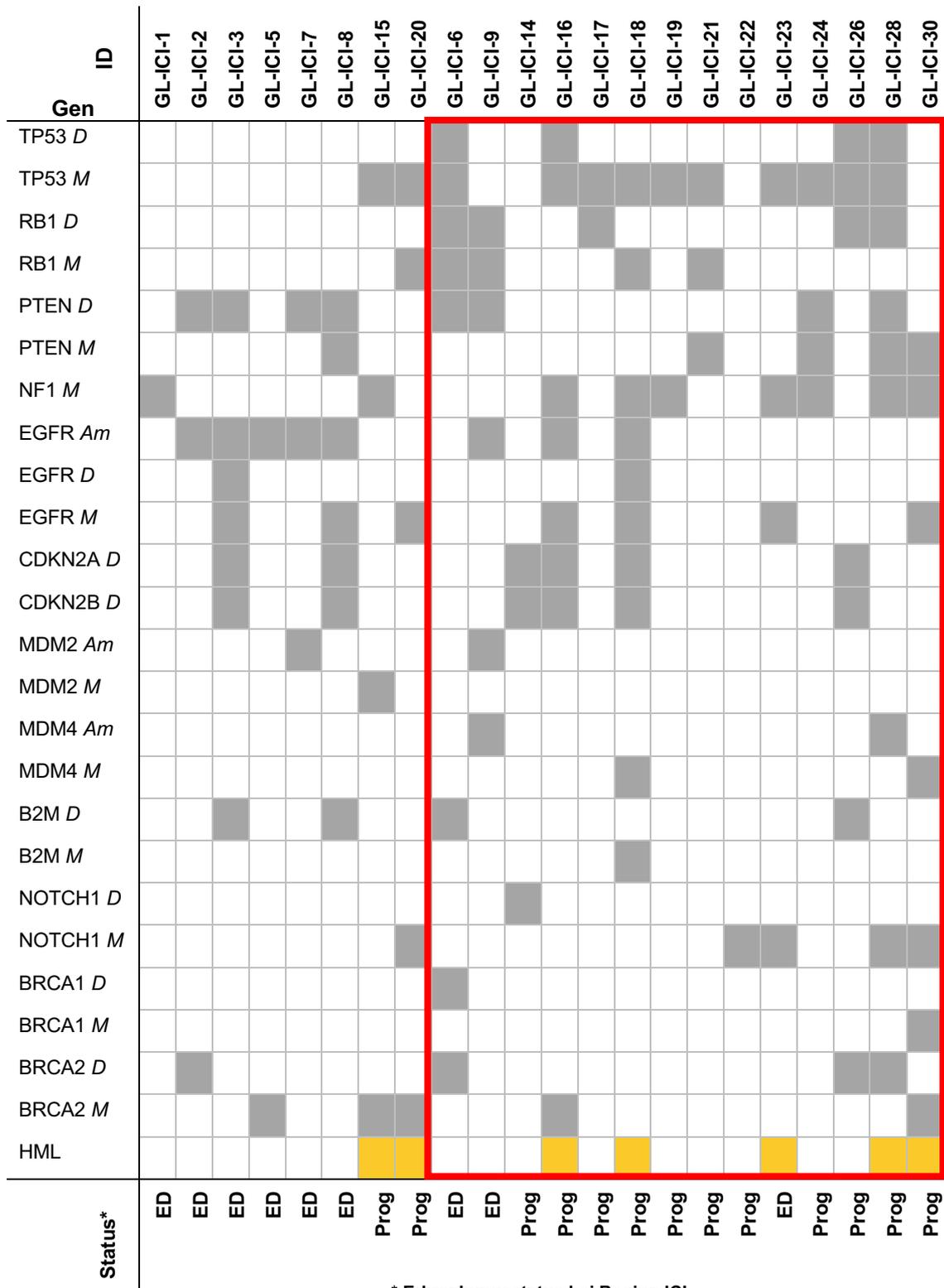
Zu GL-ICI-20: Insgesamt zwei RB1-Mutationen (1 x essential splice site, 1 x stop gained), vier NOTCH1-Mutationen (2 x missense, 2 x splice region)

GL-ICI-30: Insgesamt fünf NF1-Mutationen (2x missense, 2x intronic, 1x essential splice site)

Legende zu Abbildung 9:

| | |
|---|--------------------------------|
|  | Missense-Mutation |
|  | Frameshift-Mutation |
|  | Essential splice site-Mutation |
|  | Stop gained-Mutation |
|  | Inframe-Mutation |
|  | Intronic-Mutation |
|  | 3 prime UTR-Mutation |
|  | 5 prime UTR-Mutation |
|  | Amplifikation |
|  | Deletion |
|  | Verlust des Wildtyp-Allels |
|  | HML = Hohe Mutationslast |

Um nach einem potentiellen „genetischen Muster“ zu schauen, das Patienten mit früher Progression von denen ohne frühe Progression unterscheidet, sind in Abbildung 10 vereinfacht alle detektierten Veränderungen grau dargestellt. Rot umrandet ist die Patientengruppe mit schneller Progression nach der Definition, wie in Kapitel 3.2 erläutert.



* Erkrankungsstatus bei Beginn ICI

Abbildung 10: Detektierte Veränderungen im Tumorgewebe, vereinfachte Darstellung mit Einteilung nach Progression

Abkürzungen: Am = Amplifikation; D = Deletion; ED = Erstdiagnose; HML = Hohe Mutationslast; ID = Identifikationsnummer der Patienten; M = Mutation (Punktmutationen/SNVs); Prog = Progression

Anmerkungen: Zur besseren Übersicht wurden hier alle Veränderungen grau hinterlegt. Eine hohe Mutationslast ist gelb markiert. Rot umrandet sind Patienten mit früher Progression. Mit „Status“ ist der Erkrankungsstatus bei Beginn der Immuncheckpoint-Inhibition gemeint (Erstdiagnose / Progression)

Zunächst muss gesagt werden, dass sich in den hier dargestellten Veränderungen kein eindeutiges „genetisches Muster“ erkennen lässt, das Patienten mit schneller Progression von denen ohne schnelle Progression unterscheidet. Jedoch konnten einige Tendenzen beobachtet werden:

In diesem Kollektiv konnten **RB1**-Veränderungen nur bei Patienten mit schneller Progression sowie bei Patient *GL-ICI-20* festgestellt werden. Der letztgenannte erlitt eine Pseudoprogession, die zur temporären Beendigung der Checkpoint-Therapie führte. Auch Patient *GL-ICI-21*, der sowohl eine schnelle Progression als auch eine RB1-Mutation aufweist, erlitt eine Pseudoprogession unter der Immuncheckpoint-Blockade. Zudem fällt auf, dass häufig kombinierte RB1-Veränderungen - bestehend aus Mutation sowie Deletion - vorlagen.

TP53-Veränderungen waren insgesamt häufiger bei Patienten mit schneller Progression vertreten, **TP53**-Deletionen konnten dabei lediglich in dieser Gruppe festgestellt werden.

Gleichzeitig vorliegende **RB1**- und **TP53**-Veränderungen wurden ebenfalls nur bei Patienten mit schneller Progression sowie bei Patient *GL-ICI-20* beobachtet.

PTEN-Veränderungen waren nicht sicher assoziiert mit schlechtem Ansprechen und rascher Progression, da sie in beiden Gruppen ungefähr gleich oft vorkamen (insbesondere Deletionen). **PTEN**-Deletionen waren häufiger bei Patienten mit erstdiagnostizierten Gliomen zu verzeichnen.

NF1-Mutationen waren häufiger bei Patienten mit früher Progression vorhanden.

EGFR-Veränderungen zeigten in diesem Kollektiv keinen klaren Zusammenhang mit schneller Progression. Amplifikationen von **EGFR** waren

häufiger bei Patienten ohne schnelle Progression zu beobachten, wobei hier auch mehr Patienten mit Erstdiagnose vertreten waren.

Auch ließ sich das Vorliegen von **CDKN2A/B**-Deletionen nicht klar mit der Progression unter Immuncheckpoint-Inhibition korrelieren.

Eine kombinierte **MDM2-/MDM4**-Amplifikation wurde nur bei einem Patienten (*GL-ICI-9*) detektiert, dieser befand sich in der erstdiagnostizierten Krankheitssituation, erlitt eine sehr frühe Progression und verstarb kurz darauf. Zwei Patienten (*GL-ICI-2* und *9*) wiesen primitive neuroektodermale Tumoranteile auf (fokal PNET vor ICI bzw. ausschließlich PNET nach ICI). In der Probe bei Progression unter der Immuncheckpoint-Therapie lagen bei beiden Patienten MDM2-Amplifikationen vor, bei *GL-ICI-9* lag die MDM2-Amplifikation sogar in beiden Tumorproben vor (siehe Kapitel 3.4.1.1 bzw. 3.4.4.1). Bei *GL-ICI-7*, in dessen Tumorgewebe ebenfalls eine MDM2-Amplifikation detektiert wurde, musste die Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor bei schweren autoimmunen Nebenwirkungen bereits nach zwei Zyklen abgebrochen werden. Weiterhin ließ sich bei *GL-ICI-28* eine MDM4-Amplifikation feststellen, auch dieser Patient wies eine rasche Progression unter der Immuncheckpoint-Blockade auf. Ansonsten fanden sich bei keinen weiteren Patienten MDM2- oder MDM4-Amplifikationen, lediglich drei Patienten wiesen eine Punktmutation in MDM2 (*GL-ICI-15*) bzw. MDM4 (*GL-ICI-18* und *30*) auf.

Alterationen von **B2M** und **BRCA2** zeigten in diesem Kollektiv keinen klaren Zusammenhang mit schneller Progression. **BRCA1**-Veränderungen wurden nur bei zwei Patienten gefunden, beide waren rasch progredient.

NOTCH1-Veränderungen lagen mit Ausnahme von *GL-ICI-20* nur bei Patienten mit schneller Progression vor.

3.5.1 MMR-Gene und hohe Mutationslast

Bei allen Patienten in diesem Kollektiv, bei denen eine hohe Mutationslast nachgewiesen wurde, fand sich mindestens eine Veränderung in einem der Mismatch Repair-Gene (siehe Abbildung 11), wobei nicht alle dieser

Veränderungen eine klinische Relevanz im Sinne eines inaktivierenden Einflusses auf die Proteinfunktion aufweisen. Alle detektierten MMR-Veränderungen sind detailliert in Tabelle 23 im Anhang beschrieben. In der Gruppe der Patienten ohne hohe Mutationslast war lediglich bei einer Person eine Veränderung in MMR-Genen zu finden (*GL-ICI-22*).

| Gen | ID | GL-ICI-15 | GL-ICI-16 | GL-ICI-18 | GL-ICI-20 | GL-ICI-22 | GL-ICI-23 | GL-ICI-28 | GL-ICI-30 |
|------|----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | | | | | | | | |
| MLH1 | M | | | | | | | | |
| MLH1 | D | | | | | | | | |
| MLH3 | M | | | | | | | | |
| MSH2 | M | | | | | | K | | |
| MSH2 | D | | | | | | | | |
| MSH3 | M | | | | | | | | |
| MSH5 | M | | | | | | | | |
| MSH6 | M | | | | | | | | |
| PMS1 | M | | | | | | | | |
| PMS2 | M | | | | | | | | |
| HML | | | | | 97,1 | | 25,8 | 90,9 | 274,5 |

Abbildung 11: Veränderungen in MMR-Genen im Patientenkollektiv

Abkürzungen: D = Deletion; HML = Hohe Mutationslast; ID = Identifikationsnummer der Patienten; K = Keimbahnmutation; M = Mutation

Anmerkungen: Falls bekannt, wurde die exakte Mutationslast in Varianten / Megabase im Feld „HML“ angegeben; farbig hinterlegt sind beim jeweiligen Patienten detektierte Veränderungen (blau = Mutationen, grau = Deletionen, orange = HML vorliegend)

4 Diskussion

Bei Gliomen der WHO-Grade III und IV handelt es sich um maligne hirneigene Tumore, die zu hoher Morbidität mit Beeinträchtigung der Lebensqualität führen und in der Regel mit einer schlechten Prognose einhergehen (Omuro und DeAngelis, 2013). Checkpoint-Inhibitoren zeigten sich in den letzten Jahren als „Durchbruch“ in der Tumorthherapie, da in einigen Tumorentitäten in fortgeschrittenen Krankheitsstadien unter dieser Therapie deutlich verbesserte Überlebensdaten, zum Teil auch Langzeitüberleben erzielt werden konnten (Zander et al., 2020). Aus diesem Grund wird der Einsatz dieser Medikamente aktuell auch bei höhergradigen hirneigenen Tumoren als potentielle Therapieoption genauer untersucht.

4.1 Wesentliche Ergebnisse der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit wurden klinische sowie molekulargenetische Charakteristika von 22 Patienten mit erstdiagnostizierten ($n = 9$) oder progredienten Gliomen ($n = 13$) der WHO-Grade III und IV, die mit einem PD-1-Inhibitor behandelt wurden, analysiert. Diejenigen Patienten, die bereits zuvor eine Progression erlitten hatten, waren zu Teilen multipel vorthera­piert. Die Therapie mit dem PD-1-Inhibitor wurde teils als Monotherapie, teils in Kombination mit anderen tumorspezifischen Therapien verabreicht.

Klinischer Verlauf / Überlebensdaten

Das mediane progressionsfreie Überleben nach Beginn der Immuncheckpoint-Inhibitor-Therapie im gesamten Kollektiv lag bei 2,4 Monaten, das mediane Gesamtüberleben bei 5,4 Monaten. Erwartungsgemäß waren das mediane PFS mit 7,1 Monaten und das mediane OS mit 17,0 Monaten bei erstdiagnostizierten Gliomen höher als bei Patienten, die bereits zuvor eine oder mehrere Tumorprogressionen erlitten hatten (1,9 bzw. 3,6 Monate). Insgesamt war ein Großteil der Patienten nicht einmal drei Monate

progressionsfrei. Nur neun Patienten (40,9%) erreichten ein PFS > 3 Monate. Es erfolgte eine Einteilung in Patienten mit „früher Progression“ ($n = 14$) und „keine frühe Progression“ ($n = 8$). Als früh progredient wurden diejenigen Patienten gewertet, die bereits in der ersten routinemäßigen Bildgebung (oder bereits zuvor) nach Therapiebeginn eine Progression aufwiesen. Nicht nur das PFS, sondern auch das OS war bei Patienten mit rascher Progression deutlich geringer. Zudem fiel auf, dass unter den Patienten mit „früher Progression“ prozentual mehr Patienten vertreten waren, die bereits zuvor Progressionen ihrer Tumorerkrankung erlitten hatten. Weiterhin wiesen Patienten mit „früher Progression“ prozentual häufiger höhere Tumorlasten vor Therapiebeginn mit dem PD-1-Inhibitor auf, während in der Gruppe „keine frühe Progression“ häufiger geringere Tumorlasten vorlagen. Interessanterweise gab es jedoch auch Patienten mit erstdiagnostizierten Gliomen und geringerer Tumorlast, die rasch progredient waren, und wiederum Patienten mit progredienten Gliomen und höherer Tumorlast, die dennoch ein längeres PFS und OS aufwiesen. Weiterhin wurden zwei Fälle von Pseudoprogredienz (*GL-ICI-20* und *21*) mit passagerer klinischer und bildmorphologischer Verschlechterung unter der Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor beobachtet.

Mutationslast

Die Spannweite der Mutationslasten war groß ($< 0,1 - 274,5$ Varianten / Megabase). Hohe Mutationslasten konnten bei sieben Patienten (31,8%) beobachtet werden, dabei lag bei einem Patienten (*GL-ICI-23*) ein de novo hypermutierter Tumor vor. Die übrigen Patienten waren bereits vortherapiert, die Mutationslast bei Erstdiagnose ist nicht bekannt.

Das mediane progressionsfreie Überleben der Patienten mit hoher Mutationslast lag bei 1,6 Monaten, das mediane Gesamtüberleben bei 3,5 Monaten. Demgegenüber bestand für Patienten mit niedriger bzw. intermediärer Mutationslast ein medianes PFS von 2,9 Monaten sowie ein medianes OS von 6,3 Monaten. Folglich konnte kein besseres Therapieansprechen bei Patienten mit hoher Mutationslast detektiert werden. Im Gegenteil, sowohl das PFS als auch das OS waren länger bei Patienten mit niedriger oder intermediärer

Mutationslast. Jedoch war unter den Patienten mit hoher Mutationslast ein prozentual höherer Anteil mit progredienter Krankheitssituation und größerer Tumorlast vor Therapiebeginn vertreten. Der Patient mit dem mit Abstand längsten PFS und OS des gesamten Kollektivs (*GL-ICI-1*) wies die geringste Mutationslast im gesamten Kollektiv auf.

Mehrere Tumorproben

Bei vier Patienten mit erstdiagnostizierten Glioblastomen wurde eine zweite Tumorprobe nach Beendigung der Immuncheckpoint-Therapie gewonnen und analysiert. In diesen zweiten Tumorproben konnten teilweise Mutationen nachgewiesen werden, die in der ersten Tumorprobe nicht vorhanden waren. Wiederum waren einige Mutationen, die in der ersten Probe vorlagen, in der zweiten nicht mehr nachweisbar. Insgesamt unterschied sich die Mutationslast aber nicht wesentlich zwischen den beiden Proben. Zwei dieser Patienten (*GL-ICI-2* und *9*) wiesen in der Tumorprobe vor Beginn der Checkpoint-Blockade fokale primitive neuroektodermale Tumoranteile auf. Beide Patienten waren im Vergleich zu den meisten anderen Patienten mit erstdiagnostizierten Glioblastomen rasch progredient (PFS 3,2 bzw. 1,7 Monate, OS 14,1 bzw. 2,4 Monate). Unter der Immuncheckpoint-Inhibition entwickelten beide Patienten nicht nur eine lokale Progression, sondern auch spinale Abtropfmetastasen. In den Tumorproben, die im Rahmen der Progression gewonnen wurden, zeigte sich bei beiden Patienten ausschließlich das Bild eines primitiven neuroektodermalen Tumors.

Hypothesen für potentielle prädiktive Biomarker

Aus dem Tumorgewebe eines jeden Patienten des Kollektivs wurde eine erweiterte somatische Tumordiagnostik angefertigt. Folgende Veränderungen waren in diesem Kollektiv mit rascher Progression unter der Therapie mit dem PD-1-Inhibitor assoziiert: **RB1-**, **TP53-**, kombinierte **RB1-** und **TP53-** Veränderungen, **MDM2-** und **MDM4-**Veränderungen (insbesondere Amplifikationen), **NF1-** sowie **NOTCH1-**Veränderungen. Demgegenüber ließ sich keine Assoziation zwischen **PTEN-**, **EGFR-**, **B2M-**, und **BRCA2-**

Veränderungen sowie **CDKN2A/B**-Deletionen und rascher Progression feststellen.

4.2 Diskussion und Einordnung der Ergebnisse

Im Folgenden sollen die wesentlichen Erkenntnisse der vorliegenden Arbeit diskutiert und in den Kontext der aktuellen wissenschaftlichen Literatur eingeordnet werden.

4.2.1 Klinischer Verlauf / Therapieansprechen

Das mediane progressionsfreie Überleben im gesamten Kollektiv betrug 2,4 Monate, während das mediane Gesamtüberleben bei 5,4 Monaten lag (jeweils nach Beginn der PD-1-Inhibition). Das Patientenkollektiv war zu Teilen schwer vortherapiert, Standard- und off-label-Therapien waren bereits ausgeschöpft. Wie im vorherigen Kapitel dargestellt, wies der überwiegende Anteil der Patienten bereits innerhalb der ersten drei Monate nach Initiierung der Checkpoint-Blockade eine Progression auf, elf Patienten (50%) verstarben ebenfalls innerhalb der ersten sechs Monate nach Therapiebeginn, sodass insgesamt bei den meisten Patienten kein suffizientes Therapieansprechen erzielt werden konnte.

Aktuelle Studienlage

Bisherige Studienresultate zum Therapieerfolg von Immuncheckpoint-Inhibitoren bei Gliomen sind ebenfalls eher zurückhaltend. In der ersten Phase-3-Studie (*CheckMate 143*) wurde der Einsatz von Nivolumab vs. Bevacizumab bei Patienten mit progredienten (hier erste Progression) Glioblastomen verglichen (Reardon et al., 2020). Als Resultat dieser Studie ergibt sich, dass das mediane Gesamtüberleben nach Beginn der Therapie vergleichbar zwischen beiden Gruppen war, Nivolumab demnach keinen Überlebensvorteil

erbracht hat (Reardon et al., 2020). Das progressionsfreie Überleben lag in dieser Studie bei mit Nivolumab behandelten Patienten bei 1,5 Monaten (vs. 3,5 bei Bevacizumab) (Reardon et al., 2020).

Kürzlich wurden die Ergebnisse zweier weiterer großer Studien zum Einsatz von Immuncheckpoint-Inhibitoren bei Gliomen publiziert. In der randomisierten Phase-3-Studie *CheckMate 498* wurde eine Kombinationstherapie aus Radiotherapie kombiniert mit Nivolumab vs. Radiotherapie mit Temozolomid in einem Patientenkollektiv von neudiagnostizierten Glioblastomen, bei denen molekulargenetisch ein unmethylierter MGMT-Promotor vorlag, untersucht (Omuro et al., 2023). Ergebnis dieser Studie ist, dass das mediane progressionsfreie sowie Gesamtüberleben unter der Therapie mit Nivolumab plus Radiotherapie nicht besser ausfiel als das unter Temozolomid plus Radiotherapie (Omuro et al., 2023). Acht Patienten dieser Arbeit (*GL-ICI-1, 2, 3, 5, 6, 7, 8* und *9*) wurden im Rahmen dieser Studie mit Nivolumab behandelt.

Im Rahmen der *CheckMate 548*-Studie wurde der Einsatz einer Radiochemotherapie mit Temozolomid kombiniert mit Nivolumab gegen eine Radiochemotherapie mit Temozolomid plus Placebo in einem Kollektiv von neudiagnostizierten Glioblastomen mit methyliertem MGMT-Promotor untersucht (Lim et al., 2022). Das Patientenkollektiv, das die Behandlung mit Nivolumab erhielt, wies kein verlängertes Gesamtüberleben auf (Lim et al., 2022).

Insgesamt liegen damit drei randomisierte Phase-3-Studien vor, die keinen Überlebensvorteil durch die Therapie mit dem PD-1-Inhibitor Nivolumab zeigen, weder bei erstdiagnostizierten noch bei progredienten Glioblastomen.

Mögliche Gründe für Therapieversagen

Während in vielen Tumorentitäten mithilfe der Checkpoint-Blockade enorme Verbesserungen der Überlebenszeit bei Patienten mit fortgeschrittenen Tumorerkrankungen erreicht werden konnten (Zander et al., 2020), scheint dies für hirneigene Tumore, wie oben ausgeführt, nicht der Fall zu sein. Ein möglicher Grund für das schlechte Ansprechen auf Immuntherapien könnte darin begründet liegen, dass Gliome ein immunsuppressives Tumor-

Mikroenvironment (= Tumormikromilieu) aufweisen (Mangani et al., 2017; Touat et al., 2020; Grabowski et al., 2021). Dabei spielen verschiedene Faktoren eine Rolle, wie in den Übersichtsarbeiten von Mangani (2017) und Grabowski (2021) zusammengetragen: Das immunsuppressive Tumor-Mikroenvironment entsteht zum einen zellvermittelt durch u.a. regulatorische T-Zellen, Tumor-assoziierte Makrophagen und myeloide Suppressorzellen, zum anderen durch weitere immunsuppressive Mechanismen wie die Expression von PD-L1 auf Gliomzellen sowie die Sekretion bestimmter immunsuppressiver Faktoren (z.B. TGF-beta) (Mangani et al., 2017; Grabowski et al., 2021). Auch die Blut-Hirn-Schranke stellt eine potentielle Barriere für immuntherapeutische Substanzen dar (Mangani et al., 2017; Filley et al., 2017). In Bezug auf Immuncheckpoint-Inhibitoren könnte ein weiteres Problem darin bestehen, dass keine ausreichende Interaktion zwischen dem PD-1-Inhibitor und den PD-1-Rezeptoren auf Lymphozyten zustande kommt - z.B. im Rahmen einer verminderten Expression des PD-1-Rezeptors oder einer systemischen Lymphopenie - die jedoch Voraussetzung für ein Ansprechen auf eine Checkpoint-Blockade ist (Filley et al., 2017). Zudem befinden sich bei weiter fortgeschrittenen Gliom-Erkrankungen vermutlich bereits alle Lymphozyten mit PD-1-Expression im Tumorgewebe im ZNS und sind dort nicht mehr erreichbar für die Immuncheckpoint-Inhibition, da monoklonale Antikörper wie Nivolumab aufgrund ihrer hohen Molekülmasse die Blut-Hirn-Schranke nicht überwinden können (Filley et al., 2017).

Positive Studienergebnisse

Dass vereinzelt Gliom-Patienten auf die Immuncheckpoint-Blockade ansprechen, wurde bereits bei Reardon et al. (2020) berichtet, hier lag die objektive Ansprechrates für Nivolumab bei 7,8% (Reardon et al., 2020). Die objektive Ansprechrates bei Bevacizumab war zwar höher, jedoch wiesen die Patienten unter Nivolumab ein deutlich längeres Therapieansprechen auf, falls sich dieses einstellte (Reardon et al., 2020). Im Kollektiv, das in dieser Arbeit beschrieben wird, wies ein Patient (*GL-ICI-1*) ein sehr langes progressionsfreies Überleben von 33,3 Monaten sowie ein Gesamtüberleben von 64,1 Monaten

nach Beginn der Nivolumab-Therapie auf. Insgesamt wurden 43 Gaben des PD-1-Inhibitors im Rahmen der *CheckMate 498*-Studie appliziert. Verglichen zum medianen PFS von 6,0 Monaten bzw. medianen OS von 13,4 Monaten im Nivolumab-Arm der *CheckMate 498*-Studie (Omuro et al., 2023), stechen die Überlebensdaten dieses Patienten hervor.

Eine weitere Arbeit berichtet über eine Patientin mit Diagnose eines Glioblastoms, die im Rahmen der ersten Tumorprogression und nach erneuter Tumorsektion eine Immuncheckpoint-Blockade mit Nivolumab erhielt und auch nach mehr als fünf Jahren der Fortführung dieser Immuntherapie keine erneute Progression entwickelt hat (Anghileri et al., 2021).

Aber auch weitere Ansätze zum Einsatz von Immuncheckpoint-Inhibitoren bei hirneigenen Tumoren wurden bis jetzt verfolgt: So wurde in einer Studie bei progredienten Glioblastomen eine neoadjuvante Dosis des PD-1-Inhibitors Pembrolizumab verabreicht und adjuvant fortgeführt (Cloughesy et al., 2019). In dieser Patientengruppe konnte u.a. ein verlängertes Gesamtüberleben gegenüber Patienten, die lediglich adjuvant Pembrolizumab erhielten, festgestellt werden (Cloughesy et al., 2019). In einer weiteren Studie wurden Patienten mit progredienten oder neudiagnostizierten Glioblastomen mit einer neoadjuvanten Gabe des PD-1-Inhibitors Nivolumab behandelt, die Therapie wurde ebenfalls adjuvant fortgeführt (Schalper et al., 2019). In beiden Studien ergaben sich Hinweise darauf, dass die neoadjuvante Gabe des PD-1-Inhibitors zu günstigen immunmodulatorischen Veränderungen des Tumor-Mikroenvironments führt (Cloughesy et al., 2019; Schalper et al., 2019).

Pseudoprogression

Bei zwei Patienten (*GL-ICI-20* und *21*) kam es unter der Immuncheckpoint-Blockade nach drei bzw. zwei Gaben Nivolumab zu einer klinischen Verschlechterung sowie bildmorphologisch zu Veränderungen, die von den behandelnden Ärzten als Pseudoprogression interpretiert wurden. Die Therapie musste daraufhin vorübergehend pausiert werden, im Verlauf und nach Stabilisierung des klinischen Zustandes konnten vier (*GL-ICI-20*) bzw. eine (*GL-*

ICI-21) weitere Gabe Nivolumab verabreicht werden. Ein Fall (*GL-ICI-20*) wurde ausführlich in Kapitel 3.3.1 geschildert.

Ähnliche Verläufe sind bereits aus anderen Tumorentitäten bekannt. Das Phänomen der Pseudoprogression unter Immuncheckpoint-Inhibition beschreibt die initiale bildmorphologische Zunahme der Tumorgröße und / oder das Auftreten neuer Läsionen unter dieser Therapie, wobei die Tumorgröße im Verlauf unter fortgeführter Therapie abnimmt (Wang et al., 2018). Hier besteht jedoch das Problem, dass diese Veränderungen initial nach konventionellen bildgebenden Kriterien (bei extrakraniellen Tumoren u.a. RECIST-Kriterien) aufgrund der Größenzunahme als Progression gewertet werden, obwohl es sich eventuell nicht um eine echte Progression handelt (Hodi et al., 2016; Wang et al., 2018). Aus diesem Grund wurden für Immuntherapien spezielle bildgebende Kriterien für das Therapiemonitoring entwickelt, für extrakranielle Tumore sind das die irRC-Kriterien (Wolchok et al., 2009) und für Hirntumore die iRANO-Kriterien (Okada et al., 2015). Beiden ist gemeinsam, dass der Nachweis einer Progression in der initialen Bildgebung bei klinischer Stabilität eine Bestätigung in einer zweiten Bildgebung - im Verlauf - voraussetzt (Wolchok et al., 2009; Okada et al., 2015; Hodi et al., 2016; Wang et al., 2018). Ebenfalls ist die Pseudoprogression ein bekanntes, bereits in mehreren Studien beschriebenes Phänomen bei Patienten mit malignen Gliomen nach / unter Temozolomid-Radiochemotherapie (Brandes et al., 2008; Brandsma et al., 2008; Taal et al., 2008).

Die mögliche Pathophysiologie hinter einer Pseudoprogression erklärt eine Übersichtsarbeit von Jia et al. (2019): Durch die Immuncheckpoint-Inhibition kommt es zu einer Reaktivierung von T-Zellen, diese infiltrieren anschließend das Tumorgewebe (Jia et al., 2019). Hierdurch kommt es im Rahmen des Untergangs von Tumorzellen - durch die Checkpoint-Blockade ausgelöst - zur Freisetzung von Antigenen, wodurch weitere Entzündungszellen in Richtung der Tumorseite „angelockt“ werden (Jia et al., 2019). Außerdem beschreiben die Autoren, dass es im Rahmen des Untergangs des Tumorgewebes zu Hämorrhagien kommen kann, die – ebenso wie die inflammatorischen Prozesse – zur Entstehung eines Ödems führen, sodass bildmorphologisch der Eindruck

eines Tumorwachstums entstehen kann (Jia et al., 2019). Der Nachweis von Nekrosen, Hämorrhagien und Immunzell-Infiltraten im Tumorgewebe bei Patienten, die eine Pseudoprogression unter Immuncheckpoint-Blockade erlitten, erfolgte dabei in diversen Arbeiten (Tanizaki et al., 2016; Rocha et al., 2018; Tabei et al., 2018). Eine weitere Möglichkeit besteht darin, dass der Tumor zunächst weiter wächst und sich erst im Verlauf ein Ansprechen auf die Immuntherapie einstellt (Wolchok et al., 2009).

In Anbetracht des Phänomens der Pseudoprogression mit einer temporären bildmorphologischen Verschlechterung ist demnach davon auszugehen, dass die Immuncheckpoint-Blockade bei einigen Patienten mehr „Zeit benötigt“, um ihre Wirkung zu entfalten (im Gegensatz z.B. zur zytotoxischen Chemotherapie). Diese Vermutung wird durch eine Studie mit experimentellen (hypermultierten) Gliomen im Mausmodell gestützt, bei denen ein Großteil der Tumore, die letztendlich ein Therapieansprechen auf die verabreichte Immuncheckpoint-Blockade aufwiesen, zunächst eine Zunahme der Tumoraläsionen in der MRT und erst im Verlauf einen Rückgang dieser Läsionen zeigten, womit bei einem Großteil der Mäuse mit Therapieansprechen eine Pseudoprogression vorlag (Aslan et al., 2020). Insbesondere bei Tumoren im zentralen Nervensystem könnte dies eine kritische Rolle spielen, da eine Zunahme des Ödems zur klinischen Verschlechterung bis hin zur Herniation von Hirngewebe und folglich zum Tod führen kann. Bei einigen der hier analysierten Patienten, die als rasch progredient gewertet wurden und kein Therapieansprechen aufwiesen, war aufgrund der bereits vor Therapieinitiierung massiven Progression - und in den meisten Fällen auch hohen Tumorlast - vor Beginn der Checkpoint-Blockade diese Zeit eventuell nicht ausreichend. So erlitten z.B. 13 Patienten (59,1%) eine Progression innerhalb der ersten drei Monate, elf Patienten (50%) verstarben innerhalb von sechs Monaten nach Therapiebeginn (siehe Tabelle 4). Es ist nicht auszuschließen, dass auch diese Patienten eventuell eine Pseudoprogression erlitten, die Zeit aber nicht ausreichend war, um das Tumorwachstum aufzuhalten.

Hyperprogression

Zudem fielen einige Fälle auf, in denen Patienten raschere Progressionen entwickelten, als klinisch erwartet wurde. In der *CheckMate 498*-Studie etwa lag das mediane progressionsfreie Überleben unter der Therapie mit Nivolumab plus Radiatio bei erstdiagnostizierten Glioblastomen bei 6,0 Monaten (Omuro et al., 2023). In der Subgruppe der Patienten mit erstdiagnostizierten Glioblastomen in dieser Arbeit wiesen drei Patienten ein deutlich niedrigeres progressionsfreies Überleben auf: So lag das progressionsfreie Überleben bei *GL-ICI-2* bei 3,2 Monaten, bei *GL-ICI-6* bei 2,1 Monaten und bei *GL-ICI-9* bei nur 1,7 Monaten nach Beginn der Therapie mit dem PD-1-Inhibitor Nivolumab.

Im Rahmen anderer Tumorentitäten ist bereits ein Phänomen namens „Hyperprogression“ unter Immuncheckpoint-Therapie beschrieben. Bei der Hyperprogression kommt es zu einer schnelleren Zunahme der Tumorlast, als vom (vorherigen) Krankheitsverlauf erwartet, es handelt sich dabei in Abgrenzung zur Pseudoprogression um eine tatsächliche Progression (Wang et al., 2018). Die Kriterien für das Vorliegen einer Hyperprogression unter Immuncheckpoint-Blockade unterscheiden sich sehr stark in der Literatur (Kim JY et al., 2019; Kocikowski et al., 2020). Folgende Kriterien wurden bisher u.a. zur Diagnose einer Hyperprogression unter Immuncheckpoint-Therapie – bei verschiedenen Tumorentitäten, jedoch keinen primären ZNS-Tumoren - herangezogen (alleine oder in Kombination): Zeitraum bis zum Therapieversagen < 2 Monaten (Kato et al., 2017; Kim CG et al., 2019; Lo Russo et al., 2019; Tunali et al., 2019), Anstieg der Tumorlast um mindestens 50% im Vergleich zur Bildgebung vor Therapiebeginn (Kato et al., 2017; Lo Russo et al., 2019; Sasaki et al., 2019), Zunahme der Wachstumsrate des Tumors um mindestens das Zweifache (Champiat et al., 2017; Kato et al., 2017; Kanjanapan et al., 2019; Kim CG et al., 2019; Tunali et al., 2019), Metastasierung in ein bisher nicht betroffenes Organ (Lo Russo et al., 2019).

Bei zwei (*GL-ICI-2* und *9*) dieser Patienten mit sehr schneller Progression unter der Immuncheckpoint-Blockade lagen zwei Tumorproben vor, jeweils eine vor

und eine nach Nivolumab-Therapie. Eine detaillierte Beschreibung erfolgte bereits in Kapitel 3.4. Beide Patienten wiesen in der Tumorprobe, die unmittelbar nach der letzten Nivolumab-Gabe (ohne weitere dazwischenliegende Therapie) gewonnen wurde, ausschließlich PNET-Anteile auf. In der initialen Tumorprobe wurde bereits bei *GL-ICI-9* eine fokale PNET-Komponente beschrieben, bei *GL-ICI-2* wurde diese vermutet. Dabei handelt es sich bei PNET (= primitive neuroektodermale Tumore) um embryonale Tumore, die in der Altersgruppe der Kinder sowie Jugendlichen häufiger vertreten sind (Louis et al., 2007). Eine Unterform sind Glioblastome mit PNET-Komponente, die nach der WHO-Klassifikation 2016 nun als „Glioblastome mit primitiver neuronaler Komponente“ benannt werden (Louis et al., 2016), sehr selten sind und ein höheres Risiko der Metastasierung über den Liquorweg aufweisen (Perry et al., 2009). Die Prognose von Glioblastomen mit primitiver neuronaler Komponente scheint ähnlich schlecht zu sein wie die klassischer Glioblastome (Perry et al., 2009). In der vorliegenden Arbeit ließ sich bei beiden Patienten mit primitiver neuroektodermaler Tumorkomponente unter der Immuncheckpoint-Therapie ein kurzes PFS von 3,2 bzw. 1,7 Monaten feststellen. Zum Zeitpunkt der Progression wiesen beide Patienten neben der lokalen (supratentoriellen) Tumorprogression spinale Abtropfmetastasen auf, in der erneuten Histologie konnten ausschließlich primitive neuroektodermale Tumoranteile nachgewiesen werden. Möglich wäre daher ein Zusammenhang zwischen PNET und Hyperprogression unter Immuncheckpoint-Inhibition.

4.2.2 Mutationslast als Biomarker

In der hier vorliegenden Arbeit war bei Gliomen mit hoher Mutationslast kein verbessertes progressionsfreies oder Gesamtüberleben zu verzeichnen. Im Gegenteil war dies sogar höher bei Patienten mit niedriger bzw. intermediärer Mutationslast. Lediglich zwei Patienten mit hypermutiertem Tumor (*GL-ICI-15* und *20*) wiesen ein PFS > 3 Monate nach Beginn der Therapie auf. Im Folgenden soll die Tumor-Mutationslast als prädiktiver Biomarker im Rahmen der Immuncheckpoint-Blockade eingeordnet werden.

Hohe Mutationslast als positiver prädiktiver Marker bei anderen Tumorentitäten

In einigen Tumorentitäten konnte gezeigt werden, dass höhere Mutationslasten mit besserem klinischen Ansprechen auf Immuncheckpoint-Inhibition assoziiert sind, z.B. in nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen unter Behandlung mit einem PD-1-Inhibitor (Rizvi et al., 2015) oder in metastasierten Melanomen unter CTLA-4-Blockade (Snyder et al., 2014), wobei auch in diesen beiden Studien jeweils Patienten mit hoher Mutationslast beschrieben sind, die von einer Immuncheckpoint-Blockade nicht profitiert haben. Bekannt ist, dass Veränderungen in MMR-Genen, die zu einer MMR-Defizienz führen, zu einer hohen Mutationslast des Tumors führen (Le et al., 2015; Campbell et al., 2017; Anghileri et al., 2021; Olave und Graham, 2022). In einer weiteren Studie konnte daher auch ein besseres Therapieansprechen nach Behandlung mit dem PD-1-Inhibitor Pembrolizumab bei Patienten mit MMR-defizienten Tumoren im Vergleich zu MMR-profizienten Tumoren verzeichnet werden (Le et al., 2015).

Durch den Ausfall eines MMR-Gens entstehen Probleme bei der DNA-Reparatur, hierdurch kommt es zu einer hohen Mutationslast, durch die wiederum Neoantigene gebildet werden können (Anghileri et al., 2021). Pathophysiologisch wird davon ausgegangen, dass das bessere Ansprechen von MMR-defizienten Tumoren auf die Therapie mit einem PD-1-Inhibitor durch ebendiese erhöhte Anzahl an Neoantigenen, die im Rahmen der Mismatch Repair-Defizienz entsteht, mit folgender Infiltration von Immunzellen begründet ist (Le et al., 2015; Touat et al., 2020). Bei Neoantigenen handelt es sich um Proteine, die auf der Grundlage von DNA-Veränderungen des Tumors entstehen und im gesunden menschlichen Genom nicht vorhanden sind (Schumacher und Schreiber, 2015). Diese Neoantigene könnten anschließend von autologen T-Zellen erkannt werden (Schumacher und Schreiber, 2015). Bei der Entstehung von Neoantigenen können sowohl nsSNVs (*non synonymous single nucleotide variants*) als auch Indels (*small insertions and deletions*), die Frameshift-Mutationen verursachen, eine Rolle spielen (Turajlic et al., 2017).

Besonderheiten bei Gliomen

Das Auftreten eines hypermutierten Phänotyps wurde ebenfalls bereits zuvor bei Gliomen beschrieben, hier konnte eine hohe Mutationslast bei progredienten Gliomen nach alkylirender Chemotherapie, vor allem nach Temozolomid-Behandlung, festgestellt werden (Hunter et al., 2006; Yip et al., 2009; Wang et al., 2016). Bei erstdiagnostizierten, therapienaiven Gliomen lassen sich Hypermutationen – auch als de novo Hypermutationen bezeichnet – nur selten beobachten (Sa et al., 2019; Touat et al., 2020). Das Vorliegen von Mutationen in MMR-Genen konnte sowohl bei mit TMZ vorbehandelten (Hunter et al., 2006; Yip et al., 2009; Wang et al., 2016; Sa et al., 2019; Touat et al., 2020) als auch bei therapienaiven hypermutierten Gliomen nachgewiesen werden (Sa et al., 2019; Touat et al., 2020).

Im Patientenkollektiv, das in dieser Arbeit analysiert wurde, waren sechs der sieben Patienten mit hoher Mutationslast mit Temozolomid vorbehandelt. Einzig die Probe von Patient *GL-ICI-23* war therapienaiv, hier liegt also sicher ein de novo hypermutierter Tumor vor. Bei den übrigen sechs Patienten liegt keine Analyse der Mutationslast vor Temozolomid-Behandlung vor. Wie bereits in Kapitel 3.5.1 ausgeführt, wies jeder Patient des hypermutierten Kollektivs dieser Arbeit mindestens eine Veränderung in MMR-Genen auf. Der Einfluss auf die Proteinfunktion ist jedoch nicht bei allen Veränderungen klar (siehe Tabelle 23 im Anhang).

Die Rolle von MMR-Veränderungen bei Gliomen wurde in einer Studie von Touat et al. (2020) untersucht: Hier war die Mutationslast von MMR-defizienten Gliomen (post-TMZ und de novo) ähnlich hoch im Vergleich zu Tumoren anderer Entität, die eine hohe Mutationslast aufweisen (Touat et al., 2020). Während jedoch in Proben von MMR-defizienten kolorektalen Karzinomen eine signifikant höhere Tumordinfiltration mit T-Zellen im Vergleich zu den MMR-profizienten kolorektalen Karzinomen festgestellt werden konnte, ließ sich weder in MMR-defizienten noch in MMR-profizienten Gliomen eine signifikante T-Zell-Infiltration nachweisen (Touat et al., 2020). Auch ließ sich trotz der höheren Mutationslast MMR-defizienter Gliome keine erhöhte Indel-Last, wie

sie bei MMR-defizienten kolorektalen Karzinomen vorkommt, feststellen (Touat et al., 2020). Lediglich bei de novo hypermutierten Gliomen konnte ein geringer Anstieg der Indel-Last verzeichnet werden (Touat et al., 2020). Auch zeigten alle darauf getesteten MMR-defizienten Gliomproben eine Mikrosatellitenstabilität, die Proben der MMR-defizienten kolorektalen Karzinome jedoch durchgehend eine Mikrosatelliteninstabilität (Touat et al., 2020).

Eine Untersuchung auf Mikrosatelliteninstabilität erfolgte in dieser Arbeit bei drei Patienten: Patient *GL-ICI-26* wies eine intermediäre und Patient *GL-ICI-28* eine hohe Mutationslast auf. In beiden Tumoren wurde eine Mikrosatellitenstabilität diagnostiziert. Auch bei *GL-ICI-30* ergab sich kein Hinweis auf eine Mikrosatelliteninstabilität, allerdings erfolgte die Analyse hier nicht wie im Material-und-Methoden-Teil geschildert, sondern basierend auf einer Prädiktion aus den NGS-Daten.

Immuncheckpoint-Inhibition bei hypermutierten Gliomen

Neben den molekularen Analysen werteten Touat et al. (2020) auch klinische Daten von Patienten mit MMR-defizienten, hypermutierten Gliomen aus: Diese wiesen kein verbessertes progressionsfreies oder Gesamtüberleben unter PD-1-Blockade im Vergleich zu denjenigen Patienten ohne hohe Mutationslast auf (Touat et al., 2020). Allerdings waren in dieser eben genannten Analyse von den 210 mit einem PD-1-Inhibitor behandelten Gliomen nur elf Patienten mit MMR-Defizienz (fünf de novo, sechs nach Behandlung) vertreten, es handelt sich demnach um ein kleines Patientenkollektiv. Dieses Ergebnis passt zu der in dieser Arbeit beobachteten Tendenz, dass Gliome mit Mutationen in MMR-Genen und dem damit einhergehenden hypermutierten Phänotyp kein besseres Ansprechen auf PD-1-Checkpoint-Blockade zeigen. Teilweise war eine hohe Mutationslast in diesem Kollektiv sogar mit Fällen von extrem schneller Zunahme der Tumorkläsionen assoziiert. Auch in einer Analyse von Samstein et al. (2019) war das Vorhandensein einer hohen Mutationslast bei Gliomen nicht mit verlängertem Überleben assoziiert (Samstein et al., 2019). Im Kollektiv dieser Arbeit konnte ein Patient mit de novo hypermutiertem Gliom (*GL-ICI-23*)

bei heterozygoter MSH2-Keimbahnmutation, Verlust des MSH2-Wildtyp-Allels im Tumorgewebe sowie somatischer MSH6-Mutation identifiziert werden. Dieser hatte vor Beginn der Therapie mit dem PD-1-Inhibitor Pembrolizumab keine Progression der Tumorerkrankung erlitten, war unter der Therapie jedoch sehr rasch progredient (PFS 1,1 Monate) und wies zudem ein kurzes Gesamtüberleben (3,4 Monate) nach Therapieinitiierung auf. Die Arbeit von Touat et al. (2020) konnte mögliche Gründe für das Therapieversagen von Immuncheckpoint-Inhibitoren bei hypermutierten Gliomen aufzeigen.

Eine andere Studie berichtet gar über ein längeres Überleben unter Immuncheckpoint-Blockade bei Patienten mit progredienten Glioblastomen, die eine niedrige Mutationslast (hier als \leq Median definiert) aufweisen (Gromeier et al., 2021). In einer weiteren Studie konnte ebenfalls bei progredienten Glioblastomen eine ähnliche (nicht signifikante) Tendenz beobachtet werden: Patienten, die ein Ansprechen auf die Therapie mit einem PD-1-Inhibitor aufwiesen, wiesen im Median eine geringere Mutationslast auf als die, die kein Therapieansprechen zeigten (Zhao J et al., 2019). Während also bei progredienten Glioblastomen mit niedriger Mutationslast ein verbessertes Therapieansprechen beobachtet wurde, wies der Patient mit dem mit Abstand besten klinischen Ansprechen (*GL-ICI-1*) in dieser Arbeit zwar ebenfalls eine geringe Mutationslast ($< 0,1$ Varianten / Megabase) auf, allerdings wurde dieser Patient im Rahmen der Erstdiagnose mit einem Immuncheckpoint-Inhibitor behandelt.

Positive Ausblicke geben jedoch Einzelfallberichte von Patienten mit hypermutierten Gliomen, die von einer Immuncheckpoint-Blockade profitieren konnten: So wurde etwa über eine Patientin mit einem unmethylierten, IDH-negativen Glioblastom und einer Keimbahnmutation im MMR-Gen MSH2 berichtet (bereits in Kapitel 4.2.1 erwähnt), die nach der ersten Progression eine Immuncheckpoint-Blockade mit Nivolumab erhielt und darunter langjährige Stabilität zeigte (Anghileri et al., 2021). Weiterhin existiert eine Fallbeschreibung über zwei pädiatrische Patienten mit hypermutierten Glioblastomen bei

homozygoter PMS2-Keimbahnmutation, die im Rahmen der Progression ebenfalls einer PD-1-Inhibition mit Nivolumab zugeführt wurden und hierunter klinische Stabilität präsentierten (Bouffet et al., 2016). Möglicherweise profitieren daher tendenziell eher Patienten mit de novo hypermutierten Tumoren im Rahmen einer MMR-Defizienz, die auf MMR-Keimbahnmutationen zurückzuführen ist (im Gegensatz zu durch TMZ erworbenen Hypermutationen), von einer Immuncheckpoint-Blockade. Dass dies jedoch nicht auf alle Tumore mit entsprechendem genetischen Profil zutrifft, konnte bei Patient *GL-ICI-23* festgestellt werden.

4.2.3 Hypothesen für weitere prädiktive Biomarker

Weiterhin ist von Interesse, ob bestimmte Veränderungen einzelner Gene als prädiktive Biomarker für Therapieansprechen fungieren könnten.

So wurden etwa **MDM2**- und **MDM4**-Amplifikationen sowie **EGFR**-Veränderungen als potentielle Marker für Therapieversagen oder gar Hyperprogression unter PD-1- bzw. PD-L1-Blockade bei verschiedenen extrakraniellen soliden Tumoren beschrieben (Kato et al., 2017). Auch der einzige Patient im in dieser Arbeit analysierten Kollektiv mit einer kombinierten MDM2-/MDM4-Amplifikation (*GL-ICI-9*) entwickelte eine sehr rasche Progression und verstarb 2,4 Monate nach Initiierung der Immuntherapie. Anzumerken ist, dass sich dieser Patient in der erstdiagnostizierten Krankheitssituation befand und vor Therapiebeginn mit dem PD-1-Inhibitor Nivolumab eine makroskopische Komplettresektion des Glioblastoms durchgeführt werden konnte. Allerdings fand sich im Kollektiv, das in dieser Arbeit beschrieben wird, im Gegensatz zu der Studie von Kato et al. (2017) kein klarer Zusammenhang zwischen **EGFR**-Veränderungen und einer schnellen Progression. Auch eine Studie mit EGFR-mutierten NSCLC bei Mäusen wies ein gegensätzliches Ergebnis auf: Hier konnten die Autoren feststellen, dass aktivierende Veränderungen von EGFR zu verstärkter PD-L1-Expression sowie weiteren Veränderungen führen, die in einem immunsuppressiven Tumor-

Mikroenvironment resultieren, aber über ein Ansprechen auf Behandlung mit einem PD-1-Inhibitor zu einem verlängerten Überleben im Mausmodell führen (Akbay et al., 2013).

Im hier dargestellten Kollektiv ließ sich kein eindeutiger Zusammenhang zwischen **PTEN**-Veränderungen und schneller Progression unter Immuncheckpoint-Inhibition darstellen. Demgegenüber ließen sich in einer Analyse von Glioblastom-Patienten mit IDH-Wildtyp in der Progression, die mit einem PD-1-Inhibitor behandelt wurden, signifikant häufiger PTEN-Mutationen in der Patientengruppe, die kein Therapieansprechen aufwies, nachweisen (Zhao J et al., 2019). Es ergaben sich Hinweise darauf, dass PTEN-Mutationen zu einem immunsuppressiven Tumor-Mikroenvironment beitragen (Zhao J et al., 2019). Auch bei Melanomen wurden inaktivierende PTEN-Veränderungen als negativer prädiktiver Marker beschrieben, hier ließ sich ein besseres Therapieansprechen unter PD-1-Blockade bei Patienten mit erhaltener PTEN-Funktion verzeichnen (Peng et al., 2016). Es ergaben sich in beiden Studien Hinweise darauf, dass PTEN-Mutationen einen immunsuppressiven Effekt haben (Peng et al., 2016; Zhao J et al., 2019).

Im hier analysierten Kollektiv zeigten **NF1**-Mutationen keinen Zusammenhang mit einem guten Outcome unter Immuncheckpoint-Blockade. Im Gegensatz dazu wurde bei fortgeschrittenen Melanomen ein verlängertes Überleben von NF1-mutierten Tumoren unter Immuncheckpoint-Blockade im Vergleich zu NF1-Wildtyp-Tumoren beschrieben (Thielmann et al., 2021). Hervorzuheben ist in dieser Arbeit jedoch Patient *GL-ICI-1*, der das mit Abstand längste PFS und OS aufwies: Bei diesem Patienten ließ sich lediglich eine Mutation des somatischen Tumorpanels nachweisen, in diesem Falle handelte es sich um eine NF1-Mutation.

In dieser Arbeit konnte zudem eine Assoziation zwischen **RB1**-Veränderungen, **TP53**-Veränderungen sowie kombinierten RB1- und TP53-Veränderungen und schneller Progression identifiziert werden. Eine Veränderung von TP53 kann

bei einer Vielzahl von glialen Tumoren vorhanden sein, insbesondere häufig sind diese bei IDH-mutierten, nicht 1p/19q-kodeletierten Tumoren vorhanden (van den Bent et al., 2017).

Das Vorliegen von **CDKN2A/B**-Deletionen war in diesem Kollektiv nicht klar mit schneller Progression unter Immuncheckpoint-Inhibition assoziiert, insbesondere nicht bei Vorliegen homozygoter CDKN2A/B-Deletionen. Demgegenüber gingen in einer Analyse von Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC unter Immuncheckpoint-Blockade CDKN2A-Veränderungen, die zu einem Verlust der Proteinfunktion führen, mit schlechterem Ansprechen und kürzerem PFS und OS im Vergleich zu CDKN2A-Wildtyp-Tumoren einher (Gutierrez et al., 2021). CDKN2A/B-Veränderungen stellen bei Gliomen auch einen molekularen Marker dar: Wenn bei IDH-mutierten Astrozytomen eine homozygote CDKN2A/B-Deletion vorliegt, führt dies zur Zuordnung des Tumors in den ZNS-WHO-Grad 4 (Louis et al., 2021; Weller et al., 2022).

Alterationen von **BRCA2** zeigten in diesem Kollektiv keinen klaren Zusammenhang mit schneller Progression, während **BRCA1**-Veränderungen nur bei zwei Patienten festgestellt wurden, beide waren rasch progredient. Bei Patient *GL-ICI-6* konnten sowohl eine heterozygote BRCA1- als auch BRCA2-Deletion festgestellt werden, der Patient wies ein neudiagnostiziertes Glioblastom auf und war rasch progredient. In einer Arbeit von Samstein et al. (2020) wiesen Patienten mit pathogenen BRCA2-Mutationen ein besseres Therapieansprechen mit einem längeren Überleben unter ICI auf als diejenigen Patienten mit pathogenen BRCA1-Mutationen (Samstein et al., 2020).

Im Kollektiv dieser Arbeit ließ sich keine Assoziation zwischen **B2M**-Veränderungen und schlechtem Ansprechen auf die Immuncheckpoint-Blockade herstellen. Es gibt jedoch Hinweise darauf, dass eine niedrigere B2M-Expression (durch Mutationen oder z.B. epigenetische Veränderungen) mit schlechterem Ansprechen auf Immuncheckpoint-Blockade einhergeht, verglichen mit Tumoren mit hoher B2M-Expression (Zhao et al., 2021).

Während in dieser Arbeit **NOTCH1**-Mutationen hauptsächlich bei Patienten mit schneller Progression festzustellen waren, beschreibt eine Studie, dass NOTCH-Mutationen (NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3) bei NSCLC-Patienten mit besserem Ansprechen auf Immuncheckpoint-Blockade einhergehen (Zhang et al., 2020).

Ein weiterer Biomarker wurde bereits vielfach untersucht: So wurde bei unterschiedlichen (extrakraniellen) Tumorentitäten die **PD-L1**-Expression im Tumorgewebe als positiver prädiktiver Biomarker für das Therapieansprechen auf Anti-PD-1- bzw. Anti-PD-L1-Therapie beschrieben, wobei jedoch auch Patienten mit negativer PD-L1-Immunhistochemie (bzw. geringerer PD-L1-Expression) ein Therapieansprechen erreichen und andersherum auch PD-L1-positive Tumore kein Ansprechen aufweisen können (Topalian et al., 2012; Garon et al., 2015; Larkin et al., 2015; Gibney et al., 2016). Grenzwerte für die Einteilung der PD-L1-Expression wurden dabei unterschiedlich hoch definiert, z.B. $\geq 1\%$ (Garon et al., 2015), $\geq 5\%$ (Topalian et al., 2012; Larkin et al., 2015) oder $\geq 50\%$ (Garon et al., 2015). Ein Grund für die niedrige Sensitivität / Spezifität der PD-L1-Expression als prädiktiver Biomarker kann auch die Heterogenität von Tumoren sein, so kann die PD-L1-Expression im Primärtumor-Gewebe anders ausfallen als im Gewebe einer Metastase dieses Tumors (Mahoney und Atkins, 2014). Im Rahmen der *CheckMate 498*- und auch der *CheckMate 548*-Studie ließ sich die PD-L1-Expression des Tumorgewebes (sowohl für $\geq 1\%$ als auch für $\geq 5\%$) nicht als positiver prädiktiver Marker für das Gesamtüberleben für mit Nivolumab behandelte Glioblastome identifizieren (Lim et al., 2022; Omuro et al., 2023). In dieser Arbeit liegt nur für zwei Patienten eine PD-L1-Immunhistochemie vor. Bei *GL-ICI-28* fiel die PD-L1-Immunhistochemie negativ aus, dieser Patient wies ein sehr kurzes PFS und OS auf. Auch bei Patient *GL-ICI-1* konnte immunhistochemisch keine membranöse PD-L1-Expression nachgewiesen werden, jedoch wies dieser Patient das mit Abstand längste PFS und OS des gesamten Kollektivs auf. Somit kann hier ein Fall eines Glioblastoms präsentiert werden, der trotz nicht nachweisbarer PD-L1-Expression ein anhaltendes

Therapieansprechen auf die Behandlung mit dem PD-1-Inhibitor Nivolumab erreichen konnte.

4.3 Grenzen und Einschränkungen der Arbeit

Fallzahl und Heterogenität des Patientenkollektivs

Es handelt sich beim vorliegenden Kollektiv um eine heterogene Patientengruppe mit einer geringen Fallzahl ($n = 22$), sodass nur deskriptive statistische Aussagen zur Wirkung von PD-1-Inhibitoren bei Gliomen der WHO-Grade III-IV getätigt werden können. Zum einen sind unterschiedliche Diagnosen und WHO-Gradierungen vertreten, die per se mit unterschiedlichen Prognosen einhergehen. Zudem unterscheiden sich die molekularen Marker (MGMT-Promotor, IDH-Mutation) innerhalb des Kollektivs.

Erkrankungsstatus vor Therapiebeginn

Hinzu kommt, dass die hier analysierten Patienten auch mit unterschiedlichen Ausgangsvoraussetzungen die Checkpoint-Inhibitor-Behandlung begonnen hatten: Einige Patienten befanden sich in der erstdiagnostizierten Krankheitssituation, andere hatten bereits mehrere Progressionen erlitten. Wie in den vorhergehenden Kapiteln analysiert wurde, unterschied sich die Tumorlast vor Therapiebeginn dabei mitunter erheblich. Im Rahmen der fortgeschrittenen Tumorerkrankung hatten einige Patienten alle Standardtherapien sowie zusätzlich experimentelle / off label-Therapien erhalten (siehe Tabelle 3). Insgesamt muss daher gesagt werden, dass aufgrund der weit vorangeschrittenen Tumorerkrankung bei einigen Patienten von einer sehr geringen Lebenserwartung auszugehen war, insbesondere im Vergleich zu denjenigen Patienten mit erstdiagnostizierten Gliomen. Einige Patienten erhielten nach Progression unter dem PD-1-Inhibitor noch andere tumorspezifische Therapien, die selbstverständlich das Gesamtüberleben beeinflussen.

Definition „frühe Progression“ / Bildgebende Diagnostik

Der Cut-off-Wert für die Einteilung in eine frühe Progression wurde in dieser Arbeit anhand der standardmäßig durchgeführten bildgebenden Verlaufskontrollen (MRT in dreimonatigen Abständen) festgelegt. Wie in den entsprechenden Kapiteln dargelegt, wies die überwiegende Zahl der Patienten des Kollektivs bereits in dieser ersten routinemäßigen Verlaufskontrolle (bzw. bereits vor dieser) eine Tumorprogression auf. Ein progressionsfreies Überleben von drei Monaten spiegelt dabei selbstverständlich keineswegs ein suffizientes Therapieansprechen wider.

Die Tumorlast vor Therapiebeginn wurde anhand der vorliegenden MRT- bzw. PET-Aufnahmen in Gruppen (makroskopische Komplettresektion, minimale Schrankenstörungen, lokal Tumormasse, multifokal Tumormasse sowie spinale und zerebrale Tumorerläsionen) eingeteilt, die die Schwere der Tumorlast widerspiegeln sollen. Jedoch wurden im Rahmen dieser Arbeit keine volumetrischen Messungen zur genauen Quantifizierung der Tumorlast durchgeführt.

Zeitpunkt der Gewebebegewinnung für die somatische Tumordiagnostik

In einigen Fällen lagen weitere Therapien zwischen Gewinnung der Probe für die somatische Tumordiagnostik und Beginn der Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor (siehe Tabelle 1). Dies umfasste Resektionen, Bestrahlungen, Chemotherapien (u.a. bei zwei Patienten mit Temozolomid) sowie weitere Therapien mit Bevacizumab, Tumor Treating Fields, Everolimus und Regorafenib. Es ist bekannt, dass sich im Laufe der Erkrankung und unter der Therapie molekulargenetische Alterationen eines Glioms verändern können, so können etwa im Verlauf neue Mutationen entstehen oder bei Erstdiagnose vorliegende Mutationen zum Zeitpunkt der Progression nicht mehr vorhanden sein (Wang et al., 2016). Daher besteht auch bei den Patienten in diesem Kollektiv, bei denen zwischen Probengewinnung für die Sequenzierung und dem Beginn der Immuncheckpoint-Therapie weitere tumorspezifische Therapien erfolgt sind, die Möglichkeit, dass durch diese Therapien weitere genetische Veränderungen entstanden sind. Möglicherweise spiegeln die hier

analysierten Gewebeproben den Tumor-Genotyp vor Therapiebeginn deshalb nicht vollständig wider. Dass zwischen der Probengewinnung für die Sequenzierung und dem Beginn der Immuncheckpoint-Inhibition noch andere Therapien erfolgt sind, war oft der Tatsache geschuldet, dass durch die Sequenzierung erst nach zielgerichteten, für den jeweiligen Patienten in Frage kommenden Therapien gesucht wurde. Zudem verging in einigen Fällen Zeit, bis die Kostenzusage für die Immuncheckpoint-Inhibition von der Krankenkasse vorlag, sodass überbrückend andere Therapieversuche unternommen wurden. Ebenfalls ist zu betonen, dass eine Biopsie bzw. Resektion im zentralen Nervensystem selbstverständlich einer strengen medizinischen Indikation bedarf und daher nicht jederzeit durchgeführt werden kann.

Bei zwei Patienten (*GL-ICI-23* und *26*) konnte aufgrund der Tumorlokalisation bzw. -verteilung bereits bei Erstdiagnose keine Resektion durchgeführt werden, demzufolge erfolgte im Rahmen der Tumorerkrankung nur ein einziges Mal - im Rahmen der Erstdiagnose - eine biopsische Sicherung des Tumors. Insbesondere bei *GL-ICI-26* lagen daher eine Vielzahl von Therapien zwischen dem Zeitpunkt der Probengewinnung und dem Beginn der Immuncheckpoint-Therapie. Im Falle von Patient *GL-ICI-23* ist es jedoch äußerst hilfreich, dass therapienaives Gewebe untersucht wurde, da somit sicher ein de novo hypermutierter Tumor vorliegt.

Kortikosteroide

Zudem wurden auch Patienten analysiert, bei denen eine Therapie mit Kortikosteroiden bereits bei Initiierung der Checkpoint-Inhibitor-Therapie oder im Verlauf dieser notwendig war. Bei neun Patienten (40,9%) war eine Kortikosteroid-Einnahme zu einem Zeitpunkt während der Therapie mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor dokumentiert. Es handelte sich dabei bei sieben Patienten um Dexamethason (Dosis 2 – 4 mg) und bei jeweils einem Patienten um Prednisolon 12,5 mg bzw. Methylprednisolon 110 mg (hier nur für wenige Tage). Bei einem weiteren Patienten geht aus der Dokumentation nicht klar hervor, ob Dexamethason bis zum Beginn der Immuncheckpoint-Therapie

bereits ausgeschlichen war oder die Beendigung erst nach der ersten Gabe erfolgt war. Es ist davon auszugehen, dass Steroide aufgrund ihrer anti-inflammatorischen Wirkung die Wirksamkeit der Immuncheckpoint-Blockade negativ beeinflusst haben. So konnte etwa in einer retrospektiven Analyse von Patienten mit nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom gezeigt werden, dass Patienten, die bei Beginn der Immuncheckpoint-Therapie mit einem PD-1- bzw. PD-L1-Inhibitor mehr als 10 mg Prednison-Äquivalent erhalten haben, niedrigere objektive Ansprechraten auf diese Therapie sowie ein niedrigeres progressionsfreies und Gesamtüberleben aufwiesen (Arbour et al., 2018). Auch im Rahmen der *CheckMate 143*-Studie wurde ein negativer prognostischer Effekt einer Kortison-Einnahme (in diesem Fall Kortisoneinnahme bei Therapiebeginn mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor) bei mit Nivolumab behandelten Patienten beschrieben (Reardon et al., 2020). Allerdings zeigt die Notwendigkeit einer Behandlung mit Steroiden auch von einer hohen Krankheitslast. Bei Patienten mit hirneigenen Tumoren können diese zum Beispiel notwendig sein bei Vorliegen eines großen perifokalen Ödems und Hirndrucks (Wick et al., 2021).

Autoimmune Nebenwirkungen als Therapielimitation

Insgesamt zwei Patienten (*GL-ICI-7* und *8*) mussten die PD-1-Inhibition nicht aufgrund einer Progression der Tumorerkrankung, sondern aufgrund therapieassoziierter autoimmuner Nebenwirkungen abbrechen. Bei einem weiteren Patienten (*GL-ICI-30*) erfolgte der Therapieabbruch bei einem Mischbild aus therapieassozierten autoimmunen Nebenwirkungen sowie einer bildmorphologisch nachgewiesenen Tumorprogression. Zudem wies ein Patient (*GL-ICI-24*) eine klinische Symptomatik auf, die auf autoimmune Nebenwirkungen unter Checkpoint-Blockade zurückzuführen sein könnte, lehnte aber eine Abklärung diesbezüglich ab und verstarb kurz darauf. Bei diesen Patienten sind bis zur Progression teilweise andere Therapien erfolgt, dies gilt auch für *GL-ICI-20*, bei dem nach drei Gaben Nivolumab aufgrund einer Pseudoprogession eine andere Therapie begonnen wurde.

Biomarker

Eine weitere Limitierung stellt dar, dass im Kollektiv dieser Arbeit nur bei zwei Patienten (*GL-ICI-1* und *28*) eine PD-L1-Immunhistochemie durchgeführt wurde. Testungen auf Mikrosatelliteninstabilität erfolgten ebenfalls nur bei drei Patienten (*GL-ICI-26*, *28* und *30*).

Follow-up

Bei 19 der 22 Patienten liegt eine vollständige Dokumentation über den klinischen und radiologischen Verlauf während der Immuncheckpoint-Inhibitor-Behandlung vor. Bei den übrigen drei Patienten ist die Dokumentation aufgrund externer Behandlung teilweise unvollständig, wie in Kapitel 2.2 ausgeführt. Für einige Patienten lag eine Dokumentation bzgl. Kortikosteroid-Einnahme während der Immuncheckpoint-Behandlung nur zu einem Zeitpunkt während der Therapie, nicht aber bei Therapiebeginn vor.

4.4 Ausblick

Insgesamt deuten die bisher vorhandenen Studiendaten und auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit darauf hin, dass sich die Therapie mit Immuncheckpoint-Inhibitoren nicht als Standard-Therapie für höhergradige Gliome durchsetzen wird, da bisher keine signifikante Verlängerung des Überlebens gezeigt werden konnte. Für zukünftige Forschungsprojekte, die sich mit dem Einsatz von Immuncheckpoint-Inhibitoren bei Gliomen beschäftigen, gilt es daher, die Ursachen für das schlechte Therapieansprechen weiter zu evaluieren. Hierbei wird insbesondere das immunsuppressive Mikroenvironment dieser Tumore eine wichtige Rolle spielen, auf das bereits in Kapitel 4.2.1 eingegangen wurde. Hierzu bedarf es weiterer Forschung, um mögliche Resistenz-Mechanismen gegenüber Immuntherapien noch besser verstehen und in Zukunft ggf. sogar lösen zu können.

Wenngleich sich die Immuncheckpoint-Blockade bei Gliomen nicht als „Therapiedurchbruch“ wie bei diversen extrakraniellen Tumoren erwiesen hat,

konnten in bisherigen Studien doch objektive Ansprechraten - wenn auch im einstelligen Prozentbereich - beobachtet werden (Reardon et al., 2020). Aufgrund der fatalen Prognose, der hohen Morbidität sowie begrenzter Standard-Therapieoptionen für höhergradige Gliome besteht weiterhin eine enorme Bedeutung darin, die Immuncheckpoint-Inhibition bei Gliomen weiter zu erforschen.

Potentielle zukünftige Strategien

Hierfür könnte die Untersuchung neuer Therapieregime vielversprechend sein, denkbar wären u.a.:

- Die neoadjuvante Gabe von PD-1-Inhibitoren bei resezierbaren Tumoren, da durch diese eine Verstärkung der gegen den Tumor gerichteten Immunantwort und damit ein verlängertes Überleben erzielt werden könnte (Cloughesy et al., 2019).
- Eine Kombinationstherapie zweier Immuncheckpoint-Inhibitoren, insbesondere die Kombination aus PD-1- und CTLA-4-Inhibitoren, die bei fortgeschrittenen Melanomen u.a. höhere objektive Ansprechraten aufweisen konnte (Wolchok et al., 2017).
- Die Kombination aus einem Immuncheckpoint-Inhibitor und Bevacizumab, die in diesem Kollektiv auch vier Patienten erhalten haben. Diese Kombination könnte insbesondere bei Hirntumoren sinnvoll sein aufgrund der Möglichkeit, durch Bevacizumab Kortikosteroide einzusparen (Wick et al., 2021), sodass die negativen Effekte von Kortikosteroiden auf die Checkpoint-Blockade (zumindest teilweise) entfallen.
- Auch eine Kombinationstherapie aus einem Immuncheckpoint-Inhibitor mit einer anderen Immuntherapie (z.B. Vakzinierung) könnte eine weitere Therapieoption darstellen (Omuro et al., 2023).

Im Rahmen der Studien *CheckMate 143* sowie *CheckMate 498* und *548* wurden ausschließlich Glioblastome eingeschlossen. Für weitere Studien könnte die Untersuchung der Effektivität von Checkpoint-Inhibitoren an weiteren

Gliom-Entitäten (etwa Astrozytome und Oligodendrogliome) – wie in dieser Arbeit erfolgt - ebenfalls von Interesse sein.

Idealer Zeitpunkt der Therapie

Eine weitere wichtige Rolle könnte der Zeitpunkt des Therapiebeginns spielen. Mit *CheckMate 498* und *548* liegen nun zwei Phase-3-Studien vor, die den Einsatz des PD-1-Inhibitors Nivolumab bei erstdiagnostizierten Glioblastomen untersucht haben. Im Rahmen der *CheckMate 143*-Studie fand eine Investigation bei progredienten Glioblastomen statt. Da in der vorliegenden Arbeit eine Assoziation zwischen hoher Tumorlast vor Therapiebeginn und rascher Progression unter der Checkpoint-Blockade beobachtet wurde, wäre auch in weiteren Studien die Analyse der Tumorlast vor Therapiestart – ggf. mit volumetrischen Messungen – interessant, um diese Beobachtung weiter zu untersuchen. Das Vorliegen einer geringeren Tumorlast könnte auch dahingehend vorteilhafter sein, dass in dieser Konstellation in der Regel weniger oder gar keine Kortikosteroide notwendig sind, die sich negativ auf die Therapie auswirken können. Ausgehend von den Ergebnissen dieser Arbeit lässt sich vermuten, dass eine Immuncheckpoint-Therapie nicht sinnvoll ist als letzte Therapieoption nach Ausschöpfung aller anderen Therapiemöglichkeiten und bei Vorliegen einer extrem hohen Tumorlast, die oft eher bei Progression als bei Erstdiagnose zu finden ist.

Prädiktive Biomarker

Ein weiterer wichtiger Ansatzpunkt ist es, prädiktive Biomarker für Therapieansprechen bzw. Therapieversagen zu evaluieren, um gezielter Patienten auszuwählen, die von einer Immuncheckpoint-Blockade profitieren können, und die restlichen Patienten nicht mit den potentiellen Nebenwirkungen zu gefährden.

In der vorliegenden Arbeit wurden einige mögliche „Kandidaten“-Gene, hauptsächlich negative prädiktive Biomarker, beschrieben, die jedoch weiterer Evaluation im Rahmen größerer Studien-Kohorten bedürfen. Zur weiteren Stratifizierung könnte auch in prospektiven randomisierten Studien eine

Tumorpanelsequenzierung vor Beginn der Checkpoint-Blockade evaluiert werden, um Subgruppen anhand molekularer Marker besser analysieren zu können. Ebenfalls ist eine Bestimmung der Mutationslast sinnvoll. Eine Analyse auf MMR-Veränderungen sollte ggf. auch bereits im Rahmen der Erstdiagnose angestrebt werden, unter anderem kann dann zwischen einem durch Temozolomid akquirierten und einem de novo hypermutierten Phänotyp differenziert werden, da eventuell letztgenanntes Patientenkollektiv von der Checkpoint-Blockade profitieren könnte (Bouffet et al., 2016; Anghileri et al., 2021). Wiederum andere Daten weisen darauf hin, dass Gliom-Patienten mit niedriger Mutationslast einen besseren klinischen Verlauf unter der Immuncheckpoint-Blockade haben könnten (Zhao J et al., 2019; Gromeier et al., 2021). Insgesamt scheint es sehr unwahrscheinlich, dass ein Biomarker alleine genügen wird, um Therapieansprechen mit ausreichend hoher Wahrscheinlichkeit vorherzusagen. Vielmehr wird es dafür einer Kombination verschiedener klinischer und molekularer Marker bedürfen.

5 Zusammenfassung

Bei Gliomen der ZNS-WHO-Grade 3 und 4 handelt es sich um maligne hirneigene Tumore, die nicht kurativ behandelt werden können. Daher wird aktuell intensiv nach neuen Therapiestrategien zur Verbesserung der Prognose dieser Patienten geforscht. Von Interesse ist dabei u.a. die Antikörper-Klasse der Immuncheckpoint-Inhibitoren. Unter der Behandlung mit einem Immuncheckpoint-Inhibitor konnten bereits bei einer Reihe von extrakraniellen Tumoren verbesserte Überlebensdaten mit teilweise langanhaltendem Therapieansprechen verzeichnet werden. Dem Therapieerfolg zugrunde liegt eine verstärkte, gegen den Tumor gerichtete Immunantwort. Zu dieser Medikamenten-Klasse gehören PD-1-, PD-L1- und CTLA-4-Inhibitoren.

Im Rahmen dieser Dissertation wurde ein Kollektiv von 22 Patienten mit erstdiagnostizierten oder progredienten Gliomen der ZNS-WHO-Grade 3 und 4, die mit dem PD-1-Inhibitor Nivolumab bzw. Pembrolizumab behandelt wurden, retrospektiv analysiert. Für alle 22 Patienten liegen Befunde einer somatischen Tumorpanel-Sequenzierung vor. Die dabei detektierten molekulargenetischen Veränderungen wurden mit den klinischen und bildmorphologischen Eigenschaften der Patienten korreliert. Ziel war es, Hypothesen für potentielle prädiktive Marker für Therapieansprechen bzw. -versagen zu identifizieren.

Das mediane PFS im Gesamtkollektiv lag bei 2,4 Monaten und das mediane OS bei 5,4 Monaten nach Beginn der Immuncheckpoint-Inhibition. Es erfolgte eine Einteilung in Patienten mit „früher Progression“ (63,6%) und „keine frühe Progression“ (36,4%). Im Rahmen der Untersuchung klinischer Eigenschaften fiel auf, dass unter den rasch progredienten Patienten prozentual häufiger Patienten vertreten waren, die eine hohe Tumorlast vor Therapiebeginn aufwiesen. Weiterhin waren Patienten, die bereits zuvor eine oder mehrere Progressionen erlitten hatten, prozentual häufiger rasch progredient. Jedoch fanden sich auch Patienten mit erstdiagnostizierten Gliomen und geringerer Tumorlast, die rasch progredient waren, und wiederum Patienten mit progredienten Gliomen und höherer Tumorlast, die dennoch ein längeres

Überleben aufwiesen. Eine längerfristige klinische und radiologische Stabilität konnte nur vereinzelt beobachtet werden.

Eine hohe Mutationslast, die bei einigen extrakraniellen Tumoren bereits als positiver prädiktiver Marker für Therapieansprechen und Überleben unter Immuncheckpoint-Blockade beschrieben wurde, konnte im Kollektiv dieser Arbeit bei sieben Patienten (31,8%) festgestellt werden, ging hier aber nicht mit einem verbesserten Überleben einher. Der Patient mit dem mit Abstand längsten PFS (33,3 Monate) und OS (64,1 Monate) wies die geringste Mutationslast des gesamten Kollektivs auf. Alterationen der folgenden Gene waren in diesem Kollektiv mit rascher Progression unter Immuncheckpoint-Inhibition assoziiert: *RB1*, *TP53*, *MDM2*, *MDM4*, *NF1* sowie *NOTCH1*.

Die wesentlichen Limitationen der vorliegenden Arbeit liegen in der geringen Fallzahl des Patientenkollektivs sowie dessen Heterogenität bzgl. Diagnosen, Vorbehandlung und des Krankheitsstatus (Erstdiagnose vs. Progression).

Eine Reihe von aktuellen Studien ergab, dass die Immuncheckpoint-Inhibition bei Gliomen nicht zu einem „Therapiedurchbruch“ führen wird wie bei einigen anderen Tumorentitäten. In dieser Arbeit konnte jedoch aufgezeigt werden, dass vereinzelt Gliom-Patienten von der Immuncheckpoint-Blockade profitieren, während andere Patienten wiederum durch diese Therapie im Sinne einer Hyperprogression gefährdet sein könnten. Um diese beiden Patientengruppen identifizieren zu können, fehlen bisher jedoch geeignete prädiktive Marker. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden daher für ein Kollektiv von Gliom-Patienten potentielle prädiktive Marker für die Behandlung mit einem Immuncheckpoint-Inhibitor beschrieben. Diese könnten für weiterführende prospektive Therapiemonitoring-Studien interessant sein, bedürfen jedoch einer Validierung im Rahmen größerer Studien-Kohorten.

6 Literaturverzeichnis

- Akbay EA, Koyama S, Carretero J, Altabef A, Tchaicha JH, Christensen CL, Mikse OR, Cherniack AD, Beauchamp EM, Pugh TJ, Wilkerson MD, Fecci PE, Butaney M, Reibel JB, Soucheray M, Cohoon TJ, Janne PA, Meyerson M, Hayes DN, Shapiro GI, Shimamura T, Sholl LM, Rodig SJ, Freeman GJ, Hammerman PS, Dranoff G, Wong KK (2013) Activation of the PD-1 pathway contributes to immune escape in EGFR-driven lung tumors. *Cancer Discov* 3(12): 1355-1363. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-13-0310>
- Anghileri E, Di Ianni N, Paterra R, Langella T, Zhao J, Eoli M, Patanè M, Pollo B, Cuccarini V, Iavarone A, Rabadan R, Finocchiaro G, Pellegatta S (2021) High tumor mutational burden and T-cell activation are associated with long-term response to anti-PD1 therapy in Lynch syndrome recurrent glioblastoma patient. *Cancer Immunol Immunother* 70(3): 831-842. <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02769-4>
- Arbour KC, Mezquita L, Long N, Rizvi H, Auclin E, Ni A, Martínez-Bernal G, Ferrara R, Lai WV, Hendriks LEL, Sabari JK, Caramella C, Plodkowski AJ, Halpenny D, Chaft JE, Planchard D, Riely GJ, Besse B, Hellmann MD (2018) Impact of Baseline Steroids on Efficacy of Programmed Cell Death-1 and Programmed Death-Ligand 1 Blockade in Patients With Non–Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 36(28): 2872-2878. <https://doi.org/10.1200/JCO.2018.79.0006>
- Aslan K, Turco V, Blobner J, Sonner JK, Liuzzi AR, Núñez NG, De Feo D, Kickingeder P, Fischer M, Green E, Sadik A, Friedrich M, Sanghvi K, Kilian M, Cichon F, Wolf L, Jähne K, von Landenberg A, Bunse L, Sahn F, Schimpf D, Meyer J, Alexander A, Brugnara G, Röth R, Pfeleiderer K, Niesler B, von Deimling A, Opitz C, Breckwoldt MO, Heiland S, Bendszus M, Wick W, Becher B, Platten M (2020) Heterogeneity of response to immune checkpoint blockade in hypermutated experimental gliomas. *Nat Commun* 11(1): 931. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14642-0>
- Bouffet E, Larouche V, Campbell BB, Merico D, de Borja R, Aronson M, Durno C, Krueger J, Cabric V, Ramaswamy V, Zhukova N, Mason G, Farah R, Afzal S, Yalon M, Rechavi G, Magimairajan V, Walsh MF, Constantini S, Dvir R, Elhasid R, Reddy A, Osborn M, Sullivan M, Hansford J, Dodgshun A, Klauber-Demore N, Peterson L, Patel S, Lindhorst S, Atkinson J, Cohen Z, Laframboise R, Dirks P, Taylor M, Malkin D, Albrecht S, Dudley RWR, Jabado N, Hawkins CE, Shlien A, Tabori U (2016) Immune Checkpoint Inhibition for Hypermutant Glioblastoma Multiforme Resulting From Germline Biallelic Mismatch Repair Deficiency. *J Clin Oncol* 34(19): 2206-2211. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.66.6552>

- Brandes AA, Franceschi E, Tosoni A, Blatt V, Pession A, Tallini G, Bertorelle R, Bartolini S, Calbucci F, Andreoli A, Frezza G, Leonardi M, Spagnolli F, Ermani M (2008) MGMT Promoter Methylation Status Can Predict the Incidence and Outcome of Pseudoprogression After Concomitant Radiochemotherapy in Newly Diagnosed Glioblastoma Patients. *J Clin Oncol* 26(13): 2192–2197. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.14.8163>
- Brandsma D, Stalpers L, Taal W, Sminia P, van den Bent MJ (2008) Clinical features, mechanisms, and management of pseudoprogression in malignant gliomas. *Lancet Oncol* 9(5): 453–461. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(08\)70125-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(08)70125-6)
- Brown JA, Dorfman DM, Ma F-R, Sullivan EL, Munoz O, Wood CR, Greenfield EA, Freeman GJ (2003) Blockade of Programmed Death-1 Ligands on Dendritic Cells Enhances T Cell Activation and Cytokine Production. *J Immunol* 170(3): 1257–1266. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.3.1257>
- Campbell BB, Light N, Fabrizio D, Zatzman M, Fuligni F, de Borja R, Davidson S, Edwards M, Elvin JA, Hodel KP, Zahurancik WJ, Suo Z, Lipman T, Wimmer K, Kratz CP, Bowers DC, Laetsch TW, Dunn GP, Johanns TM, Grimmer MR, Smirnov IV, Larouche V, Samuel D, Bronsema A, Osborn M, Stearns D, Raman P, Cole KA, Storm PB, Yalon M, Opocher E, Mason G, Thomas GA, Sabel M, George B, Ziegler DS, Lindhorst S, Issai VM, Constantini S, Toledano H, Elhasid R, Farah R, Dvir R, Dirks P, Huang A, Galati MA, Chung J, Ramaswamy V, Irwin MS, Aronson M, Durno C, Taylor MD, Rechavi G, Maris JM, Bouffet E, Hawkins C, Costello JF, Meyn MS, Pursell ZF, Malkin D, Tabori U, Shlien A (2017) Comprehensive Analysis of Hypermutation in Human Cancer. *Cell* 171(5): 1042-1056.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.048>
- Cerretelli G, Ager A, Arends MJ, Frayling IM (2020) Molecular pathology of Lynch syndrome. *J Pathol* 250(5): 518–531. <https://doi.org/10.1002/path.5422>
- Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, Gay L, Ali SM, Ennis R, Schrock A, Campbell B, Shlien A, Chmielecki J, Huang F, He Y, Sun J, Tabori U, Kennedy M, Lieber DS, Roels S, White J, Otto GA, Ross JS, Garraway L, Miller VA, Stephens PJ, Frampton GM (2017) Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. *Genome Med* 9(1): 34. <https://doi.org/10.1186/s13073-017-0424-2>
- Champiat S, Derclé L, Ammari S, Massard C, Hollebecque A, Postel-Vinay S, Chaput N, Eggermont A, Marabelle A, Soria J-C, Féré C (2017) Hyperprogressive Disease Is a New Pattern of Progression in Cancer Patients Treated by Anti-PD-1/PD-L1. *Clin Cancer Res* 23(8): 1920–1928. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-1741>

- Chukwueke UN, Wen PY (2019) Use of the Response Assessment in Neuro-Oncology (RANO) criteria in clinical trials and clinical practice. *CNS Oncol* 8(1): CNS28. <https://doi.org/10.2217/cns-2018-0007>
- Cloughesy TF, Mochizuki AY, Orpilla JR, Hugo W, Lee AH, Davidson TB, Wang AC, Ellingson BM, Rytlewski JA, Sanders CM, Kawaguchi ES, Du L, Li G, Yong WH, Gaffey SC, Cohen AL, Mellinghoff IK, Lee EQ, Reardon DA, O'Brien BJ, Butowski NA, Nghiemphu PL, Clarke JL, Arrillaga-Romany IC, Colman H, Kaley TJ, de Groot JF, Liau LM, Wen PY, Prins RM (2019) Neoadjuvant anti-PD-1 immunotherapy promotes a survival benefit with intratumoral and systemic immune responses in recurrent glioblastoma. *Nat Med* 25(3): 477-486. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0337-7>
- Filley AC, Henriquez M, Dey M (2017) Recurrent glioma clinical trial, CheckMate-143: the game is not over yet. *Oncotarget* 8(53): 91779–91794. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21586>
- Finch A, Solomou G, Wykes V, Pohl U, Bardella C, Watts C (2021) Advances in Research of Adult Gliomas. *Int J Mol Sci* 22(2): 924. <https://doi.org/10.3390/ijms22020924>
- Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, Fitz LJ, Malenkovich N, Okazaki T, Byrne MC, Horton HF, Fouser L, Carter L, Ling V, Bowman MR, Carreno BM, Collins M, Wood CR, Honjo T (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(7): 1027–1034. <https://doi.org/10.1084/jem.192.7.1027>
- Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leighl N, Balmanoukian AS, Eder JP, Patnaik A, Aggarwal C, Gubens M, Horn L, Carcereny E, Ahn M-J, Felip E, Lee J-S, Hellmann MD, Hamid O, Goldman JW, Soria J-C, Dolled-Filhart M, Rutledge RZ, Zhang J, Luceford JK, Rangwala R, Lubiniecki GM, Roach C, Emancipator K, Gandhi L; KEYNOTE-001-Investigators (2015) Pembrolizumab for the Treatment of Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 372(21): 2018–2028. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1501824>
- Gibney GT, Weiner LM, Atkins MB (2016) Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *Lancet Oncol* 17(12): e542–e551. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30406-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30406-5)
- Goel A, Nagasaka T, Hamelin R, Boland CR (2010) An Optimized Pentaplex PCR for Detecting DNA Mismatch Repair-Deficient Colorectal Cancers. *PLoS One* 5(2): e9393. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009393>
- Grabowski MM, Sankey EW, Ryan KJ, Chongsathidkiet P, Lorrey SJ, Wilkinson DS, Fecci PE (2021) Immune suppression in gliomas. *J Neurooncol* 151(1): 3–12. <https://doi.org/10.1007/s11060-020-03483-y>

- Gromeier M, Brown MC, Zhang G, Lin X, Chen Y, Wei Z, Beaubier N, Yan H, He Y, Desjardins A, Herndon JE 2nd, Varn FS, Verhaak RG, Zhao J, Bolognesi DP, Friedman AH, Friedman HS, McSherry F, Muscat AM, Lipp ES, Nair SK, Khasraw M, Peters KB, Randazzo D, Sampson JH, McLendon RE, Bigner DD, Ashley DM (2021) Very low mutation burden is a feature of inflamed recurrent glioblastomas responsive to cancer immunotherapy. *Nat Commun* 12(1): 352. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20469-6>
- Gutierrez SI, Turchan WT, Spurr LF, Rouhani SJ, Chervin CS, Steinhardt G, Lager AM, Wanjari P, Malik R, Connell PP, Chmura SJ, Juloori A, Hoffman PC, Ferguson MK, Donington JS, Patel JD, Vokes EE, Weichselbaum RR, Bestvina CM, Segal JP, Pitroda SP (2021) CDKN2A loss-of-function predicts immunotherapy resistance in non-small cell lung cancer. *Sci Rep* 11(1): 20059. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99524-1>
- Hegde M, Ferber M, Mao R, Samowitz W, Ganguly A; Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) Laboratory Quality Assurance Committee (2014) ACMG technical standards and guidelines for genetic testing for inherited colorectal cancer (Lynch syndrome, familial adenomatous polyposis, and MYH-associated polyposis). *Genet Med* 16(1): 101–116. <https://doi.org/10.1038/gim.2013.166>
- Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, Gonzalez R, Robert C, Schadendorf D, Hassel JC, Akerley W, van den Eertwegh AJM, Lutzky J, Lorigan P, Vaubel JM, Linette GP, Hogg D, Ottensmeier CH, Lebbé C, Peschel C, Quirt I, Clark JI, Wolchok JD, Weber JS, Tian J, Yellin MJ, Nichol GM, Hoos A, Urba WJ (2010) Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. *N Engl J Med* 363(8): 711-723. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1003466>
- Hodi FS, Hwu W-J, Kefford R, Weber JS, Daud A, Hamid O, Patnaik A, Ribas A, Robert C, Gangadhar TC, Joshua AM, Hersey P, Dronca R, Joseph R, Hille D, Xue D, Li XN, Kang SP, Ebbinghaus S, Perrone A, Wolchok JD (2016) Evaluation of Immune-Related Response Criteria and RECIST v1.1 in Patients With Advanced Melanoma Treated With Pembrolizumab. *J Clin Oncol* 34(13): 1510-1517. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.64.0391>
- Höhn H (2017) Kapitel 1.5 DNA-Reparaturmechanismen, S. 88 - 103. Murken J, Grimm T, Holinski-Feder E & Zerres K (Hrsg.), Taschenlehrbuch Humangenetik, 9. Auflage, Georg-Thieme-Verlag Stuttgart
- Holinski-Feder E (2017a) Kapitel 5.11 Genetik von Krebserkrankungen, S. 513 – 542. Murken J, Grimm T, Holinski-Feder E & Zerres K (Hrsg.), Taschenlehrbuch Humangenetik, 9. Auflage, Georg-Thieme-Verlag Stuttgart

- Holinski-Feder E (2017b) Kapitel 1.4 Mutationen beim Menschen und ihre Folgen, S. 49 – 87. Murken J, Grimm T, Holinski-Feder E & Zerres K (Hrsg.), Taschenlehrbuch Humangenetik, 9. Auflage, Georg-Thieme-Verlag Stuttgart
- Holinski-Feder E (2017c) Kapitel 1.6 DNA-Untersuchung – Diagnostische Anwendung beim Menschen, S. 103 – 136. Murken J, Grimm T, Holinski-Feder E & Zerres K (Hrsg.), Taschenlehrbuch Humangenetik, 9. Auflage, Georg-Thieme-Verlag Stuttgart
- Hunter C, Smith R, Cahill DP, Stephens P, Stevens C, Teague J, Greenman C, Edkins S, Bignell G, Davies H, O'Meara S, Parker A, Avis T, Barthorpe S, Brackenbury L, Buck G, Butler A, Clements J, Cole J, Dicks E, Forbes S, Gorton M, Gray K, Halliday K, Harrison R, Hills K, Hinton J, Jenkinson A, Jones D, Kosmidou V, Laman R, Lugg R, Menzies A, Perry J, Petty R, Raine K, Richardson D, Shepherd R, Small A, Solomon H, Tofts C, Varian J, West S, Widaa S, Yates A, Easton DF, Riggins G, Roy JE, Levine KK, Mueller W, Batchelor TT, Louis DN, Stratton MR, Futreal PA, Wooster R (2006) A Hypermutation Phenotype and Somatic MSH6 Mutations in Recurrent Human Malignant Gliomas after Alkylator Chemotherapy. *Cancer Res* 66(8): 3987-3991. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-0127>
- Jia W, Gao Q, Han A, Zhu H, Yu J (2019) The potential mechanism, recognition and clinical significance of tumor pseudoprogression after immunotherapy. *Cancer Biol Med* 16(4): 655-670. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2019.0144>
- Johnson DB, Frampton GM, Rioth MJ, Yusko E, Xu Y, Guo X, Ennis RC, Fabrizio D, Chalmers ZR, Greenbowe J, Ali SM, Balasubramanian S, Sun JX, He Y, Frederick DT, Puzanov I, Balko JM, Cates JM, Ross JS, Sanders C, Robins H, Shyr Y, Miller VA, Stephens PJ, Sullivan RJ, Sosman JA, Lovly CM (2016) Targeted Next Generation Sequencing Identifies Markers of Response to PD-1 Blockade. *Cancer Immunol Res* 4(11): 959–967. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-16-0143>
- Kanjanapan Y, Day D, Wang L, Al-Sawaihey H, Abbas E, Namini A, Siu LL, Hansen A, Razak AA, Spreafico A, Leighl N, Joshua AM, Butler MO, Hogg D, Chappell MA, Sultani L, Chow K, Boujos S, Bedard PL (2019) Hyperprogressive disease in early-phase immunotherapy trials: Clinical predictors and association with immune-related toxicities. *Cancer* 125(8): 1341–1349. <https://doi.org/10.1002/cncr.31999>
- Kato S, Goodman A, Walavalkar V, Barkauskas DA, Sharabi A, Kurzrock R (2017) Hyper-progressors after Immunotherapy: Analysis of Genomic Alterations Associated with Accelerated Growth Rate. *Clin Cancer Res* 23(15): 4242-4250. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-3133>

- Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH (2008) PD-1 and Its Ligands in Tolerance and Immunity. *Annu Rev Immunol* 26: 677-704. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331>
- Kim CG, Kim KH, Pyo K-H, Xin C-F, Hong MH, Ahn B-C, Kim Y, Choi SJ, Yoon HI, Lee JG, Lee CY, Park SY, Park S-H, Cho BC, Shim HS, Shin E-C, Kim HR (2019) Hyperprogressive disease during PD-1/PD-L1 blockade in patients with non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 30(7): 1104–1113. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz123>
- Kim JY, Lee KH, Kang J, Borcoman E, Saada-Bouazid E, Kronbichler A, Hong SH, de Rezende LFM, Ogino S, Keum N, Song M, Luchini C, van der Vliet HJ, Shin JI, Gernerith G (2019) Hyperprogressive Disease during Anti-PD-1 (PDCD1) / PD-L1 (CD274) Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancers (Basel)* 11(11): 1699. <https://doi.org/10.3390/cancers11111699>
- Kocikowski M, Dziubek K, Parys M (2020) Hyperprogression Under Immune Checkpoint-Based Immunotherapy—Current Understanding, The Role of PD-1/PD-L1 Tumour-Intrinsic Signalling, Future Directions and a Potential Large Animal Model. *Cancers (Basel)* 12(4): 804. <https://doi.org/10.3390/cancers12040804>
- Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, Schadendorf D, Dummer R, Smylie M, Rutkowski P, Ferrucci PF, Hill A, Wagstaff J, Carlino MS, Haanen JB, Maio M, Marquez-Rodas I, McArthur GA, Ascierto PA, Long GV, Callahan MK, Postow MA, Grossmann K, Sznol M, Dreno B, Bastholt L, Yang A, Rollin LM, Horak C, Hodi FS, Wolchok JD (2015) Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *N Engl J Med* 373(1): 23–34. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1504030>
- Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, Skora AD, Luber BS, Azad NS, Laheru D, Biedrzycki B, Donehower RC, Zaheer A, Fisher GA, Crocenzi TS, Lee JJ, Duffy SM, Goldberg RM, de la Chapelle A, Koshiji M, Bhaijee F, Hiebner T, Hruban RH, Wood LD, Cuka N, Pardoll DM, Papadopoulos N, Kinzler KW, Zhou S, Cornish TC, Taube JM, Anders RA, Eshleman JR, Vogelstein B, Diaz LA Jr (2015) PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med* 372(26): 2509-2520. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1500596>
- Lim M, Weller M, Idbaih A, Steinbach J, Finocchiaro G, Raval RR, Ansstas G, Baehring J, Taylor JW, Honnorat J, Petrecca K, De Vos F, Wick A, Sumrall A, Sahebjam S, Mellingerhoff IK, Kinoshita M, Roberts M, Slepetic R, Warad D, Leung D, Lee M, Reardon DA, Omuro A (2022) Phase III trial of chemoradiotherapy with temozolomide plus nivolumab or placebo for newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter. *Neuro Oncol* 24(11): 1935-1949. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noac116>

- Lo Russo G, Moro M, Sommariva M, Cancila V, Boeri M, Centonze G, Ferro S, Ganzinelli M, Gasparini P, Huber V, Milione M, Porcu L, Proto C, Pruneri G, Signorelli D, Sangaletti S, Sfondrini L, Storti C, Tassi E, Bardelli A, Marsoni S, Torri V, Tripodo C, Colombo MP, Anichini A, Rivoltini L, Balsari A, Sozzi G, Garassino MC (2019) Antibody–Fc/FcR Interaction on Macrophages as a Mechanism for Hyperprogressive Disease in Non–small Cell Lung Cancer Subsequent to PD-1/PD-L1 Blockade. *Clin Cancer Res* 25(3): 989–999. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1390>
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, Scheithauer BW, Kleihues P (2007) The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol* 114(2): 97-109. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0243-4>
- Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW (2016) The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 131(6): 803-820. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
- Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, Hawkins C, Ng HK, Pfister SM, Reifenberger G, Soffietti R, von Deimling A, Ellison DW (2021) The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol* 23(8): 1231-1251. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab106>
- Lynch HT, Snyder CL, Shaw TG, Heinen CD, Hitchins MP (2015) Milestones of Lynch syndrome: 1895–2015. *Nat Rev Cancer* 15(3): 181–194. <https://doi.org/10.1038/nrc3878>
- Mahoney KM, Atkins MB (2014) Prognostic and predictive markers for the new immunotherapies. *Oncology (Williston Park)* 28 Suppl 3: 39–48
- Mangani D, Weller M, Roth P (2017) The network of immunosuppressive pathways in glioblastoma. *Biochem Pharmacol* 130: 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.12.011>
- Martins F, Sofiya L, Sykiotis GP, Lamine F, Maillard M, Fraga M, Shabafrouz K, Ribic C, Cairoli A, Guex-Crosier Y, Kuntzer T, Michielin O, Peters S, Coukos G, Spertini F, Thompson JA, Obeid M (2019) Adverse effects of immune-checkpoint inhibitors: epidemiology, management and surveillance. *Nat Rev Clin Oncol* 16(9): 563–580. <https://doi.org/10.1038/s41571-019-0218-0>
- McDermott DF, Atkins MB (2013) PD-1 as a potential target in cancer therapy. *Cancer Med* 2(5): 662-673. <https://doi.org/10.1002/cam4.106>
- Okada H, Weller M, Huang R, Finocchiaro G, Gilbert MR, Wick W, Ellingson BM, Hashimoto N, Pollack IF, Brandes AA, Franceschi E, Herold-Mende C,

- Nayak L, Panigrahy A, Pope WB, Prins R, Sampson JH, Wen PY, Reardon DA (2015) Immunotherapy response assessment in neuro-oncology: a report of the RANO working group. *Lancet Oncol* 16(15): e534-e542. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)00088-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00088-1)
- Olave MC, Graham RP (2022) Mismatch repair deficiency: The what, how and why it is important. *Genes Chromosomes Cancer* 61(6): 314–321. <https://doi.org/10.1002/gcc.23015>
- Omuro A, DeAngelis LM (2013) Glioblastoma and Other Malignant Gliomas: A Clinical Review. *JAMA* 310(17): 1842-1850. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.280319>
- Omuro A, Brandes AA, Carpentier AF, Idbaih A, Reardon DA, Cloughesy T, Sumrall A, Baehring J, van den Bent M, Bähr O, Lombardi G, Mulholland P, Tabatabai G, Lassen U, Sepulveda JM, Khasraw M, Vauleon E, Muragaki Y, Di Giacomo AM, Butowski N, Roth P, Qian X, Fu AZ, Liu Y, Potter V, Chalamandaris A-G, Tatsuoka K, Lim M, Weller M (2023) Radiotherapy combined with nivolumab or temozolomide for newly diagnosed glioblastoma with unmethylated MGMT promoter: An international randomized phase III trial. *Neuro Oncol* 25(1): 123-134. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noac099>
- Ostrom QT, Cioffi G, Gittleman H, Patil N, Waite K, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS (2019) CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012–2016. *Neuro Oncol* 21(Suppl 5): v1-v100. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noz150>
- Pagin A, Zerimech F, Leclerc J, Wacrenier A, Lejeune S, Descarpentries C, Escande F, Porchet N, Buisine M-P (2013) Evaluation of a new panel of six mononucleotide repeat markers for the detection of DNA mismatch repair-deficient tumours. *Br J Cancer* 108(10): 2079–2087. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.213>
- Pardoll DM (2012) The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 12(4): 252-264. <https://doi.org/10.1038/nrc3239>
- Peng W, Chen JQ, Liu C, Malu S, Creasy C, Tetzlaff MT, Xu C, McKenzie JA, Zhang C, Liang X, Williams LJ, Deng W, Chen G, Mbofung R, Lazar AJ, Torres-Cabala CA, Cooper ZA, Chen P-L, Tieu TN, Spranger S, Yu X, Bernatchez C, Forget M-A, Haymaker C, Amaria R, McQuade JL, Glitza IC, Cascone T, Li HS, Kwong LN, Heffernan TP, Hu J, Bassett RL Jr, Bosenberg MW, Woodman SE, Overwijk WW, Lizée G, Roszik J, Gajewski TF, Wargo JA, Gershenwald JE, Radvanyi L, Davies MA, Hwu P (2016) Loss of PTEN Promotes Resistance to T Cell-Mediated Immunotherapy. *Cancer Discov* 6(2): 202-216. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0283>

- Perry A, Miller CR, Gujrati M, Scheithauer BW, Zambrano SC, Jost SC, Raghavan R, Qian J, Cochran EJ, Huse JT, Holland EC, Burger PC, Rosenblum MK (2009) Malignant Gliomas with Primitive Neuroectodermal Tumor-like Components: A Clinicopathologic and Genetic Study of 53 Cases. *Brain Pathol* 19(1): 81–90. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2008.00167.x>
- Poeggel G, Meitinger T (2017) Kapitel 1.1. Aufbau des Genoms und Weitergabe der genetischen Information, S. 3 - 21. Murken J, Grimm T, Holinski-Feder E & Zerres K (Hrsg.), Taschenlehrbuch Humangenetik, 9. Auflage, Georg-Thieme-Verlag Stuttgart
- Reardon DA, Brandes AA, Omuro A, Mulholland P, Lim M, Wick A, Baehring J, Ahluwalia MS, Roth P, Bähr O, Phuphanich S, Sepulveda JM, De Souza P, Sahebjam S, Carleton M, Tatsuoka K, Taitt C, Zwirter R, Sampson J, Weller M (2020) Effect of Nivolumab vs Bevacizumab in Patients With Recurrent Glioblastoma: The CheckMate 143 Phase 3 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol* 6(7): 1003-1010. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.1024>
- Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, Gottfried M, Peled N, Tafreshi A, Cuffe S, O'Brien M, Rao S, Hotta K, Leiby MA, Lubiniecki GM, Shentu Y, Rangwala R, Brahmer JR; KEYNOTE-024-Investigators (2016) Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 375(19): 1823-1833. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1606774>
- Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, Lee W, Yuan J, Wong P, Ho TS, Miller ML, Rekhtman N, Moreira AL, Ibrahim F, Bruggeman C, Gasmi B, Zappasodi R, Maeda Y, Sander C, Garon EB, Merghoub T, Wolchok JD, Schumacher TN, Chan TA (2015) Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non–small cell lung cancer. *Science* 348(6230): 124–128. <https://doi.org/10.1126/science.aaa1348>
- Rocha P, Hardy-Werbin M, Naranjo D, Taus Á, Rodrigo M, Zuccarino F, Roth R, Wood O, Ottensmeier CH, Arriola E (2018) CD103+CD8+ Lymphocytes Characterize the Immune Infiltration in a Case With Pseudoprogression in Squamous NSCLC. *J Thorac Oncol* 13(10): e193–e196. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.05.008>
- Sa JK, Choi SW, Zhao J, Lee Y, Zhang J, Kong D-S, Choi JW, Seol HJ, Lee J-I, Iavarone A, Rabadan R, Nam D-H (2019) Hypermutagenesis in untreated adult gliomas due to inherited mismatch mutations. *Int J Cancer* 144(12): 3023–3030. <https://doi.org/10.1002/ijc.32054>
- Samstein RM, Lee C-H, Shoushtari AN, Hellmann MD, Shen R, Janjigian YY, Barron DA, Zehir A, Jordan EJ, Omuro A, Kaley TJ, Kendall SM, Motzer RJ,

- Hakimi AA, Voss MH, Russo P, Rosenberg J, Iyer G, Bochner BH, Bajorin DF, Al-Ahmadie HA, Chaft JE, Rudin CM, Riely GJ, Baxi S, Ho AL, Wong RJ, Pfister DG, Wolchok JD, Barker CA, Gutin PH, Brennan CW, Tabar V, Mellinshoff IK, DeAngelis LM, Ariyan CE, Lee N, Tap WD, Gounder MM, D'Angelo SP, Saltz L, Stadler ZK, Scher HI, Baselga J, Razavi P, Klebanoff CA, Yaeger R, Segal NH, Ku GY, DeMatteo RP, Ladanyi M, Rizvi NA, Berger MF, Riaz N, Solit DB, Chan TA, Morris LGT (2019) Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types. *Nat Genet* 51(2): 202–206. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0312-8>
- Samstein RM, Krishna C, Ma X, Pei X, Lee K-W, Makarov V, Kuo F, Chung J, Srivastava RM, Purohit TA, Hoen DR, Mandal R, Setton J, Wu W, Shah R, Qeriqi B, Chang Q, Kendall S, Braunstein L, Weigelt B, Carrillo Alborno PB, Morris LGT, Mandelker DL, Reis-Filho JS, de Stanchina E, Powell SN, Chan TA, Riaz N (2020) Mutations in BRCA1 and BRCA2 differentially affect the tumor microenvironment and response to checkpoint blockade immunotherapy. *Nat Cancer* 1(12): 1188–1203. <https://doi.org/10.1038/s43018-020-00139-8>
- Sasaki A, Nakamura Y, Mishima S, Kawazoe A, Kuboki Y, Bando H, Kojima T, Doi T, Ohtsu A, Yoshino T, Kuwata T, Akimoto T, Shitara K (2019) Predictive factors for hyperprogressive disease during nivolumab as anti-PD1 treatment in patients with advanced gastric cancer. *Gastric Cancer* 22(4): 793–802. <https://doi.org/10.1007/s10120-018-00922-8>
- Schadendorf D, Bernhard H (2014) Medikamentöse Systemtherapie des Melanoms. *Onkologe* 20: 568–576. <https://doi.org/10.1007/s00761-013-2527-8>
- Schalper KA, Rodriguez-Ruiz ME, Diez-Valle R, López-Janeiro A, Porciuncula A, Idoate MA, Inogés S, de Andrea C, López-Díaz de Cerio A, Tejada S, Berraondo P, Villarreal-Espindola F, Choi J, Gúrpide A, Giraldez M, Goicoechea I, Gallego Perez-Larraya J, Sanmamed MF, Perez-Gracia JL, Melero I (2019) Neoadjuvant nivolumab modifies the tumor immune microenvironment in resectable glioblastoma. *Nat Med* 25(3): 470-476. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0339-5>
- Schildmann J, Marckmann G, Vollmann J (2013) Personalisierte Medizin. Medizinische, ethische, rechtliche und ökonomische Analysen. *Ethik Med* 25: 169–172. <https://doi.org/10.1007/s00481-013-0261-9>
- Schumacher TN, Schreiber RD (2015) Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science* 348(6230): 69–74. <https://doi.org/10.1126/science.aaa4971>
- Snyder A, Makarov V, Merghoub T, Yuan J, Zaretsky JM, Desrichard A, Walsh LA, Postow MA, Wong P, Ho TS, Hollmann TJ, Bruggeman C, Kannan K, Li Y, Elipenahli C, Liu C, Harbison CT, Wang L, Ribas A, Wolchok JD, Chan

TA (2014) Genetic Basis for Clinical Response to CTLA-4 Blockade in Melanoma. *N Engl J Med* 371(23): 2189–2199. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1406498>

Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJ, Janzer RC, Ludwin SK, Allgeier A, Fisher B, Belanger K, Hau P, Brandes AA, Gijtenbeek J, Marosi C, Vecht CJ, Mokhtari K, Wesseling P, Villa S, Eisenhauer E, Gorlia T, Weller M, Lacombe D, Cairncross JG, Mirimanoff R-O; European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumour and Radiation Oncology Groups; National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (2009) Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 10(5): 459–466. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70025-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70025-7)

Taal W, Brandsma D, de Bruin HG, Bromberg JE, Swaak-Kragten AT, Sillevis Smitt PAE, van Es CA, van den Bent MJ (2008) Incidence of early pseudo-progression in a cohort of malignant glioma patients treated with chemoradiation with temozolomide. *Cancer* 113(2): 405–410. <https://doi.org/10.1002/cncr.23562>

Tabatabai G, Weller M (2019) Herausforderungen und Zukunftsperspektiven in der Neuroonkologie. *Nervenarzt* 90: 594–600. <https://doi.org/10.1007/s00115-019-0716-4>

Tabei T, Tsuura Y, Kobayashi K (2018) Pseudoprogression: A case of metastatic renal clear cell carcinoma treated with nivolumab. *Pathol Int* 68(11): 627–629. <https://doi.org/10.1111/pin.12714>

Tanizaki J, Hayashi H, Kimura M, Tanaka K, Takeda M, Shimizu S, Ito A, Nakagawa K (2016) Report of two cases of pseudoprogression in patients with non-small cell lung cancer treated with nivolumab—including histological analysis of one case after tumor regression. *Lung Cancer* 102: 44–48. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2016.10.014>

Thielmann CM, Chorti E, Matull J, Murali R, Zaremba A, Lodde G, Jansen P, Richter L, Kretz J, Möller I, Sucker A, Herbst R, Terheyden P, Utikal J, Pföhler C, Ulrich J, Kreuter A, Mohr P, Gutzmer R, Meier F, Dippel E, Weichenthal M, Paschen A, Livingstone E, Zimmer L, Schadendorf D, Hadaschik E, Ugurel S, Griewank KG (2021) NF1-mutated melanomas reveal distinct clinical characteristics depending on tumour origin and respond favourably to immune checkpoint inhibitors. *Eur J Cancer* 159: 113–124. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2021.09.035>

Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, Powderly JD, Carvajal RD, Sosman JA, Atkins MB, Leming PD, Spigel DR, Antonia SJ, Horn L, Drake CG, Pardoll DM, Chen L, Sharfman WH, Anders

RA, Taube JM, McMiller TL, Xu H, Korman AJ, Jure-Kunkel M, Agrawal S, McDonald D, Kollia GD, Gupta A, Wigginton JM, Sznol M (2012) Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. *N Engl J Med* 366(26): 2443–2454. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200690>

Touat M, Li YY, Boynton AN, Spurr LF, Iorgulescu JB, Bohrson CL, Cortes-Ciriano I, Birzu C, Geduldig JE, Pelton K, Lim-Fat MJ, Pal S, Ferrer-Luna R, Ramkissoon SH, Dubois F, Bellamy C, Currimjee N, Bonardi J, Qian K, Ho P, Malinowski S, Taquet L, Jones RE, Shetty A, Chow K-H, Sharaf R, Pavlick D, Albacker LA, Younan N, Baldini C, Verreault M, Giry M, Guillerm E, Ammari S, Beuvon F, Mokhtari K, Alentorn A, Dehais C, Houillier C, Laigle-Donadey F, Psimaras D, Lee EQ, Nayak L, McFaline-Figueroa JR, Carpentier A, Cornu P, Capelle L, Mathon B, Barnholtz-Sloan JS, Chakravarti A, Bi WL, Chiocca EA, Fehnel KP, Alexandrescu S, Chi SN, Haas-Kogan D, Batchelor TT, Frampton GM, Alexander BM, Huang RY, Ligon AH, Coulet F, Delattre J-Y, Hoang-Xuan K, Meredith DM, Santagata S, Duval A, Sanson M, Cherniack AD, Wen PY, Reardon DA, Marabelle A, Park PJ, Idbaih A, Beroukhim R, Bandopadhyay P, Bielle F, Ligon KL (2020) Mechanisms and therapeutic implications of hypermutation in gliomas. *Nature* 580(7804): 517–523. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2209-9>

Tunali I, Gray JE, Qi J, Abdalah M, Jeong DK, Guvenis A, Gillies RJ, Schabath MB (2019) Novel Clinical and Radiomic Predictors of Rapid Disease Progression Phenotypes among Lung Cancer Patients Treated with Immunotherapy: An Early Report. *Lung Cancer* 129: 75–79. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2019.01.010>

Turajlic S, Litchfield K, Xu H, Rosenthal R, McGranahan N, Reading JL, Wong YNS, Rowan A, Kanu N, Al Bakir M, Chambers T, Salgado R, Savas P, Loi S, Birkbak NJ, Sansregret L, Gore M, Larkin J, Quezada SA, Swanton C (2017) Insertion-and-deletion-derived tumour-specific neoantigens and the immunogenic phenotype: a pan-cancer analysis. *Lancet Oncol* 18(8): 1009–1021. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30516-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30516-8)

van den Bent MJ, Weller M, Wen PY, Kros JM, Aldape K, Chang S (2017) A clinical perspective on the 2016 WHO brain tumor classification and routine molecular diagnostics. *Neuro Oncol* 19(5): 614–624. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now277>

Vibhakar R, Juan G, Traganos F, Darzynkiewicz Z, Finger LR (1997) Activation-Induced Expression of Human Programmed Death-1 Gene in T-Lymphocytes. *Exp Cell Res* 232(1): 25–28. <https://doi.org/10.1006/excr.1997.3493>

Vinay DS, Ryan EP, Pawelec G, Talib WH, Stagg J, Elkord E, Lichtor T, Decker WK, Whelan RL, Kumara HMCS, Signori E, Honoki K, Georgakilas AG, Amin A, Helferich WG, Boosani CS, Guha G, Ciriolo MR, Chen S,

- Mohammed SI, Azmi AS, Keith WN, Bilsland A, Bhakta D, Halicka D, Fujii H, Aquilano K, Ashraf SS, Nowsheen S, Yang X, Choi BK, Kwon BS (2015) Immune evasion in cancer: Mechanistic basis and therapeutic strategies. *Semin Cancer Biol* 35 Suppl: S185–S198. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.03.004>
- Vogelstein B, Kinzler KW (2004) Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 10(8): 789–799. <https://doi.org/10.1038/nm1087>
- Wang C, Zhang L, Vakiani E, Shia J (2022) Detecting mismatch repair deficiency in solid neoplasms: immunohistochemistry, microsatellite instability, or both? *Mod Pathol* 35(11): 1515–1528. <https://doi.org/10.1038/s41379-022-01109-4>
- Wang J, Cazzato E, Ladewig E, Frattini V, Rosenbloom DIS, Zairis S, Abate F, Liu Z, Elliott O, Shin Y-J, Lee J-K, Lee I-H, Park W-Y, Eoli M, Blumberg AJ, Lasorella A, Nam D-H, Finocchiaro G, Iavarone A, Rabadan R (2016) Clonal evolution of glioblastoma under therapy. *Nat Genet* 48(7): 768–776. <https://doi.org/10.1038/ng.3590>
- Wang Q, Gao J, Wu X (2018) Pseudoprogression and hyperprogression after checkpoint blockade. *Int Immunopharmacol* 58: 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.03.018>
- Weller M, van den Bent M, Tonn JC, Stupp R, Preusser M, Cohen-Jonathan-Moyal E, Henriksson R, Le Rhun E, Balana C, Chinot O, Bendszus M, Reijneveld JC, Dhermain F, French P, Marosi C, Watts C, Oberg I, Pilkington G, Baumert BG, Taphoorn MJB, Hegi M, Westphal M, Reifenberger G, Soffiatti R, Wick W; European Association for Neuro-Oncology (EANO) Task Force on Gliomas (2017) European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Lancet Oncol* 18(6): e315–e329. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30194-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30194-8)
- Weller M, Knobbe-Thomsen CB, Le Rhun E, Reifenberger G (2022) Die WHO-Klassifikation der Tumoren des zentralen Nervensystems 2021. *Onkologe* 28: 155–163. <https://doi.org/10.1007/s00761-021-01083-7>
- Wick W et al. (2021) Gliome, S2k-Leitlinie, in: Deutsche Gesellschaft für Neurologie (Hrsg.), Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. Online www.dgn.org/leitlinien (abgerufen am 14.06.2022)
- Wilden SM, Lang BM, Mohr P, Grabbe S (2016) Checkpoint-Inhibitoren in der Immuntherapie: Ein Meilenstein in der Behandlung des malignen Melanoms. *J Dtsch Dermatol Ges* 14(7): 685–697. https://doi.org/10.1111/ddg.13012_g

- Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, Weber JS, Hamid O, Lebbé C, Maio M, Binder M, Bohnsack O, Nichol G, Humphrey R, Hodi FS (2009) Guidelines for the Evaluation of Immune Therapy Activity in Solid Tumors: Immune-Related Response Criteria. *Clin Cancer Res* 15(23): 7412–7420. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-1624>
- Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Rutkowski P, Grob J-J, Cowey CL, Lao CD, Wagstaff J, Schadendorf D, Ferrucci PF, Smylie M, Dummer R, Hill A, Hogg D, Haanen J, Carlino MS, Bechter O, Maio M, Marquez-Rodas I, Guidoboni M, McArthur G, Lebbé C, Ascierto PA, Long GV, Cebon J, Sosman J, Postow MA, Callahan MK, Walker D, Rollin L, Bhorre R, Hodi FS, Larkin J (2017) Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med* 377(14): 1345–1356. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1709684>
- Yang K, Wu Z, Zhang H, Zhang N, Wu W, Wang Z, Dai Z, Zhang X, Zhang L, Peng Y, Ye W, Zeng W, Liu Z, Cheng Q (2022) Glioma targeted therapy: insight into future of molecular approaches. *Mol Cancer* 21(1): 39. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01513-z>
- Yip S, Miao J, Cahill DP, Iafrate AJ, Aldape K, Nutt CL, Louis DN (2009) MSH6 mutations arise in glioblastomas during temozolomide therapy and mediate temozolomide resistance. *Clin Cancer Res* 15(14): 4622-4629. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-3012>
- Zander H, Müller-Egert S, Zwiewka M, Groß S, van Zandbergen G, Engelbergs J (2020) Checkpointinhibitoren in der Tumorthherapie. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 63(11): 1322–1330. <https://doi.org/10.1007/s00103-020-03221-9>
- Zhang K, Hong X, Song Z, Xu Y, Li C, Wang G, Zhang Y, Zhao X, Zhao Z, Zhao J, Huang M, Huang D, Qi C, Gao C, Cai S, Gu F, Hu Y, Xu C, Wang W, Lou Z, Zhang Y, Liu L (2020) Identification of Deleterious NOTCH Mutation as Novel Predictor to Efficacious Immunotherapy in NSCLC. *Clin Cancer Res* 26(14): 3649–3661. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-3976>
- Zhao J, Chen AX, Gartrell RD, Silverman AM, Aparicio L, Chu T, Bordbar D, Shan D, Samanamud J, Mahajan A, Filip I, Orenbuch R, Goetz M, Yamaguchi JT, Cloney M, Horbinski C, Lukas RV, Raizer J, Rae AI, Yuan J, Canoll P, Bruce JN, Saenger YM, Sims P, Iwamoto FM, Sonabend AM, Rabadan R (2019) Immune and genomic correlates of response to anti-PD-1 immunotherapy in glioblastoma. *Nat Med* 25(3): 462–469. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0349-y>
- Zhao P, Li L, Jiang X, Li Q (2019) Mismatch repair deficiency/microsatellite instability-high as a predictor for anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy efficacy. *J Hematol Oncol* 12(1): 54. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0738-1>

Zhao Y, Cao Y, Chen Y, Wu L, Hang H, Jiang C, Zhou X (2021) B2M gene expression shapes the immune landscape of lung adenocarcinoma and determines the response to immunotherapy. *Immunology* 164(3): 507–523. <https://doi.org/10.1111/imm.13384>

7 Erklärung zum Eigenanteil

Die vorliegende Arbeit wurde in der Klinik für Neurologie / Abteilung Neurologie mit Interdisziplinärem Schwerpunkt Neuroonkologie unter Betreuung von Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Ghazaleh Tabatabai durchgeführt.

Die Konzeption des Projektes und die Identifikation der infrage kommenden Patienten wurden von Dr. med. Irina Mäurer (vormals Irina Gepfner-Tuma) und Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Ghazaleh Tabatabai durchgeführt. Die Behandlung der Patienten mit dem Immuncheckpoint-Inhibitor erfolgte am Zentrum für Neuroonkologie, der Kinderklinik des Universitätsklinikums Tübingens bzw. extern durch das dort tätige medizinische Personal. Sofern nicht bereits im Rahmen der klinischen Routine erfolgt, wurden die molekulargenetischen Untersuchungen durch Dr. med. Irina Mäurer (vormals Irina Gepfner-Tuma) und Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Ghazaleh Tabatabai in Zusammenarbeit mit CeGaT (CeGaT GmbH Tübingen) / Praxis für Humangenetik Tübingen (nun: Zentrum für Humangenetik Tübingen) unter der Leitung von Dr. med. Dr. rer. nat. Saskia Biskup geplant. Dort erfolgten die Sequenzierungen sowie die weiteren molekulargenetischen Untersuchungen der Tumorproben und die humangenetische Einordnung der detektierten Veränderungen (wie in Kapitel 2.4 beschrieben). Diese Untersuchungen wurden vollständig von CeGaT / Praxis für Humangenetik Tübingen durchgeführt, ich selbst habe keinen Eigenanteil daran geleistet. Die Beschreibung der von CeGaT / Praxis für Humangenetik angewandten Methodik wurde dabei im Kapitel „Material und Methoden“ gemäß den Befundberichten wiedergegeben, die im Rahmen dieser Arbeit vorlagen.

Die Erhebung der klinischen Daten wurde von mir durchgeführt, die Auswertung der klinischen und molekulargenetischen Daten erfolgte durch mich nach Einarbeitung und unter Supervision von Dr. med. Irina Mäurer (vormals Irina Gepfner-Tuma), Dr. rer. nat. Susanne Beck und Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Ghazaleh Tabatabai. Sämtliche Abbildungen und Tabellen dieser Arbeit wurden

von mir erstellt und ggf. nach Rücksprache mit Dr. rer. nat. Susanne Beck und Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Ghazaleh Tabatabai abgestimmt und angepasst.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Reutlingen, den 24.02.2023

Mona Elisabeth Hirt

8 Anhang

Zu Kapitel 2 Material und Methoden

**Tabelle 17: Gene des Somatischen Tumorpanels, Version 3
(Paneldesign: CeGaT / Praxis für Humangenetik Tübingen)**

ABCB1, ABCC2, ABCG2, ABL1, ABL2, ACD, ACVR1, ACVR1B, AJUBA, AKT1, AKT2, AKT3, ALK, AMER1, APC, AR, ARAF, ARFRP1, ARHGAP35, ARID1A, ARID1B, ARID2, ARID5B, ARNT, ASXL1, ATF1, ATM, ATP1A1, ATP5B, ATR, ATRX, AURKA, AURKB, AURKC, AXIN1, AXIN2, AXL, AZGP1, B2M, BAP1, BARD1, BCL10, BCL11A, BCL11B, BCL2, BCL2L1, BCL2L2, BCL3, BCL6, BCL9, BCOR, BCORL1, BCR, BIRC2, BIRC3, BIRC5, BLM, BMPR1A, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRD4, BRE, BRIP1, BTK, BTNL2, BUB1B, C11ORF30, CARD11, CASP8, CBFB, CBL, CCDC6, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CD1D, CD274, CD70, CD79A, CD79B, CD82, CDC27, CDC73, CDH1, CDH2, CDK12, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CDX2, CEBPA, CEP57, CHD2, CHD4, CHEK1, CHEK2, CIC, CKS1B, COL1A1, CREB1, CREBBP, CRKL, CRTCL1, CSF1R, CTCF, CTNNA1, CTNNB1, CUL3, CUL4B, CUX1, CYLD, CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C19, CYP2C8, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4, CYP3A5, DAXX, DCC, DDB2, DDIT3, DDR2, DDX3X, DEK, DIAPH1, DICER1, DIS3, DNMT1, DNMT3A, DOT1L, DPYD, DST, EGFR, EGR3, ELAC2, ELF3, EML4, ENG, EP300, EPCAM, EPHA2, EPHA3, EPHA5, EPHA7, EPHB1, EPHB4, EPHB6, EPHX1, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ERCC1, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, ERG, ERFFI1, ESR1, ETS1, ETV1, ETV4, ETV5, ETV6, EWSR1, EXT1, EXT2, EZH1, EZH2, FAM175A, FAM46C, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FAS, FAT1, FBXW7, FES, FGF10, FGF14, FGF19, FGF23, FGF3, FGF4, FGF6, FGFBP1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FH, FLCN, FLI1, FLT1, FLT4, FN1, FOXA1, FOXA2, FOXE1, FOXL2, FOXO1, FOXO3, FOXP1, FOXQ1, FRS2, FUBP1, FUS, G6PD, GABRA6, GALNT12, GATA1, GATA2, GATA3, GATA4, GATA6, GDNF, GID4, GLI1, GNA11, GNA13, GNAQ, GNAS, GOT1, GPC3, GPR124, GRIN2A,

GRM3, GSK3B, GSTM1, GSTP1, GSTT1, GUSB, H3F3A, H3F3B, HGF, HIF1A, HIST1H3B, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLF, HMGA2, HNF1A, HNF1B, HOXA9, HOXB13, HRAS, HSD3B1, HSP90AA1, HSP90AB1, IDH1, IDH2, IGF1R, IGF2, IGF2R, IKBKB, IKBKE, IKZF1, IL2, IL21R, IL6ST, IL7R, ING1, ING4, INHBA, INPP4B, INPPL1, IRF2, IRF4, IRF6, IRS2, ITGB2, ITK, JAK1, JAK2, JAK3, JUN, KAT6A, KCNJ5, KDM5A, KDM5C, KDM6A, KDR, KEAP1, KEL, KIAA1549, KIT, KLF4, KLF6, KLHL6, KMT2A, KMT2B, KMT2C, KMT2D, KRAS, LAMP1, LATS1, LATS2, LCK, LGI1, LIFR, LIG4, LMO1, LPP, LRP1B, LRRK2, LTK, LYL1, LYN, LZTR1, MAF, MAFB, MAGEA1, MAGI2, MALT1, MAML1, MAP2K1, MAP2K2, MAP2K4, MAP3K1, MAP3K6, MAPK1, MAPK8, MAPK8IP1, MAX, MBD1, MC1R, MCL1, MDM2, MDM4, MECOM, MED12, MEF2B, MEN1, MET, MGA, MITF, MLH1, MLH3, MLLT10, MLLT3, MMP2, MN1, MOB1A, MOB1B, MPL, MPO, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MSR1, MTHFR, MTOR, MTR, MTRR, MUC1, MUTYH, MXI1, MYB, MYC, MYCL, MYCN, MYD88, MYH11, MYH9, NAT1, NAT2, NBN, NCOA1, NCOA2, NCOA3, NCOR1, NF1, NF2, NFE2L2, NFKB1, NFKB2, NFKBIA, NIN, NKX2-1, NKX3-1, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NPM1, NRAS, NSD1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, NUMA1, NUP93, NUP98, PAK3, PALB2, PALLD, PARK2, PAX3, PAX5, PAX7, PBRM1, PBX1, PCBP1, PDCD1LG2, PDGFB, PDGFRA, PDGFRB, PDK1, PER1, PHF6, PHOX2B, PIK3C2B, PIK3CA, PIK3CB, PIK3CD, PIK3CG, PIK3R1, PIK3R2, PIM1, PKHD1, PLCG1, PLCG2, PML, PMS1, PMS2, POLD1, POLE, POLH, POLQ, POT1, POU2AF1, POU2F2, POU5F1, PPM1D, PPP2R1A, PRDM1, PRDM16, PREX2, PRF1, PRKACA, PRKAR1A, PRKCI, PRKD1, PRKDC, PRSS1, PRSS8, PRX, PSIP1, PSPH, PTCH1, PTEN, PTGS2, PTPN11, PTPRC, PTPRD, PTPRT, QKI, RAC1, RAD21, RAD50, RAD51, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAF1, RALGDS, RARA, RASA1, RASAL1, RB1, RBM10, RBM15, RECQL, RECQL4, REL, RET, RHEB, RHOA, RHOH, RICTOR, RINT1, RNASEL, RNF2, RNF43, ROS1, RPL22, RPL5, RPTOR, RRM1, RUNX1, RUNX1T1, RXRA, RYR1, SACS, SAV1, SBDS, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SELP, SEMA4A, SEPT9, SETBP1, SETD2, SETDB1, SF3B1, SGK1, SH2D1A, SIN3A, SKP2, SLC15A2, SLC1A3, SLC22A1, SLC22A2, SLC22A6, SLC26A3, SLCO1B1, SLCO1B3, SLIT2,

SLX4, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, SMARCE1, SMC1A, SMC3, SMO, SMUG1, SNCAIP, SOCS1, SOS1, SOX10, SOX11, SOX17, SOX2, SOX9, SPEN, SPINK1, SPOP, SPRED1, SPTA1, SRC, SRD5A2, SRSF2, SSX1, STAG2, STAT3, STAT4, STAT5B, STK11, STK3, STK4, SUFU, SULT1A1, SUZ12, SYK, TAF1, TAF15, TAL1, TAP1, TBL1XR1, TBX3, TCF3, TCF7L1, TCF7L2, TCL1A, TERC, TERF2IP, TERT, TET1, TET2, TFE3, TGFB2, THBS1, TIMP3, TLR4, TLX1, TLX3, TMEM127, TMPRSS2, TNF, TNFAIP3, TNFRSF14, TNK2, TOP1, TOP2A, TP53, TP53BP1, TPMT, TPX2, TRAF3, TRAF7, TRIM24, TRRAP, TSC1, TSC2, TSHR, TYMS, U2AF1, UBR5, UGT1A1, UGT2B15, UGT2B17, UGT2B7, UIMC1, USP9X, VEGFA, VHL, VKORC1, WASF3, WHSC1, WISP3, WRN, WT1, WWTR1, XPA, XPC, XPO1, XRCC1, XRCC2, YAP1, ZBTB2, ZFH3, ZNF217, ZNF703

**Tabelle 18: Gene des Somatischen Tumorpanels, Version 4
(Paneldesign: CeGaT / Praxis für Humangenetik Tübingen)**

ABL1, ABL2, ACD, AIP, AJUBA, AKT1, AKT2, AKT3, ALK, AMER1, ANKRD26, APC, AR, ARAF, ARHGAP35, ARID1A, ARID1B, ARID2, ARID5B, ASXL1, ASXL2, ATG2B, ATM, ATP1A1, ATR, ATRX, AURKA, AURKB, AURKC, AXIN1, AXIN2, AXL, B2M, BAP1, BARD1, BCL10, BCL11A, BCL11B, BCL2, BCL3, BCL6, BCL9, BCOR, BCORL1, BCR, BIRC2, BIRC3, BIRC5, BLM, BMPR1A, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRD3, BRD4, BRIP1, BTK, BTNL2, BUB1B, C11ORF30, CALR, CAMK2G, CARD11, CASP8, CBF3, CBL, CBLB, CBLC, CCDC6, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CD274, CD38, CD52, CD58, CD79A, CD79B, CD82, CDC73, CDH1, CDH11, CDH2, CDK12, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN1C, CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CEBPA, CEP57, CHD1, CHD2, CHD4, CHEK1, CHEK2, CIC, CIITA, CKS1B, CNOT3, COL1A1, COMMD1, CREB1, CREBBP, CRKL, CRTIC1, CRTIC2, CSF1R, CSF2, CSF3R, CSMD1, CSNK1A1, CTCF, CTLA4, CTNNA1, CTNNA1, CTNNB1, CUL4B, CUX1, CXCR4, CYLD, CYP2A7, DAXX, DCC, DDB2, DDR1, DDR2, DDX11, DDX3X, DDX41, DEK, DHFR, DICER1, DIS3, DIS3L2, DKC1, DNMT1,

DNMT3A, DOT1L, DPYD, EBP, EGFR, EGLN1, EGR2, EGR3, ELAC2, ELANE, ELF3, EML4, EP300, EPAS1, EPCAM, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHB4, EPHB6, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ERCC1, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, ERG, ERFFI1, ESR1, ESR2, ETNK1, ETS1, ETV1, ETV4, ETV5, ETV6, EWSR1, EXO1, EXT1, EXT2, EZH1, EZH2, FAM175A, FAM46C, FAN1, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FAS, FAT1, FBXW7, FES, FGF10, FGF14, FGF19, FGF2, FGF23, FGF3, FGF4, FGF5, FGF6, FGFBP1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FH, FKBP1A, FLCN, FLI1, FLT1, FLT4, FOXA1, FOXA2, FOXE1, FOXL2, FOXO1, FOXO3, FOXP1, FOXQ1, FRK, FRS2, FUBP1, FUS, FYN, G6PD, GABRA6, GALNT12, GATA1, GATA2, GATA3, GATA4, GATA6, GLDN, GLI1, GLI2, GNA11, GNA13, GNAQ, GNAS, GPC3, GPER1, GPR124, GREM1, GRIN2A, GRM3, GSK3A, H3F3A, HCK, HGF, HIF1A, HIST1H3B, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRA, HLA-DRB1, HLF, HMGA2, HMGN1, HMOX2, HNF1A, HNF1B, HOXB13, HOXD8, HRAS, HSD3B1, HSP90AA1, HSP90AB1, ID3, IDH1, IDH2, IFNGR1, IFNGR2, IGF1R, IGF2, IGF2R, IKBKB, IKBKE, IKZF1, IKZF3, IL1B, IL1RN, IL2, IL21R, IL6, IL6ST, IL7R, ING4, INPP4B, INPPL1, IRF1, IRS2, ITK, JAK1, JAK2, JAK3, JUN, KAT6A, KDM5A, KDM5C, KDM6A, KDR, KEAP1, KIAA1549, KIT, KLF2, KLF4, KLHDC8B, KLHL6, KMT2A, KMT2B, KMT2C, KMT2D, KRAS, LATS1, LATS2, LCK, LIG4, LIMK2, LMO1, LRP1B, LRRK2, LTK, LYN, LZTR1, MAD2L2, MAFB, MAGEA1, MAGI1, MAGI2, MAML1, MAP2K1, MAP2K2, MAP2K3, MAP2K4, MAP2K5, MAP2K6, MAP2K7, MAP3K1, MAP3K14, MAP3K3, MAP3K4, MAP3K6, MAPK1, MAPK11, MAPK12, MAPK3, MAPK8IP1, MAX, MBD1, MC1R, MCL1, MDC1, MDM2, MDM4, MECOM, MED12, MEF2B, MEN1, MET, MGA, MGMT, MITF, MLH1, MLH3, MLLT10, MLLT3, MN1, MPL, MRE11A, MS4A1, MSH2, MSH3, MSH4, MSH5, MSH6, MSR1, MST1R, MTHFR, MTOR, MTRR, MUC1, MUC16, MUTYH, MXI1, MYB, MYC, MYCL, MYCN, MYD88, MYH11, MYH9, NBN, NCOA1, NCOA3, NCOR1, NF1, NF2, NFE2L2, NFKB1, NFKB2, NFKBIA, NFKBIE, NIN, NLRC5, NOP10, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NPM1, NQO1, NR1I3, NRAS, NRG2, NSD1, NT5C2, NTHL1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, NUMA1, NUP98, PAK3,

PALB2, PALLD, PARK2, PARP1, PARP2, PARP4, PAX3, PAX5, PAX7, PBK, PBRM1, PBX1, PDCD1, PDCD1LG2, PDF, PDGFA, PDGFB, PDGFC, PDGFD, PDGFRA, PDGFRB, PDK1, PGR, PHF6, PHOX2B, PIAS4, PIGA, PIK3C2A, PIK3C2B, PIK3C2G, PIK3CA, PIK3CB, PIK3CD, PIK3CG, PIK3R1, PIK3R2, PIK3R3, PIM1, PKHD1, PLCG1, PLCG2, PML, PMS1, PMS2, POLD1, POLE, POLH, POLQ, POT1, PPM1D, PRDM1, PRDM16, PREX2, PRF1, PRKAR1A, PRKCA, PRKD1, PRKDC, PROM2, PRSS1, PRX, PSIP1, PSMB1, PSMB10, PSMB2, PSMB5, PSMB8, PSMB9, PSMC3IP, PSPH, PTCH1, PTCH2, PTEN, PTGS2, PTK2, PTK7, PTPN11, PTPRC, PTPRD, PTPRT, RAC1, RAC2, RAD21, RAD50, RAD51, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD54B, RAD54L, RAF1, RALGDS, RARA, RARB, RARG, RASA1, RASAL1, RB1, RBM10, RECQL4, REL, RET, RFC2, RFX5, RHBDP2, RHEB, RHOA, RICTOR, RINT1, RIPK1, RIT1, RNASEL, RNF2, RNF43, ROS1, RPL22, RPS20, RPS6KB1, RPTOR, RSF1, RUNX1, RYR1, SACS, SAMHD1, SAV1, SBDS, SCG5, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SEC23B, SEMA4A, SETBP1, SETD2, SETDB1, SF3B1, SGK1, SH2B1, SH2B3, SH2D1A, SHFM1, SHH, SIK2, SIN3A, SIRT1, SKP2, SLC26A3, SLIT2, SLX4, SMAD3, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, SMARCE1, SMC1A, SMC3, SMO, SOCS1, SOX11, SOX2, SOX9, SPEN, SPINK1, SPOP, SPRED1, SPTA1, SRC, SRD5A2, SRGAP1, SRP72, SRSF2, SSTR1, SSTR2, SSTR3, SSTR5, SSX1, STAG1, STAG2, STAT1, STAT3, STAT5A, STAT5B, STK11, SUFU, SUZ12, SYK, TAF1, TAF15, TAP1, TAP2, TBK1, TBL1XR1, TBX3, TCF3, TCF7L2, TCL1A, TEK, TERC, TERF2IP, TERT, TET1, TET2, TFE3, TGFBR2, TLR4, TLX1, TMEM127, TNF, TNFAIP3, TNFRSF11A, TNFRSF13B, TNFRSF14, TNFRSF1A, TNFRSF1B, TNFRSF25, TNFRSF8, TNFSF11, TNK2, TOP1, TOP2A, TP53, TP53BP1, TPX2, TRAF2, TRAF3, TRAF5, TRAF6, TRAF7, TRRAP, TSC1, TSC2, TSHR, TUBA4A, TUBB, TYMS, U2AF1, UBE2T, UBR5, UGT2B15, UGT2B7, UIMC1, UNG, USP34, USP9X, VEGFA, VEGFB, VHL, VKORC1, WAS, WASF3, WHSC1, WISP3, WRN, WT1, XIAP, XPA, XPC, XPO1, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC5, XRCC6, YAP1, ZFH3, ZHX3, ZNF217, ZNRF3, ZRSR2

Zu Kapitel 2 Material und Methoden & Kapitel 3 Ergebnisse

Tabelle 19: Klinische und genetische Daten der einzelnen Patienten

Abkürzungen: Astro = Astrozytom (anaplastisch, WHO-Grad III); BEV = Bevacizumab; DMG = Diffuses Mittelliniengliom (WHO-Grad IV); ED = Erstdiagnose; GBM = Glioblastom (WHO-Grad IV); GC = Gliomatosis cerebri; ggf. = gegebenenfalls; Glios = Gliosarkom (WHO-Grad IV); ICI = Immuncheckpoint-Inhibition; ID = Identifikationsnummer der Patienten; IDH = Isozitatdehydrogenase; irAE = immune related adverse events (= immunvermittelte Nebenwirkungen unter ICI); MGMT = O6-Methylguanyl-DNA-Methyltransferase; min. = mindestens; MTX = Methotrexat; Oligo = Oligodendrogliom (anaplastisch, WHO-Grad III); OS = Gesamtüberleben; PFS = Progressionsfreies Überleben; PNET = Primitiver neuroektodermaler Tumor; Prog = Progression; RTx = Radiotherapie; TMZ = Temozolomid; TTF = Tumor Treating Fields; UKT = Universitätsklinikum Tübingen

Anmerkungen:

*1: Nach der WHO-Klassifikation von 2021 liegt bei *GL-ICI-15* und *20* ein „Astrozytom, IDH-mutiert, WHO-Grad 4“ vor; bei *GL-ICI-17* und *28* wäre gemäß der WHO-Klassifikation 2021 die Diagnose „Diffuses hemisphärisches Gliom, H3-G34-mutiert, ZNS-WHO-Grad 4“ zu stellen; bei *GL-ICI-23* wurde histologisch ein Anaplastisches Astrozytom diagnostiziert, eine IDH-Mutation liegt nicht vor, eine weitere Analyse ergab ein Methylierungsprofil eines hochgradigen Glioms der Mittellinie

*2: + = methyliert, - = unmethyliert

*3: + = IDH1-mutiert, ++ = IDH1- und IDH2-mutiert, - = IDH-Wildtyp

*4: Angabe in Varianten / Megabase kodierender DNA

*5: 1 = Makroskopische Kompletresektion, 2 = Teilresektion bzw. lokale Tumormasse, 3 = Minimale Schrankenstörungen nach OP, 4 = Multifokal Tumormasse, auch bei relevanter Infiltration des Balkens mit „Überwachsen“, 5 = Spinale und zerebrale Beteiligung, 6 = unbekannt

*6: Zwischen 2. und 3. Nivolumab-Gabe extern MTX-Gabe intrathekal über Rickham-Reservoir (keine Rücksprache mit Behandlern am UKT erfolgt)

*7: Initial drei Zyklen, dann bei klinischer Verschlechterung ICI beendet. Bei erneutem Beginn vier Zyklen ICI

*8: Jeweils in Monaten nach Beginn ICI

| ID | Diagnose | MGMT-Promotor *2 | IDH-Mutation *3 | Erkrankungsstatus bei Beginn ICI | Mutationslast *4 | Tumorlast vor Beginn ICI *5 | ICI + Dosis | Ggf. Kombi | Anzahl Gaben ICI | PFS *6 | OS *8 | Besonderheiten |
|-----------------|----------|------------------|-----------------|----------------------------------|------------------|-----------------------------|---------------------------|------------|------------------|--------|-------|---|
| GL-ICI-1 | GBM | - | - | ED | < 0,1 | 1 | Nivolumab 240 / 480 mg | RTx | 43 | 33,3 | 64,1 | Längstes PFS und OS |
| GL-ICI-2 | GBM | - | - | ED | 1,6 | 2 | Nivolumab 240 mg | RTx | 7 | 3,2 | 14,1 | Progression zerebral und spinal, histologisch PNET |
| GL-ICI-3 | GBM | - | - | ED | 3,7 | 1 | Nivolumab 240 / 480 mg | RTx | 16 | 12,0 | 29,9 | irAE: Autoimmuner Diabetes Typ I, ICI fortgeführt |
| GL-ICI-5 | GBM | - | - | ED | 0,5 | 1 | Nivolumab 240 / 480mg | RTx | 14 | 8,4 | 25,5 | - |
| GL-ICI-6 | GBM | - | - | ED | 2,6 | 3 | Nivolumab 240 mg | RTx | 8 | 2,1 | 17,0 | - |
| GL-ICI-7 | GBM | - | - | ED | 1,7 | 1 | Nivolumab 240 mg | RTx | 2 | 7,1 | 12,2 | irAE: Autoimmune Hepatitis Grad IV |
| GL-ICI-8 | GBM | - | - | ED | 4,2 | 1 | Nivolumab 240 / 480 mg | RTx | 12 | 12,9 | 18,3 | irAE: Autoimmune Polyserositis |
| GL-ICI-9 | GBM | - | - | ED | 1,6 | 1 | Nivolumab 240 mg | RTx | 4 | 1,7 | 2,4 | Progression zerebral und spinal, nur PNET bei Progression |

| ID | Diagnose | MGMT-Promotor *2 | IDH-Mutation *3 | Erkrankungsstatus bei Beginn ICI | Mutationslast *4 | Tumorlast vor Beginn ICI *5 | ICI + Dosis | Ggf. Kombi | Anzahl Gaben ICI | PFS *8 | OS *8 | Besonderheiten |
|------------------|----------|------------------|-----------------|----------------------------------|------------------|-----------------------------|---------------------------|--|------------------|--------|-------|---|
| GL-ICI-14 | Oligo | - | + | Prog | 2,6 | 6 | Nivolumab Dosis unklar | Nicht bekannt | unklar | 3,6 | 3,6 | - |
| GL-ICI-15 | GBM *1 | + | + | Prog | hoch | 4 | Nivolumab 240 / 480 mg | RTX | 10 | 5,2 | 7,1 | - |
| GL-ICI-16 | GBM | + | - | Prog | hoch | 4 | Nivolumab 240 mg | - | 2 | 0,5 | 1,3 | - |
| GL-ICI-17 | GBM *1 | - | - | Prog | - | 4 | Nivolumab 240 mg | TTF | 5 | 2,4 | 3,6 | - |
| GL-ICI-18 | GBM | + | - | Prog | hoch | 3 | Nivolumab 165 mg | Intrathekal MTX *6 | 3 | 1,3 | 2,7 | - |
| GL-ICI-19 | Glios | - | - | Prog | - | 2 | Nivolumab 210 - 215 mg | - | 6 | 2,4 | 4,0 | - |
| GL-ICI-20 | GBM *1 | + | ++ | Prog | 97,1 | 4 | Nivolumab 228 / 240 mg | Zunächst Mono- therapie, bei Wieder- aufnahme mit BEV | 3 / 4 *7 | 7,3 | 12,4 | Nach zweiter Gabe klinische Verschlechterung, ICI beendet. Im Verlauf Wiederbeginn (4 Zyklen), retrospektiv Wertung als Pseudoprogression |

| ID | Diagnose | MGMT-Promotor *2 | IDH-Mutation *3 | Erkrankungsstatus bei Beginn ICI | Mutationslast *4 | Tumorlast vor Beginn ICI *5 | ICI + Dosis | Ggf. Kombi | Anzahl Gaben ICI | PFS *8 | OS *8 | Besonderheiten |
|------------------|---------------------|------------------|-----------------|----------------------------------|------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------|------------------|--------|-------|---|
| GL-ICI-21 | GBM | - | - | Prog | - | 6 | Nivolumab 300 mg | - | 3 | 1,9 | 4,5 | Nach zweiter Gabe klinische Verschlechterung, gewertet als Pseudoprogression nach RTx und ICI |
| GL-ICI-22 | Oligo | + | + | Prog | - | 4 | Nivolumab Dosis unklar | - | Min. 2 | 0,9 | 6,3 | - |
| GL-ICI-23 | GC (Astro) *1 | - | - | ED | 25,8 | 4 | Pembrolizumab 180 – 190 mg | TMZ | 4 | 1,1 | 3,4 | ED, hohe Mutationslast, aber kurzes PFS und OS |
| GL-ICI-24 | Glios | - | - | Prog | 2,7 | 2 | Nivolumab 240 mg | BEV | Min. 3 | 2,9 | 2,9 | Drei Gaben am UKT, danach Behandlung extern. Unklar, ob Progression vor Tod vorlag. Abklärung auf irAEs abgelehnt |
| GL-ICI-26 | DMG | - | - | Prog | 3,7 | 4 | Nivolumab 240 mg | BEV | 2 | 0,6 | 1,9 | - |
| GL-ICI-28 | GBM *1 | + | - | Prog | 90,9 | 5 | Nivolumab 200 mg | BEV | 3 | 1,6 | 3,5 | - |
| GL-ICI-30 | Oligo | + | + | Prog | 274,5 | 2 | Nivolumab 240 mg | - | 4 | 1,8 | 6,7 | irAE: Nach vier Gaben Entwicklung einer aseptischen Meningitis |

Zu Kapitel 3 Ergebnisse

Tabelle 20: Häufig detektierte SNVs im Tumorgewebe (Ergänzung zu Abbildung 9)

Abkürzungen: A = Adenin; aktiv. = aktivierend; Ala = Alanin; Arg = Arginin; Asn = Asparagin; Asp = Asparaginsäure; C = Cytosin; Cys = Cystein; Essent. Sp. = essential splice site; G = Guanin; Gln = Glutamin; Glu = Glutaminsäure; Gly = Glycin; het. = heterozygot; His = Histidin; ID = Identifikationsnummer; Ile = Isoleucin; inakt. = inaktivierend; K = Keimbahn; k. t. R. = keine therapeutische Relevanz; Leu = Leucin; Lys = Lysin; Met = Methionin; NAF = Novel Allele Frequency; Phe = Phenylalanin; Pro = Prolin; p. t. R. = potentielle therapeutische Relevanz (nicht genauer erläutert); Ser = Serin; Splice Reg. = Splice Region; T = Thymin; Thr = Threonin; Trp = Tryptophan; Tyr = Tyrosin; Val = Valin; v. Funk. = veränderte Funktion (nicht genauer erläutert); w. inakt. = wahrscheinlich inaktivierend

Anmerkungen: grau markiert sind Veränderungen, die (potentiell) einen Einfluss auf die Proteinfunktion haben; / = unklar bzw. keine Bewertung; *¹ = geschätzter Tumorzellgehalt der Probe, die für die Sequenzierung herangezogen wurde, nach Makrodissektion in Prozent; *² = Varianten in trans

| Gen | Funktionelle Klasse der Mutation | Basenveränderung | Aminosäureveränderung | NAF | Tumorzellgehalt * ¹ | Einfluss auf die Proteinfunktion | Patienten-ID |
|-------------|----------------------------------|------------------|----------------------------|-------|--------------------------------|----------------------------------|--------------|
| TP53 | | | | | | | |
| TP53 | Missense | c.818G>A | p.Arg273His | 0,61 | 90% | inakt. | GL-ICI-6 |
| TP53 | Missense | - | p.Phe134Leu | 0,63 | 80% | / | GL-ICI-15 |
| TP53 | Frameshift | - | p.Asn200Ilefs*47 | 0,23 | 80% | / | GL-ICI-15 |
| TP53 | Essent. Sp. | c.673-1G>A | p.? | 0,597 | 80% | p. t. R. | GL-ICI-16 |
| TP53 | Stop gained | c.1024C>T | p.Arg342* | 0,326 | 50% | inakt. | GL-ICI-17 |
| TP53 | Inframe | c.716_718dupACA | p.Asn239dup | 0,23 | 50% | / | GL-ICI-17 |
| TP53 | Missense | - | p.Gly244Ser | 0,351 | 80% | / | GL-ICI-18 |
| TP53 | Missense | - | p.Pro151Leu | 0,253 | 80% | / | GL-ICI-18 |
| TP53 | Missense | c.743G>A | p.Arg248Gln | 0,27 | 70% | inakt. | GL-ICI-19 |
| TP53 | Missense | c.817C>T | p.Arg273Cys * ² | 0,49 | 70% | inakt. | GL-ICI-20 |
| TP53 | Missense | c.800G>A | p.Arg267Gln * ² | 0,44 | 70% | inakt. | GL-ICI-20 |
| TP53 | Missense | c.481G>T | p.Ala161Ser | 0,09 | 40% | p. t. R. | GL-ICI-21 |
| TP53 | Missense | c.818G>A | p.Arg273His | 0,12 | 40% | p. t. R. | GL-ICI-21 |
| TP53 | Missense | c.836G>A | p.Gly279Glu | 0,12 | 40% | p. t. R. | GL-ICI-21 |
| TP53 | Missense | c.818G>A | p.Arg273His | 0,47 | 80% | v. Funk. | GL-ICI-23 |
| TP53 | Missense | c.743G>A | p.Arg248Gln | 0,5 | 80% | v. Funk. | GL-ICI-23 |
| TP53 | Missense | c.724T>A | p.Cys242Ser | 0,11 | 60% | inakt. | GL-ICI-24 |

| Gen | Funktionelle Klasse der Mutation | Basenveränderung | Aminosäureveränderung | NAF | Tumorzelgehalt *1 | Einfluss auf die Proteinfunktion | Patienten-ID |
|-------------|----------------------------------|--------------------|-----------------------|-------|-------------------|----------------------------------|--------------|
| TP53 | Missense | c.711G>A | p.Met237Ile | 0,66 | 60% | w. inakt. | GL-ICI-26 |
| TP53 | Stop gained | c.1024C>T | p.Arg342* | 0,84 | 80% | inakt. | GL-ICI-28 |
| RB1 | | | | | | | |
| RB1 | Frameshift | c.596dupT | p.Leu199Phefs*4 | 0,47 | 90% | inakt. | GL-ICI-6 |
| RB1 | Stop gained | c.473T>A | p.Leu158* | 0,54 | 80% | inakt. | GL-ICI-9 |
| RB1 | Missense | - | p.Pro613Ser | 0,125 | 80% | / | GL-ICI-18 |
| RB1 | Essent. Sp. | c.1390-1G>A | p.? | 0,36 | 70% | inakt. | GL-ICI-20 |
| RB1 | Stop gained | c.1399C>T | p.Arg467* | 0,37 | 70% | inakt. | GL-ICI-20 |
| RB1 | Essent. Sp. | c.2520+1G>T | p.? | 0,16 | 40% | p. t. R. | GL-ICI-21 |
| PTEN | | | | | | | |
| PTEN | Missense | c.302T>C | p.Ile101Thr | 0,6 | 80% | w. inakt. | GL-ICI-8 |
| PTEN | Stop gained | c.225_226delTT | p.His75Glnfs*2 | 0,21 | 40% | p. t. R. | GL-ICI-21 |
| PTEN | Missense | c.202T>C | p.Tyr68His | 0,3 | 60% | inakt. | GL-ICI-24 |
| PTEN | Missense | c.283C>T | p.Pro95Ser | 0,66 | 80% | w. inakt. | GL-ICI-28 |
| PTEN | 5 prime UTR | c.-926G>A | - | - | 60% | / | GL-ICI-30 |
| PTEN | Intronic | c.1027-29G>A | - | - | 60% | / | GL-ICI-30 |
| NF1 | | | | | | | |
| NF1 | Essent. Sp. | c.4367+1G>A | p.? | 0,05 | 70% | inakt. | GL-ICI-1 |
| NF1 | Missense | - | p.Pro698Ser | 0,13 | 80% | / | GL-ICI-15 |
| NF1 | Frameshift | c.2388delA | p.Ala797Profs*24 | 0,431 | 80% | p. t. R. | GL-ICI-16 |
| NF1 | Missense | - | p.Gly1912Glu | 0,17 | 80% | / | GL-ICI-18 |
| NF1 | Missense | c.667T>C | p.Trp223Arg | 0,18 | 70% | w. inakt. | GL-ICI-19 |
| NF1 | Frameshift | c.1841delA | p.Asn614Ilefs*17 | 0,26 | 80% | inakt. | GL-ICI-23 |
| NF1 | Frameshift | c.2835delT | p.Phe945Leufs*9 | 0,11 | 80% | inakt. | GL-ICI-23 |
| NF1 | Frameshift | c.3739_3742delTTTG | p.Phe1247Ilefs*18 | 0,11 | 60% | inakt. | GL-ICI-24 |
| NF1 | Stop gained | c.3916C>T | p.Arg1306* | 0,17 | 60% | inakt. | GL-ICI-24 |
| NF1 | Stop gained | c.6799C>T | p.Gln2267* | 0,39 | 80% | inakt. | GL-ICI-28 |
| NF1 | Essent. Sp. | c.1722-1G>A | p.? | - | 60% | / | GL-ICI-30 |
| NF1 | Intronic | c.2850+11C>T | - | - | 60% | / | GL-ICI-30 |
| NF1 | Missense | c.4172G>A | p.Arg1391Lys | - | 60% | / | GL-ICI-30 |
| NF1 | Missense | c.7649G>A | p.Arg2550Lys | - | 60% | / | GL-ICI-30 |
| NF1 | Intronic | c.7908-39C>T | - | - | 60% | / | GL-ICI-30 |
| EGFR | | | | | | | |
| EGFR | Missense | c.1087A>G | p.Thr363Ala | 0,017 | 80% | k. t. R. | GL-ICI-2 |
| EGFR | Missense | c.1790C>T | p.Ala597Val | 0,05 | 80% | / | GL-ICI-3 |

| Gen | Funktionelle Klasse der Mutation | Basenveränderung | Aminosäureveränderung | NAF | Tumorzelgehalt *1 | Einfluss auf die Proteinfunktion | Patienten-ID |
|---------------|----------------------------------|-------------------|-----------------------|-------|-------------------|----------------------------------|--------------|
| EGFR | Missense | c.866C>T | p.Ala289Val | 0,93 | 80% | aktiv. | GL-ICI-8 |
| EGFR | Missense | c.685A>T | p.Ser229Cys | 0,1 | 80% | p. t. R | GL-ICI-16 |
| EGFR | Missense | c.865G>A | p.Ala289Thr | 0,081 | 80% | p. t. R. | GL-ICI-18 |
| EGFR | Missense | c.793C>T | p.Pro265Ser | 0,25 | 70% | / | GL-ICI-20 |
| EGFR | Missense | c.2174C>T | p.Thr725Met | 0,43 | 80% | aktiv. | GL-ICI-23 |
| EGFR | Intronic | c.890-561T>C | - | - | 60% | / | GL-ICI-30 |
| EGFR | Intronic | c.1881-606C>T | - | - | 60% | / | GL-ICI-30 |
| MDM2 | | | | | | | |
| MDM2 | Missense | - | p.Glu423Lys | 0,13 | 80% | / | GL-ICI-15 |
| MDM4 | | | | | | | |
| MDM4 | Splice Reg. | - | p.? | 0,082 | 80% | / | GL-ICI-18 |
| MDM4 | Missense | - | p.Pro350Ser | 0,052 | 80% | / | GL-ICI-18 |
| MDM4 | Missense | - | p.Ala398Val | 0,18 | 80% | / | GL-ICI-18 |
| MDM4 | Missense | c.230G>A | p.Gly77Asp | 0,23 | 60% | k. t. R. | GL-ICI-30 |
| B2M | | | | | | | |
| B2M | Missense | - | p.Val29Ile | 0,106 | 80% | / | GL-ICI-18 |
| NOTCH1 | | | | | | | |
| NOTCH1 | Missense | c.1382G>A | p.Cys461Tyr | 0,34 | 70% | / | GL-ICI-20 |
| NOTCH1 | Splice Reg. | c.5386C>T | p.Pro1796Ser | 0,47 | 70% | / | GL-ICI-20 |
| NOTCH1 | Missense | c.4723G>C | p.Val1575Leu | 0,32 | 70% | / | GL-ICI-20 |
| NOTCH1 | Splice Reg. | c.3510+7G>A | p.? | 0,49 | 70% | / | GL-ICI-20 |
| NOTCH1 | Missense | c.1265C>G | p.Pro422Arg | 0,85 | 70% | / | GL-ICI-22 |
| NOTCH1 | Inframe | c.1306_1308delTTC | p.Phe436del | 0,06 | 80% | k. t. R. | GL-ICI-23 |
| NOTCH1 | Missense | c.1154C>T | p.Ser385Phe | 0,24 | 80% | k. t. R. | GL-ICI-23 |
| NOTCH1 | Missense | c.524G>A | p.Cys175Tyr | 0,22 | 80% | / | GL-ICI-28 |
| NOTCH1 | Missense | c.4202G>A | p.Gly1401Glu | - | 60% | / | GL-ICI-30 |
| NOTCH1 | Missense | c.1895G>A | p.Gly632Glu | - | 60% | / | GL-ICI-30 |
| BRCA1 | | | | | | | |
| BRCA1 | Stop gained | c.5445G>A | p.Trp1815* | 0,23 | 60% | inakt. | GL-ICI-30 |
| BRCA1 | 3 prime UTR | c.*783G>A | - | - | 60% | / | GL-ICI-30 |
| BRCA2 | | | | | | | |
| BRCA2 | Missense K | c.831T>G | p.Asn277Lys | Het. | 70% | Keimbahn | GL-ICI-5 |
| BRCA2 | Missense | - | p.Gly2379Arg | 0,18 | 80% | / | GL-ICI-15 |
| BRCA2 | Missense | - | p.Glu731Lys | 0,077 | 80% | k. t. R. | GL-ICI-16 |
| BRCA2 | Missense | c.3763G>A | p.Val1255Ile | 0,05 | 70% | / | GL-ICI-20 |
| BRCA2 | Intronic | c.9117+26C>T | - | - | 60% | / | GL-ICI-30 |

Zu Kapitel 3 Ergebnisse

Table 21: Häufig detektierte CNVs (Deletionen) im Tumorgewebe (Ergänzung zu Abbildung 9)

Abkürzungen: aktiv. = aktivierend; Chr. = Chromosom; het. = heterozygot; hom. = homozygot; ID = Identifikationsnummer; inakt. = inaktivierend; part. = partiell; w. inakt. = wahrscheinlich inaktivierend; WT = Wildtyp

Anmerkungen: * = möglicherweise liegt diese Veränderung vor; / = unklar bzw. keine Bewertung

| Gen | Funktionelle Klasse | Zygotie | Ggf. vorhandene Chromosomen-abberation | Einfluss auf die Proteinfunktion | Patienten-ID |
|-------------|------------------------------|---------|--|----------------------------------|--------------|
| TP53 | | | | | |
| TP53 | Verlust WT-Allel | Het. | Het. Deletion auf Chr. 17 | inakt. | GL-ICI-6 |
| TP53 | Verlust WT-Allel | Het. | - | inakt. | GL-ICI-16 |
| TP53 | Verlust WT-Allel | Het. | - | w. inakt. | GL-ICI-26 |
| TP53 | Verlust WT-Allel | Het. | - | inakt. | GL-ICI-28 |
| RB1 | | | | | |
| RB1 | Deletion | Het. | Monosomie Chr. 13 | inakt. | GL-ICI-6 |
| RB1 | Verlust WT-Allel | Het. | - | inakt. | GL-ICI-9 |
| RB1 | Deletion * | Hom. * | - | inakt. | GL-ICI-17 |
| RB1 | Deletion | Het. | Part. het. Deletion Chr. 13q | / | GL-ICI-26 |
| RB1 | Deletion | Het. | Het. Deletion Chr. 13q | / | GL-ICI-28 |
| PTEN | | | | | |
| PTEN | Deletion * | Het. * | Monosomie Chr. 10 * | / | GL-ICI-2 |
| PTEN | Deletion | Het. | Monosomie Chr. 10 | w. inakt. | GL-ICI-3 |
| PTEN | Deletion | Het. | Monosomie Chr. 10 | w. inakt. | GL-ICI-6 |
| PTEN | Deletion | Het. | Monosomie Chr. 10 | inakt. | GL-ICI-7 |
| PTEN | Verlust WT-Allel | Het. | Het. Deletion Chr. 10 | w. inakt. | GL-ICI-8 |
| PTEN | Deletion | Het. | Monosomie Chr. 10 | / | GL-ICI-9 |
| PTEN | Deletion | Het. | Verlust Heterozygotie Chr. 10 | / | GL-ICI-24 |
| PTEN | Deletion | Het. | Part. het. Deletion Chr. 10q | w. inakt. | GL-ICI-28 |
| EGFR | | | | | |
| EGFR | Deletion Exon 2-7 (EGFRvIII) | - | - | aktiv. | GL-ICI-3 |
| EGFR | Deletion Exon 2-7 (EGFRvIII) | - | - | aktiv. | GL-ICI-18 |

| Gen | Funktionelle Klasse | Zygotie | Ggf. vorhandene Chromosomen-abberation | Einfluss auf die Proteinfunktion | Patienten-ID |
|---------------|---------------------|---------|--|----------------------------------|--------------|
| CDKN2A | | | | | |
| CDKN2A | Deletion | Hom. | - | inakt. | GL-ICI-3 |
| CDKN2A | Deletion | Hom. | - | inakt. | GL-ICI-8 |
| CDKN2A | Deletion | Het. | Monosomie Chr. 9 | w. inakt. | GL-ICI-14 |
| CDKN2A | Deletion | Hom. | - | inakt. | GL-ICI-16 |
| CDKN2A | Deletion | Hom. | - | inakt. | GL-ICI-18 |
| CDKN2A | Deletion | Het. | Part. het. Deletion Chr. 9p | / | GL-ICI-26 |
| CDKN2B | | | | | |
| CDKN2B | Deletion | Hom. | - | inakt. | GL-ICI-3 |
| CDKN2B | Deletion | Hom. | - | inakt. | GL-ICI-8 |
| CDKN2B | Deletion | Het. | Monosomie Chr. 9 | w. inakt. | GL-ICI-14 |
| CDKN2B | Deletion | Hom. | - | inakt. | GL-ICI-16 |
| CDKN2B | Deletion | Hom. | - | inakt. | GL-ICI-18 |
| CDKN2B | Deletion | Het. | Part. het. Deletion Chr. 9p | / | GL-ICI-26 |
| B2M | | | | | |
| B2M | Deletion | Het. | Deletion auf Chr. 15 | w. inakt. | GL-ICI-3 |
| B2M | Deletion | Het. | Monosomie Chr. 15 | w. inakt. | GL-ICI-6 |
| B2M | Deletion | Het. | Het. Deletion auf Chr. 15 | w. inakt. | GL-ICI-8 |
| B2M | Deletion | Het. | Part. het. Deletion Chr. 15q | / | GL-ICI-26 |
| NOTCH1 | | | | | |
| NOTCH1 | Deletion | Het. | Monosomie Chr. 9 | / | GL-ICI-14 |
| BRCA1 | | | | | |
| BRCA1 | Deletion | Het. | Het. Deletion auf Chr. 17 | w. inakt. | GL-ICI-6 |
| BRCA2 | | | | | |
| BRCA2 | Deletion * | Het. * | Part. het. Deletion Chr. 13 * | / | GL-ICI-2 |
| BRCA2 | Deletion | Het. | Monosomie Chr. 13 | w. inakt. | GL-ICI-6 |
| BRCA2 | Deletion | Het. | Part. het. Deletion Chr. 13q | / | GL-ICI-26 |
| BRCA2 | Deletion | Het. | Het. Deletion Chr. 13q | / | GL-ICI-28 |

Zu Kapitel 3 Ergebnisse

Tabelle 22: Häufig detektierte CNVs (Amplifikationen) im Tumorgewebe (Ergänzung zu Abbildung 9)

Abkürzungen: aktiv. = aktivierend; Chr. = Chromosom; ID = Identifikationsnummer; p. t. R. = potentielle therapeutische Relevanz; w. aktiv. = wahrscheinlich aktivierend
Anmerkungen: * = möglicherweise liegt diese Veränderung vor; / = unklar bzw. keine Bewertung

| Gen | Funktionelle Klasse | Kopienzahl | Ggf. vorhandene Chromosomen-abberation | Einfluss auf die Proteinfunktion | Patienten-ID |
|-------------|---------------------|------------|--|----------------------------------|--------------|
| EGFR | | | | | |
| EGFR | Amplifikation * | 3 * | Trisomie Chr. 7 * | / | GL-ICI-2 |
| EGFR | Amplifikation | > 15 | - | aktiv. | GL-ICI-3 |
| EGFR | Amplifikation | ca. 10 | Amplifikation Exon 2-25 auf Chr. 7 | p. t. R. | GL-ICI-5 |
| EGFR | Amplifikation | 3 | Duplikation Chr. 7 | aktiv. | GL-ICI-7 |
| EGFR | Amplifikation | > 10 | - | aktiv. | GL-ICI-8 |
| EGFR | Amplifikation | 3 | Duplikation Chr. 7 | / | GL-ICI-9 |
| EGFR | Amplifikation | > 12 | - | p. t. R. | GL-ICI-16 |
| EGFR | Amplifikation | > 20 | - | p. t. R. | GL-ICI-18 |
| MDM2 | | | | | |
| MDM2 | Amplifikation | > 50 | - | aktiv. | GL-ICI-7 |
| MDM2 | Amplifikation | > 20 | Cluster 12q15 | w. aktiv. | GL-ICI-9 |
| MDM4 | | | | | |
| MDM4 | Amplifikation | > 10 | Cluster 1q32.1 | w. aktiv. | GL-ICI-9 |
| MDM4 | Amplifikation | 3 | Duplikation Chr. 1q | / | GL-ICI-28 |

Zu Kapitel 3 Ergebnisse

Tabelle 23: Detektierte Veränderungen in MMR-Genen im Kollektiv

Abkürzungen: A = Adenin; Arg = Arginin; Asn = Asparagin; Asp = Asparaginsäure; C = Cytosin; G = Guanin; Glu = Glutaminsäure; Gly = Glycin; het. = heterozygot; ID = Identifikationsnummer; Ile = Isoleucin; k. B. = keine Bewertung, k. t. R. = keine therapeutische Relevanz; Leu = Leucin; Lys = Lysin; Met = Methionin; NAF = Novel Allele Frequency; Phe = Phenylalanin; Pro = Prolin; Ser = Serin; T = Thymin; Thr = Threonin; Val = Valin

Anmerkungen: blau markiert sind Veränderungen, die einen (wahrscheinlich) inaktivierenden Einfluss auf die Proteinfunktion haben; * = Patient ohne hohe Mutationslast im Tumorgewebe

| Gen | Funktionelle Klasse | Basen- veränderung | Aminosäure- veränderung | NAF | Einfluss auf Proteinfunktion | Patienten - ID |
|-------------|---|-----------------------|----------------------------|-------|--------------------------------------|----------------|
| <i>MLH1</i> | Frameshift | c.1331delA | p. Asn444Ilefs*47 | 0,442 | sehr wahrscheinlich inaktivierend | GL-ICI-18 |
| <i>MLH1</i> | Missense | - | p.Glu457Lys | 0,105 | k. B. | GL-ICI-18 |
| <i>MLH1</i> | Deletion auf Chromosom 3 (betrifft <i>MLH1</i>) | - | - | - | k. B. | GL-ICI-20 |
| <i>MLH1</i> | Deletion auf Chromosom 3 (betrifft <i>MLH1</i>) | - | - | - | k. B. | GL-ICI-22 * |
| <i>MLH1</i> | 3 prime UTR | c.*6G>A | - | - | k. B. | GL-ICI-30 |
| <i>MLH3</i> | Missense | - | p.Pro511Leu | 0,189 | k. B. | GL-ICI-18 |
| <i>MLH3</i> | Missense | c.2671G>A | p.Gly891Arg | 0,26 | k. B. | GL-ICI-20 |
| <i>MLH3</i> | Frameshift | c.1755delA | p.Glu586Asnfs*24 | 0,36 | inaktivierend | GL-ICI-28 |
| <i>MSH2</i> | Missense | - | p.Leu191Phe | 0,065 | k. t. R. | GL-ICI-16 |
| <i>MSH2</i> | Essential Splice Site | c.211+1G>A | p.? | 0,72 | inaktivierend | GL-ICI-20 |
| <i>MSH2</i> | Verlust Wildtyp-Allel | - | - | - | inaktivierend | GL-ICI-20 |
| <i>MSH2</i> | Frameshift (<u>Keimbahn, heterozygot</u>) | c.23delC | p.Thr8Serfs*56 | 0,92 | inaktivierend | GL-ICI-23 |
| <i>MSH2</i> | Verlust Wildtyp-Allel im Tumor | - | - | - | inaktivierend | GL-ICI-23 |
| <i>MSH2</i> | Essential Splice Site | c.212-1G>A | p.? | 0,55 | inaktivierend | GL-ICI-28 |

| Gen | Funktionelle Klasse | Basen- veränderung | Aminosäure- veränderung | NAF | Einfluss auf Proteinfunktion | Patienten - ID |
|-------------|----------------------|-----------------------|----------------------------|-------|---------------------------------|----------------|
| MSH2 | Het. Deletion 2p-Arm | - | - | - | inaktivierend | GL-ICI-28 |
| MSH2 | Missense | c.1864C>T | p.Pro622Ser | 0,22 | k. t. R. | GL-ICI-30 |
| MSH3 | Missense | c.1076T>C | p.Ile359Thr | 0,47 | k. t. R. | GL-ICI-23 |
| MSH3 | Splice Region | c.3001G>A | p.Val1001Met | 0,25 | wahrscheinlich inaktivierend | GL-ICI-30 |
| MSH5 | Missense | c.1213C>T | p.Leu405Phe | 0,43 | k. B. | GL-ICI-20 |
| MSH6 | Missense | - | p.Thr1219Ile | 0,31 | k. B. | GL-ICI-15 |
| MSH6 | Missense | - | p.Gly273Arg | 0,11 | k. B. | GL-ICI-15 |
| MSH6 | Missense | - | p.Gly520Asp | 0,06 | k. B. | GL-ICI-15 |
| MSH6 | Frameshift | c.3261dupC | p.Phe1088Leufs*5 | 0,34 | inaktivierend | GL-ICI-23 |
| MSH6 | Missense | c.2341C>T | p.Pro781Ser | 0,68 | k. B. | GL-ICI-28 |
| MSH6 | Missense | c.1921G>A | p.Glu641Lys | 0,22 | k. t. R. | GL-ICI-30 |
| PMS1 | Missense | c.1457G>A | p.Gly486Asp | - | - | GL-ICI-30 |
| PMS2 | Splice Region | - | p.Gly382Ser | 0,272 | k. t. R. | GL-ICI-16 |
| PMS2 | Missense | c.1073C>T | p.Ser358Phe | 0,23 | k. t. R. | GL-ICI-30 |
| PMS2 | Intronic | c.2007-10C>T | - | - | k. B. | GL-ICI-30 |

9 Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Ghazaleh Tabatabai für die Möglichkeit zur Durchführung dieser Dissertation in der Abteilung Neurologie mit Interdisziplinärem Schwerpunkt Neuroonkologie sowie die freundliche Betreuung bedanken.

Ein besonderer Dank gilt auch Dr. med. Irina Mäurer (vormals Irina Gepfner-Tuma) und Dr. rer. nat. Susanne Beck, die mir bei allen Anliegen und Fragen mit Rat und Tat zur Seite standen.

Ebenso möchte ich mich bei allen weiteren Personen bedanken, die zur Entstehung dieser Dissertation beigetragen haben, allen voran die Mitarbeiter der Neuroonkologischen Ambulanz, die mir bei meinen Fragen stets tatkräftig und freundlich weitergeholfen haben. Zudem geht der Dank an die Mitarbeiter von CeGaT / Praxis für Humangenetik Tübingen.

Zuletzt gilt der Dank natürlich meiner Familie und meinen Freunden, die mich immer bedingungslos unterstützt haben und für mich da waren.