

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. Matthias Goebeler

**Wirksamkeit von PD-1 basierten Immuntherapien nach
radiologischem Progress unter zielgerichteter Therapie
im Melanom**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von

Sophia Kreft

aus Bonn

Würzburg, Juli 2020

Referent: Prof. Dr. med. Bastian Schilling

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. med. Johan Friso Lock

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 13.11.2020

Die Promovendin ist Ärztin

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Epidemiologie des Melanoms	1
1.2	Ätiologie des Melanoms	2
1.3	Pathogenese des Melanoms	2
1.4	Einstufung nach American Joint Committee on Cancer (AJCC)- Klassifikation	4
1.5	Operative Therapie	4
1.6	Behandlungsmöglichkeiten im inoperablen Stadium III und fernmetastasierten Stadium IV	5
1.6.1	Zielgerichtete Therapie (TT).....	5
1.6.2	Immuncheckpoint Blockade (ICB).....	7
1.7	Fragestellung	12
2	Material und Methoden	13
2.1	Patientenkohorte und Einschlusskriterien.....	13
2.2	Definition von Endpunkten und Datenakquise	14
2.3	Statistische Analyse.....	15
3	Ergebnisse	15
3.1	Patientenkollektiv	15
3.2	Verlauf der primären zielgerichteten Therapie (TT).....	17
3.3	Verlauf der sekundären Immuncheckpoint Blockade (ICB)	17
3.3.1	Ansprechrate und Gesamtüberleben	17
3.3.2	Vergleich prognostischer Faktoren vor PD-1 und PD-1 plus CTLA-4 Blockade	22
3.3.3	Nebenwirkungen	24
3.3.4	Biomarker basierte Analyse von Ansprechen auf ICB	24
3.3.4.1	Klinisch-pathologische Charakteristika	24

3.3.4.2	Laborwerte	25
3.3.5	Einfluss von primärer TT auf sekundäre ICB	32
4	Diskussion	34
4.1	Charakteristika des Patientenkollektivs	35
4.2	PD-1 Monotherapie zeigt eine vergleichbare Wirksamkeit wie kombinierte ICB nach MAPKi-Resistenz bei geringerer Toxizität.....	35
4.3	Datenlage zu PD-1 Blockade nach zielgerichteter Therapie	37
4.4	Biomarker für das Ansprechen auf Zweitlinien-ICB	40
4.5	Limitationen der vorliegenden Arbeit	41
4.6	Ausblick.....	42
5	Zusammenfassung	47
6	Literaturverzeichnis	48
7	Anhang.....	52
7.1	Abbildungsverzeichnis	52
7.2	Tabellenverzeichnis	53
7.3	Abkürzungsverzeichnis	54
7.4	Unbedenklichkeitsbescheinigung.....	57

Danksagung

Publikationen

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie des Melanoms

Das Melanom weist von allen Hauttumoren die höchste Metastasierungsrate auf und ist unter diesen für mehr als 90% der hautkrebsbedingten Sterbefälle verantwortlich [1]. Im Jahr 2012 rangierte das Melanom sowohl bei Frauen als auch bei Männern auf Platz 5 der häufigsten soliden Tumoren und stellt damit 4,5% aller Krebsfälle in Deutschland dar [2]. In der Adoleszenz und im jungen Erwachsenenalter ist das Melanom eine der häufigsten Tumorerkrankungen [3]. Unter Frauen zwischen 20 und 29 Jahren rangiert das Melanom in den USA auf Platz 2 maligner Neoplasien [3]. In Deutschland lag das mediane Erkrankungsalter 2016 für Frauen bei 60 Jahren. Männer erkrankten im Median 8 Jahre später [2]. Basierend auf Angaben des Robert-Koch-Instituts erkrankten im Jahr 2014 21226 Personen an einem Melanom in Deutschland [2]. Im Jahr 2015 wurden 3054 Sterbefälle beobachtet [2]. Für Männer lag die Inzidenz 2012 bei 26,5 Fällen und für Frauen bei 25,3 Fällen pro 100 000 Einwohnern [1]. Das Auftreten von Melanomen in Europa zeigt ein Nord-Süd-Gefälle. Schweden, Dänemark und Norwegen haben höhere Inzidenzen als mediterrane Länder, was durch den stärker pigmentierten Hauttyp der Bevölkerung erklärt wird [2]. Die höchsten Inzidenzraten sind in Australien und Neuseeland zu verzeichnen mit 50-60 Fällen pro 100 000 Einwohnern [1]. Im Jahre 2008 wurde in Deutschland ein systematisches Hautkrebsscreening als Maßnahme zur Früherkennung von Hauttumoren eingeführt, das gesetzlich Krankenversicherten ab dem 35. Lebensjahr alle 2 Jahre eine Hautuntersuchung bei einem Arzt mit entsprechender Qualifikation ermöglicht [2]. Das Screening scheint im Wesentlichen für den deutlichen Anstieg der Inzidenz von Melanomen in Deutschland zwischen 2008 und 2014 verantwortlich zu sein und erklärt die Entdeckung von mehr Erkrankungen in frühen Stadien [2].

1.2 Ätiologie des Melanoms

UV-Exposition stellt den wichtigsten exogenen Risikofaktor für die Melanomentstehung dar [4]. Strahlung durch intensive intermittierende Sonnenexposition, Sonnenbrände in der Kindheit oder auch Solariumbesuche insbesondere vor dem 35. Lebensjahr steigern das Erkrankungsrisiko [4]. Phänotypische Merkmale erhöhter UV-Sensitivität und damit erhöhtem Melanomrisiko sind rote Haare, eine helle Haut- und Augenfarbe und Sommersprossen [3, 5, 6]. Eine erhöhte Anzahl an melanozytären Nävi geht mit einem erhöhten Melanomrisiko einher. Fünfundzwanzig Prozent der Melanome entstehen auf prä-existierenden Nävi, 75% de-novo auf zuvor gesunder Haut [5]. Auch ein Melanom in der Eigenanamnese stellt einen Risikofaktor für weitere Melanome dar: Eine Studie von Zimmer *et al.*, die die Inzidenz neuer Melanome bei Patienten nach Diagnose eines fortgeschrittenen Melanoms untersuchte, berichtet über eine 1-Jahres Inzidenz weiterer primärer Melanome von 1,8% im Stadium III und 0,4% im Stadium IV [7]. In ungefähr 7-15% der Melanompatienten kann eine nicht-sporadische Ursache gefunden werden [5]. Dazu gehören Keimbahnmutationen im *CDKN2A* oder *CDK4* Gen. Andere genetische Ursachen mit einem erhöhten Melanomrisiko betreffen die hereditären Erkrankungen Xeroderma pigmentosum, familiäres Retinoblastom, Lynch Syndrom Typ II und Li-Fraumeni Syndrom [5]. Melanome treten außerdem vermehrt in Familien mit FAMM Syndrom (Familiäres atypisches multiples Muttermal- und Melanomsyndrom) oder MAS (Melanom-Astrozytom-Syndrom) auf [5].

1.3 Pathogenese des Melanoms

Das Melanom entsteht durch die maligne Transformation von Melaninproduzierenden Melanozyten [8]. Diese kommen in der Epidermis von Haut, Schleimhaut sowie in Meningen, der Choroidea und den Haarfollikeln vor. Die Hauptfunktion der Melanozyten besteht darin, benachbarte Keratinozyten mit

Melanin zu versorgen [9]. UV-Strahlung stimuliert Keratinozyten in der Haut das Melanozyten stimulierende Hormon (MSH) zu produzieren, das an den Melanokortin Rezeptor 1 (MC1R) auf Melanozyten bindet und zur Freisetzung von Melanin führt. Neben der Bestimmung von Haut- und Haarfarbe absorbiert Melanin UV-Strahlung und bildet einen Schutz vor DNA-Schäden [9]. UV-Licht stellt ein absolutes Karzinogen dar [10]. UVB Strahlung (280-320 nm) schädigt die DNA durch die Bildung von Pyrimidindimeren [8]. Dabei werden zwei benachbarte Pyrimidinbasen wie Cytosin und/oder Thymin miteinander verbunden und verändern die Struktur der DNA Doppelhelix [8]. Charakteristisch für das Melanom sind die Bildung von Cyclobutan-Pyrimidin-Dimeren (CPD) und 6-4-Pyrimidin-Pyrimidon-Photoprodukte (6-4-PP), die auch UV-Signatur-Mutationen genannt werden [8]. UVA-Strahlung (320-400nm) führt zur Bildung von reaktiven Sauerstoffradikalen, die ebenfalls die DNA schädigen und zu Mutationen führen [8].

Pathogenetisch relevante somatische Mutationen im Melanom betreffen Gene in Schlüsselsignalwegen wie Proliferation (*BRAF*, *NRAS* und *NF1*), Metabolismus (*PTEN*), Resistenz der Apoptose (p53), Zellzykluskontrolle (*CDKN2A*) und Erhaltung der Zellreplikation (TERT) [11]. Den Prozess der Mutationen bei der Melanogenese hat die Arbeitsgruppe von Boris Bastian untersucht. In benignen Nävi treten *BRAF* V600 Mutationen oft als einzige pathogene Alterationen auf. In intermediären Stadien von melanozytären Neoplasmen kommen Mutationen im *NRAS* Gen und zusätzlich in der Telomerase Promotorregion vor [11]. Noch weiter fortgeschrittene Melanome sind mit Mutationen im Phosphatase und Tensin homolog Gen (*PTEN*) und Tumor Protein p53 assoziiert [6]. Die Anzahl an Punktmutationen ist von benignen Nävi über intermediäre Läsionen bis hin zu Melanomen stetig steigend. Biallelische Inaktivierung von *CDKN2A* wird ausschließlich in invasiven Melanomen beobachtet [11]. In invasiven Melanomen treten außerdem dann weitere genetische Aberrationen wie Kopiezahalterationen (CNAs) auf, die zu Homozygotie von mutierten Tumorsuppressorgenen oder auch zu gesteigerten Gendosen von onkogenen Allelen führen können [11]. All diese genetischen Veränderungen führen zu einer

Überstimulation und konstitutiven Aktivierung zellulärer Signalwege, hauptsächlich des MAPK Weges [6].

1.4 Einstufung nach American Joint Committee on Cancer (AJCC)-Klassifikation

Das Melanom wird histopathologisch diagnostiziert. Zur Stadieneinteilung tragen die Tumordicke und der Ulzerationsstatus (T-Kategorie), Lymphknotenbeteiligung (N-Kategorie), die Präsenz von Fernmetastasen und deren Organbefall sowie der Serumspiegel der Laktatdehydrogenase (M-Kategorie) bei. Die Mehrzahl der Melanome wird in frühen Stadien diagnostiziert, bevor Lymphknoten- oder Fernmetastasen auftreten [6]. Die Präsenz von Hirnmetastasen sowie die Tumormarkierung, gemessen an der Laktatdehydrogenase (LDH) sind starke prognostische Marker für das Überleben und mit einer ungünstigen Prognose assoziiert. Ihre Bedeutung unterstreicht die Integration der beiden Charakteristika (LDH und M1d) in die aktuelle AJCC-Klassifikation, was zuvor nicht der Fall war [12].

1.5 Operative Therapie

Die chirurgische Entfernung stellt den Goldstandard der Behandlung kutaner Primär-Melanome dar [13]. Melanomverdächtige Hautveränderungen sollen mit einem kleinen Sicherheitsabstand vollständig exzidiert werden. Sobald sich die Diagnose bestätigt, empfiehlt die S3-Leitlinie eine Nachexzision mit Sicherheitsabständen zum Tumorrand, die von der vertikalen Tumordicke abhängen [1, 4, 13]. Im Stadium pT1 und pT2 (Tumordicke ≤ 2 mm) soll eine Nachexzision mit einem Sicherheitsabstand von 1 cm erfolgen. Im Stadium pT3 und pT4 (Tumordicke 2,01-4,0 mm) ist ein Sicherheitsabstand von 2 cm anzustreben [1]. Vor der Operation müssen regionale Lymphadenopathie, Satelliten und/ oder in-transit Metastasen, sowie Zeichen und Symptome einer

Fernmetastasierung abgeklärt werden [13]. Das Vorliegen dieser Aspekte kann zu einer Abweichung der primär chirurgischen Behandlung führen [13]. Zwei Drittel aller Melanome (73% bei Frauen und 66% bei Männern) werden im Stadium I entdeckt, in dem eine Operation in kurativer Intention durchgeführt wird [14]. Im Stadium I sind fast keine Einschränkungen der Überlebenschancen im Vergleich mit der Allgemeinbevölkerung messbar [2]. Ungefähr 10-15% der primär kutanen Melanome metastasieren über die Zeit [13].

1.6 Behandlungsmöglichkeiten im inoperablen Stadium III und fernmetastasierten Stadium IV

1.6.1 Zielgerichtete Therapie (TT)

In 50% der Patienten mit kutanem Melanom kann eine Mutation im *BRAF* Gen, einer Serin-Threonin Kinase des Mitogen-aktivierten Protein Kinase (MAPK) Signalweges, detektiert werden [6]. Diese führen zu einer konstitutiven Aktivierung der RAF-MEK-ERK Signaltransduktionskaskade und resultieren in unkontrolliertem Zellwachstum von Melanomzellen [1, 6]. Die häufigste BRAF Mutation betrifft die Aminosäure Valin an Position 600 im Exon 15, die in 90% durch Glutamat (pV600E) oder seltener durch Lysin (pV600K) ausgetauscht wird [6]. Mit der Entdeckung dieser Mutation begann die Entwicklung und der Erfolg zielgerichteter Therapien des fortgeschrittenen Melanoms mit Kinaseinhibitoren [15]. Die selektiven BRAF Inhibitoren Vemurafenib und Dabrafenib wurden seit ihrer Zulassung 2011 und 2013 zum Therapiestandard für Patienten mit inoperablem oder metastasiertem Melanom und aktivierender BRAF V600E Mutation [16]. Mit der Hinzunahme von MEK Inhibitoren konnte in mehreren Phase III Studien eine Überlegenheit gegenüber Monotherapie gezeigt werden. Dabrafenib plus Trametinib im Vergleich mit Dabrafenib und Placebo zeigte eine Ansprechrate von 69% vs. 53%, ein medianes PFS von 11 vs. 8,8 Monaten und ein medianes OS von 25,1 vs. 18,7 Monaten. Es wurde 2014 von der FDA für inoperables und metastasiertes V600 mutiertes Melanom zugelassen [1]. Die

Kombination Vemurafenib und Cobimetinib erhielt 2015 ihre Zulassung, nachdem in einer placebokontrollierten Phase III Studie die Kombination der Monotherapie mit Vemurafenib eine deutliche Überlegenheit zeigte. Ansprechraten lagen bei 68% vs. 45%, medianes PFS bei 12,3 vs. 7,2 Monaten und das mediane OS bei 22,3 vs. 17,4 Monaten für die duale Inhibition bzw. Vemurafenib und Placebo [1]. Diese Ergebnisse haben dazu geführt, dass die Kombination von BRAFi und MEKi den heutigen Therapiestandard der zielgerichteten Therapie darstellen. Eine weitere zielgerichtete Therapiekombination aus dem BRAF-Inhibitor Encorafenib und dem MEK-Inhibitor Binimetinib wurde 2018 von der FDA zugelassen basierend auf den Ergebnissen der Phase III COLUMBUS Studie [17]. Unter Encorafenib und Binimetinib wurde ein medianes OS von 33,6 Monaten und ein medianes PFS von 14,9 Monaten verzeichnet [18, 19].

Unter dualer MAPK Inhibition kann in Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung ein schnelles Ansprechen und eine Symptomverbesserung erreicht werden. Dabrafenib und Trametinib zeigten in der COMBI-MB Studie intrakranielles Ansprechen bis zu 58% [20]. Die Ansprechraten waren ähnlich in asymptomatischen wie symptomatischen Patienten, sowie vorbehandelten und therapie-naiven Patienten [20]. Trotz dieser guten Ansprechraten ist der Therapieerfolg von kürzerer Dauer verglichen mit ausschließlich extrakranieller Erkrankung. Das mediane PFS und OS war halb so groß wie bei extrakranieller Erkrankung (icPFS 5,6 Monate, OS 10,8 Monate in der asymptomatischen Gruppe mit unbehandelten Hirnmetastasen der COMBI-MB Studie) [20].

Bei Patienten mit erhöhter LDH im Vergleich zu Patienten mit normaler LDH lag das 2-Jahres OS bei 27% vs. 65% unter dualer MAPK Inhibition [21]. In einer retrospektiven Analyse von Schilling *et al.*, die das Überleben nach Erstlinientherapie in fortgeschrittenen Melanomstadien untersucht, wurde unter BRAF+MEK Inhibition bei anfänglicher LDH-Erhöhung ein medianes OS von 9,2 Monaten (n=84) beobachtet im Vergleich zu 18,6 Monaten (n=111) bei normwertiger LDH (p=0,019) [22]. Patienten mit fortgeschrittener

Melanomkrankung können zwar unter BRAF+MEK Inhibition ein schnelles und gutes Therapieansprechen erreichen, bessere Langzeitergebnisse werden aber von Patienten mit normwertiger LDH erzielt [23].

Trotz der großen Erfolge der zielgerichteten Therapien ist die die Entwicklung von Resistenzen gegen BRAFi+MEKi, die zu einer Reaktivierung des MAPK Weges oder Aktivierung des PI3K Weges führen häufig, vor allem in Patienten mit schlechten prognostischen Parametern wie einer erhöhten LDH [24]. Tumorprogress nach zielgerichteter Therapie stellt eine große therapeutische Herausforderung dar.

1.6.2 Immuncheckpoint Blockade (ICB)

Schon im 19. Jahrhundert wurde ein Zusammenhang zwischen Immunsystem und Krebs vermutet, basierend auf der Beobachtung von Immunzellen, die Tumorgewebe infiltrieren und umgeben [16]. Die Aufgabe des Immunsystems besteht darin fremd und selbst zu unterscheiden, um auf der einen Seite Infektionen und Tumorzellen abzuwehren und auf der anderen Seite sich selbst zu tolerieren und Autoimmunerkrankungen zu verhindern. Melanomzellen exprimieren im wesentlichen Antigene auf ihrer Oberfläche, die durch Mutationen oder die Differenzierung bedingt sind [25, 26]. Ersteres führt zu sogenannten mutierten Neoantigenen, die von normalen Zellen nicht exprimiert werden und dem Immunsystem fremd erscheinen [26]. Sobald T-Zellen Tumor-spezifische Antigene erkennen, werden sie aktiviert und induzieren eine antitumorale Immunantwort, die zu einer Zerstörung der Tumorzelle führt [26]. Bei der Aktivität und Regulation von Immunreaktionen spielen die beiden Checkpoints, das zytotoxische T-Lymphozyten Antigen-4 (CTLA-4) und der programmed death (PD-1) Rezeptor eine entscheidende Rolle [16].

Das zytotoxische T-Lymphozyten Antigen-4 (CTLA-4) ist ein Rezeptor, der auf der Oberfläche von aktivierten T-Lymphozyten exprimiert ist und diese negativ

reguliert [16]. Ipilimumab, ein humaner IgG1 monoklonaler Antikörper, blockiert CTLA-4 und seine inhibierenden Effekte. Dies führt zu einer Aktivierung und Proliferation von T-Zellen und schiebt somit das immunologische Gleichgewicht in Richtung Antitumor-Aktivität [1, 26]. Ipilimumab erhielt 2011 die Zulassung zur Behandlung des fortgeschrittenen Melanoms in der Dosierung 3 mg/kg KG alle 3 Wochen für insgesamt maximal 4 Gaben [16, 27]. In einer Phase III Studie wurden Patienten mit einem inoperablen, metastasierten, vortherapierten Melanom für eine Behandlung mit Ipilimumab (3 mg/kg KG; 4x alle 3 Wochen), der Kombination von Ipilimumab und einer gp100 Vakzine oder einer gp100 Vakzine-Monotherapie randomisiert [28]. Die Studie zeigte ein signifikant besseres Überleben für den Ipilimumab-Arm und Kombinations-Arm von 10,1 und 10,0 Monaten verglichen mit dem gp100 Vakzine-Arm mit 6,4 Monaten [28]. Aus einer gepoolten Analyse von Phase II und Phase III Studien zum Langzeitüberleben unter Ipilimumab im inoperablen und metastasierten Melanom geht ein medianes OS von 11,4 Monaten (95% KI 10,7-12,1) hervor. Die 3-Jahres Überlebensrate lag unter therapienaiven und vortherapierten Patienten bei 26% und 20% [29]. Nach 3 Jahren wird in der Überlebenskurve eine Plateaubildung bei 21% beobachtet, die sich bei einigen Patienten bis zu 10 Jahre erstreckt [29]. Unter Ipilimumab können eine Reihe von immunvermittelten Nebenwirkungen (irAE) auftreten, die hauptsächlich das gastrointestinale System (Kolitis und Diarrhö), die Leber (Hepatitis), Haut (Dermatitis, Pruritus) und endokrine Organe (Hypophysitis, Thyreoiditis) betreffen [16].

PD-1 ist ein Rezeptor, der von aktivierten T Zellen exprimiert wird [16]. Er agiert als ko-inhibitorisches Molekül, das T-Zell Aktivierung unterdrückt sobald die Liganden PD-L1 und PD-L2 binden [16]. Einige Tumoren exprimieren PD-L1 oder PD-L2 und können sich so der Erkennung des Immunsystems entziehen (Immune-escape Mechanismus) [16]. Nivolumab ist ein monoklonaler anti-PD-1 Antikörper, der die Bindung zwischen PD-1 Rezeptor und deren Liganden PD-L1 und PD-L2 blockiert und damit antitumorale Immunaktivität vermittelt [16]. Nivolumab wurde 2014 (in der Dosierung 3 mg/kg KG alle 2 Wochen) von der FDA für die Behandlung von Patienten mit einem metastasierten Melanom

zugelassen. Pembrolizumab erhielt 2015 (in der Dosierung 2 mg/kg KG alle 3 Wochen) von der FDA die Zulassung [16]. Die PD-1 Checkpoint Inhibitoren Nivolumab und Pembrolizumab zeigten ein besseres PFS und OS als Ipilimumab und ein günstigeres Nebenwirkungsprofil [16]. Nebenwirkungen von PD-1 Inhibitoren betreffen etwas häufiger die Lunge (Pneumonitis) und die Schilddrüse (Hyper- oder Hypothyreoidismus) als Ipilimumab [16].

In der Phase III Checkmate 067 Studie wurden Patienten mit einem therapienaiven, inoperablen, metastasierten Melanom für eine Kombinationstherapie Ipilimumab plus Nivolumab, Nivolumab Monotherapie (3mg/kg KG alle 2 Wochen) oder Ipilimumab Monotherapie (3 mg/kg KG alle 3 Wochen für 4 Gaben) randomisiert [30]. Die Kombinationstherapie erfolgte mit Nivolumab 1 mg/kg KG und Ipilimumab 3 mg/kg KG alle 3 Wochen für 4 Gaben mit anschließender Nivolumab Monotherapie mit 3 mg/kg KG alle 2 Wochen. Ein objektives Ansprechen erreichten 58% im Kombinationsarm vs. 45% unter Nivolumab und 19% unter Ipilimumab [30]. Die Kombinationstherapie hatte ein signifikant höheres Risiko für schwere immunvermittelte Nebenwirkungen. Grad 3 und 4 Nebenwirkungen traten bei 59% vs. 23% vs. 28% auf [30]. Nach 5 Jahren Follow-Up ist das mediane OS unter Ipilimumab plus Nivolumab nicht erreicht (95% KI 38,2-NR), für Nivolumab liegt es bei 36,9 Monaten (95% KI 28,3-58,7) und für Ipilimumab bei 19,9 Monaten (95% KI 16,8-24,6) [30]. Das OS nach 5 Jahren beträgt 52% unter der Kombinationstherapie, 44% unter Nivolumab und 26% unter Ipilimumab [30]. Das PFS beträgt 11,5 (95% KI 8,7-19,3) vs. 6,9 (95% KI 5,1-10,2) vs. 2,9 (95% KI 2,8-3,2) Monate [30-32]. Die Ergebnisse dieser Studie führten 2016 zur Zulassung der Kombinationstherapie Ipilimumab plus Nivolumab im metastasierten Melanom. Standardmäßig wird diese Kombination alle 3 Wochen für insgesamt 4 Gaben verabreicht, gefolgt von einer Nivolumab Monotherapie [33].

In verschiedenen Studien konnte eine Korrelation des LDH Wertes mit dem Gesamtüberleben nach PD-1 und PD-1 plus CTLA-4 Blockade gezeigt werden [27]. In der Erstlinienbehandlung mit PD-1 Blockade berichten Schilling *et al.* ein medianes OS von 18,2 Monaten in Patienten mit erhöhter LDH verglichen mit

26,6 Monaten in Patienten mit normaler LDH ($p < 0,001$) [22]. Trotz der prognostischen Bedeutung dieses Enzyms, gibt es Patienten mit erhöhter LDH, die auf eine ICB ansprechen [23]. In der Checkmate 067 Studie konnte bei Patienten mit erhöhter LDH eine Überlegenheit zugunsten der Kombinationstherapie im Vergleich zu PD-1 Monotherapie gezeigt werden (5 Jahres OS 38% versus 28%) [30]. Aus zusammengefassten Daten geht hervor, dass bei erhöhter baseline LDH $> 2 \times \text{ULN}$ kein objektives Ansprechen auf eine CTLA-4 Blockade oder PD-1 Blockade beobachtet wurde [23]. Bei intrakranieller Erkrankung zeigte die Kombinationstherapie gegenüber Monotherapie in der Erstlinie bessere Wirksamkeit. Für die Kombinations-ICB wurde in der Checkmate-204 Studie ein intrakranielles Ansprechen von 55% bei asymptomatischen Hirnfiliae beobachtet [34]. Die australische ABC-Studie fand bei asymptomatischer, therapienaiver, intrakranieller Erkrankung ein Ansprechen von 46% auf die Kombinations-ICB (Kohorte A) und 20% auf Nivolumab (Kohorte B) [35]. In Patienten mit vorbehandelten und symptomatischen Hirnmetastasen zeigte Nivolumab ein Ansprechen von nur 6% (Kohorte C). In diesen drei Gruppen war das OS nach 6 Monaten 76%, 59% und 44% [35]. In einer retrospektiven Analyse zur Wirksamkeit von ICB im fortgeschrittenen Melanom mit Hirnmetastasierung konnten Milsch *et al.* zeigen, dass eine intrakranielle Krankheitskontrolle durch primäre ICB keinen Einfluss auf das Gesamtüberleben hat. Vielmehr hat die extrakranielle Krankheitskontrolle prognostische Relevanz in Patienten mit Hirnmetastasen [36]. Das mediane Gesamtüberleben betrug 30,2 Monate für Patienten mit icDC (30,7%) und 19 Monate für Patienten mit intrakraniell Progress (63,6%) als BOR ($p = 0,33$) [36].

Bislang gibt es keinen Biomarker, der vor Therapiebeginn eindeutig vorhersagen kann welcher Patient von einer ICB profitiert. Da ein großer Teil der Patienten keinen Benefit von der Immuntherapie erfährt, sind Bestrebungen groß prädiktive Marker für das Ansprechen zu finden. Biomarker, die untersucht werden, schließen Mutationslast, Neoantigen Expression, das Tumormilieu, Präsenz von Tumor infiltrierenden Lymphozyten, periphere Blutbilder, PDL-1 Status, Aktivität des Interferon-gamma Signalweges und das Mikrobiom des Darms ein [6].

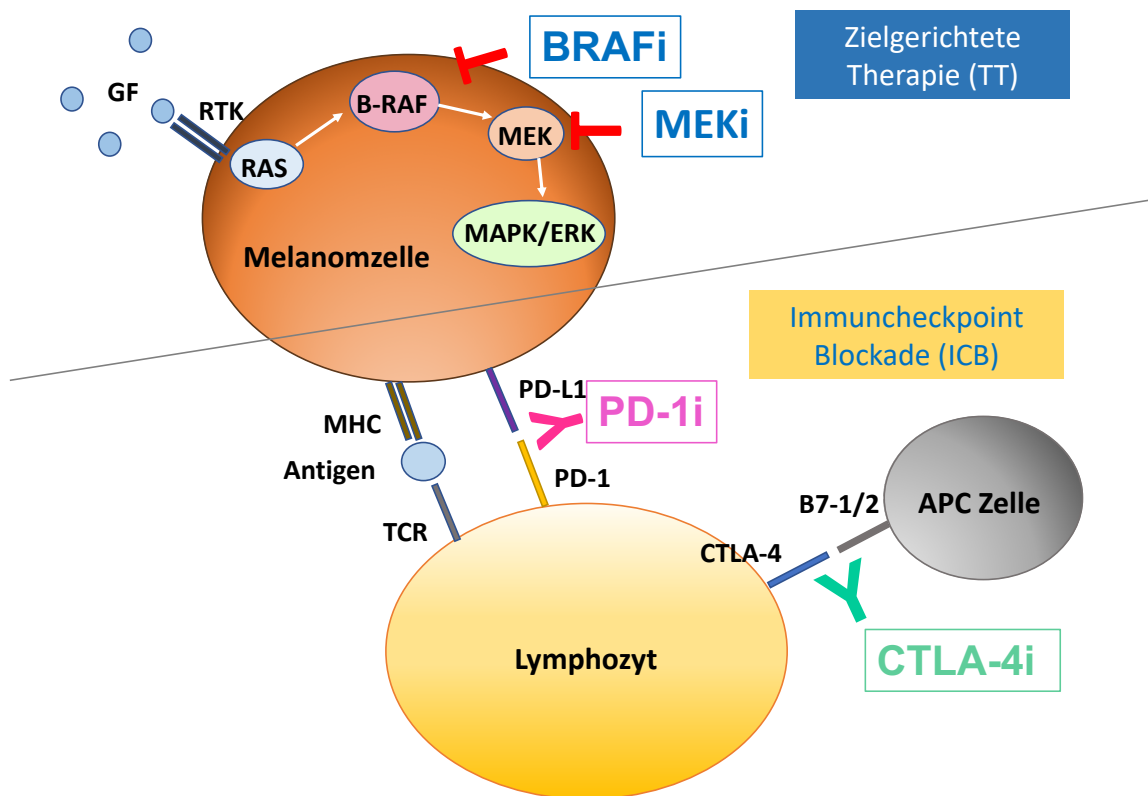


Abbildung 1: Therapeutische Ansatzpunkte des Melanoms, modifiziert nach Leonardi 2017 [5].

GF=growth factor=Wachstumsfaktor, RTK=receptor tyrosine kinase=Rezeptor-Tyrosinkinase, RAS=RAS protooncogene=RAS Protoonkogen, B-RAF=BRAF protooncogene=BRAF Protoonkogen, BRAFi=BRAF inhibitor=BRAF Inhibitor, MEK=mitogen activated protein kinase=Mitogen aktivierte Protein Kinase, MEKi=MEK inhibitor=MEK Inhibitor, MAPK/ERK=mitogen activated protein kinase=Mitogen aktivierte Protein Kinase, MHC=major histocompatibility complex=Haupthistokompatibilitätskomplex, TCR=T-cell receptor=T-Zell-Rezeptor, PD-L1=programmed death-ligand 1=programmierter Zelltod Ligand 1, PD-1=programmed death-1=programmierter Zelltod 1, PD-1i=PD-1 inhibitor=PD-1 Inhibitor, CTLA-4=cytotoxic T-lymphocyte antigen 4=zytotoxisches T-Lymphozyten Antigen 4, CTLA-4i=CTLA-4 inhibitor=CTLA-4 Inhibitor, B7-1/2=cluster of differentiation 80=Lymphozyten Aktivierungsantigen CD80, APC=antigen presenting cell=Antigen präsentierende Zelle

1.7 Fragestellung

Es gibt keine evidenzbasierte Empfehlung, welche Erstlinientherapie im BRAF-V600 mutierten, metastasierten Melanom eingesetzt werden sollte, da es keinen head-to-head Vergleich der beiden Therapieregime TT und ICB gibt [1, 37]. BRAFi+MEKi erzielt eine numerisch höhere Ansprechrate als ICB, die Dauer des Ansprechens auf ICB ist dagegen länger. Retrospektive Analysen zeigen, dass in den ersten 6 Monaten zielgerichtete Therapien überlegen sind. Nach 12 Monaten kreuzen sich die Überlebenskurven zugunsten ICB auf langer Dauer [37].

Unklar ist auch, wie im BRAF V600 mutierten Melanom ICB mit TT kombiniert werden kann, um Ansprechraten und Überleben weiter zu verbessern. Eine Reihe klinischer Studien adressiert die Frage nach dem besten Einsatz beider Therapien mit unterschiedlichen Protokollen [26]. Aktuell sind Daten zur Wirksamkeit und dem Überleben von Patienten, die nach Therapieversagen einer dualen MAPK Inhibition eine ICB erhielten, sehr begrenzt [38, 39]. Es ist unklar, wie effektiv ICB nach MAPKi-Resistenz ist und welche Patienten einen klinischen Nutzen erfahren. Darüber hinaus ist nicht bekannt, ob nach MAPKi Resistenz die Kombinations-ICB mit Ipilimumab plus Nivolumab der PD-1 Monotherapie überlegen ist, wie die Checkmate-067 Studie dies bei therapienaiven Patienten zeigt [31]. Außerdem fehlen Daten zur Sicherheit von Ipilimumab plus Nivolumab und PD-1 Monotherapie in der Zweitliniensituation.

Hier haben wir eine retrospektive, multizentrische Studie durchgeführt, um die Wirksamkeit von PD-1 basierten Immuncheckpoint Inhibitoren in der Zweitlinie nach radiologischem Progress unter TT zu explorieren. Von besonderem Interesse war die Fragestellung, ob es einen Unterschied zwischen PD-1 Monotherapie und kombinierter ICB in Bezug auf Ansprechen, Nebenwirkung und Überleben gibt. Bis evidenzbasierte Empfehlungen vorliegen, können retrospektive Datenanalysen hilfreich sein, um Entscheidungen für Therapiestrategien bei BRAF V600 mutierten Melanompatienten zu treffen.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkohorte und Einschlusskriterien

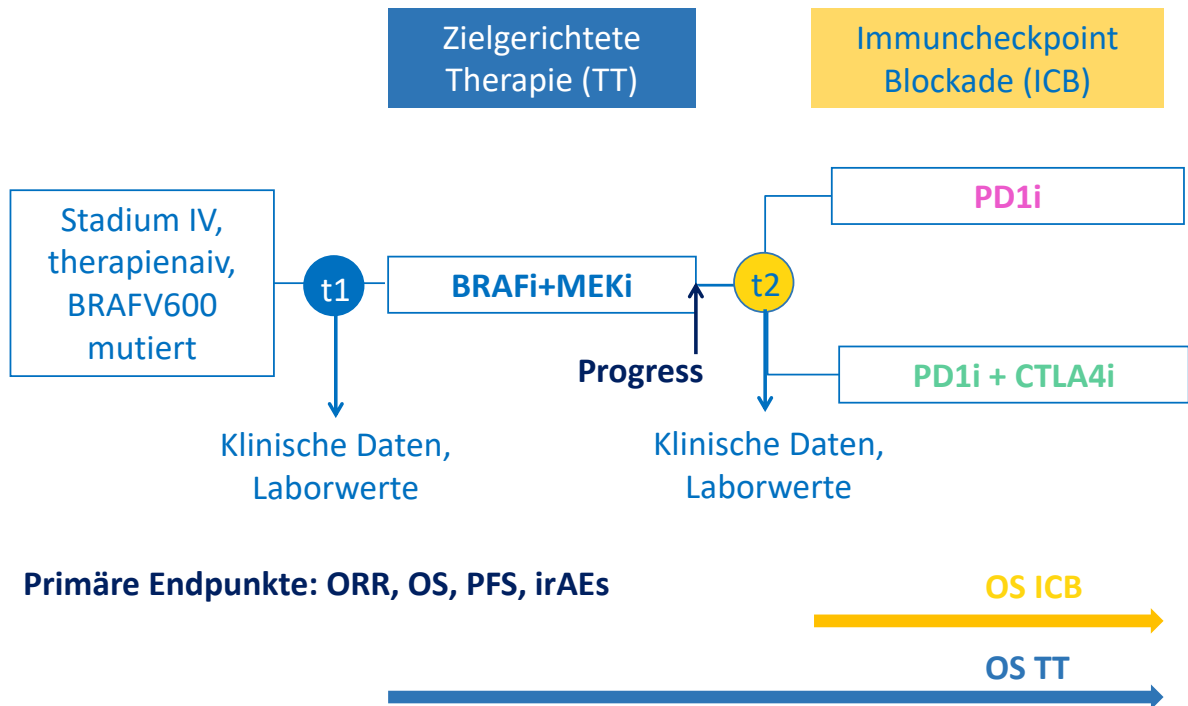


Abbildung 2: Studiendesign

BRAFi=BRAF Inhibitor=BRAF Inhibitor, MEKi=MEK Inhibitor=MEK Inhibitor, PD1i=PD-1 Inhibitor=PD-1 Inhibitor, CTLA4i=CTLA-4 Inhibitor=CTLA-4 Inhibitor, ORR=objektive Ansprechrates=objektive Ansprechrates, OS=overall survival=Gesamtüberleben, PFS=progression free survival=progressionsfreies Überleben, irAEs=immune-related adverse events=immunvermittelte Nebenwirkungen, OS ICB=overall survival since immune checkpoint blockade=Gesamtüberleben seit Einleitung der Immuncheckpoint Blockade, OS TT=overall survival since targeted therapy=Gesamtüberleben seit Einleitung der zielgerichteten Therapie

Die Datenbanken aller teilnehmenden Zentren wurden nach Melanompatienten mit nicht reseziertem Stadium III/ IV durchsucht, die in der Erstlinie mit einer dualen BRAF+MEK Inhibition therapiert wurden und anschließend eine PD-1

basierte ICB mit Nivolumab, Pembrolizumab oder der Kombination von Ipilimumab plus Nivolumab erhielten. Nur Patienten mit radiologischem Progress unter zielgerichteter Therapie wurden eingeschlossen. Patienten, die wegen Nebenwirkungen oder vor Resistenzentwicklung auf eine Zweitlinien-ICB umgestellt wurden, wurden ausgeschlossen. Weitere Ausschlusskriterien waren Uveamelanome und Schleimhautmelanome. Demographische und klinische Daten wurden von allen Patienten erhoben. Leukozytenwerte des Differentialblutbildes und die Laktatdehydrogenase wurden 0-31 Tage vor der ersten Gabe der TT (t1) und der ICB (t2) erhoben. Für den Fall, dass mehrere Blutwerte von einem Patienten vorlagen, wurden die mit dem kürzesten Zeitabstand zum Therapiebeginn verwendet. Das Studiendesign zeigt Abbildung 2. Die Studie wurde nach der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Eine Beratung durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg stufte diese anonymisierte, retrospektive Studie als unbedenklich und nicht genehmigungspflichtig ein (Anhang).

2.2 Definition von Endpunkten und Datenakquise

Primäre Endpunkte waren bestes Ansprechen (BOR) (RECIST 1.1), objektive Ansprechrates (ORR), Erkrankungskontrollrate (DCR), progressionsfreies Überleben (PFS) und Gesamtüberleben (OS). Das OS wurde von der ersten Applikation der zielgerichteten Therapie bis zum Todesdatum (OS TT) und von der ersten Gabe der Immuncheckpoint Blockade bis zum Todesdatum (OS ICB) berechnet. Patienten, die diese Endpunkte nicht erreicht haben, wurden zum Zeitpunkt des letzten Follow-Ups zensiert. Die objektive Ansprechrates (ORR) wurde berechnet, indem die Anzahl der Patienten mit komplettem (CR) und partiellem Therapieansprechen (PR) (BOR nach RECIST 1.1) durch die Anzahl aller Patienten geteilt wurde. Die Erkrankungskontrollrate (DCR) berechnete sich durch den Quotient der Anzahl der Kompletts- (CR), Partialremissionen (PR) und stabilen Erkrankungen (SD) (RECIST 1.1) mit der Anzahl aller Patienten.

Therapiebezogene Nebenwirkungen (AE) wurden nach den common terminology criteria for adverse events (CTCAE Version 5.0) kategorisiert.

2.3 Statistische Analyse

Die Patientendaten wurden aus den Datenbanken extrahiert. Die Datenanalyse wurde mit SPSS 25.0 durchgeführt. Dabei wurden der Exakte Fisher Test, McNemar Bowker und Mann-Whitney-U Test verwendet. Die Überlebensanalysen wurden mit Kaplan-Meier Kurven erstellt und der Log-Rank zum Kurvenvergleich durchgeführt. Ein zweiseitiger p-Wert von $<0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet. Die tabellarische Darstellung erfolgte mit Microsoft Excel.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv umfasst 99 Patienten, die in 9 europäischen Zentren behandelt wurden. Darunter Tübingen (n=20), Würzburg (n=19), Manchester (n=14), Köln (n=12), Essen (n=11), London (n=8), Regensburg (n=8), Mannheim (n=3) und Amsterdam (n=4). Unsere Kohorte inkludiert etwas mehr männliche (55,6%) als weibliche Patienten (44,4%). Das Melanom war bei 82,8% kutaner Herkunft, bei 17,2% war der Primarius unbekannt. Bei 66,7% unseres Patientenkollektivs konnte eine V600E Mutation nachgewiesen werden, bei 17,2% wurde eine V600K Mutation detektiert und bei 16,1% der Patienten wurde eine aktivierende V600 Mutation gefunden ohne genauere Spezifizierung des Aminosäureaustausches. Zum Zeitpunkt der Einleitung der zielgerichteten Therapie hatten bereits 30,3% der Patienten Hirnmetastasen (M1d). Weitere 23,2% der Patienten entwickelten unter der BRAF+MEK Inhibition Hirnmetastasen, sodass eine signifikante Verschiebung der M-Kategorie vom

Zeitpunkt t1 zu t2 festzustellen ist (M1d 30,3% vs. 53,5%, p=0,00). Die LDH und der ECOG veränderten sich nicht von t1 zu t2. Zu beiden Zeitpunkten waren im Median 3 Organsysteme von einer Metastasierung betroffen.

Tabelle 1: Klinisch-pathologische Charakteristika des Patientenkollektivs vor Einführung TT und ICB.

	Zielgerichtete Therapie (t1)	Immuntherapie (t2)	p[#]
Patientenanzahl	<i>n (%)</i>	<i>n (%)</i>	
M-Kategorie			
M1a	6 (6,1)	5 (5,1)	0,00
M1b	8 (8,1)	5 (5,1)	
M1c	54 (54,5)	36 (36,4)	
M1d	30 (30,3)	53 (53,5)	
fehlend	1 (1,0)	0 (0)	
ECOG			
0	69 (69,7)	64 (64,6)	0,76
1	23 (23,2)	25 (25,3)	
≥2	3 (3,0)	6 (6,1)	
fehlend	4 (4,0)	4 (4,0)	
LDH			
<1xULN	40 (40,4)	40 (40,4)	0,16
1-2xULN	27 (27,3)	37 (37,4)	
≥2xULN	21 (21,2)	19 (19,2)	
fehlend	11 (11,1)	3 (3,0)	

#McNemar-Bowker Test

Alle 99 Patienten erhielten als Erstlinientherapie eine BRAF+MEK Inhibition (Dabrafenib+Trametinib (n=85), Vemurafenib+Cobimetinib (n=6), Encorafenib+Binimetinib (n=8)). Nach Beendigung der zielgerichteten Therapie aufgrund primären oder sekundären Therapieversagens erfolgte bei 39 Patienten (39,4%) die Umstellung auf eine PD-1 Blockade (Pembrolizumab (n=27), Nivolumab (n=12)) und bei 60 Patienten (60,6%) wurde eine kombinierte ICB mit Ipilimumab plus Nivolumab eingeleitet. Zwischen Beendigung der TT und der ersten Gabe der ICB lagen im Median 8 Tage (Spanne 1-102). Insgesamt erhielten 28 Patienten nach der ICB noch andere Therapien (13 Patienten aus der PD-1 Gruppe und 15 Patienten aus der Ipilimumab plus Nivolumab Gruppe). Die meisten Patienten hatten eine weitere Therapielinie (n=22), 6 Patienten

hatten 2-4 Linien an nachfolgenden Therapien. Reexposition mit zielgerichteter Therapie war das häufigste Therapieregime (n=20). Andere Therapien involvierten Chemotherapie (n=5), klinische Studien (n=2) und andere Immuntherapien (n=6).

3.2 Verlauf der primären zielgerichteten Therapie (TT)

Die mediane Dauer der BRAF+MEK Inhibition lag bei 6,5 Monaten (95% KI 1,8-38,3) und das mediane PFS bei 5,8 Monaten (95% KI 5,0-6,6), (Tabelle 2). Die ORR und DCR der zielgerichteten Therapie waren 46,4% und 59,6%. Patienten mit normwertiger LDH vor Therapiebeginn (n=40) zeigten ein PFS von 6,2 Monaten (95% KI 3,7-8,8) verglichen mit 4,4 Monaten (95% KI 3,7-5,1) in Patienten mit erhöhter LDH (n=48). Eine normwertige Serum-LDH korrelierte mit einem besserem OS TT (19,8 Monate vs. 11,7 Monate, p=0,11). Die ORR in den beiden LDH-Gruppen betrug 72,5% bzw. 54,2%. Das mediane PFS von Patienten mit bekannter Hirnmetastasierung vor TT (n=30) und ohne Hirnmetastasierung vor TT (n=69) unterschied sich nicht in unserer Kohorte (5,8 Monate (95% KI 4,4-7,2) vs. 5,4 Monate (95% KI 4,3-6,4), (p=1,0). Das intrakranielle PFS TT lag bei 6,0 Monaten (95% KI 4,6-7,5), (n=30). Das mediane Überleben (OS TT) der Gesamtkohorte betrug 19,8 Monate (95% KI 16,4-23,2). In der Kohorte mit Hirnmetastasierung vor TT betrug das OS TT ebenfalls 19,8 Monate (95% KI 7,8-31,9).

3.3 Verlauf der sekundären Immuncheckpoint Blockade (ICB)

3.3.1 Ansprechrate und Gesamtüberleben

Das mediane PFS von der ersten Gabe der ICB betrug für PD-1 Monotherapie 2,6 Monate (95% KI 2,0-3,1) und 2,0 Monate (95% KI 1,4-2,6) für die kombinierte ICB (Abbildung 3). Das OS lag bei 8,4 (95% KI 5,1-11,7) und 7,2 Monaten (95%

KI 5,2-9,1) für Mono- und Kombinationstherapie ($p=0,86$), (Abbildung 4). Ein objektives Therapieansprechen konnte in 18,0% ($n=7$) bzw. 15,0% ($n=9$) beobachtet werden ($p=0,70$). Die DCR war geringfügig höher unter PD-1 Monotherapie (25,7% ($n=10$)) als unter Kombinations-ICB (18,3% ($n=11$)), ($p=0,39$). Die mediane Anzahl an Therapiedosen lag bei 4 (Spanne 1-42) für PD-1 Blockade und 3 (Spanne 1-27) für die kombinierte ICB.

Tabelle 2: Verlauf der primären TT und sekundären ICB mit Vergleich von PD-1 Blockade und kombinierter PD-1 plus CTLA-4 Blockade.

	TT (n=99)	PD-1 (n=39)	PD-1+CTLA- 4 (n=60)	p
	<i>Median (95%KI)</i>	<i>Median (95%KI)</i>	<i>Median (95%KI)</i>	
Dauer (Monate) [Bereich]	6,5 [1,8-38,3]			
Zyklen (n) [Bereich]		4,0 [1-42]	3,0 [1-27]	0,02[^]
PFS (Monate)	5,8 (5,0-6,6)	2,6 (2,0-3,1)	2,0 (1,4-2,6)	0,15 [§]
OS (Monate) von Beginn der Therapie	19,8 (16,4- 23,2)	8,4 (5,1-11,7)	7,2 (5,2-9,1)	0,86 [§]
Zeit bis ICB (Tage) [Bereich]		9 [1-62]	8 [1-102]	0,57 [^]
	<i>n (%)</i>	<i>n (%)</i>	<i>n (%)</i>	p
BOR				
CR	2 (2,0)	1 (2,6)	1 (1,7)	0,37 [#]
PR	44 (44,4)	6 (15,4)	8 (13,3)	
SD	13 (13,1)	3 (7,7)	2 (3,3)	
PD	37 (37,4)	22 (56,4)	44 (73,3)	
unbekannt	3 (3,0)	7 (18,0)	5 (8,3)	
BOR Mit Hirnmetastasen				
CR	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,82 [#]
PR	16 (53,3)	2 (10,0)	3 (9,1)	
SD	5 (16,7)	1 (5,0)	1 (3,0)	
PD	8 (26,7)	13 (65,0)	25 (75,8)	
unbekannt	1 (3,3)	4 (20,0)	4 (12,1)	
BOR Ohne Hirnmetastasen				
CR	2 (2,9)	1 (5,3)	1 (3,7)	0,44 [#]
PR	28 (40,6)	4 (21,1)	5 (18,5)	
SD	8 (11,6)	2 (10,5)	1 (3,7)	

PD	29 (42,0)	9 (47,4)	19 (70,4)	
unbekannt	2 (2,9)	3 (15,8)	1 (3,7)	

Exakter Fisher Test (#), Log-Rank Test (§) oder Mann-Whitney-U Test (^) zum Vergleich von PD-1 und PD-1+CTLA-4; *gleichzeitige Strahlentherapie TT: WBRT n=3, SRS n=7; PD-1: WBRT n=9, SRS n=3, PD-1+CTLA-4: WBRT n=5, SRS n=2

Patienten ohne Hirnmetastasierung (n=46) vor der Immuntherapie zeigten ein besseres Ansprechen auf die Therapie. Die ORR war 26,3% (n=5/19) für PD-1 Inhibition und 22,2% (n=6/27) für die Kombinations-ICB. Die ORR in Patienten mit Hirnmetastasierung (n=53) war 10,0% (n=2/20) für PD-1 Monotherapie und 9,1% (n=3/33) für die kombinierte ICB. Eine zusätzliche Strahlentherapie neben der ICB wurde bei 19 Patienten durchgeführt. Eine Ganzhirnbestrahlung (WBRT) erhielten 14 Patienten und eine stereotaktische Bestrahlung (SRS) wurde bei 5 Patienten eingesetzt. Unter Patienten mit Hirnmetastasierung und zweifach erhöhter LDH (>2xULN) und in Patienten mit Hirnmetastasierung und einem ECOG ≥ 1 wurde kein einziges Therapieansprechen auf eine Zweitlinien-ICB beobachtet.

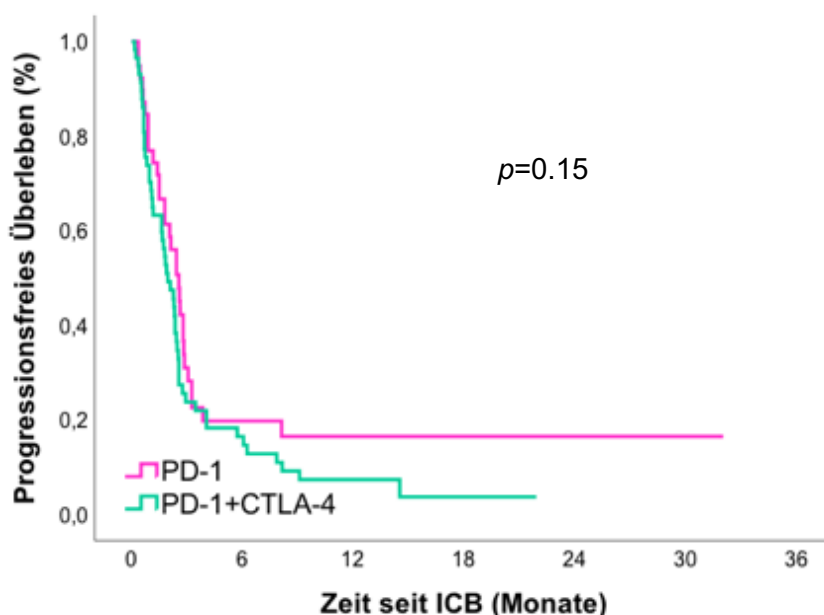


Abbildung 3: Kaplan-Meier Analyse zum PFS unter PD-1 Blockade und kombinierter PD-1 plus CTLA-4 Blockade.

Tabelle 3: Medianes PFS und 95% KI zur Kaplan-Meier Analyse in Abbildung 3.

	Ereignis	zensiert	mOS	95% KI
PD-1 (39)	31	6	2,6	2,0-3,1
PD-1+CTLA-4 (60)	53	7	2,0	1,4-2,6

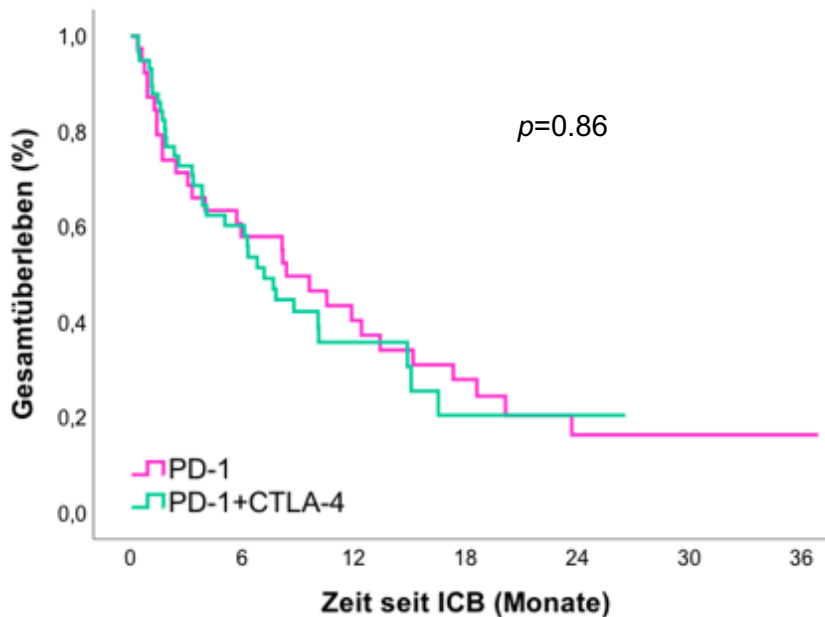


Abbildung 4: Kaplan-Meier Analyse zum OS unter PD-1 Blockade und kombinierter PD-1 plus CTLA-4 Blockade.

Tabelle 4: Medianes OS und 95% KI zur Kaplan-Meier Analyse in Abbildung 4.

	Ereignis	zensiert	mOS	95% KI
PD-1 (39)	29	10	8,4	5,1-11,7
PD-1+CTLA-4 (60)	34	26	7,2	5,2-9,1

Das Ansprechen auf die ICB spiegelte sich in einem verbesserten PFS und OS wieder (Abbildungen 5 und 6). In der Kaplan-Meier Analyse wurde das mediane OS von Ansprechern (n=16) nicht erreicht, wohingegen es bei Patienten, die einen Progress unter der ICB hatten (n=66) bei 6,8 Monaten (95% KI 4,3-9,3) lag (p=0,00). Ebenfalls wurde das mediane PFS unter den Ansprechern nicht

erreicht. Bei Nicht-Ansprechern lag es bei 1,8 Monaten (95% KI 1,3-2,3). Unter den 5 Patienten, die als bestes Therapieansprechen „stable disease“ erreichten, errechnete sich ein medianes PFS von 5,7 Monaten (95% KI 2,4-9,1) und ein medianes OS von 12,4 Monaten (95% KI 6,9-17,9).

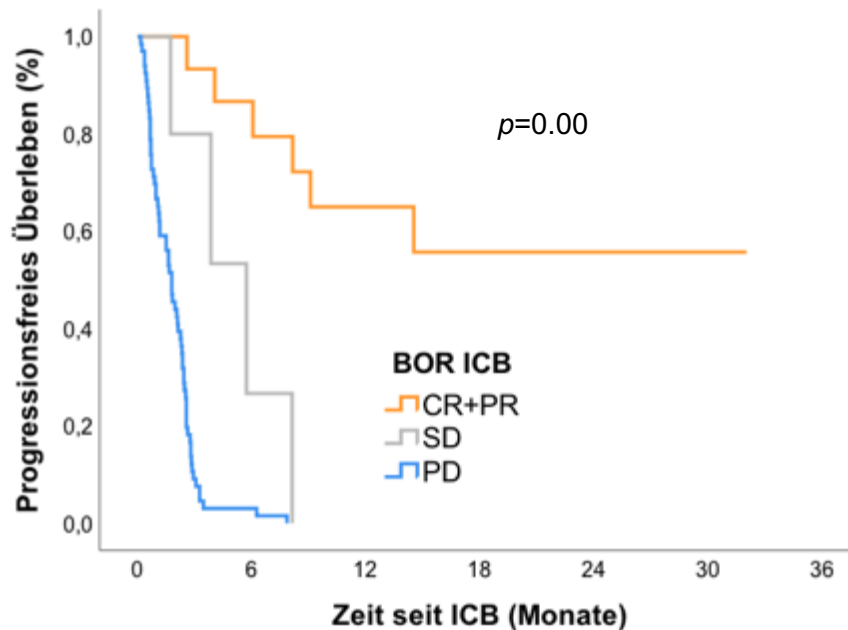


Abbildung 5: Kaplan-Meier Analyse zum PFS ICB in Abhängigkeit der BOR auf Zweitlinien-ICB.

Tabelle 5: Medianes PFS und 95% KI zur Kaplan-Meier Analyse in Abbildung 5.

	Ereignis	zensiert	mPFS	95% KI
CR+PR (16)	6	10	n.r.	
SD (5)	4	1	5.7	2.4-9.1
PD (66)	66	0	1.8	1.3-2.3

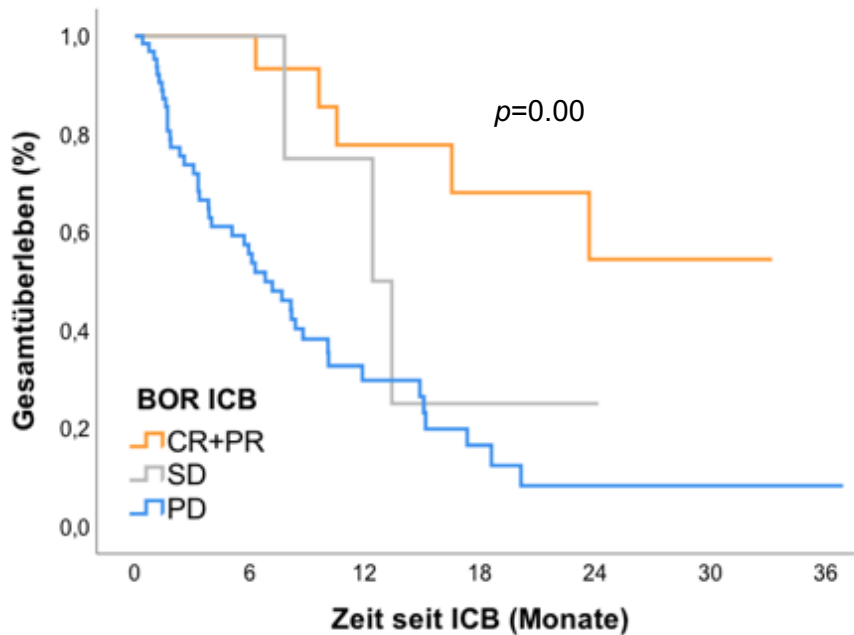


Abbildung 6: Kaplan-Meier Analyse zum OS ICB in Abhängigkeit der BOR auf Zweitlinien-ICB.

Tabelle 6: Medianes OS und 95% KI zur Kaplan-Meier Analyse in Abbildung 6.

	Ereignis	zensiert	mOS	95% KI
CR+PR (16)	5	11	n.r.	
SD (5)	3	2	12.4	6.9-17.9
PD (66)	44	22	6.8	4.3-9.3

3.3.2 Vergleich prognostischer Faktoren vor PD-1 und PD-1 plus CTLA-4 Blockade

Prognostische Faktoren vor der ICB waren ausgeglichen in der Mono- und Kombinations-ICB Gruppe (Tabelle 7). Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen der M-Kategorie und der Serum-LDH. Zu Beginn der ICB waren die

Patienten in der Kombinations-ICB Gruppe signifikant jünger als die der Monotherapie Gruppe (p=0,01).

Tabelle 7: Vergleich von Patientencharakteristika vor PD-1 bzw. kombinierter PD-1 plus CTLA-4 Blockade.

	PD-1	PD-1+CTLA-4	p
Patientenanzahl	<i>n</i> =39 (%)	<i>n</i> =60 (%)	
Geschlecht			
männlich	19 (48,7)	36 (60,0)	0,31 [#]
weiblich	20 (51,3)	24 (40,0)	
Alter bei Start ICB			
Median (Bereich)	63 [25-85]	53 [19-78]	0,01[^]
M-Kategorie			
M1a	2 (5,1)	3 (5,0)	1,00 [#]
M1b	2 (5,1)	3 (5,0)	
M1c	14 (35,9)	22 (36,7)	
M1d	21 (53,8)	32 (53,3)	
ECOG			
0	23 (59,0)	41 (68,3)	0,13 [#]
1	9 (23,1)	16 (26,7)	
≥2	5 (12,9)	1 (1,7)	
fehlend	2 (5,1)	2 (3,3)	
LDH			
<1xULN	17 (43,6)	23 (38,3)	0,92 [#]
1-2xULN	13 (33,3)	24 (40,0)	
≥2xULN	8 (20,5)	11 (18,3)	
fehlend	1 (2,6)	2 (3,3)	
Anzahl metastatischer Organe			
Median [Bereich]	3 [1-6]	3 [1-9]	0,64 [^]
Toxizität			
Jede	15 AE in 10 Patienten (25,6)	72 AE in 36 Patienten (60,0)	0,00 [#]
Grad 3/4	1 (2,6)	28 (46,7)	
Kolitis	0 (0)	12 (20,0)	
Hepatitis	0 (0)	9 (15,0)	

Exakter Fisher Test (#) oder Mann-Whitney-U Test (^) zum Vergleich der Gruppen

3.3.3 Nebenwirkungen

Immuntherapiebezogene Nebenwirkungen jedweden Grades wurden bei 10 Patienten unter PD-1 Blockade (25,6%) und bei 36 Patienten unter Kombinations-ICB (60,0%) beobachtet. Grad 3 und 4 Nebenwirkungen nach den CTCAE Kriterien traten bei 1 Patient (2,6%) der PD-1 Kohorte und bei 28 Patienten (46,7%) der Kombinations-ICB Kohorte auf. Kolitiden und Hepatitiden wurden hierunter am häufigsten beobachtet (Tabelle 7). Ein vorzeitiges Therapieende aufgrund von Nebenwirkungen betraf 2 Patienten der Monotherapie Kohorte (5,1%) und 12 Patienten der Kombinations-ICB Kohorte (20,0%). Medikamenten-assoziierte Todesfälle wurden nicht berichtet. Es konnte keine Korrelation von Nebenwirkung und Therapieansprechen festgestellt werden.

3.3.4 Biomarker basierte Analyse von Ansprechen auf ICB

3.3.4.1 Klinisch-pathologische Charakteristika

Um Patienten zu identifizieren, die nach Versagen der zielgerichteten Therapie auf eine ICB ansprechen, wurden sie in Ansprecher (CR oder PR als BOR auf ICB) und Nicht-Ansprecher (PD) aufgeteilt. In Ansprechern wurde eine Tendenz zu niedrigerer M-Kategorie beobachtet ($p=0,09$), (Tabelle 8). Unter den ICB-Ansprechern waren weniger von intrakranieller Metastasierung betroffen (37,5% vs. 56,1%). Die LDH korrelierte nicht mit dem Ansprechen, wobei eine $LDH \geq 2 \times ULN$ nur in einem Patienten zu einem Therapieansprechen führte.

Tabelle 8: Klinisch-pathologische Charakteristika der Patienten mit (CR bzw. PR) oder ohne Ansprechen (PD) auf Zweitlinientherapie mit ICB.

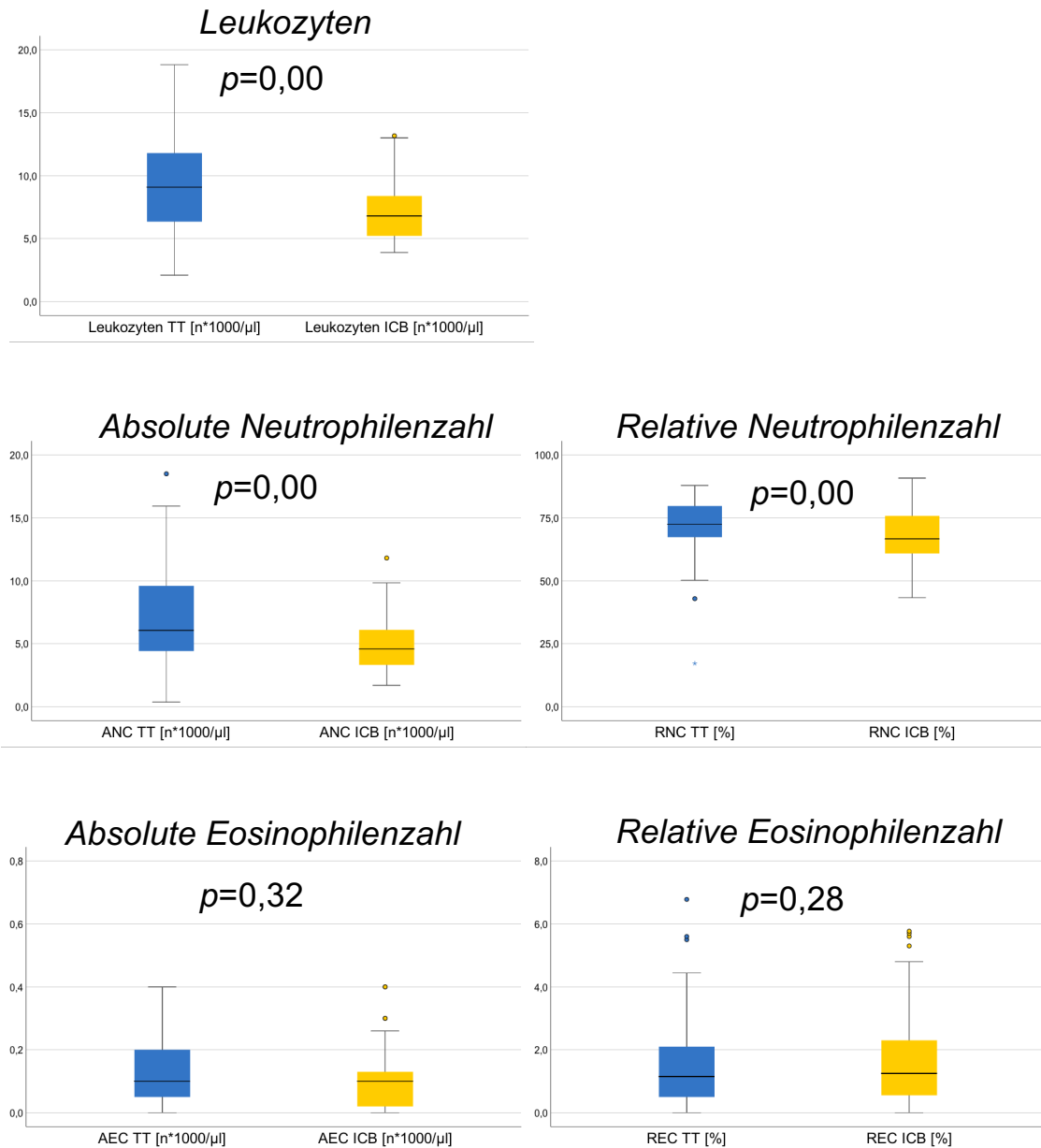
	CR+PR	PD	p[#]
Patientenanzahl	<i>n</i> =16 (%)	<i>n</i> =66 (%)	
Geschlecht			
männlich	8 (50,0)	41 (62,1)	0,41
weiblich	8 (50,0)	25 (37,9)	
M-stage t2			
M1a	2 (12,5)	1 (1,5)	0,09
M1b	1 (6,3)	2 (3,0)	
M1c	7 (43,8)	26 (39,4)	
M1d	6 (37,5)	37 (56,1)	
ECOG t2			
0	13 (81,3)	44 (66,7)	0,37
>1	3 (18,8)	22 (33,3)	
LDH t2			
<1xULN	7 (43,8)	28 (42,4)	0,44
1-2xULN	8 (50,0)	22 (33,3)	
≥2xULN	1 (6,3)	14 (21,2)	
fehlend	0 (0)	2 (3,0)	
Anzahl metastatischer Organe t2			
<3	6 (37,5)	20 (30,3)	0,77
≥3	10 (62,5)	44 (66,7)	
fehlend	0 (0)	2 (3,0)	
ICB Regime			
PD-1 mono	7 (43,8)	22 (33,3)	0,56
PD-1+CTLA-4	9 (56,3)	44 (66,7)	

Exakter Fisher Test

3.3.4.2 Laborwerte

Die Differentialblutbilder der Zeitpunkte vor Therapieeinleitung TT (t1-blaue Boxplots) und ICB (t2-gelbe Boxplots) zeigen eine unterschiedliche Zellverteilung. Im Verlauf der Therapie kommt es zu einer teilweise signifikanten Verschiebung der Zellen. Die Anzahl der Leukozyten fällt von t1 zu t2 signifikant ab ($p=0,00$), (Abbildung 7). Unter den Neutrophilen, die den größten Anteil der Leukozyten darstellen, ist die Reduktion sowohl in absoluter als auch relativer Zahl nachweisbar. Darüber hinaus fallen die absolute Lymphozyten- und

Monozytenzahl von t1 zu t2 ab. Die relative Monozyten- und Lymphozytenzahlen steigen dagegen.



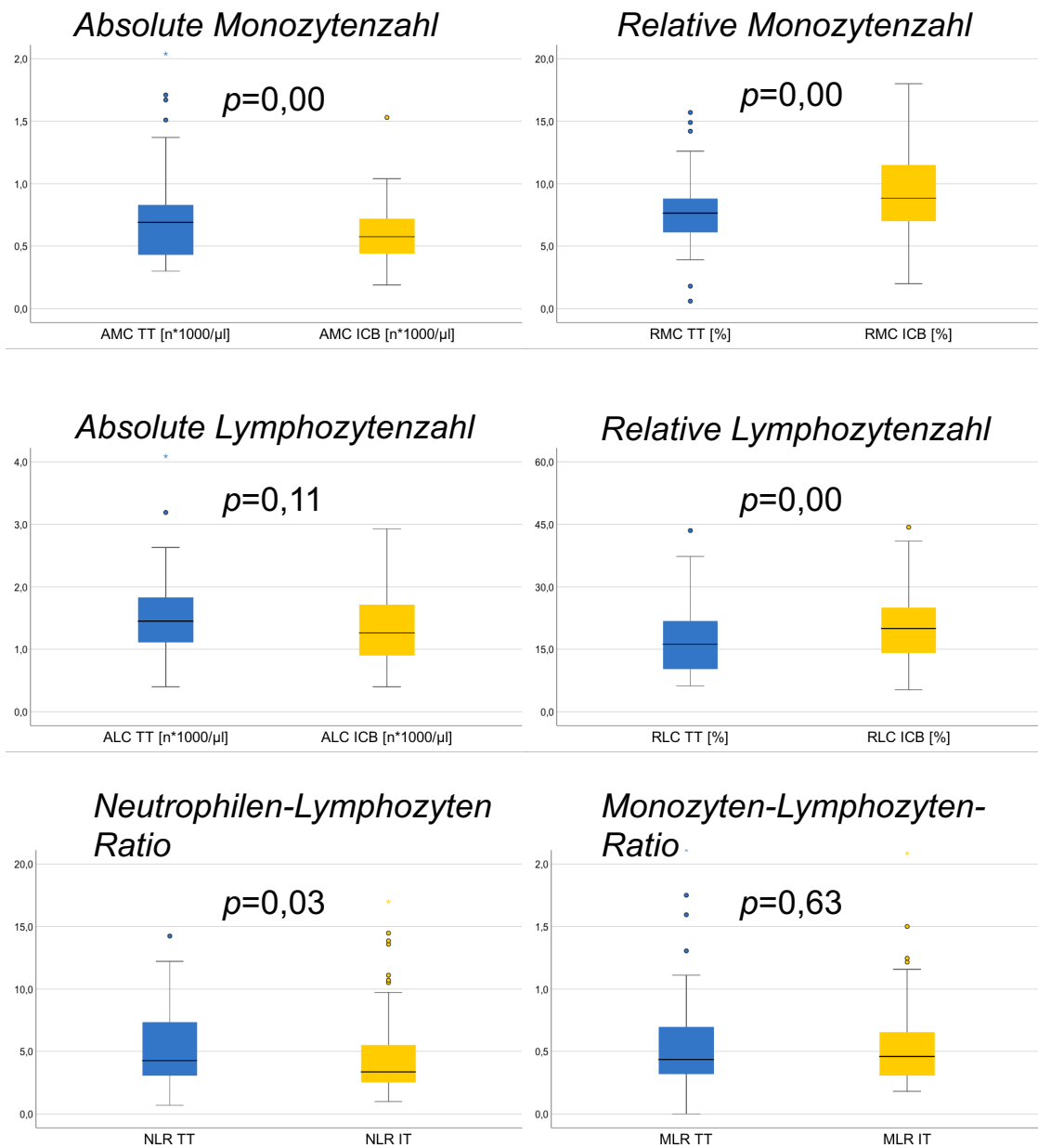


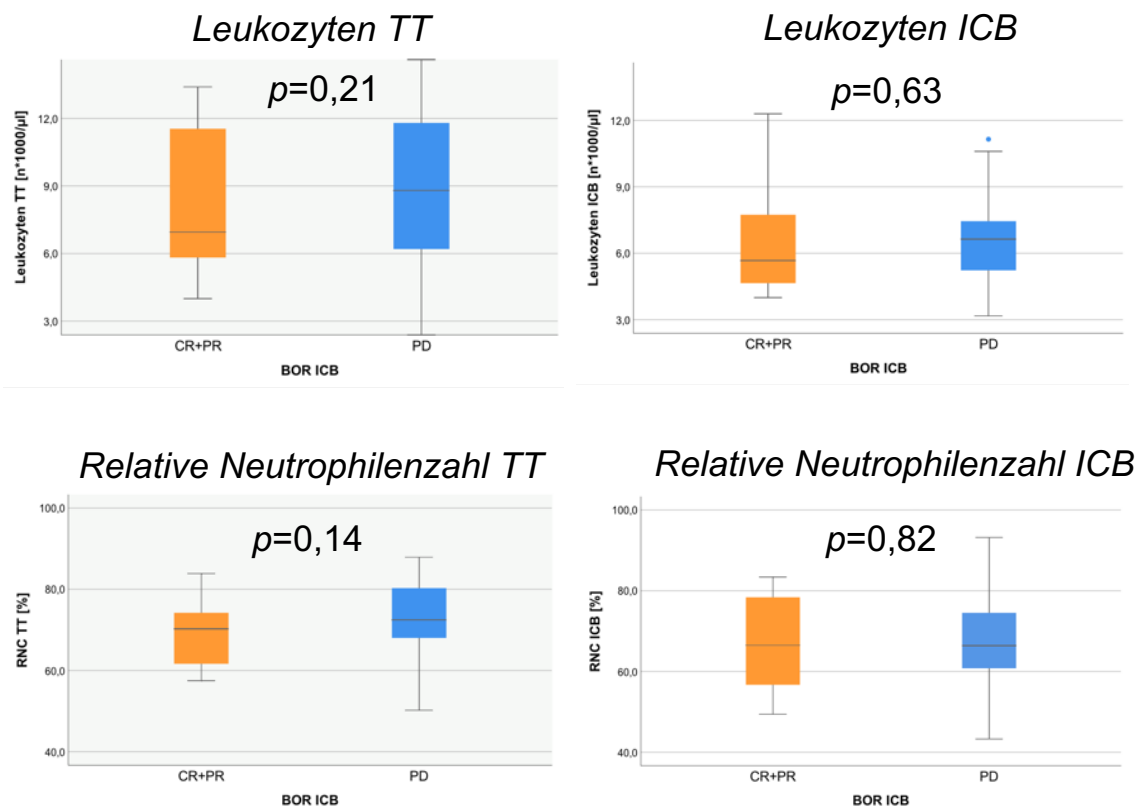
Abbildung 7: Vergleich von Laborwerten vor TT und vor ICB der Gesamtkohorte.

TT=targeted therapy=zielgerichtete Therapie, ICB=immune checkpoint blockade=Immunchekpoint Blockade, ANC=absolute neutrophil count=absolute Neutrophilenzahl, RNC=relative neutrophil count=relative Neutrophilenzahl, AEC=absolute eosinophil count=absolute Eosinophilenzahl, REC=relative eosinophil count=relative Eosinophilenzahl, AMC=absolute monocyte count=absolute Monozytenzahl, RMC=relative monocyte count=relative Monozytenzahl, ALC=absolute lymphocyte count=absolute Lymphozytenzahl, RLC=relative lymphocyte count=relative Lymphozytenzahl, NLR=neutrophil-to-

lymphocyte ratio=Neutrophilen-Lymphozyten Ratio, MLR=monocyte-to-lymphocyte ratio=Monozyten-Lymphozyten-Ratio

Wilcoxon Test zum Vergleich der Gruppen

Um Unterschiede zwischen Ansprechern (CR oder PR als BOR) und Nicht-Ansprechern (PD) auf die Zweitlinien-ICB festzustellen, wurde die Verteilung der Blutwerte zu beiden Zeitpunkten genauer analysiert. Die folgenden Abbildungen stellen die Blutbilder von Ansprechern (orange) und Nicht-Ansprechern (blau) gegenüber. Die linke Spalte (graue Graphiken) kennzeichnet die Blutwerte vor der zielgerichteten Therapie. Die rechte Spalte zeigt die Blutwerte vor der Immuncheckpoint Blockade.



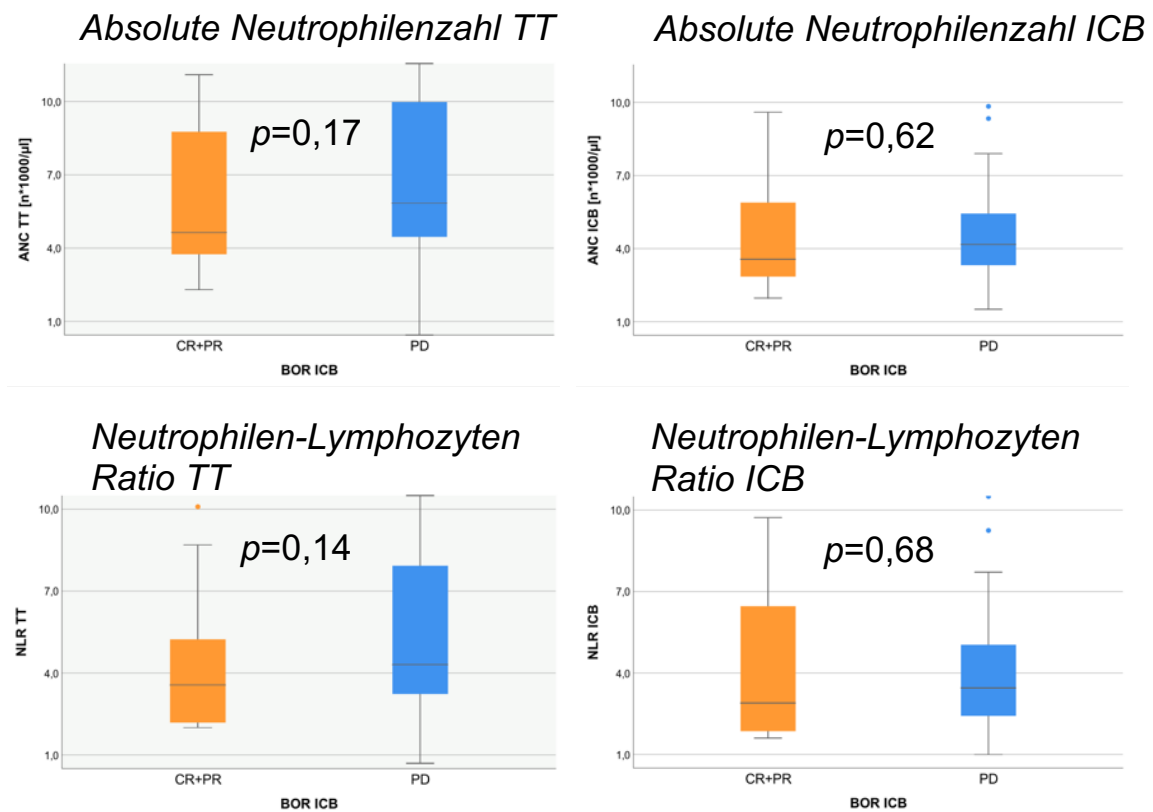


Abbildung 8: Vergleich von Biomarkern (I) vor TT und vor ICB zwischen Ansprechern (CR und PR) und Nicht-Ansprechern (PD) auf Zweitlinien-ICB.

TT=targeted therapy=zielgerichtete Therapie, ICB=immune checkpoint blockade=Immunecheckpoint Blockade, CR=complete response=komplettes Therapieansprechen, PR=partial response=partiell Therapieansprechen, PD=progressive disease=Krankheitsprogress, BOR ICB=best overall response on immune checkpoint blockade=bestes Therapieansprechen auf Immunecheckpoint Blockade

Mann-Whitney-U Test zum Vergleich der Gruppen

Sowohl vor TT als auch vor ICB zeigten Ansprecher eine niedrigere absolute Neutrophilenzahl und Neutrophilen-Lymphozyten-Ratio als Nicht-Ansprecher (Abbildung 8). Diese Unterschiede waren nicht signifikant.

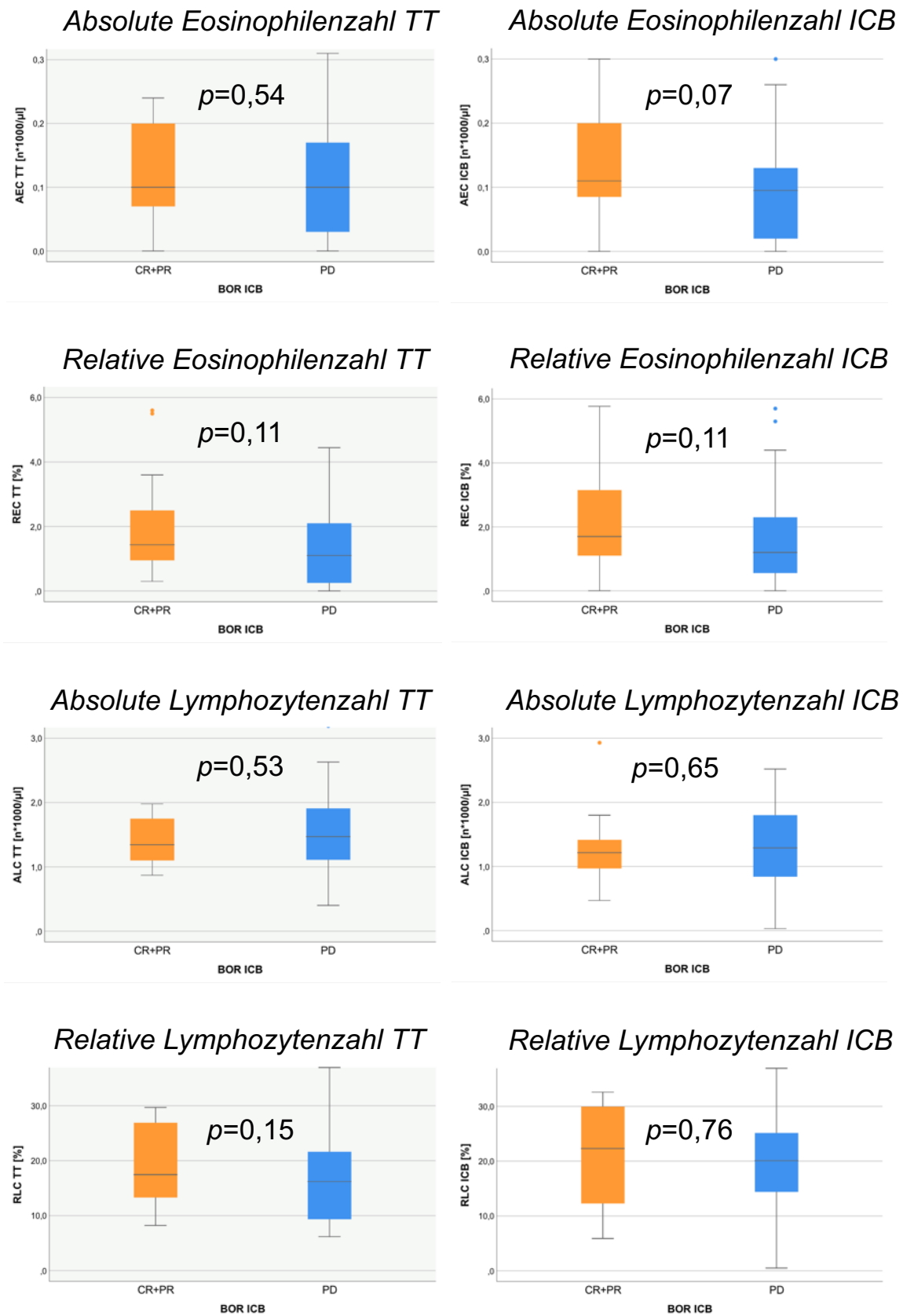
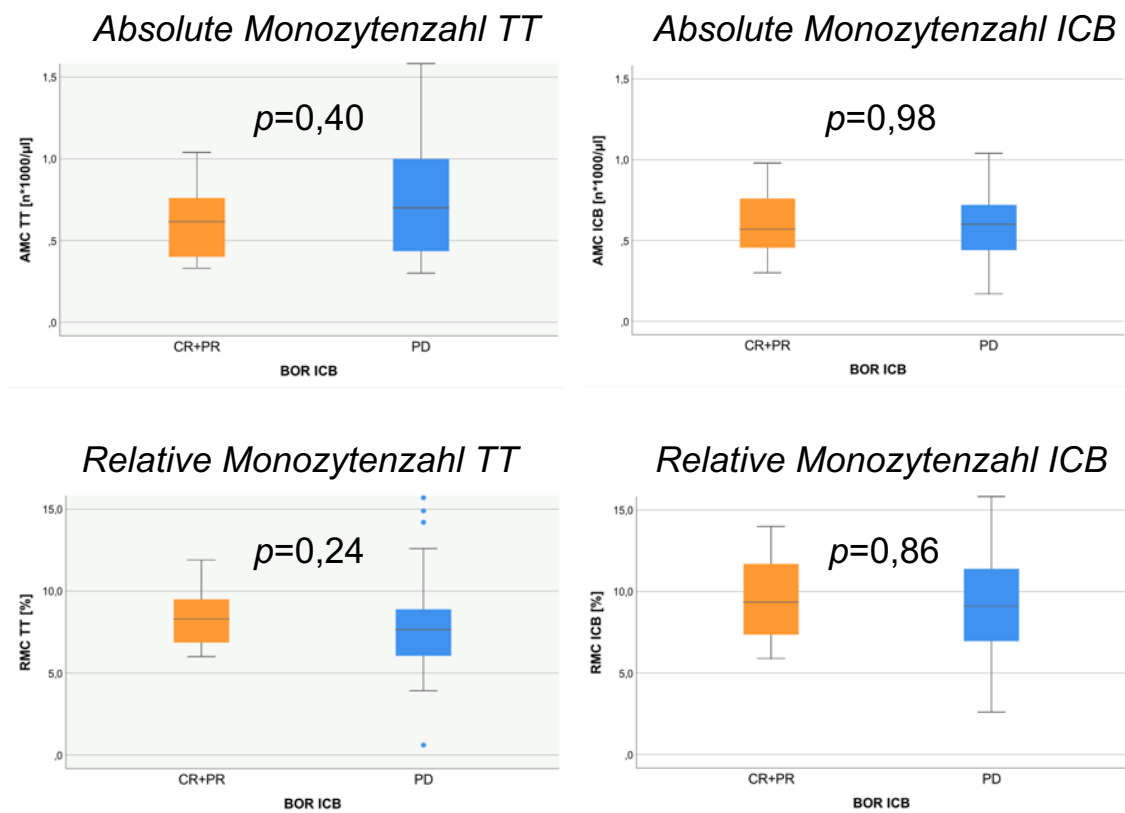


Abbildung 9: Vergleich von Biomarkern (II) vor TT und vor ICB zwischen Ansprechern (CR und PR) und Nicht-Ansprechern (PD) auf Zweitlinien-ICB.

TT=targeted therapy=zielgerichtete Therapie, ICB=immune checkpoint blockade=Immunchekpoint Blockade, CR=complete response=komplettes Therapieansprechen, PR=partial response=partiell Therapieansprechen, PD=progressive disease=Krankheitsprogress, BOR ICB= best overall response on immune checkpoint blockade=bestes Therapieansprechen auf Immunchekpoint Blockade

Mann-Whitney-U Test zum Vergleich der Gruppen

Es gab eine Tendenz zu höheren absoluten Eosinophilen in Ansprechern ($p=0,07$), (Abbildung 9). Insgesamt stellten sich in unserem Datensatz aber keine signifikanten Korrelationen von klinischen oder Labormarkern mit einem bestimmten Ergebnis der ICB dar.



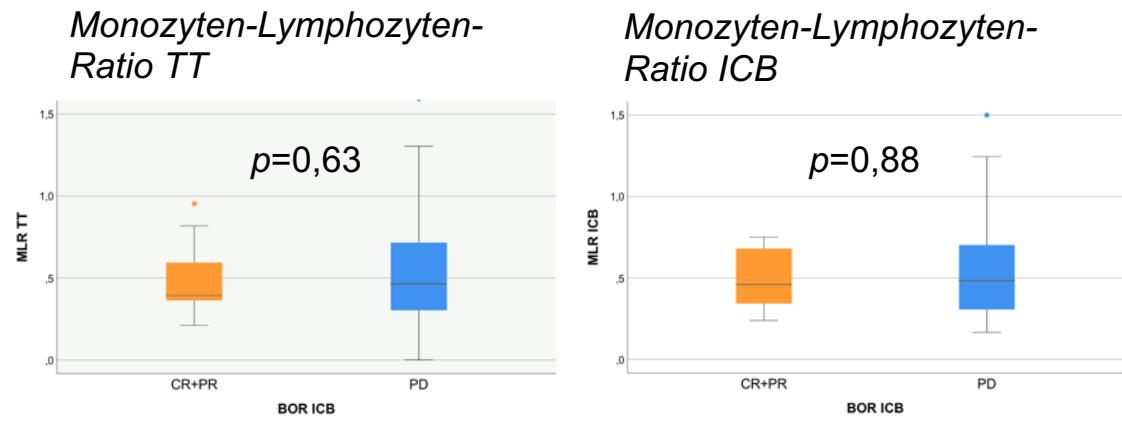


Abbildung 10: Vergleich von Biomarkern (III) vor TT und vor ICB zwischen Ansprechern (CR und PR) und Nicht-Ansprechern (PD) auf Zweitlinien-ICB.

TT=targeted therapy=zielgerichtete Therapie, ICB=immune checkpoint blockade=Immuncheckpoint Blockade, CR=complete response=komplettes Therapieansprechen, PR=partial response=partiell Therapieansprechen, PD=progressive disease=Krankheitsprogress, BOR ICB= best overall response on immune checkpoint blockade=bestes Therapieansprechen auf Immuncheckpoint Blockade

Mann-Whitney-U Test zum Vergleich der Gruppen

3.3.5 Einfluss von primärer TT auf sekundäre ICB

Das OS ICB korrelierte signifikant mit dem OS TT ($p < 0,00$), (Abbildung 11). Eine Korrelation des PFS TT mit dem PFS ICB gab es nicht (Abbildung 12). Unter Patienten, die zum letzten Zeitpunkt zensiert waren und keinen Progress unter ICB hatten, zeigte sich ein Trend zu einem kürzeren PFS unter TT (Abbildung 12).

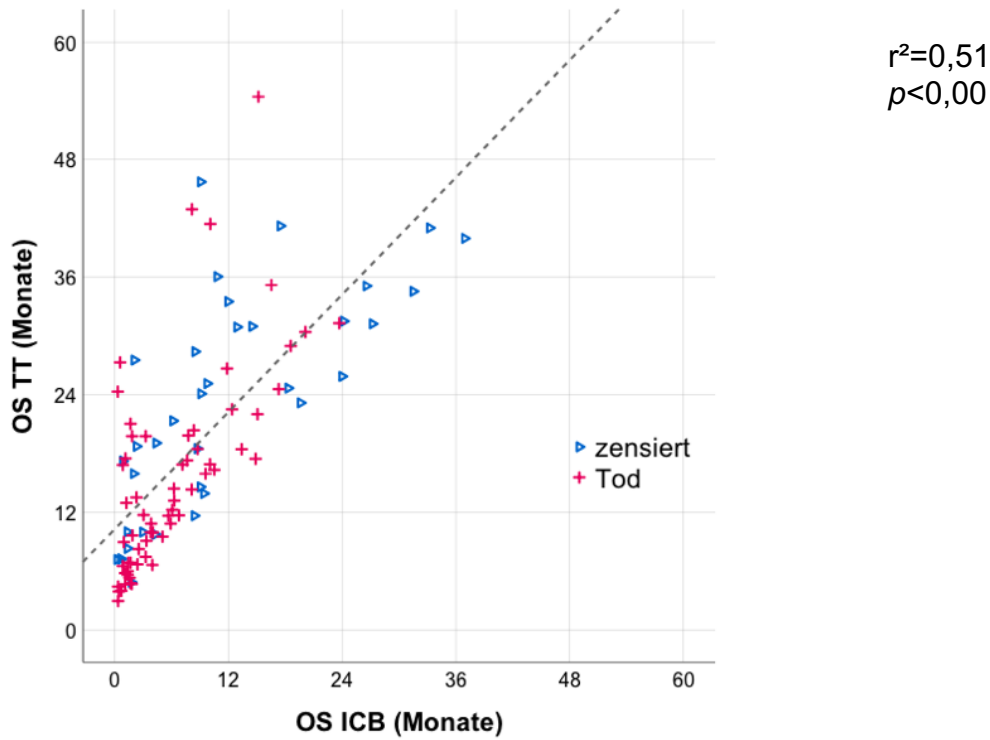


Abbildung 11: Korrelation des OS TT mit dem OS ICB.

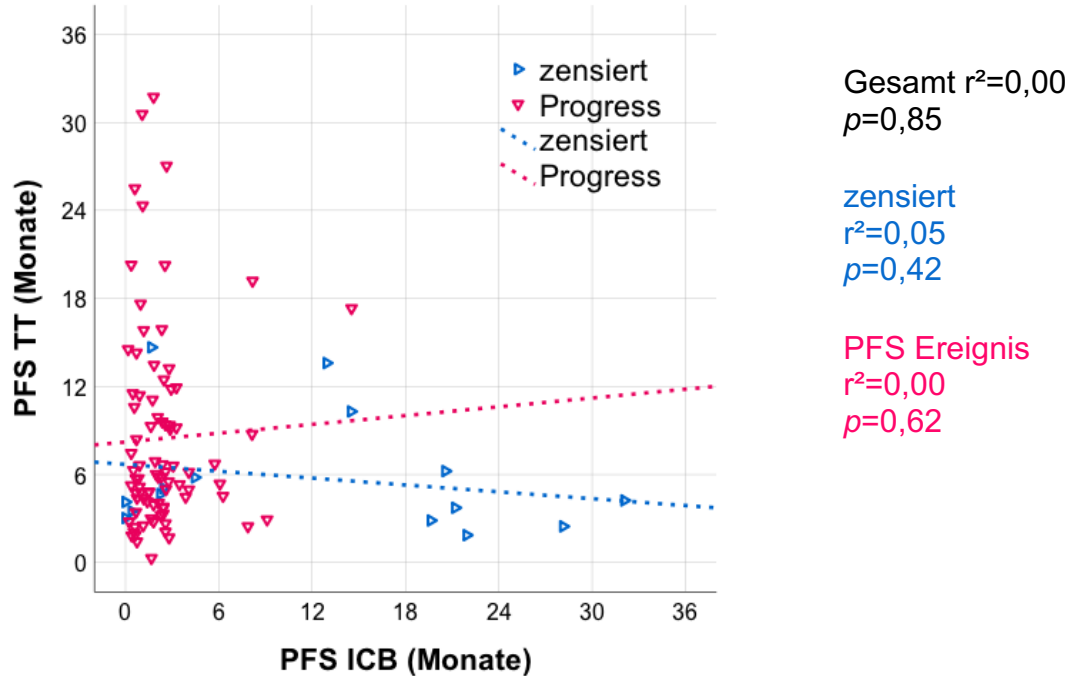


Abbildung 12: Korrelation des PFS TT mit dem PFS ICB in Abhängigkeit eines Progresses unter ICB.

Unter den 16 Ansprechern auf ICB gab es 5 Patienten (31,3%), die als bestes Ansprechen auf zielgerichtete Therapie PD aufwiesen. Dies zeigt, dass eine primäre Resistenz gegen TT ein Ansprechen auf PD-1 basierte ICB nicht ausschließt.

Tabelle 9: Korrelation der BOR TT mit der BOR ICB.

	BOR TT					
	CR	PR	SD	PD	unbekannt	<i>p</i> [#]
BOR ICB						
CR	0	0	1	1	0	0,00
PR	0	8	2	4	0	
SD	0	3	1	1	0	
PD	2	29	7	25	3	
unbekannt	0	4	2	6	0	

McNemar-Bowker Test

4 Diskussion

Die Behandlung von fortgeschrittenen Melanompatienten mit Therapieversagen einer zielgerichteten Therapie stellt eine große klinische Herausforderung dar. Sobald Resistenzen gegen BRAF+MEK Inhibitoren einsetzen, schreitet die Erkrankung oftmals rasch fort. Immuncheckpoint Inhibitoren werden bei vielen Patienten in der Hoffnung eingesetzt die Krankheit damit kontrollieren zu können. Bis zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieser Arbeit gab es keine Daten wie effektiv eine PD-1 oder PD-1 plus CTLA-4 Blockade in Patienten mit Resistenz gegen eine duale BRAF+MEK Inhibition ist. Unsere Kohorte stellt die größte von metastasierten Melanompatienten dar, die mit PD-1 basierter Immuntherapie nach radiologischem Progress unter kombinierter BRAF+MEK Inhibition behandelt wurde.

4.1 Charakteristika des Patientenkollektivs

Vor Beginn der TT hatten 30% der eingeschlossenen Patienten intrakranielle Metastasen und 48,5% eine erhöhte Serum-LDH. Dies verdeutlicht die fortgeschrittene Erkrankung und schlechte Prognose eines Großteils unseres Patientenkollektivs. Siebenunddreißig Patienten (37,4%) erreichten als BOR PD, was das kurze PFS von 5,8 Monaten und die geringe ORR von 46,4% erklärt. Dies ist kürzer als das mediane PFS von 9,3 Monaten, das in der Phase III COMBI-d Studie [40] beobachtet wurde. Diese Studie schloss allerdings Patienten mit Hirnmetastasen aus. Unsere Daten sind eher vergleichbar mit den veröffentlichten Daten der COMBI-MB Studie, die ein medianes intrakranielles PFS von 5,6 Monaten berichtet [20]. Die Korrelation von erhöhter Serum-LDH mit Erkrankungsprogress unter zielgerichteter Therapie konnten wir reproduzieren [41]. In unserer Kohorte hatten Patienten mit erhöhter LDH (n=48) ein medianes PFS von 4,4 Monaten (95% KI 3,7-5,1). Das mediane PFS von 6,2 Monaten (95% KI 3,7-8,8) in Patienten mit normwertiger LDH ist dennoch niedriger als es zu erwarten wäre. Dies liegt an hinzukommenden ungünstigen prognostischen Charakteristika in dieser Kohorte. Die mediane Anzahl an Organen, die von Metastasierung betroffen waren, betrug bei diesen 40 Patienten 3. Nur 14 Patienten unserer Kohorte hatten eine Serum-LDH innerhalb des Referenzbereiches und weniger als 2 metastasierte Organe zu Beginn der TT. Das mediane PFS der TT war bei ihnen länger (9,3 Monate (95% KI 0,4-18,2)). Es wird deutlich, dass in der klinischen Praxis zielgerichtete Therapien als Erstlinientherapie vorrangig in Patienten mit schlechten prognostischen Merkmalen, wie Präsenz von Hirnmetastasen und hoher Tumorlast eingesetzt werden [22, 42]. Grund dafür mag die Notwendigkeit einer schnell wirksamen und gut steuerbaren Therapie sein [42].

4.2 PD-1 Monotherapie zeigt eine vergleichbare Wirksamkeit wie kombinierte ICB nach MAPKi-Resistenz bei geringerer Toxizität

In diesem retrospektiven Datensatz zeigte sich, dass eine Zweitlinien-ICB nach MAPKi-Resistenz eine geringe Wirksamkeit hat ohne deutlichen Unterschied zwischen PD-1 Monotherapie und kombinierter ICB. Ansprechraten, PFS und OS waren ähnlich in beiden Gruppen. Die Kombination von PD-1 Inhibition und Ipilimumab ist wie in therapienaiven Patienten mit einer höheren Rate an immunbezogenen Nebenwirkungen assoziiert. Diese Daten lassen vermuten, dass die Hinzunahme von Ipilimumab zu einer PD-1 Inhibition weder das Ansprechen noch das Überleben verbessern, aber das Risiko für Nebenwirkungen deutlich steigern.

Eine Zweitlinientherapie mit Immuncheckpoint Blockern führt nur in wenigen Patienten zu einer Kontrolle der Erkrankung. Umso wichtiger scheint es Patienten zu identifizieren, die von einer Immuntherapie profitieren. Immuncheckpoint Inhibitoren, vor allem in der Kombinationsbehandlung, haben ein hohes Risiko für toxische und hospitalisierungsbedürftige Nebenwirkungen, die in manchen Fällen schwierig zu kontrollieren sind, zu langen Krankenhausaufenthalten und zum Einsatz diverser Immunsuppressiva führen können. Unsere Arbeit ist relevant für Kliniker und deren Patienten, die nach Therapieversagen einer MAPK-Inhibition vor der Frage nach Therapiealternativen stehen. Mit ihnen sollte besprochen werden, dass eine Kombinations-ICB einer Monotherapie mit PD-1 Checkpoint Blockade bezüglich Ansprechen und Überleben nicht überlegen zu sein scheint, ihnen möglicherweise aber Schaden zufügt ohne Nutzen zu bringen. Unter der Kombinations-ICB kommt es bei fast 50% der Patienten zu Hospitalisierungen, die die Lebensqualität der betroffenen Patienten stark einschränken können. Unsere Arbeit deutet an, dass nicht jedem Patienten eine Zweitlinienimmuntherapie zu empfehlen ist. Patienten mit Hirnmetastasen und hoher Tumorlast (2-fach erhöhte LDH nach Abbruch der zielgerichteten Therapie) zeigten kein Ansprechen auf eine Immuntherapie. Diese Patienten sollten über die Prognose aufgeklärt werden und in die Entscheidung über weitere Therapien eingebunden werden. Vor dem Hintergrund der geringen Lebenserwartung ist es fraglich solche Patienten einer toxischen Kombinations-ICB zu exponieren.

4.3 Datenlage zu PD-1 Blockade nach zielgerichteter Therapie

Zur Wirksamkeit von PD-1 basierter ICB nach radiologischem Progress unter TT sind bislang nur wenige Daten publiziert. In einer retrospektiven Analyse von Amini-Adle *et al.* wird von 41 Patienten berichtet, die nach Versagen einer TT (BRAFi n=15; BRAFi+MEKi n=26) eine PD-1 Blockade bekommen haben [38]. Das mediane PFS lag bei 2 Monaten (95% KI 1,6-2,4) und das mediane OS bei 7 Monaten (95% KI 4,0-10,0). Die ORR war 12,2% und die DCR 24,4%. Die geringe Effektivität von PD-1 Blockade nach Versagen von TT im Melanom wurde außerdem in einer retrospektiven Studie von Lucas *et al.* beobachtet. Die Studie berichtet über den Verlauf von 52 Patienten nach Progress unter MAPK Inhibition. Unter diesen erhielt eine kleine Patientenkohorte (n=17) eine Zweitlinien PD-1 Blockade. Die ORR auf PD-1 Inhibition war 17,7% und die DCR 23,5% [39]. Weitere Studien, die Daten zu PD-1 Blockade nach Therapieversagen von MAPK Inhibition liefern, sind kritisch zu betrachten aufgrund von Heterogenität in den Kohorten und Therapieentscheidungen, die sich vom heutigen Standard unterscheiden.

Simeone *et al.* beobachteten ein kurzes PFS für Pembrolizumab in einer Gruppe von 16 Patienten, die eine vorherige BRAFi Monotherapie bekommen haben (medianes PFS 3 Monate (95% KI 2,3-3,7))[43]. Die ORR war 12,5% und die DCR 18,6%. Diese Patienten sind allerdings mit Ipilimumab zwischen beiden Therapien behandelt worden. Die Phase Ib KEYNOTE 001 Studie fand eine ORR von 23,7% (n=23/97) auf Pembrolizumab nach BRAF+/-MEK Inhibition ohne Spezifizierung wie viele Patienten BRAFi Monotherapie bzw. eine duale BRAF+MEK Inhibition erhielten [44]. Mehr als die Hälfte dieser Patienten wurde ebenfalls davor mit Ipilimumab behandelt, was die Vergleichbarkeit mit unserer Studie einschränkt. Diese Daten aus verschiedenen Analysen zeigen, dass die Rolle von PD-1 Immuncheckpoint Inhibitoren in der Zweitlinie nach Versagen einer TT nicht ausreichend charakterisiert ist.

Zur Effektivität einer Kombinationstherapie mit Ipilimumab plus Nivolumab nach MAPKi-Resistenz gibt es kaum Daten. Dies liegt unter anderem an der kürzeren

Zulassungszeit dieser Therapie. Die australische ABC Studie untersuchte die Effektivität der Kombinations-ICB und Nivolumab Monotherapie im intrakraniell metastasierten Melanom. Im Kombinations-ICB Arm (Kohorte A, n=35) wurden Patienten mit intrakraniell Progress unter BRAFi+/-MEKi eingeschlossen [35]. Die intrakranielle Ansprechrate auf die Kombinations-ICB nach Vortherapie mit BRAF+MEK Inhibition lag bei 16% verglichen mit 53% in therapienaiven Patienten [35, 45]. Die Beobachtung, dass nach MAPKi-Resistenz eine Kombinations-ICB ein ähnliches Ansprechen erzielt wie eine PD-1 Monotherapie wird unterstützt durch Studien, die die Wirksamkeit von Ipilimumab in Patienten mit MAPKi-Resistenz untersuchten. In 2 Studien wurde kein einziges Therapieansprechen auf Ipilimumab nach Progress unter BRAFi [46] oder BRAF+MEKi [47] verzeichnet. Eine biologische Erklärung für die fehlende Wirksamkeit von Ipilimumab, die keinen zusätzlichen Nutzen zur PD-1 Blockade bringt, ist bis jetzt unbekannt.

In einer Studien von Mason *et al.*, die die Kombination Ipilimumab plus Nivolumab retrospektiv in 10 australischen Zentren untersuchte, wurde eine geringe Wirksamkeit der Kombinations-ICB nach Erstlinien BRAF+MEK Inhibition bestätigt [48]. Unter 33 Patienten, die einen Krankheitsprogress unter zielgerichteter Therapie zeigten, lag das objektive Therapieansprechen auf Ipilimumab plus Nivolumab bei 21%. Darunter gab es eine Komplettremission (3%). Es wurde ein medianes progressionsfreies Überleben von 2,0 Monaten (95% KI 1,4-4,6) und ein medianes Gesamtüberleben von 3,6 Monaten (95% KI 1,6-NR) beobachtet [48]. Wie in unserer Studie hatten die Patienten nach Versagen der zielgerichteten Therapie eine schlechte Prognose (M1d: 47%, erhöhte LDH: 55%, ECOG \geq 1: 61%) [48].

In translationalen Studien wurden mögliche Mechanismen diskutiert, die eine ICB Resistenz in Patienten mit vorheriger MAPK Inhibition vermitteln, unter anderem die Möglichkeit einer Kreuzresistenz [49]. In Genom und Transkriptom Untersuchungen von Ansprechern und Nicht-Ansprechern auf PD-1 Blockade wurden bei Nicht-Ansprechern vor Therapiestart eine vermehrte Expression

mesenchymaler Gene, immunsupprimierender Gene, Gene für Wundheilung, Zelladhäsion und Angiogenese gefunden. Interessanterweise werden einige dieser Charakteristika, die mit Therapieresistenz auf PD-1 Blockade in Verbindung gebracht werden, durch eine Therapie mit MAPK Inhibition begünstigt. In Untersuchungen von Tumorbiopsien vor und zum Zeitpunkt von Progress einer MAPK Inhibition identifizierten Song *et al.* anti-PD-1-Resistenz assoziierte Prozesse, wie mesenchymale Transition, T-Zell suppressive und angiogenetische Tumorphänotypen. Eine MAPK Inhibition könnte Transkriptom Reprogrammierung induzieren, die zu einem phänotypischen Switch führen. Diese Signaturen könnten so eine nachfolgende PD-1 Blockade negativ beeinflussen [49]. In unserer Kohorte haben wir Therapieansprechen auf PD-1 basierte ICB in Patienten mit primärer Resistenz auf TT beobachtet. Dies zeigt, dass eine Kreuzresistenz zwar möglich ist, aber nicht für alle gelten muss. Die geringen Ansprechraten deuten darauf hin, dass spezifische Mechanismen existieren, die Resistenz auf eine der Therapien vermitteln.

Die Datenlage zur Sicherheit und Tolerabilität von PD-1 basierter ICB nach Krankheitsprogress unter TT ist sehr beschränkt. Unter den 41 TT vorbehandelten Patienten der Studie von Amini-Adle *et al.* wurden immunvermittelte Toxizitäten unter PD-1 Blockade in 9,8% (n=4) der Patienten beobachtet. Diese umfassten Kolitis (n=2), Hypophysitis (n=1), Pneumonitis (n=1), Vitiligo (n=2) und andere signifikante Toxizität. Für die Kombinationstherapie Ipilimumab plus Nivolumab gibt es bislang noch keine Daten zur Sicherheit in MAPKi resistenten Melanompatienten. In der Subgruppe der Untersuchung von Mason *et al.* gab es keine Analyse der Inzidenz von immunvermittelten Therapie Nebenwirkungen [48]. In unserer Kohorte sind keine unerwarteten immunvermittelten Nebenwirkungen oder therapieassoziierte Todesfälle aufgetreten. Wie erwartet, war die Anzahl der Grad 3 oder 4 Toxizitäten signifikant höher in der ICB Kombinations Gruppe als in der PD-1 Monotherapie Gruppe. In der Ipilimumab plus Nivolumab Gruppe entwickelten 28 Patienten Grad 3 oder 4 Toxizitäten (nach CTCAE), von denen nur 5 Patienten auf die Therapie ansprachen und 2 weitere SD als bestes Therapieansprechen

erreichten. Im Vergleich zur kombinierten ICB in der Erstlinie scheint das Risiko-Nutzen-Verhältnis damit in Patienten, die ein Therapieversagen unter TT hatten, ungünstiger zu sein.

4.4 Biomarker für das Ansprechen auf Zweitlinien-ICB

Da nur wenige Patienten (in beiden Gruppen <20%) auf eine Zweitlinien-ICB ansprechen ist es wichtig die Patienten zu identifizieren, die einen klinischen Nutzen erfahren, um unnötige Nebenwirkungen zu vermeiden. Wir haben periphere Differentialblutbilder vor beiden Therapien analysiert, um darin nach Markern zu suchen, die mit einem bestimmten Therapieergebnis assoziiert sind. Da Differentialblutbilder routinemäßig gemacht werden, können diese einfach gesammelt und untersucht werden. In einer Analyse von Weide *et al.* wurden hohe REC und RLC Werte und eine niedrige LDH 0-28 Tage vor Therapiestart mit einem längeren Überleben nach Pembrolizumab in Zusammenhang gebracht. Negative Korrelationen mit OS nach Pembrolizumab wurden für hohe Leukozytenwerte, einen hohe ANC und RNC beschrieben. In einer Analyse von Differentialblutbildern 0-14 Tage vor kombinierter ICB wurden ähnliche Assoziationen beobachtet. Signifikant positiv korrelierten REC, RLC und RBC mit OS [23]. Invers korrelierten AMC, RNC, ANC, NLR und LDH mit OS nach Ipilimumab plus Nivolumab. Keiner dieser Marker korrelierte mit objektivem Therapieansprechen [50]. Es wurden bei beiden Analysen Cut-off Werte nach Signifikanz gesetzt, um das Überleben der Gruppen zu vergleichen. Die beobachteten Trends der Leukozytenwerte sind alle nicht therapiespezifisch und haben daher keinen prädiktiven Wert [23]. Sie lassen eher eine prognostische Aussage zu. In unserer Kohorte konnten wir keinen Biomarker vor TT (t1) und/oder vor ICB (t2) identifizieren, der eindeutig mit einem Therapieergebnis einer Zweitlinien-ICB assoziiert zu sein scheint.

4.5 Limitationen der vorliegenden Arbeit

Bei der Betrachtung der Ergebnisse unserer retrospektiven Analyse gibt es Limitationen, die kritisch zu betrachten sind. Die zu vergleichenden Gruppen sind nicht gleich groß, was die Vergleichbarkeit einschränkt. Es erhielten mehr Patienten eine Kombinations-ICB (n=60) als eine PD-1 Blockade (n=39). Unser Patientenkollektiv weist insgesamt schlechte prognostische Merkmale auf. Nur wenige Patienten hatten vor Therapiebeginn eine normwertige Serum-LDH und Absenz von Hirnmetastasen. Durch die fortgeschrittene Erkrankung ist der Therapieerfolg reduziert und nicht vergleichbar mit Patientenkollektiven aus klinischen Studien. Wie übertragbar unsere Ergebnisse auf weniger fortgeschrittene Erkrankung ist, ist nicht beurteilbar. Die Verteilung klinisch-pathologischer Charakteristika zwischen den beiden Gruppen war dennoch ausgeglichen, was einen Vergleich der Effektivität der Therapien zulässt. Bis auf ein jüngeres Alter der Kombinations-ICB Gruppe gab es keine signifikanten Unterschiede prognoserelevanter Faktoren. Die Anzahl an dokumentierten Nebenwirkungen ist deutlich geringer als sie in klinischen Studien berichtet wird. Dies betrifft vor allem niedriggradige Toxizitäten. Ein Grund dafür kann sein, dass Studienpatienten auf Nebenwirkungen aufmerksamer gemacht werden, indem expliziter in Studienvisiten danach gefragt wird. Eine weniger genaue Dokumentation von niedriggradigen Toxizitäten im klinischen Alltag kann außerdem dazu beitragen, dass wenig Grad 1 und 2 Toxizitäten vermerkt wurden. Die höhergradigen Nebenwirkungen (Grad 3 und 4), die zu Hospitalisierungen führen, sind in unserer Analyse ähnlich frequent wie sie in klinischen Studien beobachtet wurden [31]. Aus Amsterdam wurden 4 Patienten eingeschlossen, die eine primäre Resistenz gegen MAPKi hatten. Dies kann eine Verzerrung in Richtung Überpräsentation von primärer Resistenz gegenüber zielgerichteter Therapie nicht ausschließen. Dadurch war es uns andererseits möglich zu zeigen, dass Patienten ohne Ansprechen auf eine BRAFi+MEKi Therapie durchaus auf eine nachgeschaltete ICB ansprechen können. Unsere Analyse liefert trotz der genannten Limitationen hilfreiche Hypothesengenerierende Daten für die sequenzielle Therapie des fortgeschrittenen BRAF

V600 mutierten Melanoms. Hiermit können unsere Daten eine Grundlage für prospektive klinische Studien sein.

4.6 Ausblick

Es ist unklar, ob das Überleben von metastasierten Melanompatienten durch einen bestimmten, insbesondere zeitpunktabhängigen Einsatz von zielgerichteter und Immuntherapie verlängert werden kann. Das große Bestreben die beiden Therapien zu kombinieren, um additive und synergistische Effekte der beiden Therapien zu erzielen, zeigt sich in einer Reihe laufender klinischer Studien (Tabelle 10) [51]. Zwei große Studien adressieren die Frage nach einer überlegenen Sequenz von TT und ICB. Die DREAMseq Studie (NCT02224781) randomisiert Patienten in Dabrafenib plus Trametinib oder Ipilimumab plus Nivolumab. Bei Progress wird die jeweils andere Therapie eingeleitet. Die SECOMBIT Studie (NCT02631447) randomisiert Patienten in Encorafenib plus Binimetinib (Arm A) oder Ipilimumab plus Nivolumab (Arm B). Bei Progress wird zur anderen Therapie gewechselt. Der Sandwich Arm (Arm C) besteht aus einer 8-wöchigen Induktion von Encorafenib plus Binimetinib, gefolgt von Ipilimumab plus Nivolumab. Falls ein Progress auftritt wird zurück zu Encorafenib plus Binimetinib gewechselt [51]. Die beiden erwähnten Sequenzstudien wählten beide die Kombinations-ICB mit Ipilimumab plus Nivolumab [51]. Dies verdeutlicht die Annahme, dass die Kombinations-ICB effektiver ist und ignoriert, dass bis zu 45% ein Ansprechen auf PD-1 Monotherapie zeigen. Es gibt bis jetzt keine prospektive Studie, die die Wirksamkeit von PD-1 und PD-1+CTLA-4 Blockade nach MAPKi-Resistenz vergleicht.

Eine Reihe weiterer Studien testet den gleichzeitigen Einsatz von TT und ICB. Nachdem eine Phase-I-Studie zur Kombination von CTLA-4 Blockade und BRAF+/-MEK Inhibition wegen zu hoher Lebertoxizität abgebrochen werden musste (NCT01767454), zeigten erste Ergebnisse zur Kombination von PD-1/PD-L1 Blockade und BRAF+MEK Inhibition ein etwas verträglicheres

Nebenwirkungsprofil [15]. Die Anzahl an schweren Nebenwirkungen unter Triplett Therapien ist dennoch in den vorläufigen Studien durchweg höher als unter Kombinations-ICB mit Ipilimumab plus Nivolumab. Ribas *et al.* berichten von einer Studie mit 15 BRAF V600 mutierten Melanompatienten, die mit Dabrafenib, Trametinib und Pembrolizumab behandelt wurden. Grad 3 und 4 AEs traten in 11 Patienten (73%) auf. In der randomisierten doppelblinden placebokontrollierten Phase-II-Studie (Keynote 022) traten Grad 3 und 4 AEs unter der Triplette Dabrafenib, Trametinib und Pembrolizumab in 58% im Vergleich zu 27% unter dualer TT auf. In einer Phase-I-Studie (NCT01656642), in der 39 Patienten eine Triplett Therapie mit Vemurafenib, Cobimetinib und Atezolizumab erhielten, traten Grad 3, 4 AEs in 67% der Patienten auf (Tabelle 10) [25]. Die ORR in den 3 Studien lagen zwischen 63% und 73% [25].

Hinter der Idee, Patienten mit TT vorzubehandeln, stehen Beobachtungen, dass BRAF und MEK Inhibitoren in den ersten 7-14 Tagen günstige Auswirkungen auf das Tumormilieu und die Immunogenität haben [52]. Sie erhöhen die CD4 und CD8 T-Zellinfiltration und führen damit zu einer vermehrten Immunaktivität [52]. Es wird erwartet sich dieses günstige Tumormilieu in der Behandlung mit ICB zu Nutzen machen zu können [52]. Mit der Zeit führt eine MAPK Inhibition zu einer Verringerung der T-Zell Infiltration, T-Zell Aktivität und Tumorantigenexpression, welches die Tumorerkennung des Immunsystems abschwächt [52]. Dies wirft die Frage nach dem optimalen Zeitpunkt der Umstellung von TT auf ICB auf, für welches die ImmunoCobiVem-Studie Antworten sucht.

Tabelle 10: Zusammenfassung von klinischen Studien zum Einsatz von dualer MAPK-Inhibition und PD-1 oder PDL-1 basierter ICB in BRAF-mutiertem Melanom, erweitert nach Pelster 2019 [50].

Studie	Phase	Therapie	Vorläufige Ergebnisse	Grad 3, 4 AEs
Sequenzstudien				
DREAMseq NCT02224781	III (n=300)	Arm A: Ipi+Nivo bis PD, D+T	Erwartet 2022	

		Arm B: D+T bis PD, dann Ipi+Nivo		
SECOMBIT NCT02631447	II (n=251)	Arm A: E+B bis PD, dann Ipi+Nivo Arm B: ipi+nivo bis PD, dann E+B Arm C: E+B 8 Wochen, Ipi+Nivo bis PD, dann E+B	Erwartet 2021	
Priming Studien				
EORTC EBIN NCT03235245	II (n=270)	12 Wochen run-in E+B -> Ipi+Nivo versus Ipi +Nivo	Erwartet 2024	
ImmunoCobiVem NCT02902029	II (n=176)	12 Wochen run-in V+C -> Atezo versus V+C bis PD-> Atezo	Erwartet 2022	
Kombinationsstudien				
KEYNOTE-022 NCT02130466	I (n=15)	Pembro+D+T	ORR 73% medianes PFS 15 Monate, medianes OS NR	73%
KEYNOTE-022 NCT02130466	II, Part 3 (n=120)	Pembro+D+T vs. D+T	ORR 63% vs. 72%, medianes PFS 16 vs. 10 Monate, medianes OS NR vs. 23,4 Monate	58% vs. 27%
NCT01656642	Ib, Kohorte 4 (n=39)	V+C 1 Monat run-in, V+C+Atezo	ORR 72%, medianes PFS: 13 Monate, medianes OS: NR	67%
Trilogy IMspire NCT02908672	III (n=513)	V+C 1 Monat run-in, V+C+Atezo vs. V+C	Erwartet 2023*	
NCT02027961	I	D+T+Durva	ORR 76%	39%

	(n=21)			
TRIDeNT NCT02910700	II (n=51)	Nivo+D+T vs. Nivo +T	Erwartet 2022 Vorläufige Ergebnisse von 14 rekrutierten Patienten Triplette: ORR 91,0% (10/11)	Studien- abbruch bei 21% (n=3)
COMBI-I NCT02967692	III, part 1 und 2 (n=36)	D+T+PDR001	ORR 75%, 12- Monate PFS 65,3%, 12-Monate OS 85,9%	75%
COMBI-I NCT02967692	III, Part 3 (n=538)	D+T+PDR001 vs. D+T+Placebo	Erwartet 2023	
IMPemBra NCT02625337	II (n=32)	D+T+Pembro in 3 verschiedenen (steigenden) Dosierungen vs. Pembro mono	ORR 71%, 83% und 50% in Triplette vs. 57% in Pembro mono	14%, 33%, 50% in Triplette vs. 0%
IMMU- TARGET NCT02902042	II (n=140)	E+B+Pembro, bei disease control nach 6 Monaten Erhaltung Triplette oder Pembro mono	Erwartet 2022	

* PFS Endpunkt positiv 12/2019 laut Pressemitteilung Roche

AEs=adverse events=Nebenwirkungen, Ipi=Ipilimumab, Nivo=Nivolumab, PD=progressive disease=Krankheitsprogress, D=Dabrafenib, T=Trametinib, E=Encorafenib, B=Binimetinib, V=Vemurafenib, C=Cobimetinib, Atezo=Atezolizumab, Pembro=Pembrolizumab, ORR= objective response rate=objektive Ansprechrate, PFS=progression free survival=progressionsfreies Überleben, OS=overall survival=Gesamtüberleben, NR=not reached=nicht erreicht, Durva=Durvalumab, PDR001=Spartalizumab

Unsere Daten spiegeln klinische Entscheidungen im fortgeschrittenen Melanom wieder und können als Orientierungshilfe für das Management von Patienten

dienen bis prospektive klinische Studien vorhanden sind. Patienten, die in randomisierten klinischen Studien eingeschlossen werden, haben in der Regel eine weniger fortgeschrittene Erkrankung mit keinen oder nur einer geringen Anzahl an Hirnmetastasen. Sie haben daher eine bessere Prognose, die sich in längerem PFS und OS widerspiegelt. Die erwähnten Studien schließen Patienten mit Hirnmetastasen weitgehend aus. In unserer Untersuchung wurde kein Therapieansprechen auf eine Zweitlinien-ICB beobachtet in Patienten, die Hirnmetastasen und eine 2-fach erhöhte LDH oder einen ECOG ≥ 1 hatten. Da Progress unter TT mit einem kurzem Überleben assoziiert ist, sollten neben einer Zweitlinien-ICB in Patienten mit schlechten prognostischen Merkmalen Optionen wie Treatment beyond progression oder klinische Studien als Therapiemöglichkeiten bedacht werden [53]. Wenn die von uns gefundenen schlechten Ansprechraten auf Kombinations-ICB in prospektiven klinischen Studien (NCT02224781 und NCT02631447) bestätigt werden, mag der Einsatz von Kombinations-ICB aufgrund der hohen Toxizität nicht vertretbar in MAPKi resistentem Melanom mit ungünstigen prognostischen Charakteristika sein. Die geringen Ansprechraten der ICB nach dualer MAPKi befürworten den Einsatz von ICB als Erstlinientherapie im metastasierten, BRAF V600 mutierten Melanom [22].

Obwohl bahnbrechende Erfolge in der Melanomtherapie erzielt wurden sind noch einige klinisch relevante Fragen unbeantwortet und Untersuchungen nötig, um evidenzbasierte Entscheidungen treffen zu können. Dabei stellt die Identifizierung von Biomarkern, die ein langzeitiges Ansprechen auf PD-1 Therapie vorhersagen, eine wichtige Aufgabe dar [51]. Empfehlungen für die Erstlinientherapie im BRAF V600 mutierten, metastasierten Melanom basieren momentan auf Patienten-zentrierten Faktoren wie Präferenz des Patienten selbst, erwartete Nebenwirkungen, Symptome der Erkrankung und von der Metastasierung betroffene Organe [22].

5 Zusammenfassung

In dieser Studie zeigen wir die bislang größte Kohorte von Patienten, die mit PD-1 basierter ICB nach radiologischem Progress unter dualer MAPK Inhibition therapiert wurde. Dies repräsentiert eine kontemporäre klinische Situation in der standardmäßigen Versorgung metastasierter Melanompatienten. Die Ansprechrate und das Überleben waren ähnlich in Patienten, die eine Kombination von Ipilimumab plus Nivolumab erhielten wie Patienten, die mit einer PD-1 Monotherapie therapiert wurden nach MAPKi Versagen. Die kombinierte ICB resultierte in einer höheren Rate an schweren immunbezogenen Nebenwirkungen. Prospektive klinische Studien werden gebraucht, um unsere Ergebnisse zu validieren. Bis dahin indizieren unsere Daten, dass PD-1 Monotherapie gegenüber kombinierter ICB nach radiologischem Progress unter zielgerichteter Therapie im fortgeschrittenen BRAF V600-mutierten Melanom zu bevorzugen ist.

6 Literaturverzeichnis

1. Deutsche Krebsgesellschaft, D.K., AWMF. *Leitlinienprogramm Onkologie: Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Melanoms, Langversion 03.02.2019*. AWMF Registernummer: 032/024OL; Available from: <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/melanom/> (abgerufen am 24.02.2020).
2. Friedrich, S., Kraywinkel, K., *Faktenblatt: Epidemiologie des malignen Melanoms in Deutschland*. Onkologe, 2018. **24**: p. 447-452.
3. Matthews, N.H., et al., *Epidemiology of Melanoma*, in *Cutaneous Melanoma: Etiology and Therapy*, W.H. Ward and J.M. Farma, Editors. 2017: Brisbane (AU).
4. Lodde, G., et al., *[Malignant melanoma]*. Hautarzt, 2020. **71**(1): p. 63-77.
5. Leonardi, G.C., et al., *Cutaneous melanoma: From pathogenesis to therapy (Review)*. Int J Oncol, 2018. **52**(4): p. 1071-1080.
6. Schadendorf, D., et al., *Melanoma*. Lancet, 2018. **392**(10151): p. 971-984.
7. Zimmer, L., et al., *Incidence of new primary melanomas after diagnosis of stage III and IV melanoma*. J Clin Oncol, 2014. **32**(8): p. 816-23.
8. Jhappan, C., F.P. Noonan, and G. Merlino, *Ultraviolet radiation and cutaneous malignant melanoma*. Oncogene, 2003. **22**(20): p. 3099-112.
9. Shain, A.H. and B.C. Bastian, *From melanocytes to melanomas*. Nat Rev Cancer, 2016. **16**(6): p. 345-58.
10. Gallagher, R.P., et al., *Ultraviolet radiation*. Chronic Dis Can, 2010. **29 Suppl 1**: p. 51-68.
11. Shain, A.H. and B.C. Bastian, *The Genetic Evolution of Melanoma*. N Engl J Med, 2016. **374**(10): p. 995-6.
12. Balch, C.M., et al., *Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification*. J Clin Oncol, 2009. **27**(36): p. 6199-206.
13. Schadendorf, D., et al., *Melanoma*. Nat Rev Dis Primers, 2015. **1**: p. 15003.
14. *Malignes Melanom der Haut*. 2019.
15. Knispel, S.Z., Lisa; Ugurel, Selma; Roesch, Alexander; Kanaki, Theodora; Chorti, Eleftheria; Zaremba, Anne; Jockenhöfer, Finja; Schadendorf, Dirk; Livingstone, Elisabeth, *Malignes Melanom: Optionen für Patienten im fortgeschrittenen Stadium*. Deutsches Ärzteblatt, 2018. **115**(20-21).
16. Domingues, B., et al., *Melanoma treatment in review*. Immunotargets Ther, 2018. **7**: p. 35-49.
17. Sun, J., J.S. Zager, and Z. Eroglu, *Encorafenib/binimetinib for the treatment of BRAF-mutant advanced, unresectable, or metastatic melanoma: design, development, and potential place in therapy*. Onco Targets Ther, 2018. **11**: p. 9081-9089.
18. Dummer, R., et al., *Encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib in patients with BRAF-mutant melanoma (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2018. **19**(5): p. 603-615.

19. Dummer, R., et al., *Overall survival in patients with BRAF-mutant melanoma receiving encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial*. *Lancet Oncol*, 2018. **19**(10): p. 1315-1327.
20. Davies, M.A., et al., *Dabrafenib plus trametinib in patients with BRAF(V600)-mutant melanoma brain metastases (COMBI-MB): a multicentre, multicohort, open-label, phase 2 trial*. *Lancet Oncol*, 2017. **18**(7): p. 863-873.
21. Long, G.V., et al., *Dabrafenib plus trametinib versus dabrafenib monotherapy in patients with metastatic BRAF V600E/K-mutant melanoma: long-term survival and safety analysis of a phase 3 study*. *Ann Oncol*, 2017. **28**(7): p. 1631-1639.
22. Schilling, B., et al., *First-line therapy-stratified survival in BRAF-mutant melanoma: a retrospective multicenter analysis*. *Cancer Immunol Immunother*, 2019. **68**(5): p. 765-772.
23. Buder-Bakhaya, K. and J.C. Hassel, *Biomarkers for Clinical Benefit of Immune Checkpoint Inhibitor Treatment-A Review From the Melanoma Perspective and Beyond*. *Front Immunol*, 2018. **9**: p. 1474.
24. Long, G.V., et al., *Long-Term Outcomes in Patients With BRAF V600-Mutant Metastatic Melanoma Who Received Dabrafenib Combined With Trametinib*. *J Clin Oncol*, 2018. **36**(7): p. 667-673.
25. Rozeman, E.A. and C.U. Blank, *Combining checkpoint inhibition and targeted therapy in melanoma*. *Nat Med*, 2019. **25**(6): p. 879-882.
26. Atkins, M.B. and J. Larkin, *Immunotherapy Combined or Sequenced With Targeted Therapy in the Treatment of Solid Tumors: Current Perspectives*. *J Natl Cancer Inst*, 2016. **108**(6): p. djv414.
27. Rozeman, E.A., et al., *Advanced Melanoma: Current Treatment Options, Biomarkers, and Future Perspectives*. *Am J Clin Dermatol*, 2018. **19**(3): p. 303-317.
28. Hodi, F.S., et al., *Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma*. *N Engl J Med*, 2010. **363**(8): p. 711-23.
29. Schadendorf, D., et al., *Pooled Analysis of Long-Term Survival Data From Phase II and Phase III Trials of Ipilimumab in Unresectable or Metastatic Melanoma*. *J Clin Oncol*, 2015. **33**(17): p. 1889-94.
30. Larkin, J., et al., *Five-Year Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma*. *N Engl J Med*, 2019. **381**(16): p. 1535-1546.
31. Hodi, F.S., et al., *Nivolumab plus ipilimumab or nivolumab alone versus ipilimumab alone in advanced melanoma (CheckMate 067): 4-year outcomes of a multicentre, randomised, phase 3 trial*. *Lancet Oncol*, 2018. **19**(11): p. 1480-1492.
32. Larkin, J., et al., *Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma*. *N Engl J Med*, 2015. **373**(1): p. 23-34.
33. Hauschild, A., *[Immunonkologie beim malignen Melanom: Von der Monotherapie zur Kombinationstherapie - aktuelle Studiendaten und Fragestellungen]*. *Oncol Res Treat*, 2016. **39 Suppl 4**: p. 2-7.
34. Tawbi, H.A., et al., *Combined Nivolumab and Ipilimumab in Melanoma Metastatic to the Brain*. *N Engl J Med*, 2018. **379**(8): p. 722-730.

35. Long, G.V., et al., *Combination nivolumab and ipilimumab or nivolumab alone in melanoma brain metastases: a multicentre randomised phase 2 study*. *Lancet Oncol*, 2018. **19**(5): p. 672-681.
36. Milsch, L., et al., *Patterns of disease control and survival in patients with melanoma brain metastases undergoing immune-checkpoint blockade*. *Eur J Cancer*, 2018. **99**: p. 58-65.
37. Ugurel, S., et al., *Survival of patients with advanced metastatic melanoma: the impact of novel therapies-update 2017*. *Eur J Cancer*, 2017. **83**: p. 247-257.
38. Amini-Adle, M., et al., *Ineffective anti PD-1 therapy after BRAF inhibitor failure in advanced melanoma*. *BMC Cancer*, 2018. **18**(1): p. 705.
39. Lucas, P., et al., *Characterization and Outcomes of Disease Progression in 52 Patients Treated with BRAF-V600 + MEK Inhibitors for Advanced Melanoma*. *Dermatology*, 2018. **234**(3-4): p. 92-98.
40. Long, G.V., et al., *Combined BRAF and MEK inhibition versus BRAF inhibition alone in melanoma*. *N Engl J Med*, 2014. **371**(20): p. 1877-88.
41. Schadendorf, D., et al., *Three-year pooled analysis of factors associated with clinical outcomes across dabrafenib and trametinib combination therapy phase 3 randomised trials*. *Eur J Cancer*, 2017. **82**: p. 45-55.
42. Ascierto, P.A., et al., *The impact of patient characteristics and disease-specific factors on first-line treatment decisions for BRAF-mutated melanoma: results from a European expert panel study*. *Melanoma Res*, 2018. **28**(4): p. 333-340.
43. Simeone, E., et al., *Correlation between previous treatment with BRAF inhibitors and clinical response to pembrolizumab in patients with advanced melanoma*. *Oncoimmunology*, 2017. **6**(3): p. e1283462.
44. Ribas, A., et al., *Association of Pembrolizumab With Tumor Response and Survival Among Patients With Advanced Melanoma*. *JAMA*, 2016. **315**(15): p. 1600-9.
45. Tawbi, H.A., et al., *New Era in the Management of Melanoma Brain Metastases*. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, 2018. **38**: p. 741-750.
46. Hassel, J.C., et al., *Progression patterns under BRAF inhibitor treatment and treatment beyond progression in patients with metastatic melanoma*. *Cancer Med*, 2018. **7**(1): p. 95-104.
47. Ackerman, A., et al., *Outcomes of patients with metastatic melanoma treated with immunotherapy prior to or after BRAF inhibitors*. *Cancer*, 2014. **120**(11): p. 1695-701.
48. Mason, R., et al., *Combined ipilimumab and nivolumab first-line and after BRAF-targeted therapy in advanced melanoma*. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2019.
49. Hugo, W., et al., *Non-genomic and Immune Evolution of Melanoma Acquiring MAPKi Resistance*. *Cell*, 2015. **162**(6): p. 1271-85.
50. Rosner, S., et al., *Peripheral blood clinical laboratory variables associated with outcomes following combination nivolumab and ipilimumab immunotherapy in melanoma*. *Cancer Med*, 2018. **7**(3): p. 690-697.
51. Pavlick, A.C., et al., *Frontline Therapy for BRAF-Mutated Metastatic Melanoma: How Do You Choose, and Is There One Correct Answer?* *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, 2019. **39**: p. 564-571.

52. Pelster, M.S. and R.N. Amaria, *Combined targeted therapy and immunotherapy in melanoma: a review of the impact on the tumor microenvironment and outcomes of early clinical trials*. *Ther Adv Med Oncol*, 2019. **11**: p. 1758835919830826.
53. Chan, M.M., et al., *The nature and management of metastatic melanoma after progression on BRAF inhibitors: effects of extended BRAF inhibition*. *Cancer*, 2014. **120**(20): p. 3142-53.

7 Anhang

7.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Therapeutische Ansatzpunkte des Melanoms, modifiziert nach Leonardi 2017 [5].	11
Abbildung 2: Studiendesign.....	13
Abbildung 3: Kaplan-Meier Analyse zum PFS unter PD-1 Blockade und kombinierter PD-1 plus CTLA-4 Blockade.....	19
Abbildung 4: Kaplan-Meier Analyse zum OS unter PD-1 Blockade und kombinierter PD-1 plus CTLA-4 Blockade.....	20
Abbildung 5: Kaplan-Meier Analyse zum PFS ICB in Abhängigkeit der BOR auf Zweitlinien-ICB.	21
Abbildung 6: Kaplan-Meier Analyse zum OS ICB in Abhängigkeit der BOR auf Zweitlinien-ICB.	22
Abbildung 7: Vergleich von Laborwerten vor TT und vor ICB der Gesamtkohorte.....	27
Abbildung 8: Vergleich von Biomarkern (I) vor TT und vor ICB zwischen Ansprechern (CR und PR) und Nicht-Ansprechern (PD) auf Zweitlinien-ICB. ...	29
Abbildung 9: Vergleich von Biomarkern (II) vor TT und vor ICB zwischen Ansprechern (CR und PR) und Nicht-Ansprechern (PD) auf Zweitlinien-ICB. ...	30
Abbildung 10: Vergleich von Biomarkern (III) vor TT und vor ICB zwischen Ansprechern (CR und PR) und Nicht-Ansprechern (PD) auf Zweitlinien-ICB. ...	32
Abbildung 11: Korrelation des OS TT mit dem OS ICB.....	33
Abbildung 12: Korrelation des PFS TT mit dem PFS ICB in Abhängigkeit eines Progresses unter ICB.	33

7.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klinisch-pathologische Charakteristika des Patientenkollektivs vor Einführung TT und ICB.....	16
Tabelle 2: Verlauf der primären TT und sekundären ICB mit Vergleich von PD-1 Blockade und kombinierter PD-1 plus CTLA-4 Blockade.....	18
Tabelle 3: Medianes PFS und 95% KI zur Kaplan-Meier Analyse in Abbildung 3.	20
Tabelle 4: Medianes OS und 95% KI zur Kaplan-Meier Analyse in Abbildung 4.	20
Tabelle 5: Medianes PFS und 95% KI zur Kaplan-Meier Analyse in Abbildung 5.	21
Tabelle 6: Medianes OS und 95% KI zur Kaplan-Meier Analyse in Abbildung 6.	22
Tabelle 7: Vergleich von Patientencharakteristika vor PD-1 bzw. kombinierter PD-1 plus CTLA-4 Blockade.	23
Tabelle 8: Klinisch-pathologische Charakteristika der Patienten mit (CR bzw. PR) oder ohne Ansprechen (PD) auf Zweitlinientherapie mit ICB.....	25
Tabelle 9: Korrelation der BOR TT mit der BOR ICB.	34
Tabelle 10: Zusammenfassung von klinischen Studien zum Einsatz von dualer MAPK-Inhibition und PD-1 oder PDL-1 basierter ICB in BRAF-mutiertem Melanom, erweitert nach Pelster 2019 [50].	43

7.3 Abkürzungsverzeichnis

AEC	absolute eosinophil count, Absolute Eosinophilenzahl
AEs	adverse events, Nebenwirkungen
AJCC	American Joint Committee on Cancer
ALC	absolute lymphocyte count, Absolute Lymphozytenzahl
AMC	absolute monocyte count, Absolute Monozytenzahl
ANC	absolute neutrophil count, Absolute Neutrophilenzahl
APC	antigen presenting cell, Antigen präsentierende Zelle
BOR	best overall response, bestes Therapieansprechen
BRAF	<i>BRAF</i> protooncogene, <i>BRAF</i> Protoonkogen
BRAF _i	BRAF inhibitor, BRAF Inhibitor
bzw.	beziehungsweise
B7-1/2	cluster of differentiation 80, Lymphozyten Aktivierungsantigen CD80
CR	complete response, komplettes Therapieansprechen
CTCAE	Common terminology criteria for adverse events
CTLA-4	cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, zytotoxisches T- Lymphozyten Antigen 4
CTLA-4 _i	CTLA-4 inhibitor, CTLA-4 Inhibitor
DCR	disease control rate, Erkrankungskontrollrate
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
FAMM	Familiäres atypisches multiples Muttermal- und Melanomsyndrom
FDA	Food and Drug Administration, Behörde für Lebens- und Arzneimittel
GF	growth factor, Wachstumsfaktor
ic	intracranial, intrakraniell
ICB	immune checkpoint blockade, Immuncheckpoint Blockade
irAE	immune-related adverse events, immunvermittelte Nebenwirkungen
KI	Konfidenzintervall

LDH	Laktatdehydrogenase
LK	Lymphknoten
MAPK	mitogen activated protein kinase, Mitogen aktivierte Protein Kinase
MAPKi	mitogen activated protein kinase inhibitor
MAPK/ERK	mitogen activated protein kinase, Mitogen aktivierte Protein Kinase
MAS	Melanom-Astrozytom-Syndrom
MDA	Melanoma differentiation antigen
MEK	mitogen-activated-protein kinase
MEKi	MEK inhibitor, MEK Inhibitor
MHC	major histocompatibility complex, Haupthistokompatibilitätskomplex
MLR	monocyte-to.lymphocyte-ratio, Monozyten-Lymphozyten-Ratio
NLR	neutrophil-to-lymphocyte-ratio, Neutrophilen-Lymphozyten-Ratio
NR	not reached, nicht erreicht
ORR	objective response rate, objektive Ansprechrare
OS	overall survival, Gesamtüberleben
PD	progressive disease, Krankheitsprogress
PD-1	programmed death-1, programmierter Zelltod 1
PD-1i	PD-1 inhibitor, PD-1 Inhibitor
PD-L1	programmed death-ligand 1, programmierter Zelltod Ligand 1
PD-L2	programmed death-ligand 2, programmierter Zelltod Ligand 2
PFS	progression free survival, progressionsfreies Überleben
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase
PR	partial response, partielles Therapieansprechen
PTEN	phosphatase und tensin homolog
RAS	RAS protooncogene=RAS Protoonkogen

REC	relative eosinophil count, Relative Eosinophilenzahl
RLC	relative lymphocyte count, Relative Lymphoztenzahl
RMC	relative monocyte count, Relative Monozytenzahl
RNC	relative neutrophil count, Relative Neutrophilenzahl
RTK	receptor tyrosine kinase, Rezeptor-Tyrosinkinase
SD	stable disease, stabile Erkrankung
SRS	stereotactic radiosurgery, Stereotaxie
TCR	T-cell receptor, T-Zell-Rezeptor
TT	targeted therapy, zielgerichtete Therapie
ULN	upper limit of normal, oberer Grenzwert
vs.	versus
WBRT	whole brain radiation therapy, Ganzhirnbestrahlung
z.B.	zum Beispiel

7.4 Unbedenklichkeitsbescheinigung



Ethik-Kommission • Versbacher Str. 9 • 97078 Würzburg

Prof. Dr. Bastian Schilling
Klinik und Poliklinik für Dermatologie,
Venerologie und Allergologie
Josef-Schneider-Str. 2
97080 Würzburg

Ethik-Kommission
Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Versbacher Str. 9
97078 Würzburg

Vorsitzende: Prof. Dr. E.-B. Bröcker
Geschäftsführer: Dr. R. Wölfel
Sekretariat: S. Schmidt/M. Keidel/M. Geiger
Telefon 0049 (0)931 31 48315
Telefax 0049 (0)931 31 87520
ethikkommission@uni-wuerzburg.de
www.ethik-kommission.medizin.uni-wuerzburg.de

Würzburg, 23.06.2017/mk

bei Schriftwechsel bitte angeben: 20170608 01

Unbedenklichkeitsbescheinigung - retrospektive Datenauswertung

Projekt: "Prädiktive Marker für das Ansprechen auf Immuntherapien nach vorheriger zielgerichteter Therapie bei Patienten mit metastasiertem Melanom"

Sehr geehrter Prof. Schilling,

zu Ihrer Anfrage vom 08.06.2017 zur retrospektiven Auswertung von Patienten- oder Untersuchungsdaten und deren Verwendung in Promotionsarbeiten oder in Publikationen nimmt die Ethik-Kommission wie folgt Stellung.

Grundsätzlich gilt bei einer Auswertung von bereits vorhandenen, klinikinternen Routinedaten bzw. Daten von individuellen Heilversuchen, dass keine Beratung durch die oder eine Antragstellung bei der Ethik-Kommission nach geltendem Recht erforderlich ist.

Auf der Grundlage der vorliegenden Informationen bestehen keine grundsätzlichen ethischen oder rechtlichen Bedenken gegen die Auswertung der angeführten Daten.

Es obliegt dem verantwortlichen Untersucher dafür Sorge zu tragen, dass lediglich Daten in die Auswertung einfließen, die unter Beachtung einschlägiger rechtlicher Vorgaben als auch berufsethischer Aspekte generiert wurden und dass geltende Datenschutzbestimmungen eingehalten werden.

Mit freundlichen Grüßen

Ausgefertigt im Auftrag

Prof. Dr. med. Eva-Bettina Bröcker
Seniorprofessorin
Vorsitzende der Ethik-Kommission

Dr. med. Reinhard Wölfel
Geschäftsführer der Ethik-Kommission

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Bastian Schilling für seine außerordentlich gute Betreuung, für die Zeit und Energie, die er in dieses Projekt investiert hat, für seine stetige Ansprechbarkeit und Zuverlässigkeit.

Ich danke allen Koautoren für Ihre Unterstützung unseres Projekts. Für die Identifizierung von passenden Patienten und Zurverfügungstellung von Patientendaten danke ich Frau Prof. Dr. Selma Ugurel, Brigitte Gutt und Bettina Schwedler aus Essen. Ich danke Herrn Prof. James Larkin und Frau Dr. Francesca Comito aus London. Ich danke Herrn PD Dr. Sebastian Haferkamp und Frau Dr. Marion Mickler aus Regensburg. Ich danke Herrn Prof. Dr. Christian Blank, Frau Dr. Lisette Rozeman und Frau Dr. Irene Reijers aus Amsterdam. Ich danke Herrn Prof. Paul Lorigan, Frau Dr. Sara Valpione und Herrn Dr. Patricio Serra-Bellver aus Manchester. Ich danke Frau Dr. Cindy Franklin aus Köln. Ich danke Herrn Prof. Dr. Jochen Utikal aus Mannheim. Ich danke Herrn PD Dr. Thomas Eigentler und Yves Maczey aus Tübingen. Ich danke Frau Dr. Anja Gesierich und Herrn Prof. Dr. Matthias Goebeler aus Würzburg.

Ohne den Schwung durch die Famulatur an der Christie School of Oncology und Herrn Prof. Dr. Schillings Ermutigung unser Projekt beim EORTC Melanoma Group Fall Meeting 2018 vorzustellen wäre diese multizentrische Studie in der Form nicht möglich gewesen. Mein besonderer Dank gilt daher Herrn Prof. Paul Lorigan für seine vielfältigen und positiven Anregungen für unsere Veröffentlichung.

Publikationen

1. **Kreft S**, Gesierich A, Eigentler T, Franklin C, Valpione S, Ugurel S, Utikal J, Haferkamp S, Blank C, Larkin J, Garbe C, Schadendorf D, Lorigan P, Schilling B (2019) Efficacy of PD-1 based immunotherapy after progression on targeted therapy in stage IV melanoma. *Eur J Cancer*. 2019 Jul;116:207-215.
2. Milsch L, Gesierich A, **Kreft S**, Livingstone E, Zimmer L, Goebeler M, Schadendorf D, Schilling B (2018) Patterns of disease control and survival in patients with melanoma brain metastases undergoing immune-checkpoint blockade. *Eur J Cancer*. 2018 Aug;99:58-65.