

Aus der Klinik und Poliklinik I

der Universität Würzburg

Lehrstuhl für Endokrinologie

Leiter: Prof. Dr. med. Martin Fassnacht

**Expression von PD-L1 und FGFR1-4 beim anaplastischen und gering
differenzierten Schilddrüsenkarzinom – Evaluation als präklinische
diagnostische Marker**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Pia Sophie Adam

aus München

Würzburg, den 27.07.2023

Referent: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Matthias Kroiß

Korreferent: Prof. Dr. med. Nicolas Schlegel

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 12.04.2024

Die Promovendin ist Ärztin

HINWEIS

Bei der nachfolgenden Dissertation einschließlich der Abbildungen und Tabellen handelt es sich um eine erweiterte Fassung unseres im Jahr 2021 mit dem Titel „FGF-Receptors and PD-L1 in Anaplastic and Poorly Differentiated Thyroid Cancer: Evaluation of the Preclinical Rationale“ [1] in *Frontiers in Endocrinology* (*Front Endocrinol* (Lausanne). 2021 Aug 12;12:712107) erschienenen Beitrags. Die Studie wurde zum Teil von der Else Kröner Fresenius-Stiftung subventioniert (2016-A96).

Die KoautorInnen wurden vorab über die Erstellung dieser Dissertation informiert und sind mit der Verwendung der Daten einverstanden.

Die Beiträge der AutorInnen zu oben genannter Veröffentlichung verteilen sich wie folgt:

Studiendesign

- Matthias Kroiß
- Martin Fassnacht
- Christine Spitzweg
- Christine Dierks
- Matthias Schott
- Andreas Zielke

Ausführung der Experimente

- Pia Adam
- Stefan Kircher
- Iuliu Sbiera

Datenanalyse

- Pia Adam
- Stefan Kircher
- Viktoria Köhler
- Bence Sipos
- Andreas Zielke
- Martin Fassnacht
- Matthias Kroiß

Erstellung des Manuskripts

- Pia Adam
- Matthias Kroiß

Zur Verfügung gestelltes Tumormaterial mit dazugehörigen klinischen Daten

- Stefan Kircher
- Viktoria Köhler
- Elke Berg
- Thomas Knösel
- Benjamin Sandner
- Wiebke Fenske
- Hendrik Bläker
- Constantin Smaxwil
- Andreas Zielke
- Bence Sipos
- Stephanie Allelein
- Matthias Schott
- Christine Dierks
- Christine Spitzweg
- Martin Fassnacht
- Matthias Kroiß

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG UND GRUNDLAGEN	1
1.1 Die Schilddrüse.....	1
1.2 Tumoren der Schilddrüse	1
1.2.1 WHO-Klassifikation der Schilddrüsentumoren (2017) [9]	2
1.2.2 Vereinfachte Übersicht der Schilddrüsenkarzinome.....	3
1.2.3 Differenzierte Schilddrüsenkarzinome.....	3
1.2.3.1 Das papilläre Schilddrüsenkarzinom	3
1.2.3.2 Histologie des papillären Schilddrüsenkarzinoms	4
1.2.4 Seltene Tumoren der Schilddrüse.....	5
1.2.4.1 Das gering differenzierte Schilddrüsenkarzinom	5
1.2.4.2 Histologie des gering differenzierten Schilddrüsenkarzinoms.....	5
1.2.4.3 Das anaplastische Schilddrüsenkarzinom.....	7
1.2.4.4 Histologie des anaplastischen Schilddrüsenkarzinoms	7
1.2.5 Tumormikroumgebung.....	9
1.2.6 Diagnostik.....	10
1.2.7 Staging und operative Therapie	11
1.2.7.1 Staging von differenzierten und gering differenzierten Schilddrüsenkarzinomen.....	11
1.2.7.2 Staging von anaplastischen Schilddrüsenkarzinomen.....	12
1.2.7.3 Zugrundeliegende TNM-Klassifikation für alle Schilddrüsenkarzinome	12
1.2.8 Spezifische Therapie und Nachsorge des PTC und PDTC	13
1.2.8.1 Spezifische Therapie des anaplastischen Schilddrüsenkarzinoms.....	15
1.2.9 Bildgebende Beurteilung des Therapieansprechens nach RECIST 1.1.....	19
1.3 Molekular zielgerichtete Systemtherapien.....	19
1.3.1 Tyrosinkinaseinhibitoren	19
1.3.1.1 Übersicht über verschiedene TKIs zur Behandlung von TC	22
1.3.1.2 Wirkmechanismen von FGFR1-4.....	22
1.3.2 Immuncheckpoints.....	24
1.3.3 Immuncheckpointinhibitoren	25
1.3.4 Lenvatinib-Monotherapie beim PDTC und ATC	26

1.3.5	<i>Immuncheckpointinhibitor-Monotherapie bei Schilddrüsenkarzinomen</i>	27
1.3.6	<i>Kombination mit LEN und PEM beim ATC und/oder PDTC</i>	27
2.	ZIELSETZUNG DER ARBEIT	28
3.	PATIENTINNEN, MATERIAL, METHODEN	29
3.1	Registerstudie für seltene Tumoren der Schilddrüse und Nebenschilddrüsen	29
3.1.1	<i>Einschlusskriterien</i>	29
3.1.2	<i>Ausschlusskriterien</i>	30
3.1.3	<i>Gesamtkohorte und Gruppenaufteilung</i>	30
3.2	Material	30
3.2.1	<i>Geräte</i>	30
3.2.2	<i>Verbrauchsmaterialien</i>	31
3.2.3	<i>Puffer, Lösungen und Reagenzien</i>	31
3.2.4	<i>Kits</i>	32
3.3	Methoden	33
3.3.1	<i>Immunhistochemie</i>	33
3.3.1.1	<i>Durchführung</i>	33
3.3.1.2	<i>Auswertung</i>	33
3.3.2	<i>mRNA in situ Hybridisierung RNAscope®</i>	34
3.3.2.1	<i>Durchführung</i>	34
3.3.2.2	<i>Auswertung</i>	35
3.3.3	<i>Statistische Auswertung</i>	35
4.	ERGEBNISSE	36
4.1	Klinische Charakteristika	36
4.1.1	<i>Klinische Charakteristika der ATC-Kohorte</i>	36
4.1.2	<i>Klinische Charakteristika der PDTC-Kohorte</i>	36
4.1.3	<i>Therapie-Regimes der ATC-Kohorte</i>	37
4.1.4	<i>Therapie-Regimes der PDTC-Kohorte</i>	38

4.1.5	<i>Tyrosinkinaseinhibitor- und Immuncheckpointinhibitor-Therapie der Gesamtkohorte</i>	39
4.2	Semiquantitative Analyse der Expression von PD-L1	40
4.3	Quantitative Analyse der Expression von FGFR1-4	42
4.3.1	<i>FGFR1</i>	43
4.3.2	<i>FGFR2</i>	43
4.3.3	<i>FGFR3</i>	44
4.3.4	<i>FGFR4</i>	45
4.3.5	<i>Zusammenfassende Betrachtung der FGFR-Expression</i>	46
4.4	Relevanz der FGFR- und PD-L1 Expression für das Therapieansprechen auf Lenvatinib und Pembrolizumab	46
4.5	Krankheitsspezifische Überlebensanalysen	49
4.5.1	<i>Prognosefaktoren</i>	49
4.5.1.1	<i>Krankheitsspezifisches Überleben und klinische Charakteristika</i>	49
4.5.1.2	<i>Krankheitsspezifisches Überleben und Expression von PD-L1 und FGFR1-4</i>	52
5.	DISKUSSION	53
5.1	Expression und klinische Daten zu PD-L1	53
5.2	Expression und klinische Daten zu FGFR1-4	56
5.3	Limitationen	59
5.3.1	<i>Retrospektiver Charakter der Arbeit</i>	59
5.3.2	<i>Weitere Targets, Tumormutationslast und Tumormikroumgebung</i>	60
5.4	Ausblick	60
6.	ZUSAMMENFASSUNG	61
7.	LITERATURVERZEICHNIS	63

APPENDIX

- I. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**
- II. ABBILDUNGSVERZEICHNIS**
- III. TABELLENVERZEICHNIS**
- IV. DANKSAGUNG**
- V. VERÖFFENTLICHUNGEN UND KONGRESSTEILNAHMEN**

Für meine Eltern

Dr. Gerhard und Gitta Adam

1. EINLEITUNG UND GRUNDLAGEN

1.1 Die Schilddrüse

Die Schilddrüse ist ein H- oder schmetterlingsförmiges Organ, das aus zwei Lappen, die durch den Isthmus verbunden sind, besteht, und in Höhe der Halswirbel C6/C7 dem unteren Kehlkopf und der Trachea aufliegt [2-4]. Sie entwickelt sich ausgehend vom Dach des Kopfdarms und wächst über den Ductus thyroglossus nach kaudal [2]. Das Gewebe der Schilddrüse besteht hauptsächlich aus Schilddrüsenepithelzellen, die zusammen mit dem Kolloid die Struktur bestimmen, indem sie sog. Follikel bilden. Den weitaus kleineren Teil machen C-Zellen aus, die Calcitonin produzieren [4]. In den Follikeln befinden sich die Schilddrüsenhormone Trijodthyronin (T3) und Tetrajodthyronin (Thyroxin, T4), die eine entscheidende Rolle in der Entwicklung und Differenzierung von Organen spielen [5]. Sie werden ausgehend von Tyrosylresten des Thyreoglobulins von den Follikelepithelzellen produziert und mittels Schilddrüsenperoxidase jodiert [6]. Das dafür benötigte Jod gelangt aktiv über den Natrium-Jodid-Symporter (NIS), der ein Jodid- und zwei Natrium-Moleküle von extrazellulär intrazellulär transportiert, in die Schilddrüsenzellen und weiter über den Chlorid/Jodid-Austauscher Pendrin in das Follikellumen [6]. Sobald das Signal über TRH (Thyreotropin-releasing Hormon) aus dem Hypothalamus und TSH (Thyroidea-stimulierendes Hormon) aus der Hypophyse, in der Schilddrüse ankommt, wird Thyreoglobulin von den Epithelzellen aufgenommen und T3 und T4 abgespalten [4]. Obwohl T4 den größeren Teil, ca. 80%, der Schilddrüsenhormone ausmacht, ist v. a. T3 für die Wirkung verantwortlich. Letzteres entsteht durch Dejodierung von T4 [5, 7] in den Zielorganen. Das von den C-Zellen produzierte Calcitonin hemmt Osteoklasten und ist somit an der Regulation des Calciumhaushaltes beteiligt. Es wird nicht in den Follikeln gespeichert, sondern befindet sich in eigenen intrazellulären Granula [4, 8].

1.2 Tumoren der Schilddrüse

Durch genetische Alterationen (Mutationen, Fusionen, Amplifikationen) in Onkogenen oder Tumorsuppressorgenen kommt es zur teilweisen oder vollständigen Enthemmung der Proliferation von Follikelepithel- oder C-Zellen, die sich zu Tumoren der Schilddrüse entwickeln. Diese stellen histologisch betrachtet eine heterogene Gruppe dar (siehe 1.2.1) [9]. Die häufigste benigne Entität sind Adenome aus Follikelepithelzellen [10]. Risikofaktoren können einerseits externe Faktoren (Jodmangel, Rauchen oder Strahlung) und andererseits genetische Komponenten (Alter, weibliches Geschlecht und familiäre Prädisposition) sein [11, 12]. Maligne Tumoren der Schilddrüse (TC) werden in

Deutschland mit einer Häufigkeit von 2-4 Fällen pro 10 000 Einwohnern pro Jahr beobachtet. Sie machen ca. 0,9-3,5% aller Tumorerkrankungen weltweit aus und stellen die häufigste endokrine maligne Neoplasie dar [13]. Zu den differenzierten Schilddrüsenkarzinomen (DTC), die sich aus Follikel­epithel­zellen entwickeln, zählen das papilläre (75-80%) und follikuläre (PTC, FTC) Adenokarzinom (10-15%) sowie das Hürthle-Zell-Karzinom (3%) [9]. Das medulläre Schilddrüsenkarzinom (MTC) geht aus C-Zellen hervor und macht in etwa einen Anteil von 5-15% aller bösartigen Schilddrüsentumoren aus [9]. Noch seltenere Entitäten sind das gering differenzierte (PDTC) und das anaplastische (ATC) Schilddrüsenkarzinom mit jeweils 4-7% und 1-2% (siehe **Abbildung 1**) [9]. In den folgenden Kapiteln wird insbesondere auf das papilläre (PTC), gering differenzierte (PDTC) und anaplastische Schilddrüsenkarzinom (ATC) genauer eingegangen.

1.2.1 WHO-Klassifikation der Schilddrüsentumoren (2017) [9]

1. Epitheliale Tumoren

A. Benigne

- i. Follikuläres Adenom
- ii. Hyalinisierender trabekulärer Tumor
- iii. Andere bekapselte Schilddrüsentumoren mit follikulärer Differenzierung

B. Maligne

- i. Papillär
- ii. Follikulär
- iii. Hürthle-Zell/Onkozytär
- iv. Gering differenziertes Schilddrüsenkarzinom
- v. Anaplastisches Schilddrüsenkarzinom
- vi. Squamös-zelliges Karzinom
- vii. Mukoepidermoides Karzinom
- viii. Sklerosierendes mucoepidermoides Karzinom mit Eosinophilie
- ix. Muzinöses Karzinom

2. Maligne C-Zell Tumoren

A. Medulläres Schilddrüsenkarzinom (MTC)

3. Malignes medulläres und follikuläres Schilddrüsenkarzinom

4. Thymus assoziierte Tumoren

A. Ektopes Thymom

B. Spindelepithelialer Tumor mit Thymus-ähnlicher Differenzierung

C. Intrathyreoidales Thymuskarzinom

5. Paragangliome und mesenchymale/stromale Tumoren
6. Hämato-lymphoide Tumoren
7. Keimzelltumoren
8. Sekundäre Tumoren

1.2.2 Vereinfachte Übersicht der Schilddrüsenkarzinome

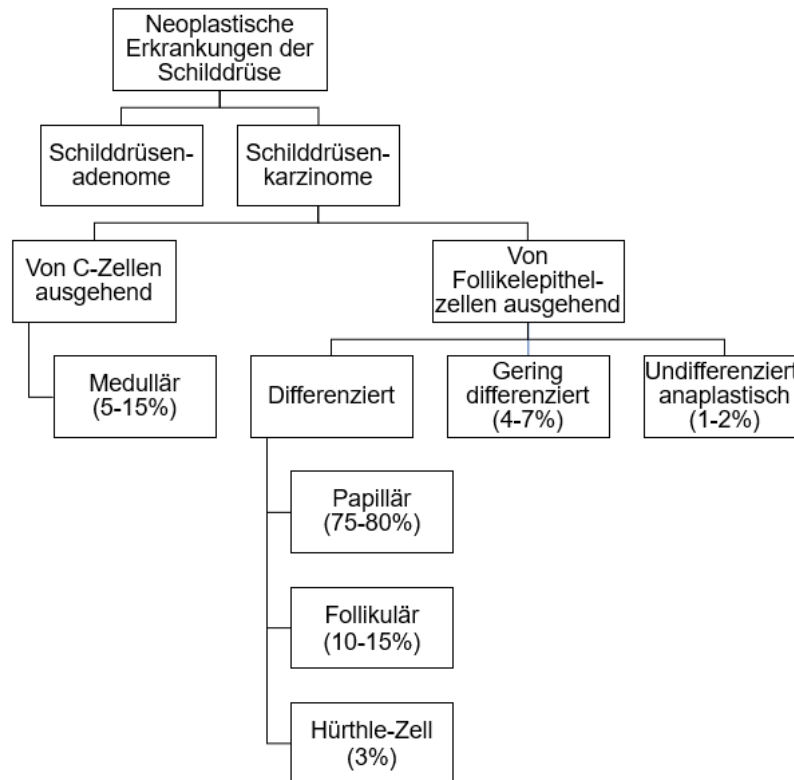


Abbildung 1: Einteilung der Schilddrüsenkarzinome und ihre Prävalenzen [14].

1.2.3 Differenzierte Schilddrüsenkarzinome

1.2.3.1 Das papilläre Schilddrüsenkarzinom

Etwa ein Viertel der differenzierten Schilddrüsenkarzinome wird zufällig entdeckt [12]. Da für die Kontrollgruppe in dieser Arbeit ausschließlich PTC-Gewebe verwendet wurde, soll nur diese Entität näher betrachtet werden. Das mediane Alter bei Erstdiagnose (ED) beträgt 50 Jahre, wobei Frauen dreimal so häufig von PTC betroffen sind wie Männer [9]. Der überwiegende Teil der PTC-Tumoren sind Mikrokarzinome mit einem Tumordurchmesser $\leq 1\text{cm}$ [11]. PatientInnen präsentieren sich zu 20% mit den Symptomen Heiserkeit und Dysphagie bei der Erstdiagnose [9]. Da das papilläre Schilddrüsenkarzinom meist lymphogen metastasiert, finden sich bei der ED in 27% der Fälle Metastasen in ipsilateralen Lymphknoten [9, 13]. Die Diagnostik und Therapie

werden im Kapitel 1.2.6 näher betrachtet. Durch die guten Therapiemöglichkeiten und die seltene Fernmetastasierung (<10%) beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate 83% und die 10-Jahres-Überlebensrate 81% [13]. Bei papillären Mikrokarzinome finden sich Überlebensraten von 100% [13].

1.2.3.2 Histologie des papillären Schilddrüsenkarzinoms

PTCs zeigen sich histologisch mit einem Muster aus Papillen, durchsetzt von neoplastischen Follikeln, und Kernatypien [9]. Die Kerne zeichnen sich durch Veränderungen der Größe und Form, der Membran und/oder des Chromatins aus [9]. Die häufigste Mutation in PTCs ist die BRAF V600E (Rapidly Accelerated Fibrosarcoma B)-Mutation, die in 40-45% der PTC nachgewiesen werden kann [9, 11]. Findet man diese Mutation in ATC- oder PDTC-Gewebe, sind diese Tumoren aus einem PTC entstanden (siehe **Abbildung 2**) [11]. Weitere wichtige Mutationen sind RET/PTC-Fusionen (10-20%) und TERT (telomerase reverse transcriptase)-Promotor-Mutationen [11]. Aggressive PTC-Tumoren weisen oft gleichzeitig eine BRAF- und TERT-Promotor-Mutation auf [11]. Weitere Mutationen, die bei PTC-Tumoren gefunden werden, sind RAS (rat sarcoma)-Mutationen (15-20%) und NTRK (neurotrophe Rezeptortyrosinkinase)-Fusionen (5-10%) [11].

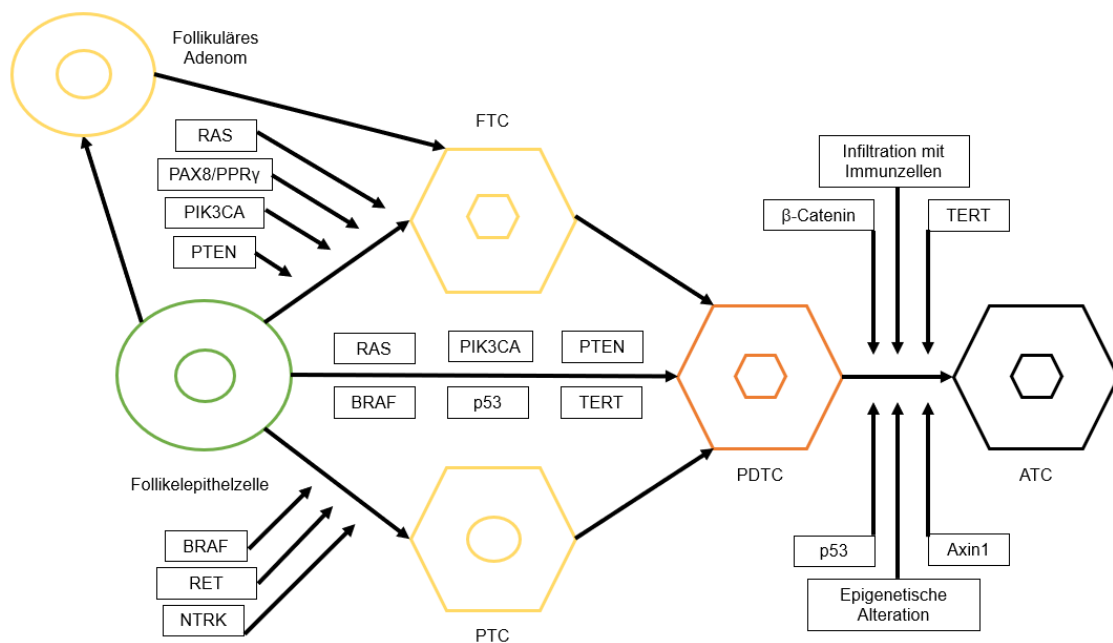


Abbildung 2: Zunahme der Mutationslast in Schilddrüsenkarzinomen ausgehend von normalem Schilddrüsengewebe (Follikelepithelzelle) bis hin zum ATC [15, 16]. RAS: rat sarcoma, BRAF: rapidly accelerated fibrosarcoma B, PIK3CA: Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphat 3-Kinase katalytische

Untereinheit α , TERT: Telomerase reverse Transkriptase, PAX8: Paired-box Protein 8, PPR- γ : Peroxisome proliferator-activated receptor γ , RET: Rearranged during transfection, NTRK: Neurotrophe Tyrosinkinase.

1.2.4 Seltene Tumoren der Schilddrüse

1.2.4.1 Das gering differenzierte Schilddrüsenkarzinom

Beim gering differenzierten Schilddrüsenkarzinom handelt es sich um eine relativ neu in die Klassifikation aufgenommene Entität. Sie entwickelt sich ausgehend von Follikel epithelzellen und wurde erstmals 2004 von der WHO definiert [9, 11]. Hinsichtlich des Verhaltens und der Morphologie stellen sich diese Tumoren intermediär zu den differenzierten und schlecht differenzierten Karzinomen dar [9, 11]. Sie können *de novo* oder aus differenzierten Schilddrüsenkarzinomen entstehen. Bei weiterer Zunahme der Mutationslast können sie bis hin zum ATC dedifferenzieren [13]. Das gering differenzierte Schilddrüsenkarzinom macht einen Anteil von 4-7% der Schilddrüsenkarzinome aus, wobei Frauen etwas häufiger betroffen sind als Männer. Das mittlere Erkrankungsalter beträgt ca. 60 Jahre. Die PatientInnen präsentieren sich mit ähnlichen Symptomen wie ATC-PatientInnen (Vergrößerung des Halsumfangs, Heiserkeit, Dysphagie) und in 15% der Fälle finden sich bei Erstdiagnose Metastasen [9]. Das Tumorstadium wird entsprechend der Tumorklassifikation von differenzierten Schilddrüsenkarzinomen ermittelt [17]. Neben der regionalen Metastasierung in Gefäße und Lymphknoten sind von Fernmetastasen vor allem die Lunge und Knochen, aber auch andere Organe (Gehirn, Leber, Nieren) betroffen [9]. Die 5-Jahres-Überlebensrate liegt bei 60-70%, die 10-Jahres-Überlebensrate bei 25-35%, wobei das krankheitsspezifische Überleben im Median fünf Jahre beträgt [9, 11, 18]. Zu den Prognosefaktoren zählen das Tumorstadium, das Alter bei Erstdiagnose und das Überschreiten der Tumorkapsel [9].

1.2.4.2 Histologie des gering differenzierten Schilddrüsenkarzinoms

Während das PDTC bis 2006 anhand der Kriterien „Nekrose und Mitosen“ des Memorial Sloan-Kettering Cancer Centers in New York diagnostiziert wurde [19], erfolgt seit 2007 eine weitere Differenzierung anhand der Turin-Kriterien (siehe **Abbildung 3**) [20, 21]. Dieser Algorithmus beinhaltet die Diagnose eines von Follikel epithelzellen ausgehenden Karzinoms, das Vorhandensein eines STI-Musters (solide, trabekulär oder insulär), die Abwesenheit PTC-typischer Kerne und mindestens eines der folgenden Kriterien: Nekrosen, spezifische Kernveränderungen und/oder Mitosen (≥ 3 Mitosen pro 10 High-Power Fields, Gesichtsfeldern bei hoher Vergrößerung) [9, 13, 20]. Trotz dieser Kriterien, scheint das PDTC im Jahr 2020 weiterhin unterdiagnostiziert zu sein [16, 22].

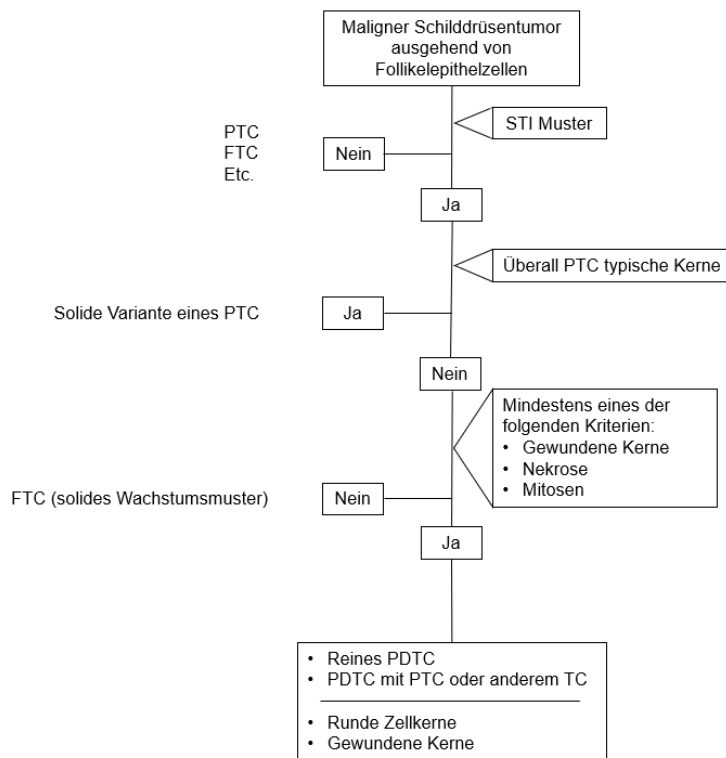


Abbildung 3: Pathologischer Diagnose-Algorithmus für das PDTC [9, 16, 20]. PTC: Papilläres Schilddrüsenkarzinom, FTC: Follikuläres Schilddrüsenkarzinom, STI: solide, trabekulär, insulär.

In immunhistochemischen Färbungen ist der Marker Thyreoglobulin (TG) weniger deutlich positiv als bei differenzierten Schilddrüsenkarzinomen, wohingegen TTF1 (thyreoidaler Transkriptionsfaktor 1) und TTF2 im Gegensatz zum anaplastischen Schilddrüsenkarzinom häufiger positiv sind [9]. Die Werte des Ki-67-Index (Kiel-Antigen Nr. 67, Proliferationsmarker) liegen zwischen den Werten von differenzierten und schlecht differenzierten Karzinomen mit 10-30% [9]. Auch hinsichtlich der Mutationslast werden PDTC-Tumoren zwischen den DTC- und ATC-Tumoren eingeordnet. So finden sich am häufigsten Alterationen in RAS- und TP53 (Tumor-Protein 53)-Genen. Mutationen der TERT-Promotor-Region liegen meist zusätzlich zu anderen genetischen Veränderungen vor [9, 11]. Lediglich 5-15% der Tumoren weisen eine BRAF V600E-Mutation auf, wobei in diesem Fall davon ausgegangen werden kann, dass sich der gering differenzierte Tumor aus einem papillären Schilddrüsenkarzinom entwickelt hat [9, 11]. AKT1(Serin-Threonin-Proteinkinase)-Mutationen konnten in ca. 20% der radiojodrefraktären PDTCs nachgewiesen werden, meist in Kombination mit einer BRAF-Mutation [9]. PDTCs mit Änderungen von RET/PTC und PAX8/PPAR γ sind in der Regel *de novo* entstanden [9]. Beim PDTC finden sich weiterhin Unterbrechungen des Chromatin-Remodeling-Komplexes, Mutationen in Histonmethyltransferase-Genen und Störungen des DNA-mismatch-Reparatursystems (jeweils 5-10%) [9]. Mutationen im β -

Catenin-Gen (CTNNB1) finden sich etwa gleich häufig wie bei anaplastischen Schilddrüsenkarzinomen [9]. Zur Abgrenzung von PTC- und ATC-Gewebe dienen auf Forschungsbasis bestimmte Formen von miRNAs [9, 11].

1.2.4.3 Das anaplastische Schilddrüsenkarzinom

Das anaplastische Schilddrüsenkarzinom ist im Vergleich zu den differenzierten Schilddrüsenkarzinomen mit einer Prävalenz von 1-2% sehr selten und kann *de novo* oder aus differenzierten Vorstufen durch Akkumulation einer höheren Mutationslast entstehen [9, 11]. Männer und Frauen sind etwa gleich häufig betroffen, wobei das mittlere Diagnosealter bei 70 Jahren liegt [11, 23]. Aufgrund des rasch progredienten Verlaufs werden ATC immer dem UICC-Stadium IV zugeordnet, wobei bei einem UICC-Stadium IVA der Tumor auf die Schilddrüse begrenzt ist und weder Lymphknoten- noch Fernmetastasen vorliegen (T1-T3a, N0, M0) [17, 24]. Das UICC-Stadium IVB beschreibt eine Tumor-Ausdehnung jenseits der Schilddrüsenkapsel mit oder ohne Lymphknotenmetastasen [17]. Ungefähr die Hälfte der PatientInnen präsentieren sich mit Fernmetastasen bei Erstdiagnose (IVC: jedes T, jedes N, M1), von denen insbesondere die Lunge, das Mediastinum und die Knochen betroffen sind [17, 23, 24]. Die mediane Überlebenszeit hängt vom jeweiligen Tumorstadium ab und beträgt durchschnittlich sechs Monate bei einer 1-Jahres-Überlebensrate von 10-20% [9, 18, 23]. Aufgrund neuer personalisierter und multidisziplinärer Therapieoptionen hat sich die Prognose in den letzten Jahren allerdings deutlich gebessert [25].

1.2.4.4 Histologie des anaplastischen Schilddrüsenkarzinoms

Anaplastische Tumoren der Schilddrüse entstehen wie DTC und PDTC aus entdifferenzierten Follikel-epithelzellen. In ca. einem Fünftel der Fälle finden sich DTC-Anteile neben ATC-Tumoren wieder [23]. 50% der Tumoren weisen eine PAX8-Positivität auf, wohingegen die typischen Schilddrüsengewebe-Marker TTF1 und Thyreoglobulin nicht vorhanden sind [9, 11]. Die häufigste histologische Form des ATC ist die sarkomatoide Variante. Daneben gibt es eine weitere Einteilung in Riesenzell- oder epitheliale Tumoren, wobei alle Tumoren Nekrosen, eine erhöhte Mitoserate und ein infiltratives Wachstum aufweisen [9, 11]. Weiterhin werden die folgenden Varianten unterschieden: Paucizellulär, angiomatös, rhabdoid, Lymphoepitheliom-ähnlich und kleinzellig [9, 11].

Mutationsanalysen konnten zeigen, dass ATC-Gewebe im Vergleich zu DTC eine gesteigerte Anzahl an Mutationen in Tumorsuppressorgenen, der PI3K

(Phosphoinositid-3-Kinase) /AKT (Serin-Threonin-Kinase)-Signalkaskade und in Genen für Histonmodifikation, Nukleosomremodeling und der Zellzyklusregulation aufweist [26]. Am häufigsten von Mutationen betroffen sind vor allem TP53- und TERT-Gene [16, 26]. Ungefähr zwei Fünftel der Tumoren weisen eine BRAF V600E-Mutation auf und in ca. einem Drittel finden sich RAS-Mutationen [16, 26]. Co-Amplifikationen wurden in den Genen CD274 (PD-L1), PDCD1LG2 (PD-L2) und JAK2 (Januskinase 2) bei einer kleinen Anzahl an Tumorproben nachgewiesen [26]. Mutationen von EIF1AX (Eukaryotic Translation Initiation Factor 1 A X-linked) werden in ATC- und PDTC- im Vergleich zu PTC-Gewebe häufiger gefunden und treten oft zusammen mit RAS-Mutationen auf [27]. Weiterhin findet man selten Amplifikationen im KIT (Tyrosin-Proteinkinase)-Gen zusammen mit einer Steigerung der Kopienzahl in den Genen für PDGFR- α (Platelet-derived growth factor receptor α) sowie ALK (anaplastische Lymphomkinase)-Mutationen [11, 26]. Einen Überblick zu typischen Treibergenen, die bei ATC- und PDTC-Tumoren alteriert sein können, bietet **Tabelle 1**.

Somatische Mutationen				
Zelluläre Funktion	Signalweg	Gen	ATC Anteil Alterationen (%)	PDTC Anteil Alterationen (%)
Intrazelluläre Signalwege	MAPK	BRAF	28	24
		NRAS	19	16
		NF1	6	0
		KRAS	5	3
		HRAS	5	4
	PI3K-AKT	PIK3CA	11	10
		PTEN	9	2
		NF2	5	0
		IRS1	4	-
		AKT1	-	5
	WNT/β-Catenin	AXIN1	5	-
		CTNNB1	4	1
		APC	3	17
	Zellzyklusregulation		TERT	75
		TP53	46	26
		ATM	5	10

	RB1	4	3
	CDKN2A	4	-
Protein-Metabolismus	EIF1AX	9	8
	CALR	5	-
	RBM10	3	-
Gen-Fusionen			
	PAX8-PPAR γ	0	4
NTRK	NTRK1-IRF2BP2	1	0
	NTRK2-CRNDE	1	0
	ETV6-NTRK3	0	2
RET	CCD6-RET	2	3-4
	NCOA4-RET	-	2-4
	PDCD10-RET	0	2
	TFG-RET	0	2
ALK	STRN-ALK	-	4
	EML4-ALK	0	2
BRAF	KIAA1549-BRAF	-	0
	SCRIB-BRAF	0	2

Table 1: Häufigkeiten somatischer Mutationen und Gen-Fusionen in ATC und PDTC [9, 16, 28]. MAPK: Mitogen-aktivierte Protein-Kinase, PI3K: Phosphoinositid-3-Kinase, AKT1: Serin-Threonin-Proteinkinase, PAX8: Paired-Box-Protein 8, PPAR γ : Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor, NTRK: Neurotrophe Rezeptortyrosinkinase, RET: Rearranged during transfection, ALK: Anaplastische Lymphomkinase, BRAF: Rapidly Accelerated Fibrosarcoma B, NRAS: Neuroblastoma RAS, NF1/2: Neurofibromatose Typ 1/2-Gen, KRAS: Kirsten rat sarcoma virus, HRAS: Harvey rat sarcoma virus, PIK3CA: Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphat-3-Kinase katalytische Untereinheit α , PTEN: Phosphatase und Tensin homolog, IRS2: Insulin receptor substrate 2, AXIN1: Axis inhibition protein 1, CTNNB1: Catenin β 1, TERT: Telomerase reverse Transkriptase, TP53: Tumor Protein 53, ATM: Ataxia teleangiectasia mutated, RB1: Retinoblastom Protein 1, CDKN2A: Cyclin dependent kinase inhibitor 2A, EIF1AX: Eukaryotic Translation Initiation Factor 1A X-Linked, CALR: Calreticulin, RBM10: RNA-binding motif 10.

1.2.5 Tumormikroumgebung

Nicht nur genetische Alterationen spielen in der Entstehung, Progression und hinsichtlich des Therapie-Ansprechens von Tumoren eine wichtige Rolle, sondern auch das umgebende Milieu, das sog. tumor microenvironment (TME) [29]. Interaktionen von Tumor und TME schaffen eine Umgebung, die sich positiv auf den Tumor auswirkt, z. B. hinsichtlich der Gefäßversorgung und Immunantwort [29, 30]. Das TME setzt sich aus Matrixproteinen und Immunzellen zusammen [29]. Zu den relevanten Immunzellen

zählen vorwiegend tumorassoziierte Makrophagen (TAMs), die Tumorwachstum und Angiogenese vermitteln sowie immunsuppressiv wirken können [29]. Weiterhin an der Immunsuppression beteiligt sind myeloid-derived suppressor cells (MDSC), die auch zytotoxische T-Zellen hemmen, und FoxP3⁺ regulatorische T-Zellen (Treg). Zu den tumorinfiltrierenden T-Zellen (TILs) gehören CD8⁺ T-Zellen und CD4⁺ Th1-Zellen. Sie verfügen über die Fähigkeit, Tumorzellen zu töten. Neben den TILs können auch natürliche Killerzellen zur Tumorzellelimination beitragen [29]. Weitere Zellen des TME sind tumorassoziierte Fibroblasten, mesenchymale Stammzellen und tumorassoziierte neutrophile Granulozyten [29]. Für die Gefäßneubildung und Blutgefäßstabilität im TME sind Perizyten und vaskuläre Endothelzellen verantwortlich [29]. In aggressiven Tumoren, wie z. B. anaplastischen Schilddrüsenkarzinomen, wird eine Entzündungsreaktion durch CD3⁺ und CD8⁺ T-Zellen in der Umgebung des Tumors ausgelöst. Das TME wird dann als „heiß“ (T cell-inflamed „hot“ tumor immune microenvironment, TIME) bezeichnet [31]. Tumoren mit TIME sind Immuntherapien häufig gut zugänglich [31].

1.2.6 Diagnostik

Die Diagnostik der Schilddrüsenkarzinome umfasst zunächst die Anamnese und die körperliche Untersuchung, mit Fokus auf die Schilddrüse und Halsregion [13]. Bei Symptomen wie z. B. Heiserkeit, Dysphagie oder Dysphonie sowie Verdacht auf eine Vergrößerung bzw. knotige Veränderung der Schilddrüse, erfolgt anschließend eine Sonografie der Halsregion. Schilddrüsenknoten >1 cm, die sich unregelmäßig begrenzt, echoarm, mit (Mikro-)Verkalkungen und tiefer als breit darstellen, gelten als malignomverdächtig [32]. Weiterhin erfolgt die laborchemische Bestimmung von fT3, fT4, TSH zur Beurteilung der Stoffwechsellage und von Calcitonin (Tumormarker des medullären Schilddrüsenkarzinoms). Zeigt sich ein echoarmes Parenchym in der Sonografie, werden Thyreoperoxidase- (TPO)- und eventuell Thyreoglobulin- (Tg)-Antikörper zum Ausschluss einer Autoimmunthyreoiditis bestimmt. Thyreoglobulin ist ein Tumormarker für die Verlaufskontrolle bei PTC, FTC und PDTC und sollte präoperativ nicht bestimmt werden, da er auch von normalem Schilddrüsengewebe synthetisiert wird und keine Dignitätsdiagnostik erlaubt [13, 32]. Schilddrüsenknoten ≤1cm werden regelmäßig nachkontrolliert [13]. Beträgt der Knoten-Durchmesser >1cm mit Malignitätsverdacht kann auch bei (niedrig) normalem TSH eine Schilddrüsenszintigrafie erfolgen. Wichtigster diagnostischer Schritt ist die Feinnadelbiopsie mit Aspirationszytologie [13, 32]. Sollte sich ein niedriges TSH zeigen oder die Schilddrüse mehrere Läsionen zeigen, erfolgt regelmäßig zunächst eine Schilddrüsenszintigrafie.

Lassen sich dabei wiederum ein oder mehrere hypofunktionelle Knoten darstellen, erfolgt im Anschluss eine Feinnadelaspirationszytologie [13]. Gutartige Befunde der Feinnadelaspirationszytologie haben eine regelmäßige Nachsorge zur Folge, karzinomverdächtige Befunde sollten weiter abgeklärt werden [13].

1.2.7 Staging und operative Therapie

Weitere bildgebende Verfahren umfassen eine CT und/oder MRT der Halsregion. Zu möglichen weiteren Staging-Untersuchungen gehören ein Röntgen Thorax oder eine CT-Thorax, eine Sonografie des Abdomens, eine Knochenszintigrafie und eine PET-CT [32, 33]. In jedem Fall sollte die weitere Behandlung interdisziplinär in einem Team bestehend aus Endokrinologen/Onkologen, Chirurgen, Strahlentherapeuten und Nuklearmedizinern festgelegt werden [32]. Sollte sich der Verdacht auf ein Malignom erhärten, folgt die operative Therapie meist in Form einer (einzeitigen=eine Operation oder zweizeitigen=zwei Operationen) Thyreoidektomie (Resektion inklusive chirurgischer Kapsel und zervikozentraler Lymphknoten) mit intraoperativem Schnellschnitt [33]. Als „Hemithyreoidektomie“ bezeichnet man die Entfernung eines Schilddrüsenlappens, wobei diese als alleinige Therapie in Deutschland noch auf papilläre Mikrokarzinome beschränkt bleibt [13]. Spricht die pathologische Befundung gegen ein Mikrokarzinom, muss der Schilddrüsenrest in einer zweiten OP entfernt werden [34]. Sind Tumoren so stark ausgedehnt, dass eine vollständige Resektion nicht möglich ist, ohne umgebende Gewebe, Gefäße oder Nerven zu schädigen, wird trotzdem versucht das Tumolvolumen zu verkleinern (sog. Debulking) [34]. Bei fortgeschrittener Ausdehnung des Tumors (T3/T4) muss die Operation um die Resektion der Halslymphknoten erweitert werden (neck dissection=Resektion lateraler Halslymphknoten) [33]. Das chirurgische Resektionsausmaß (R) wird pathologisch bestimmt. Die klinische (c) und pathologische Untersuchung erlaubt die Bestimmung des TNM-Stadiums, wobei „T“ für Tumorausdehnung, „N“ für Lymphknoten und „M“ für Metastasen steht [17]. R0 bezeichnet die komplette Resektion des Tumors ohne Residuen, bei R1 verbleiben mikroskopisch und bei R2 makroskopisch nachweisbare Residuen [17].

1.2.7.1 Staging von differenzierten und gering differenzierten Schilddrüsenkarzinomen

UICC-Stadium	T	N	M
<55 Jahre			
I	Jedes T	Jedes N	M0

II	Jedes T	Jedes N	M1
≥ 55 Jahre			
I	T1a, T1b, T2	N0	M0
II	T3	N0	M0
	T1, T2, T3	N1	M0
III	T4a	Jedes N	M0
IVA	T4b	Jedes N	M0
IVB	Jedes T	Jedes N	M1

Tabelle 2: UICC-Klassifikation für DTC und PDTC in 8. Auflage, 2017 [17]. UICC: Union internationale contre le cancer. T: Tumor, N: Lymphknoten, M: Metastasen.

1.2.7.2 Staging von anaplastischen Schilddrüsenkarzinomen

UICC- Stadium	T	N	M
IVA	T1, T2, T3a	N0	M0
IVB	T1, T2, T3a	N1	M0
	T3b, T4a, T4b	N0, N1	M0
IVC	Jedes T	Jedes N	M1

Tabelle 3: UICC-Klassifikation des anaplastischen Schilddrüsenkarzinoms in 8. Auflage, 2017 [17]. UICC: Union internationale contre le cancer.

1.2.7.3 Zugrundeliegende TNM-Klassifikation für alle Schilddrüsenkarzinome

T1a	Tumordurchmesser ≤1cm, begrenzt auf die Schilddrüse
T1b	Tumordurchmesser >1cm bis ≤2cm, begrenzt auf die Schilddrüse
T2	Tumordurchmesser >2cm bis ≤4cm, begrenzt auf die Schilddrüse
T3a	Tumordurchmesser >4cm, begrenzt auf die Schilddrüse
T3b	Tumordurchmesser jeglicher Größe mit makroskopischer extrathyreoidaler Ausbreitung (d.h. Ausbreitung in M. sternocleidomastoideus, M. sternothyroideus oder M. omohyoideus)
T4a	Tumorausbreitung mit Kapselüberschreitung und Invasion einer oder mehrerer der folgenden Strukturen: Subkutanes Weichgewebe, Larynx, Trachea, Ösophagus, N. recurrens
T4b	Tumorausbreitung mit Infiltration der prävertebralen Faszie, mediastinaler Gefäße oder Umschließung der A. carotis

N1a	Lymphknotenmetastasen im Level IV (prä- und paratracheal einschließlich prä-laryngeal/Delphi-Lymphknoten) oder obere mediastinale Lymphknotenmetastasen
N1b	Metastasen in anderen uni-, bi- oder kontralateralen zervikalen (Level I, II, III, IV und V) oder retropharyngealen Lymphknoten
M1	Fernmetastasen

Tabelle 4: TNM-Klassifikation in 8. Auflage, 2017 [17]. T: Tumor, N: Lymphknoten, M: Metastasierung.

1.2.8 Spezifische Therapie und Nachsorge des PTC und PDTC

Bis zum Abschluss dieser Arbeit lag kein gesonderter Therapie-Algorithmus für PDTC-PatientInnen vor. Deshalb wird im Folgenden näher auf die Therapie-Optionen bei DTC in Zusammenschau mit PDTC eingegangen (siehe **Abbildung 4**). DTC und ein Teil der PDTC nehmen am Jod-Umsatz teil. Deshalb können PatientInnen im Anschluss an die operative Therapie eine Radiojod-Therapie mit Jod-131 erhalten. Vorher sollte zur TSH-Stimulation eine Schilddrüsenhormonkarenz von ca. vier Wochen eingehalten werden oder eine zweimalige intramuskuläre Gabe von rhTSH (rekombinantes humanes TSH, Thyrogen) erfolgen [13]. Jod-131 ist zu 90% ein β -Strahler und zu 10% ein γ -Strahler, der therapeutisch eingesetzt wird, um Restschilddrüsengewebe, Lokalrezidive, Lymphknoten- und Fernmetastasen zu behandeln [13]. Eine Ausnahme hiervon stellen differenzierte Mikrokarzinome (Tumordurchmesser ≤ 1 cm) dar, die durch eine kurative Hemithyreoidektomie mit anschließender Nachsorge behandelt werden können [13]. Anschließend an die RIT erfolgt eine 3-monatiger Behandlung mit Levothyroxin (L-T4), das körpereigenem T4 entspricht. Die erste Nachsorge mit Anamnese, körperlicher Untersuchung und Bestimmung von TSH, hTG und Durchführung einer Sonografie, wird gefolgt von einer L-T4-Einnahme für 2-6 Monate und weiteren vier Wochen Schilddrüsenhormon-Karenz oder der zweimaligen Gabe von rhTSH [13]. Danach erfolgt ein diagnostisches Jod-131-Ganzkörperszintigramm und die Bestimmung von humanem Thyreoglobulin (TG) [13]. Liegt das TG über dem internen Cut-off und/oder liegt eine pathologische Jod-131-Speicherung vor, stehen nach Diskussion im Tumorboard eine erneute RIT oder ein chirurgisches Vorgehen zur Verfügung [13]. Daran anschließend erfolgt im Abstand von sechs Monaten wieder die Durchführung eines diagnostischen ^{131}I -Szintigramms und die erneute Bestimmung von TG. Bei negativem Jod-131-Scan und messbarem TG unterhalb des internen Cut-offs sollte nach der Diskussion im Tumorboard ggf. die Messung des TG wiederholt und jährlich ein diagnostisches Jod-131-Ganzkörperszintigramm erfolgen [13]. Stabile oder ansteigende TG-Werte können bei diesen PatientInnen eine nuklearmedizinische oder chirurgische Intervention wie

oben beschrieben zur Folge haben [13]. Bei fallenden TG-Werten können PatientInnen einem Basis-Nachsorgeprogramm zugeführt werden. Zeigt sich ein negativer Jod-131-Scan ohne messbares TG, erfolgt ein Nachsorgeprogramm alle 6-12 Monate mit der Kontrolle von TG/TSH, fT3, fT4 und sowie der Durchführung einer Hals-Sonografie [13]. Bei Vorliegen von Fernmetastasen sollen diese, wenn möglich, chirurgisch entfernt werden [13]. Ein Lokalrezidiv oder Knochenmetastasen können chirurgisch oder strahlentherapeutisch mittels Radiatio, nicht resezierbare Metastasen durch Optimierung der RIT behandelt werden [13]. Im Verlauf können die Tumoren die Fähigkeit zur Jodspeicherung und somit das Ansprechen auf RIT verlieren. Sie werden dann als „radiojod-refraktär“ (RR-DTC) bezeichnet [13]. Einen Hinweis darauf liefert ein dauerhaft erhöhter oder erneut nachweisbarer Thyreoglobulin-Spiegel [13]. Die Radiojod-Aufnahme wird über den Natrium/Jodid-Symporter gesteuert [13]. Bei unzureichender Expression dieses Membrantransporters, der normalerweise ein Jodid-Ion gemeinsam mit zwei Natrium-Ionen in die Zelle befördert, kommt es zum Verlust der Fähigkeit der Schilddrüsenzellen Radiojod aufzunehmen [13]. Bei Vorliegen von Fernmetastasen (10% der PatientInnen mit differenziertem Schilddrüsenkarzinom) und unzureichendem Ansprechen auf RIT (2/3 der PatientInnen mit Fernmetastasen), beträgt die 10-Jahres-Überlebensrate nur noch 15%, anstatt 90% [13].

Gering-differenzierte Schilddrüsenkarzinome zeichnen sich im Vergleich zu differenzierten Schilddrüsenkarzinomen durch eine höhere Aggressivität und verminderte Fähigkeit zur Jodspeicherung aus [13]. Trotzdem sollte die Therapie aus postoperativer TSH-Suppression und Radiojodtherapie genutzt werden [13, 35, 36]. Sobald auch diese Karzinome kein Ansprechen mehr auf RIT zeigen, werden sie wie fortgeschrittene radiojod-refraktäre differenzierte Schilddrüsenkarzinome behandelt [13]. Als Erstlinientherapie wird eine Chemotherapie aufgrund des mäßigen Ansprechens aktuell nicht mehr empfohlen, sodass die PatientInnen zunächst mit L-Thyroxin TSH-suppressiv behandelt und lokale Therapiemaßnahmen ergriffen werden sollten [13]. Zu letzteren zählen z. B. die chirurgische Evaluation oder stereotaktische Bestrahlung. Verlaufskontrollen im Abstand von 6 Monaten können bei PatientInnen mit geringer Tumorlast, asymptomatischer Erkrankung und stabilem Krankheitsverlauf in Erwägung gezogen werden [13]. Zwei wichtige Säulen der Therapie radiojod-refraktärer Schilddrüsenkarzinome sind die Strahlentherapie und zielgerichtete Therapien [13]. Eine externe Strahlentherapie ist bei folgenden Patientengruppen indiziert: Primär inoperabler Tumor, mikroskopischer oder makroskopischer Tumorrest, ossäre oder intraspinal Metastasen und zerebrale Filiae [13]. Die technischen Verfahren umfassen dabei die

IMRT (intensitätsmodulierte Radiotherapie) oder VMAT (volumenmodulierte Rotationsbestrahlung) mit begleitender IGRT (image guided radiotherapy) [13].

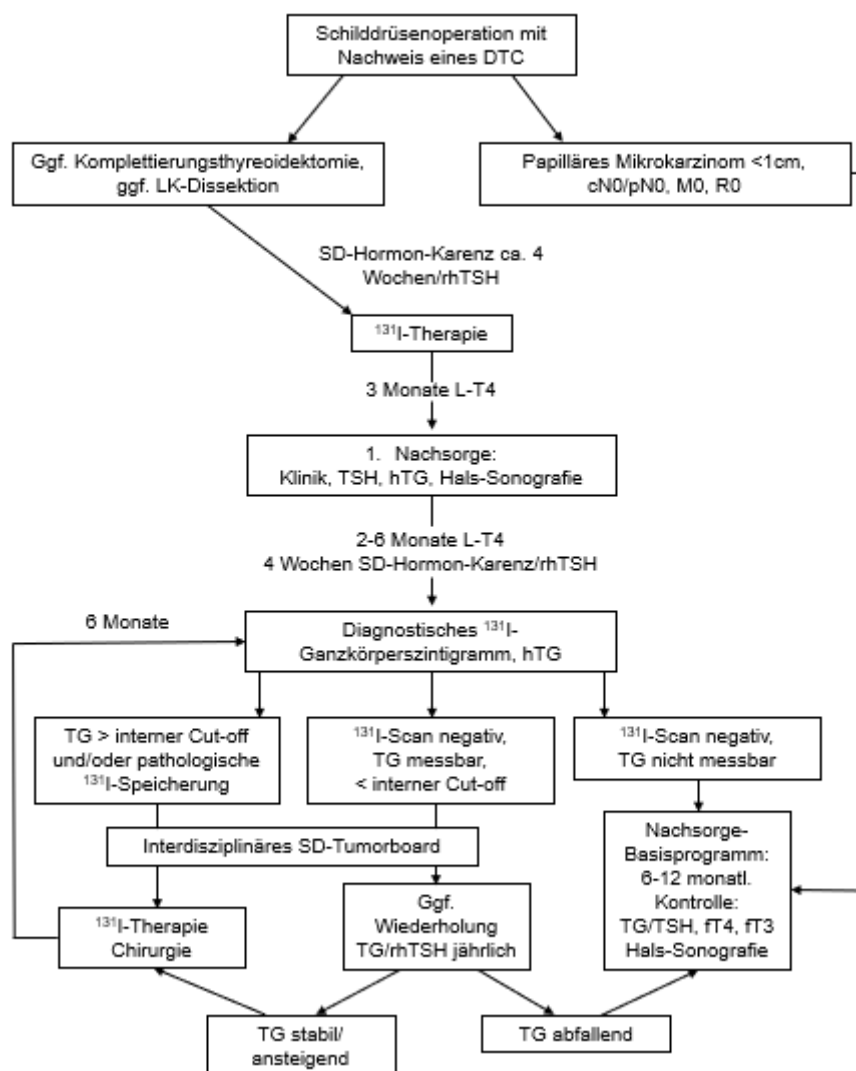


Abbildung 4: Vorgehen bei postoperativer Diagnose eines differenzierten Schilddrüsenkarzinoms (DTC) [13]. LK: Lymphknoten, SD: Schilddrüse, TG: Thyreoglobulin.

1.2.8.1 Spezifische Therapie des anaplastischen Schilddrüsenkarzinoms

Die aus dem Jahr 2021 stammenden Leitlinien der American Thyroid Association (ATA) zur Behandlung des ATC legen ein differenziertes Vorgehen je nach UICC-Stadium fest [24]. Dabei ist zunächst zu beachten, dass anaplastische ebenso wie medulläre Schilddrüsenkarzinome nicht am Jodumsatz teilnehmen und somit auch nicht der Radiojod-Therapie zugänglich sind [32]. Da der Krankheitsverlauf rasch progredient und infiltrativ verläuft, sind die Tumoren einer Operation häufig nicht zugänglich, sodass

andere Therapie-Ansätze betrachtet werden müssen [24]. Die Empfehlungen legen nahe, alle ATC-PatientInnen weiterhin in klinische Studien einzuschließen. Außerdem sollten PatientInnen darüber informiert werden, dass eine supportive Therapie, eine palliativmedizinische ambulante oder stationäre Betreuung oder ein Hospiz-Aufenthalt jederzeit Alternativen zu anderen verfügbaren Therapien darstellen [24].

Bei Vorliegen eines Tumorstadiums IVA (Tumor auf die Schilddrüse begrenzt, weder Lymphknoten- noch Fernmetastasen) erfolgt die Behandlung mit kurativer Intention. Eine R0- oder R1-Resektion sollte angestrebt, und ein Debulking bzw. eine Laryngektomie vermieden werden. Zur weiteren Therapie kommen eine Bestrahlung (Radiatio, Rx) der Halsregion und/oder eine Chemotherapie (CTx) mit einer Taxan-Monotherapie in Frage. Diese kann mit Platin-Derivaten oder Anthrazyklinen erweitert werden [24].

Besteht bei Erstdiagnose ein UICC-Stadium IVB (Tumor-Ausdehnung jenseits der Schilddrüsenkapsel, mit oder ohne Lymphknotenmetastasen), wird zunächst evaluiert, ob der Tumor einer chirurgischen Intervention zugänglich ist, und ob sich in immunhistochemischen oder molekulargenetischen Testungen Mutationen nachweisen lassen. Bei Vorliegen eines resektablen Befundes, erfolgt die weitere Therapie wie bei PatientInnen mit Tumorstadium IVA [24]. Besteht keine Möglichkeit zur R0/R1-Resektion, gibt es zunächst zwei Optionen. PatientInnen können sich nach Abwägung der unterschiedlichen Therapien entweder für eine Rx und/oder CTx entscheiden (diese kann auch überbrückend, bis zum Erhalt der Mutations-Analysen oder der Einleitung einer zielgerichteten Therapie, verabreicht werden) oder es ergeben sich Alternativen durch das Vorhandensein von Mutationen. Bei Vorliegen einer BRAF V600E-Mutation sollte eine Kombinationstherapie mit dem BRAF-Kinase-Inhibitor Dabrafenib und dem MEK-Inhibitor Trametinib erfolgen [24, 37]. PatientInnen mit Tumoren, die keine BRAF V600E-Mutation aufweisen, können bei Nachweis anderer genetischer Veränderungen, wie z. B. ALK-, NTRK- oder RET-Fusionen, mit gezielten Therapien wie ALK- (Crizotinib, Ceritinib, Alectinib), RET- (Pralsetinib, Selpercatinib) oder NTRK-Inhibitoren (Larotrectinib, Entrectinib) behandelt werden [24]. Sprechen die Tumoren auf die Tyrosinkinaseinhibitor (TKI)-Therapie gut an, können PatientInnen anschließend chirurgisch reevaluiert werden und ggf. einer OP mit nachfolgender Radiatio und/oder Chemotherapie zugeführt werden [24]. PatientInnen mit irresektablen Tumoren ohne BRAF V600E-Mutation oder Vorliegen anderer Mutationen, wie z. B. ALK-, NTRK- oder RET-Fusionen werden vorzugsweise mit einer Radiatio und/oder Chemotherapie behandelt [24]. PatientInnen, die unter TKI-Therapie keine Minderung der Tumorlast

zeigen, können je nach Allgemeinzustand entweder eine Radiatio und/oder Chemotherapie mit kurativer oder palliativer Zielsetzung, oder eine supportive Therapie, ggf. auch im Hospiz, erhalten [24].

Das Therapieschema zu PatientInnen mit ATC im Stadium IVC (Vorliegen von Fernmetastasen bei ED) ist in **Abbildung 5** dargestellt. Diese Tumoren sind häufig lokal weit fortgeschritten, sodass eine chirurgische Therapie nicht erfolgsversprechend ist. Das therapeutische Vorgehen orientiert sich an den Wünschen der PatientInnen. PatientInnen können sich entweder für oder gegen eine aggressive Tumorthherapie entscheiden [24]. Letztere können eine supportive Therapie, eine palliativmedizinische Betreuung im ambulanten oder stationären Setting oder ggf. einen Hospiz-Aufenthalt in Anspruch nehmen. PatientInnen, die eine aggressive Tumorthherapie wünschen, können eine CTx und/oder Rx mit palliativer Zielsetzung erhalten oder es ergeben sich weitere therapeutische Optionen aufgrund von Mutations-Analysen oder der Expression therapierrelevanter Zielstrukturen. Eine CTx +/- Rx kann auch in diesem Tumorstadium bis zum Erhalt immunhistochemischer oder molekulargenetischer Ergebnisse oder der zielgerichteten Therapie (z. B. Dabrafenib + Trametinib) eingeleitet werden. Kann eine BRAF V600E-Mutation nachgewiesen werden, kann eine TKI-Therapie mit Dabrafenib + Trametinib erfolgen [24, 37]. Liegt keine BRAF-Mutation vor, ergeben sich drei Möglichkeiten. Bei hoher PD-L1-Expression (und/oder ≥ 10 Mutationen/Mb TMB) können Immuncheckpointinhibitoren (ICI), wie z. B. Pembrolizumab, verabreicht werden. Bei Abwesenheit einer BRAF V600E-Mutation und fehlender oder geringer PD-L1-Expression jedoch Nachweis genetische Veränderungen (z.B. ALK, NTRK- oder RET-Fusionen) kann mit den oben bei Tumorstadium IVB genannten TKIs oder mit einer palliativen zytotoxischen Chemotherapie und/oder Radiatio behandelt werden. Als dritte Möglichkeit werden PatientInnen, deren Tumoren weder einer TKI- noch ICI-Therapie zugänglich sind, mit einer palliativen zytotoxischen CTx mit oder ohne Rx behandelt. Bei gutem Ansprechen auf CTx und/oder Rx oder TKI-Therapie wird anschließend eine konsolidierende Therapie (fokale Rx, zur Kontrolle makroskopischer Residuen) empfohlen [24]. Bleibt das Therapie-Ansprechen aus, stehen die palliative zytotoxische CTx und/oder RTx bzw. die supportive Therapie/palliativmedizinische Versorgung/Hospiz zur Verfügung und sollten je nach Allgemeinzustand des/der Patienten/-in evaluiert werden [24]. Da sich diese Arbeit insbesondere mit zielgerichteten Therapien beschäftigt, werden diese Strategien in den folgenden Kapiteln näher beschrieben.

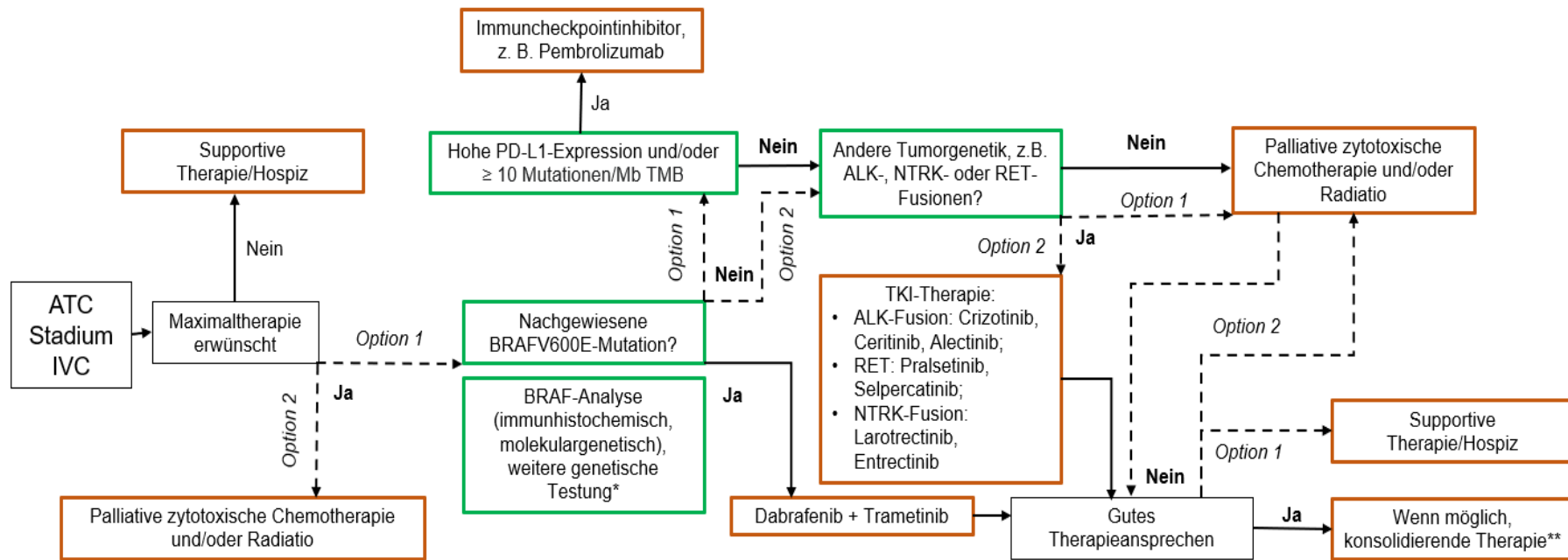


Abbildung 5: Therapie-Algorithmus bei Diagnose eines ATC im UICC-Stadium IVC. *zur Überbrückung bis zum Erhalt der genetischen Ergebnisse oder einer Therapie mit Dabrafenib und Trametinib, kann mit einer zytotoxischen Chemotherapie begonnen werden, **konsolidierende Therapie: Fokale Therapie zur Kontrolle von makroskopischen Residuen. Gestrichelte Pfeile: Konkurrierende therapeutische Optionen, Grüner Rahmen: Diagnostik, Brauner Rahmen: (supportive) Therapie, TMB: Tumor mutational burden (Mutationslast), TKI: Tyrosinkinaseinhibitor, ALK: Anaplastische Lymphomkinase, RET: Rezeptortyrosinkinase, NTRK: Neurotrophe Tyrosinkinase [24].

1.2.9 Bildgebende Beurteilung des Therapieansprechens nach RECIST 1.1

Um das Ansprechen auf verschiedene Therapie-Optionen zu quantifizieren, wurden die sogenannten Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST-Kriterien) eingeführt [38]. Diese haben sich in zahlreichen klinischen Studien bewährt und für viele Tumorerkrankungen konnte die Validität hinsichtlich des Tumoransprechens gesichert werden. Die RECIST-Klassifikation ist im Detail komplex. Im Folgenden sollen daher die wesentlichen Begriffe eingeführt werden. Als komplette Remission/complete remission (CR) spricht man beim Verschwinden aller Target-Läsionen, pathologische Lymphknoten dürfen dabei in der kurzen Achse maximal <10 mm groß sein [39]. Um eine partielle Remission/partial response (PR) handelt es sich, wenn eine Verkleinerung des Durchmessers der Summe aller Target-Läsionen um mindestens 30% zu beobachten ist. Als Referenzwert dient die Summe der Durchmesser der Läsionen zu Beginn des Beobachtungszeitraums. Der Begriff „progressive Erkrankung“/progressive disease (PD) bezieht sich auf einen Anstieg der Summe der Target-Läsionen-Durchmesser um mindestens 20% [39], wobei der geringste Summenwert der Target-Läsionen dabei als Ausgangswert dient [39]. Zudem sollte der Wert der absoluten Vergrößerung mindestens 5 mm betragen [39]. Das Auftreten einer oder mehrerer neuer Läsionen wird ebenfalls als Progress gewertet [39]. Unter einer stabilen Erkrankung/stable disease (SD) versteht man eine nicht ausreichende Verkleinerung oder Vergrößerung im Sinne von PR oder PD, wobei als Referenzwert die kleinste Summe des Durchmessers der Target-Läsionen herangezogen wird. Kommt es bei einem Teil der Läsionen zum Progress und in einem anderen Teil zur Remission, spricht man von einer gemischten Antwort/mixed response (MR) [39].

1.3 Molekular zielgerichtete Systemtherapien

Substanzen gegen molekulare Zielstrukturen haben die internistische Onkologie maßgeblich verändert. Man unterscheidet dabei verschiedene Kategorien von molekularen Zielstrukturen. Diese umfassen tumorselektive Oberflächenantigene (z. B. CD20), überexprimierte Oberflächenproteine (z.B. EGFR), Zytokine (z.B. VEGF), tumorspezifische durchgehend aktivierte Tyrosinkinase (z. B. BCR-ABL) und aktivierte intrazytoplasmatische Signalkaskaden (z. B. RAS-Signalweg) [40].

1.3.1 Tyrosinkinaseinhibitoren

Tyrosinkinase werden in normalem Gewebe gering exprimiert und vermitteln die Signaltransduktion von extra- nach intrazellulär, wo sie über die Genexpression im Zellkern Einfluss auf die Proteinsynthese nehmen. Sie geben der Zelle somit die

Möglichkeit auf Reize aus der Umgebung zu reagieren. In Tumoren zeigen sie allerdings eine übermäßige Aktivierung [40]. Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) wirken meist spezifisch für eine oder mehrere membranständige Tyrosinkinasen (sog. Rezeptortyrosinkinasen) oder nicht membrangebundene Tyrosinkinasen. Die Zielstrukturen umfassen für Rezeptortyrosinkinasen z. B. VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor), c-KIT (Tyrosin-Proteinkinase) oder PDGFR (platelet-derived growth factor receptor). Aufgrund des geringen Therapie-Ansprechens seltener Schilddrüsenkarzinome auf Radiatio und/oder Chemotherapie [15, 41-43], sind TKIs eine wichtige Säule in der Behandlung seltener Schilddrüsenkarzinome. Die beiden wichtigsten Substanzen sind dabei Sorafenib und Lenvatinib, die zur Behandlung fortgeschrittener, radiojod-refraktärer DTC zugelassen sind [13].

Sorafenib ist ein Multi-Tyrosinkinaseinhibitor, der VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor) 1-3, PDGFR (platelet-derived growth factor receptor) β , RAF, und RET inhibiert [13]. Die DECISION-Studie, eine doppel-blinde, randomisierte, kontrollierte Phase-III-Studie, konnte bei PatientInnen mit RR-DTC (PTC, FTC inklusive Hürthle-Zell und PDTC) mit progressiver Erkrankung in den letzten 14 Monaten zeigen, dass Sorafenib im Vergleich zu einer Placebo-Therapie zu einem signifikant längeren progressionsfreien Überleben führte (10,8 Monate vs. 5,8 Monate) [44]. PatientInnen, die das Placebo erhalten hatten und im Verlauf eine progressive Erkrankung zeigten, konnten im open-label-Arm der Studie mit Sorafenib therapiert werden [44]. In PTC-Gewebe zeigten sich am häufigsten BRAF- (46,2%) und RAS-Mutationen (17,9%) [44]. RAS-Mutationen kamen dagegen am häufigsten in PDTC-Gewebe (32,3%) vor [44]. Das mediane progressionsfreie Überleben bei PatientInnen, deren Tumoren eine BRAF- oder RAS-Mutation aufwiesen und mit Sorafenib therapiert wurden, war im Vergleich zur Placebo-Gruppe länger [44]. Trotzdem konnten die Analysen keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem BRAF- oder RAS-Mutationsstatus und dem Therapie-Ansprechen auf Sorafenib zeigen [44]. Zu den häufigsten Nebenwirkungen unter Sorafenib-Therapie zählten das Hand-Fuß-Syndrom (76,3%), Diarrhoe (68,6%), Alopezie (67,1%) und Rash/Hautschuppung (50,2%) [44]. Aufgrund dieser Studien-Ergebnisse wurde Sorafenib 2013 von der FDA (U.S. Food and Drug Administration) und wenig später der EMA (European Medicines Agency) zur Therapie von RR-DTC-PatientInnen zugelassen [13].

Der zweite zugelassene Multi-Tyrosinkinaseinhibitor ist Lenvatinib (LEN), der die Targets VEGFR 1-3, PDGFR α , RET, c-KIT und – anders als viele gebräuchliche Multi-Tyrosinkinaseinhibitoren - auch die FGFR (fibroblast growth factor receptor) 1-4 inhibiert

[13]. In der SELECT-Studie wurde die Wirksamkeit von Lenvatinib im Vergleich zu einem Placebo bei PatientInnen mit PTC, FTC/Hürthlezzell oder PDTTC untersucht [45]. Dabei zeigte sich ein medianes progressionsfreies Überleben von 18,3 Monaten (LEN) im Vergleich zu 3,6 Monaten (Placebo) [45]. Die 6-Monats-Überlebensraten lagen bei 77,5% im Therapie-Arm und 25,4% im Placebo-Arm [45]. PatientInnen, die zuvor mit einem anderen TKI behandelt worden waren, zeigten zudem ein geringeres medianes progressionsfreies Überleben als PatientInnen, die LEN als first-line-Behandlung erhalten hatten (15,1 vs. 18,7 Monate) [45]. Ein Progress von bekannten Knochenmetastasen wurde bei 23,7% der PatientInnen mit Lenvatinib- und 59,0% der StudienteilnehmerInnen mit Placebo-Therapie verzeichnet [45]. Das längere progressionsfreie Überleben bei PatientInnen mit LEN-Behandlung konnte ungeachtet des BRAF- oder RAS-Mutationsstatus nachgewiesen werden [45]. Die Rate des Therapie-Ansprechens lag im Therapie-Arm bei 64,8% im Vergleich zur Placebo-Gruppe mit 1,5% [45]. Eine komplette Remission wurde bei 1,5% der PatientInnen, ein partielles Therapieansprechen bei 63,2% und eine stabile Erkrankung bei 29,8% der PatientInnen festgestellt [45]. PatientInnen mit Placebo-Therapie, die open-label mit Lenvatinib therapiert wurden, zeigten ein medianes progressionsfreies Überleben von 10,1 Monaten, bei einer gesamten Ansprechrate von 52,3% [45]. 40% der PatientInnen mit Lenvatinib-Therapie zeigten Nebenwirkungen [45]. Zu den häufigsten Nebenwirkungen von LEN, von denen 40% der PatientInnen betroffen waren, zählten arterielle Hypertonie (67,8%), Diarrhoe (59,4%), Müdigkeit oder Asthenie (59,0%), Appetitlosigkeit (50,2%), Gewichtsverlust (46,4%) und Übelkeit (41,0%) [45]. 14,2% der PatientInnen unter LEN- und 2,3% der PatientInnen unter Placebo-Therapie unterbrachen die Behandlung aufgrund von unerwünschten Arzneimittelwirkungen [45]. Lenvatinib wurde aufgrund dieser Ergebnisse im Jahr 2015 von FDA zur Behandlung von RR-DTCs zugelassen [46]. Bei Versagen der beiden oben genannten TKIs, stehen weiterhin off-label weitere Substanzen zur Verfügung. Eine Übersicht dazu bietet **Abbildung 6**. In präklinischen Studien konnten auch neue Multi-Tyrosinkinaseinhibitoren aus der Gruppe der zyklischen Amide und Pyrazol-Pyrimidin-Derivate positive Effekte in seltenen TC zeigen [47].

1.3.1.1 Übersicht über verschiedene TKIs zur Behandlung von TC

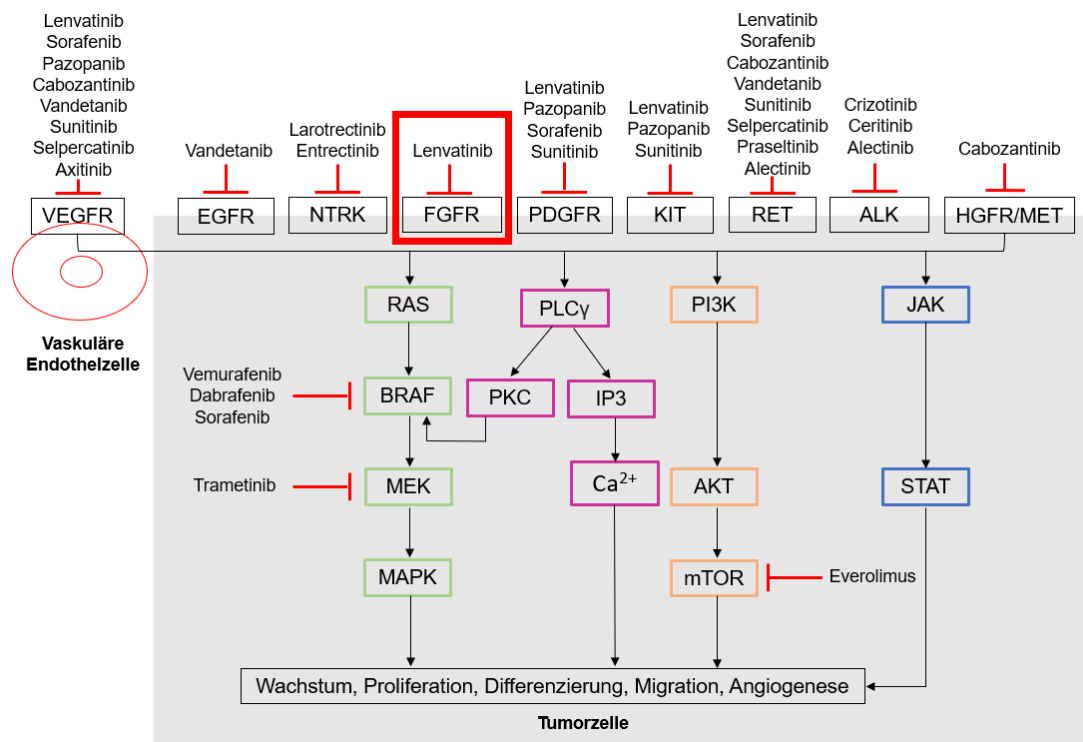


Abbildung 6: Inhibition verschiedener Signalwegs durch die zur Therapie von TC angewandten TKIs [47-51]. EGFR: Epidermal growth factor receptor, NTRK: Neurotrophe Tyrosinkinase, VEGFR: Vascular endothelial growth factor receptor, FGFR: Fibroblast growth factor receptor, PDGFR: Platelet-derived growth factor receptor, RET: Rearranged during transfection, KIT: Tyrosin-Proteinkinase, ALK: Anaplastische Lymphomkinase, HGFR: Hepatocyte growth factor receptor, MET: Tyrosin-Protein Kinase Met, RAS: rat sarcoma, BRAF: rapidly accelerated fibrosarcoma B, MEK: Mitogen-activated protein kinase kinase, MAPK: Mitogen-activated protein kinase, PLCγ: Phospholipase C γ, PKC: Proteinkinase C, IP3: Inositoltriphosphat, PI3K: Phosphoinositid-3-Kinase, AKT: Gen der Proteinkinase B, mTOR: Mechanistic target of rapamycin, JAK: Januskinase, STAT: Signal transducers and activators of transcription.

1.3.1.2 Wirkmechanismen von FGFR1-4

Die Wirksamkeit von gezielten Therapien gegen Tumorzellen, scheint durch den komplexen Austausch zwischen verschiedenen Signalwegen und Zelltypen innerhalb des Tumors beeinflusst zu werden [52]. Ein wichtiger Signalweg, dessen Achse häufig in Tumoren von Aberrationen betroffen zu sein scheint, ist der Fibroblast Growth Factor (FGF)/FGF-Rezeptor (FGFR)-Signalweg. Dabei spielt die Überexpression der FGF-Rezeptoren 1-4 und deren Liganden-abhängige Aktivierung eine wichtige Rolle [52]. Dieser Signalweg wurde in einer Vielzahl von Tumoren beschrieben, u. a. in Nicht-kleinzelligen Bronchial-Karzinomen (NSCLC), aber auch in Brust-, Prostata- und gastrointestinalen Tumoren [52]. In adrenokortikalen Karzinomen (ACC), die in dieser Arbeit als Kontrollen bei der *in situ* Hybridisierung dienten, fand sich eine deutliche

Expression von FGFR1 von $5,1 \pm 4,3$ mRNA/Zelle bzw. von FGFR4 von $5,5 \pm 4,9$ mRNA/Zelle [53]. Damit könnte bei dieser Erkrankung eine Inhibition von FGFR1 und 4 einen therapeutischen Stellenwert haben.

Aktiviert FGFRs sind u. a. an der Regulation der intrazellulären RAS-MAPK-, PI3K-AKT, PLC γ - und JAK/STAT-Signalwege beteiligt [54]. Co-Faktoren der FGFRs sind Heparansulfat-Proteoglykane (HSPGs), Klotho, Zelladhäsions-Moleküle (CAMs) und extrazelluläre Matrix-Proteine (ECM), die durch die Interaktion mit FGFRs und deren Liganden an der Modulation der Invasivität und Migration von Tumorzellen beteiligt sind [52]. Die Liganden der FGFRs sind FGFs. Derzeit sind 22 Moleküle mit Signal-Funktion und vier strukturell ähnliche FGFs, die keine Signal-Funktion aufweisen, bekannt [54, 55]. FGFs sind sowohl an der Regulation der Proliferation und Differenzierung sowie des Überlebens von Zellen, aber auch an der Angiogenese und Immun-Evasion beteiligt [56, 57]. Sie werden je nach Wirkmechanismus in intrakrin, parakrin und endokrin eingeteilt [58]. Parakrine FGFs benötigen für die Interaktion mit dem jeweiligen FGFR Heparansulfat als Co-Faktor, endokrine (Vertebraten-spezifische) FGFs (FGF19, -21, -23) α -Klotho oder β -Klotho [58].

Lenvatinib weist im Vergleich zu anderen TKIs, die zur Therapie von Schilddrüsenkarzinomen (TC) eingesetzt werden, die Fähigkeit auf, FGFR 1-4 zu inhibieren und zeigte in präklinischen Studien zudem immunmodulatorische Effekte für das TME von TC. Diese Effekte wurde auch im Zusammenspiel von LEN mit PD-1/PD-L1-Inhibitoren betrachtet und sind in **Abbildung 7** dargestellt [59].

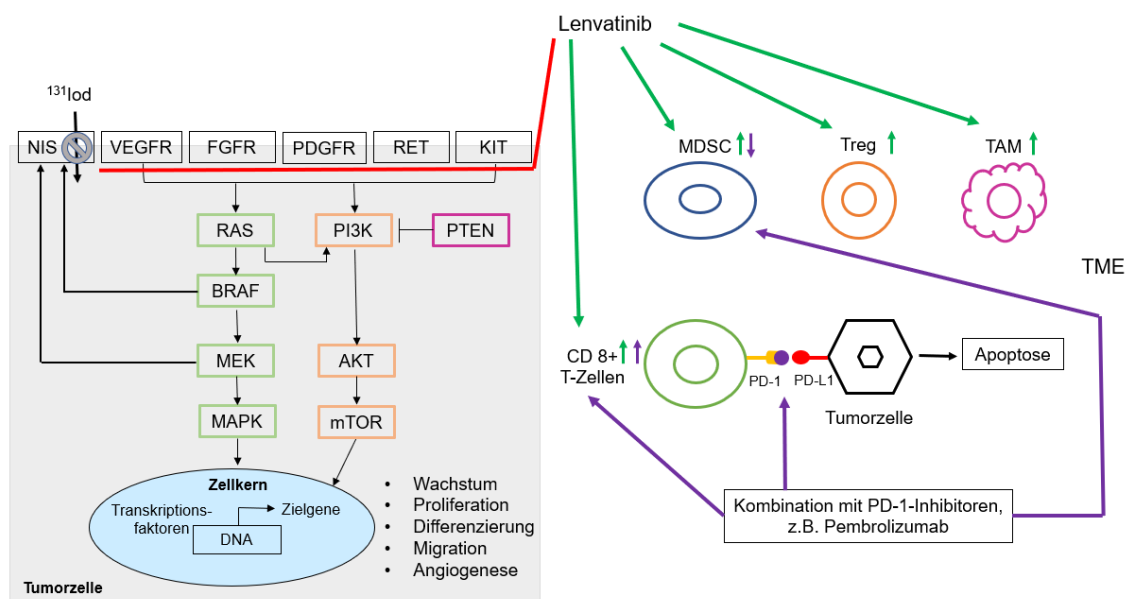


Abbildung 7: Wirkmechanismen von LEN in TC und TME [48-50, 59]. MDSC: Myeloide Suppressorzellen (myeloid derived suppressor cells), Treg: Regulatorische T-Zellen, TAM: Tumor-assoziierte Makrophagen.

Grüne Pfeile: Effekte von Lenvatinib auf das TME, lila Pfeile: Effekte von PD-1-Inhibitoren in Kombination mit Lenvatinib auf das TME.

1.3.2 *Imm checkpoints*

Bei Kontakt des Immunsystems mit einem fremden Antigen, das im Kontext von HLA-Klasse-I-Molekülen präsentiert wird, kommt es zu einer spezifischen T-Zell-vermittelten Immunantwort [60]. Ein wichtiger Faktor ist dabei die Beendigung der Immunantwort, die physiologischerweise erforderlich ist, um deletäre Effekte der Immunantwort auf gesundes Gewebe zu limitieren [60]. Diese Funktion vermitteln sog. Imm checkpoints [60]. Es ist eine der zentralen Erkenntnisse der Tumormunologie, dass Tumorzellen Imm checkpoints nutzen, um vom Immunsystem unerkannt zu bleiben [60]. Der inhibitorischen Wirkung der Imm checkpointmoleküle PD1 und PD-L1 stehen funktionell costimulatorische Signale der T-Zell-Aktivität gegenüber, deren wesentliche Vertreter auf Seiten der antigenpräsentierenden Zellen die Liganden B7-1 (CD80) und B7-2 (CD86) darstellen, deren Rezeptoren auf T-Zellen vom Rezeptor der CD28-Familie gebunden werden [60]. Die T-Zell-Aktivität wird darüber hinaus durch bestimmte Co-Faktoren moduliert, die für Imm checkpointinhibitoren die Liganden der B7 und die Rezeptoren der CD28-Familie umfassen [60].

James P. Allison und Tasuko Honjo erhielten 2018 den Nobelpreis für Medizin für die Erforschung der Signalwege des programmed cell death protein 1/programmed cell death ligand 1 (PD-1/PD-L1) und von zytotoxischem T-Lymphozyten-assoziiertem Protein 4 (CTLA-4) [61, 62]. Bei einer onkologischen Erkrankung kann über die PD-1/PD-L1-Achse die Aktivität von T-Zellen herunterreguliert werden und schafft somit die Möglichkeit für den Tumor, dem körpereigenen Immunsystem des/der Patienten/-in zu entkommen [63]. PD-1 wird auf aktivierten CD4⁺- oder CD 8⁺-T-Zellen, B-Zellen, natürlichen Killerzellen, Monozyten, Makrophagen und Endothelzellen exprimiert. Es kann aber auch auf Tumorzellen vorkommen und ist dort an der Regulation der Proliferation beteiligt [64]. PD-1 spielt eine zentrale Rolle bei der Inhibition des Immunsystems. Es kann die Differenzierung regulatorischer Zellen einleiten, supprimiert T-Effektorzellen und über erhöhte Expression von FoxP3 auch regulatorische T-Zellen [65]. Der passende Ligand (PD-L1 oder PD-L2) befindet sich auf Tumorzellen bzw. auf infiltrierenden Immunzellen im TME [66]. Es ist ein Transmembranprotein, das als Co-Faktor bei der Inhibition der Immunantwort betrachtet wird. Zusammen mit PD-1 kann es die Proliferation PD-1-positiver Zellen reduzieren und deren Apoptose einleiten [65]. Durch die Verbindung von PD-1 mit PD-L1, werden T-Zellen inaktiviert und Tumorzellen vom eigenen Immunsystem nicht mehr als schädlich erkannt [66]. Man spricht von einem

„cancer immune escape“ (siehe **Abbildung 8**) [66]. Die Inhibition dieses Mechanismus durch Immuncheckpointinhibitoren (ICI) verbessert die T-Zell-Antwort und somit auch die Bekämpfung des Tumors [66].

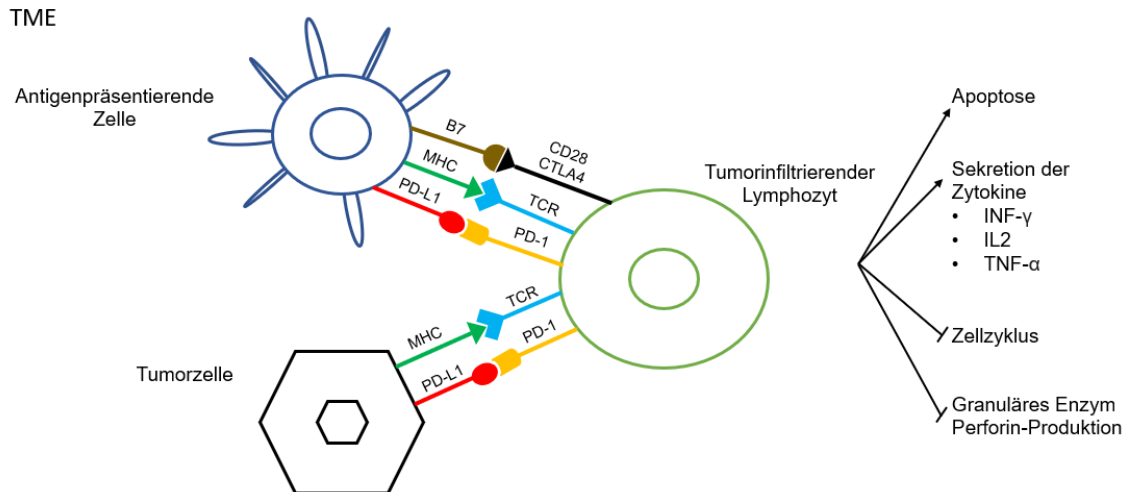


Abbildung 8: Einfluss der Bindung von PD-1 an seinen Liganden PD-L1 auf das TME [67]. Dargestellt ist die Interaktion zwischen einem tumorinfiltrierenden Lymphozyten (TIL), z.B. CD8+-Zelle, und einer antigenpräsentierenden Zelle (APC), z.B. Monozyt, dendritische Zelle, Makrophage, B-Zelle, sowie die Zellkommunikation zwischen einem TIL und einer Tumorzelle. MHC: Major histocompatibility complex, TCR: T-Zell-Rezeptor, CTLA4: Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4. INF: Interferon, IL: Interleukin, TNF: Tumornekrosefaktor.

1.3.3 Immuncheckpointinhibitoren

Immuncheckpointinhibitoren sind Immunglobuline der Klasse G (IgG), die die inhibitorische Funktion der Immuncheckpoint-Moleküle aufheben und somit das Immunsystem reaktivieren [64]. Sie binden nur eine spezifische Struktur, z. B. an einen Rezeptor oder an einen Liganden. Die T-Zell-Aktivität wird darüber hinaus durch bestimmte Co-Faktoren moduliert, die für Immuncheckpointinhibitoren die Liganden der B7 und die Rezeptoren der CD28 Familie umfassen [60]. ICI werden zum jetzigen Zeitpunkt je nachdem, ob sie PD-1, PD-L1 oder CTLA-4 als Target haben, unterteilt [64]. Zu den PD-1 Inhibitoren zählen derzeit Pembrolizumab, Nivolumab, Spartalizumab, Cemiplimab, Dostarlimab und Tislelizumab. PD-L1-Inhibitoren umfassen die Substanzen Atezolizumab, Avelumab und Durvalumab. Ipilimumab und Tremelimumab gehören zu den CTLA-4-Inhibitoren [64]. Letztere sollen in dieser Arbeit nicht näher betrachtet werden. Die Wirksamkeit von Immuncheckpointinhibitoren scheint von verschiedenen Faktoren abhängig zu sein. Das TME, bestimmte Treibermutationen wie etwa Mutationen im *CTNNB1*-Gen bzw. die Aktivierung von Signalwegen können die Wirkung von ICI negativ beeinflussen, wohingegen Tumoren mit hoher Mutationslast einer

Immuncheckpointinhibitor-Therapie häufig gut zugänglich sind [60, 64]. Dies wird auf die daraus resultierende höhere Anzahl an mutierten Tumorneoantigenen bei diesen Tumoren zurückgeführt. Um die Wirksamkeit von ICI zu steigern, ist auch eine duale Immuncheckpointinhibitor-Therapie möglich [60, 64]. Die Nebenwirkungen von ICI werden als „immun-assoziierte Nebenwirkungen“ beschrieben und zeichnen sich durch ein verzögertes Auftreten und eine längere Dauer aus [68]. In klinischen Studien zeigten sich als häufige Nebenwirkungen Fatigue, Pruritus und Diarrhoe [69]. Die spezifischen endokrinen Nebenwirkungen von ICI umfassen Autoimmunthyreoiditis, Hypophysitis, Adrenalitis und autoimmunen Diabetes mellitus [70, 71]. Insbesondere Pembrolizumab spielt in der Kombination mit Tyrosinkinaseinhibitoren in der Therapie seltener Schilddrüsenkarzinome zunehmend eine wichtige Rolle [72]. In verschiedenen KEYNOTE-Studien wurde die Wirksamkeit einer Pembrolizumab-Monotherapie im Vergleich zu Chemotherapien oder der Kombination aus Chemotherapie und Pembrolizumab für solide Tumoren untersucht [73, 74]. Die nicht-randomisierte Phase Ib KEYNOTE-028-Studie konnte für fortgeschrittenen differenzierte PD-L1-positive Schilddrüsenkarzinome ein moderates Therapieansprechen für die Dauer von 8-20 Monate auf PEM-Monotherapie zeigen [74, 75]. Eine Studie mit kleiner Fallzahl, konnte kein signifikant längeres Gesamtüberleben für PatientInnen mit ATC feststellen, die mit einer Kombination aus Radiochemotherapie und Pembrolizumab behandelt wurden [76]. Für z. B. das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom (NSCLC) wurden spezifische Cut-off-Werte der PD-L1-Expression zur Indikation für die Immuncheckpointinhibitor-Therapie festgelegt. Diese werden mittels TPS (tumor proportion-Score) bestimmt, wobei ein gemittelter Wert der PD-L1-Expression über das Tumorpräparat bestimmt wird. Ab einem PD-L1-Wert von $\geq 50\%$ wird eine Therapie des NSCLC mit PD-1-Inhibitoren, z. B. mit Pembrolizumab, empfohlen [64, 77].

1.3.4 Lenvatinib-Monotherapie beim PDTC und ATC

Iwasaki et al. beschrieb das Gesamtüberleben von PatientInnen mit ATC im Stadium IVC unter der Therapie mit LEN (n=16) im Vergleich zu einer Standardtherapie mit CTx und/oder Rx (n=16) [78]. Dabei zeigte sich bei PatientInnen, die LEN erhielten, ein medianes Gesamtüberleben von 4,2 Monaten [78]. PatientInnen, die die Standardtherapie erhielten, zeigten im Vergleich nur eine Überlebensdauer von 2,0 Monaten [78]. Bei einer weiteren Studie mit ATC-PatientInnen (n=124), von denen 19,4% zuvor eine Therapie mit Sorafenib, Vandetanib oder wöchentlichen Gaben von Paclitaxel erhalten hatten, zeigte sich ein medianes Gesamtüberleben von 101 Tagen unter LEN-Monotherapie [79]. Ein Progress trat im Median nach 74,5 Tagen auf, wobei

das 1-Jahres-Überleben lediglich 15,6% betrug [79]. Im Vergleich dazu zeigte sich bei DTC-PatientInnen (n=442) – 73,8% hatten postoperativ eine Therapie mit RIT oder Radioisotop-Therapie mit ¹³¹Jod erhalten - unter LEN-Therapie eine mediane 1-Jahres-Überlebensrate von 75,7% [79]. Obwohl sich die Targets der verschiedenen TKIs überschneiden, gab es Hinweise darauf, dass die Überlegenheit von LEN auf der Expression von FGFR1-4 beruhen könnte [80]. Eine Studie, die immunhistochemische Färbungen zur Evaluation der Expression von FGFR4 nutzte, suggerierte, dass die Expression von FGFR4 das Ansprechen bei einer LEN-Therapie vorhersagen könnte [81].

1.3.5 Immuncheckpointinhibitor-Monotherapie bei Schilddrüsenkarzinomen

In der Phase-I/II-Studie von Capdevila et al. wurden 42 ATC-PatientInnen in fortgeschrittenem oder metastasiertem Stadium mit dem PD-1-Inhibitor Spartalizumab - nach Versagen von Chemo- oder TKI-Therapie (60%) sowie Radiatio (71%) - behandelt [82]. Die Rate des Therapie-Ansprechens war bei PatientInnen, deren Tumoren PD-L1 exprimierten höher als bei solchen mit PD-L1-negativem Tumor [82]. Das beste Therapie-Ansprechen zeigten dabei PatientInnen, deren Tumor eine PD-L1-Expression von ≥50% aufwies [82]. Die Dauer des medianen progressionsfreien Überlebens lag nur bei 1,7 Monaten, das Gesamtüberleben bei 5,9 Monaten, bei einer 1-Jahres-Überlebensrate von 40% [82]. Dabei korrelierte das Gesamtüberleben mit der PD-L1-Expression. Bei PatientInnen, deren Tumoren eine PD-L1-Expression <1% aufwiesen, zeigte sich nur ein medianes Gesamtüberleben von 1,6 Monaten [82].

1.3.6 Kombination mit LEN und PEM beim ATC und/oder PDTC

Zugelassen ist die Kombination aus LEN und PEM seit 2019 zur Behandlung von PatientInnen mit bestimmten Formen des fortgeschrittenen Endometrium-Karzinoms, die nach vorheriger Therapie progredient waren, sowie seit 2021 als Erstlinien-Therapie bei fortgeschrittenem Nierenzell-Karzinom [83-85]. Die Kombination von LEN und PEM bei 12 PatientInnen mit ATC wurde erstmals in der Studie von Iyer et al. beschrieben. Pembrolizumab wurde nach Progress unter der Monotherapie mit Lenvatinib (n=5) oder Trametinib (n=1) bzw. der Kombination aus Dabrafenib und Trametinib verabreicht (n=6). Die Tumoren hatten eine nachgewiesene BRAF V600E-Mutation [86]. 42% der PatientInnen zeigten eine partielle Remission (PR) und 33% eine stabile Erkrankung unter der Kombinationstherapie aus TKI und ICI [86]. Die PD-L1-Expression variierte deutlich, und betrug zwischen 10% und 90% [86]. Nach der Gabe von Pembrolizumab konnte ein medianes Gesamtüberleben von 6,93 Monaten verzeichnet werden, wobei das progressionsfreie Überleben lediglich bei 2,96 Monate lag [86]. Die häufigsten

Nebenwirkungen waren Fatigue, Anämie und arterielle Hypertonie [86]. In zwei Fällen musste die Therapie aufgrund von unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) abgebrochen werden [86].

Eine weitere wichtige Studie zur Therapie des metastasierten, BRAF V600E-negativen ATC oder PDTC mit der Kombination aus Lenvatinib und Pembrolizumab ist die ATLEP-Studie von Dierks et al. Sechs ATC- und zwei PDTC-PatientInnen wurden für maximal 40 Monate - nach Versagen von Chemotherapie, Radiatio oder RIT - mit der Kombination aus LEN und PEM behandelt [72]. Die Kombinationstherapie führte bei 75% der PatientInnen (4 ATC und 2 PDTC) zu einem Therapie-Ansprechen im Sinne einer PR im Beobachtungszeitraum der ersten 3-4 Monate, 66% (4/6) der ATC-PatientInnen zeigten sogar eine komplette Remission nach 7, 10 und 12 Monaten [72]. Letztere wurden auch nach Ende des Beobachtungszeitraums weiterhin mit der TKI/ICI-Kombination behandelt [72]. Die beiden PDTC-PatientInnen zeigten eine partielle Remission, jeweils ein/e ATC-PatientIn zeigte einen stabilen bzw. einen progressiven Krankheitsverlauf nach einem Behandlungszeitraum von 16 Monaten [72]. Die Spanne der PD-L1-Expression war sehr groß mit Werten zwischen 1% und 90%, wobei PatientInnen mit einer PD-L1-Expression >50% am besten auf die Kombinationstherapie ansprachen (5/8) [72]. Es gab keine Assoziation zwischen der PD-1-Expression oder der Häufigkeit von Tumor-infiltrierenden Lymphozyten (TILs) mit dem Therapie-Ansprechen [72].

2. ZIELSETZUNG DER ARBEIT

Während verschiedene TKIs und ICIs in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung bei der Therapie von RR-DTC, PDTC und ATC gewonnen haben, sind die genauen Wirkmechanismen der Substanzen bei den verschiedenen Entitäten nicht abschließend geklärt. Lenvatinib gilt zwar als Multi-Tyrosinkinaseinhibitor, mit verschiedenen Targets, allerdings ist nicht bekannt, welches Target für das therapeutische Ansprechen bei Schilddrüsenkarzinomen verantwortlich ist. Es wird vermutet, dass sich die Wirkmechanismen von TKIs und ICIs synergistisch beeinflussen und somit nach heutigem Wissenstand die beste therapeutische Strategie zur Behandlung von PDTC und ATC darstellen. Bis zum Abschluss dieser Arbeit, war die Expression von PD-L1 und FGFR1-4 beim PDTC und ATC nur in kleinen Kohorten untersucht worden. In dieser Arbeit sollen deshalb die folgenden Fragestellungen behandelt werden:

1. Wie hoch ist die Expression von PD-L1 im Vergleich von ATC- und PDTC-Gewebe bzw. im Vergleich zu PTC- und normalem Schilddrüsengewebe?

2. Wie hoch ist die Expression von FGFR 1-4 im Vergleich von ATC- und PDTC-Gewebe bzw. im Vergleich zu PTC- und normalem Schilddrüsengewebe?
3. Hat die Expression von PD-L1 oder FGFR1-4 eine prognostische Bedeutung?
4. Könnte die präklinische Bestimmung der Expression von PD-L1 oder FGFR1-4 für das therapeutische Vorgehen bei ATC- oder PDTC-PatientInnen genutzt werden bzw. lassen sich entsprechende Cut-off-Werte ermitteln?

3. PATIENTINNEN, MATERIAL, METHODEN

3.1 Registerstudie für seltene Tumoren der Schilddrüse und Nebenschilddrüsen

Die retro- und prospektive Erfassung der klinischen Daten erfolgte durch geschultes Personal an den Zentren der „Registerstudie für seltene Tumoren der Schilddrüse und Nebenschilddrüsen“. Diese Registerstudie wurde im Jahr 2012 am Universitätsklinikum Würzburg gegründet und durch die Ethik-Kommission der Universität Würzburg genehmigt (96/13). Anschließend wurde sie von allen Ethik-Kommissionen der teilnehmenden Zentren bestätigt. Die klinischen Daten und Paraffinblöcke wurden aus folgenden Zentren und den dazugehörigen pathologischen Instituten zur Verfügung gestellt: Abteilung für Endokrinologie und Diabetologie des Universitätsklinikums Würzburg (ATC: n=53, PDTC: n=22), Medizinische Klinik und Poliklinik IV des LMU Klinikums der Universität München, Standort Großhadern (ATC: n=14, PDTC: n=5), Abteilung für Innere Medizin III des Universitätsklinikums Leipzig (ATC: n=15, PDTC: n=3), Abteilung für Endokrine Chirurgie des Diakonie-Klinikums Stuttgart (PDTC: n=17), Funktionsbereich Spezielle Endokrinologie des Universitätsklinikums Düsseldorf (ATC: n=11). Insgesamt wurde Tumormaterial von 35 pathologischen Instituten übermittelt.

3.1.1 Einschlusskriterien

Eingang in die Analyse und Auswertung fanden Daten und Tumorblöcke von PatientInnen mit histologisch gesichertem anaplastischen oder gering differenzierten Schilddrüsenkarzinom, deren Erstdiagnose zwischen 1997 und 2019 gestellt wurde, und die zum Zeitpunkt der Datenerhebung ≥ 18 Jahre waren. Für prospektiv eingeschlossene PatientInnen lag eine schriftliche Einwilligungserklärung vor. Die histopathologische Diagnose wurde anhand der feingeweblichen Untersuchung des Primärtumors (ATC: n=93; PDTC: n=47) gestellt und wurde anschließend von Herrn Dr. Stefan Kircher, Pathologischen Instituts der Universität Würzburg anhand der WHO-Klassifikation von Tumoren Endokriner Organe (4. Auflage, 2017) verifiziert.

3.1.2 Ausschlusskriterien

Keinen Eingang in die Analyse fanden Daten und Tumorblöcke von PatientInnen, von denen keine Einwilligungserklärung vorlag und die noch am Leben oder <18 Jahren waren. Weiterhin wurden keine Auswertungen vorgenommen, wenn sich nicht mehr genügend Tumorgewebe auf den Tumorblöcken nachweisen oder sich die Diagnose pathologisch nicht verifizieren ließ.

3.1.3 Gesamtkohorte und Gruppeneinteilung

Diese Kohorte umfasst alle PatientInnen, die die oben genannten Einschlusskriterien in allen beteiligten Zentren erfüllen, und erfasst PatientInnen in allen Tumorstadien. Für die deskriptive und explorative Zielsetzung der Arbeit wurden aufgrund der Seltenheit der Erkrankung etwa 100 ATC und etwa 40 PDTC angestrebt. Berichtete Tumorstadien, die aufgrund der länger zurückliegenden Diagnose und dadurch des Alters der Proben nicht mehr der aktuell gültigen UICC-Klassifikation (TNM Klassifikation Maligner Tumoren, 8. Auflage, 2017) entsprachen, wurden an diese angepasst. In den deskriptiven Analysen und der Auswertung der PD-L1-Immunhistochemie (IHC) wurden alle PatientInnen (93 ATCs, 47 PDTCs) berücksichtigt, wohingegen die RNAscope® *in situ* Hybridisierung zur Datenerhebung von FGFR1-4 aufgrund des limitierten Tumormaterials und der Auswertungskapazitäten nur bei 31 ATC und 14 PDTC-PatientInnen durchgeführt wurde. Als Positivkontrollen dienen Paraffinblöcke von Tonsillengewebe (PD-L1) und von Adrenokortikalen Tumoren (FGFR1-4). Des Weiteren wurden für die Vergleichsgruppe der IHC 21 PTCs und normales Schilddrüsengewebe (n=30) gefärbt. Für RNAscope® wurden 5 PTCs und physiologisches Schilddrüsengewebe von 8 Gewebeproben analysiert.

3.2 Material

3.2.1 Geräte

Gerät	Firma
Leica EG 1150 C	Leica Biosystems, Wetzlar, Deutschland
Paraffinstreckbad	Medax GmbH & Co.KG, Neumünster, Deutschland
HybEZ Oven	Advanced Cell Diagnostics (ACDbio), Newark, Kalifornien, USA
Simport StainTray	Simport Scientific Inc., Kanada
Schnellkochtopf Sicomatic®-t plus	Silit, Riedlingen, Deutschland

THL 1097 Einzelkochtafel 1000 Watt	Rommelsbacher, Deutschland	Dinkelsbühl,
UNOLD Electro 8125 Wasserkocher 1,0 L	Unold, Hockenheim, Deutschland	
Pipette	Gilson, Villiers Le Bel, Frankreich	
Transferpipette	Geiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland	
Freedom EVO 200 base unit	Tecan Trading AG, Männedorf, Schweiz	
Tissue-Tek	Sakura Finetek, Inc., Kalifornien, USA	
Axio Scope.A1	Zeiss, Oberkochen, Deutschland	
Aperio VERSA	Leica Biosystems, Wetzlar, Deutschland	
ImageJ-win64	Fiji, GitHub enterprise, Kalifornien, USA	

Table 5: Geräte und Software.

3.2.2 Verbrauchsmaterialien

Bezeichnung	Firma
SuperFrost Plus Objektträger	R. Langenbrinck GmbH, Emmendingen, Deutschland
Deckgläser	Paul Marienfeld GmbH & Co.KG, Lauda- Königshofen, Deutschland
Pipettenspitzen	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
Save Seal Tubes	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
Coverplates	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
Pen	Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA, USA

Table 6: Verbrauchsmaterialien

3.2.3 Puffer, Lösungen und Reagenzien

Bezeichnung	Firma
Ethanol	Th. Geyer GmbH & Co.KG, Renningen, Deutschland
Methanol	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA
Xylol	VWR Chemicals BDH, Fontenay-sous- Bois, Frankreich

Hämalaun nach Mayer	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Entellan	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
PBS	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA
Zitratpuffer (Target Retrieval Solution)	Zitrat pH 6,1; Verdünnung 1:10 Agilent Dako, Santa Clara, Kalifornien, USA
PD-L1 (28-8) rabbit monoclonal antibody 438R-15-ASR	Sigma Aldrich Cell Marque, Darmstadt, Deutschland
Antibody Diluent (Dako REAL)	Verdünnung 1:100 Dako, Kalifornien, USA
RNAscope® Target Retrieval Reagents	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
RNAscope® Wash Buffer Reagents	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
Hs-FGFR1 (310071)	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
Hs-FGFR2 (311171)	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
Hs-FGFR3 (310791)	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
Hs-FGFR4-CD5 (412301)	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
Probe – Hs-PPIB	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
Amp 1 (322311)	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
Amp 2 (322312)	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
Amp 3 (22313)	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
Amp 4 (322314)	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
Amp 5 (322315)	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
Amp 6 (322316)	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA

Tabelle 7: Puffer, Lösungen und Reagenzien

3.2.4 Kits

Bezeichnung	Firma
RNAscope® H2O2 & Protease Plus Reagents	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
RNAscope® 2.5 HD Detection Reagent – BROWN	ACDbio, Newark, Kalifornien, USA
HRP HiDef 2-Step Polymer Detection Kit	Medac GmbH, Wedel, Deutschland
Histofine DAB-2V	Nichirei Biosciences Inc., Tokyo, Japan

Tabelle 8: Kits

3.3 Methoden

3.3.1 Immunhistochemie

3.3.1.1 Durchführung

Zur Analyse der Expression von PD-L1 wurden immunhistochemische Färbungen an Schnitten von formalinfixiertem Paraffingewebe von 2 μ m Dicke durchgeführt (93 ATC, 47 PDTC, 21 PTC, 30 NT). Als Positivkontrolle der PD-L1-Färbung diente überwiegend Tonsillengewebe. Die Paraffinschnitte wurden zunächst in Xylol deparaffiniert (2 x 12 min) und anschließend in einer Ethanolreihe rehydriert (100%, 2 x 90%, 2 x 80%, 2 x 70% für jeweils 2 min). Zur Entfernung überschüssigen Ethanols wurden die Schnitte mit destilliertem Wasser gewaschen. Nach Antigendemaskierung in Zitratpuffer (Target Retrieval Solution; pH 6,1) für vier Minuten bei 120°C im Schnellkochtopf, erneuter Spülung mit destilliertem Wasser sowie Umrandung der Schnitte mittels Fettstifts, wurden die Objektträger in Coverplates überführt und die folgenden Schritte mit Freedom Evo 200 (Tecan) ausgeführt. Zunächst erfolgte die Spülung mit PBS (pH 7,4), gefolgt von der Inkubation mit dem PD-L1-Antikörper (Verdünnung 1:100 mit Antibody Diluent) für 1 Stunde bei Raumtemperatur. Nach 4-maligem Spülen der Coverplates mit PBS (3 x 3 min und 1 x 5 min) erfolgte die Signalamplifikation mittels HRP HiDef 2-Step Polymer Detection Kit (Dako) für 40 min (2 x 20 min, dazwischen und danach je 3 x 3 min und 1 x 5 min Waschen mit PBS). Dann folgte die Entwicklung mittels Diaminobenzin Kit Histofine DAB-2V (Verdünnung 1:26 [Reagenz A : Reagenz B]) für 10 min, und nach erneutem Waschen in PBS (3 x 3 min und 1 x 5 min), wurden die Schnitte manuell für 3 min in Hämalaun nach Mayer gegengefärbt und unter laufendem Leitungswasser für 10 min gebläut. Danach erfolgte die Dehydrierung durch kurzes Schwenken in 100% Ethanol und Trocknung bei 56°C für 25 min. Abschließend wurden die Schnitte mit Xylol gespült und mithilfe von Tissue-Tek (Sakura) eingedeckt.

3.3.1.2 Auswertung

Die semiquantitative Beurteilung der PD-L1-Expression erfolgte mittels Tumor Proportion Score (TPS). Dazu wurde visuell am Axio Scope.A1 das Verhältnis der membranpositiven Tumorzellen zur Gesamttumorzellzahl bestimmt und exemplarisch fotografisch dokumentiert. Ergaben sich in einem Tumor aufgrund der Heterogenität verschiedene TPS-Werte, wurden diese zu einem Wert gemittelt. Ein TP-Score von $\leq 5\%$ wurde als niedrig, ein Score von 5-50% als mittel und ein TPS von $\geq 50\%$ als hoch gewertet. Zur Bestimmung der Interrater-Reliabilität wurden 10 Schnitte zusätzlich von Herrn Dr. S. Kircher beurteilt. Werte $\leq 25\%$ wurden der Gruppe 1, Werte $>25\%$ - $\leq 50\%$ der

Gruppe 2, Werte >50%-≤75% der Gruppe 3 und Werte >75%-≤100% der Gruppe 4 zugeordnet. Die Übereinstimmung zwischen den Beobachtern war dabei hoch ($r > 0,894$).

3.3.2 mRNA *in situ* Hybridisierung RNAscope®

3.3.2.1 Durchführung

Aufgrund der hohen Homologie der FGF-Rezeptoren, die eine immunhistochemische Expressionsanalyse als unspezifisch erscheinen ließ, wurde die Methode der Immunhistochemie als insuffizient angesehen und für die Quantifizierung der mRNA der FGF-Rezeptoren 1-4 (31 ATC, 14 PDTC, 5 PTC, 8 NT) die *In situ* Hybridisierung RNAscope® durchgeführt. Gewebe von adrenokortikalen Karzinomen diente als Positivkontrolle.

Für die Vorbehandlung wurden 2 μ m-dicke Paraffinschnitte zunächst in Xylol deparaffiniert (2 x 8 min) und in einer absteigenden Ethanolreihe (2 x 100%, 90%, 80%, 70%) rehydriert (jeweils 2 Minuten). Nach Trocknung der Schnitte für 5 Minuten bei Raumtemperatur wurden die Paraffinschnitte mit 2-3 Tropfen H₂O₂ fixiert und für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Waschen (3-5 x) in destilliertem Wasser und Kochen der Schnitte in Zitratpuffer (RNAscope® Wash Buffer Reagents; Verdünnung 1:3,3 [Waschpuffer:destilliertes Wasser]) im Schnellkochtopf (15 min), wurden die Schnitte in destilliertem Wasser gewaschen (3-5 x), bei Raumtemperatur getrocknet, in 100% Ethanol rehydriert und mittels Fettstieft umrandet.

Am nächsten Tag wurden die Gewebeproben mit 2-3 Tropfen Protease (Protease Plus) für 20 min bei 40°C (HybEZ oven [ACDbio]) inkubiert. Für die Hybridisierung wurden die Schnitte nach vorherigem Waschen in destilliertem Wasser (3-5 x) mit den Zielproben (Hs-FGFR1, Hs-FGFR2, Hs-FGFR3, Hs-FGFR4-CD5, HS-PPIB) für 2 Stunden bei 40°C behandelt. Überschüssige Probenreste wurden anschließend mit Waschpuffer (RNAscope® Wash Buffer Reagents, 2 x 2 min) entfernt. Zur Verstärkung des Signals wurden die Amplifier 1-6 (ACDbio) mit jeweils 1-2 Tropfen verwendet und die Schnitte nach jeder Inkubation in Waschpuffer gegeben (2 x 2 min). Dabei fand die Behandlung mit Amp 1 und Amp 3 für 45 min bei 40°C, mit Amp 2 und Amp 4 für 20 min bei 40°C, mit Amp 5 für 1h bei Raumtemperatur und Amp 6 für 20 min bei Raumtemperatur statt. Die Mischung aus gleichen Mengen von DAB A und DAB B (RNAscope® 2.5 HD Detection Reagent – BROWN) wurde anschließend auf die Schnitte pipettiert, für 10 min bei Raumtemperatur inkubiert und die Schnitte anschließend in destilliertem Wasser gewaschen. Abschließend wurden die Schnitte für 2 min in Hämalaun nach Mayer gegengefärbt, für 3 min unter fließendem Wasser gebläut, in einer aufsteigenden

Alkoholreihe dehydriert (70%, 2 x 100% Ethanol; jeweils 2 min; Xylol 100%; 2 min), getrocknet und eingedeckt.

3.3.2.2 Auswertung

Die semiquantitative Auswertung der mRNA-Expression von FGFR1-4 erfolgte mittels ImageJ-win64 (Fiji, GitHub enterprise). Dabei wurde jeder mRNA-Punkt und jeder Zellkern manuell (Bilder mit Aperio VERSA) durch Anklicken gezählt und anschließend das Verhältnis aus mRNA zu Zellkernen ermittelt. Ein Verhältnis <1 mRNA/Zelle wurde als negatives, ein Verhältnis ≥ 1 mRNA/Zelle als positives Ergebnis gewertet. Zur Bestimmung der Interrater-Reliabilität wurden 5 Tumorblöcke (FGFR1-4) zusätzlich von Herrn I. Sbierra beurteilt. Werte $\leq 0,5$ mRNA/Zelle wurden der Gruppe 0,5, Werte $>0,5-\leq 1$ mRNA/Zelle der Gruppe 1, Werte $>1-\leq 1,5$ mRNA/Zelle der Gruppe 1,5, Werte $>1,5-\leq 2$ mRNA/Zelle der Gruppe 2, Werte $>2-\leq 2,5$ mRNA/Zelle der Gruppe 2,5 und Werte $>2,5$ mRNA/Zelle der Gruppe 3 zugeordnet. Die Übereinstimmung zwischen den Beobachtern war dabei hoch ($r > 0,65$).

3.3.3 Statistische Auswertung

Endpunkte waren entweder das Versterben der PatientInnen oder das Erreichen des Endes des Beobachtungszeitraumes. Zur statistischen Auswertung der Daten wurden SPSS, Version 25.0 und 26.0 (IBM, Chicago, Illinois, USA), GraphPad PRISM 7.0 (La Jolla, Kalifornien, USA), die Graphiken wurden dann in dem Microsoft-Office-Programm PowerPoint (Version von 2016, Microsoft, Washington, USA) annotiert und arrangiert. Teile der Auswertung wurde mit dem Microsoft-Office-Programm Excel (Version von 2016; Microsoft, Washington, USA) durchgeführt. Bei nicht normalverteilten Daten aus Subgruppenanalysen wurde der Mann-Whitney *U* Test verwendet. Überlebensanalysen wurden mit Kaplan-Meier-Kurven grafisch dargestellt. Die Adjustierung für Kovariaten, wie z. B. Alter bei Erstdiagnose, wurde in multivariaten Analysen mittels Cox-Regression durchgeführt. Als Modell der Cox-Regression wurde der rückwärts bedingte Ausschluss gewählt. Dabei werden sukzessive die Parameter aus dem Modell genommen, die als am wenigsten signifikant getestet werden und die Analyse mit den verbleibenden Faktoren erneut berechnet. Für den Vergleich der verschiedenen Gruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test mit anschließender post-hoc Analyse nach Dunn-Bonferroni verwendet. Zur Ermittlung der Korrelation der Interrater-Reliabilität erfolgte die Berechnung des Spearman-Korrelations-Koeffizienten. Die Darstellung nicht normalverteilter Werte erfolgte als Median (Minimum – Maximum). Ein p-Wert $\leq 0,05$ wurde als signifikant erachtet.

4. ERGEBNISSE

4.1 Klinische Charakteristika

Der Datenschluss war für beide Kohorten der 30. November 2019. Eine Zusammenfassung der klinischen Patientencharakteristika der ATC- und PDTC-Kohorte findet sich in **Tabelle 9**.

4.1.1 Klinische Charakteristika der ATC-Kohorte

In der ATC-Kohorte (n=93) zeigte sich ein relativ ausgeglichenes Geschlechterverhältnis (57% Frauen, 43% Männer). Das mittlere Alter bei ED betrug 69 Jahre (Spannweite 29-95 Jahre). Bei diesem Patientenkollektiv erfolgte die Erstdiagnose bei 44% in lokal fortgeschrittenem (IVB) und bei 52% in metastasiertem Stadium IVC. Lediglich bei einem Prozent der PatientInnen war der Tumor auf die Schilddrüsenregion (IVA) begrenzt. Bei 51% der PatientInnen hatte der Tumor Hals- und in 12% mediastinale Lymphknoten befallen. Die vorliegende Fernmetastasierung betraf in absteigender Reihenfolge in 44% der Fälle die Lunge, die Knochen (10%), die Leber (5%), die Pleura (2%), das Herz (1%) und die Nebenniere (1%). 89% der PatientInnen waren zum Zeitpunkt des Datenschlusses tumorbedingt verstorben, 3% der PatientInnen verstarben aufgrund anderer Ursachen und 8% der PatientInnen waren zum Zeitpunkt der letzten Datenerhebung noch am Leben. Im letzten Staging - vor Tod oder Datenschluss - zeigte sich bei 4% der PatientInnen kein biochemischer oder bildmorphologischer Tumornachweis mehr, was vorläufig als komplette Remission zu interpretieren war. Das mediane Gesamtüberleben betrug 6,4 Monate und das krankheitsspezifische Überleben 5,4 Monate bei einem medianen Beobachtungszeitraum von sechs Monaten.

4.1.2 Klinische Charakteristika der PDTC-Kohorte

In der PDTC-Kohorte waren Frauen (n=47) mit 64% häufiger vertreten und der Median des Alters bei Erstdiagnose betrug 63 Jahre (Spannweite 16-86 Jahre). Am häufigsten lag das UICC-Stadium II bei Erstdiagnose vor (36%), gefolgt vom UICC-Stadium I (28%) und dem Tumorstadium IVB (23%). Die Erstdiagnose erfolgte bei 4 (9%) der PatientInnen <55 Jahre (UICC Stadium II) und bei 11 PatientInnen ≥55 Jahre (UICC IVB) im metastasierten Stadium. Die Fernmetastasierung betraf in 28% der Fälle die Lunge, in 6% die Knochen, in 6% die Pleura und in 2% den Thymus. Im Beobachtungszeitraum starben 14 (30%) PatientInnen an ihrer Tumorerkrankung, 31 (66%) waren noch am Leben. Bei zwei Fällen konnte die Todesursache nicht eruiert werden. In vier (9%) Fällen wurde bei der letzten Nachverfolgung, kein Hinweis für das biochemische oder bildmorphologische Vorhandensein des Tumors gefunden. Dies wurde auch hier als

komplette Remission gewertet. Das mediane Gesamtüberleben betrug bei PDTC-PatientInnen 29,1 Monate und das krankheitsspezifische Überleben 24,0 Monate bei einem medianen Beobachtungszeitraum von 28 Monaten.

Charakteristika	Anzahl der ATC PatientInnen (%)	Anzahl der PDTC PatientInnen (%)
Geschlecht		
weiblich	53 (57)	30 (64)
männlich	40 (43)	17 (36)
Alter bei ED (Jahre)		
Median (Spannweite)	69 (29-95)	63 (16-86)
Tumordurchmesser des größten Tumoreinzelknotens (mm)		
Median (Spannweite)	55 (8-105)	46,5 (12-95)
Daten nicht vorhanden	18 (19)	5 (11)
Tumorstadium bei ED		
I	-	13 (28)
II	-	17 (36)
III	-	3 (6)
IVA	1 (1)	2 (4)
IVB	41 (44)	11 (23)
IVC	48 (52)	-
nicht vorhanden	3 (3)	1 (2)

Tabelle 9: Klinische Charakteristika der ATC- und PDTC-Kohorte. ED: Erstdiagnose.

4.1.3 Therapie-Regimes der ATC-Kohorte

Die durchgeführten Therapiestrategien bei den betrachteten PatientInnen variierten stark und waren in der klinischen Routine im Sinne eines shared decision makings abhängig von der Tumorausbreitung gewählt worden. Einen Überblick der durchgeführten Therapien gibt **Tabelle 10**. Bei 87% der PatientInnen erfolgte eine primäre Operation, weitere 5% erhielten eine explorative OP. Dabei wurde das Gewebe vollständig (12%), mit mikroskopischen (40%) oder makroskopischen (37%) Residuen entfernt. Bei 9% der PatientInnen lag lediglich Gewebe einer Biopsie des Primärtumors vor. Anschließend wurde in 85% der Fälle die Halsregion mit einer medianen kumulativen Dosis von 55 Gy (Spannweite: 4-105,6 Gy) bestrahlt. In 56% der Fälle

erfolgte die Bestrahlung mit palliativer Zielsetzung. 53% der PatientInnen erhielten nach der Primär-OP eine CTx (häufig eingesetzt: Anthrazykline, Taxane und platinhaltige Chemotherapeutika). Mehr als ein chemotherapeutisches Regime wurde bei 14% der Fälle verabreicht. 42% der PatientInnen erhielten eine kombinierte Radiochemotherapie (RCT).

4.1.4 Therapie-Regimes der PDTC-Kohorte

In der PDTC-Kohorte wurden 42 (90%) der PatientInnen primär operiert, bei drei Fällen (6%) erfolgte eine explorative OP und in zwei (4%) der Fälle war die Art der Gewebeentnahme nicht zu bestimmen. In 25 Fällen (53%) führte die Primäroperation zu einer vollständigen Entfernung des Tumors. Bei 10 (21%) der PatientInnen persistierten postoperativ mikroskopische und bei 2 (4%) makroskopische Residuen. In 10 Fällen (21%) konnte das Vorhandensein eines Residualtumors nicht beurteilt werden. Vor oder nach der Operation erhielten 36 (77%) der Fälle eine Radiojodtherapie (RIT) mit einer medianen Gesamtdosis von 6,65 GBq (Spannweite: 1,2-74,2 GBq). Eine Strahlentherapie des Halses wurde bei 16 (34%) der PatientInnen mit einer medianen Gesamtdosis von 60,5 Gy (Spannweite: 50,4-120 Gy) durchgeführt. Bei sieben (15%) PatientInnen erfolgte die lokale Radiatio in einem palliativen Setting. Im Vergleich zur ATC-Gruppe wurden in der PDTC-Kohorte nur 6 (13%) der PatientInnen mit einer Chemotherapie behandelt (häufig eingesetzt: Taxane und Platinderivate). 2 (4%) PatientInnen wurden mit mehr als einem chemotherapeutischen Regime behandelt.

Tumorthherapie	Anzahl der ATC PatientInnen (%)	Anzahl der PDTC PatientInnen (%)
Primäroperation		
einzeitige Thyreoidektomie	39 (42)	21 (45)
zweizeitige Thyreoidektomie	7 (8)	12 (26)
Hemithyreoidektomie	21 (23)	9 (19)
Debulking	13 (14)	0 (0)
Biopsie	8 (9)	0 (0)
Explorative OP	5 (5)	3 (6)
nicht bekannt	0 (0)	2 (4)
lokaler Resektionsstatus		
R0	11 (12)	25 (53)
R1	37 (40)	10 (21)
R2	34 (37)	2 (4)

Rx	11 (12)	10 (21)
Radiojodtherapie	6 (7)	36 (77)
Mediane Anzahl (Spannweite)	1 (1-1)	1 (1-11)
Mediane kum. Dosis (Gy)	3,36 (2,7-7,4)	6,65 (1,2-74,2)
Dosis unbekannte	1 (1)	0 (0)
Radiochemotherapie	38 (42)	4 (9)
nicht bekannt	2 (2)	0 (0)
perkutane Strahlentherapie		
Halsregion	79 (85)	16 (34)
palliatives Setting	52 (56)	7 (15)
Metastasen	17 (18)	12 (26)
Chemotherapie	48 (53)	6 (13)
Doxorubicin	10 (11)	1 (2)
Paclitaxel	8 (9)	0 (0)
Cisplatin	3 (3)	0 (0)
Paclitaxel + Carboplatin	22 (24)	5 (11)
Paclitaxel + Pemetrexed	6 (7)	2 (4)
Doxorubicin basiert*	10 (11)	0 (0)
Sonstige	2 (2)	0 (0)
mehr als eine Art von CTx	12 (14)	2 (4)

Tabelle 10: Tumorthherapie der ATC- und PDTC-Kohorte. R: Resektionsstatus. *Doxorubicin-basierte Kombinationschemotherapie.

4.1.5 Tyrosinkinaseinhibitor- und Immuncheckpointinhibitor-Therapie der Gesamtkohorte

Eine Systemtherapie in Form von TKIs und/oder ICIs erhielten 15 (16%) der ATC- und 13 (28%) der PDTC-PatientInnen. Die PatientInnen wurden mit Lenvatinib (ATC: n=3, PDTC: n=9), Pembrolizumab (ATC: n=2, PDTC: n=1), Lenvatinib und Pembrolizumab (ATC: n=1, PDTC: n=2) oder anderen Tyrosinkinaseinhibitoren (ATC: n=10, PDTC: n=8) behandelt. Zwei PDTC-Fällen wurden drei unterschiedlichen Immuntherapien verabreicht und zwei weitere PDTC-PatientInnen wurden mit zwei verschiedenen TKIs therapiert (Lenvatinib gefolgt von Sorafenib bzw. Cabozantinib). In beiden Kohorten gab es jeweils einen Fall, der mit zwei unterschiedlichen Arten von Systemtherapie behandelt wurde.

TKI und/oder ICI-Therapie	Anzahl der ATC	Anzahl der PDTC
---------------------------	----------------	-----------------

	PatientInnen (%)	PatientInnen (%)
Lenvatinib	3 (3)	9 (19)
Pembrolizumab	2 (2)	1 (2)
LEN + PEM	1 (1)	2 (4)
Andere*	10 (11)	8 (17)
Mehr als eine Therapie	1 (1)	5 (11)

Tabelle 11: Systemtherapie der ATC- und PDTC-Kohorte. *Vemurafenib, Sunitinib, Cabozantinib, Pazopanib, Imatinib, Nivolumab.

4.2 Semiquantitative Analyse der Expression von PD-L1

Die PD-L1-Expression mittels TPS war zwischen den Tumoren einer Kohorte und innerhalb der Tumoren sehr heterogen. Die mediane Expression in der ATC-Kohorte (n=93) entsprach 30% (Spannweite 1-95%), wohingegen der Median in der PDTC-Kohorte (n=47) nur bei 5% (Spannweite 1-95%) und der der PTC-Gruppe (n=21) bei 10% (Spannweite 0-30%) lag. 42% der ATC- und 26% der PDTC-Gewebeproben zeigte eine hohe Expression mit einem TPS $\geq 50\%$ im Vergleich zu den PTC-Proben (max. 30%). Bei normalem Schilddrüsengewebe (NT, n=30) konnte lediglich eine maximale Expression von 1% festgestellt werden. Eine mittlere PD-L1-Expression zwischen $>5\%$ bei $<50\%$ konnte bei 31% der ATC-, 21% der PDTC- und 57% der PTC-Tumoren ermittelt werden. TPS-Werte $\leq 5\%$ wurden als geringe Expression gewertet (27% ATC, 53% PDTC, 43% PTC und 100% NT). Bei Wahl eines Cut-off des TPS von $\geq 50\%$, fanden sich 42% der ATC- und 26% der PDTC-Proben in dieser Gruppe wieder. Eine statistisch signifikant höhere Expression von PD-L1 wurde in ATC- ($<0,0001$), PDTC- ($p<0,001$) und PTC-Proben ($p<0,01$) verglichen mit normalem Schilddrüsengewebe beobachtet. ATC-Tumoren exprimierten PD-L1 statistisch signifikant höher als PDTC-Gewebe ($p<0,01$). Hingegen verblieb der Unterschied in der PD-L1 Expression zwischen ATC ($p=0,116$) oder PDTC-Gewebe ($p=1,0$) im Vergleich zu Proben mit Gewebe von differenzierten Schilddrüsenkarzinomen nicht signifikant.

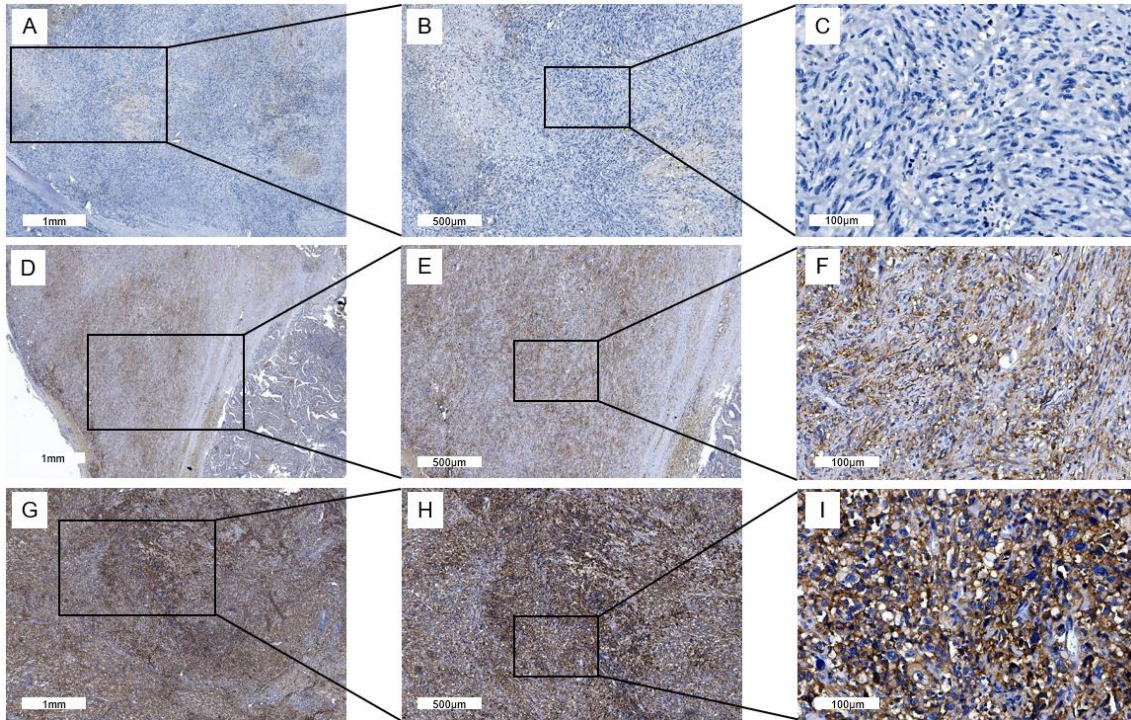


Abbildung 9: Repräsentative IHC-Färbung von membranständigem PD-L1 in ganzen ATC-FFPE-Schnitten. Dargestellt sind drei unterschiedliche Gewebeproben mit PD-L1-Antikörperfärbung. Einen Überblick geben **A, D, G** (Maßstabsleiste: 1mm). **B, E, H** (Maßstabsleiste: 500µm) zeigen eine 2-fache und **C, F, I** (Maßstabsleiste: 100µm) eine 10-fache Vergrößerung. Die PD-L1-Expression beträgt bei **A-C** 1%, **D-F** 50% und **G-I** 95%.

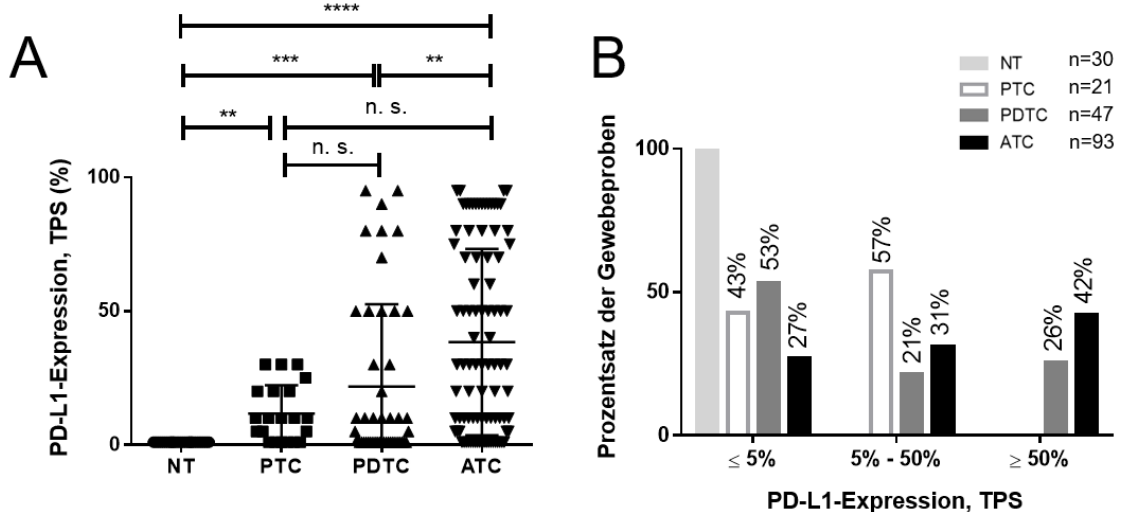


Abbildung 10: Vergleich der PD-L1-Expression mittels IHC-Färbung in ATC- oder PDTC- mit PTC- oder normalem Schilddrüsen (normal thyroid, NT-) Gewebe. **(A)** Die PD-L1-Expression (TPS) war signifikant höher in ATC- im Vergleich zu PDTC-Gewebe und im Vergleich beider seltener Schilddrüsenkarzinome zu NT. Nicht signifikante (n.s.) Unterschiede wurden im Vergleich von ATC und PTC und PDTC und PTC beobachtet. **(B)** Proportion der PD-L1 (TPS)-Kategorien in PDTC und ATC. **p < 0,01, ***p < 0,001, ****p < 0,0001.

4.3 Quantitative Analyse der Expression von FGFR1-4

Eine Zusammenfassung der medianen Expression von FGFR1-4 in Proben von ATC- (n=31), PDTC-(n=14), und PTC-Gewebe (n=5) liefert **Tabelle 12**.

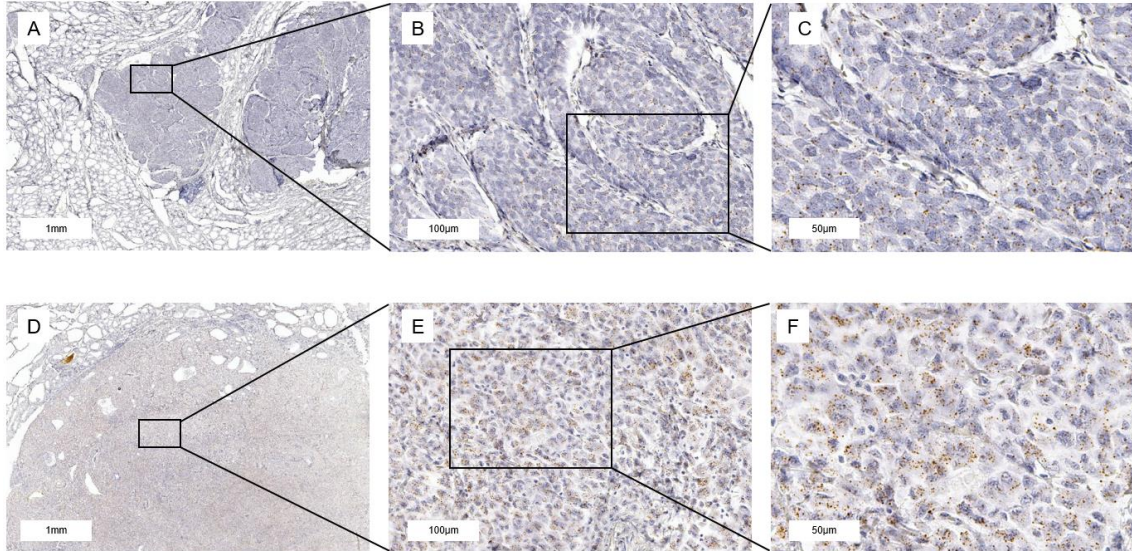


Abbildung 11: FGFR1-Färbung ganzer PDTC-FFPE-Schnitte mittels mRNA *in situ* Hybridisierung **A-C:** Geringe FGFR1-Expression in PDTC-Gewebe-Probe (1,9 mRNA/Zelle). **D-F:** FGFR1-Expression in PDTC-Gewebe-Probe mit hoher Expression (5,4 mRNA/Zelle). Jeder braune Punkt entspricht einem mRNA-Molekül.

FGFR- Expression (mRNA/Zelle)	ATC (n=31)	PDTC (n=14)	PTC (n=8)	P (Kruskal- Wallis)
FGFR1 (Spannweite)	1,06 (0,16-5,32)	0,81 (0,18-1,87)	0,5 (0,15-0,97)	0,079
		1,0		
FGFR2 (Spannweite)	0,38 (0,0-3,3)	0,96 (0,64-2,65)	0,43 (0,25-0,97)	<0,0001
		0,001		
FGFR3 (Spannweite)	0,31 (0,0-2,75)	0,58 (0,14-1,36)	0,71 (0,09-1,0)	0,042
		0,168		
FGFR4 (Spannweite)	0,14 (0,0-1,62)	0,24 (0,06-0,49)	0,08 (0,02-0,65)	0,169
		0,296		
panFGFR (Spannweite)	2,03 (0,47-10,03)	3,02 (1,52-4,5)	1,72 (0,61-3,6)	0,058

Tabelle 12: Expression von FGFR1-4 mRNA in mRNA/Zelle mittels RNAscope® *in situ* Hybridisierung sowie Summe der FGFR1-4 Expression (panFGFR). *p-Werte der Bonferroni-Korrektur für paarweise Vergleiche von ATC und PDTC.

4.3.1 FGFR1

Die Expression der FGF-Rezeptoren war generell in allen Gruppen sehr gering, wobei FGFR1 mit einer medianen Expression von 1,06 mRNA/Zelle (Spannweite: 0,16-5,42 mRNA/Zelle) in ATC-Tumoren (n=31) am höchsten exprimiert war. PDTC-Gewebe (n=14) zeigte einen Expressionsmedian von 0,81 mRNA/Zelle (Spannweite (0,18-1,87 mRNA/Zelle) und PTC-Gewebe (n=5) einen Median von 0,5 mRNA/Zelle (Spannweite 0,15-0,97 mRNA/Zelle). Normales Schilddrüsengewebe (n=8) zeigte die geringste Expression mit 0 mRNA/Zelle (Spannweite: 0,0-0,12 mRNA/Zelle). Statistisch höher war die Expression im Vergleich zwischen ATC- ($p < 0,0001$) und PDTC-Tumorgewebe ($p < 0,01$) und normalem Schilddrüsengewebe.

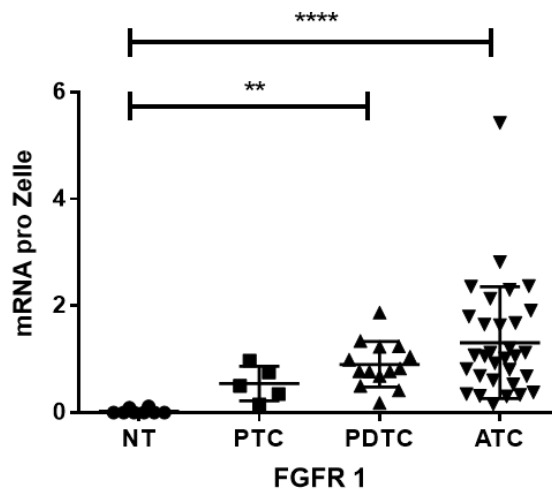


Abbildung 12: FGFR1-Expression mittels RNAscope® *in situ* Hybridisierung in ATC, PDTC, PTC und NT. Signifikante Ergebnisse sind angegeben. * $p < 0,1$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

4.3.2 FGFR2

Der FGF-Rezeptor 2 wurde in PDTC-Proben mit einem Median von 0,96 mRNA/Zelle (Spannweite 0,64-2,65 mRNA/Zelle) am höchsten exprimiert. In Gewebe von anaplastischen (Median: 0,38 mRNA/Zelle; Spannweite: 0,0-3,3 mRNA/Zelle) und papillären (Median: 0,43 mRNA/Zelle; Spannweite: 0,25-0,97 mRNA/Zelle) Tumoren war die Expression deutlich geringer. Bei normalem Schilddrüsengewebe konnte ein Expressionsmedian von 0 mRNA/Zelle (Spannweite: 0,0-0,42 mRNA/Zelle) festgestellt

werden. Der Vergleich von gering differenziertem Tumor- und normalem Schilddrüsengewebe zeigte einen statistisch signifikanten Unterschied ($p < 0,0001$), ebenso der Vergleich von PDTC- und ATC-Gewebe ($p = 0,001$). Im paarweisen Vergleich nach Bonferroni zeigte sich in ATC- verglichen mit PDTC-Gewebe eine statistisch signifikant niedrigere Expression (p-Wert $< 0,0001$).

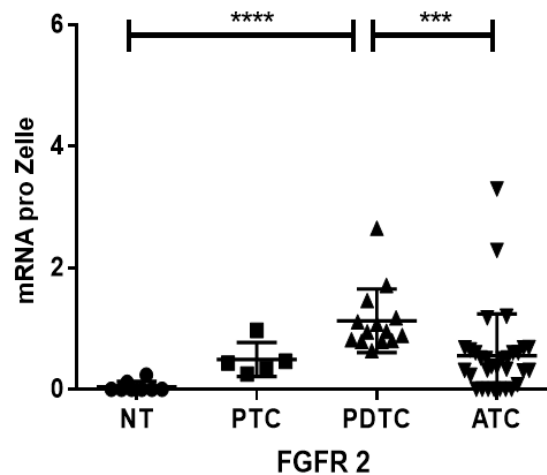


Abbildung 13: FGFR2-Expression mittels RNAscope® *in situ* Hybridisierung in ATC, PDTC, PTC und NT. Signifikante Ergebnisse sind angegeben. * $p < 0,1$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

4.3.3 FGFR3

Der Expressionsmedian von FGFR3 war in papillären Schilddrüsentumoren am höchsten mit 0,71 mRNA/Zelle (Spannweite: 0,09-1,0 mRNA/Zelle). In PDTC-(Median: 0,58 mRNA/Zelle) und ATC-Gewebe (Median: 0,31 mRNA/Zelle) fand sich eine geringere mediane Expression. Zudem zeigte normales Schilddrüsengewebe keine Expression von FGFR 3. Eine statistisch signifikant höhere Expression zeigte in anaplastischem ($p < 0,01$), gering differenziertem ($p < 0,0001$) oder papillärem ($p < 0,01$) Schilddrüsenkarzinomgewebe im Vergleich mit normalem Schilddrüsengewebe. Der paarweise Vergleich nach Bonferroni von ATC- und PDTC-Gewebe zeigte einen statistisch signifikanten p-Wert von 0,042.

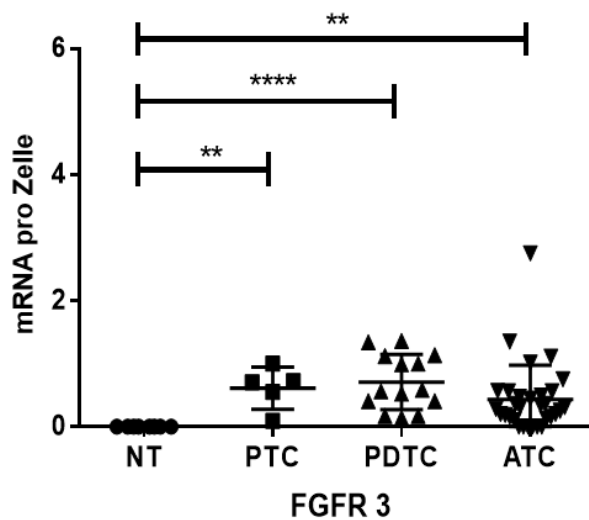


Abbildung 14: FGFR3-Expression mittels RNAscope® *in situ* Hybridisierung in ATC, PDTC, PTC und NT. Signifikante Unterschiede sind angegeben. * $p < 0,1$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

4.3.4 FGFR4

Analysen der FGFR4-Expression ergaben insgesamt ebenfalls eine sehr niedrige Expression dieser Isoform mit der höchsten Expression bei PDTC-Proben mit im Median 0,24 mRNA/Zelle (Spannweite: 0,06-0,49 mRNA/Zelle), wohingegen ATC- (Median: 0,14 mRNA/Zelle) und PTC-Proben (Median: 0,08 mRNA/Zelle) im Median nochmals niedrigere Werte aufwiesen. Keine Expression zeigte normales Schilddrüsengewebe. Statistisch signifikante Unterschiede konnten beim Vergleich von anaplastischem ($p < 0,1$) oder gering differenzierten Schilddrüsentumorgewebe ($p < 0,01$) mit normalem Schilddrüsengewebe beobachtet werden.

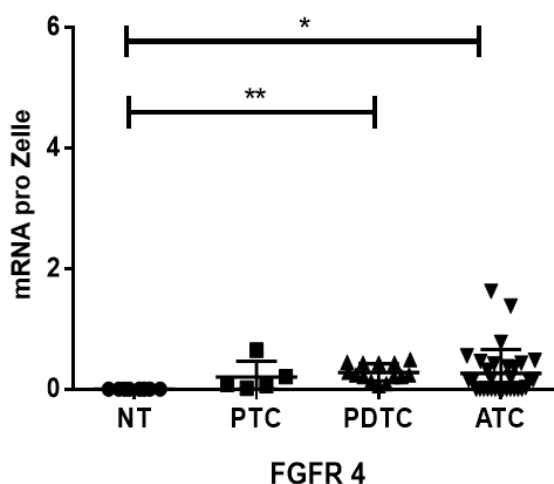


Abbildung 15: FGFR4-Expression mittels RNAscope® *in situ* Hybridisierung in ATC, PDTC, PTC und NT. Signifikante Ergebnisse sind angegeben. * $p < 0,1$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

4.3.5 Zusammenfassende Betrachtung der FGFR-Expression

Als panFGFR-Expression wurde die summierte Expression von FGFR1, 2, 3 und 4 bezeichnet. Hintergrund hierfür war die Idee, dass zahlreiche FGFR-Inhibitoren ein Spektrum von FGFR inhibieren und damit der Betrachtung der Gesamtexpression möglicherweise ein höherer therapeutischer Stellenwert zukommen könnte. Bei Proben von ATC-Gewebe belief sich die mediane Expression auf 2,03 mRNA/Zelle (Spannweite: 0,47-10,03 mRNA/Zelle) und bei PDTC-Gewebe auf 3,02 mRNA/Zelle (Spannweite: 1,52-4,5 mRNA/Zelle). PTC-Proben hatten einen Expressionsmedian von 1,72 mRNA/Zelle (Spannweite: 0,61-3,6 mRNA/Zelle) und NT von 0 mRNA/Zelle (Spannweite: 0,0-0,54 mRNA/Zelle). Statistisch signifikante Unterschiede in der Expression konnten bei Vergleich von Tumormaterial von anaplastischen ($p < 0,001$) oder gering differenzierten Schilddrüsenkarzinomen ($p < 0,0001$) mit normalem Schilddrüsengewebe beobachtet werden. Keine statistisch signifikanten Resultate zeigte der Vergleich von ATC- ($p = 1,0$) oder PDTC-Proben ($p = 0,447$) mit PTC-Gewebe. Zwischen ATC- und PDTC-Gewebe lag auch kein statistisch signifikanter Unterschied ($p = 0,532$) vor.

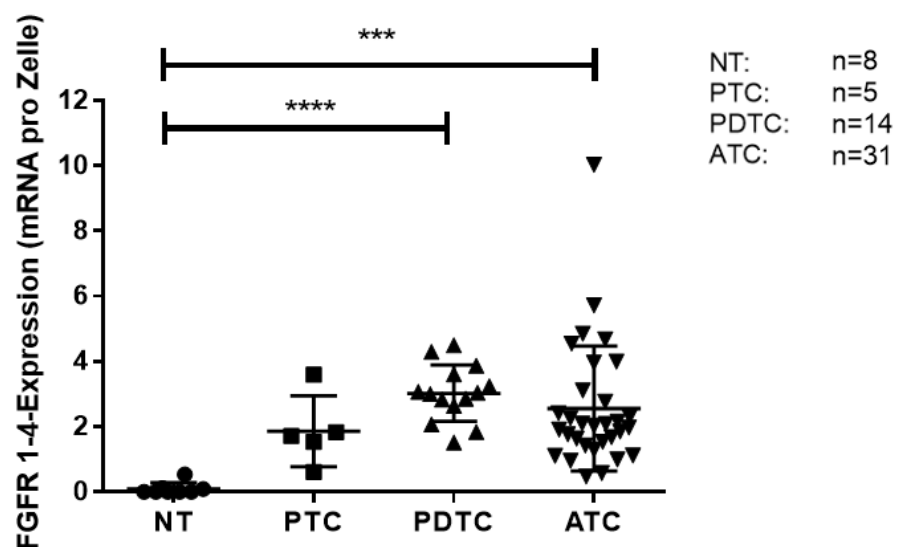


Abbildung 16: panFGFR-Expression mittels RNAscope® *in situ* Hybridisierung in ATC, PDTC, PTC und NT. Signifikante Ergebnisse sind angegeben. Das kombinierte Scoring der FGFR1-4-Expression in ATC- und PDTC- war signifikant höher als in normalem Schilddrüsengewebe. * $p < 0,1$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

4.4 Relevanz der FGFR- und PD-L1 Expression für das Therapieansprechen auf Lenvatinib und Pembrolizumab

Die Fälle, die eine LEN- und/oder PEM-Therapie erhalten haben, sollen im Folgenden ausführlicher betrachtet werden. Eine Übersicht der PatientInnen, die entweder eine

PEM-Monotherapie oder eine Kombination aus LEN + PEM erhalten haben, zeigt **Abbildung 17**, auf die sich auch die # Nummern beziehen.

Ein ATC-Fall #1 (TPS: 10%, panFGFR-Expression: 2,8 mRNA/Zelle) zeigte nach Versagen der RCT unter Lenvatinib-Monotherapie (variierende Dosis zwischen 8 mg und 14 mg) eine partielle Remission als bestes Therapie-Ergebnis. Anschließend an die LEN-Monotherapie erhielt der Patient eine Kombination aus LEN und PEM (Dosis jeweils 4 mg und 200 mg). Damit konnte ein stabiler Krankheitsverlauf erreicht werden. Das progressionsfreie Überleben zum Zeitpunkt der letzten Kontrolluntersuchung nach Datenschluss (Juni 2021) betrug 9,9 Monate.

Ein weiterer ATC-Patient #2 (TPS: 10%) zeigte eine stabile Erkrankung unter PEM-Monotherapie (Dosis: 200 mg alle drei Wochen) mit einem progressionsfreien Überleben von 22,4 Monaten. Nach Anzeichen eines Progresses wurde die Therapie um Paclitaxel (80 mg wöchentlich) für drei Monate erweitert. Allerdings verstarb der Patient einen Monat nach Beendigung der Therapie an seiner Tumorerkrankung.

Eine weitere ATC-Patientin #3 (TPS: 1%, panFGFR-Expression: 1,0 mRNA/Zelle) wurde zunächst mit LEN für acht Monate behandelt und anschließend mit PEM therapiert. Das beste objektive Staging-Ergebnis war für beide Therapien eine progressive Erkrankung. Das progressionsfreie Überleben betrug dabei unter LEN-Therapie 1,7 Monate und unter PEM-Therapie 2,3 Monate.

Bei einem weiteren ATC-Patienten #4 (TPS: 95%, panFGFR-Expression 3,1 mRNA/Zelle) wurde nach Versagen der RCT die Therapie auf eine Kombination aus Lenvatinib und Pembrolizumab umgestellt. Der Patient verstarb fünf Tage später, sodass eine Auswertung des Therapie-Ansprechens nicht möglich war.

Nach RCT-Versagen erhielt ein fünfter ATC-Patient #5 (TPS: 70%, panFGFR-Expression 1,0 mRNA/Zelle) eine LEN-Monotherapie (Dosis: 24 mg) mit einem progressionsfreien Überleben von 4,4 Monaten. Das beste Therapie-Ergebnis war eine stabile Erkrankung.

Eine stabile Erkrankung konnte die Erstlinientherapie aus LEN und PEM bei einem PDTC-Fall #6 erzielen (TPS: 50%), der primär radiojodrefraktär war. Die Therapie-Dauer betrug 21,5 Monate bevor sich ein Progress der Erkrankung zeigte und die Therapie auf eine Kombination aus LEN und Everolimus umgestellt wurde. Der Patient war bei Datenschluss noch am Leben.

Ein weiterer PDTC-Patient #7 (TPS: 30%, panFGFR-Expression 2,83 mRNA/Zelle) wurde mit LEN behandelt. Als bestes Therapie-Ansprechen war eine stabile Erkrankung bei einem progressionsfreien Überleben von 13,7 Monaten zu verzeichnen. Bei

Anzeichen eines progressiven Verlaufs erhielt der Patient zusätzlich Everolimus, was zu einer stabilen Erkrankung für weitere 9,7 Monate führte. Zu einem späteren Zeitpunkt wurde das Therapie-Schema durch PEM ergänzt, was zu einem stabilen Krankheitsverlauf für 1,8 Monaten führte. Zuletzt zeigte der Patient einen progressiven Verlauf, war zum Zeitpunkt des Datenschlusses aber noch am Leben.

Bei einem dritten PDTC-Patienten #8 (TPS: 90%, keine Bestimmung der panFGFR Expression erfolgt) wurde PEM im Rahmen einer Studie (KEYNOTE 158) verabreicht und vier Monate später aufgrund eines Fortschreitens der Erkrankung abgebrochen. Außerhalb von Studien erhielt der Patient LEN, was bis zum Zeitpunkt der letzten Nachverfolgung (Juni 2021) zu einer stabilen Erkrankung führte. Das progressionsfreie Überleben betrug 38,6 Monate.

Einer anderen PDTC-Patientin #9 (TPS: 50%, panFGFR-Expression: 3,1 mRNA/Zelle) wurde zunächst 10 mg Lenvatinib verabreicht. Es war eine partielle Remission als bestes Therapie-Ansprechen zu verzeichnen, bei einem progressionsfreien Überleben von 7,6 Monaten. Bei Progress erhielt die Patientin anschließend 400 mg Sorafenib für drei Monate. Die Therapie wurde aufgrund der fortschreitenden Erkrankung danach mit einer Kombination aus LEN und PEM fortgeführt. Im Staging zeigte sich als bestes Ergebnis eine partielle Remission und insgesamt ein progressionsfreies Überleben von 6,6 Monaten. Bei Progress wurde die Patientin auf PEM umgestellt und verstarb nach knappen drei Monaten.

Weiterhin erhielt eine PDTC-Patientin #10 (TPS: 1%, panFGFR-Expression: 2,6 mRNA/Zelle) zunächst eine LEN-Monotherapie (maximale Dosis 20 mg) mit gemischtem Therapie-Ansprechen. Die Therapie wurde aufgrund von Nebenwirkungen beendet (progressionsfreies Überleben 5,7 Monate). Die LEN-Therapie war gefolgt von einer Sorafenib-Therapie (Dosis: 800 mg) für 1,7 Monate. Anschließend erhielt die Patientin eine Chemotherapie.

Eine primäre LEN-Monotherapie (maximale Dosis: 14 mg) wurde einer weiteren PDTC-Patientin für 26,1 Monate verabreicht #11 (TPS: 1%, panFGFR-Expression: 4,5 mRNA/Zelle). Pembrolizumab wurde kurz nach dem Auftreten von Anzeichen eines Progresses dem Therapie-Schema hinzugefügt, die Patientin verstarb allerdings einen Monat später.

Vier PatientInnen wurden mit LEN-Monotherapie behandelt. Bei einem Patienten (TPS: 5%, panFGFR-Expression: 2,1 mRNA/Zelle) zeigte sich unter der Therapie mit 24 mg Lenvatinib eine stabile Erkrankung mit einem progressionsfreien Überleben von 10,5 Monaten. Die LEN-Therapie war gefolgt von Cabozantinib. Nach RCT-Versagen erhielt

ein Fall (TPS: 80%) eine LEN-Monotherapie (max. Dosis: 24 mg), verstarb aber einen Monat nach Therapiebeginn. Ein weiterer Patient (TPS: 10%) wurde für 8,9 Monate mit LEN behandelt und starb acht Tage später. Eine vierte Patientin (TPS: 10%) erhielt LEN (maximale Dosis 24 mg) für 19,7 Monate und war zum Zeitpunkt der letzten Nachverfolgung nach Datenschluss (Juni 2021) mit einer stabilen Erkrankung noch am Leben.

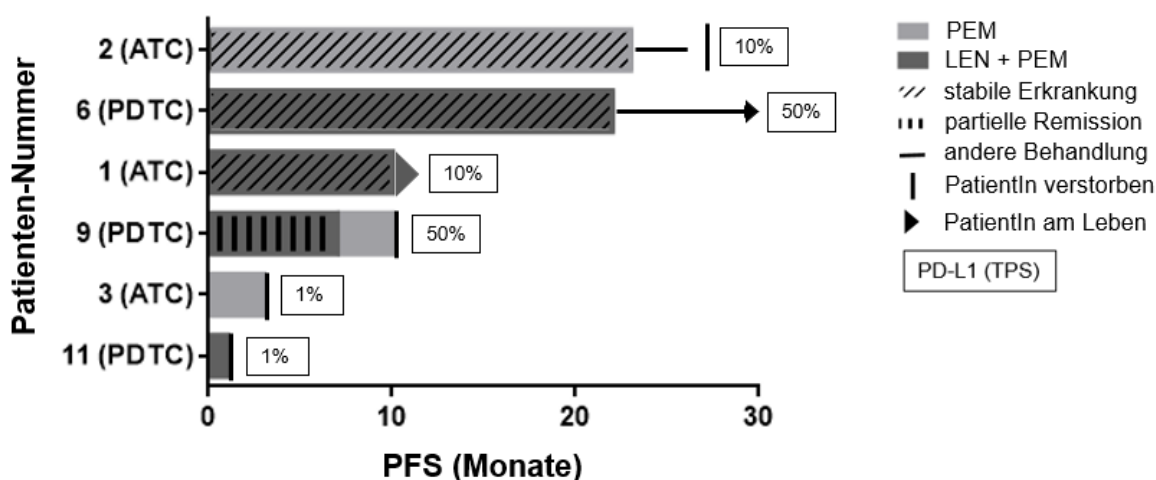


Abbildung 17: Swimmer-Diagramm mit PFS unter PEM oder LEN + PEM. Für die Abbildung zugrunde gelegt wurde ein Überlebens-Follow-up 06/2021. Die PatientInnen 6 und 1 waren nach Datenschluss noch am Leben, wobei PatientIn 1 weiterhin eine Therapie aus LEN + PEM erhielt. Die PD war das beste Therapieergebnis in den Patienten 9 und 3 unter PEM-Monotherapie und in Patient 11 unter LEN + PEM-Therapie.

4.5 Krankheitsspezifische Überlebensanalysen

Im Laufe des Beobachtungszeitraumes bis November 2019 verstarben 83 der 93 ATC- und 14 der 47 PDTC-PatientInnen an den Folgen ihrer Tumorerkrankung. Der Überlebensmedian betrug 6,4 (ATC) und 29,1 Monate (PDTC).

4.5.1 Prognosefaktoren

4.5.1.1 Krankheitsspezifisches Überleben und klinische Charakteristika

Die Assoziation von klinischen Faktoren und krankheitsspezifischem Überleben (DSS) wurde mittels univariaten und multivariaten Analysen untersucht. Die Cut-off-Werte für das Alter wurden anhand des Medians der entsprechenden Kohorte festgelegt. Die Ergebnisse sind jeweils für die ATC- und PDTC-Kohorte in **Tabelle 13** dargestellt.

Die univariaten Analysen bei der ATC-Kohorte zeigten einen statistisch signifikanten Zusammenhang des krankheitsspezifischen Überlebens (DSS) mit folgenden Prognosefaktoren: Alter bei Erstdiagnose, Diagnose im metastasierten Stadium, Erhalt

einer Bestrahlung der Halsregion, Verabreichung einer Chemotherapie. Die Erstdiagnose ≥ 69 Jahre sowie ein UICC-Stadium IVC waren mit einem statistisch signifikant verkürzten krankheitsspezifischen Überleben assoziiert, wohingegen die Bestrahlung der Halsregion und die Behandlung mittels Chemotherapie mit einem verlängerten krankheitsspezifischen Überleben einhergingen. In der multivariaten Analyse mittels Cox-Regression verblieb der Zusammenhang für das UICC-Stadium und die Strahlentherapie.

Für die PDTC-Kohorte ergaben die univariaten Analysen einen statistisch signifikanten Zusammenhang des DSS mit der Erstdiagnose bei fortgeschrittenem Tumorstadium und dem Erhalt einer Radiojodtherapie. Die UICC-Stadien I, II, und III waren im Vergleich zum Stadium IV in der PDTC-Kohorte, ebenso wie die Behandlung mit RIT mit einem statistisch signifikant längeren krankheitsspezifischen Überleben assoziiert. Das krankheitsspezifische Überleben schien bei PDTC-PatientInnen, die eine Chemo- oder Strahlentherapie erhalten hatten, statistisch signifikant verkürzt zu sein. Dies begründet sich in der Tatsache, dass überwiegend Fälle in fortgeschrittenen Stadien eine aggressivere Therapie erhalten. In der multivariaten Analyse mittels Cox-Regression verblieb kein statistisch signifikanter Zusammenhang.

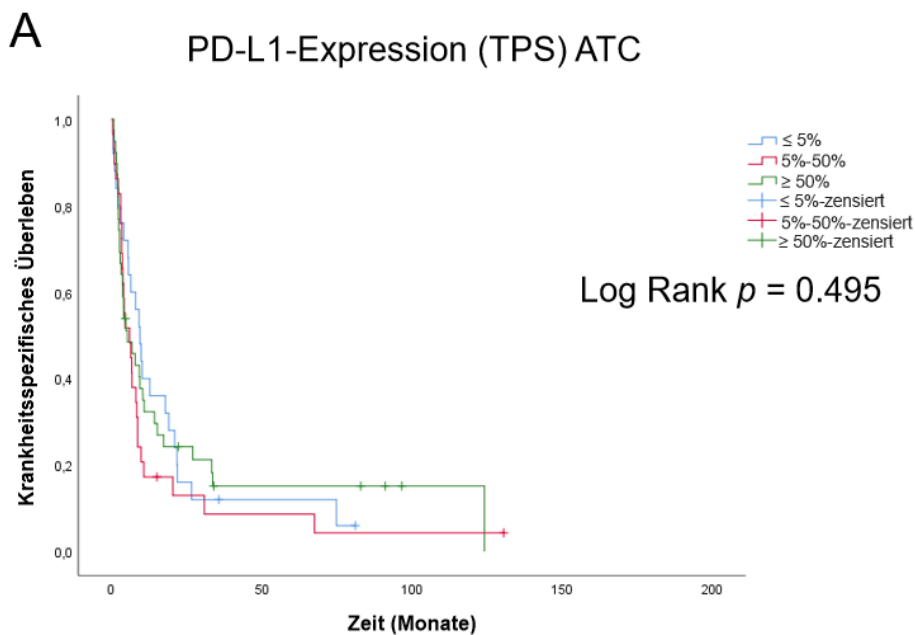
Prognosefaktoren	Univariate Analyse			Multivariate Analyse		
	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P
ATC						
Therapieunabhängige Faktoren						
Geschlecht						
Männlich (n=40)						
Weiblich (n=53)			0,82			
Alter bei ED (Jahre)						
<69 (n=46)						
≥ 69 (n=47)	1,689	1,091-2,614	0,017	1,724	0,958-3,104	0,069
UICC-Stadium						
IVB (n=41)						
IVC (n=48)	1,886	1,200-2,966	0,005	2,068	1,244-3,438	0,005
PD-L1						
$\leq 5\%$ (n=25)			0,495			
5%-50% (n=29)						
$\geq 50\%$ (n=39)						
Komplette lokale Resektion						
Ja (n=11)			0,392			
Nein (n=71)						
Therapiefaktoren						

Strahlentherapie							
Nein (n=14)							
Ja (n=79)	0,503	0,277-0,915	0,021	0,463	0,228-0,941		0,033
Strahlentherapie							
<55 Gy (n=36)							
≥55 Gy (n=37)			0,117				
Chemotherapie							
Nein (n=43)							
Ja (n=48)	0,619	0,399-0,962	0,031	0,582	0,335-1,011		0,055
PDTC							
Therapieunabhängige Faktoren							
Geschlecht							
Männlich (n=17)							
Weiblich (n=30)			0,338				
Alter bei ED (Jahre)							
<63 (n=23)							
≥63 (n=24)			0,48				
UICC Stadium							
I, II, III (n=33)							
IVA, IVB (n=13)	3,176	1,002-10,060	0,04	2,984	0,907-9,819		0,072
PD-L1							
≤5% (n=25)			0,496				
5-50% (n=10)							
≥50% (n=12)							
Komplette lokale Resektion							
Ja (n=12)			0,119				
Nein (n=25)							
Therapiefaktoren							
Radiojodtherapie							
Nein (n=11)					0,07-2,177		
Ja (n=36)	0,148	0,038-0,571	0,001	0,284			0,284
Radiojodtherapie							
<6,65 GBq (n=18)							
≥6,65 GBq (n=18)			0,601				
Strahlentherapie							
Nein (n=31)					0,512-12,702		
Ja (n=16)	4,065	1,180-14,001	0,016	2,55			0,253
Strahlentherapie							
<60,5 Gy (n=7)			0,531				
≥60,5 Gy (n=8)							
Chemotherapie							
Nein (n=41)					0,367-8,626		
Ja (n=6)	4,291	1,050-17,537	0,027	1,779			0,475

Tabelle 13: Prognosefaktoren beim ATC und PDTC mit univariater (log-rank-Test) und multivariater Analyse (Cox Regression). Cut-off-Werte für das Alter wurden anhand des Medians der jeweiligen Kohorte festgelegt.

4.5.1.2 Krankheitsspezifisches Überleben und Expression von PD-L1 und FGFR1-4

Eine PD-L1-Expression mit TPS $\leq 5\%$ wurde als gering, eine Expression zwischen 6-49% wurde als moderat und ein TP-Score von 50-100% als hoch angesehen. Es ergab sich weder für die ATC- noch für die PDTC-Kohorte ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit dem krankheitsspezifischen Überleben. Es konnte auch kein statistisch signifikanter Zusammenhang für einen Cut-off von $\geq 50\%$ (entsprechend dem Cut-off für das Therapieansprechen unter Pembrolizumab für das NSCLC) mit dem krankheitsspezifischen Überleben ermittelt werden. Ebenfalls kein statistisch signifikanter Zusammenhang mit dem krankheitsspezifischen Überleben konnte in der ATC- und PDTC-Kohorte für die Expression der FGF-Rezeptoren 1-4 (Cut-off-Werte: < 1 mRNA/Zelle: keine Expression, ≥ 1 mRNA/Zelle: Expression vorhanden) und die panFGFR-Expression festgestellt werden (Cut-off-Werte ATC: < 2 und ≥ 2 mRNA/Zelle; Cut-off-Werte PDTC: < 3 und ≥ 3 mRNA/Zelle).



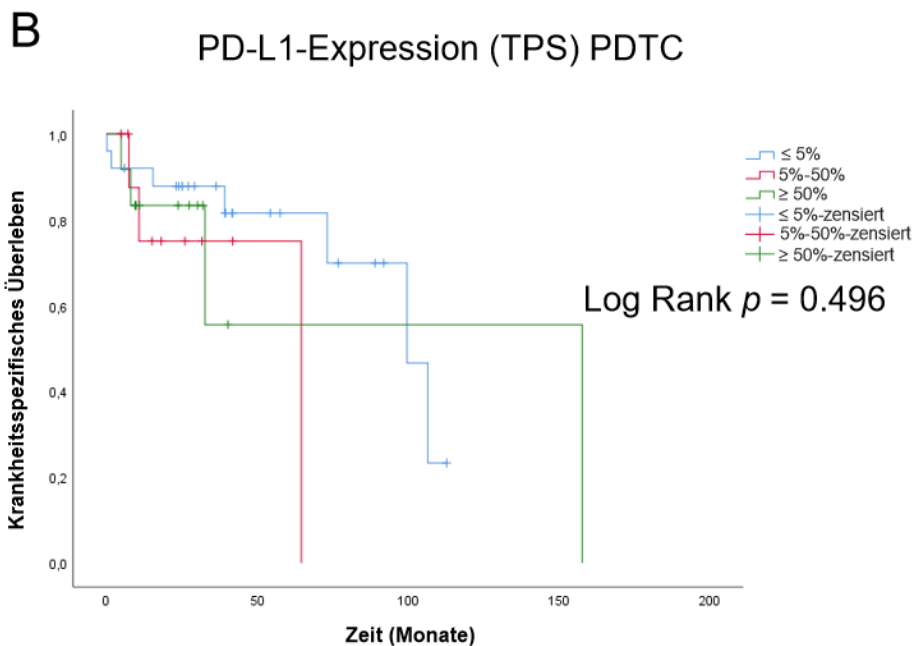


Abbildung 18: Kaplan-Meier-Kurven der DSS der PatientInnen entsprechend der PD-L1-Expression. Das Krankheitspezifische Überleben von ATC (**A**) und PDTC (**B**) PatientInnen unterteilt in die TPS-Kategorien $\leq 5\%$, 5-50%, $\geq 50\%$. Zensiert: PatientIn ist an der Krankheit verstorben.

5. DISKUSSION

In dieser multizentrischen Analyse von prospektiven und retrospektiven Daten und Tumorgewebe wurde die Expression des Immuncheckpoint-Moleküls PD-L1 und der Tyrosinkinase Fibroblasten Wachstumsfaktor-Rezeptoren 1 bis 4 als präklinische diagnostische Marker in den seltenen Schilddrüsenkarzinomen ATC und PDTC systematisch untersucht. Während FGFR1-4 nur niedrig exprimiert wurden, konnte für PD-L1 eine variable Expression in beiden aggressiven Tumoren festgestellt werden, wobei ATC- eine signifikant höhere Expression als PDTC-Tumoren zeigten. Hervorzuheben ist dabei, dass knapp die Hälfte der PDTC- und 73% der ATC-Tumoren eine PD-L1-Expression $>5\%$ zeigten.

5.1 Expression und klinische Daten zu PD-L1

Vorhandene Daten zur Expression von PD-L1 in Schilddrüsenkarzinomen konnten für papilläre Schilddrüsenkarzinome eine signifikante Assoziation der PD-L1-Expression mit einem reduzierten krankheitsfreien Überleben, aber nicht mit dem Gesamtüberleben demonstrieren [87]. Eine weitere Studie konnte zeigen, dass PTC-Gewebe mit lymphoide Thyreoiditis eine höhere Expression von PD-L1 (39,1%) im Vergleich von Tumormaterial ohne lymphoide Thyreoiditis aufwies [88].

Die Expression von PD-L1 sowie das Vorkommen verschiedener Zellen des TME (TILs, TAMs, DC) wurde auch in kleineren Kohorten beschrieben (ATC: n=15, PDTC: n=13). Dabei zeigten 60% der ATC- und 8% der PDTC-Tumoren eine PD-L1-Expression $\geq 1\%$. Zugrunde lag hier der TPS, der von zwei qualifizierten Personen bestimmt wurde, die sich auf einen TPS-Wert einigen mussten. Es konnte eine nicht signifikante Korrelation zwischen der PD-L1-Expression und einem verminderten Überleben bei ATC-PatientInnen festgestellt werden. Zusätzlich zeigten die ATC- im Vergleich zu den PDTC-Proben eine erhöhte Anzahl bestimmter T-Zellen, Makrophagen und DC [89]. In verschiedenen klinischen Studien wurde die PD-L1-Expression in der Studienpopulation berichtet.

Die nicht-randomisierte Phase Ib-KEYNOTE-028-Studie untersuchte das Therapie-Ansprechen auf PEM-Monotherapie in 22 PatientInnen mit fortgeschrittenem papillärem oder follikulärem Schilddrüsenkarzinom ab einer PD-L1-Expression $\geq 1\%$. Lediglich zwei PatientInnen zeigten ein partielles Therapieansprechen (Dauer jeweils acht und 20 Monate) [74]. In einer Phase I/II-Studie mit ATC-PatientInnen, die mit Spartalimumab, einem PD-1-Inhibitor, behandelt wurden, zeigte sich ausschließlich bei PatientInnen mit nachweisbarer PD-L1-Expression ein objektives Therapie-Ansprechen [82]. In einer retrospektiven Analyse von ATC-PatientInnen, die mit TKIs und PEM behandelt wurden, konnte keine Vorhersage über den Therapieerfolg mittels PD-L1-Werten getroffen werden. PatientInnen mit Progress unter der Kombinationstherapie wiesen PD-L1-Werte von 5%, 30% und 80% auf. PatientInnen mit PD-L1-Werten $>95\%$, 90% , 20% und $>10\%$ zeigten ein partielles Ansprechen unter LEN + PEM [86].

Während Studien mit kleineren Fallzahlen und aus Arzneimittelstudien somit das Vorhandensein von PD-L1 in der Mehrzahl von ATC-Tumoren vermutete, gibt es keine Kohorte mit ähnlich großer Fallzahl, in der die Expression von PD-L1 systematisch untersucht wurde [90, 91]. Die Größe der Kohorten wurde durch die multizentrische Zusammenarbeit der „Studiengruppe für seltene Tumoren der Schilddrüse und Nebenschilddrüsen“ ermöglicht, insbesondere durch die Standorte des Universitätsklinikums Würzburg, des LMU Klinikums der Universität München, Großhadern, des Diakonie-Klinikums Stuttgart, des Universitätsklinikums Leipzig und des Universitätsklinikums Düsseldorf. Unsere Studie beschreibt eine PD-L1-Expression unterschiedlicher Ausprägung, aber mit einem minimalen TPS $\geq 1\%$ in allen ATC- und allen PDTC-Tumoren. Eine Expression von $>5\%$ konnte in 47% der PDTC- und 73% der ATC-Proben festgestellt werden. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,01$) im Vergleich der ATC- mit den PDTC-Proben. Keine signifikanten Ergebnisse

erbrachte der Vergleich von ATC- oder PDTC-Proben im Vergleich mit DTC-Gewebe. Die Daten dieser Arbeit zeigten zwar eine höhere mediane PD-L1-Expression in PTC (30%) -im Vergleich zu PDTC (5%) -Gewebe, allerdings war die Spanne der Expression in PDTC-Tumoren größer und lag zwischen 0-95% im Vergleich zu 1%-50% in PTC-Gewebe. Wir konnten keinen Einfluss der PD-L1-Expression auf das krankheitsspezifische Überleben feststellen, was aufgrund der geringen Anzahl an PatientInnen, die eine ICI-Therapie erhalten hatten, zu erwarten war.

Zwaenepoel et al. konnten in 49 ATC-Gewebeproben mittels IHC in 28,6% der Fälle eine PD-L1-Expression nachweisen [91]. Für immunhistochemische Färbungen von PD-L1 wurde in anderen Arbeiten bei PDTC-Gewebe auch der H-Score verwendet. Tumoren galten dabei als PD-L1-positiv ab einer Expression von $\geq 5\%$. Jeder vierte PDTC-Tumor zeigte eine PD-L1-Expression, die zudem signifikant mit der Tumorgroße und dem multifokalen Auftreten der Tumoren korrelierte. Zusätzlich zeichnete sich eine statistisch nicht signifikante Assoziation mit höherem Lebensalter, extrathyreoidaler Ausbreitung, Metastasierung, höherem UICC-Stadium und erhöhter Anzahl an CD8⁺-Zellen ab sowie ein reduziertes Gesamt- und krankheitsspezifisches Überleben [92].

Eine Standardisierung der PD-L1-Färbungen ist essenziell, da die Ergebnisse je nach Methode und Antikörper sowie im Hinblick auf die Entität und den einzusetzenden Immuncheckpointinhibitor unterschiedlich zu bewerten sind [93].

In dieser Arbeit wurden die PD-L1-Färbungen im IHC-Labor des Pathologischen Instituts der Universität Würzburg durchgeführt, sodass die Qualität der Analysen und die Abstimmung zwischen der pathologischen und endokrinologischen Abteilung gegeben war. Diese Studie wurde in Zusammenarbeit mit einem endokrinen Pathologen erstellt, der die Diagnose verifizieren musste, bevor weitere Analysen vorgenommen wurden. Dies ist so in anderen Studien nicht beschrieben [72, 86]. Um der unterschiedlichen Bewertung der PD-L1-Expression gerecht zu werden, wurde ein Teil des Tumorgewebes von zwei qualifizierten Personen begutachtet und die Interrater-Reliabilität berechnet, die eine hohe Übereinstimmung zeigte.

Die Leitlinie der ATA empfiehlt die Evaluation der PD-L1-Expression für ATC-PatientInnen im Stadium IVC, bei denen keine BRAF V600E-Mutation vorliegt [24]. Spezifische Cut-off-Werte wurden mittlerweile für eine Vielzahl von Tumoren definiert, u.a. für das NSCLC und squamös-zellige Kopf-Hals-Tumoren [94, 95]. Während für letztere der Tumor Proportion Score (TPS) zur Anwendung kommt, gibt es für andere Entitäten wie z. B. für das Mamma-Karzinom den Combined Positive Score (CPS) [96],

das Immune Cell (IC)-Scoring für das Urothelkarzinom oder den Melanoma Score (MEL)-Score für das Melanom [97].

In dieser Studie war es nicht möglich Cut-off-Werte zur Therapie-Entscheidung mit ICI zu definieren, da die Anzahl der mit ICI behandelten Patienten zu gering war. Das Fehlen einer Korrelation zwischen der PD-L1-Expression und dem Gesamt- oder progressionsfreiem Überleben schließt jedoch eine Rolle der PD-L1-Expression als prädiktiven Marker für ein Therapieansprechen nicht aus.

Insgesamt zeigt die hohe Expression von PD-L1 in einem substanziellen Anteil der ATC- und PDTC-Tumoren einen Trend, der als Rationale zur Behandlung mit ICI genutzt werden könnte. Man kann deshalb davon ausgehen, dass PD-L1 vermutlich kein prognostischer Marker ist, die Expression aber eventuell einen Hinweis auf das Therapie-Ansprechen bei ATC- und PDTC-PatientInnen liefern könnte. Dennoch sind hierzu prospektive Studien nötig, um die Rolle von PD-L1 als präklinischen diagnostischen Marker abschließend klären zu können.

5.2 Expression und klinische Daten zu FGFR1-4

St. Bernard et al. beschrieben bereits 2005 die Expression von FGFR1-4 in Schilddrüsenkarzinomen und normalem Schilddrüsengewebe mittels immunhistochemischen Färbungen von Tumorgewebe (141 PTC, 12 FTC, 6 PDTC oder ATC) und Western-Blot-Analysen von Schilddrüsenkarzinomzelllinien. Dabei konnte FGFR2 ausschließlich in normalem Schilddrüsengewebe nachgewiesen werden, was die AutorInnen als einen Hinweis auf einen möglichen protektiven Effekt von FGFR2 bewerteten. Die Expression von FGFR1 und 3 wurde sowohl in Adenomen als auch in Schilddrüsenkarzinomen nachgewiesen, während gering und schlecht differenzierte Tumoren überwiegend mit der Expression von FGFR4 assoziiert waren. 25% der FTC, 23% der PTC und 100% der PDTC bzw. ATC zeigten eine FGFR4-Expression. Die Ergebnisse der IHC- stimmten dabei mit denen der Western-Blot-Analysen überein [98]. Studien zu anderen soliden Tumoren wie dem Mammakarzinom und gastrointestinalen Tumoren konnten einen Zusammenhang zwischen der Amplifikation von FGFR1 und 2 und dem Therapieansprechen auf TKIs nachweisen [99]. Obwohl neben LEN, das zur Therapie fortgeschrittener radiojod-refraktärer Schilddrüsenkarzinome zugelassen ist, auch andere TKIs zur Behandlung von Schilddrüsenkarzinomen ein ähnliches Wirkspektrum aufweisen, z. B. Pazopanib, Sunitinib oder Sorafenib (siehe **Abbildung 6**), zeichnet Lenvatinib sich als einziger TKI durch die Inhibition von FGFR1-4 aus. Deshalb gingen wir davon aus, dass die in klinischen Studien gesehene hohe Ansprechrate auf LEN und ICI durch die Inhibition von FGFR1-4 verursacht sein könnte.

In unserer Studie wurde eine deutlich größere Fallzahl als in den vorher beschriebenen Publikationen untersucht. Es ließ sich nur eine geringe mRNA-Zahl von FGFR1, 2, 3 und 4 bzw. panFGFR in ATC- und PDTC-Gewebe nachweisen. FGFR1 war dabei in ATC- und PDTC-Gewebe am höchsten im Vergleich zu PTC- und normalem Schilddrüsengewebe exprimiert. Für FGFR2-4 konnten wir in allen Gewebearten nur eine Expression von <1 mRNA/Zelle nachweisen. Die mediane panFGFR-Expression betrug in ATC-Gewebe 2 mRNA/Zelle, in PDTC-Proben 3 mRNA/Zelle. Insgesamt war die panFGFR-Expression in ATC- und PDTC-Gewebe signifikant höher im Vergleich zu normalem Schilddrüsengewebe, aber nicht im Vergleich zu PTC-Gewebe.

Für andere FGFR-Inhibitoren, wie z. B. Rogaratinib, gab es in einer Studie Hinweise für die Nutzung des mRNA-Nachweises von FGFR1-3 zur Einschätzung des Therapie-Ansprechens in fortgeschrittenen Urothel-, plattenepithelial differenzierten Kopf-Hals- und nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen [100]. Die mRNA-Expression von FGFR1-4 wurden auch in Brustkrebs untersucht. Dabei zeigte sich eine Assoziation zwischen hoher mRNA-Expression und dem Therapie-Ansprechen auf selektive panFGFR-Inhibitoren. Dennoch zeigte sich, unabhängig von der mRNA-Expression, ein besseres Therapie-Ansprechen auf Multi-Tyrosinkinaseinhibitoren im Vergleich zu hochselektiven panFGFR-Inhibitoren mit der wahrscheinlichen Ausnahme von durch Fusionsereignissen getriebenen Tumoren wie etwa des FGFR-fusionierten cholangiozellulären Karzinoms [101-103].

Eine Studie untersuchte die Expression von FGFR4 und das Therapieansprechen auf eine LEN-Therapie bei 12 ATC-Gewebeproben mittels Immunhistochemie. Es zeigte sich eine variable Expression zwischen 0-50%. Bei 33% der PatientInnen zeigte sich eine partielle Remission und bei 25% eine stabile Erkrankung unter LEN-Monotherapie. Die Dauer des progressionsfreien Überlebens korrelierte dabei mit der FGFR4-Expression (je höher die FGFR4-Expression, desto länger das progressionsfreie Überleben) [81]. In einer weiteren Studie wurden die Isoformen von FGFR2 mittels IHC und PCR in Struma-, follikulärem Adenom- und PTC-Gewebe im Vergleich zu normalem Schilddrüsengewebe untersucht. In follikulärem Adenom- und PTC-Gewebe wurde eine reduzierte Expression beider Isoformen festgestellt [104].

Diese Studien sind allerdings mit Zurückhaltung zu betrachten, da die Methode der Immunhistochemie für den Nachweis von FGFR als unspezifisch angesehen wird und daher in klinischen Studien die Methode der RNAscope® *in situ* Hybridisierung zum Nachweis der mRNA eingesetzt wurde. Während wir nicht ausschließen können, dass die geringe Menge an mRNA der FGFR1-4 einen Einfluss auf die Wirksamkeit von LEN

haben könnte, schließen wir aus den Ergebnissen, dass tumoröse FGFRs wahrscheinlich nicht für die vermutete immunstimulatorische Wirkung von LEN verantwortlich sind. Dabei ist zu beachten, dass mRNAs die Templates zur Proteinsynthese darstellen und ihre Anzahl nicht mit dem Protein-Output gleichzusetzen ist [105]. Eine Metaanalyse über die Expression von FGFR1-3 bei PatientInnen mit hepatozellulärem Karzinom konnte zeigen, dass die Rezeptorexpression bei dieser Tumorform keine Aussage über das Ansprechen auf TKI-Therapie zulässt, wohingegen bei einer Überexpression von FGF19, einem Liganden von FGFR4, das Ansprechen auf TKI-Therapie abgeschätzt werden konnte [57]. Weiterhin könnte FGF21 als Biomarker relevant sein. Erhöhte Konzentrationen von FGF21 konnten in PTC-PatientInnen nachgewiesen werden, die mit einer erhöhten Aggressivität der Tumoren assoziiert war [106].

Während die Analyse von c-KIT keine signifikante Amplifikation in ATC und PDTC zeigen konnte [107], kämen als weitere Targets VEGFR 1-3, PDGFR- α , und RET in Frage. VEGF-Rezeptoren spielen in der Angiogenese eine essenzielle Rolle und wurden bereits 2001 mittels immunhistochemischer Färbungen in Schilddrüsenkarzinomen beschrieben. Gewebe von differenzierten Schilddrüsenkarzinomen wiesen eine höhere Expression von VEGFRs auf als ATC-Gewebe [108]. Obwohl eine weitere Studie zu LEN *in vivo* und *in vitro* eine Assoziation zwischen dem Therapie-Ansprechen und der Expression von VEGFR/FGFR nahelegte [109], konnte eine neuere Studie zumindest für VEGFR 2 keine signifikante Expression in 12 ATC-Gewebeproben mittels IHC nachweisen. Es fand sich somit auch keine Korrelation zwischen der Expression von VEGFR 2 und dem Therapie-Ansprechen auf LEN-Therapie [110]. Neben Lenvatinib haben auch andere TKIs ein ähnliches Spektrum an Zielmolekülen. Für Sunitinib (inhibiert u.a. PDGFR, VEGFR, c-KIT und RET) und Vandetanib (inhibiert VEGFR, RET und EGFR) ist eine antineoplastische Aktivität in ATC *in vitro* und *in vitro* beschrieben [111, 112]. Weiterhin könnte eine Kombination aus Sorafenib (inhibiert VEGFR, PDGFR und RET) mit CP-31398, einem p53-regenerierendem Medikament, das Therapieansprechen auf eine Sorafenib-Therapie bei ATC-PatientInnen mit TP53-Mutation verbessern [113]. Zudem scheint ein verbessertes Therapie-Ansprechen auf eine Sorafenib-Therapie in Kombination mit Paclitaxel und Rx *in vitro* und *in vivo* vorzuliegen [114]. Pazopanib (inhibiert VEGFR, PDGFR und c-KIT) zeigte zwar präklinische Effekte *in vivo*, in klinischen Studien konnte dieser Effekt allerdings nicht nachgewiesen werden [115]. Aufgrund des schlechten therapeutischen Ansprechens von ATC auf VEGFR-gerichtete TKIs im Vergleich zu LEN-Therapie, gingen wir davon aus, dass die tumoröse Expression der LEN-Targets FGFR1-4 zur antitumorösen Antwort

auf LEN-Monotherapie beitragen könnte, was sich in dieser Arbeit allerdings nicht nachweisen ließ.

Eine Metaanalyse über die Behandlung solider Tumoren mit der Kombinationstherapie aus LEN + PEM konnte die Überlegenheit gegenüber der LEN- oder PEM-Monotherapie demonstrieren [116]. Die Kombinationstherapie aus LEN und PEM ist mittlerweile als Erstlinientherapie zur Behandlung von fortgeschrittenen Nierenzellkarzinomen und zur Therapie bestimmter Formen des Endometriumkarzinoms zugelassen [83, 117]. Eine prospektive klinische Studie konnte zeigen, dass die Kombination aus LEN und PEM bei 50% der BRAF V600E-negativen ATC-PatientInnen zu einer kompletten Remission führte. Die Spannweite der PD-L1-Expression war mit Werten zwischen 1-90% groß, wobei PatientInnen mit einer PD-L1-Expression >50% am häufigsten auf die Kombinationstherapie ansprachen. Es gab keine Assoziation zwischen der PD-1-Expression oder der Häufigkeit von TILs mit dem Therapie-Ansprechen [72]. Die Rationale für die Kombination von anti-PD-1/-PD-L1-Therapeutika und LEN wird durch präklinische Studien unterstützt, in denen die Autoren grundlegende Alteration der Immunumgebung von Tumorzellen demonstrieren konnten [59]. LEN führte zu einem deutlichen Anstieg tumor-infiltrierender Immunzellen, tumor-assoziierten Makrophagen und zu einem starken Anstieg peripherer und tumoröser polymorphonukleärer myeloisch abstammender Suppressor-Zellen (PMN-MDSC) [59]. Die Autoren schlossen daraus, dass LEN sowohl pro- als auch anti-inflammatorische Immun-Effekte beeinflussen könnte [59]. Wurde die Zahl der immunsuppressiven PMN-MDSC experimentell verringert, zeigte sich eine höhere antitumorale Aktivität von LEN. Gleichzeitig war die Inhibition der PD-1/PD-L1-Achse mit einer Reduktion immunsuppressiver Zellen assoziiert [59].

5.3 Limitationen

5.3.1 Retrospektiver Charakter der Arbeit

In Bezug auf die Analysen von PD-L1 und FGFR1-4 sind mögliche Einschränkungen der Arbeit zu nennen: Aufgrund des überwiegend retrospektiven Studiendesigns und da es sich bei TKIs und ICIs um relativ neue Therapie-Optionen handelt, war die Gruppe der PatientInnen, die eine oder sogar beide Therapien erhalten hatte, eher klein. In dieser Studie wurde Gewebe analysiert, das zwischen 1997 und 2019 entnommen wurde. LEN und PEM traten erstmals ca. 2014 als neue therapeutische Optionen für solide Tumoren in Erscheinung. Lediglich drei PatientInnen wurden in dieser Kohorte mit der Kombinationstherapie aus LEN + PEM behandelt, jeweils 12 und drei PatientInnen erhielten LEN oder PEM. Die individuellen Verläufe dieser kleinen Kohorte sind zwar gut

dokumentiert, dennoch sind keine Aussagen wie bei einer großen prospektiven Studie möglich. Es lassen sich deshalb auch keine Cut-off-Werte definieren, die eine Therapieentscheidung rechtfertigen würden.

Die Kohorte der PDTC-PatientInnen ist mit einer Fallzahl von 47 relativ klein. Außerdem wurde sie im Vorhinein nicht anhand des Kriteriums „radiojod-refraktär“ beleuchtet und selektiert. Durch den retrospektiven Charakter der Studie ist auch eine Stichprobenverzerrung hinsichtlich des verminderten krankheitsspezifischen Überlebens unter der Therapie mit Chemotherapie oder Radiatio in der PDTC-Kohorte zu nennen. Dieser Störfaktor kommt dadurch zustande, dass PDTC-PatientInnen mit fortgeschrittener Erkrankung mit aggressiveren Therapien behandelt werden.

5.3.2 Weitere Targets, Tumormutationslast und Tumormikroumgebung

Lenvatinib besitzt neben den FGFR1-4 noch die Targets c-KIT, VEGFR 1-3, PDGFR- α und RET. VEGFR 1-3 sowie c-KIT wurden schon in anderen Publikationen in PDTC bzw. ATC beschrieben und scheinen nicht für die Wirksamkeit von LEN verantwortlich zu sein [107, 110]. Trotzdem kommen die weiteren Targets für den Wirkmechanismus von Lenvatinib in Frage und könnten in weiteren wissenschaftlichen Arbeiten beleuchtet werden. Zudem erfolgte in dieser Arbeit wie bei anderen vergleichbaren wissenschaftlichen Arbeiten keine Charakterisierung von Mutationen des Tumorgewebes (z. B. von BRAF V600E oder NTRK) und keine Analyse des TME. Des Weiteren wurden die Analysen zu FGFR1-4 nicht bei allen PatientInnen, die eine TKI- oder ICI-Therapie erhalten hatten, durchgeführt. Dies war der dem zeitlichen Ablauf der Akquise des Tumormaterials geschuldet, sollte aber in prospektiven Studien mit Lenvatinib-Therapie ggf. erfolgen, um Aussagen zur präklinischen Rationalen treffen zu können.

5.4 Ausblick

Auf der Basis dieser Arbeit ergeben sich weitere interessante Fragestellungen: Hinsichtlich der Interaktion zwischen Tyrosinkinase- und Immuncheckpointinhibitoren wäre es denkbar, dass die Tumormikroumgebung einen Einfluss auf die synergistische Wirkung hat. Hier bleibt abzuwarten, ob sich weitere Targets von Lenvatinib als relevant herausstellen werden, und/oder ob die Interaktion mit Immunzellen vorrangig eine Rolle spielt.

In einer Studie wurden 29 Immuncheckpoint-Moleküle untersucht, von denen HVEM, BTLA und CD160 eine höhere Expression in ATC im Vergleich zu anderen TC-Formen zeigten [31]. Ebenso scheint IL-6 an der Regulation der PD-L1-Expression in

Schilddrüsenkarzinomen beteiligt zu sein [118]. Eine weitere Studie konnte zeigen, dass mikro-RNAs, lange nicht-codierende RNAs (lncRNA), wie z. B. UCA1 in ATC-Gewebe [119] und zirkuläre RNAs (circRNA), an der Regulation der PD-1/PD-L1-Achse beteiligt sind [120]. Welchen Einfluss weitere Immuncheckpoint-Moleküle und andere Faktoren der Regulation der PD-1/PD-L1-Achse haben, ist nicht abschließend geklärt.

Weiterhin bleibt zu überlegen, welches therapeutische Vorgehen bei Nichtansprechen oder Resistenzbildung auf TKI- und ICI-Therapie möglich wäre, und ob ggf. auch hier mit weiteren Substanzen eine Ausweitung des Therapieregimes möglich wäre [121]. Neue Multi-Tyrosinkinaseinhibitoren aus der Gruppe der zyklischen Amide und Pyrazol-Pyrimidin-Derivate könnten in Zukunft eine Rolle in der Behandlung seltener Schilddrüsenkarzinome spielen [47].

Weiterhin kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Untersuchung von PD-L1 oder FGFR1-4 in Metastasengewebe andere Ergebnisse als in Primärtumorgewebe liefern könnte.

Zentral für ein besseres Verständnis neuer Therapien ist die Rekrutierung weiterer PatientInnen für die „Registerstudie für seltene Tumoren der Schilddrüse und Nebenschilddrüsen“ und ähnliche Alternativen, in der Klinik die zeitnahe Untersuchung der Mutationen und Targets nach Entnahme des Tumorgewebes, die als relevant für das Therapie-Ansprechen eingestuft werden sowie die prospektive Erfassung der Daten und erneute Evaluation unter der Therapie.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war es, die Expression von PD-L1 und FGFR1-4 beim anaplastischen und gering differenzierten Schilddrüsenkarzinom sowie ihre präklinische prognostische Relevanz für die Therapie mit Tyrosinkinase- und Immuncheckpointinhibitoren zu untersuchen.

Diese Marker wurden bis dato nur in kleinen Kohorten untersucht. Die Tumormaterial- und Datenakquise erfolgte im Rahmen der multizentrischen und multidisziplinären, retrospektiven „Registerstudie für seltene Tumoren der Schilddrüse und Nebenschilddrüsen“.

Die PD-L1-Färbungen wurde mittels Immunhistochemie und für die Fibroblasten Wachstumsfaktor-Rezeptoren mit Hilfe von RNAscope® *in situ* Hybridisierung durchgeführt. Das krankheitsspezifische Überleben wurde mittels Kaplan-Meier-Methode ermittelt, der Gruppenvergleich erfolgte durch den log-rank-Test. Die nicht normal verteilten Daten wurden mit Mann-Whitney *U* Test analysiert. Die Evaluation für

nicht-nominal verteilte Variablen erfolgte mittels Kruskal-Wallis Test. Zur Berechnung der Prognosefaktoren wurden Cox-Regressionsanalysen verwendet.

Als Hauptergebnisse sind der signifikant höhere Nachweis von PD-L1 in anaplastischen im Vergleich zu gering differenzierten Schilddrüsenkarzinomen zu nennen sowie eine mittlere bis hohe PD-L1-Expression für einen Großteil der anaplastischen und knapp die Hälfte der gering differenzierten Tumoren. Außerdem konnte gezeigt werden, dass im Vergleich mit papillären Schilddrüsenkarzinomen die PD-L1-Expression zu keinen statistisch signifikanten Unterschieden führte, anders als im Vergleich mit normalem Schilddrüsengewebe. Hieraus lässt sich schlussfolgern, dass der Einsatz von Immuncheckpointinhibitoren bei der Mehrheit der ATC- und einigen PDTC-Tumoren mit hoher PD-L1-Expression sinnvoll sein könnte. PD-L1 könnte als präklinischer Marker zur Therapie-Entscheidung für Immuncheckpointinhibitoren herangezogen werden, allerdings müssten sich hierzu prospektive klinische Studien anschließen.

Die Expression der Fibroblasten Wachstumsfaktor-Rezeptoren 1, 2, 3, und 4 war sowohl in der Einzel- als auch in der summativen Betrachtung in gering und schlecht differenzierten Tumoren kaum vorhanden. Sie scheinen somit nicht das entscheidende Target bei der Behandlung mit Lenvatinib zu sein. Da anaplastische Tumoren aber gut auf die Kombinationstherapie aus Lenvatinib und Pembrolizumab ansprechen, können immunmodulatorische Effekte aber nicht abschließend ausgeschlossen werden und sollten im Zusammenspiel mit der PD-1/PD-L1-Achse und der Tumormikroumgebung betrachtet werden.

Weiterführend werden deshalb Studien zur Untersuchung der Veränderung der Tumormikroumgebung benötigt, um mögliche präklinische Marker zu eruieren und den Wirkmechanismus der Kombinationstherapie besser zu verstehen.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Adam, P., et al., *FGF-Receptors and PD-L1 in Anaplastic and Poorly Differentiated Thyroid Cancer: Evaluation of the Preclinical Rationale*. Front Endocrinol (Lausanne), 2021. **12**: p. 712107.
2. Benninghoff, A., D. Drenckhahn, and J. Waschke, *Taschenbuch Anatomie*. 2020, München: Elsevier Urban & Fischer.
3. Voß, R. and U. Bommas-Ebert, *Allgemeine Anatomie*, in *Kurzlehrbuch Anatomie und Embryologie*, U. Bommas-Ebert, P. Teubner, and R. Voß, Editors. 2011, Georg Thieme Verlag. p. 130-131.
4. Lüllmann-Rauch, R. and E. Asan, *Zellenlehre*, in *Taschenlehrbuch Histologie*, R. Lüllmann-Rauch and E. Asan, Editors. 2019, Georg Thieme Verlag. p. 527-531.
5. Deutzmann, R., *Hormonelle Regulation*, in *Duale Reihe Physiologie*, J. Behrends, et al., Editors. 2016, Georg Thieme Verlag. p. 365-374.
6. Paschke, R., *Hypothalamus-Hypophysen-Schilddrüsen-System*, in *Physiologie*, H.-C. Pape, A. Kurtz, and S. Silbernagl, Editors. 2019, Georg Thieme Verlag. p. 622-629.
7. Markwardt, F., M. Gekle, and A. Schwab, *Allgemeine Physiologie und Zellphysiologie*, in *Taschenlehrbuch Physiologie*, M. Gekle, et al., Editors. 2015, Georg Thieme Verlag. p. 513-517.
8. Welsch, U., *Anatomie. Endokrine Organe*, ed. K. Zilles and B.N. Tillmann. 2010, Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
9. Tumours, W.H.O.C.o., *WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs*, R.V. Lloyd, et al., Editors. 2017, International Agency for Research on Cancer (IARC): Lyon. p. 100-106.
10. Krams, M., *Kurzlehrbuch Pathologie*. 2019, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG. 503-505.
11. Amann, K., R. Kain, and G. Klöppel, *Urogenitale und Endokrine Organe, Gelenke und Skelett*. Pathologie, ed. G. Klöppel, H.H. Kreipe, and W. Remmele. 2016, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
12. Reiners, C., *Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Schilddrüsenkarzinoms*. 3rd ed. 2010, Bremen: UNI-MED Verlag AG. 53-106.
13. *Manual: Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge*. 4th ed. Endokrine Tumoren, ed. H.A. Fürst, C. J.; Scheidhauer, K.; Spitzweg, C.; Vogelsang, H. 2017, München: Tumorzentrum München der LMU und TU.
14. *Referenz Endokrinologie und Diabetologie*. 2020, Stuttgart: Thieme: Stuttgart. 180-193.
15. Lorusso, L., et al., *Thyroid Cancers: From Surgery to Current and Future Systemic Therapies through Their Molecular Identities*. Int J Mol Sci, 2021. **22**(6).
16. Dettmer, M.S., et al., *Poorly differentiated thyroid carcinoma : An underdiagnosed entity*. Pathologe, 2020. **41**(Suppl 1): p. 1-8.
17. Brierley, J.D., M.K. Gospodarowicz, and C. Wittekind, *Classification of Malignant Tumours, 8th Edition*, ed. J.D. Brierley, M.K. Gospodarowicz, and C. Wittekind. 2017, Weinheim, Germany: WILEY-VHC Verlag GmbH & Co. KGaA. 69-73.

18. Lee, D.Y., et al., *Changes of Clinicopathologic Characteristics and Survival Outcomes of Anaplastic and Poorly Differentiated Thyroid Carcinoma*. *Thyroid*, 2016. **26**(3): p. 404-13.
19. Hiltzik, D., et al., *Poorly differentiated thyroid carcinomas defined on the basis of mitosis and necrosis: a clinicopathologic study of 58 patients*. *Cancer*, 2006. **106**(6): p. 1286-95.
20. Volante, M., et al., *Poorly differentiated thyroid carcinoma: the Turin proposal for the use of uniform diagnostic criteria and an algorithmic diagnostic approach*. *Am J Surg Pathol*, 2007. **31**(8): p. 1256-64.
21. Ibrahimipasic, T., et al., *Poorly Differentiated Carcinoma of the Thyroid Gland: Current Status and Future Prospects*. *Thyroid*, 2019. **29**(3): p. 311-321.
22. Sanders, E.M., Jr., et al., *An evidence-based review of poorly differentiated thyroid cancer*. *World J Surg*, 2007. **31**(5): p. 934-45.
23. Wendler, J., et al., *Clinical presentation, treatment and outcome of anaplastic thyroid carcinoma: results of a multicenter study in Germany*. *Eur J Endocrinol*, 2016. **175**(6): p. 521-529.
24. Bible, K.C., et al., *2021 American Thyroid Association Guidelines for Management of Patients with Anaplastic Thyroid Cancer*. *Thyroid*, 2021. **31**(3): p. 337-386.
25. Maniakas, A., M. Zafereo, and M.E. Cabanillas, *Anaplastic Thyroid Cancer: New Horizons and Challenges*. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2022. **51**(2): p. 391-401.
26. Pozdeyev, N., et al., *Genetic Analysis of 779 Advanced Differentiated and Anaplastic Thyroid Cancers*. *Clin Cancer Res*, 2018. **24**(13): p. 3059-3068.
27. Landa, I., et al., *Genomic and transcriptomic hallmarks of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancers*. *J Clin Invest*, 2016. **126**(3): p. 1052-66.
28. Prete, A., et al., *Poorly Differentiated and Anaplastic Thyroid Cancer: Insights into Genomics, Microenvironment and New Drugs*. *Cancers (Basel)*, 2021. **13**(13).
29. Koehler, N.Z., R., *Kompendium Internistische Onkologie. Standards in Diagnostik und Therapie.*, H.-J. Schmoll, Editor. 2020, Springer Berlin, Heidelberg: Heidelberg.
30. French, J.D., et al., *Leveraging the immune system to treat advanced thyroid cancers*. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017. **5**(6): p. 469-481.
31. Chakraborty, S., et al., *Disruption of Cell-Cell Communication in Anaplastic Thyroid Cancer as an Immunotherapeutic Opportunity*. *Adv Exp Med Biol*, 2021. **1350**: p. 33-66.
32. Herold, G., *Innere Medizin: Eine vorlesungsorientierte Darstellung*. 2022, Cologne. 766-768.
33. Mueller, M., *Chirurgie: Für Studium und Praxis*. 2022, Breisach am Rhein: Mueller, M.
34. Becker, H.G., B. M., *Allgemein- und Viszeralchirurgie II - Spezielle operative Techniken*. 3rd ed. 2015, München: Elsevier GmbH. 35-49.
35. Grawe, F., et al., *Course of Disease and Clinical Management of Patients with Poorly Differentiated Thyroid Carcinoma*. *Cancers (Basel)*, 2021. **13**(21).

36. Thiagarajan, S., et al., *Poorly differentiated thyroid carcinoma (PDTC) characteristics and the efficacy of radioactive iodine (RAI) therapy as an adjuvant treatment in a tertiary cancer care center*. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2020. **277**(6): p. 1807-1814.
37. Subbiah, V., et al., *Dabrafenib and Trametinib Treatment in Patients With Locally Advanced or Metastatic BRAF V600-Mutant Anaplastic Thyroid Cancer*. J Clin Oncol, 2018. **36**(1): p. 7-13.
38. Kim, J.H., et al., *Comparison of RECIST 1.0 and RECIST 1.1 in Patients with Metastatic Cancer: A Pooled Analysis*. J Cancer, 2015. **6**(4): p. 387-93.
39. Eisenhauer, E.A., et al., *New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1)*. Eur J Cancer, 2009. **45**(2): p. 228-47.
40. Zirlik, K.D., J., *Kompendium Internistische Onkologie. Standards in Diagnostik und Therapie.*, H.-J. Schmoll, Editor. 2020, Springer Berlin, Heidelberg.
41. Augustin, T., et al., *Radiation to the Primary Tumor in Metastatic Anaplastic Thyroid Cancer*. In Vivo, 2021. **35**(1): p. 461-465.
42. Augustin, T., et al., *Clinical Outcome and Toxicity in the Treatment of Anaplastic Thyroid Cancer in Elderly Patients*. J Clin Med, 2020. **9**(10).
43. Walczyk, A., et al., *Poorly differentiated thyroid cancer in the context of the revised 2015 American Thyroid Association Guidelines and the Updated American Joint Committee on Cancer/Tumor-Node-Metastasis Staging System (eighth edition)*. Clin Endocrinol (Oxf), 2019. **91**(2): p. 331-339.
44. Brose, M.S., et al., *Sorafenib in radioactive iodine-refractory, locally advanced or metastatic differentiated thyroid cancer: a randomised, double-blind, phase 3 trial*. Lancet, 2014. **384**(9940): p. 319-28.
45. Schlumberger, M., et al., *Lenvatinib versus placebo in radioiodine-refractory thyroid cancer*. N Engl J Med, 2015. **372**(7): p. 621-30.
46. Laursen, R., et al., *Effects and Role of Multikinase Inhibitors in Thyroid Cancer*. Curr Pharm Des, 2016. **22**(39): p. 5915-5926.
47. Ferrari, S.M., et al., *Novel treatments for anaplastic thyroid carcinoma*. Gland Surg, 2020. **9**(Suppl 1): p. S28-S42.
48. Abe, I. and A.K. Lam, *Anaplastic Thyroid Carcinoma: Current Issues in Genomics and Therapeutics*. Curr Oncol Rep, 2021. **23**(3): p. 31.
49. Zhao, Y., et al., *Lenvatinib for hepatocellular carcinoma: From preclinical mechanisms to anti-cancer therapy*. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2020. **1874**(1): p. 188391.
50. Ancker, O.V., et al., *Multikinase Inhibitor Treatment in Thyroid Cancer*. Int J Mol Sci, 2019. **21**(1).
51. Hernando, J., et al., *Clinical and Translational Challenges in Thyroid Cancer*. Curr Med Chem, 2020. **27**(29): p. 4806-4822.
52. Ferguson, H.R., M.P. Smith, and C. Francavilla, *Fibroblast Growth Factor Receptors (FGFRs) and Noncanonical Partners in Cancer Signaling*. Cells, 2021. **10**(5).
53. Sbiera, I., et al., *Role of FGF Receptors and Their Pathways in Adrenocortical Tumors and Possible Therapeutic Implications*. Front Endocrinol (Lausanne), 2021. **12**: p. 795116.

54. Ornitz, D.M. and N. Itoh, *The Fibroblast Growth Factor signaling pathway*. Wiley Interdiscip Rev Dev Biol, 2015. **4**(3): p. 215-66.
55. Itoh, N., *The Fgf families in humans, mice, and zebrafish: their evolutionary processes and roles in development, metabolism, and disease*. Biol Pharm Bull, 2007. **30**(10): p. 1819-25.
56. Lieu, C., et al., *Beyond VEGF: inhibition of the fibroblast growth factor pathway and antiangiogenesis*. Clin Cancer Res, 2011. **17**(19): p. 6130-9.
57. Repetto, M., et al., *Selective FGFR/FGF pathway inhibitors: inhibition strategies, clinical activities, resistance mutations, and future directions*. Expert Rev Clin Pharmacol, 2021. **14**(10): p. 1233-1252.
58. Itoh, N., H. Ohta, and M. Konishi, *Endocrine FGFs: Evolution, Physiology, Pathophysiology, and Pharmacotherapy*. Front Endocrinol (Lausanne), 2015. **6**: p. 154.
59. Gunda, V., et al., *Anti-PD-1/PD-L1 therapy augments lenvatinib's efficacy by favorably altering the immune microenvironment of murine anaplastic thyroid cancer*. Int J Cancer, 2019. **144**(9): p. 2266-2278.
60. Waldman, A.D., J.M. Fritz, and M.J. Lenardo, *A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice*. Nat Rev Immunol, 2020. **20**(11): p. 651-668.
61. Iwai, Y., et al., *Cancer immunotherapies targeting the PD-1 signaling pathway*. J Biomed Sci, 2017. **24**(1): p. 26.
62. Wei, S.C., C.R. Duffy, and J.P. Allison, *Fundamental Mechanisms of Immune Checkpoint Blockade Therapy*. Cancer Discov, 2018. **8**(9): p. 1069-1086.
63. Yi, M., et al., *Biomarkers for predicting efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors*. Mol Cancer, 2018. **17**(1): p. 129.
64. Brossart, P.G., V., Ochsenreither, S., *Kompendium Internistische Onkologie. Standards in Diagnostik und Therapie.*, H.-J. Schmoll, Editor. 2020, Springer Berlin, Heidelberg.
65. Han, Y., D. Liu, and L. Li, *PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer*. Am J Cancer Res, 2020. **10**(3): p. 727-742.
66. Hamanishi, J., et al., *PD-1/PD-L1 blockade in cancer treatment: perspectives and issues*. Int J Clin Oncol, 2016. **21**(3): p. 462-73.
67. Jiang, Y., et al., *PD-1 and PD-L1 in cancer immunotherapy: clinical implications and future considerations*. Hum Vaccin Immunother, 2019. **15**(5): p. 1111-1122.
68. Ramos-Casals, M., et al., *Immune-related adverse events of checkpoint inhibitors*. Nat Rev Dis Primers, 2020. **6**(1): p. 38.
69. Wang, Y., et al., *Treatment-Related Adverse Events of PD-1 and PD-L1 Inhibitors in Clinical Trials: A Systematic Review and Meta-analysis*. JAMA Oncol, 2019. **5**(7): p. 1008-1019.
70. Mai, K., et al., *The Diagnosis and Management of Endocrine Side Effects of Immune Checkpoint Inhibitors*. Dtsch Arztebl Int, 2021. **118**(Forthcoming): p. 389-96.
71. Kroiss, M., B. Schilling, and T. Deutschbein, *[Endocrine side effects of cancer immunotherapy]*. Dtsch Med Wochenschr, 2020. **145**(24): p. 1736-1741.

72. Dierks, C., et al., *The Lenvatinib/Pembrolizumab combination is an effective treatment option for anaplastic and poorly differentiated thyroid carcinoma*. *Thyroid*, 2020.
73. Rodriguez-Abreu, D., et al., *Pemetrexed plus platinum with or without pembrolizumab in patients with previously untreated metastatic nonsquamous NSCLC: protocol-specified final analysis from KEYNOTE-189*. *Ann Oncol*, 2021. **32**(7): p. 881-895.
74. Mehnert, J.M., et al., *Safety and antitumor activity of the anti-PD-1 antibody pembrolizumab in patients with advanced, PD-L1-positive papillary or follicular thyroid cancer*. *BMC Cancer*, 2019. **19**(1): p. 196.
75. Ott, P.A., et al., *T-Cell-Inflamed Gene-Expression Profile, Programmed Death Ligand 1 Expression, and Tumor Mutational Burden Predict Efficacy in Patients Treated With Pembrolizumab Across 20 Cancers: KEYNOTE-028*. *J Clin Oncol*, 2019. **37**(4): p. 318-327.
76. Chintakuntlawar, A.V., et al., *A Phase 2 Study of Pembrolizumab Combined with Chemoradiotherapy as Initial Treatment for Anaplastic Thyroid Cancer*. *Thyroid*, 2019. **29**(11): p. 1615-1622.
77. Reck, M., et al., *Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer*. *N Engl J Med*, 2016. **375**(19): p. 1823-1833.
78. Iwasaki, H., et al., *Lenvatinib vs. palliative therapy for stage IVC anaplastic thyroid cancer*. *Mol Clin Oncol*, 2020. **12**(2): p. 138-143.
79. Takahashi, S., et al., *Safety and Effectiveness of Lenvatinib in 594 Patients with Unresectable Thyroid Cancer in an All-Case Post-Marketing Observational Study in Japan*. *Adv Ther*, 2020. **37**(9): p. 3850-3862.
80. Dai, S., et al., *Fibroblast Growth Factor Receptors (FGFRs): Structures and Small Molecule Inhibitors*. *Cells*, 2019. **8**(6).
81. Yamazaki, H., et al., *Expression of fibroblast growth factor receptor 4 and clinical response to lenvatinib in patients with anaplastic thyroid carcinoma: a pilot study*. *Eur J Clin Pharmacol*, 2020. **76**(5): p. 703-709.
82. Capdevila, J., et al., *PD-1 Blockade in Anaplastic Thyroid Carcinoma*. *J Clin Oncol*, 2020. **38**(23): p. 2620-2627.
83. Makker, V., et al., *Lenvatinib plus Pembrolizumab for Advanced Endometrial Cancer*. *N Engl J Med*, 2022. **386**(5): p. 437-448.
84. Bedke, J., et al., *The 2021 Updated European Association of Urology Guidelines on Renal Cell Carcinoma: Immune Checkpoint Inhibitor-based Combination Therapies for Treatment-naïve Metastatic Clear-cell Renal Cell Carcinoma Are Standard of Care*. *Eur Urol*, 2021. **80**(4): p. 393-397.
85. Stuhler, V., et al., *Immune checkpoint inhibition for the treatment of renal cell carcinoma*. *Expert Opin Biol Ther*, 2020. **20**(1): p. 83-94.
86. Iyer, P.C., et al., *Salvage pembrolizumab added to kinase inhibitor therapy for the treatment of anaplastic thyroid carcinoma*. *J Immunother Cancer*, 2018. **6**(1): p. 68.
87. Girolami, I., et al., *Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) Is a Potential Biomarker of Disease-Free Survival in Papillary Thyroid Carcinoma: a Systematic Review and Meta-Analysis of PD-L1 Immunoexpression in Follicular Epithelial Derived Thyroid Carcinoma*. *Endocr Pathol*, 2020. **31**(3): p. 291-300.

88. Fadia, M., et al., *PD-L1 expression in papillary thyroid cancer with and without lymphocytic thyroiditis: a cross sectional study*. *Pathology*, 2020. **52**(3): p. 318-322.
89. Cameselle-Garcia, S., et al., *PD-L1 expression and immune cells in anaplastic carcinoma and poorly differentiated carcinoma of the human thyroid gland: A retrospective study*. *Oncol Lett*, 2021. **22**(1): p. 553.
90. Bastman, J.J., et al., *Tumor-Infiltrating T Cells and the PD-1 Checkpoint Pathway in Advanced Differentiated and Anaplastic Thyroid Cancer*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016. **101**(7): p. 2863-73.
91. Zwaenepoel, K., et al., *CD70 and PD-L1 in anaplastic thyroid cancer - promising targets for immunotherapy*. *Histopathology*, 2017. **71**(3): p. 357-365.
92. Rosenbaum, M.W., et al., *PD-L1 and IDO1 Are Expressed in Poorly Differentiated Thyroid Carcinoma*. *Endocr Pathol*, 2018. **29**(1): p. 59-67.
93. Doroshov, D.B., et al., *PD-L1 as a biomarker of response to immune-checkpoint inhibitors*. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021. **18**(6): p. 345-362.
94. Huang, M.Y., et al., *Combination therapy with PD-1/PD-L1 blockade in non-small cell lung cancer: strategies and mechanisms*. *Pharmacol Ther*, 2021. **219**: p. 107694.
95. Ferris, R.L. and L. Licitra, *PD-1 immunotherapy for recurrent or metastatic HNSCC*. *Lancet*, 2019. **394**(10212): p. 1882-1884.
96. *Pembrolizumab beim Mammakarzinom: Signifikante Verbesserung*. *Dtsch Arztebl International*, 2020. **117**: p. 33-34.
97. Schildhaus, H.U., *[Predictive value of PD-L1 diagnostics]*. *Pathologe*, 2018. **39**(6): p. 498-519.
98. St Bernard, R., et al., *Fibroblast growth factor receptors as molecular targets in thyroid carcinoma*. *Endocrinology*, 2005. **146**(3): p. 1145-53.
99. Pearson, A., et al., *High-Level Clonal FGFR Amplification and Response to FGFR Inhibition in a Translational Clinical Trial*. *Cancer Discov*, 2016. **6**(8): p. 838-851.
100. Schuler, M., et al., *Rogaratnib in patients with advanced cancers selected by FGFR mRNA expression: a phase 1 dose-escalation and dose-expansion study*. *Lancet Oncol*, 2019. **20**(10): p. 1454-1466.
101. Sanchez-Guixe, M., et al., *High FGFR1-4 mRNA Expression Levels Correlate with Response to Selective FGFR Inhibitors in Breast Cancer*. *Clin Cancer Res*, 2022. **28**(1): p. 137-149.
102. Jain, A., et al., *Cholangiocarcinoma With FGFR Genetic Aberrations: A Unique Clinical Phenotype*. *JCO Precis Oncol*, 2018. **2**: p. 1-12.
103. Goyal, L., et al., *Futibatinib for FGFR2-Rearranged Intrahepatic Cholangiocarcinoma*. *N Engl J Med*, 2023. **388**(3): p. 228-239.
104. Redler, A., et al., *Fibroblast growth factor receptor-2 expression in thyroid tumor progression: potential diagnostic application*. *PLoS One*, 2013. **8**(8): p. e72224.
105. Buccitelli, C. and M. Selbach, *mRNAs, proteins and the emerging principles of gene expression control*. *Nat Rev Genet*, 2020. **21**(10): p. 630-644.

106. Kang, Y.E., et al., *Association between Circulating Fibroblast Growth Factor 21 and Aggressiveness in Thyroid Cancer*. *Cancers (Basel)*, 2019. **11**(8).
107. Broecker-Preuss, M., et al., *Expression and mutation analysis of the tyrosine kinase c-kit in poorly differentiated and anaplastic thyroid carcinoma*. *Horm Metab Res*, 2008. **40**(10): p. 685-91.
108. Huang, S.M., et al., *Clinical relevance of vascular endothelial growth factor for thyroid neoplasms*. *World J Surg*, 2001. **25**(3): p. 302-6.
109. Yamamoto, Y., et al., *Lenvatinib, an angiogenesis inhibitor targeting VEGFR/FGFR, shows broad antitumor activity in human tumor xenograft models associated with microvessel density and pericyte coverage*. *Vasc Cell*, 2014. **6**: p. 18.
110. Yamazaki, H., et al., *Expression of vascular endothelial growth factor receptor 2 and clinical response to lenvatinib in patients with anaplastic thyroid cancer*. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2018. **82**(4): p. 649-654.
111. Ferrari, S.M., et al., *Vandetanib has antineoplastic activity in anaplastic thyroid cancer, in vitro and in vivo*. *Oncol Rep*, 2018. **39**(5): p. 2306-2314.
112. Ferrari, S.M., et al., *Sunitinib in the Treatment of Thyroid Cancer*. *Curr Med Chem*, 2019. **26**(6): p. 963-972.
113. Wu, J.T., et al., *Potential synergistic effects of sorafenib and CP-31398 for treating anaplastic thyroid cancer with p53 mutations*. *Oncol Lett*, 2020. **19**(4): p. 3021-3026.
114. Kim, S.Y., et al., *Synergistic anticancer activity of sorafenib, paclitaxel, and radiation therapy on anaplastic thyroid cancer in vitro and in vivo*. *Head Neck*, 2020. **42**(12): p. 3678-3684.
115. Bible, K.C., et al., *A multiinstitutional phase 2 trial of pazopanib monotherapy in advanced anaplastic thyroid cancer*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012. **97**(9): p. 3179-84.
116. Mo, D.C., et al., *Safety and efficacy of pembrolizumab plus lenvatinib versus pembrolizumab and lenvatinib monotherapies in cancers: A systematic review*. *Int Immunopharmacol*, 2021. **91**: p. 107281.
117. Taylor, M.H., et al., *Phase IB/II Trial of Lenvatinib Plus Pembrolizumab in Patients With Advanced Renal Cell Carcinoma, Endometrial Cancer, and Other Selected Advanced Solid Tumors*. *J Clin Oncol*, 2020. **38**(11): p. 1154-1163.
118. Zhang, G.Q., et al., *Interleukin 6 regulates the expression of programmed cell death ligand 1 in thyroid cancer*. *Cancer Sci*, 2021. **112**(3): p. 997-1010.
119. Wang, Y., Z. Hou, and D. Li, *Long noncoding RNA UCA1 promotes anaplastic thyroid cancer cell proliferation via miR-135a-mediated c-myc activation*. *Mol Med Rep*, 2018. **18**(3): p. 3068-3076.
120. Jiang, W., et al., *The role of lncRNAs and circRNAs in the PD-1/PD-L1 pathway in cancer immunotherapy*. *Mol Cancer*, 2021. **20**(1): p. 116.
121. Gray, K.D., et al., *PD1 Blockade Enhances ICAM1-Directed CAR T Therapeutic Efficacy in Advanced Thyroid Cancer*. *Clin Cancer Res*, 2020. **26**(22): p. 6003-6016.

122. Geiger, J., et al., *Hospital-integrated Biobanking as a Service – The Interdisciplinary Bank of Biomaterials and Data Wuerzburg (ibdW)*. Open Journal of Bioresources, 2018. **5**.

I. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ATA	American Thyroid Association,
ATC	Anaplastisches Schilddrüsenkarzinom Schlecht differenziertes Schilddrüsenkarzinom
ALK	Anaplastische Lymphomkinase
APC	Antigen-präsentierende Zelle
(B)RAF	Rapidly Accelerated Fibrosarcoma B
CD	Cluster of Differentiation
CEA	Carcinoembryonales Antigen
CR	Complete Remission, komplette Remission
CTLA4	Cytotoxic T-lymphocyte-associated Protein 4
CTx	Chemotherapie
DSS	Disease Specific Survival
DTC	Differenziertes Schilddrüsenkarzinom
EBRT	External beam radiotherapy, externe lokale Bestrahlung
ED	Erstdiagnose
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
EMA	European Medicines Agency
FGFR	Fibroblast Growth Factor Receptor
FTC	Follikuläres Schilddrüsenkarzinom
ICI	Immunecheckpointinhibitor
IHC	Immunhistochemie
(c-)KIT	Tyrosin-Proteinkinase; Proto-Onkogen
LEN	Lenvatinib
MAPK	Mitogen-aktivierte Protein-Kinase
MHC	Major Histocompatibility Complex
mRNA	messenger RNA
MTC	Medulläres Schilddrüsenkarzinom
NIS	Natrium-Jodid-Symporter
NT	Normal Thyroid, normales Schilddrüsengewebe
OP	Operation
OS	Overall Survival, Gesamtüberleben
PAX8	Paired-Box-Protein 8
PD	Progressive Disease, progressive Erkrankung
PDGFR	Platelet-Derived Growth Factor Receptor

PDTC	Poorly Differentiated Thyroid Carcinoma, Gering differenziertes Schilddrüsenkarzinom
PD-1	Programmed Death-1
PD-L1	Programmed Death-Ligand 1
PEM	Pembrolizumab
PFS	Progression Free Survival, progressionsfreies Überleben
PR	Partial Remission, partielle Remission
PTC	Papilläres Schilddrüsenkarzinom
RAS	Rat Sarcoma
RET	Rearranged During Transfection
RIT	Radiojodtherapie
R(-Status)	Resektions-Status
Rx	Radiatio, Strahlentherapie
SD	Stable Disease, stabile Erkrankung
T ₃	Trijodthyronin
T ₄	Tetraiodthyronin, Thyroxin
TAM	Tumorassoziierter Makrophage
TC	Thyroid Cancer, Schilddrüsenkarzinom
TIL	Tumorinfiltrierender Lymphozyt
TKI	Tyrosinkinaseinhibitor
TMB	Tumor Mutational Burden, Tumormutationslast
TME	Tumor Microenvironment, Tumormikroumgebung
TNM	Tumor, Node (Lymphknoten), Metastasis Zur TNM-Klassifikation maligner Tumoren
TPS	Tumor Proportion Score
Treg	regulatorische T-Zelle
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
UKW	Universitätsklinikum Würzburg
VEGFR	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor
WHO	World Health Organisation

II. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:	Einteilung der Schilddrüsenkarzinome und ihre Prävalenzen.....	3
Abbildung 2:	Zunahme der Mutationslast in Schilddrüsenkarzinomen ausgehend von normalem Schilddrüsengewebe (Follikelepithelzelle) bis hin zum ATC 4	
Abbildung 3:	Pathologischer Diagnose-Algorithmus für das PDTC.....	6
Abbildung 4:	Vorgehen bei postoperativer Diagnose eines differenzierten Schilddrüsenkarzinoms (DTC)	15
Abbildung 5:	Therapie-Algorithmus bei Diagnose eines ATC im UICC-Stadium IVC	18
Abbildung 6:	Inhibition verschiedener Signalwegs durch die zur Therapie von TC angewandten TKIs.....	22
Abbildung 7:	Wirkmechanismen von LEN in TC und TME.....	23
Abbildung 8:	Einfluss der Bindung von PD-1 an seinen Liganden PD-L1 auf das TME	25
Abbildung 9:	Repräsentative IHC-Färbung von membranständigem PD-L1 in ganzen ATC-FFPE-Schnitten	41
Abbildung 10:	Vergleich der PD-L1-Expression in ATC- oder PDTC- mit PTC- oder normalem Schilddrüsen (normal thyroid, NT-) Gewebe.....	41
Abbildung 11:	FGFR1-Färbung ganzer PDTC-FFPE-Schnitte mittels mRNA <i>in situ</i> Hybridisierung.....	42
Abbildung 12:	FGFR1-Expression in ATC, PDTC, PTC und NT	43
Abbildung 13:	FGFR2-Expression in ATC, PDTC, PTC und NT	44
Abbildung 14:	FGFR3-Expression in ATC, PDTC, PTC und NT	45
Abbildung 15:	FGFR4-Expression in ATC, PDTC, PTC und NT	45
Abbildung 16:	panFGFR-Expression in ATC, PDTC, PTC und NT	46
Abbildung 17:	Swimmer-Diagramm mit PFS unter PEM oder LEN + PEM.....	49
Abbildung 18:	Kaplan-Meier-Kurven der DSS der PatientInnen entsprechend der PD-L1-Expression.....	53

III. TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Häufigkeiten somatischer Mutationen und Gen-Fusionen in ATC und PDTC	9
Tabelle 2: UICC-Klassifikation für DTC und PDTC in 8. Auflage, 2017 [17].....	12
Tabelle 3: UICC-Klassifikation des anaplastischen Schilddrüsenkarzinoms in 8. Auflage, 2017 [17]	12
Tabelle 4: TNM-Klassifikation in 8. Auflage, 2017 [17]	13
Tabelle 5: Geräte und Software.....	31
Tabelle 6: Verbrauchsmaterialien.....	31
Tabelle 7: Puffer, Lösungen und Reagenzien.....	32
Tabelle 8: Kits	32
Tabelle 9: Klinische Charakteristika der ATC- und PDTC-Kohorte	37
Tabelle 10: Tumorthherapie der ATC- und PDTC-Kohorte.....	39
Tabelle 11: Systemtherapie der ATC- und PDTC-Kohorte.....	40
Tabelle 12: Expression von FGFR1-4 mRNA in mRNA/Zelle mittels RNA Scope sowie Summe der FGFR1-4 Expression (panFGFR).....	43
Tabelle 13: Prognosefaktoren beim ATC und PDTC mit univariater (log-rank-Test) und multivariater Analyse (Cox Regression).....	51

IV. DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt an erster Stelle Herrn Prof. Dr. Dr. Matthias Kroiß. Durch die von ihm ins Leben gerufene Studiengruppe konnte dieses Projekt realisiert werden. Deshalb danke ich für die Möglichkeit der Erstellung einer Doktorarbeit auf dem Gebiet der Endokrinologie, die immer vorhandene hilfsbereite und unermüdliche Unterstützung im experimentellen und theoretischen Bereich sowie für die exzellente Betreuung und Förderung. Vor allem dankbar bin ich für die weitere Zusammenarbeit und das Mentoring über die Doktorarbeit hinaus.

Zudem danke ich herzlich dem Team des endokrinologischen Forschungslabors unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Martin Fassnacht, insbesondere Herrn Dr. Iuliu Sbiera, für die gute Einarbeitung und Unterstützung in experimentellen Fragen. Ich danke Herrn Dr. Stefan Kircher für seinen Beitrag hinsichtlich der pathologischen Thematik und dem Team des IHC-Labors des Instituts für Pathologie für die Durchführung zahlreicher Färbungen. Diese Arbeit wurde in Zusammenarbeit mit der Interdisziplinären Biomaterial- und Datenbank des Universitätsklinikums Würzburg und der Universität Würzburg (IBDW) erstellt [122].

Ein großer Dank gilt den Mitgliedern der „Studiengruppe für seltene Tumoren der Schilddrüse und Nebenschilddrüsen“, ohne die solch großen Kohorten nicht möglich gewesen wären. Insbesondere danke ich Christine Spitzweg, Viktoria Köhler, Wiebke Fenske, Benjamin Sandner, Andreas Zielke, Constantin Smaxwil, Matthias Schott und Stephanie Allelein.

Des Weiteren danke ich Bianca Schlierf, Nathalie Schwenk, Martina Zink, Ramona Walter und Johanna Vogt, die mich am Uniklinikum Würzburg und am Klinikum der Universität München am Standort Großhadern bei der Datenakquise und Tumorblockverwaltung tatkräftig unterstützt haben.

Abschließend danke ich von ganzem Herzen meinen Eltern für die uneingeschränkte Unterstützung, konstruktive Kritik und weisen Ratschläge bei all meinen Vorhaben.

V. VERÖFFENTLICHUNGEN UND KONGRESSTEILNAHMEN

Veröffentlichungen

V. F. Köhler, **P. Adam**, C. T. Fuss, et al.: Treatment of RET-positive advanced medullary thyroid cancer with multi-tyrosine kinase inhibitors – A retrospective multi-center registry analysis (Cancers (Basel).2022 Jul 13;14(14):3405)

V. F. Köhler, E. Berg, **P. Adam**, et al.: Real world efficacy and safety of multi-tyrosine kinase inhibitors in radioiodine refractory thyroid cancer (Thyroid. 2021 Oct;31(10):1531-1541)

P. Adam, S. Kircher, I. Sbiera, et al.: FGF-receptors and PD-L1 in anaplastic and poorly differentiated thyroid carcinoma – Evaluation of the preclinical rationale (Front Endocrinol (Lausanne). 2021 Aug 12;(12):712107)

V. F. Köhler, **P. Adam**, K. Frank-Raue, et al.: Real-world efficacy and safety of cabozantinib and vandetanib in advanced medullary thyroid cancer (Thyroid. 2021 Mar;31(3):459-469)

Kongressteilnahmen im Zusammenhang mit dieser Arbeit

04.10.-06.10.2019:	YARE 2019, Essen
04.03.-06.03.2020:	63. Deutscher Kongress für Endokrinologie, Gießen
27.11.2020:	Jahrestagung der Sektion Schilddrüse 2020, online