



Praxis für Pathologie

Dr. med. Simon Savin
info@pathologie-savin.de

Immuntherapeutische Strategie beim fortgeschrittenen Urothelkarzinom

Einführung

Ca. 25% aller Harnblasenkarzinome sind bei Erstdiagnose bereits muskelinvasiv (pT2) und haben mit einer relativ hohen Wahrscheinlichkeit zum Zeitpunkt der Diagnose bereits metastasiert.

Seit ca. 30 Jahren gab es bei dieser prognostisch ungünstigen Tumorkonstellation kaum Fortschritte in der Therapie, die zudem uneinheitlich und oft nicht adäquat aggressiv durchgeführt wird (Gray et al., 2013).

Vor diesem Hintergrund wird seit je her an der Entwicklung neuer Therapiestrategien für das Harnblasenkarzinom gearbeitet.

Eine **hohe genetische Instabilität** mit einer **großen Zahl somatischer Mutationen** kann zu neuen Proteinmotiven führen, welche als **Fremd-Antigene (Neoantigene)** präsentiert werden können und eine **oft intensive Immunreaktion auslösen können**.

Dies hat zur **Entwicklung immun-therapeutischer Ansätze** geführt, wie sie insbesondere beim **malignen Melanom, dem NSCLC und dem Nierenzellkarzinom** bereits zur Anwendung kommen und **seit kurzem** auch beim **Urothelkarzinom** in Studien getestet werden.

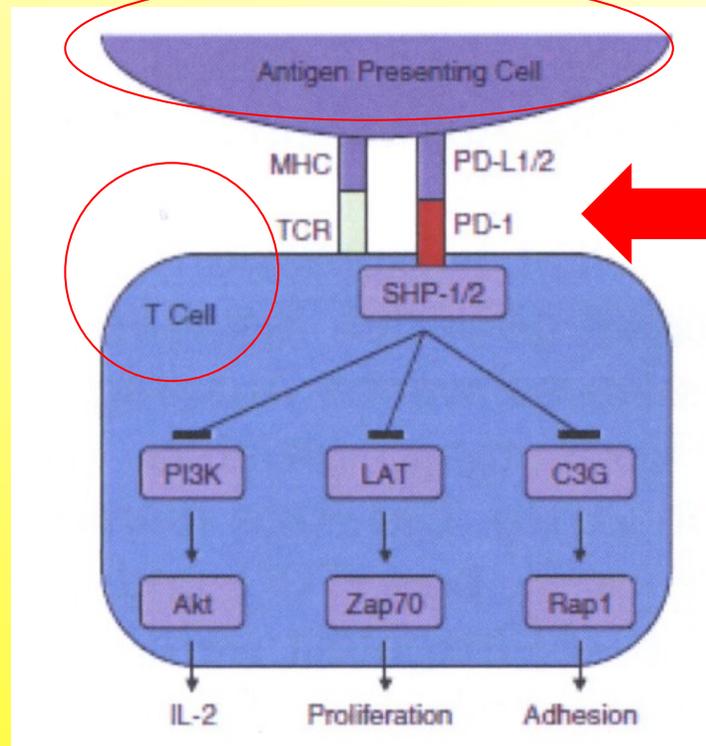
Entscheidend waren hierfür die **Studien von Powels et al.** (Powels et al., Nature 2014) welche die **Schnellzulassung** des Antikörpers MPDL3280A durch die **FDA im Juni 2014** bewirkte und die **IMvigor210-Studie von Rosenberg et al.** (**Atezolizumab „PDL-1-Inhitor“**, SP142, Rosenberg et al., Lancet 2016).

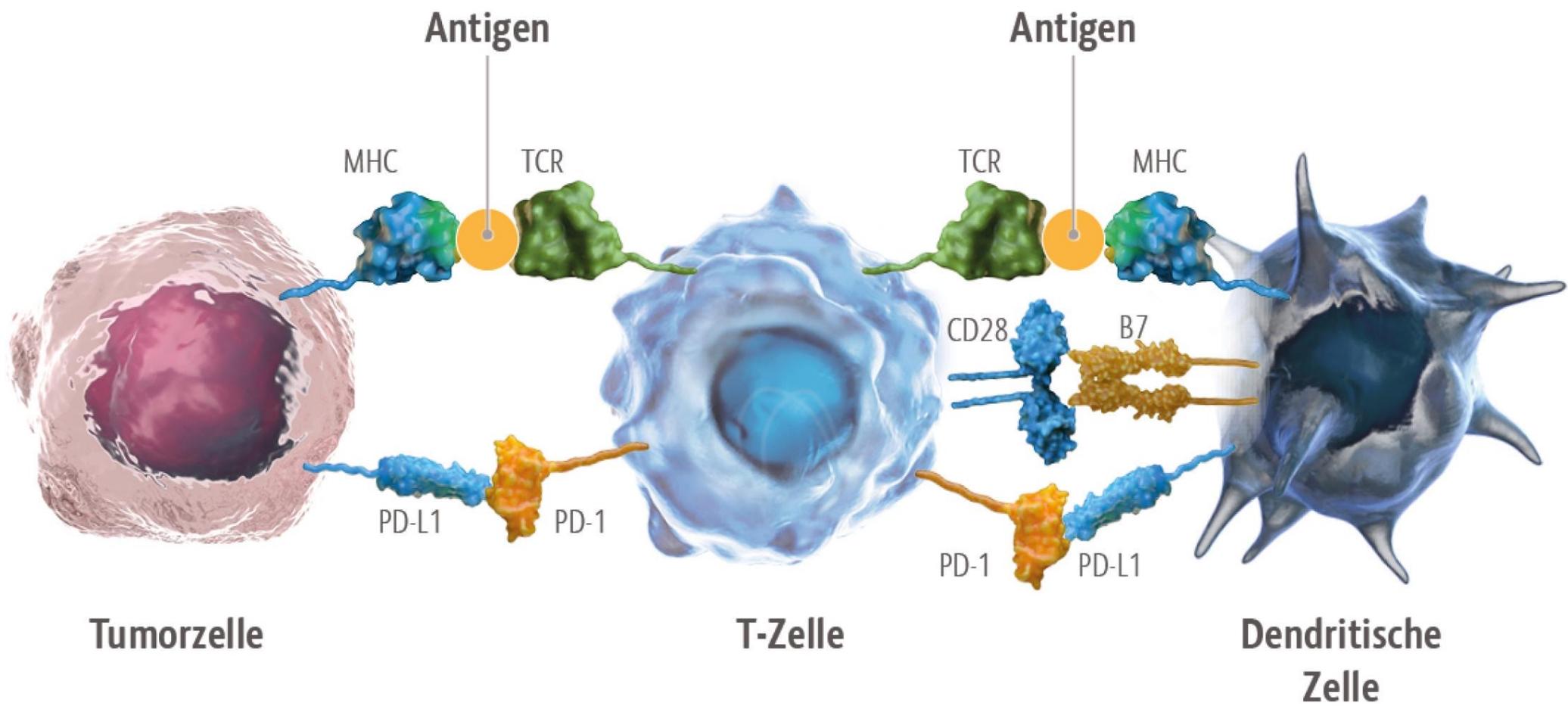
Inoperable, lokal fortgeschrittene oder metastasierte Urothelkarzinome mit **Progress nach platinhaltiger Chemotherapie** **zeigten** dort **bei erhöhter PD-L1 Expression von Immunzellen im Stroma** (102/3 \geq 5%, SP142) eine objektive **Ansprechrate von 26%** mit einem medianen follow up von **11,7 Monaten** und **fortbestehendem Ansprechen von 38 von 45 Patienten (84%)**.

Immunregulation bei PD-1 und PDL-1 (Programmierter Zelltod)

Was sind PD-1 und PDL-1?

Programmierter Zelltod 1 (PD1) ist ein Zelloberflächenrezeptor, der auf zytotoxischen T-Zellen und Pro-B-Zellen exprimiert wird und an seine kognaten (Verwandt) Liganden PD-L1 und PD-L2 bindet, die auf Makrophagen, Epithelzellen und anderen normalen Zellen exprimiert werden.





Welche Aufgaben haben die PD-1 und PDL-1?

Unter normalen physiologischen Bedingungen führt die Wechselwirkung zwischen PD1 und PD-L1 zu spezifischen Konformationsänderungen, die normalen Zellen vor der Immunerkennung schützen und die anschließende Zerstörung durch zytotoxische T-Zellen hemmen, die sonst zu einem Zustand der Autoimmunität führen würden.

Als Folge dieser Hemmung werden reaktive T-Zellen durch Signalwege erschöpft, die zu einer Kombination von Einstellung der Teilung und Proliferation und programmierter Zelltod oder Apoptose führen.

Was haben damit Tumorzellen zu tun?

Bestimmte Neoplasien haben Mechanismen entwickelt, um dieser Immunüberwachung zu entgehen, indem sie die PD-L1-Expression auf der Oberfläche von neoplastischen Zellen hochregulieren, so dass ihre PD-L1-Rezeptoren an das PD1-Ligand auf aktivierten T-Zellen binden und diese letztlich inaktivieren und einer klonalen Erschöpfung unterwerfen können.

Auf diese Weise können die neoplastischen Zellen diesem sogenannten "Immun-Checkpoint" entkommen und ungehindert weiter proliferieren.

Auf diesem Grundwissen unter anderen ist die Krebs-Immuntherapie entstanden

In den letzten Jahren hat sich die Krebsimmuntherapie auf die Entwicklung einer neuen Generation von **Immuntherapie-Agenzien** konzentriert, die **spezifisch die Wechselwirkung zwischen Tumorzellen und dem Immunsystem blockieren**, bekannt als **Immun-Checkpoint-Inhibitoren**, von denen die **PD1/PD-L1-Achse nur ein Ziel ist**; **andere Ziele von Interesse sind** zytotoxisches T-Lymphozyten-assoziiertes Protein 4, Lymphozyten-Aktivierungs-Gen 3 und Killer-Zell-Immunoglobulin-ähnlicher Rezeptor.

Welche zugelassene Wirkstoffe auf dem Markt sind?

1. Zwei (Nivolumab und Pembrolizumab) humanisierte IgG-Monoklonale Antikörper sind, die gegen den PD-1-Rezeptor gerichtet sind.
2. Drei (Atezolizumab, Durvalumab und Avelumab) humanisierte IgG-Monoklonale Antikörper sind, die gegen den PD-L1-Rezeptor gerichtet sind.

Jeder dieser Wirkstoffe bindet an ein anderes Epitop auf ihrem jeweiligen Ziel und hat daher ein unterschiedliches immunogenes Profil und, daraus folgend, seinen eigenen dynamischen Bereich.

1. Anti-PD-1-Rezeptor (Nivolumab und Pembrolizumab)

Immunregulative Checkpoint-Moleküle wie PD-1 sind für die Limitierung einer dauerhaften T-Zell-Aktivierung verantwortlich und schützen den Körper im Normalfall vor überschießenden Immunreaktionen und einer Zerstörung von gesundem Gewebe.

Ähnlich wie der Immun-Checkpoint-Rezeptor CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte associated Protein 4) wird der PD-1-Rezeptor auf T-Zellen exprimiert. Spezifische Liganden auf der Tumorzelle wie PD-L1 und PD-L2 (Programmed Death-Ligand 1 und 2), die mit dem PD-1-Rezeptor interagieren, bewirken eine T-Zell-Inaktivierung bzw. reduzierte T-Zell-Proliferation, die zum Immune-Escape führen.

PD-1-Immun-Checkpoint-Inhibition

Nivolumab ermöglicht eine therapeutische PD-1-Immun-Checkpoint-Inhibition:

Durch die Bindung an PD-1 auf aktivierten T-Zellen inhibiert Nivolumab die Interaktion von PD-1 mit seinen Liganden PD-L1 oder PD-L2 (Programmed Death-Ligand 1 oder 2) auf Tumorzellen.

Die PD-1-vermittelte Immunbremse wird so gelöst und die antitumorale Immunantwort kann reaktiviert werden.

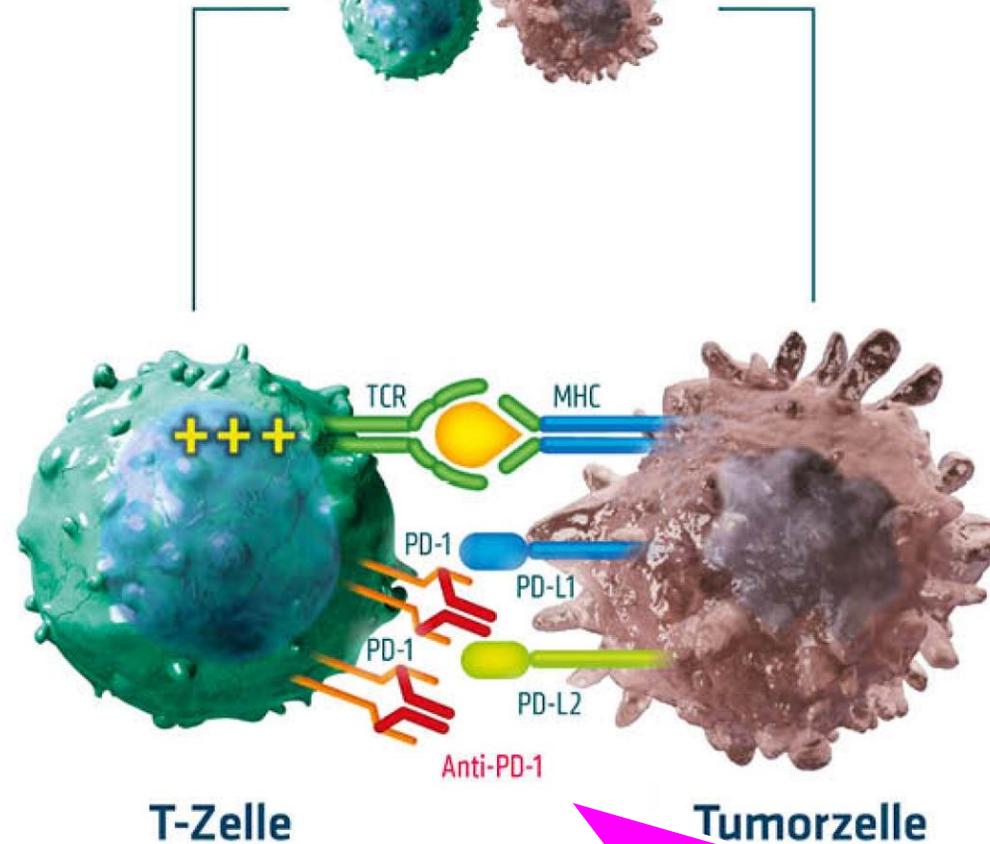
Es besteht kein Interessenkonflikt

Mikroumgebung des Tumors



Reaktivierung der T-Zellen

Durch den Eingriff in den PD-1 Signalweg reaktiviert Nivolumab (OPDIVO[®]) T-Zellen und ist vor allem für die späte Effektorphase der T-Zellen in der direkten Mikroumgebung des Tumors zuständig.



PD-1-Signalweg

PD-1-Blockade führt zum Schutz der T-Zelle vor einem Angriff durch den Tumor.

Reaktivierung der T-Zellen

Durch den Eingriff in den PD-1 Signalweg reaktiviert Nivolumab T-Zellen und ist vor allem für die späte Effektorphase der T-Zellen in der direkten Mikroumgebung des Tumors zuständig.

Wirkmechanismus OPDIVO®+YERVOY®

OPDIVO® (Nivolumab) und YERVOY® (Ipilimumab) sind humane monoklonale und hochspezifische Immunglobulin(Ig)-Antikörper: Der IgG4-Antikörper Nivolumab blockiert das transmembranöse Rezeptormolekül PD-1 (Programmed Death-1), der IgG1κ-Antikörper Ipilimumab ist gegen den Rezeptor CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4) gerichtet.

Kluges immunologisches Zusammenspiel

Die Kombinationstherapie von OPDIVO®+YERVOY® zeigt das Potenzial sich ergänzender Signalwege bei der immunonkologischen Krebsbehandlung: Beide Checkpoint-Inhibitoren **verstärken die körpereigene T-Zell-vermittelte**, gegen den Tumor gerichtete Immunantwort (s. Abbildung).

Durch die Bindung an den PD-1-Rezeptor auf aktivierten T-Zellen **inhibiert** OPDIVO® die Interaktion von PD-1 **mit seinen Liganden PD-L1 oder PD-L2 auf Tumorzellen**.

Die **PD-1-vermittelte Immunbremse** wird so gelöst und die **antitumorale Immunantwort kann reaktiviert werden**. YERVOY® kann den **CTLA-4-Signalweg inhibieren**, wodurch die T-Zellen mobilisiert und eine **Immunantwort zur Bekämpfung der Krebszellen ermöglicht** wird.

Reaktivierung der T-Zellen

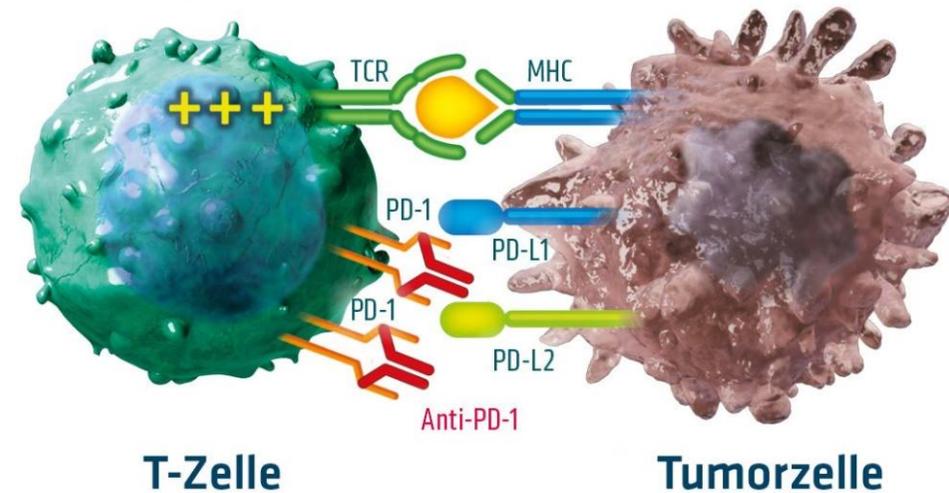
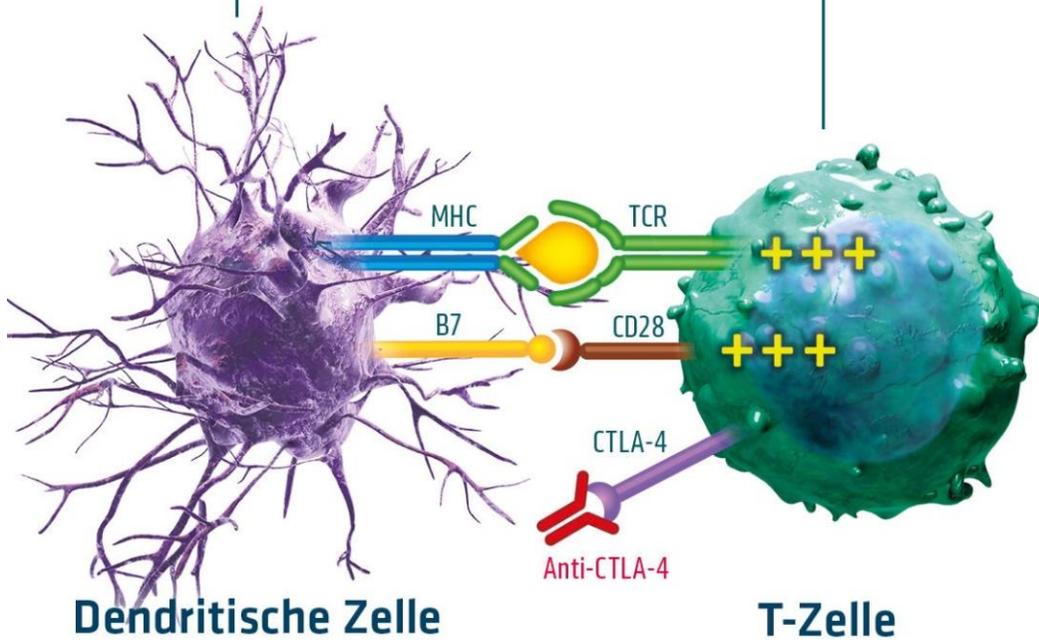
Durch den Eingriff in den PD-1 Signalweg reaktiviert OPDIVO® T-Zellen und ist vor allem für die **späte Effektorphase** der T-Zellen in der direkten Mikroumgebung des Tumors zuständig. YERVOY® kann als CTLA-4-Inhibitor **bereits in der frühen Phase der Aktivierung und Proliferation der T-Zellen im Lymphknoten** wirken.

Lymphknoten



Aktivierung
(Zytokine, Lyse, Prolifera-
tion, Migration zum Tumor)

Mikroumgebung des Tumors



CTLA-4-Signalweg

CTLA-4-Blockade führt in den Lymphknoten zur Aktivierung der T-Zellen. Der Körper kann ein immunologisches Gedächtnis ausbilden.

PD-1-Signalweg

PD-1-Blockade führt zum Schutz der T-Zelle vor einem Angriff durch den Tumor.

•PD-L1 inhibiert T-Zell-Priming (aktivieren) und

Tumorerkennung

2. Anti-PDL-1-Rezeptor

•*Der Krebsimmunzyklus*

•PD-L1/PD-1 Inhibition

•T-Zell-
•Priming

•Antigen-
Präsentation

•Freisetzung von
Tumor-Antigenen

•T-Zelle

•4
•Traffic von T-
Zellen zum Tumor

•5
•Infiltration von T-
Zellen in den Tumor

•6
•T-Zellen erkennen
•Tumorzellen

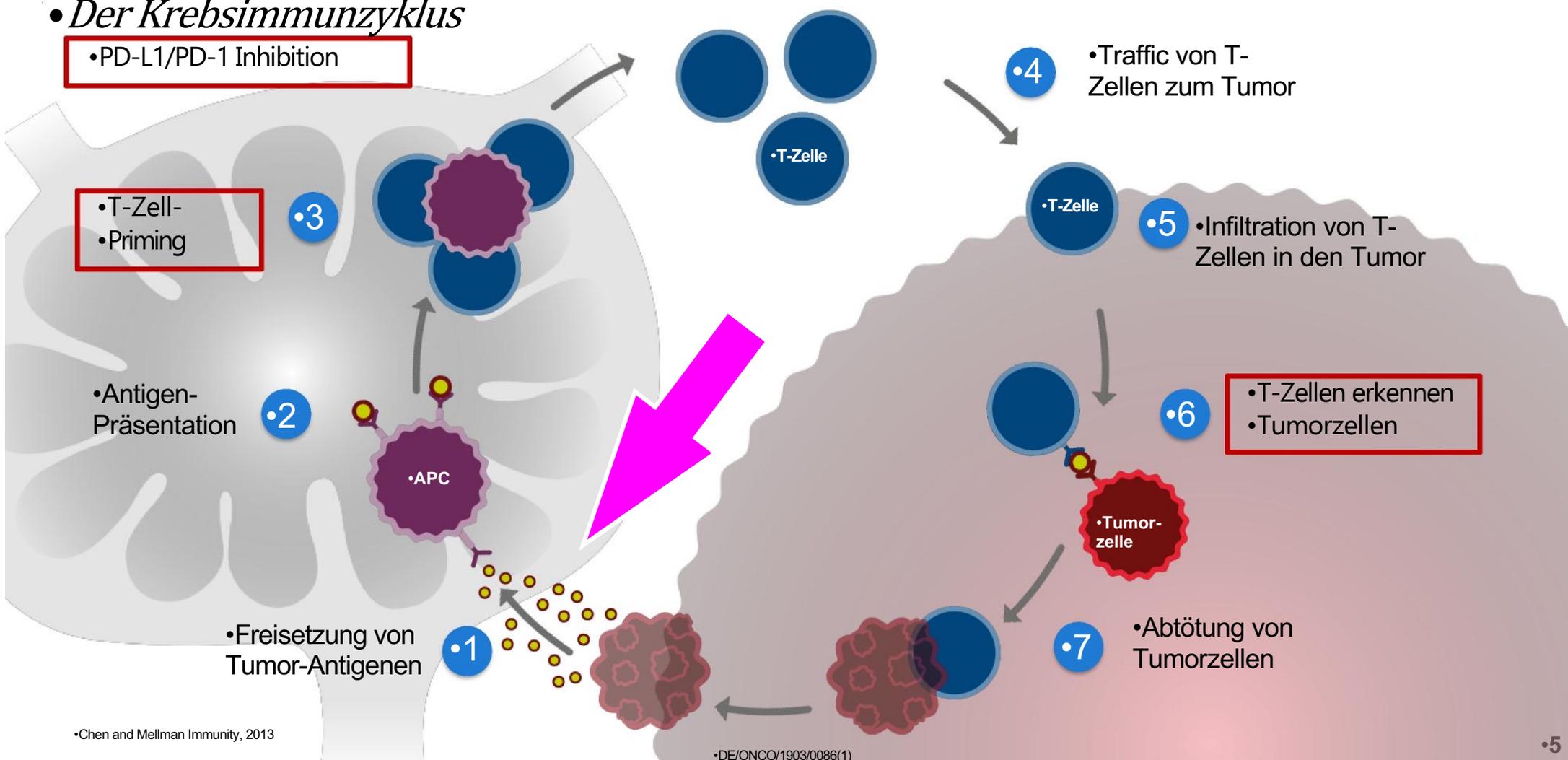
•7
•Abtötung von
Tumorzellen

•Chen and Mellman Immunity, 2013

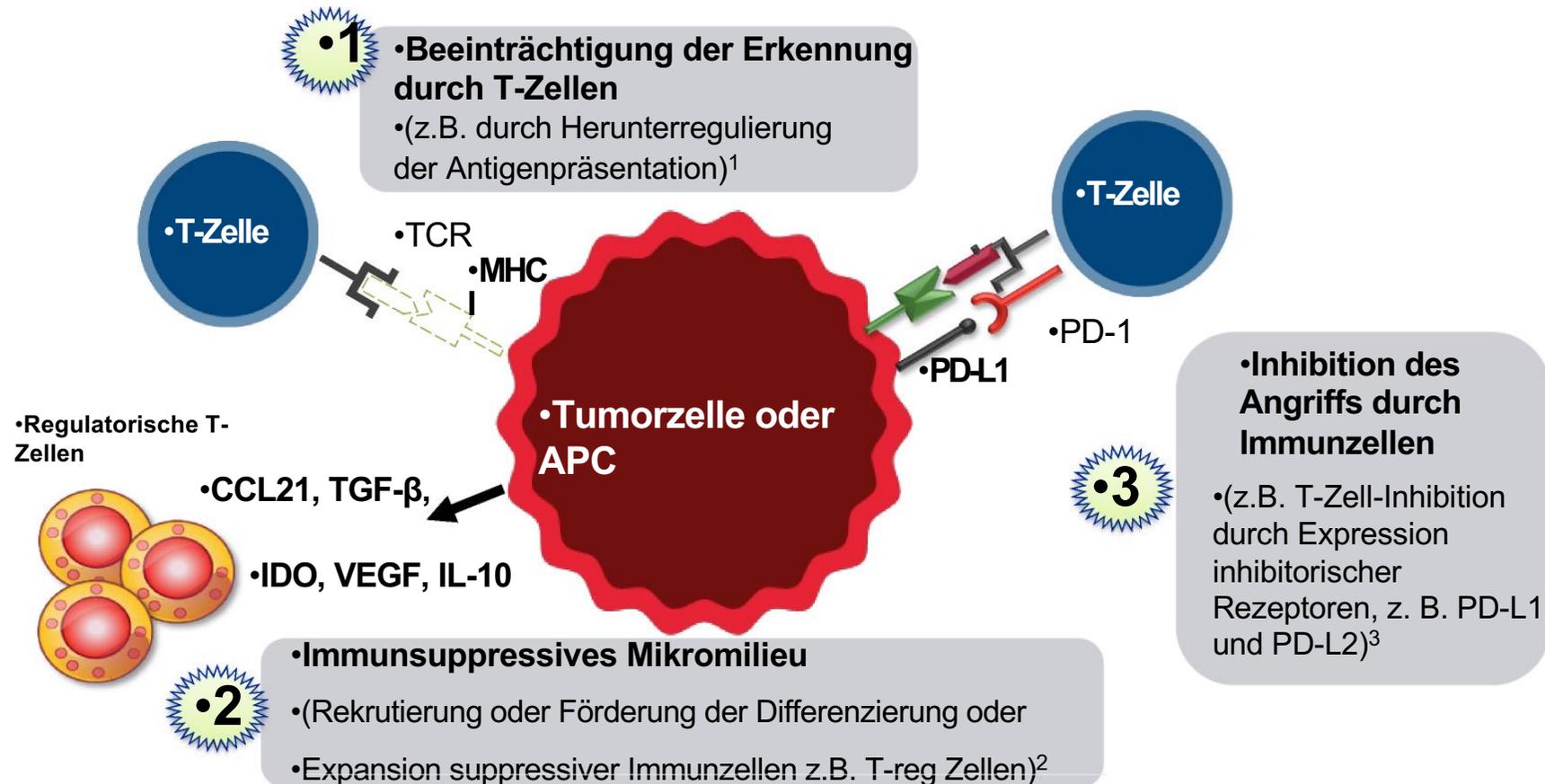
•DE/ONCO/1903/0086(1)

•5

Die physiologische **Aktivierung zytotoxischer T-Zellen** erfolgt über die Bindung des Antigen-präsentierenden MHC Komplexes einer Antigen-präsentierenden Zelle (APC)



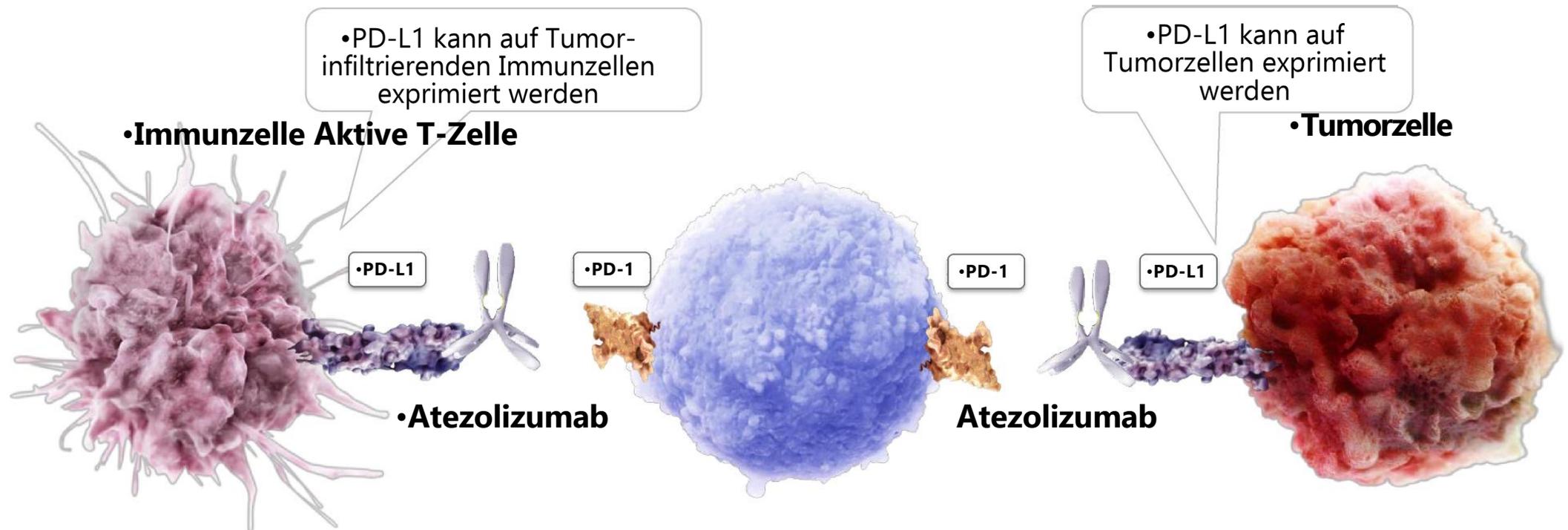
•Tumorzellen nutzen verschiedene Mechanismen, um dem Immunsystem zu entgehen



•1. Topfer, et al. 2011. 2. Nurieva, et al. 2013. 3. Mellman, et al. 2011.

Mache Tumoren können das Immunsystem umgehen

•PD-L1 kann auf Tumorzellen und tumorinfiltrierenden Immunzellen in der Mikroumgebung des Tumors exprimiert werden



•Atezolizumab kann supprimierte T-Zellen wieder aktivieren, indem es die Interaktionen von PD-L1 (auf Tumorzellen und Tumor-infiltrierenden Immunzellen) mit PD-1 (auf T-Zellen) in der Mikroumgebung des Tumors blockiert.

- IC, Tumor-infiltrierende Immunzelle; PD-1, programmierter Tod 1 Chen, et al. Clin Cancer Res 2012; Herbst, et al. Nature 2014
- PD-L1, programmierter Todesligand 1; TC, Tumorzelle Powles, et al. Nature 2014

Die klinischen Ergebnisse zeigten, dass die PD-L1-Expression auf Tumorgewebe positiv mit der Wahrscheinlichkeit des Ansprechens auf die Anti-PD-1/PD-L1-Therapie bei Patienten mit bestimmten Krebserkrankungen korreliert.

Die Rate membranös PD-L1-gefärbter Tumorzellen (TC) soll als Prozentwert („x pos. TC“) und/oder in Form eines Proportionsscores wie dem „Cologne-Score (0-5) mitgeteilt werden.

Nach deutschem Expertenkonsensus sind ≥ 100 beurteilbare Tumorzellen aus Biopsien oder Resektaten notwendig (an zytologischen Präparaten ist PD-L1 nicht validiert).

Aktuell gibt es folgende Bewertungsschemata:

1. Den sog. **Cologne-Score** nach Scheel et al., 2016:

TC 0 = <1% der **Tumorzellen** PD-L1 positiv

TC 1 = $\geq 1\%$ bis <5% der Tumorzellen PD-L1 positiv

TC 2 = $\geq 5\%$ bis <10% der Tumorzellen PD-L1 positiv

TC 3 = $\geq 10\%$ bis <25% der Tumorzellen PD-L1 positiv

TC 4 = $\geq 25\%$ bis <50% der Tumorzellen PD-L1 positiv

TC 5 = $\geq 50\%$ der Tumorzellen PD-L1 positiv

2. Den **Score der tumorinfiltrierenden Immunzellen** nach Petrylak et al., 2015:

IC 0 = < 1% der **Immunzellen** PD-L1 positiv

IC 1+ = $\geq 1\%$ bis <5% der Immunzellen PD-L1 positiv

IC 2+ = $\geq 5\%$ bis <10% der Immunzellen PD-L1 positiv

IC 3+ = $\geq 10\%$ der Immunzellen PD-L1 positiv

3. Den sog. **Combined Positivity Score** nach Dako/Agilent 22C3 pharmDx interpretation

manual:

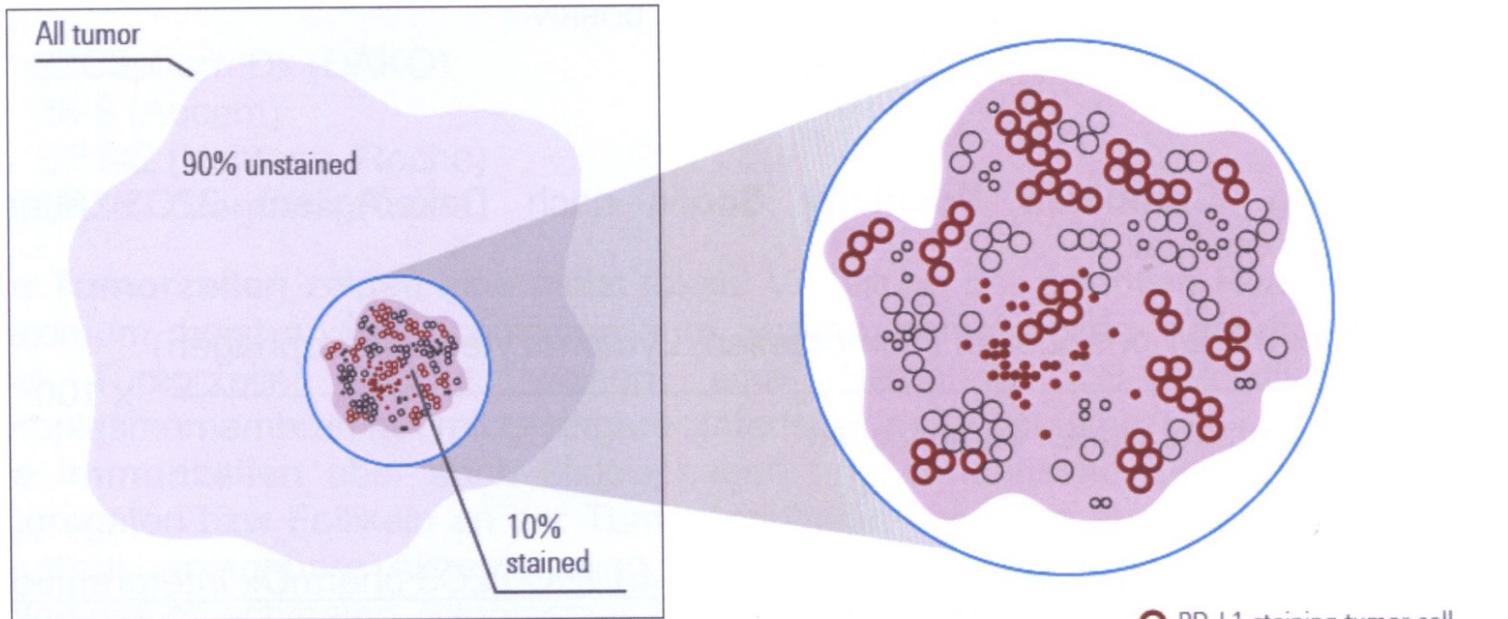
Zahl PD-L1 pos. Zellen (Tumorzellen, Lymphozyten, Makrophagen)

----- X 100 = CPS

Gesamtzahl vitaler Tumorzellen

Beispiele für die Auswertung des CPS mit 22C3 pharmDx (nach PD-L1 IHC 22C3 pharmDx Interpretation Manual Urothelial Carcinoma (DAKO))

1. Tumor mit nur fokaler Färbung



Calculate the Combined Positive Score of the entire tumor area:

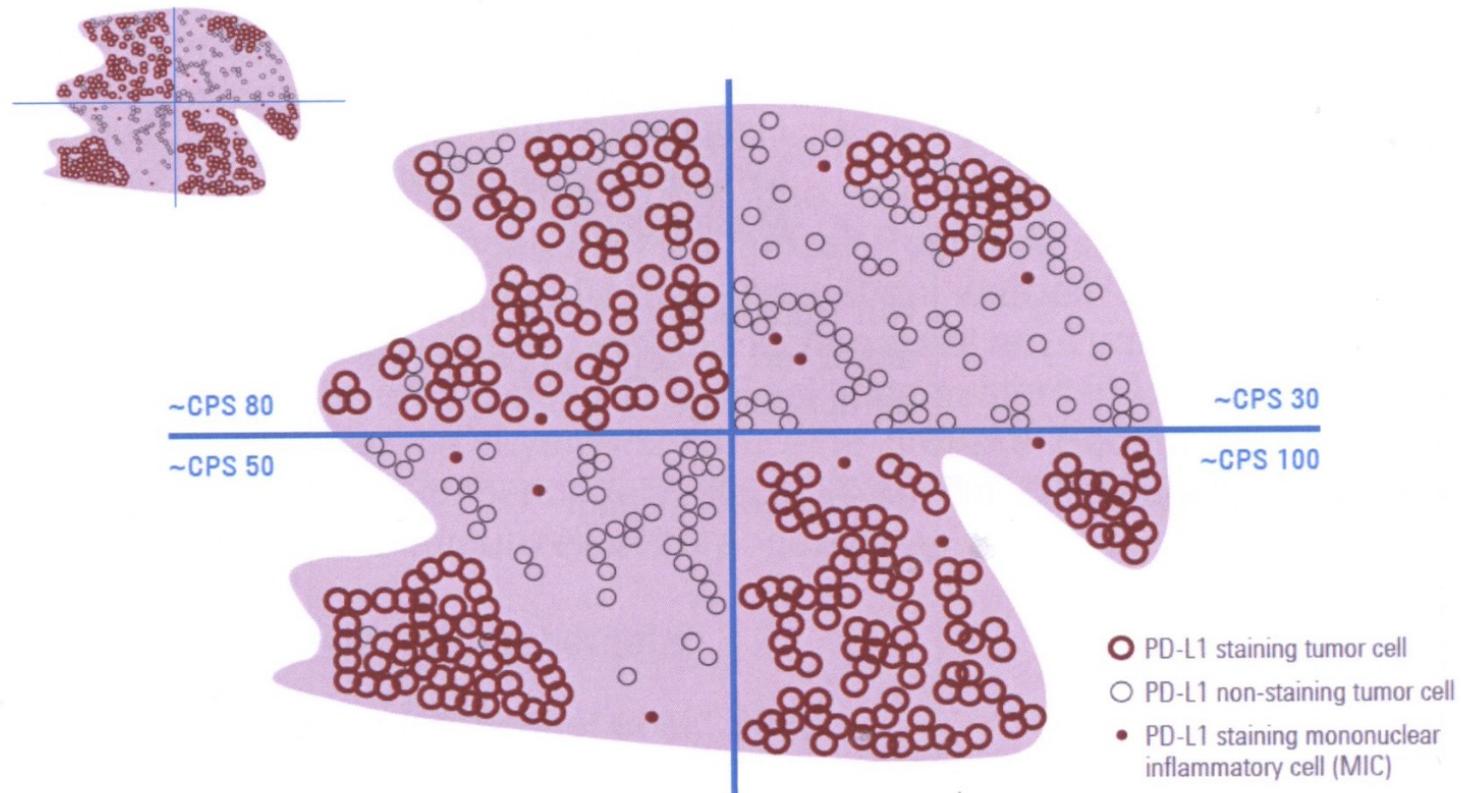
Assessment: CPS of area with staining:

$$\text{CPS} = \frac{\# \text{ PD-L1 staining cells}^*}{\text{Total \# viable tumor cells}} \times 100 = \frac{\sim 80 \text{ PD-L1 staining cells}}{100 \text{ tumor cells}} \times 100 = 80$$

CPS of entire tumor area: 10% x 80 = ~CPS 8

PD-L1 Protein Expression Category: CPS < 10

2. Tumor mit inhomogener Färbung



Calculate the Combined Positive Score of the entire tumor area:

Assessment: Combined Positive Score:

$$(80 + 30 + 50 + 100) / 4 = \sim\text{CPS } 65$$

PD-L1 Protein Expression Category: CPS \geq 10

$$\text{CPS} = \frac{\# \text{ PD-L1 staining cells (tumor cells, lymphocytes, macrophages)}}{\text{Total \# viable tumor cells}} \times 100$$

- **Anforderungen an die Gewebeschnitte**

- ***(Immunzellbasiertes Scoring erfordert tumorassoziertes Stroma)***

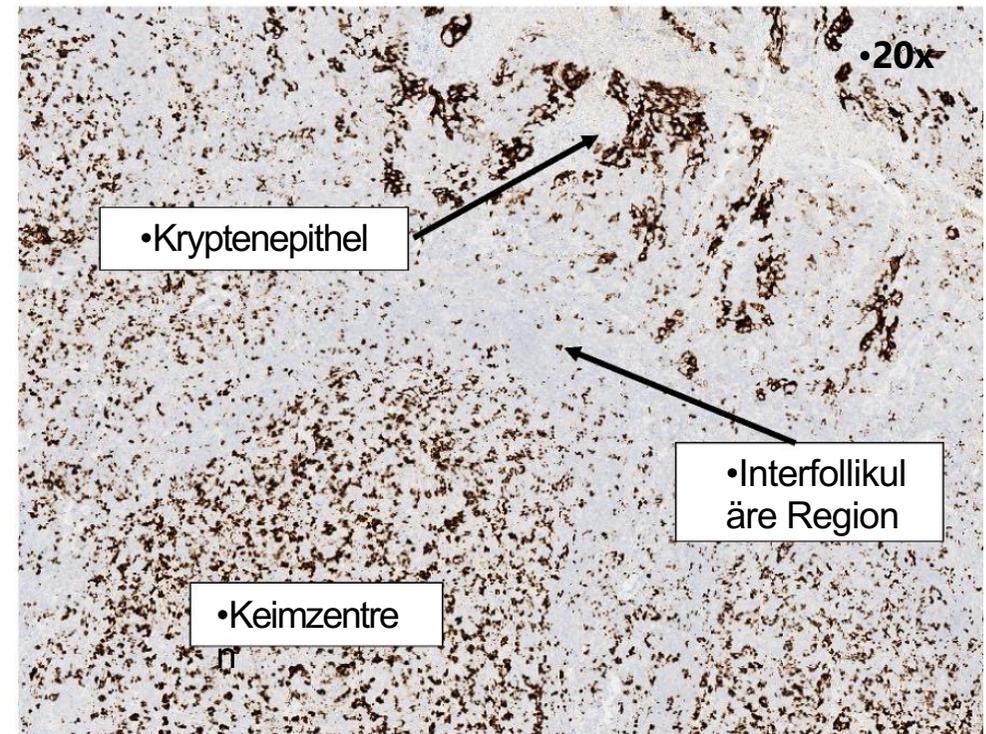
- Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes (FFPE) Gewebe¹
- Archivmaterial oder frisches Gewebe von Resektionen, Exzisionen und Biopsien¹
 - Aus Primärtumoren oder Metastasen (nicht für den Gebrauch *mit Zytologieproben* oder dekalzifizierten Knochenproben validiert)¹
- Mindestens 50 vitale Tumorzellen²

Wichtig:

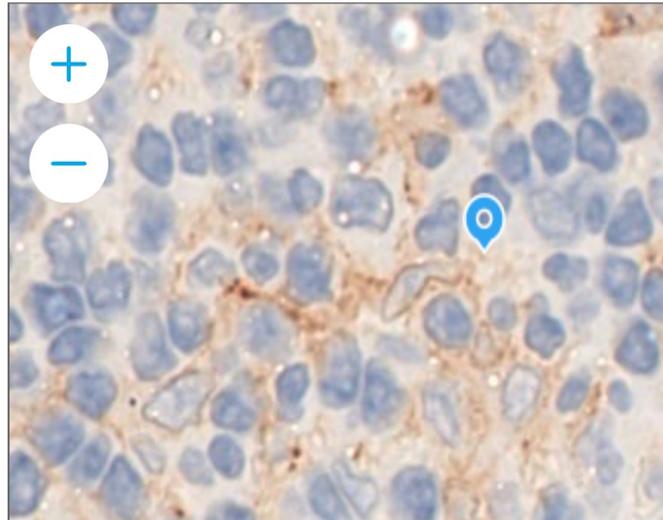
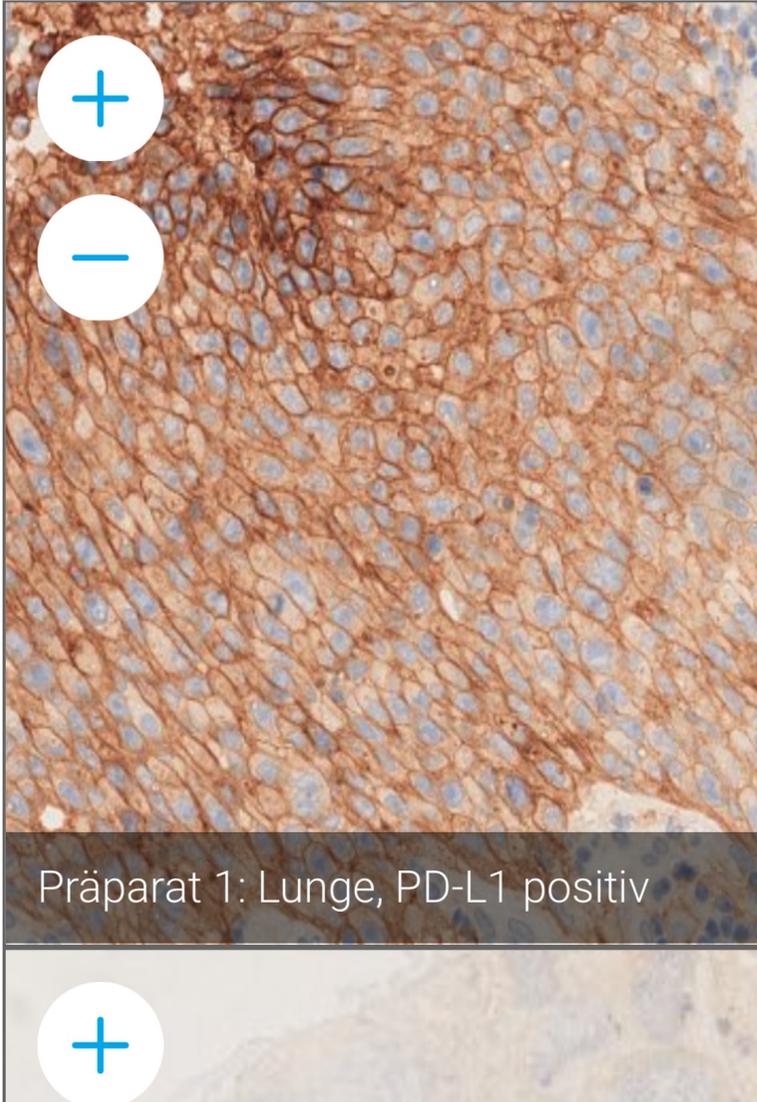
- **Die Präsenz des tumorassozierten Stromas bildet die Grundlage für das immunzellbasierte Scoring**

•Kontrollen: Akzeptables Tonsillengewebe

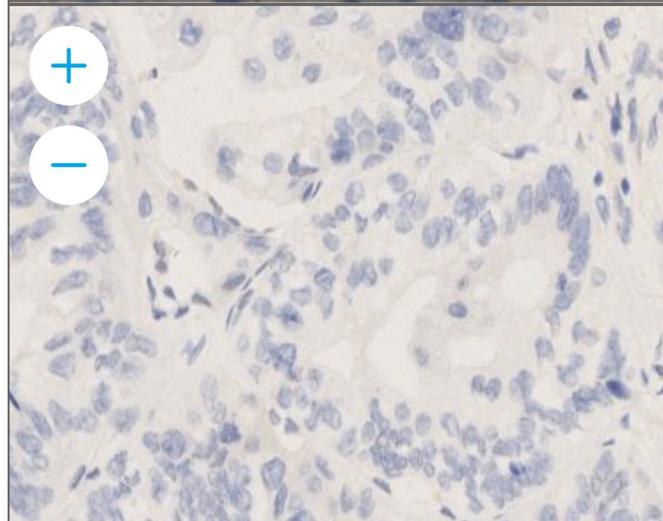
•Tonsillengewebe als *Positiv- und Negativkontrolle*



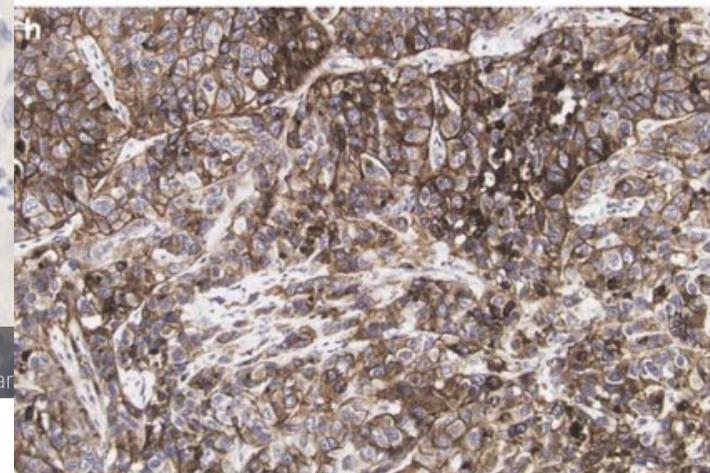
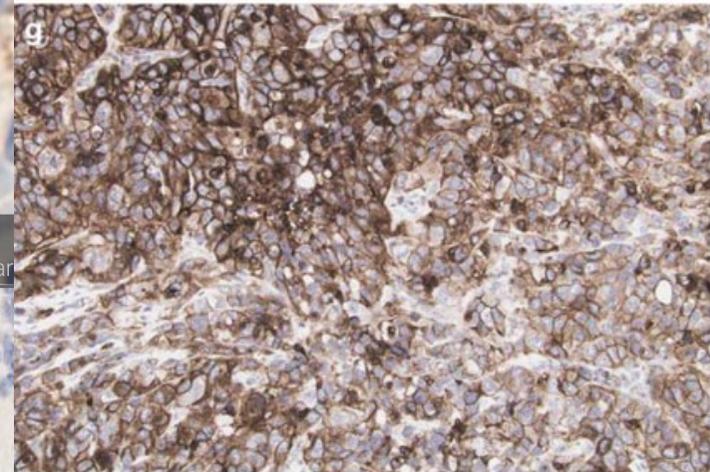
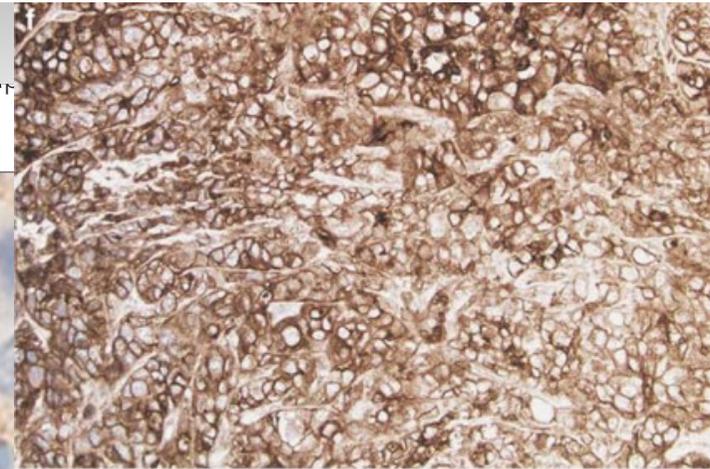
Expression von PD-L1 im Zytoplasma und Präparat 2
bereits ausreicht. Vergleichen Sie h
und Präparat 2



Präparat 1: Lunge, PD-L1 positiv



Präparat 2: Lunge, PD-L1 negativ



Aktuelle Therapie- und Zulassungssituation beim Urothelkarzinom sowie verfügbare immunmodulatorische Therapeutika

Aktuell kommen beim Harnblasenkarzinom folgende generelle Therapien zum Einsatz:

Non-muscle invasive	Neoadjuvant Adjuvant	1st Line Metastatic	2nd Line Metastatic	Next Line Metastatic
No systemic therapy				
	Gem + Cisplatin or A-MVAC (Cisplatin)			
		Gem + Cisplatin A-MVAC (Cisplatin) Or Gem + Carbo		
		Pembrolizumab (CPS >10) if not platin eligible	Atezolizumab Pembrolizumab Nivolumab	
				Paclitaxel/ Doxe-taxel Vinflunine

(modifiziert nach E. Plimack, ASCO Annual Meeting 2016)

Letztes Wort aus dem „Urologe 07-2020, Seite 784“

Eine Studie untersuchte die Expression von CD4, CD8, FoxP3 und PD-L1 beim HR-NMIBC unter BCG-responsiven und BCG-nichtresponsiven Patienten. Bei den BCG-responsiven Patienten zeigte sich ein nahezu vollständiges Fehlen der PD-L1-Expression (0–4 %), wohingegen 25–28 % der BCG-refraktären Patienten eine PD-L1-Positivität aufwiesen.

Zudem konnte durch eine BCG-Therapie eine Induktion der PD-L1-Expression im Gewebe nicht induziert werden. Diese Daten deuten darauf hin, dass das Vorhandensein einer PD-L1-Expression vor Einleitung einer BCG-Therapie prädiktive therapeutische Bedeutung besitzt.

Aus diesen Daten lässt sich insgesamt ableiten, dass die Selektion von geeigneten Patienten für eine PD-(L)1-Inhibition möglich ist, allerdings ein Therapieansprechen auf eine PD-(L)1-Inhibition in der Salvage-Situation bei BCG-Versagen nur in einem Viertel der Fälle erwartet werden kann.

Kates M, Matoso A, Choi W et al (2020) Adaptive immune resistance to intravesical BCG in non-muscle invasive bladder cancer: implications for prospective BCG-unresponsive trials. Clin Cancer Res 26:882–891

Danke!